

Ph. D. értekezés tézisei

**HOSSZÚ SZÉNLÁNCÚ (FORDÍTOTT FÁZISÚ) FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁS
ÁLLÓFÁZISOK ELŐÁLLÍTÁSA ÉS ALKALMAZÁSUK A BIOANALITIKÁBAN**

Szabó Zoltán

Készült:

**A Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Karának
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetében**

Doktori Iskola vezető: Dr. Barthó Lóránd egyetemi tanár

Programvezető: Dr. Hideg Kálmán egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Ohmacht Róbert egyetemi docens

Pécs, 2004

BEVEZETÉS

A fordított fázisú (reversed phase, RP) nagyhatásosságú folyadékkromatográfia (HPLC) napjaink egyik leggyakrabban alkalmazott elválasztástechnikai módszere, amely egyaránt alkalmazható mind a kisebb molekuláknak, valamint a nagyméretű, biológiai szempontból fontos (pl: fehérjék, nukleinsavak, poliszacharidok, stb) vegyületeknek az elválasztására. Rendkívüli népszerűségének okai: egyszerű kivitelezhetőség, jó reprodukálhatóságú mérések, valamint alkalmazható poláris és apoláris vegyületek elválasztásához.

A fordított fázisú folyadékkromatográfiában az alkalmazott állófázisok leggyakrabban alkilcsoportokkal hidrofóbbá tett szilikagélek. A szilikagélek nagy fajlagos felületűeknek, az analitikai feladat igényei szerint változtatható pórusszerkezetűeknek, stabilitásuknak, nyomásállóságuknak köszönhetően a leggyakrabban alkalmazott kiindulási anyagok a fordított fázisú töltetek szintézisekor. A szilikagélek felülete kémiaiilag módosítható. Fontos megemlíteni, hogy a szilikagéleket önmagukban is, módosítás nélkül alkalmazzák a nagyhatásosságú folyadékkromatográfiában az említett előnyös tulajdonságaiknak köszönhetően. A szilikagélek felületén található asszociált, illetve szabad szilanolcsoportok képezik a kapcsolódási pontot a szilanizálószer, valamint a szilikagél felülete között. A szilikagél kolonnákon, a szilikagéleknél apolárisabb eluensekkel történő folyadékkromatográfiás módszereket normális fázisú kromatográfiának nevezik.

A legelterjedtebben használatos fordított fázisú folyadékkromatográfiás töltetek a C_8 , illetve a C_{18} töltetek, ahol a szilikagélek felületének hidrofóbbá tétele oktil-, illetve oktadecil-szilánokkal történik. A kereskedelemben megtalálhatóak a propil-, butil-, valamint a fenilcsoportokkal hidrofóbbá tett fázisok (C_3 , C_4 , C_6H_5) is, azonban ezek alkalmazása koránt- sem olyan elterjedt, mint a C_{18} tölteteké. A C_3 és C_4 tölteteket leginkább fehérjék elválasztásánál, az ún. hidrofób interakciós kromatográfiás módszernél alkalmazzák. A szilanizálás után a felületen maradt, jelentős számú szabad szilanolcsoport a szelektivitást jelenősen befolyásolhatja. Amennyiben nem kívánatosak, úgy utánszilanizálással csökkenthető a mennyiségük.

A leggyakrabban alkalmazott C_{18} vagy oktadecil fázisok az elválasztási feladat kívánalmaitól függően kétféle módon készülhetnek vízmentes körülmények között monoklór-oktadecil-szilánból, vagy triklór-oktadecil-szilánból, valamint számított mennyiségű víz jelenlétében triklór-oktadecil-szilánból. A vízmentes körülmények

