

**ELVÁLASZTÁSTUDOMÁNYI
VÁNDORGYŰLÉS 2024**
2024. november 7-9. | Visegrád



ABSZTRAKTOK

a Magyar Elválasztástudományi Társaság konferenciája

SZÓBELI ELŐADÁSOK

E-01 | Mi (és hogyan) oldódik ki a műanyag élelmiszer-csomagolóanyagokból?

Kirchkeszner Csaba^{1,2}

¹ UNICAM Magyarország Kft.

² Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Budapest

Manapság egyre többet hallunk az élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkezésbe kerülő műanyagokból (Food Contact Plastics, FCP) kioldódó vegyületekről. Ennek kapcsán felmerül a kérdés, hogy mekkora kockázatot jelentenek a műanyag élelmiszer-csomagolóanyagok és a belőlük kioldódó kémiai komponensek. Azonban ahhoz, hogy e kérdésre választ tudjunk adni pontosan ismerni kell, hogy milyen vegyületek oldódnak ki, valamint a migrációs folyamat mechanizmusát, kinetikáját bizonyos körülmények között. Kutatómunkám során élelmiszerekkel rendeltetésszerűen érintkezésbe kerülő műanyagokból kioldódó – szándékosan és nem szándékosan hozzáadott – illékony és közepesen illékony vegyületek azonosításával, majd különböző funkciót betöltő műanyagadalékanyagok migrációs kinetikai vizsgálatával foglalkoztam. A kereskedelmi forgalomban kapható 53 vizsgált polipropilén-alapú FCP-ből összesen 69 illékony és közepesen illékony vegyületet sikerült azonosítani GC-vel kapcsolt nagyfelbontású tömegspektrometriás (TOF-MS) módszerrel. Továbbá elsőként sikerült azonosítani a leggyakrabban használt antioxidáns, a BHT számos bomlásterméke mellett, egy eddigi, még FCP-kból nem azonosított bomlásterméket, a 2,6-diterc-butil-4-metilciklohexa-2,5-dién-t. A kioldódó vegyületek azonosítását követő konfirmációs vizsgálatok során azt tapasztaltam, hogy a nemzetközi adatbázisokban található lineáris retenciós indexek (*LRI*-k) számos vegyület esetén igen tág határok között változnak. Ezért kiterjedt vizsgálatot végeztem arra vonatkozóan, hogy a főbb, retenciót befolyásoló gázkromatográfiás paraméterek változtatása hogyan hat az *LRI*-értékekre. Az eredmények értékelésére egy multikritériumos pontrendszert dolgoztam ki, melynek segítségével megállapítást nyert, hogy a *LRI*-t leginkább a felfűtési sebesség, a kolonna filmvastagsága és a filmfázis összetétele befolyásolja.

A biztonságos FCP gyártás és felhasználás szempontjából nélkülözhetetlen a migrációs folyamatok mechanizmusának pontos felderítése. Így kutatásom második részében az élelmiszer-csomagoló műanyagokból kioldódó adalékanyagok (antioxidánsok, fénystabilizátorok, lágyítók) migrációs kinetikájának felderítésével, valamint a szakirodalomban még csak kevés vizsgált polimer-adalékanyag-élelmiszerutánzó modelloldat kölcsönhatások migrációra gyakorolt hatásának feltérképezésével foglalkoztam. A migrációs kinetikai vizsgálatok eredményei – a korrigált duzzadási fok bevezetése, a réteges migráció kísérleti igazolása, valamint a lágyító- és az élelmiszerutánzó modellanyag indukálta migráció – számos nemzetközi szinten is érdeklődésre tartó új tudományos ismerettel szolgáltak, és jelentősen hozzájárulnak az élelmiszerbiztonság növeléséhez, valamint az élelmiszer-csomagoló műanyagok gyártásával kapcsolatos újításokhoz, melyek révén csökkenthető az adalékanyagok migrációja az élelmiszerekbe.

E-02 | Horváth Csaba emlékezete

Felinger Attila

Pécsi Tudományegyetem, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Pécs

Húsz évvel ezelőtt, 2004-ben hunyt el Horváth Csaba. A HPLC megszületése, az első HPLC készülék megépítése alapvetően az ő nevéhez, tevékenységéhez köthető. Kutatómunkája az elválasztástudomány szinte mindegyik területére jelentős hatással volt.

Az előadásban megemlékezünk Horváth Csaba tudományos munkásságáról, az emlékére alapított díjakról, elismerésekről; arról a nagyformátumú kutatóról, akiről számos legenda kering még napjainkban is.

E-03 | Állófázisok felcserélhetősége a folyadékkromatográfiás gyakorlatban

Kormány Róbert

Egis Gyógyszergyár Zrt., Hatóanyag analitikai fejlesztési laboratórium 3., Budapest

Napjainkban 1000 fölött van a kereskedelmi forgalomban elérhető fordított fázisú folyadékkromatográfiás állófázisok száma, melyekből nagyságrendileg felét teszik ki a C18-as felületmódosításúak.

Az állófázisok összehasonlítása a gyakorlatban sokszor indokolt. Az eltérő szelektivitás hasznos lehet a módszeroptimalizálás során, a hasonló szelektivitás viszont alternatív állófázisként szolgálhat. Az utóbbi megfontolás a gyógyszeripari hatóságok irányelveiben (ICH Q2(R2)) is szerepel, miszerint egy folyadékkromatográfiás szennyezésprofil vizsgálati módszer alkalmazhatóságának bizonyításakor, vagyis a módszer validálása során, alternatív állófázist is kell javasolni, mely az adott módszeren belül az eredetihez hasonló szelektivitással rendelkezik.

Az állófázisok összehasonlítására több módszer is kínálkozik. Talán a legismertebb az USP által készített „L”-es lista, ahol csupán az állófázis felületmódosítása alapján tesznek különbséget az állófázisok között (pl. a C18-as állófázis L1-es csoportba tartozik). Másik ismert eljárás az állófázisok összehasonlítására a kémiai kolonnatesztek (pl. Tanaka-teszt) vagy ezek eredményeit felhasználó adatbázisok (pl. Snyder-Dolan féle hidrofób szubsztrakciós adatbázis) alapján.

Az előadás próbál rávilágítani a fentebb írt összehasonlító módszerek korlátjaira, valamint bemutat egy új, néhány kísérleten alapuló megközelítést, mellyel valóban megítélhető két állófázisról, hogy adott körülmények között alkalmas lehet-e egymás helyettesítésére.

Ref:

- [1] A. Zöldhegyi, K. Horváth, R. Kormány, J. Chromatogr. A, 2024, 1719, 464738
- [2] R. [Kormány](#), B. [Soós](#), K. [Horváth](#), J. Pharm. Biomed. Anal., 2024, 237, 115776

E-04 | A méret a lényeg? Folyadékkromatográfiás oszlopok hosszának optimalizálása gradiens körülmények között

Horváth Krisztián

Pannon Egyetem, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

Egy folyadékkromatográfiás rendszer elválasztási teljesítménye jelentősen javítható az oszlop hosszának növelésével, mivel ez növeli az elméleti tányérok számát. A kinetikai görbék [1] vizsgálata során levonható egyik következtetés, hogy bizonyos körülmények között nagyobb elválasztási hatásfok érhető el kevésbé hatékony fázisok, de hosszabb oszlopok alkalmazásával. Ez a következtetés mind az izokratikus, mind a gradiens elválasztásra érvényes. Bizonyítható azonban, hogy gradiens elválasztásoknál az elválasztási mechanizmus az oldott anyag méretének növekedésével egyre inkább on-off jellegűvé válik. Ennek eredményeképpen az elválasztás elsősorban attól függ, hogy az egyes molekulák mikor szabadulnak el az oszlop elejétől, a kromatográfiás vándorlás hossza pedig kevésbé fontos. Tekintettel azonban arra, hogy a komponensek sávja még gradiens körülmények között is kiszélesedik az oszlopon, felmerül a kérdés, hogy szükséges-e hosszú oszlop a gradiens elválasztásokhoz, különösen nagy molekulák esetén, ahol az elválasztási mechanizmus on-off [2]. Jelen munka célja nagy molekulák retenciós viselkedésének és csúcsképződésének vizsgálata gradiens körülmények között az oszlophossz függvényében. Elméleti megfontolások alapján optimalizáljuk az oszlophosszt, figyelembe véve a kromatográfiás felbontást, az elemzési időt és az oszlopon kívüli sávszélesedési folyamatokat.

Hivatkozások

- [1] H. Poppe. Some reflections on speed and efficiency of modern chromatographic methods, *J. Chromatogr. A*, 778 (1997) 3-21
- [2] Sz. Fekete, M. Lauber. Studying effective column lengths in liquid chromatography of large biomolecules, *J. Chromatogr. A*, 1692 (2023) 463848

Köszönetnyilvánítás: A kutatómunkát a TKP2021-NVA-10 projekt támogatta.

E-05 | A folyadékkromatográfia kinetikai modelljeinek alkalmazása

Somfai Attila¹, Horváth Krisztián², Horváth Anikó¹

¹ Simkon Kft, Budapest

² Pannon Egyetem, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

A folyadékkromatográfias folyamatokat számos modell igyekszik leírni (lineáris, tömegmérleg modell vagy éppen a sztochasztikus modell). A modellek figyelembe veszik az oszlopon végbemenő diffúziós, megkötődési és áramlási folyamatokat, és a komplexitásuktól megfelelően többé, vagy kevésbé pontos csúcsalakokat jósolnak. Többen vizsgálták már, hogy van-e kapcsolat a modellek között, és lehet-e a modelleket kombinálni. A témában több cikk is megjelent a múltban, számos ellentmondásra rávilágítva az egyes megközelítések között. Ezért a modellek közötti kapcsolat mellett, azt is vizsgálni kell, hogy mi lehet az eltérés oka.

Munkánk során kapcsolatot kerestünk a folyadékkromatográfias folyamatot leíró két modell a Reakció-Diszperzív és a Sztochasztikus modell között. Meghatároztuk a modellekkel mennyire lehet jól megbecsülni a megkötődések számát és idejét. Emellett megpróbálunk megoldást keresni egy meglévő ellentmondásra, hogy a megkötődések várható ideje és száma miként alakul gyenge kötési energiák esetén az állófázison és a mozgófázisban lévő molekulák között.

A kísérlethez alkilbenzolokat választottunk szét hagyományos 5 μm szemcseméretű oszlopon UHPLC segítségével. Ezzel azt szerettünk volna elérni, hogy az oszlop térfogata jelentősen nagyobb legyen, mint a HPLC rendszer holtterfogat, így az oszlopon kialakuló csúcsszélesítő hatások legyenek dominánsak. A paraméterek kiszámításához Pythonban írtunk egy programot és a PeakFit illesztőprogram segítségével határoztuk meg a kromatográfias csúcs momentumait.

Az eredmények alapján kijelenthető, hogy a megkötődési idők 10^{-10} - 10^{-12} s között változtak, így az eredmény konzisztensek más fizikai-kémiai folyamatokat leíró elméletekkel.

E-06 | A Taylor-Aris diszperzióval segített tömegspektrometria elemzési körülményeinek tanulmányozása

Szabó Ruben¹, Felinger Attila^{2,3,4}, Horváth Krisztián⁵, Gáspár Attila¹

¹ Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Debrecen

² Pécsi Tudományegyetem, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Pécs

³ HUN-REN Pécsi Tudományegyetem, Molekuláris Kölcsönhatások az Elválasztástudományban Kutatócsoport, Pécs

⁴ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

⁵ Pannon Egyetem, Természettudományi Központ, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

Az elektroporlasztásos ionizációs tömegspektrometria (ESI-MS) a fehérjék vizsgálatának egy kiemelkedően fontos technikája. Az elektroporlasztásos ionizációval inkompatibilis mátrix komponensek leggyakrabban kizárják a fehérjeminták közvetlen injektálását, elválasztás vagy előzetes tisztítás nélküli vizsgálatát. Kutatócsoportunk a közelmúltban írta le a Taylor-Aris diszperzió jelenségének hasznosíthatóságát ESI-MS inkompatibilis mátrixban található makromolekulák – például monoklonális antitest tartalmú gyógyszerkészítmények, vagy natív fehérjekomplexek PBS oldatban – közvetlen injektálós vizsgálatát. Ez a módszer nagyban elősegítheti az ilyen minták egyszerű, gyors és költséghatékony vizsgálatát [1, 2].

Taylor-Aris diszperzióval segített tömegspektrometria módszerének optimális mérési körülményeinek meghatározása jelentős kihívást jelenthet, mivel számos paraméter befolyásolhatja azt. Az analitikai kémiában mára elterjedten használt Taylor-Diszperzió Analízis (TDA) során az analit diffúziós koefficiensét határozzák meg a mérés során detektált csúcs varianciája alapján, egy az elméletileg várt koncentrációeloszlást leíró képlet alapján [3]. Munkánk során megállapítottuk, hogy ezen képlet módosításával a különböző mérési körülmények mellett várt taylorgramok jól leírhatók, még a szokásostól eltérő nagy injektált mintatérfogat esetén is. Az ionizáció során fellépő adduktképző és ionelnyomó hatások jellemzésére Donelly és munkatársainak leírását [4] használtuk. Az így kapott képletek alkalmazásával lehetőségünk nyílt a mérési körülmények hatásainak és a módszer robusztusságának vizsgálatára.

Hivatkozások

[1] Szabo, R., Nagy, C., Gaspar, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2024, **63**, e202318225.

[2] Szabo, R., Gyemant, G., Nagy, C., Andrasi, M., Gaspar, A. *Analytical Chemistry*, 2024, 96, 11309-11317.

[3] Latunde-Dada, S., Bott, R., Hampton, K., Patel, J., & Leszczyszyn, O. I. *Analytical Methods*, 2015, 7, 10312-10321.

[4] Donnelly, D. P., Rawlins, C. M., DeHart, C. J., Fornelli, L., Schachner, L. F., Lin, Z., et al. *Nature methods*, 2019, 16, 587-594.

Ezt a munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (K142134) és az Új Nemzeti Kiválóság Program (ÚNKP-23-3-I-DE-115) támogatta.

E-07 | Folyadékkromatográfia nyomáskontrollált körülmények között

Lukács Diána¹, Tóth-Farsang Evelin¹, Simon József², Horváth Krisztián¹

¹ Pannon Egyetem, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

² HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, MS Metabolomika Kutatólaboratórium, Budapest

A folyadékkromatográfia folyamatos fejlődésével nemcsak a módszerfejlesztési lehetőségek köre bővül, de újabb és újabb kérdések is felmerülnek. Az UPLC és UHPLC rendszerek megjelenésével különösen nagy figyelmet kap a nyomás komponensek retenciós viselkedését befolyásoló hatása. Az utóbbi években több publikáció [1-3] is megjelent az oszlopmenti nyomásváltozás, mint módszerfejlesztési lehetőség alkalmazásáról.

Munkánk célja az oszlopbeli, szabályozott nyomáskülönbségek retencióra és csúcsalakra gyakorolt hatásának vizsgálata és modellezése. Kutatásunk során elsősorban a kísérleti alkalmazásokat támogató, lineáris és nemlineáris, pozitív és negatív nyomásgradiens eseteket vizsgáljuk. A különböző molekulaméretű komponensek csúcsprofiljainak számítására a klasszikus lineáris oldószererősségi, valamint az egyensúlyi diszperzív modelleket alkalmazzuk. Ezek együttes alkalmazása lehetővé teszi az egyes komponens koncentrációprofilok időbeli és térbeli alakulásának leírását, melynek segítségével részletesebb képet kaphatunk a kontrollált nyomás alatt működő kolonnákban lejátszódó retenciós/elúciós folyamatokról.

- [1] Fekete et al.: Pressure-Enhanced Liquid Chromatography, a Proof of Concept: Tuning Selectivity with Pressure Changes and Gradients, *Anal. Chem.* (2022) 94 (22), 7877-7884
- [2] Fekete et al.: Theoretical study on solute migration and band broadening occurring in pressure-enhanced liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* (2023) 1692, 463872
- [3] Lardeux et al.: Pressure-Enhanced Liquid Chromatography as a Suitable Approach to Improve Selectivity for Large Molecule Separations, *LCGC* (2023) 41 (s4), 28–34

E-08 | Diol-foszfát funkciós csoportot tartalmazó fordított fázisú HPLC állófázisok retenciós mechanizmusának vizsgálata

**BacsKay Ivett¹, Mikołaj Dembek², Alessandro Buratti³,
Martina Catani³, Szymon Bocian², Felinger Attila^{1,4}**

¹ HUN-REN-PTE Molekuláris Kölcsönhatások az Elválasztástudományban Kutatócsoport és Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék és Szentágothai Kutató Központ

² Chair of Environmental Chemistry and Bioanalytics, Faculty of Chemistry, Nicolaus Copernicus University, Poland

³ Department of Chemical, Pharmaceutical and Agricultural Sciences, University of Ferrara, Ferrara, Italy

⁴ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

Hidrofób és hidrofil ligandumokat egyaránt tartalmazó, kémiaiag kötött állófázisok alkalmazhatók a fordított fázisú folyadékkromatográfiában (RPLC), és lehetőség van a hidrofil kölcsönhatású folyadékkromatográfiában (HILIC) való használatukra is. Ha az állófázis többféle különböző funkciós csoporttal rendelkezik, az elválasztás során különböző típusú kölcsönhatások alakítják ki a retenciót. A kromatográfiás elméletek szerint az RPLC és a HILIC retenciós mechanizmusoknak teljesen különbözőnek kell lenniük.