között készült fázisokat monomer (amennyiben az triklór-szilánból, azaz trifunkciós szilánból készült, akkor átmeneti, „interphase” fázisokról beszélhetünk), míg az utóbbiakat polimer fázisoknak nevezzük. Megkülönböztetésük az un. Sader és Wise által kifejlesztett háromkomponensű SRM 869 tesztkeverékkel történik. Korábbi eredményeikből következett, hogy a kondenzált policiklusos aromás szénhidrogénekre a polimer C_{18} fázisok nagyobb szelektivitást mutattak, mint a monomer körülmények között készült fázisok. Ez arra engedett következtetni, hogy a különböző alakú (planáris, illetve nem planáris) kondenzált policiklusos aromás szénhidrogénekkel szemben mutatott eltérő alak szelektivitás a polimer fázisok nagyobb borítottságának (vagyis a kiindulási szilikagél felületegységére eső nagyobb alkilcsoport anyagmennyiségnek) a következménye. Az általuk bevezetett alak szelektivitás fogalma ezekre a vegyületekre az un. „slot-model” segítségével magyarázható. A model feltételezi, hogy a nagy borítottságú fázisok felszínén a sűrűn egymás mellett elhelyezkedő oktadecilcsoportok közötti résekbe a planáris szerkezetű szénhidrogének könnyebben illeszkednek, mint a nem planárisak. A nagy borítottságú, polimer C_{18} fázisok tehát jobban „érzik” a különböző mintamolekulák alakja közötti különbségeket, mint a monomer C_{18} fázisok. A Sander és Wise által kifejlesztett tesztkeverék elválasztásakor a fázisok monomer, átmeneti, polimer jellege a tesztkeverékben található 1,2:3,4:5,6:7,8-tetrabenzó-naftalinnak (kevésbé planáris) a benzo[a]-pirénre (planáris, sík alakú) vonatkozó szelektivitással jellemezhető.

Bár a C_{18} fázisok jól alkalmazhatóak a kondenzált policiklusos aromás szénhidrogének kivül más, sokféle szerkezeti izomerekkel rendelkező vegyületek keverékeinek (például növényi és állati mintákból előállított karotinoidokból álló keverékek valamint A-vitamint tartalmazó minták) analízisére, a 90-es évek végén felmerült a kérdés, vajon lehetséges e egy olyan állófázis előállítása, amely kimondottan a karotinoidok és azok szerkezeti izomerjeinek elválasztására a C_{18} fázisokhoz képest nagyobb alak szelektivitása révén egyszerűbb eluensrendszerek alkalmazásával, nagyobb hatásossággal alkalmazható. Így született meg 1994-ben Sander és munkatársai által publikált híres közlemény, melyben a szerzők a β -karotin molekula transz-izomerjének molekulaméretét, a szilikagél pórusszerkezetét figyelembe véve a nagyobb alak szelektivitás elérése végett polimer C_{30} fázist állítottak elő. A triakontilcsoportok által alkotott hidrofób réteg, valamint a kiterjedt, konjugált kötésrendszerrel rendelkező karotinoidok között létrejött kölcsönhatás

felelős a C₃₀ fázis alak szelektivitásáért. A C₃₀ fázis tulajdonságait az ugyanolyan körülmények között készült C₁₈ fáziséval összehasonlítva, a C₃₀ fázis a karotinoidok és azok izomerjeinek elválasztására sokkal jobbnak bizonyult.

A C₃₀ fázisok a kiváló alak szelektivitáson kívül számos, kromatográfiás szempontból kedvező tulajdonsággal rendelkeznek. A mintavegyületeket viszonylag nagy koncentrációban képesek jól szétválasztani (nagy az oszlop kapacitása), az ún. túltelítettségi effektus sokkal nagyobb koncentrációnál jelentkezik, mint a C₁₈ fázisok esetén. Ez kapcsolt technikák alkalmazásakor, különösen a HPLC-NMR esetén használható ki, ahol magas mintakoncentráció szükséges. Egy másik előnyös tulajdonsága a C₃₀ fázisoknak a C₁₈ fázisokhoz képest a magas visszanyerési érték, amely β -karotin esetén 97 %-nak bizonyult.

A C₃₀ fázis más, biológiai szempontból fontos vegyületek (A-, E-, K-vitaminok, stb) izomerjeinek elválasztására is kiválóan alkalmas. Bár használatát illetően nem terjedt el annyira, mint a C₁₈ fázisok, bizonyos analitikai problémák megoldására mégis sokkal jobban alkalmazhatóak. Az újabb kutatási eredmények azt mutatják, hogy más, fordított fázisú töltetet alkalmazó kromatográfiás eljárás esetén, mint például az ionpár kromatográfiában szintén jól alkalmazhatóak a C₃₀ fázisok. A C₃₀ fázisok egyre bővülő alkalmazási területeit mutatja, hogy például különböző szénatomszámú fullerének elválasztására is jól alkalmazhatóak.

A polimer C₃₀ fázisok a kereskedelmben kaphatóak, az utóbbi évek közleményei különböző karotinoidösszetételű minták C₃₀ fázisokon történő analíziséről számolnak be. Nem történtek kísérletek arra vonatkozóan, hogy a kiindulási szilikagél pórusszerkezete hogyan befolyásolja a belőlük készült C₃₀ fázisok kromatográfiás tulajdonságait. Arra vonatkozóan, hogy vízmentes körülmények között szintetizált C₃₀ fázis mutat-e alak szelektivitást, milyen hatással van a fázisok szelektivitására az utánszilanzálás, szintén nem található kutatási eredmény. Az előbb elmondottakból szinte következnek a kutatási célok.

KUTATÁSI CÉLOK

I.

- a.) Milyen összefüggés figyelhető meg a kiindulási szilikagél pórusszerkezete és a belőle készült fordított fázisú töltet borítottsága között ?
- b.) Hogyan befolyásolja a szénhidrogénlánc hossza a töltet borítottságát és retenciós viszonyait ?

II.

- a.) Megfigyelhető-e a vízmentes körülmények között, trifunkciós szilánból előállított C₃₀ állófázisok esetén is jelentős alakszelektivitás ?
- b.) Milyen hatása van az utánszilanzálásnak a C₁₈ és C₃₀ fázisok kromatográfiás tulajdonságaira ? Hogyan befolyásolja a szabad szilanolcsoportok számának csökkentése a szelektivitást ?

III.

- a.) Új, eddig le nem írt alkalmazás területek kutatása az előállított nagyborítottságú C₁₈ és C₃₀ töltetek alkalmazásával.
- b.) A lutein savkatalizált epimerizációs folyamataiban keletkezett anhidrolutein izomerek elválasztása nagy borítottságú C₁₈ állófázisokon és a származékok szerkezetének igazolása LC-MS kísérletben.
- c.) Enzimaktivitással rendelkező, humán placentából izolált fehérje (PP20) funkcióanalízise LC-MS módszer kidolgozásával.

EREDMÉNYEK

A töltetek jellemzése

1.) Moláris borítottság-pórusszerkezet összefüggése

A vizsgált pórusátmérő-tartományban (9,3 nm – 25,5 nm) az általunk használt töltetkészítési módszerrel a felületi borítottság $\mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}$ egységekben mért értékei közel független a kiindulási szilikagél pórusátmérőjétől, a C_{18} és C_{30} fázisok esetén is. A borítottság C_{18} fázisokra átlagosan $3,69 \mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}\pm 1,9\%$, míg C_{30} fázisokra ez az érték $3,73 \mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}\pm 2,3\%$. Ezek alapján kijelenthetjük, hogy a szilanizálási reakció során sztérikus gátlás nem figyelhető meg (amennyiben a borítottságot a szokásos módon, $\mu\text{mol}\times\text{m}^{-2}$ -ben számítjuk ki a tömegszázalékos széntartalomtól). Az így kapott eredmény meglepő, mivel a triakontilcsoportok nagy térigénye miatt a kisebb pórusméretű szilikagéleknél várható az alacsonyabb felületi borítottság

2.) Térfogati borítottság-pórusszerkezet összefüggése

Az általunk újonnan bevezetett ún. "térfogati borítottság" sokkal érzékenyebben jellemzi a különböző pórusátmérőjű szilikagélekből készült tölteteket, mint a moláris borítottság. A térfogati borítottság a kiindulási szilikagél pórustérfogatának azt a hányadát jelöli, melyet a felületi reakció során a szénhidrogén láncok – azok nagy helyigénye miatt – elfoglalnak. A fajlagos térfogati borítottság számítható, ha a kiindulási szilikagél pórustérfogatából kivonjuk a fordított fázisú (C_{18} és C_{30}) töltet pórustérfogatát, majd az így kapott különbséget (mely megadja az oktadecil- és triakontilcsoportok által elfoglalt térfogatot) a szilikagél felületegységre vonatkoztatjuk. A térfogati borítottságot a kiindulási szilikagél átlagos pórusátmérőjének függvényében vizsgálva, az a C_{18} fázisaink esetén egyenletes, a pórusmérettől független. A C_{30} fázisok esetén viszont a kis pórusátmérőjű szilikagélekből készült töltetek térfogati borítottsága is kisebb. Oka, hogy a nagy helyigényű C_{30} csoportok a kisebb pórusok felületén kevésbé reakcióképesek (sztérikus gátlás). Ez a pórusmérettől függő sztérikus gátlás a "hagyományos", moláris borítottsági értékeket használva nem mutatható ki.