A retenciós mechanizmus megbízhatóan tanulmányozható nemlineáris kromatográfiás módszerekkel, mint nagymértékben hígított minták retenciós adatainak felhasználásával analitikai léptékben. A mozgó és az állófázisok közötti határfelületen lejátszódó retenciós folyamatok leírása és megértése nemlineáris egyensúlyi izotermák meghatározásával érhető el, melyhez az inverz módszert választottuk.

A holtterfogat pontos kimérése a kulcsa az adszorpciós izotermák helyes értelmezésének. Mivel a teljes térkitöltési tényező túlbecslése nagy hibákhoz vezet a túlterhelt csúcsok számításában és az adszorpciós izotermák meghatározásában. Míg a teljes porozitás alulbecslése alig vagy egyáltalán nem befolyásolja a sávprofilok előrejelzését, legfeljebb heterogénebb modellt javasol.

Munkánk során számos kromatográfiás módszerrel meghatároztuk a poláris funkciós csoportot tartalmazó állófázisú oszlopok holtterfogatát, vizsgáltunk, hogy a teljes porozitás értéke hogyan befolyásolja az inverz módszerrel meghatározott adszorpciós izotermák alakját, megállapítottuk, hogy az állófázisokon fordított fázisú és hidrofil kölcsönhatású kromatográfiás folyamatok is lejátszódnak az alkalmazott mozgófázis összetételétől függően.

E-09 | Mirigyes bálványfa bioaktív komponenseinek jellemzése

Móricz M. Ágnes¹, Király Nóra¹, Aschenbrenner Panna¹,
Baglyas Márton^{1,2}, Vesna Glavnik³, Irena Vovk³, Ott G. Péter¹

¹ HUN-REN Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézet, Budapest

² Semmelweis Egyetem Doktori Iskola, Budapest

³ Laboratory for Food Chemistry, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Slovenia

A mirigyes bálványfa (*Ailanthus altissima*) szinte egész Európában invazív növény, így Magyarországon és Szlovéniában is. A fa agresszíven terjed és ezzel súlyos károkat okoz a természetben és városi környezetben is. Terápiás hatásai miatt már az ókortól alkalmazzák a kínai orvoslásban hasmenés és más emésztési zavarok kezelésére. A jótékony hatásai ellenére az aktív komponenseinek még nem teljesen feltérképezettek.

A növényi mintákban található bioaktív vegyületek költség- és időhatékony keresése, jellemzése és tisztítása elvégezhető a hatás irányította analízissel, izolálással, amely során kulcsfontosságú a szelektív bioesszével való detektálás [1-3]. A bioaktivitás tesztek könnyen kapcsolhatók (nagyhatékonyságú) vékonyrétegkromatográfiához ((HP)TLC), ami egy nagy áteresztőképességű és mátrix toleráló technika. A (HP)TLC-direkt bioautográfia (DB) módszer biztosítja a leggyorsabb teszteket, amikor az elválasztott anyag közvetlenül a rétegen találkozik a mikroorganizmussal, enzimmal, vagy kémiai reagenssel. További (HP)TLC kapcsolások, mint a (HP)TLC-UV/Vis/FLD-HRMS/MS lehetővé teszi a gátló zónákban lévő komponensek karakterizálását. A (HP)TLC-bioaktivitás tesztekkel monitorozott (vezetett) izolálási eljárás a hatásért felelős tiszta vegyületeket eredményezhet, mely izolátumok azonosíthatók NMR-rel [2].

Munkánk során célul tűztük ki a mirigyes bálványfa bioaktív (Gram pozitív *Bacillus subtilis* és lipáz enzim gátló) komponenseinek feltérképezését és azonosítását TLC-bioaktivitás tesztek, TLC-HRMS/MS (TLC-TLC-MS Interface-orbitrap), hatás irányította izolálás, és NMR alkalmazásával. Az eredmények azt mutatják, hogy az *A. altissima* gazdag antibakteriális és lipázgátló vegyületekben, amik zsírsavak, zsírsavszármazékok, terpenoidok és alkaloidok.

Köszönetnyilvánítás:

A munka az NKFIH OTKA SNN139496 pályázat és a Slovenian Research and Innovation Agency (ARIS; research core funding No. P1-0005, project N1-0235) támogatásával készült. Az NMR mérések a CERIC program keretében valósultak meg Ljubljanában a Slovenian NMR Center, National Institute of Chemistry-ben.

Irodalom

- [1] Á.M. Móricz, P.G. Ott, T.T. Häbe, A. Darcsi, A. Böszörményi, Á. Alberti, D. Krüzselyi, P. Csontos, S. Béni, G.E. Morlock; Anal Chem 88, 8202-8209 (2016)
- [2] M. Baglyas, P.G. Ott, Z. Garádi, V. Glavnik, S. Béni, I. Vovk, Á.M. Móricz, J Chromatogr A, 1677, 463308 (2022)
- [3] M. Baglyas, P.G. Ott, I. Schwarczinger, J. Kolozsváriné, A. Darcsi, J. Bakonyi, Á.M. Móricz; Molecules 28, 3790 (2023)

E-10 | Ehető csírák és mikrozöldek, az egészséges táplálkozás újabb követői - és ami bennük van

B. Tóth Szabolcs, Róde Lea

Eszterházy Károly Katolikus Egyetem, Biológia Intézet, Növényélettani Tanszék, Eger

Az egészséges táplálkozás iránti igény napjainkban egyre keresettebb és elfogadottabb kulcsszó. Újra felkapott és egyre jobban növekvő jelenlétet produkálnak a friss csírák mikrozöldek az egészséges táplálkozás palettáján. Termesztésük egyszerű és gyors, konyhai körülmények között is kivitelezhető, mindenki számára hozzáférhető. Megjelenésük nem csak a konyhákban kezd mindennapossá válni, hanem az éttermek étlapjain is.

A vizsgálatunkban először ehető magokból – retek, brokkoli, mungóbab, lucerna, búza, zsázsa, cékla, rukkola, metélőhagyma - termesztett csírák és mikrozöldek antioxidáns kapacitását vizsgáltuk különböző módszerekkel, majd az antioxidáns kapacitások különbségére kerestük a választ a kémiai összetétel meghatározása során, az aktív, antioxidáns tulajdonságokkal rendelkező vegyületek meghatározásával. A különböző csírák és mikrozöldek antioxidáns összetételét az extrakció után SPE oszlop alkalmazása és oszlop nélküli származékképzés után GCMS módszerrel elemeztük. A különböző minták antioxidáns kapacitásának eltérései a GCMS technikával kimutatott vegyületek minőségében és mennyiségében is arányosan mutatkoznak. A minőségi analízis során, GCMS módszerrel számos antioxidáns vegyületet azonosítottunk. A csírákat és mikrozöldeket összehasonlítva a kimutatott vegyületek intenzitás a mikrozöldek esetében általánosan 1 vagy 2 nagyságrenddel nagyobb intenzitással rendelkeznek, mint ahogyan ezt a korábbi antioxidáns kapacitás mérésnél is tapasztalhattuk. A csírákban kimutattunk többféle antioxidáns vegyületet is. Kiemelendő, hogy különböző rákellenes vegyületet is azonosítottunk mind a csírákból, mind a mikrozöldekből is.

E-11 | Új, antibakteriális klerodán diterpének felfedezése magas aranyvessző (*Solidago gigantea* Ait.) gyökeréből HPTLC-vel csatolt bioesszékkal

Baglyas Márton^{1,2}, Ott G. Péter¹, Móricz M. Ágnes¹

¹ HUN-REN Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézet, Növényi Kórélettani Osztály, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Doktori Iskola, Budapest

A növények szerteágazó biológiai aktivitással és diverz kémiai szerkezettel rendelkező másodlagos anyagcseretermékek természetes, gazdag forrásai. A magas aranyvessző (*Solidago gigantea* Ait.) egy Észak-Amerikában őshonos gyógy- és gyomnövény, amely Európa számos részén, köztük Magyarországon is invazívá vált. Ugyanakkor a kivonatai kedvező farmakológiai hatásai ellenére még nem tanulmányozták körültekintően a bioaktív komponenseit.

Jelen munkában célul tűztük ki a *S. gigantea* gyökerének etil-acetátos és etanolos kivonatának a vizsgálatát, a bioaktív vegyületek kimutatását, jellemzését, izolálását és azonosítását. Az antibakteriális vegyületek nemcélzott, hatás irányította szűrésére nagyhatékonyságú vékonyréteg kromatográfiával csatolt direkt bioautográfiát (HPTLC–DB) alkalmaztunk, amelyhez a Gram-pozitív *Bacillus subtilis* modell organizmust választottuk. A bioesszé vezérelt frakcionálást, tisztítást és izolálást többlépéses preparatív flash oszlopkromatográfia és szemipreparatív, fordított fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (RP-HPLC) segítségével valósítottuk meg, amelynek során a frakciókat folyamatosan HPTLC–DB módszerrel és HPTLC elválasztást követő kémiai reagensvizsgálatokkal monitoroztuk. Az izolált vegyületek molekulaszervezetét egy- és kétdimenziós mágneses magrezonancia (NMR) spektroszkópiával és nagyfelbontású, tandem tömegspektrometriával (HRMS/MS, leányion analízis) határoztuk meg.

Hét új, változatos szerkezeti motívumokkal (pl.: furángyűrű, butenolid (laktongyűrű), öttagú gyűrűs ciklofélacétál, izobutirát) bíró *cis*- és *trans*-klerodán diterpént izoláltunk a *S. gigantea* gyökeréből. A természetes vegyületek világában ritkának számító, tetrasubsztituált tetrahidrofurángyűrűt magában foglaló epimerek és a klerodán vázhoz szokatlan pozícióban kapcsolódó angelátcsoportot tartalmazó vegyületek is szerepelnek közöttük. Valamennyi klerodán diterpén *B. subtilis* baktérium elleni antibakteriális aktivitását HPTLC–DB módszerrel bizonyítottuk.

A jövőben növényi kórokozó baktériumokkal (pl. *Rhodococcus fascians*) és mikroszkopikus gombákkal (pl. *Fusarium avenaceum*) szemben kifejtett antimikrobiális hatásuk vizsgálatát tervezzük, valamint *in vitro* mikrolemezes kísérletek elvégzését is kilátásba helyezzük a vonatkozó MIC és IC₅₀ értékek megállapítása céljából. Az izolált vegyületekből szerkezetoptimalást követően ígéretes, potenciális antibakteriális szerek szintézise válik lehetővé.

Köszönetnyilvánítás: A munka az NKFIH OTKA K128921 és SNN139496 pályázatok támogatásával készült.

E-12 | Kihívások a toxikokinetikai minták analitikai elemzésében

Ulbert Olga¹, Magyar József²

¹ Pannon Egyetem, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

² Nextreat Laboratories Kft., Hajmáskér

A toxikokinetikai vizsgálatok célja egy anyag toxikokinetikai profiljának meghatározása, amely magában foglalja az anyag felszívódását, eloszlását, anyagcseréjét és kiválasztását.

Az *in vivo* vizsgálatokhoz igazodóan az analitikai laboratóriumnak rövid idő alatt nagyszámú biológiai mintában kell meghatározni a tesztelés alatt álló anyag és/vagy bomlástermékeinek koncentrációját. A toxikokinetikai mintamátrixok – mint a vizelet, széklet, vér illetve a különböző szervek – más-más kihívások elé állítják az analitikust. Kétségteljesen az egyik legnagyobb nehézség, hogy az eltérő mátrixokban tág határok között mozoghat a vizsgált anyagok koncentrációja. Ennek érdekében olyan robosztus mintaelőkészítést kell kidolgozni, amellyel a rendelkezésre álló mintamennyiségből az elvárt pontossággal a lehető legalacsonyabb LOQ elérhető, ugyanakkor az extrakciós módszer alkalmas töményebb minták elemzésére is. Tovább nehezíti a feladatot, hogy minden mátrixban eltérő zavaró komponensek vannak jelen, és mennyiségük is tág határok között mozog, amely intenzív sample-clean-up lépés(ek) beiktatását követeli meg.

A bemutatásra kerülő analitikai munka egy ásványolaj alapú tesztanyag toxikokinetikai vizsgálatához kapcsolódik, ahol patkány vizelet és széklet, valamint agy-, máj-, lép- és a bélrendszer mintái kerültek feldolgozásra. Homogenizálást követően a mintákból folyadék-folyadék extrakcióval történt a tesztanyag kinyerése kísérő standard alkalmazása mellett. A mátrixazonos kalibrációs sorok blank mátrix-extraktumok tesztanyaggal történő spike-olásával készültek.

A tényleges toxikokinetikai minták elemzését megelőzően az FDA guideline-nak megfelelően validáltuk a bioanalitikai módszert. A tesztanyag mérési pontossága a spike-olt mátrixmintákban LLOQ és ULOQ koncentrációknál 82-96 %, ill. 77-94 % között változott, a mérési precizitás (RSD%) pedig ≤ 13 % volt. Meghatároztuk az LLOQ és ULOQ koncentrációra spike-olt minták, és azok extraktumainak tárolási stabilitását -20 °C-on.

A toxikokinetikai vizsgálat során gyűjtött biológiai minták elemzése alapján közel 100 %-os anyagmérleget sikerült felállítani, amely szerint a vizsgált tesztanyag nem szívódott fel az anyagcsere folyamán, hanem a széklettel kiürült a szervezetből.

Az előadás során bemutatásra kerülnek a mintaelőkészítés és gázkromatográfiás mérés optimalizálásának szempontjai és lépései, valamint a bioanalitikai módszer validáció során kapott eredmények.

E-13 | EKOL – egy megvalósult álom

Rikker Tamás

UNICAM Magyarország Kft.

Egyetemi és piaci szereplők összefogása. 41 Bsc, 26 Msc és 15 osztatlan vegyész szakdolgozati témavezetés, 12 PhD és 23 TDK munka. Vegyészhallgatók kromatográfiás képzése korszerű berendezéseken. Valós problémák megoldása, új technikák kipróbálása az egyetemi kutatások során. Számtalan fiatal tehetség pályára állítása. Ez az EKOL – Elválasztástechnikai Kutató- és Oktató Laboratórium - 20 éves története címszavakban.

Aki pedig megálmodta, s az első lépéseit, majd fejlődését támogatta: Dr. Torkos Kornél, az ELTE docense. Egy álmodó és egy 20 éves álom emlékét idézi fel jelen előadás.

E-14 | Fluorozott triptofán származékok enantioszelektív elválasztása királis folyadékkromatográfiás állófázisokkal

Ilisz István, Tanács Dániel, Németi Gábor, Péter Antal, Berkecz Róbert

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszeranalitikai Intézet, Szeged

Minden élő szervezet rendelkezik királis kölcsönható helyekkel (pl. receptorokkal). Ha a különböző konfigurációjú enantiomerek bejutnak egy királisan szelektív élő szervezetbe, az egyes enantiomerek biológiai hozzáférhetősége, eloszlása, metabolizmusa, kiürülése vagy a fiziológiai hatás típusa és mértéke eltérő lehet. Ennek megfelelően az egyes enantiomerek hatásosságának vizsgálata során fontos feladat a királis vegyületek megkülönböztetése. Akár környezeti, akár élelmiszeripari minták analízise a feladat, vagy éppen a gyógyszerfejlesztés folyamatában kell analitikai meghatározást kidolgozni, reprodukálható, nagy érzékenységgű, sztereoszelektív és robusztus módszerekre van szükség. Ezeknek a feltételeknek leginkább a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia felel meg, de természetesen sok esetben a gázkromatográfia, a szuperkritikus fluidkromatográfia vagy a kapilláris elektroforézis is megfelelő megoldást kínálhat.

A fluor beépítésével jelentős változások érhetők el a biológiai aktivitásban, így a fluortartalmú vegyületek gyógyszerészeti alkalmazásai évről évre növekvő jelentőséggel rendelkeznek. Farmakológia szempontból különösen ígéretes vegyületcsalád a fluorozott triptofánok, így munkánk során célul tűztük ki ezen vegyületcsaládba tartozó újonnan szintetizált molekulák enantioszelektív elválasztásának vizsgálatát, illetve különböző királis folyadékkromatográfiás kolonnák kromatográfiás jellemzőinek meghatározását.

Köszönetnyilvánítás

A munkát az OTKA a K137607 számú pályázaton keresztül támogatta, melyért a szerzők köszönetüket fejezik ki. A TKP2021-EGA-32 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg.

E-15 | Molekulák térben és időben

Márk László, Bánkúti Stefánia

Pécsi Tudományegyetem, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, Pécs

A patológiás körülményekre jellemző molekuláris folyamatok diagnosztikája során a legváltozatosabb típusú és koncentrációjú biomolekulák, többek között proteinek, peptidek, hormonok, gyógyszer metabolitok megbízható, minőségi és mennyiségi vizsgálatát igényli. Ennek a kihívásnak megfelelően a klinikai laboratóriumok a legmodernebb analitikai módszerekkel vértezik fel magukat, ebben az eszköztárban többek között megtalálható a gáz- és folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria is. Napjaink egyik legígéretesebb peptid, protein és lipid biomarker diagnosztikai alkalmazása a MALDI TOF/TOF tömegspektrometriára épülő képképző módszer (MALDI Imaging), melynek során egy speciális mintatartóra 10-20 mikronos szövettani metszetet és mátrixot szárítunk. Ezt követően a mintáról előre meghatározott szisztémában és lézerintenzitással több ezer tömegspektrumot vesszünk fel, amelyeket a megfelelő szoftver az egyes m/z értékekhez tartozó intenzitások eloszlását képként jeleníti meg. A módszer óriási előnye, hogy párhuzamosan alkalmazható az egyéb (*in-vivo* fluoreszcens, NMR, MRI, CT, FT IR) képképzési módszerekkel, így olyan új tudományos és diagnosztikai eredményeket szolgáltat, amelyek forradalmasítják a klinikai diagnosztika mai módszertanát.

Munkánk során feltérképeztük a spermatogenezist és a korai embrionális fejlődést érintő molekuláris változásainak térbeli és időbeni változásait. Jelentős eltéréseket tapasztaltunk a foszfolipidek, prosztaglandinok, szeminolipidek és archaidonsav származékok lokális eloszlásában. Eredményeink új lehetőségeket nyitnak meg az *in vitro* fertilizáció eredményességének növelésében.

E-16 | Izotópok, izomerek, izobárok – gyógyszermetabolitok elválasztása, detektálása és szerkezetazonosítása nagyfelbontású folyadékkromatográfiás tömegspektrometriával

Kirschner Norbert

Richter Gedeon NyRt., Fejlesztési gyógyszer-metabolizmus és farmakokinetika osztály, Budapest

A gyógyszermetabolitok profilírozása komplex bioanalitikai feladat, amely magában foglalja a metabolitok elválasztását egymástól és az endogén vegyületektől, a metabolitok detektálását, szerkezetük azonosítását és az egyes metabolitok mennyiségi arányainak legalább szemikvantitatív szinten történő meghatározását.

Előadásomban a metabolitok detektálásának és szerkezetazonosításának kérdését állítom a középpontba. Mindkettőben nagy segítséget nyújt a folyadékkromatográfiával kapcsolt nagy felbontású egyszeres, ill. tandem tömegspektrometria (LC-HRMS, LC-HRMS(n)), amely az utóbbi évtizedekben a metabolitok szerkezetvizsgálatának standard módszerévé lépett elő.

A nagy felbontású tömegspektrometria a vizsgált molekulák pontos tömegének mérése révén alaptól lehetővé teszi azonos nominális tömegű, de eltérő elemi összetételű vegyületek (izobárok) megkülönböztetését, de tandem módban, az egyes fragmensek nagy érzékenységgű detektálása révén gyakran megkönnyíti az izomerek, vagyis az azonos elemi összetételű vegyületek elkülönítését és „finomszerkezetük” pontosabb meghatározását is. A módszer mindezek mellett lehetővé teszi a vizsgált vegyületek természetes (pl. $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) vagy mesterséges (pl. $^{12}\text{C}/^{14}\text{C}$) izotóparánya szerinti szűrést is. Előadásomban mindezeket gyakorlati példákon keresztül tervezem bemutatni.

E-17 | Az ionkromatográfia alkalmazási lehetőségei a gyógyszeranalitikában

Páll Boglárka^{1,2}, Kormány Róbert¹, Horváth Krisztián²

¹ Egis Gyógyszergyár Zrt., Budapest

² Pannon Egyetem, Veszprém

Az egyre szigorodó gyógyszerengedélyezési eljárások során, a gyártott készítmény szintézisútján fellelhető összes anyag életútját követni kell és megbizonyosodni arról, hogy a késztermékben nem köszönnek-e vissza. Ez gyakorlatban azt is jelentheti, hogy igazolni kell, hogy a gyártott hatóanyagban nincs a kiindulási anyagból, még abban az esetben is, ha számtalan reakció lépéseként keletkezik meg a termék. Az elmúlt évek során a makromolekulás készítmények piaca egyre bővült, de az engedélyezések számát tekintve, még mindig a kismolekulás gyógyszertermékek vannak vezető pozícióban. A gyógyszeranalitika feladata egy adott termék minőségét megadni, mely magában foglalja a hatóanyagtartalmának meghatározását és a szennyezésprofiljának feltérképezését is. A fejlesztések során sok esetben olyan szennyezők vizsgálatát kell elvégezni az analitikusoknak, melyek rákkeltő vagy mutagén hatásúak, így nagyon alacsony koncentráció szinten kell meghatározni a mennyiségüket GMP (Helyes Gyógyszergyári Gyakorlat) körülmények között. Az ilyen problémák esetében előtérbe kerülnek a kromatográfiás vagy a nagyműszeres vizsgálatok, vagy a kettő kombinációja. A kromatográfiás technikák közül a folyadékkromatográfia segítségével számtalan típusú feladat megoldható a megfelelő kromatográfiás oszlop és detektor segítségével. Az ionkromatográfia, mint folyadékkromatográfiás módszer, talán nem olyan elterjedt kromatográfiás eljárás a gyógyszeranalitikában, mint fordított fázisú rokona, de nagyon hasznos része lehet a vizsgálati rendszernek. Az előadásban bemutatásra kerülnek az ionkromatografálható vegyületek köre, továbbá, hogy milyen szerepe lehet és van is ennek a technikának a hatóanyagok vizsgálata során, valamint, hogy milyen segítséget adhat számunkra a szervesen ionok vizsgálatán túl. A különböző szennyezők vizsgálatára hozott példák igazolják, hogy az ionkromatográfia a többi kromatográfiás technikával és a különböző analitikai módszerekkel együtt adhatnak gyors, pontos képet egy gyártott termék minőségéről.

Ezt a munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal KDP-2020 ösztöndíj programja támogatta, melyért a szerzők köszönetüket fejezik ki.

E-18 | Heparán-szulfát diszacharidok mintaelőkészítési és tárolási folyamatainak vizsgálata HPLC-MS alkalmazásával

Pál Domonkos^{1,2}, Tóth Gábor³, Turiák Lilla¹

¹ HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, MTA-TTK Lendület Glikán Biomarker Kutatócsoport, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Doktori Iskola, Budapest

³ BMC Department of Chemistry, Uppsala University, Uppsala, Sweden

A heparán-szulfát (HS) láncok a glükózaminoglikánok (GAG-ok) egyik osztálya, melyek jelentős biológiai funkciókat töltenek be. A GAG-ok szerkezetének vizsgálatára az egyik leggyakrabban alkalmazott módszer a poliszacharid láncokat felépítő diszacharid építőegységek analitikai jellemzése egy összetett mintaelőkészítési folyamatot követően. A GAG-ok egy másik osztályának, a kondroitin-szulfátoknak a stabilitására és visszanyerésére vonatkozóan rendelkezésre áll szakirodalom. Mivel a HS diszacharidok akár 4 szulfátcsoportot is tartalmazhatnak, így a CS GAG-osztályhoz képest érzékenyebbek lehetnek a mintaelőkészítési folyamat során bomlásra. Ezen hatások vizsgálatára stabilitási és visszanyerési vizsgálatokat végeztünk HS diszacharidokon.

A mintákat nanoHPLC-MS-sel vizsgáltuk negatív ionizációs üzemmódban. Az elválasztást egy 250 µm × 10,5 cm-es, GlycanPac AXH-1 állófázissal töltött saját készítésű kapilláris oszlopon végeztük, ammónium-formiát sógradiens alkalmazásával. Megvizsgáltuk a visszanyerést befolyásoló paramétereket, mint például a bepárlás és a fagyasztás. Vizsgáltuk továbbá a hőmérséklet, a pH és a különböző oldatok és tároló edények hatását a HS diszacharid standardok stabilitására.

A visszanyerési vizsgálatok azt mutatták, hogy beszárítás esetén a tiszta víz a legkedvezőbb választás, míg a minták fagyasztásához a folyékony nitrogén használata előnyösebb a -20 °C-on történő fagyasztással szemben. A stabilitási vizsgálatok során megállapítottuk, hogy a HS diszacharid minták semleges pH-érték mellett akár 24 órán keresztül is biztonságosan tárolhatóak. Az ammónium-hidrogén-karbonát tartalmú oldószerekben akár 48 órán keresztül is tárolhatóak a minták 4 °C-on. Megállapítottuk továbbá, hogy a HS diszacharidok stabilabbak az acetonitrilt tartalmazó oldatokban, mint a metanolt tartalmazókban. Az ammónium-formiát só hozzáadása ezekhez az oldószerekhez tovább növelheti a többszörösen szulfatált diszacharidok stabilitását. Megfigyeléseink hozzájárulhatnak a jövőbeni analitikai mérések megbízhatóságának növeléséhez.

E-19 | BEAS-2B és A549 sejtvonalakból származó kis extracelluláris vezikulák glikomikai és proteomikai jellemzése

Balbisi Mirjam^{1,2}, Langó Tamás³, Horváth Virág¹, Pál Domonkos^{1,2},
Kecskeméti Gábor⁴, Szabó Zoltán⁴, Schlosser Gitta⁵, Varga Zoltán⁶,
Ilyés Kinga⁶, Nagy Nikolett³, Tóth Otília³, Vértessy G. Beáta³,
Turiák Lilla¹

¹ HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, MTA-TTK Lendület Glikán Biomarker Kutatócsoport, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Doktori Iskola, Budapest

³ HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Molekuláris Élettudományi Intézet, Budapest

⁴ Szegedi Tudományegyetem, Orvosi Vegytani Intézet, Szeged

⁵ Eötvös Lóránd Tudományegyetem, MTA-ELTE Lendület Ionmobilitás-tömegspektrometria Kutatócsoport, Budapest

⁶ HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Biológiai Nanokémia Kutatócsoport, Budapest

Az extracelluláris vezikulák (EV-k) a sejtek membránjából felszabaduló, lipid kettősréteggel határolt részecskék, amelyek alapvető szerepet játszanak a sejtek közötti jelátvitelben és a sejtek közötti kommunikációban. Célunk egy olyan módszertan kidolgozása volt, amely alkalmazható tüdő sejtvonalakból izolált kis EV-k (30-150 nm) proteomikai, N-glikopeptid és kondroitin szulfát (CS) glükózaminoglikán profiljainak jellemzésére, hogy megérthessük a daganatos és a nem- tumoros tüdő sejtvonalak proteomikai és glikomikai profiljai közötti eltéréseket. Az A549 tüdő adenokarcinóma sejteket és a nem-tumoros bronchiális epithelialis BEAS-2B sejteket 72 órán keresztül tenyésztettük, majd a kis EV-ket a felülúszóból, centrifugálási és szűrési lépéseket követően izoláltuk méretkizárásos oszlopokon. A kis EV-ket ismételt fagyasztási-olvasztási ciklusoknak vetettük alá, és tripszinnel és kondroitináz ABC enzimekkel emésztettük. A peptid frakcióból az N-glikopeptideket acetonos kicsapással dúsítottuk. Szilárdfázisú extrakciós tisztítást követően a peptideket, az N-glikopeptideket és a CS diszacharidokat nanoUHPLC-MS(MS) segítségével elemeztük. Előkísérleteinkben adatfüggetlen proteomikai méréssel a 100 leggyakoribb vezikuláris markerfehérje több, mint háromnegyedének jelenlétét igazoltuk a kis EV mintákban, ami megfelelő minőségű EV mintákra utal. Emellett mintánként körülbelül 100 N-glikopeptidet azonosítottunk, köztük vezikuláris markerfehérjék glikopeptidjeit is, illetve eltéréseket figyeltünk meg a CS diszacharidok szulfatáltságában a két sejtvonal között. Előzetes eredményeink rávilágítanak arra, hogy a rákos és nem rákos eredetű EV fehérjék glikozilációjának feltárása fontos szerepet játszhat a betegség progressziójának hátterében álló mechanizmusok megértésében.

E-20 | Fehérjék közvetlen injektálós ESI-MS elemzése nagy mátrix tartalmú mintákból: Taylor-Aris diszperzió segített tömegspektrometria (TADA-MS)

Szabó Ruben, Nagy Cynthia, Gáspár Attila

Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Debrecen

A Taylor-Aris diszperzió jelenség kihasználásával olyan elektroporlasztós ionizációs tömegspektrometriás (ESI-MS) módszert dolgoztunk, mely lehetővé teszi nagymolekulák (pl. terápiás fehérjék) közvetlen mintainjektálós ESI-MS meghatározását gyógyszerészeti termékekben a zavaró hatások jelentős mértékű csökkenése révén [1]. A módszer alkalmazásával a tömegspektrometriás elemzés előtt nincs szükség off-line mintaelőkészítésre (pl. a fehérje tisztítására, a mátrixanyagok eltávolítására dialízissel, SPE-vel vagy kromatográfiás eljárásokkal) vagy elválasztási módszerek (jellemzően HPLC) on-line kapcsolására az MS-hez.

A módszer lényege, hogy amikor egy rövid mintadugó laminárisan áramlik egy kapillárisban, akkor a mintadugónak a kapilláris közepére eső részében lévő molekulák gyorsabban haladnak, mint a kapilláris szélén lévők. A kis diffúziós állandójú (azaz nagy méretű) molekulák (pl. fehérjék, mAb-ok) radiálisan csak kis mértékben változtatják pozíciójukat a lamináris áramlás során, így a molekulák eredeti sebességeloszlásának hatására kiszélesedik a mintasávjuk. Ezzel szemben a kis molekulatömegű, nagy diffúziós állandójú komponensek a nagyobb diffúziójuk miatt pozíciójukat a különböző áramlási sebességű részek közt változtatják, ami kisebb mértékű jelszélesedést eredményez. Ennek következtében a nagy méretű molekulák hamarabb jutnak be a detektorba, mint a nagyobb diffúziós állandójú kisebb molekulák. A TADA-MS kifejezetten előnyös lehet a fehérjék natív körülmények között történő elemzéséhez, mivel a módszer akkor is – akár több nagyságrenddel – csökkenti a zavaró hatásokat (így a detektálási érzékenység romlását), ha az ESI-MS elemzést Na-, K-sókat, foszfátvegyületeket tartalmazó (pl. PBS) nem illékony pufferben, pH=7-nél és szerves oldószer nélkül kell végrehajtani [2].

Ezt a munkát a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (K142134) és az Új Nemzeti Kiválóság Program (ÚNKP-23-3-I-DE-115) támogatta.

[1] Szabo R., Nagy C., Gaspar A., *Angew. Chem. Int. Ed.* 2024, 63, e202318225

[2] Szabo R., Gyemant Gy., Nagy C., Andrási M., Gaspar A., *Anal. Chem.* 2024, 96, 11309–11317

E-21 | Mennyi információt tartalmaznak a HPLC-MS/MS spektrumok?

Szabó Dániel, Révész Ágnes, Gömöry Ágnes, Vékey Károly,
Drahos László

HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

A HPLC-MS/MS mérések során felvett tandem tömegspektrumok minősége – azaz a spektrumban észlelhető csúcsok száma és intenzitása, valamint a zaj intenzitása – jelentősen függ az alkalmazott kísérleti paraméterektől, különösen az ütközési energiától, amely tömegspektrometriás szempontból az egyik legfontosabb tényező. Az ütközési energia megfelelő beállítása alapvető fontosságú a sikeres vizsgálathoz, azonban annak eldöntése, hogy melyik beállítás a legmegfelelőbb, csak részletes kiértékelést követően lehetséges. Célunk egy olyan jellemző meghatározása volt, amely lehetővé teszi – a vizsgált komponens szerkezetének ismerete nélkül – a tandem tömegspektrumok információtartalmának számszerűsítését.

Munkánk során kifejlesztettünk egy olyan módszert, amelyben az energiafüggő tandem tömegspektrumok segítségével, a komponens pontos szerkezetének ismerete nélkül is meghatározható, hogy melyik spektrum tartalmazza a legtöbb információt, azaz melyik spektrum a legalkalmasabb a vizsgálatra. Az előadásban ennek a technikának az alkalmazási lehetőségeit és korlátait tekintjük át.