3.) Az optimális pórusszerkezetű szilikagél megválasztása C₁₈ és C₃₀ töltetek előállításához

C₁₈ töltetek előállítása során a kis pórusátmérőjű szilikagélekből készült töltetek minősége a pórustérfogat és a pórusátmérő jelentős csökkenése miatt romlik. A C₁₈ fázisok készítésekor célszerű kb. 12 nm pórusátmérőjű szilikagélekből kiindulni. Több gyártó már forgalmaz is 12 nm pórusátmérőjű szilikagélből készített C₁₈ töltetet. Triakontilszilánnal történő szilanizálás során a pórusátmérő még nagyobb mértékben csökken, mint az oktadecilszilánnal való reakció során, ezért C₃₀ fázisok előállításánál nagyobb pórusátmérőjű szilikagélből célszerű kiindulni. Kísérleteink mutatják, hogy a kis pórusátmérőjű (9,3 nm és 11 nm) szilikagélekből készült C₃₀ töltetek viselkedése anomális. A kis pórusméretű C₃₀ töltetek pórusszerkezetét a kiindulási szilikagél pórusszerkezetével összehasonlítva megállapítottuk, hogy míg a szilikagél esetén a pórusméret csökkenése felület növekedéssel jár, addig a C₃₀ láncokkal történt borítás után a kisebb pórusméretű tölteteknek a fajlagos felülete is kisebb. Oka, hogy a pórusok a C₃₀ csoportokkal részleges feltöltődnek (a pórustérfogat igen erősen csökken). A nagyon kis pórusméretű töltetek rendellenes viselkedése a kromatográfias elválasztások során is megfigyelhető. C₃₀ fázisok esetén a kiindulási szilikagél optimális pórusátmérője 13 és 16 nm között van.

4. Utánszilanizálás hatása az elválasztásra

A C₁₈ és a C₃₀ fázisok esetén az utánszilanizálás az általunk használt hexametildiszilazánt és trimetil-klórszilánt tartalmazó keverék alkalmazásával a szabad szilanolcsoportok számát jelentősen csökkenti. A szabad szilanolcsoportok számának csökkenése elsősorban bázikus karakterű vegyületek elválasztása esetén figyelhető meg, ahol az utánszilanizált tölteteken a komponensek retenciója kisebb és a csúcsszimmetria is jobb, mint a nem utánszilanizált tölteteken. Ezt egyébként C₁₈ fázisainknál nem csak bázikus, de poláris karakterű flavonoidokkal is kimutattam, ahol az egyes mintavegyületek szimmetrikusabb csúcsot adnak az utánszilanizált C₁₈ fázisokon. A szabad (és hozzáférhető) szilanolcsoportok száma azonban más vegyületek retenciójára is hatással van. Megállapítottam, hogy nagy delokalizált π -elektronrendszerrel rendelkező molekulák (kondenzált policiklusos szénhidrogének karotinoidok, stb.) retenciója csökken, ha a felületen a szabad szilanolok mennyisége

csökken ("utánszilanizált töltet"). A karotinoidek izomerjeinek elválasztása esetén a szabad szilanolcsoportok különösen jelentős hatással vannak a szelektivitásra. Jól utánszilanizált C₁₈ és C₃₀ fázisokon a poláris karotinoidek izomerjeinek az elválasztása romlik a nem utánszilanizált fázisokon történő elválasztásokhoz képest.

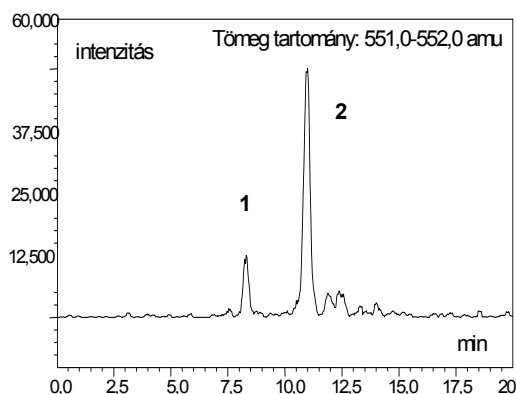
5.) Az általam előállított, új típusú C₃₀ fázis alkalmazhatósága

Az általam készített, nagy borítottságú C₃₀ fázisokat összehasonlítottam az irodalomban hivatkozott és kereskedelemben kapható, polimerizációval készült C₃₀ fázisokkal. A nagy borítottságú, vízmentes körülmények között előállított C₃₀ fázisok hatásosabbak, mint a kereskedelemben kapható, köztudottan kevésbé reprodukálható körülmények között készült polimer fázisok.

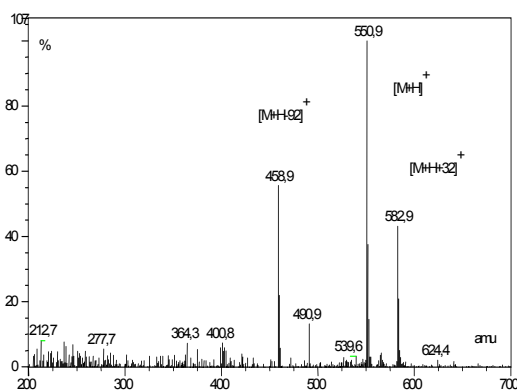
Bioanalitikai felhasználások

6.) Anhidrolutein izomerek elválasztása és szerkezetük azonosítása

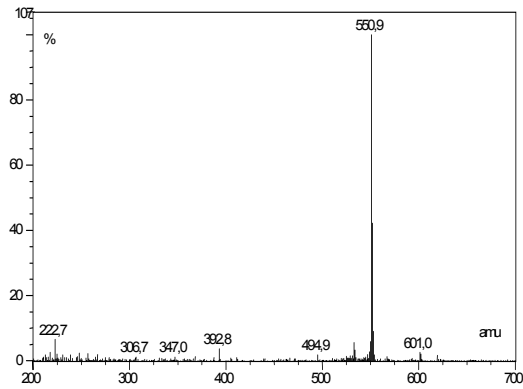
Nagy borítottságú C₁₈ fázisaink felhasználásával sikerült a luteinből sav hatására keletkező 3'-epiluteinen keresztül képződő anhidrolutein I. és anhidrolutein II. izomereket szétválasztani, szerkezetüket UV-VIS és tömegspektrumuk alapján azonosítani. Az általam kidolgozott LC-MS módszer segítségével sikeresen igazoltunk egy, a növényekben a feldolgozás hatására bekövetkező átalakulási folyamatot.



Az IV. , anhidroluteint tartalmazó frakció szelektált ionkromatogramja

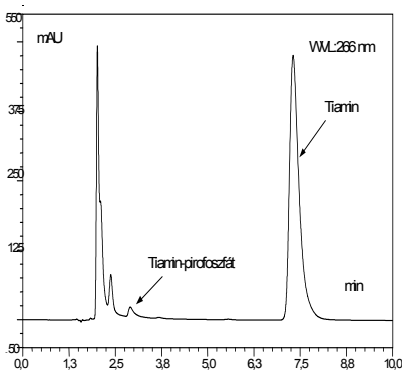


Az anhidrolutein II. tömegspektruma (1. csúcs az ionkromatogramon)

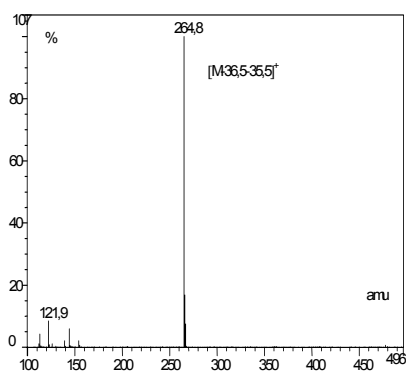


Az anhidrolutein I. tömegspektruma (2 csúcs az ionkromatogramon)