E-22 | A papír sok mindent elbír, avagy esettanulmányok a vegyszerpiacon kapható néhány mikotoxin referencia anyagról

Bartók Tibor¹, Horváth Levente¹, Hetényi Anasztázia²

¹ Fumizol Kft., Szeged

² SZTE NMR Laboratórium, Szeged

A toxinogén fonalgombák által termelt mikotoxinok – a szermaradványok mellett – a legjelentősebb élelmiszer- és takarmány szennyezők közé tartoznak. Az Európai Unió is rendeletben szabályozza (2023/915 EU) 13 mikotoxin esetében a különböző élelmiszerekben, alapanyagokban a felső határértékeket. Ezeket a mikotoxin szinteket nemcsak az akkreditált hatósági- és rutin laboratóriumi vizsgálatokat végző magán vállalkozásoknak, hanem a mezőgazdasági és élelmiszeripari üzemeknek is az önellenőrzési rendszerükön (HACCP) belül vizsgálni vagy vizsgáltatni kell, hogy a fogyasztó asztalára minél kevesebb mikotoxinnal szennyezett élelmiszer kerüljön. A különféle mintamátrixokból a mikotoxinok kvalitatív és kvantitatív analíziséhez kalibrációs referencia anyagokra (standard) van szükség, akár gyorsmódszerrel (ELISA, LFD), akár nagyműszeres analitikai eljárással (leggyakrabban HPLC-MSMS) kerülnek meghatározásra. Becslések szerint 5-10000 olyan laboratórium lehet világszerte, ahol mikotoxinokat akkreditált státuszban vizsgálnak, azaz a referencia anyagok piaca is jelentősnek mondható. A referencia anyagoknak igen tisztának kell lenniük, ill. meg kell felelniük a certifikátjaikban tanúsított értékeknek. Amennyiben a referencia anyag tisztasága nem éri el a tanúsított értéket, a kalibrációs görbe meredeksége csökken, aminek következtében a mintában előforduló valós mikotoxin szint feletti eredményt fog produkálni az analitikai eljárás, legyen szó gyors módszerről, vagy nagyműszeres analitikai eljárásról. Amennyiben hatósági laboratórium ad meg helytelen eredményt (főlé mér), akár bírósági eljárást is eredményezhet a rosszul elvégzett vizsgálat. Az előadás olyan – mikotoxin referencia anyagokkal kapcsolatos – esettanulmányokat fog bemutatni, amikor a certifikátban leírtak köszönőviszonyban sincsenek a valós értékekkel.

RÖVID TANFOLYAMOK

RT-01 | A bioanalitika egy- és kétdimenziós világa

Berkecz Róbert^{1,2}, Körmöczi Tímea¹, Ilisz István¹

¹ Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszeranalitikai Intézet, Szeged

² Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Igazságügyi Orvostani Intézet, Szeged

A bioanalitika biológiai minták analízisével foglalkozó tudományterület, amely magába foglalja a mintavételt, mintaelőkészítést, módszerfejlesztést, validálást és az alkalmazást. Az endogén és exogén anyagok biológiai mátrixokból történő elemzésére napjainkban az egydimenziós folyadékkromatográfiával kapcsolt tömegspektrometriás (LC-MS) analitikai módszerek a legelterjedtebbek. Az egydimenziós elválasztás során a biológiai minták komplexitásából adódó nagyszámú komponens koelúciója okozta kedvezőtlen mátrixhatás csökkentésére megoldást nyújthat a kétdimenziós ultra-nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás elválasztás alkalmazása nagyfelbontású tömegspektrometriás detektálással. Napjainkban a kétdimenziós elválasztás elterjedését nagyban segítik a műszergyártó cégek által kínált elérhető kétdimenziós konfigurációk és kiértékelő szoftverek.

Az előadás során betekintést kapunk az orvosi-biológiai kérdések megválaszolásához szükséges endogén és exogén anyagok analitikai eredményeinek eléréshez vezető egy- és kétdimenziós LC-MS módszerfejlesztésekről és a kapott eredmények értelmezéséről, részletezve az alkalmazott mintaelőkészítési módszereket. A bemutatott célzott és átfogó LC-MS mérési módszerek érintik a fordított fázisú (RP) és a hidrofil kölcsönhatású folyadékkromatográfiás (HILIC) elválasztásokat, illetve a kombinációjukkal kidolgozott kétdimenziós technikákat.

RT-02 | Multikomponenses növényvédőszer-maradék vizsgálatok élelmiszerekben

Marczika Andrásné Sörös Csilla

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék, Budapest

Élelmiszereink szennyező anyagai közé tartoznak a növényvédő szerek hatóanyagai, melyek nélkül a mai mezőgazdaság nem működne. Az Európai Unió nagyon szigorúan szabályozza e biológiailag aktív vegyületek használatát és éves monitor-programot ír elő a szermaradékok vizsgálatára élelmiszereinkben. Az ellenőrző tevékenység nem csak az engedélyezett hatóanyagokra terjed ki, hanem a távoli országokban legális, vagy illegális peszticidekre is, ezáltal kb. 1400 valaha regisztrált hatóanyagra. A vizsgálatok sajátossága, hogy multikomponenses módszerek használatával zajlik, ami azt jelenti, hogy egy méréssel 350-400 vegyületet kell meghatározni, ezzel igazi kihívást jelent mind az elválasztástechnika, mind a detektálás oldaláról.

A tanfolyamon röviden ismertetem a célkomponenseket, bemutatom a növényvédőszer-ipar dinamikus változásának tendenciáit, az EU új célkitűzéseit a növényvédelem területén. Ezzel összefüggésben szót ejtek a szabályozásról, a maximálisan megengedhető szermaradék koncentrációkról, az analitikai módszerekkel kapcsolatos elvárásokról. Majd részletesen bemutatom az UHPLC-MS/MS szermaradék-analitikai protokoll egyes részeit, különös tekintettel a módszer multikomponenses jellegéből adódó sajátosságait.

POSZTEREK

P-01 | Mikotoxinok vizsgálata gyógynövényekben HPLC-ESI-MS eljárással

Pilisi Anna¹, Balázs Viktória Lilla¹, Horváth Levente², Horváth Györgyi¹, Bartók Tibor²

¹ Pécsi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognóziai Intézet, Pécs

² Fumizol Kft., Szeged

Bevezetés: A gyógynövények napjainkban széles körben elterjedtek otthoni alternatív gyógymódként és alapanyagként a gyógyszeriparban, viszont a termesztés, tárolás, feldolgozás és forgalmazás során szennyeződéseknek vannak kitéve különböző gombák által, amelyek felelősek lehetnek a mikotoxinok termeléséért [1]. Egyre több külföldi tanulmány számol be a gyógynövények mikotoxin szennyezettségéről. Magyarországon eddig nem fektettek különösebben hangsúlyt a gyógynövények, illetve készítményeik mikotoxin szennyezettségének vizsgálatára. Ezért munkánk során a következő célkitűzést foglalmaztuk meg: Módszerkidolgozás gyógynövények mikotoxin tartalmának nagyműszeres analitikai eljárással (HPLC-MS) történő meghatározására.

Anyag és Módszer: Vizsgálatunkba 31 gyógynövényt mintát vontunk be. Kettő minta külföldről származott, a többit Magyarországról szereztük be. Mintaelőkészítésként SPE immunoaffinitás (IAC) oszlopon történő szilárd fázisú extrakciót alkalmaztunk, majd a HPLC-ESI-MS mérések következtek. Meghatároztuk a módszer LOD és LOQ értékeit, illetve a kalibráció linearitását.

Eredmények: A gyógynövényt mintákban egy minta kivételével, az alkalmazott HPLC-ESI-MS eljárással nem volt detektálható mikotoxin. Az egyik kamilla mintában azonban LOQ feletti dezoxinivalenol (DON) toxint találtunk, amelyet belső standard kalibráció segítségével értékeltünk ki. A kamilla minta DON toxin tartalma 57,5 µg/kg volt. Kamilla mintában a vizsgálataink mutattak ki először DON szennyezést.

Következtetés: Gyógynövényekre vonatkoztatva a gyömbér és kurkuma aflatoxin tartalmán kívül jelenleg nincs hatályos jogszabály, mely tartalmazná a mikotoxin szennyeződések megengedett felső határértékeit, az Európai Unió 2023/915 rendelete alapján viszonyíthatunk (pl. feldolgozatlan szemes búzához). Munkánk mindenképp figyelemre érdemes, a fogyasztók védelme érdekében szükségszerű egy szabályozás, hogy a forgalomba kerülő gyógynövények mikotoxinokkal való szennyezettsége is minimalizálódjon és a szabályozás révén a vállalkozások beépíthessék önellenőrzési rendszerükbe (HACCP) termékeik mikotoxin tartalmának rendszeres vizsgálatát.

Felhasznált irodalom

[1] Ashiq S. et al. (2014): Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants. *Fungal Genetics and Biology*, 66:1.

P-02 | Hirdokortizon-hemiszukcinát mérése folyadékkromatográffal kapcsolt tandem tömegspektrométerrel

Csöndör Éva¹, Marosvári Dóra³, Kovács Kata², Dobi Mariann²,
Szabó Miklós², Farkas Róbert¹

¹ Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Tömegspektrometriai és elválasztástechnikai
Laboratórium, Budapest

² Semmelweis Egyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Bókay utcai részleg, Budapest

³ Pécsi Tudományegyetem, Egészségtudományi Kar, Pécs

A hidrokortizon-hemiszukcinátot terápiás szempontból az újszülötteknél fellépő mellékvese-elégtelenség esetén alkalmazzák. Mellékvese-elégtelenség fennállásakor a szervezet nem tud megfelelő stresszhormon választ kialakítani, amelynek súlyos következményei lehetnek. A szteroidok terápiás alkalmazása előnyökkel és hátrányokkal is járhat, az optimális dózis beállítása egy újszülött betegcsoport esetén kiemelten fontos. Célunk egy klinikai laboratóriumi vizsgálómódszer kifejlesztése és teljes körű validálása volt, amely lehetővé teszi a hidrokortizon-hemiszukcinát szérumban történő meghatározását folyadékkromatográffal kapcsolt tandem tömegspektrométerrel (LC-MS/MS).

A mintaelőkészítés során 25 µl mintatérfogatból kiindulva fehérjekicsapást végeztünk, belső standardként metilprednisolon-hemiszukcinátot használtunk. Az előkészített minták mérése Shimadzu Nexera XR folyadékkromatográfiás rendszerrel kapcsolt AB Sciex QTrap 5500 tömegspektrométerrel történt. Fordított fázisú kromatográfiát alkalmaztunk, gradiens elúcióval. A tömegspektrometriás detektáláshoz pozitív elektropray ionizációt és többszörös reakciókövetést alkalmaztunk. A mérési idő 8 perc volt, a kalibrált koncentráció-tartomány 150-4000 ng/ml volt. A módszer validálását a European Medicines Agency 2011-es ajánlása alapján végeztük.

A napon belüli és napon túli pontosság és reprodukálhatóság, valamint a mátrixhatás vizsgálatok során mért és a várt értékek százalékban kifejezett hányadosainak átlaga az egyes adalékolási szinteken 85-115%, ezek relatív standard deviációja (RSD) 15 % alatt volt. A hígítási integritás és a 24 órás autosampler stabilitási vizsgálat során a célértéktől való eltérés, valamint az RSD értékek sem haladták meg a 15%-ot. Ugyanezt az eredményt kaptuk az előkészített minták 2 különböző hőmérsékleten (4°C, -20°C), valamint a szérumban tartott minták -20°C-on történő tárolásakor 5 különböző időpontban. Az előkészített mintákat legfeljebb 14 napig tároltuk, a szérumban tartott mintákat -20°C-on 35 napig, -80°C-on két hónapig.

A kifejlesztett eljárást alkalmasnak ítéljük a hidrokortizon-hemiszukcinát újszülöttektől nyert szérumban történő vizsgálatához történő kísérleti kipróbálására.

P-03 | Gyógyszerkészítmények segédanyagainak nitrozáló ágens (nitrit) tartalom vizsgálata

Dravecz Ferenc

Richter Gedeon NyRt., Budapest

Az utóbbi években a gyógyszeranalitika egyik központi feladata a genotoxikus N-nitrozoszennyezések vizsgálata. A gyógyszerhatóanyagok és készítmények vizsgálata során több esetben is azt tapasztaltuk, hogy míg a hatóanyagban N-nitrozo vegyületek nem detektálhatóak, addig az abból készült készítményekben (kapszulák, tabletták) kimutathatóak. Az ilyen esetekben mindig felmerült a kérdés, hogy a felhasznált segédanyagok tartalmazhatnak-e valamilyen nitrozáló ágenst, amely a hatóanyagban jelenlévő amin forrással képezhet N-nitrozo vegyületet. Ezt a feltételezést a kapszulázáshoz és tablettázáshoz felhasznált segédanyagok vizsgálatával próbáltuk megerősíteni vagy elvetni.

A szokásos inkompatibilitás vizsgálat mellett kidolgoztunk egy screen-módszert is, a készítményfejlesztés támogatására.

A vizsgálat során savas közegben dimetil-amint adtunk a különböző segédanyagokhoz és megvizsgáltuk, hogy képződött-e N-nitrozo-dimetilamin.

A mérést head-space üvegben, in situ származékképzést követő gázkromatográfiás elválasztással, érzékeny és szelektív tömegspektrometriás detektálással (MRM GC-MS/MS módszer) végeztük. Az inkubálás körülményeit (inkubálási idő és hőmérséklet), a tömegspektrometriás körülményeket és az in situ reakció körülményeit (pl. megfelelő alapoldószer és a megfelelő savas közeg kiválasztása) optimalizáltuk.

Alkalmaztuk az irodalomban leírt alternatív head-space MRM GC-MS/MS módszert is. Ez a módszer a ciklamát nitrittel ciklohexénné történő átalakításán alapul egy egyszerű in situ reakcióban.

A ciklohexén keletkezését szintén tömegspektrometriás detektálással (MRM GC-MS/MS módszer) mértük.

P-04 | Almatörköly kivonatok hatása szénhidrátemésztésre

Tormási Judit, Aira Joy Aquino, Benes Eszter, Abrankó László

Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék, Budapest

Hazánk egyik legnagyobb mennyiségben termelt gyümölcse az alma, mely jelentős része almalé gyártás alapanyagaként szolgál. Ebből kifolyólag a visszamaradó almatörköly jelentős mennyiségű élelmiszer ipari melléktermékként kerül ki a körforgásból. A gyümölcstörkölyök további használata nem csak a melléktermék feldolgozásra jelenthet hozzáadott értékű alternatívát, hanem a táplálkozásélettani pozitív hatásai által, olyan népegészségügyi problémákra is megoldásként szolgálhat, mint a nem-fertőző betegségek (elhízás, 2-es típusú cukorbetegség) elleni küzdelem.

A kutatás célja, almatörköly újra felhasználásának alternatívájaként, bioaktív komponenseket tartalmazó almatörköly kivonatok (oldószer: i) víz és ii) 70:30 aceton:víz) táplálkozásélettani hatásának vizsgálata, első sorban az élelmiszerek glikémiás tulajdonságára gyakorolt hatásának megfigyelése.

A vizsgálatokat az Infogest módszeren alapuló hibrid emésztésszimulációs módszer szerint hajtottuk végre. Mintamatrixként fehér kenyeret (1,65 g) alkalmaztunk. A szimuláció során a kivonatok (3,35 mL) a száji szakaszban adagoltuk a kenyér mintához *in vivo* masztikáció után. Az emésztés során (240 min) több időpillanatban (gyomor szakasz: 15, 30, 45, 60, 90, 120 min; vékonybél szakasz: 150, 180, 210, 240 min) mintát vettünk, melyből szelektív elválasztás után meghatároztuk a felszabadult glükóz mennyiségét GOPOD módszer (glükóz-oxidáz-peroxidáz enzimes kezelés) szerint, spektrofotometrián.

Az eredmények alapján mindkét vizsgált almatörköly kivonatnak volt hatása a szénhidrátemésztésre. A vizes kivonat által kiváltott glükóz felszabadulás csökkentés elenyésző volt az acetonos kivonathoz képest, és csupán a gyomri szakaszra korlátozódott. Ellenben az acetonos kivonat hozzáadása az emésztés teljes időtartama alatt szignifikánsan (időpillanatonkénti *t* próba a kontrollhoz képest, $p < 0,05$) csökkentette a felszabadulás mértékét, így a végponti glükóz mennyiséget is jelentősen befolyásolta, vagyis a fehér kenyér szénhidrátemészthetősége 23%-kal csökkent a kontrollhoz képest.

A kiváltott hatás feltehetőleg az acetonos kivonatban jelenlévő bioaktív komponensek (pl. proantocianidinek) mennyiségének volt köszönhető, melyek aktív enzimgátlással fejtik ki hatásukat. Emellett fontos megemlíteni a kivonatok, olyan egyéb tényezőit is, mint a savas kémhatás vagy a rostok jelenléte, melyek szintén hatással vannak a szénhidrátok emésztésének folyamatára.

P-05 | Élelmi szénhidrátok *in vitro* emésztésszimulációja során keletkező minták cukorprofiljának vizsgálata HILC-RID módszerrel

Benes Eszter, Tormási Judit, Abrankó László

Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék, Budapest

Étkezéseket követő posztprandiális vércukor emelkedés, a kettes típusú cukorbetegség egyik kockázati tényezője. A vércukoremelkedés mértéke, lefutása összefüggésbe hozható az elfogyasztott szénhidrátok minőségével, illetve befolyásolható a keményítőemésztés kinetikájára hatással lévő egyéb élelmiszerekkel.

A munka célja, hogy olyan folyadékkromatográfiás módszert fejlesszünk, mely alkalmas mind a kutatásba bevont, a posztprandiális vércukoremelkedést potenciálisan befolyásolni képes gyümölcskészítmények (pl.: meggylé), illetve melléktermékek (pl.: almatörköly és ennek kivonatai) endogén cukorösszetevőinek: fruktóz (Fru), galaktóz (Gal), szacharóz (Sac), illetve a kísérleti modellben tesztélelmiszerként alkalmazott fehérkenyér keményítőemésztése során felszabaduló katabolitok: glükóz (Glc), maltóz (Glc2) és maltotrióz (Glc3) vizsgálatára. A kifejlesztett módszert gyümölcskészítmények cukorprofiljának vizsgálatára, illetve olyan kísérletekben kívánjuk alkalmazni, ahol emésztésszimulációs modellben, standard fehérkenyér (mint referenciaélelmiszer) keményítő emésztését modellezzük és a kísérletekben fehérkenyér referencia élelmiszerhez adagolt különböző egyéb élelmiszerek (pl.: gyümölcskészítmények) keményítőemésztésre gyakorolt hatását kívánjuk vizsgálni.

Az emésztési kísérleteket az Infogest módszeren alapuló hibrid emésztésszimulációs módszer szerint hajtottuk végre. Az emésztésmodellezés során több időpontban mintát vettünk. Minta-előkészítési, tisztítási lépésként az emésztésszimuláció során keletkező elegyből vett mintákat etilalkohol hozzáadásával, 80% EtOH tartalmú mintákat készítettünk, majd centrifugáltuk. A cukrok vizsgálatát Agilent 1200 HPLC-RID berendezéssel, ACN/víz izokratikus elválasztást alkalmazva, az alábbi két kolonnával végeztük: 1) amin: Phenomenex Luna 250 x 4.6 mm 5 µm NH₂ 100 Å, és 2) amid: Phenomenex Luna Omega Sugar 250 x 4.6 mm, 3 µm 100 Å,

Eredményeink alapján a fruktóz, glükóz, szacharóz maltóz, maltotrióz elválasztás mindkét kolonnával sikeresen megoldható. A valós minták tapasztalatai azonban azt mutatták, hogy a gyümölcsmintában megtalálható galaktóz (Gal), valamint az egyik emésztésszimulációhoz alkalmazott enzimmészítményben (pankreatin) adalékanyagként alkalmazott laktóz (Lac) jelenléte az amin kolonnán (Glc/Gal és Mal/Lac) koelúciós problémát okoz. Mind a Lac/Mal, mind a Glu/Gal koelúció megszüntethető volt az amid kolonnán. Ugyanakkor olyan emésztmény-minták esetén, ahol például alma, vagy meggy bioaktív összetevőinek keményítőemésztésre gyakorolt hatását kívántuk vizsgálni, ezen gyümölcsökben található szorbitol (Sor) okozott Glc/Sor koelúciót az amid kolonnán. Ez a Glc/Sor koelúció nem jelentkezett azonban az amin kolonnán.

Tapasztalataink tehát azt mutatják, hogy feladat megfelelő elvégzéséhez mind az amin, mind az amid kolonna együttes alkalmazására szükséges, hogy a célként meghatározott analitok mellett, a valós mintákban jelen lévő egyéb RI aktív anyagok megfelelő elválasztását elvégezhessük.

P-06 | Pirimidinszármazékok folyadékkromatográfiás kölcsönhatásainak vizsgálata poliszacharid típusú királis állófázisokon

Németi Gábor¹, Tam Le Minh², Szakonyi Zsolt², Péter Antal¹,
Ilisz István¹

¹ Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszeranalitikai Intézet, Szeged

² Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet, Szeged

Az élő szervezetekben lejátszódó folyamatokban számos királis vegyület vesz részt, ezek enantiomerei különböző hatást fejthetnek ki. Érthető így, hogy a királis farmakonok vizsgálata, tiszta enantiomerek szintézise, vagy a racém elegyek elválasztása kiemelt fontosságú. Manapság az elválasztásra az egyik legjobb lehetőség, ha királis állófázisokat alkalmazunk, melyek közül a poliszacharid típusú királis szelektorok mára a leggyakrabban alkalmazott királis állófázisok csoportját alkotják. A normál fázisú elválasztások mellett a „zöldebb” oldószereket alkalmazó fordított fázisú és poláris-szerves, illetve poláris-ionos kromatográfiás módok számos előnnyel rendelkeznek, például alkalmazásukkal gyakran érhető el gyorsabb és kellően hatékony elválasztás..

A pirimidin nagy biológiai jelentőséggel bír, származékainak számos gyógyszerészeti hatása ismert. Hasonlóan jelentős gyógyszerhatóanyagok az α -metilén- γ -lakton csoportot tartalmazó vegyületek. E két vegyületcsoport kombinálásával új, potenciális gyógyszerhatóanyagokat kaphatunk, melyek enantiomereinek elválasztása egy fontos lépés a gyógyszerfejlesztési folyamatok során.

Munkánk során a pirimidinszármazékok enantiomereinek elválasztásához immobilizált poliszacharid típusú királis állófázisokat alkalmaztunk. Vizsgáltuk a mozgófázis összetételének hatását poláris-szerves módban különböző alkoholokat és acetonitrilt, valamint az immobilizált típusú szelektor lehetővé tette az etil-acetát hatásának vizsgálatát is. Tanulmányoztuk továbbá a szerkezeti jellemzők, retenciós tulajdonságok és a hőmérséklet változása közötti összefüggéseket.

Köszönetnyilvánítás:

A munkát a Kulturális és Innovációs Minisztérium támogatta az ÚNKP-23-3-SZTE-191 számú pályázaton keresztül, valamint az OTKA a K137607 számú pályázaton keresztül támogatta, melyért a szerzők köszönetüket fejezik ki. A TKP2021-EGA-32 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg.

P-07 | Colistin mérése humán szérumból és hasúri folyadékból folyadékromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometriával: validálási eredmények

Farkas Róbert¹, Csöndör Éva¹, Kesztyűs Viktor², Karvaly Gellért¹

¹ Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet, Tömegspektrometriai és Elválasztástechnikai Laboratórium, Budapest

² Semmelweis Egyetem Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinika

Utóbbi évtizedekben megnőtt számos patogén baktérium antibiotikumokkal szembeni ellenálló képessége, így szélesebb hatásspektrumú gyógyszerek alkalmazása szükséges ezen kihívások megoldására. Ezek közül egyik fontos lehetőség a rezerv antibiotikumként használt colistin, egy lipo-peptidek keverékéből álló antibakteriális szer, amely néhány évtized elteltével ismét egyre gyakrabban kerül alkalmazásra a polirezisztens kórokozókhoz köthető bakteriális fertőzések visszaszorítása céljából. A colistint szulfo-metilált formában (CMS, Colistin-metát), mint pro-drug adagolják a terápia során, amely a vérkeringésben spontán hidrolízist követően alakul át két hasonló szerkezetű, a keverék fő részét adó colistin A (CSA, polymixin E2) illetve colistin B (CSB, polymixin E1) komponensekre. A colistin tartósan, nagyobb dózisokban való alkalmazása jelentős vesekárosodást okozhat, ezért a terápia során a napi szintű monitorozása rendkívül jelentős feladat. Célunk egy rutin klinikai módszer kifejlesztése és validálása volt humán szérumból illetve a harmadik vízteret képező, így gyógyszerkinetikai szempontból jelentős hasúri folyadékból, támogatva ezzel a betegellátás során szükséges döntéshozatalt. Az 50 µl térfogatú minták CSA és CSB tartalmát fehérjék savas kicsapása után, szilárd fázisú extrakciót (SPE) követően, fordított fázisú kromatográfiás állófázison (C18), metanol-víz-trifluorecetsav mozgó fázis elegy gradiens elúciós elválasztását alkalmazva, tandem tömegspektrometriás detektálással mértük. Az eredmények kiértékelése Polymixin B kísérő standard használatával történt. A validálási folyamat során a következő teljesítmény jellemzőket vizsgáltuk: specifikusság, szelektivitás, linearitás, napon belüli illetve napon túli pontosság és precizitás, mintatárolhatóság, mátrixhatás valamint minta áthordás. A mérések során kapott eredmények mindkét mintatípus esetében megfeleltek, illetve az elvárt tartományon belül maradtak. A vizsgálati módszert terápiás gyógyszer szint monitorozás céljából 2022 óta rutinszerűen alkalmazzuk.

P-08 | Bázikus vegyületek elválasztása – Új összehasonlító és rangsoroló módszer fejlesztése a legkedvezőbb kromatográfiás körülmények meghatározására

Simon József^{1,2}, Kovács Márton³, Szabó Pál Tamás¹

¹ HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, MS Metabolomika Kutatólaboratórium, Budapest

² Pannon Egyetem, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

³ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budapest

Poláris molekulák kromatográfiás elválasztása gyakran nem várt bonyodalmakba ütközik. Egyrészt a gyakorlatban alkalmazott módszerek jelentős része C18-as fordított fázist használ, ami legtöbbször nem megfelelő erre a feladatra. Másrészt ezek a molekulák hasonlóságuk ellenére meglepően különböző retenciós tulajdonságokat mutathatnak. Ezekből adódóan egy többkomponensű rendszert optimalizálni nem feltétlen egyszerű feladat. Az összehasonlítást kilenc oszloppal végeztük, amik között fordított fázis és HILIC állófázisú is helyet kapott. A pH szerepét is vizsgáltuk három különböző beállításon. Mindezt gradiens körülmények között tettük. Az összehasonlító rendszer paraméterei kiválasztásánál alapvető tulajdonságokig nyúltunk vissza, mint a csúcsalak és a felbontás. Ezekben igyekeztünk megtalálni a legegyszerűbb számolási módokat. A használt sztenderd oldat tíz poláris bázikus komponenst tartalmazott, amivel igyekeztünk lefedni ezen molekulák széles skáláját, mind moláris tömegben, mind polaritásban. Az kialakított módszer lehetővé tette az adott komponensek kromatográfiás elválasztására használt körülmények számszerű összehasonlítását és rangsorolását. Végül pedig az adott feladatra a legmegfelelőbb analitikai rendszer meghatározását.

P-09 | Szilárd-fázisú extrakciós módszerek összehasonlítása foszfopeptidek tisztítására

Karvaly Krisztián Márk^{1,2}, Bugyi Fanni¹, Turiák Lilla¹

¹ MTA-TTK Lendület Glikán Biomarker Kutatócsoport, HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, Budapest

² Eötvös Lóránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Kémia Intézet, Budapest

A fehérjék poszt-transzlációs módosításainak egyik fajtája a foszforiláció, mely számos biológiai funkciót lát el. Kis mennyiségű biológiai minták foszforilációjának hatékony nanoHPLC-MS/MS vizsgálatához nélkülözhetetlen a mérést megelőző szilárd-fázisú extrakciós (SPE) tisztítás. Célunk olyan SPE módszer optimalizálása volt, mely minimális mintavesztéssel mellett alkalmazható kis mennyiségű (0,5-1 µg) komplex biológiai minták foszfopeptidjeinek sómentesítésére.

A módszerfejlesztéshez formalin-fixált paraffinba ágyazott (FFPE) tüdőrákos szöveteket használtunk. A fehérjék szövet felületi triptikus emésztését követően a kapott peptidkeveréket a fordított fázisú SPE módszerrel tisztítottuk meg, majd a foszfopeptideket TiO₂ SPE módszerrel dúsítottuk. A dúsítást követően sómentesítésre négy állófázist (fordított fázisú SPE: Thermo Scientific™ Pierce™ C₁₈ Column és Pierce™ C₁₈ Spin Tips, Affinisep AttractSPE® Disks Tips C₁₈, hidrofil-liofil kölcsönhatáson alapuló SPE: Affinisep AttractSPE® Disks Tips HLB) használtunk különböző oldószerrendszerekkel. Öt SPE tisztítómódszert hasonlítottunk össze öt párhuzamos mintát használva, emellett öt párhuzamos tisztítatlan mintát használtunk kontrollnak. Waters nanoAcquity HPLC-vel kapcsolt Bruker Maxis II tömegspektrométerrel végeztük a nanoHPLC-MS/MS mérést. A peptid és a fehérje azonosításához a Byonic szoftvert használtuk.

Minden módszer esetében összevetettük az azonosított foszfopeptidek számát, az azonosított foszfopeptidek GRAVY értékét, izoelektromos pontját, a foszforiláció helyének és a foszforiláció számának eloszlását. A legtöbb SPE módszer hasonlóan teljesített, ugyanakkor a Thermo Pierce C₁₈ Spin Tip volt a leghatékonyabb. Ezzel az SPE módszerrel 6,7 %-kal több foszfopeptid került azonosításra, mint a tisztítatlan kontrollminták esetében. Összevetve az azonosított foszfopeptidek átfedését a módszerek között, az azonosított foszfopeptidek nagyjából 50%-a csak egy módszerrel volt kimutatható. Kis mennyiségű komplex minta foszfopeptidjeinek vizsgálatára a Thermo Scientific™ Pierce™ C₁₈ Spin Tip megfelelő hatékonyságot mutatott.

P-10 | Humán szérumminták lipidomikai elemzése - kihívások az LC-MS analízis során

Guba Andrea^{1,2}, Csatári-Kovács Renáta^{1,2}, Káplár Miklós³, Csősz Éva^{1,2}, Kalló Gergő^{1,2}

¹ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Proteomika Szolgáltató Laboratórium, Debrecen

² Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Metabolomikai Kutatócsoport, Debrecen

³ Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Tanszék, Debrecen

A lipidek vizsgálata nagy jelentőséggel bír az orvostudományi kutatásokban, mivel a lipidek metabolizmusa szisztémás hatásokat generál a szervezetben, valamint összefüggésben van az egyén egészségi állapotával. A kutatásunk során kifejlesztettünk egy UHPLC-MS módszert, amely lehetővé teszi 15 lipidmolekula egyidejű elemzését. Vizsgálataink során 3 endokannabinoid (2-arachidonil-glicerín (2-AG), oleoil-etanolamid (OEA), palmitoil-etanolamid (PEA)), 3 omega-3 zsírsav (dokozahexaénsav (DHA), eikozapentaénsav (EPA), α -linolénsav (ALA)), 2 omega-6-zsírsav (linolsav (LA), arahidonsav (AA)) és 7 eikozanoid (5-hidroxi-eikosatetraénsav (5-HETE), 8-hidroxi-eikosatetraénsav (8-HETE), 11-hidroxi-eikosatetraénsav (11-HETE), 12-hidroxi-eikosatetraénsav (12-HETE), 15-hidroxi-eikosatetraénsav (15-HETE), proszttaglandin E₂ (PGE₂), proszttaglandin D₂ (PGD₂)) mennyiségét monitoroztuk. Az LC-MS analíziseket Acquity H-Class UPLC-vel (Waters) kapcsolt 5500 QTRAP (Sciex) tömegspektrometriás rendszeren végeztük. A kromatográfiás elválasztás során 15 perces gradiens elúciót alkalmaztunk, a tömegspektrometriás detektálását Selected Reaction Monitoring (SRM) módszerrel végeztük el. Vizsgálataink során meghatároztuk a 15 komponens retenciós idejét, és a molekulák fragmentációs mintázata alapján kidolgoztuk az SRM-módszert. A kromatográfiás profilt optimalizáltuk az izobár molekulák sikeres elválasztása érdekében. Az így kifejlesztett és optimalizált módszer segítségével elhízott, 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegek és a nemben és korban illesztett kontrollok szérum mintáit elemeztük. A vizsgált komponensek közül az arachidonsav, a linolsav, a dokozahexaénsav és az α -linolénsav voltak jelen a legnagyobb mennyiségben. A elhízott betegek mintáiban a 8-HETE nem volt kimutatható. A PGE₂ és az 5-HETE szintje szignifikánsan alacsonyabb volt az elhízott betegekben a kontroll mintákhoz képest, míg az elhízott betegeknél a 11-HETE koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb volt mint a kontroll mintákban és a 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegek mintáiban. A kifejlesztett LC-MS módszer jól alkalmazható a humán szérum lipid profiljának vizsgálatára.

P-11 | A QDa MS detektor sokoldalú használata a gyógyszerfejlesztésben

Bajtai Attila, Czipóné Takács Tímea, Kovács Máté, Babják Mónika

Richter Gedeon NyRt., Kutatási Analitikai Osztály, Budapest

A gyógyszerfejlesztési és gyártási folyamatok felmerülő kérdéseinek megválaszolásához nélkülözhetetlen, hogy egyszerre gyors, precíz és érzékeny analitikai módszerek kerüljenek kidolgozásra. Ezeknek a módszereknek már a gyógyszerfejlesztés legkorábbi fázisában kiemelt szerepük van, mivel az új potenciális gyógyszervegyületek azonosításához nagyszámú változatos szerkezetű molekula vizsgálata szükséges.

Az optikai detektálást alkalmazó folyadékkromatográfia az egyik legszélesebb körben alkalmazott elválasztástechnikai módszer a gyógyszeriparban. Elterjedtsége ellenére számos korláttal rendelkezik, azonban ezek gyakran kiküszöbölhetők tömegspektrometriai detektálás egyidejű alkalmazásával.

Munkánk során olyan kromatográfiás feladatokat gyűjtöttünk össze, melyek esetén az optikai detektálást tömegspektrometriával kellett támogatni, azonban jelentős idő és költséghatékonyságot értünk el azzal, hogy nem a legbonyolultabb/legdrágább tömegspektrométereket, hanem a Waters Acquity QDa detektorát alkalmaztuk. Ez egy egyszerűbb felépítésű (kvadrupol) tömegszelektív detektor, melynek használatával vizsgáltunk többek között kis fényelnyeléssel rendelkező bomlástermékeket stabilitásvizsgálatok során, valamint egyébként nehezen kimutatható genotoxikus szennyezőt hatóanyag mellett. Emellett sikeresen alkalmaztuk tisztaságvizsgálati módszer fejlesztése során a módszer specifikusságának igazolására, valamint a komponensek azonosítására. A detektor sokoldalúságát igazolja, hogy az adott kromatográfiás rendszerben egyébként nehezen ionizálódó vegyületek meghatározására is alkalmas az oszlopot elhagyó eluens módosítása révén.

P-12 | Lipopoliszacharidok szintézisének vizsgálata *Shigella sonnei* törzsekben

Nagy Laura, Kilár Ferenc

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

A Gram-negatív baktériumok felszínének több, mint 75 százalékát lipopoliszacharid molekulák bányítják. Ezen molekulák szerepe részben strukturális, védőréteget alkotnak a baktérium körül, de meghatározzák a biofilmképző-képességet, a baktérium ellenálló képességét bakteriofágokkal szemben, a baktériumok kölcsönhatását különböző antibiotikumokkal és a szervezet antimikrobiális kemokinjeivel is. A lipopoliszacharidok adott törzsre jellemző struktúrákat mutatnak, azonban a környezet különböző hatásai is befolyásolják a molekulák szerkezetét. A bioszintézis szabályozása a környezet függvényében különösen fontos olyan törzsek esetén, mint az intracelluláris parazita életmódot folytató *Shigella sonnei*, ami nagyon eltérő körülmények között (mind extra-, mind intracellulárisan is) életképes kell, hogy maradjon. A lipopoliszacharid molekulák bioszintézisének finomhangolása az úgynevezett kétkomponensű rendszerrel lehetséges. A baktériumokban számos ilyen kétkomponensű rendszert ismerünk, ezek közül néhány hat a lipopoliszacharidok bioszintézisére is, közülük a legjobban ismert a PhoP/Q és a PmrA/B rendszer. Az egymással kapcsolatban lévő PhoP/Q és a PmrA/B rendszer olyan géneket aktivál, amik többek között befolyásolják a lipopoliszacharidok aciláltsági fokát, valamint foszfoetanolamint és aminoarabinózt helyeznek fel a molekula lipid A részére. Ezek a molekulák hatással vannak a baktérium rezisztenciáira is, jelenlétükben polimixin rezisztencia alakulhat ki.

A szakirodalomból ismertek olyan molekulák, amik a fent említett PmrA/B és PhoP/Q rendszerre hatnak, ezek közül poszterem a dephostatin hatását mutatja be. A dephostatin valószínűsített PmrA/B rendszer gátlásával azt vizsgáltuk, hogy a baktérium képes-e felhelyezni a foszfoetanolamint, valamint az aminoarabinózt, ami a polimyxinekkal (pl. Colistin, Polymyxin B) szemben mutatott rezisztencia kulcsa.

P-13 | Növényi eredetű tejhelyettesítő italok teljes nitrogéntartalmának vizsgálata mikrochip gélelektroforézissel

Balogh-Hartmann Fruzsina, Páger Csilla, Bufa Anita, Sipos Zoltán, Marosvölgyi Tamás, **Makszin Lilla**

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

A fogyasztói társadalomban egyre nagyobb figyelem irányul a növényi eredetű tejhelyettesítő italok összetételére, mivel a gyártók gyakran alkalmaznak különböző adalékanyagokat e termékek stabilizálására, ízfokozására, valamint fehérjetartalmuk növelésére. Ezek a hozzáadott komponensek befolyásolhatják mind a fehérje, mind a nem fehérje eredetű nitrogén összmenyiségét, amely releváns tényező lehet a termékek tápértékének és minőségének megítélésében.

Tanulmányunkban a mikrochip gélelektroforézis High Sensitivity Protein 250 módszert alkalmaztuk a növényi eredetű tejhelyettesítő italok elektroforetikus profiljainak és teljes nitrogéntartalmának gyors és reprodukálható meghatározására. Az eredmények rámutattak, hogy az azonos növényi alapanyagból származó, de különböző márkájú (különböző adalékanyagokat tartalmazó) tejalternatívák eltérő elektroforetikus profillal rendelkeztek, amit a statisztikai elemzés is megerősített. Ezek az eltérések leginkább a különböző adalékanyagok jelenlétére vezethetők vissza. Megfigyelhető volt az is, hogy a mért teljes nitrogéntartalom eltérést mutatott a csomagoláson feltüntetett fehérjetartalomhoz képest. A teljes nitrogéntartalom ismerete különösen a vesebetegségben szenvedők számára fontos, mivel számukra elsődleges szempont a veseműködés terhelésének minimalizálása, a betegség progressziójának lassítása, a tünetek enyhítése a szövödmények elkerülése érdekében [1,2]. Ezért indokolt, hogy az élelmiszer címkén ne csak a fehérjetartalmat, hanem a teljes nitrogéntartalmat is feltüntessék.

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Pécsi Tudományegyetem Kutatási Alap Pályázat 014_2023_PTE_RK/9 támogatta.

Referencia

- [1] Cecchi, S.; Di Stante, S.; Belcastro, S.; Bertuzzi, V.; Cardillo, A.; Diotallevi, L.; Grabocka, X.; Kulurianu, H.; Martello, M.; Nastasi, V.; Paci Della Costanza, O.; Pizzolante, F.; Di Luca, M., Supplemented Very Low Protein Diet (sVLPD) in Patients with Advanced Chronic Renal Failure: Clinical and Economic Benefits. *Nutrients* **2023**, 15, (16).
- [2] Gonzalez, P.; Lozano, P.; Solano, F., Unraveling the Metabolic Hallmarks for the Optimization of Protein Intake in Pre-Dialysis Chronic Kidney Disease Patients. *Nutrients* **2022**, 14, (6).

P-14 | Szénhidrátok minőségi és mennyiségi meghatározása növényi alapú tejitalokban

Terényi Olívia, Makszin Lilla, Fenyvesiné Páger Csilla

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

A szénhidrátok nemcsak a szervezet elsődleges energiaforrásai, hanem a biológiai folyamatok szabályozásához is hozzájárulnak, így elemzésük fontos az élelmiszertudományokban és a biokémiában. Napjainkban a specifikus érzékenységek és allergiák egyre gyakoribbá válása arra ösztönözi az élelmiszeripart, hogy növényi alapú tejtermék-alternatívákat fejlesszen ki, melyek a környezeti fenntarthatóságot is elősegítik. Kutatásunk célja a növényi tejitalokban előforduló szénhidrátok minőségi és mennyiségi meghatározása, ami kiegészítheti a termékek címkéjén feltüntetett összes cukortartalmat.

A kapilláris elektroforézis módszer kis mintamennyiséget és minimális előkészítést igényelve gyors és hatékony alternatívája lehet a szénhidrátok meghatározásának. Ugyanakkor a szacharidok alacsony UV-abszorpcióval rendelkeznek, ami a közvetlen kimutatásukat megnehezíti. Módszerünkben indirekt UV-detektálást alkalmaztunk, nem volt szükség a szénhidrátok mérés előtti derivatizálására, ugyanis elektrolitoldatként imidazólium-alapú ionfolyadékokat használtunk. Megfelelő háttérelnyelést biztosítva az ionfolyadékok nemcsak a detektálást segítették elő, hanem a cukrokkal kialakított eltérő kölcsönhatásaik révén hozzájárultak azok hatékonyabb elválasztásához is. Megvizsgáltuk az elektrolitoldatok összetételének és pH-jának, az alkalmazott feszültségnek és hőmérsékletnek a hatását az elválasztásra. Az optimalizált módszer gyors meghatározást biztosít növényi alapú tejitalokban előforduló szénhidrátok (szacharóz, glükóz, fruktóz) minőségi és mennyiségi elemzésére oly módon, hogy a mérések előtt csak vízzel történő mintahígítást igényel.

Köszönetnyilvánítás

A munkát a Pécsi Tudományegyetem Kutatási Alap Pályázat 014_2023_PTE_RK/9 támogatta.

P-15 | Energiafüggő tandem tömegspektrometria a bakteriális endotoxinok vizsgálatában. Fókuszban a lipid A izomerek mennyiségi meghatározása

Dörnyei Ágnes¹, Sándor Viktor², Kilár Anikó²

¹ Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Pécs

² Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

A lipid A molekulák a bakteriális endotoxinok több szempontból is fontos alegységét alkotják. Egyrészt, fontos szerepük van a Gram-negatív besorolású baktériumok külső sejtmembránjának stabilizálásában; hiszen ebbe ágyazódnak be, miközben az endotoxinokat a baktérium felszínéhez kötik. Másrészt, a lipid A alegység szerkezetétől és az egyes szerkezeti variánsok mennyiségétől függően a véráramba jutó endotoxinok különböző módon és mértékben stimulálhatják a humán immunsejteket. Jobb esetben elősegítik a bakteriális fertőzés leküzdését; rosszabb esetben olyan agresszív immunválaszt is kiválthatnak, amely akár a beteg halálához is vezethet.

A természetes forrásból nyert bakteriális endotoxin mintákat nagyfokú heterogenitás jellemzi. Ezek közül a szerkezeti izomerek kimutatása jelenti a legnagyobb kihívást az tömegspektrometriával foglalkozó analitikusoknak. A lipid A molekulának a hidrofíl (foszforilált diglükózamin alapváz) és a hidrofób (zsírsavakból álló régió) részén is előfordulhat izomerizáció. Mindkettő hatással lehet ezeknek a molekuláknak a kimutathatóságára: azaz, hogy egy tandem tömegspektrometriás (MS/MS) vizsgálat során milyen és mennyi fragmens ion képződik belőlük. A lipid A molekulák teljes szerkezetfejtését a negatív és a pozitív ionizációs módban mért MS/MS spektrumok komplementer információtartalma teszi lehetővé. Az izomerek mennyiségi meghatározásához viszont a pozitív ionizációs módban mért tandem spektrumok nyújtanak nagyobb segítséget.

Poszter előadásomban energiafüggő tandem tömegspektrometrián alapuló módszer kidolgozását és alkalmazását szeretném bemutatni, amely segítségével egy keverékben jelenlévő lipid A izomerek jelenléte és relatív mennyisége meghatározható, akár előzetes elválasztásuk nélkül is.

A munka a 020_2024_PTE_RK/37azonosítószámú Pécsi Tudományegyetem Kutatási Alap Pályázat támogatásával készült.

P-16 | Ionkromatográfiás rendszerek hibadiagnosztikája és megoldási stratégiái

Lukács Diána¹, Tóth-Farsang Evelin¹, Simon József², Horváth Krisztián¹

¹ Pannon Egyetem, Természettudományi Központ, Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

² HUN-REN Természettudományi Kutatóközpont, MS Metabolomika Kutatólaboratórium, Budapest

A kromatográfiás elválasztások során rendkívül bonyolult rendszerek alkalmazására van szükség. A kolonnák és a mozgófázisok helyes kiválasztása, valamint a módszerfejlesztés önmagában is komoly szakértelmet igényel. Ezen túlmenően, a rendszerek hibás működése tovább fokozza az analitikai munka kihívásait.

Kutatásainkban ioncsere-kromatográfiás rendszerek használata során tapasztalható anomáliák, úgymint retenciós idő eltolódás, csúcstorzulás, szellemcsúcsok megjelenése, várt csúcsok eltűnése, nyomásproblémák okának feltárásával foglalkozunk részletesebben. Műszeres mérések és matematikai számítások útján modellezük a kromatográfiás pumpa, oszloptermosztát, kolonna és szupresszor egységek működésének a retencióra és az elválasztás minőségére gyakorolt hatását. Az egyensúlyi-diszperzív modellt ioncsere-specifikus retenciós és izoterma modellekkel kombinálva szisztematikusan vizsgáljuk az alapvető rendszerparaméterek (térfogatáram, eluens összetétel, hőmérséklet, holtidő, ioncserekapacitás) megváltozásának hatását.

Eredményeinkkel olyan, a gyakorló kromatográfusok által tapasztalható gyakorlati problémák felismeréséhez és megoldásához kívánunk segítséget nyújtani, mint a kolonna fizikai/kémiai degradációja (eltömődés, kapacitás csökkenés), másodlagos kölcsönhatások jelenléte (tisztá ioncsere mellett adszorpció), mátrixterhelés (szerves oldószer, pH, kapacitást befolyásoló kísérő komponensek), vagy éppen a pumpa működésében fellépő problémák megjelenése.

P-17 | Foszforilációs izomer lipid A molekulák LC-MS/MS vizsgálata

Sándor Viktor¹, Kilár Anikó¹, Dörnyei Ágnes²

¹ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

² Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék és Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs

A Gram-negatív sejtfalalkotó endotoxin molekulák toxikus jellegét nagyban befolyásolja lipid A elnevezésű foszfoglikolipid régiójuk acilációs és foszforilációs felépítése. Különböző számú és lánc hosszúságú zsírsavszubsztituensek, valamint eltérő pozíciókban található foszfátcsoport(ok) kapcsolódhatnak a diglükózamin vázhoz, ami nagymértékű szerkezeti heterogenitást eredményez. A baktériumokból izolált lipid A minták kvalitatív vizsgálata jelentős kihívást jelent elválasztástechnikai és tandem tömegspektrometriás szempontból egyaránt.

Kutatócsoportunk már egy évtizeden túli tapasztalattal rendelkezik heterogén összetételű lipid A izolátumok folyadékfázisú (rp-HPLC, CE) elválasztását, valamint ütközés-indukálta disszociációs folyamatainak részletes tanulmányozását illetően. Legjelentősebb eredményeink olyan új módszerek bevezetésén alapulnak, amelyek segítségével ismert, széleskörűen tanulmányozott lipid A minták esetében is új, korábban rejtve maradt szerkezeti izomerek jelenlétére és szerkezeti tulajdonságaira világítottunk rá.

Poszter előadásomban a foszforilációs izomer lipid A molekulák LC-MS/MS módszerfejlesztése közben újonnan megfigyelt, feltételezésünk szerint az egyensúlyi gyűrűs és nyílt láncú diglükózamin vázzal rendelkező monofoszforilált lipid A molekulák elválasztását és tandem tömegspektrumaik összehasonlítását mutatom be.

A munka a 020_2024_PTE_RK/17 azonosítószámú Pécsi Tudományegyetem Kutatási Alap Pályázat támogatásával készült.

P-18 | Kismolekulasúlyú analitok LC-MS/MS-sel történő vizsgálata emberi vizeletben és szérumban, automatizált minta-előkészítést követően

Geda Orsolya¹, Vezse Mónika², Csöndör Éva¹, Farkas Róbert¹,
Karvaly Gellért Balázs¹

¹ Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Tömegspektrometria és Elválasztástechnikai Laboratórium, Budapest

² Biotage Sweden AB, Uppsala, Sweden

Bevezető: Az automatizált mintaelőkészítés számos előnyt nyújthat a klinikai diagnosztikai laboratóriumok számára. Laboratóriumunkban rutinszerűen végezzük a kortizol vizeletben, valamint a szimmetrikus dimetil-arginin (SDMA) szérumban történő vizsgálatát folyadékkromatográffal kapcsolt tandem tömegspektrométerrel (LC-MS/MS). Munkánk során célunk volt e két eljárás kézi mintaelőkészítést igénylő lépéseinek transzfere a Biotage® Extrahera™ LV-200 mintaelőkészítő rendszerre. A kortizol meghatározás esetében szilárd fázissal támogatott folyadék-folyadék extrakciót (SLE), az SDMA mérés esetében deproteinizációt (PPT) alkalmaztunk.

Módszerek: A módszer transzfer hatékonyságát a vizsgálati minták kézi és automatizált eljárással történő párhuzamos előkészítésével ellenőriztük. A vizelet kortizol mérés esetében a vizsgált minták száma n=84, a szérum SDMA mérés esetében n=36 minta volt. Az eredmények statisztikai összehasonlítását Bland-Altman analízissel, Passing-Bablok regresszióval és a Lin-féle konkordancia korrelációs koefficiens (CCC) kiszámításával végeztük.

Eredmények: A kortizol SLE eljárással történő előkészítésekor a két módszerrel kapott eredmények közötti szisztematikus eltérés Bland-Altman analízis alapján 1,77% volt [95% konfidencia intervallum (CI): -17,4-20,9%]. Passing-Bablok regressziót végezve proporcionális eltérés nem volt statisztikailag kimutatható, az állandó eltérés pedig elhanyagolható volt [meredekség: 1,01 (0,98-1,05), tengelymetszet: -0,28 (-0,55 - -0,39), Kendall-féle korrelációs együttható (τ): 0,943]. Az SDMA vizsgálat esetében a manuális és az automatizált módszer közötti szisztematikus eltérés -3,3% (-20,4-13,8%) volt. Proporcionális vagy konstans eltérés nem volt kimutatható [meredekség: 1,03 (0,94-1,12); tengelymetszet: -6,51 (-16,3-2,64), τ : 0,828]. A Lin-féle konkordancia korrelációs koefficiens meggyőző egyezést mutatott mind a vizelet SLE eljárással (CCC: 0,984), mind a szérum PPT módszerrel (CCC: 0,981) történő előkészítése esetében.

Következtetések: A manuális és a Biotage® Extrahera™ LV-200 automatával végzett mintaelőkészítés ekvivalens mérési eredményeket biztosított az általunk vizsgált két klinikai laboratóriumi paraméter esetében.

P-19 | Komplex stabilitási állandó meghatározásának egyszerű és kevésbé egyszerű módszerei

Ujj Dóra Viktória¹, Szemán Julianna¹, Benkovics Gábor¹, Petr Kasal², Bálint Erika¹, Mátravölgyi Béla¹

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Budapest

² Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic

A ciklodextrinek (CD-k) széleskörűen alkalmazottak számos iparágban, ami a CD-k zárványkomplex képző képességének köszönhető, ugyanis a kialakuló zárványkomplexek tulajdonságai igen kedvezőek lehetnek. Zárványkomplex képzés révén elérhető például a vízben nehezen oldódó vegyületek vízoldékonyságának fokozása, ízek és szagok elfedése, gyógyszermolekulák esetén a mellékhatások csökkentése, vagy éppen a könnyen bomló vendégmolekulák stabilitásának növelése. A zárványkomplex élettartama, vagyis stabilitása a stabilitási állandóval jellemezhető.

A stabilitási állandó megtartározására számos technikát említ az irodalom. Széles körben ismertek és elterjedtek a HPLC méréseken, a kapilláris elektroforézisen, a fázisoldhatósági vizsgálaton, az NMR technikákon, az izotermális titrációs kalorimetrián és a molekula modellezésen alapuló módszerek. Fontos azonban azt megvizsgálni, hogy a különböző módszerekből kapott eredmények mennyire hasonlíthatók össze, és hogy milyen esetleges buktatók lehetnek a stabilitási állandó meghatározása során.

Kutatómunkánk keretein belül különböző natív, illetve random módon (pl.: HPBCD) és izomertiszta módon (pl.: mono-subetadex, per-subetadex) előállított CD-t vizsgáltunk elválasztástechnikai módszerekkel (kétféle HPLC módszer, fázisoldhatósági vizsgálat és kapilláris elektroforézis). Vendégmolekulának pedig szteránvázas vegyületeket és szelektív szerotonin visszavétel gátló antidepresszánsokat választottunk. Elsődleges célunk volt a vendégmolekulákkal kialakuló stabilitási állandók meghatározása és ezen eredmények fényében az egyes módszerek összehasonlítása, különös hangsúlyt fektetve a tendenciák értelmezésére.

P-20 | Fordított fázisú folyadékkromatográfiás állófázisok jellemzése

Zelenyánszki Dóra^{1,2}, Lambert Nándor¹, Tanaka Nobuo⁴, Felinger Attila^{1,2,3}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Pécs

² HUN-REN - Pécsi Tudományegyetem, Molekuláris Kölcsönhatások az Elválasztástudományban Kutatócsoport, Pécs

³ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

⁴ Kyoto Institute of Technology, Kyoto, Japan

Bevezetés

Az egyik leggyakrabban alkalmazott állófázis típus a fordított fázisú folyadékkromatográfiában (RP-LC) az ún. C₁₈-as (oktadecil) alkilláncokkal módosított szilikagél.

A felületmódosítás során a szilikagél felületén visszamaradhatnak szabad szilanol csoportok. Ezen csoportok felelősek az ún. szilanol hatásért, amely a gyakorlat során aszimmetrikus, elnyúló (tailinges) csúcsok megjelenését eredményezi a kromatogramon. Ez a jelenség főleg akkor jelentkezik, ha bázikus tulajdonságú anyagokat választunk el, hiszen ezek különösképp érzékenyek a szabad szilanolokra. Ezt a hatást ma már a gyártók különböző eljárásokkal igyekeznek kiküszöbölni. (nagy tisztaságú szilikagél használata alapanyagként; különböző végzáró csoportok alkalmazása)

Esetünkben hat más-más eljárással készült állófázist jellemeztünk. Az alkilláncok mennyiségét, a hidrofobicitást, a sztrérikus szelektivitást és a szilanol csoportok jelenlétét az ún. Tanaka teszt segítségével mértük [1].

A szilanol hatást további tesztvegyületek segítségével vizsgáltuk. [2] A hagyományos tesztek esetén egyre jobb eredményeket produkálnak ezek az új típusú, bázis-deaktivált (base-deactivated) állófázisok, éppen ezért volt érdemes több tesztkomponenst kiválasztani a vizsgálatok során, amelyek érzékenyebbek a Si-OH csoportokra

Anyag és módszer:

A kromatográfiás méréseket Waters Acquity I Class UPLC készülékkel végeztük el. A mérési körülmények a következők voltak:

- eluens: acetonitril vagy metanol és 0,02M vizes foszfát puffer
- áramlási sebesség: 0,4 ml/perc
- injektált minta: 0,5 µl
- 2,1 × 50 mm-es C₁₈-as oszlopok különböző gyártóktól
- oszlop termosztálás: 40 °C

Tesztvegyületek: pentilbenzol, butilbenzol, trifenilén, o-terfenil, tiokarbamid, piridin, koffein, fenol, amitriptilén, dextrofán-tartarát, dextrometorfán-hidrobromid, brillant kék, kinuklidin

Eredmények

A Tanaka teszt eredménye alapján a hat vizsgált oszlop hasonló tulajdonságokkal rendelkezik, azonban a szilanol hatás további vizsgálata során erőteljesen eltérő eredményeket kaptunk a különböző oszlopokon. A héjszerkezetű állófázisoknál (Kinetex, Kinetex EVO, InertCore) rosszabb csúcsalakok voltak megfigyelhetők a komponensek többségénél, míg a monolit (Monotower) és a hagyományos porózus töltetek (InertSustain, InertSustainSwift) jobban teljesítettek.

[1] K. Kimata, K. Iwaguchi, S. Onishi, K. Jinno, R. Eksteen, K. Hosoya, M. Araki, N. Tanaka, *Journal of Chromatographic Science* 27 (1989) 721-728.

[2] K. Okusa, Y. Suita, Y. Otsuka, M. Tahara, T. Ikegami, N. Tanaka, M. Ohira, M. Takahashi, *Journal of Separation Science* 33 (2010) 348_358.

P-21 | A pH-meghatározás lehetőségei szuperkritikusfluidum-kromatográfiában

Rédei Csanád^{1,2}, Rapp-Kindner Ildikó³, Felsing Attila^{1,2,4}

¹ HUN-REN Pécsi Tudományegyetem, Molekuláris Kölcsönhatások az Elválasztástudományban Kutatócsoport, Pécs

² Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

³ Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, Pécs

⁴ Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Pécs

Napjaink szuperkritikusfluidum-kromatográfiás (SFC) gyakorlatában a szén-dioxid mellett szerves módosítószer is használnak a mozgófázisban, többek között az összenyomhatóság csökkentése és a polaritás szabályozása érdekében. A szerves módosítószer leggyakrabban valamilyen kis szénatomszámú alkohol, amely mellett nem ritkán további adalékokat (savak, bázisok, sók) is alkalmaznak. Az eluens pH-jának minél pontosabb ismerete kulcsfontosságú a szelektivitás és az elválasztás hatékonyságának szempontjából, azonban ez a tulajdonság nehezen értelmezhető és ritkán kutatott téma az SFC területén, mivel a pH fogalmát hagyományosan vizes közegre alkották meg. A szén-dioxid és az alkohol kölcsönhatása savas karaktert ad a mozgófázisnak, amelyet az adalékok tovább befolyásolnak. A látszólagos pH közvetlen mérése SFC esetén nem megoldott, azonban sav-bázis indikátorok segítségével viszonylag jól közelíthető.

Munkánk során metilvörös és timolkék sav-bázis indikátorok segítségével, több megközelítésből és különböző kísérleti körülmények között vizsgáltuk a pH becslésének lehetőségét szuperkritikusfluidum-kromatográfiás környezetben.

Köszönetnyilvánítás:

A kutatómunka a Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-24-4 kódszámú Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.

P-22 | Inzulin retenciójának nyomásfüggés-vizsgálata fordított fázisú- és hidrofób kölcsönhatású folyadékkromatográfiás módokban

Móré Dávid József¹, Lambert Nándor Csaba¹, Felinger Attila^{1,2,3}

¹ Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Pécs

² HUN-REN Pécsi Tudományegyetem, Molekuláris Kölcsönhatások az Elválasztástudományban Kutatócsoport, Pécs

³ Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Bioanalitikai Intézet, Pécs

Ismert, hogy kromatográfiás elválasztások során az alkalmazott nyomás nagyban megváltoztathatja a makromolekulák, így a fehérjék és a polipeptidek retencióját.¹⁻³ Kutatásunk során inzulin retenciójának nyomásfüggését vizsgáltuk fordított fázisú- és hidrofób kölcsönhatású folyadékkromatográfiás módokban.

Az ellennyomás szabályozásához egy olyan HPLC rendszert használtunk, ahol az oszlop után egy keverő segítségével egy nagynyomású szivattyú volt csatlakoztatva. Ezen szivattyú által szállított folyadék áramlási sebességének változtatásával lehetőség nyílt a kromatográfiás oszlopon mérhető nyomáskeresés változtatására.

A fordított fázisú mérések után HIC módban is vizsgáltuk a nyomásfüggést; két-két különböző mozgófázis összetétellel fejlesztettünk négy mérési módszert a nyomásfüggésvizsgálathoz. A kísérletek során a nyomás növelésével a retenció növekedése helyett, annak csökkenését tapasztaltuk mindegyik vizsgált HIC módszer esetén. A kísérlet eredményeként megállapítható, hogy a mozgófázisban alkalmazott só anyagi minősége és koncentrációja is jelentős hatással van az inzulin retenciójának nyomásfüggésére.

- [1] Liu, X.; Zhou, D.; Szabalski, P.; Guiochon, G. Influence of pressure on the retention and separation of insulin variants under linear conditions. *Anal Chem* **2003**, 75 (16), 3999-4009. DOI: 10.1021/ac0205964
- [2] Lambert, N.; Kiss, I.; Felinger, A. Mass-transfer properties of insulin on core-shell and fully porous stationary phases. *Journal of Chromatography A* **2014**, 1366, 84-91. DOI:10.1016/j.chroma.2014.09.025.
- [3] Fekete, S.; Veuthey, J. L.; McCalley, D. V.; Guilleme, D. The effect of pressure and mobile phase velocity on the retention properties of small analytes and large biomolecules in ultra-high pressure liquid chromatography. *J Chromatogr A* **2012**, 1270, 127-138. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.10.056.

P-23 | Rekombináns inzulinok deamidációjának vizsgálata kapilláris elektroforézissel

Andrási Melinda, Vishwakarma Gayatri, Szabó Ruben, Nagy Cynthia, Gáspár Attila

Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Debrecen

Az inzulin a hasnyálmirigy által termelt fehérje hormon, amely legfőbb szabályozója a szervezet szénhidrát anyagcseréjének. Az 1-es típusú cukorbetegség esetén az inzulin részleges vagy teljes hiánya miatt szükséges inzulinterápiára a vércukorszint normalizálása érdekében. Az elmúlt évek során több, különböző hatástartalmú analóg inzulinokat fejlesztettek az optimális kezelés kiválasztására. A terápiás célra alkalmazott inzulinokat biotechnológiai úton, rekombináns DNS-technológiával állítják elő. A biológikumok előállításuk és tárolásuk során többféle poszttranszlációs változásokon (PTM) mehetnek keresztül. Az inzulinok esetében ezek a modifikációk leginkább a deamidáció jelenségében nyilvánulnak meg, ami hatással lehet ezen molekulák biológiai aktivitására és stabilitására is. A deamidáció során a fehérjék aszparagin (Asn) és a glutamin (Gln) oldalláncaiban található amidkötés hidrolizálásával szabad karbonsav csoportok alakulnak ki.

Tömegspektrometriával kapcsolt kapilláris zóna elektroforetikus módszert (CZE-MS) alkalmaztunk három rekombináns inzulin (humán inzulin (humulin), két analógja: glargin, glulizin) és azok deamidált izoformáinak elválasztásához és azonosításához. 50 mM ammónium-acetát- 20 % V/V izopropil alkohol (pH 9) háttélelektrolit alkalmazásával sikerült elválasztani egymástól a mindössze 1 Da-nal eltérő, különböző mértékben deamidálódott izoformákat, továbbá a pontosan azonos tömegű, de kissé eltérő alakú, azonos mértékben deamidálódott variánsokat is. A LOD-értékek 0,6-0,93 mg/l, illetve 2,17-4,37 mg/l között voltak az UV és az ESI-MS detektálás esetében [1]. Forszírozott stabilitásvizsgálatokat végeztünk, vizsgáltuk a tárolási hőmérséklet (-80 °C, -20 °C, +5 °C, +25 °C) hatását a savanyított inzulin minták (0,1 M HCl) deamidációjára. +5 °C-on mindhárom inzulin esetében csak egyszeres deamidált formák voltak megfigyelhetők. Az egy hónapig szobahőmérsékleten inkubált minták eltérő mértékű deamidációt mutattak: a glargin esetében 1-szeres, a glulizin esetében 1-2-szeres, a humulinnál pedig 1-2-3-szoros formákat azonosítottunk. A stabilitásban tapasztalt különbségek a háromféle inzulin aminosavszekvenciájában végrehajtott apró változtatásokra vezethetők vissza, amelyek eltérően befolyásolják a deamidálódási folyamatokat.

A munka a OTKA-K142134 és ÚNKP-22-2-I-DE-193 pályázatok támogatásával készült.

Hivatkozás:

- [1] M. Andrási, G. Vishwakarma, R. Szabó, C. Nagy, A. Gaspar, *Comparative study on the deamidation of three recombinant human insulins using capillary electrophoresis*, Journal of Chromatography A, 1706 (2023) 464286, doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464286

P-24 | A mirigyes bálványfa kérgének bioaktív komponensei

Cselőtey Anna¹, Baglyas Márton^{1,2}, Ott G. Péter¹, Vesna Glavnik³, Irena Vovk³, Móricz M. Ágnes¹

¹ HUN-REN Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet, Martonvásár

² Semmelweis Egyetem Doktori Iskola, Budapest

³ Laboratory for Food Chemistry, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Slovenia

A mirigyes bálványfa (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) eredetileg Kelet-Ázsiából származik, Magyarországra először a XIX. században telepítették be, napjainkra pedig már az ország jelentős részén elterjedt, veszélyeztetve ezzel a hazai őshonos növénytársulásokat. Szárított kérgének számos felhasználása szerepel az ázsiai népgyógyászatban; használták többek között vérzéscsillapításra, gyulladáscsökkentésre, görcsoldásra, kezeltek vele lázat, epilepsiát, asztmát, fertőzéseket és emésztőrendszeri problémákat.

Jelen tanulmány fő célja a bálványfa kérgében lévő biológiailag aktív anyagok feltérképezése, azonosítása és jellemzése volt. Ehhez külön vizsgáltuk a kéreg külső (héjkéreg) és belső (háncs) részét, amit négy helyszínről gyűjtöttünk be az év minden szakában. A biológiailag aktív (antibakteriális, enzimgátló) komponensek felderítéséhez nagyhatékonyságú vékonyréteg-kromatográfiához csatolt direkt bioautográfiás módszereket használtunk *Bacillus subtilis* baktérium és sertés hasnyálmirigy lipáz enzim felhasználásával. A hatásos anyagokat flash kromatográfiával izoláltuk, és kémiai reagensekkel, valamint TLC-UV/Vis/FLD-HRMS/MS csatolt módszerekkel jellemeztük. A tömegspektrometriás mérésekhez TLC-MS Interface-t és hibrid kvadrupól-orbitrap tömegspektrométert használtunk, ami fűtött elektroporlasztásos ionizációs ionforrással rendelkezett.

A kétféle kéregrész különböző antibakteriális anyagokat tartalmazott, amiket NMR spektroszkópiával azonosítottunk. Összesen hatféle vegyületet sikerült azonosítanunk, melyek között szerepelt egy alkaloid, két hosszú szénláncú karbonsav és három zsírsav-származék is.

Kulcsszavak: *Ailanthus altissima*, direkt bioautográfia, TLC-HRMS/MS, flash kromatográfia

Köszönetnyilvánítás

Ezt a kutatást részben támogatta a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH; projekt SNN139496) és a Slovenian Research and Innovation Agency (ARIS; No. P1-0005, projekt N1-0235). Az NMR mérések a CERIC program keretében valósultak meg Ljubljánában a Slovenian NMR Center, National Institute of Chemistry-ben.

P-25 | Hatóanyag felszabadulás vizsgálata kromatográfiás követéssel félszilárd gyógyszerformából - módszerfejlesztés és tapasztalatok

Nagyné Turák Anikó

Richter Gedeon Nyrt., Készítményfejlesztési Főosztály, Gyógyszerfizikai osztály, Budapest

Szilárd gyógyszerformák fejlesztése *in vitro* kioldódás vizsgálat nélkül elképzelhetetlen. A vizsgálat két részből áll: a hatóanyag gyógyszerformából való felszabadulásából, mely tekinthető egyfajta mintaelőkészítési lépésnek, valamint egy ezt követő hatóanyagtartalmi meghatározásból, ami leggyakrabban kromatográfiás eljárással történik.

A félszilárd gyógyszerformák (krémek, kenőcsök, stb.) esetében a hatóanyag diffúzió sebesség vizsgálata (*In vitro* release test, IVRT) tölthet be hasonló szerepet. A vizsgálat ebben az esetben -értelemszerűen- a diffúzió mérésére és a diffúzió során vett minták koncentráció meghatározására tagozódik.

A konkrét fejlesztés célja egy olyan, laboratóriumban is könnyen kivitelezhető módszer elérhetővé tétele volt, mely a jóval költségesebb és időigényesebb, *in-vitro* permeációs vizsgálatokkal kapott adatok trendjét követi, így alkalmassá vált a fejlesztés során kapott sarzsok referens készítménnyel való összehasonlítására, szelekciójára.

A diffúziós módszer fejlesztéséhez az USP Semisolid Drug Products-Performance Tests cikkelyében szereplő Immersion cell model B készüléket alkalmaztuk. A vizsgálat követésére a hatóanyag, illetve egyéb összetevők elválasztására, specifikus és érzékeny mérésére alkalmas, kellően gyors kromatográfiás módszert használtunk.

A fejlesztés során vizsgáltuk a fenti módszerek alkalmazott paramétereinek (membrán, közeg, fordulatszám, kromatográfiás paraméterek) hatását a hatóanyag diffúzió sebességére. majd validálás során igazoltuk azok együttes alkalmazhatóságát.

A fejlesztés eredményeképpen egy olyan, laboratóriumban is könnyen kivitelezhető módszer vált elérhetővé, mely a jóval költségesebb *in-vitro* permeációs vizsgálatokkal kapott eredményekhez hasonló tendenciát mutatott.

P-26 | A cérium(IV)-ion által katalizált fotokémiai vízbontás kinetikai vizsgálata perklórsavban és salétromsavban

Rapp-Kindner Ildikó, Ősz Katalin

Pécsi Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Kémiai Intézet, Pécs

A különböző vizes közegű cérium(III)- és cérium(IV)-komplexek fényérzékenysége az 1950-es évek óta ismert. Korábban megállapították, hogy ha egy savas közegű cérium(III)-oldatot UV-fénnyel megvilágítanak, vízbontás következik be, oxigén és hidrogén gázok keletkeznek. A gerjesztett állapotú cérium(III)-ionok a vizet redukálják hidrogén gáz felszabadulása közben, majd a termékként keletkező cérium(IV)-ionok egy külön folyamatban a vizet oxigénné oxidálják. Ez a fajta cérium alapú fotokatalitikus ciklus egy lehetőség a napenergia kémiai formában történő tárolására.

Perklórsavas és salétromsavas közegekben kvantitatív módon vizsgáltuk a cérium-ionok spektrális és kinetikai tulajdonságait, egy diódasoros spektrofotométert használva fotoreaktorként. A moláris abszorpciós koefficienseket és a kvantumhasznosítási tényezőket határoztuk meg az adott savas körülmények között, figyelembe véve a salétromsav jelentős fényelnyelését az UV-tartományban.

A kutatómunka az RRF-2.3.1-21-2022-00009 azonosító számú, Megújuló Energiaforrások Nemzeti Laboratóriuma című projekt támogatásával, a Széchenyi Terv Plusz program keretében valósul meg.

P-27 | FMOC-módosított oligopeptid hidrolízisének kinetikai vizsgálata

Ulbert Olga^{1,2}, Magyar József²

¹ Pannon Egyetem Analitikai Kémia Kutatócsoport, Veszprém

² Nextreat Laboratories Kft., Hajmáskér

Az FMOC (9-fluorenilmetoxi-karbonil) egy elterjedten alkalmazott védőcsoport a peptidszintézisek során. Az aminosavakat FMOC reagenssel (pl. klorid vagy egyéb származék) elreagáltatva az FMOC csoport ráépül az aminosavak α -helyzetű aminocsoportjára, és így az aminosav a szabadon maradó karboxilcsoportján keresztül irányítottan hozzákapcsolható másik aminosavhoz. A peptidszintézist követően az FMOC védőcsoport eltávolítható pl. piperidin vagy más bázis hozzáadásával.

Az aminosavak és peptidek FMOC-tal történő származékképzése az analitikusok által is széles körben alkalmazott technika. A származékolt termék UV abszorbanciája jelentősen megnő, ionizálhatósága javul a kiindulási peptidhez képest, ezért az analitikai módszer érzékenysége megnő.

A bemutatásra kerülő analitikai munka során célunk egy FMOC csoporttal módosított oligopeptid stabilitásának vizsgálata volt savas, semleges és lúgos közegben. Öt napon keresztül 50 °C-on inkubáltuk a peptid pH 4, pH 7 és pH 9 pufferekben elkészített oldatait, és HPLC-DAD méréssel követtük nyomon a peptid koncentrációját az oldatban. A pH 4-es oldat koncentrációja nem változott az inkubálás hatására. A pH 7-es pufferben 27%-kal, míg a pH 9-es pufferben 94%-kal csökkent a peptid koncentrációja. A pH 7-es oldatban dibenzofulvén volt az egyetlen bomlástermék, míg a pH 9 oldatban a dibenzofulvén mellett további öt bomlástermék jelent meg.

A pH 7 és pH 9 FMOC-peptid oldatokban tapasztalt hidrolízis kinetikai vizsgálata érdekében 22°C, 37°C és 50°C-on inkubáltuk az oldatokat legfeljebb 30 napig, és a hidrolízis elegyek folyamatos HPLC-DAD elemzésével követtük nyomon a reakciókat. Megállapítottuk, hogy a hidrolízis reakció pszeudo elsőrendű reakciókinetikát követ. Meghatározásra került az FMOC-módosított peptid felezési ideje, valamint a hidrolízis reakciók aktiválási energiája (E_a) és sebességi állandója (k) mindkét pH-n. A reakcióelegyek gyakori mintavétele és elemzése alapján bebizonyosodott, hogy a dibenzofulvén hidrolízis termék semleges és lúgos pH-jú oldatokban további átalakuláson megy keresztül a reakcióelegyben.

A kereskedelmi forgalomban több ezer FMOC-módosított aminosav származék kapható peptidszintézishez. A bemutatásra kerülő hidrolízis vizsgálat hasznos eredményeket szolgáltat az FMOC-módosított aminosavak és peptidek felhasználhatóságát illetően is.

P-28 | LC-APCI-MS limit method for the determination of ethyl and phenyl carbamate content of pharmaceutical intermediates and APIs

Hegedűs János, Kalmár Éva, Temesvári Krisztina

Richter Gedeon NyRT., Kromatográfiás Csoport – EFL, Budapest

One of our intermediates is synthesized by using phenyl carbamate in the presence of sodium ethoxide. Formation of ethyl carbamate during this reaction cannot be ruled out. Considering the toxicological data, both carbamates should be measured with a limit of 0.10%. These molecules do not possess chromophores which makes their detection difficult. First a derivatization reaction with 9-xanthidol was optimized followed by HPLC-FLD measurement. Unfortunately, recovery of the derivatization was not appropriate. LC-APCI-MS detection met the requirements. After optimizing the MS source parameters, the chromatographic conditions were developed. Performance characteristics of the LC-APCI-MS limit method were evaluated. The 0.10% limit concentration can be measured reliably with the method. Detection limit was also determined: ethyl carbamate is detectable at 0.005% while phenyl carbamate at 0.01% concentration.

P-29 | Software assisted HPLC purity method development and end of shelf-life limit determination

Balázs Hoangnam Varga, Áron Komáromi

Richter Gedeon NyRt., Analytical Laboratory of Formulation Development, Budapest

Aim of the poster presentation is to demonstrate the strategy to accelerate HPLC method development and end of shelf life limit determination of pharmaceutical drug products. In order to quickly develop analytical methods and determine shelf life limits the following tools were applied: DryLab, Marvin, pH screen and ASAPprime.

During the analytical method development different challenges occurred, with the application of the previously mentioned tools we resolve the challenges quickly: e.g., finding an appropriate pH for an HPLC purity test of pH dependent active pharmaceutical ingredient (API) and its impurities and degradation products with the utilization of pH screen. This tool helps to understand the effect of pH to achieve appropriate selectivity and resolution between the evaluated compounds.

Further aim was to understand the degradational pathway and the factors that may impact drug product stability. To predict the impurity level at the end of shelf-life ASAP prime software was used.

P-30 | *N*-metil-2-pirrolidon (NMP) valós idejű, on-line elemzése ppb koncentrációban Ion Molekula Reakció-Tömegspektrométerrel

Pál Róbert¹, Jae Wook Kang²

¹ Today Science Kft., Diósd

² Young In Ace Co., Gyeonggi-do, Korea

Az *N*-metil-2-pirrolidon (NMP) egy 5-tagú laktámból álló szerves vegyület. Színtelen folyadék, bár a tisztátalan minták sárgának tűnhetnek. Vízzel és a legtöbb gyakori szerves oldószerrel keverhető. A dipoláris aprotikus oldószerek osztályába tartozik, mint például a dimetil-formamid és a dimetil-szulfoxid.

A lítiumakkumulátorok gyártásakor a szén anód és a lítium-kobalt-oxid katód kötőgyantáinak oldószereként alkalmazzák, felhasználható a gél-polimer lítiumion-akkumulátorok szeparátoraiban/elektrolitjaiban, valamint az akkumulátorok külső felületén lévő bevonatokban. Az elektróda gyártási folyamatában az NMP-t a fémfólia és az aktív anyag közötti kötőgyanták oldószereként használják a pozitív/negatív elektródközegekhez. Az elektród megfelelő teljesítménye szempontjából lényeges, hogy az oldószer kellőképpen feloldja a kötőanyag polivinilidén-difluoridját (PVDF). Az oldószert az aktív anyaggal együtt egyenletesen kell eloszlatni a fémfólián a kötőgyantával. A PVDF-et gyakran használják kötőanyagként az aktív anyagrézecskek (pl. lítium) összetartására és a katódhoz való kötésére. Az anódhoz a grafitot hasonló kötőanyaggal keverik. Az oldószerből, kötőanyagból, aktív anyagból és adalékanyagokból álló iszapnak egyenletesen kell eloszlatnia a kötőanyagot a gyakran alumíniumfóliából készült katód és a gyakran rézfóliából készült anód mindkét oldalán. Ezenkívül elengedhetetlen, hogy az oldószer a bevonás után elpárologjon és teljesen eltávolodjon az elektródról. Évente körülbelül 200 000-250 000 tonnát állítanak elő belőle.

Határérték:

ECHA, European Chemicals Agency, CMD - Carcinogens and Mutagens Directive:

Tartós expozíció: 40 mg/m³, 10ppm

Rövid expozíció: 80 mg/m³ 20 ppm

Feltétlenül szükséges a lítium ion akkumulátorok gyártási folyamata során a környezetbe kerülő NMP monitorozása, ami Ion Molekula Reakció-Tömegspektrométerrel történhet.

P-31 | Az egészséges életmód superfoodjai -csírák és mikrozöldek antioxidáns kapacitása és bioaktív komponensei

Róde Lea, B. Tóth Szabolcs

Eszterházy Károly Katolikus Egyetem, Biológia Intézet, Növényélettani Tanszék, Eger

Az egészséges táplálkozás iránti igény napjainkban egyre fontosabbá válik az étkezésben. Legyen szó tudományos cikkekről, televízióról, különböző internetes platformokról, de a közösségi médiákban is egyre nagyobb hangsúlyt fektetnek a különbnél külön egészségmegőrző praktikákra. A jelenlegi fejlett világnak köszönhetően, akár internetes webshopokon, akár különböző bevásárló központokban, kifejezetten erre specializálódott üzletekben sokféle egészséges készítményt lehet kapni. Az egészséges táplálkozás egyik alapját képezi a megfelelő minőségű és mennyiségű zöldségfogyasztás, azonban hazánk megfelelő zöldség- és gyümölcsfogyasztása a többi európai országhoz viszonyítva jelenleg jóval alacsonyabb. Ugyanakkor számtalan kutatás eredményezte, hogy a friss zöldség és gyümölcs fogyasztása elegendő lenne a napi vitamin, ásványi anyagok, valamint nyomelemek bevitelére, így különösen a téli időszakban elengedhetetlen kelléke lenne a táplálkozásnak a megfelelő mennyiségű zöldségfogyasztás. Az ehető növényi csírák, valamint a mikrozöldek kitűnő vitamin, nyomelem és antioxidáns forrásként szolgálhatnak számunkra. Külföldön már-már ezen bionövények a reneszánszukat élik, de az utóbbi időben hazánkban is egyre kedveltebbé váltak. A megfelelő csíráztatási folyamatokat betartva a biocsírák, valamint a mikrozöldek otthon is könnyen elkészíthetők bárki számára, rendkívül nagy antioxidáns tartalmuknak köszönhetően az egészséges élelmiszerek közé tartoznak, superfoodként hozzájárulva az egészséges táplálkozáshoz.

A vizsgálat során összehasonlítottam a hétköznapi életben hozzáférhető magokból nevelt ehető növényi csírák, valamint mikrozöldek antioxidáns kapacitását különböző módszerekkel, majd származékképzés után GCMS módszerrel azonosítottam a csírákban és a mikrozöldekben jelen módszerrel kimutatható komponenseket, antioxidáns és egyéb, jótékony hatású vegyületeket.

P-32 | Meconium pretreatment for HPLC-MS/MS determination of DINCH plasticizer metabolites

Róbert Góra, Renáta Górová, Lucia Vráblová, Helena Jurdáková

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic

Effort to minimize human exposure to harmful substances from the environment has driven their replacement with ones with more favorable toxicological profile. Plasticizer DINCH (1,2-cyclohexane dicarboxylic acid diisononyl ester; Hexamoll® DINCH) was introduced in 2002 and gradually replaces phthalates used as plasticizers in production of plastic products. However, as the DINCH production and usage have rapidly increased, the rate of exposure is increasing accordingly. It is important to focus biomonitoring especially on the population cohorts, for which exposure to chemicals has or may have more significant impact on development and health, such as during the prenatal development period.

Valuable biological matrix for examination of prenatal exposure to various harmful substances is meconium. Meconium is the first newborn stool with a semi-solid consistency. It is black-green in color and mostly odorless. It is composed of epithelial tissues, amniotic fluid, mucus, bile dyes and water. The secretion of meconium occurs only after birth, but it is formed in the fetus as early as the 12th week of pregnancy. The advantages of this matrix are noninvasive sampling and wide exposition window. On the other hand, meconium represents a very complex matrix, usually requiring time consuming and laborious pretreatment.

As biomarkers of exposure to DINCH are used mainly hydroxy- (OH-MINCH) and carboxy- (cx-MINCH) cyclohexane-1,2-dicarboxylic acid monoesters. The aim of our work was to study meconium sample pretreatment using liquid extraction with various organic solvents and solid phase extraction procedures prior to HPLC-MS/MS determination of these two metabolites. Triple quadrupole mass spectrometer with heated electrospray ionization source operated in negative mode was utilized for measurements. Pretreatment procedures were assessed for overall pretreatment effectiveness based on the recovery of cx-MINCH and OH-MINCH from the matrix and on the matrix effects in the ionization source of mass spectrometer.

Acknowledgements

This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the Contract no. APW-20-0462.