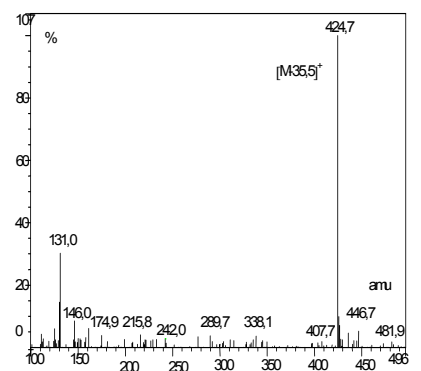
7.) C₁₈ fázisainkon a tiamin-pirofoszfát és a tiamin jól elválasztható. Tömegspektrometriás detektálás segítségével a tiamin-pirofoszfát és a tiamin molekulatömegük alapján jól azonosíthatóak. LC-MS módszert dolgoztam ki, melynek segítségével jól azonosítható a humán placentából izolált PP20 fehérje pirofoszfokináz enzimaktivitása során keletkező tiamin-pirofoszfát. Ezzel bizonyítást nyert a fehérje enzimfunkciója, melyet a számítógépes modellezéssel kapott eredmények alátámasztanak.



A tiamin – tiamin-pirofoszfát elválasztás

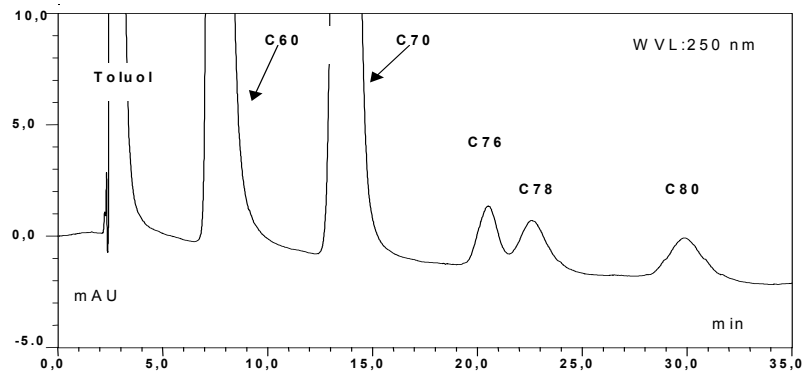


A tiamin tömegspektruma



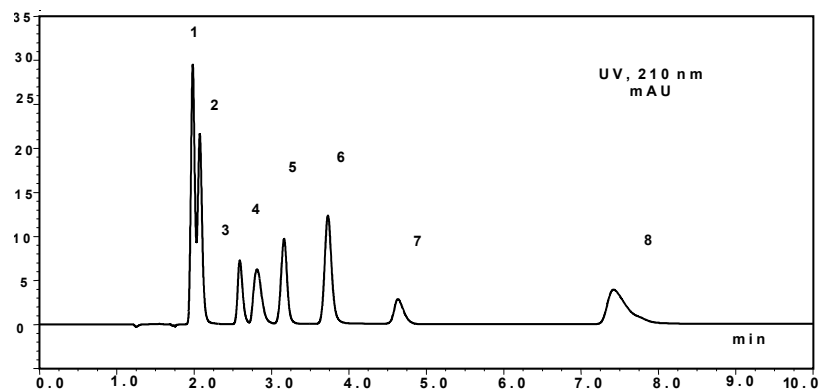
A tiamin-pirofoszfát tömegspektruma

8.) Az általam készített C₃₀ fázisok a fullerének elválasztására jól alkalmazhatóak. Az irodalom által leírt kísérleti körülményekkel ellentétben (ahol hexán eluent alkalmaztak) izooktán/izopropanol eluens alkalmazásával a C₆₀ és C₇₀ fulleréneken túl a C₇₆ és C₇₈ fullerének is jól elválaszthatóak egymástól, tömegspektrometriás módszerrel pedig jól detektálhatóak.



Fullerénkeverék elválasztása C₃₀ fázison

9.) Ionpár kromatográfiás módszerrel, izokratikus körülmények között nyolc anion elválasztását végeztem el nagy borítottságú C₃₀ fázison. Az irodalmi adatokhoz viszonyítva újdonság, mivel eddig a jodát-, illetve bromát-iont ilyen körülmények között nem mérték. Az eljárás a környezeti kémiai feladatok megoldására alkalmazható.



Anionok elválasztása utánszilanzált C₃₀ fázison

1: jodát-ion, 2: szelenit-ion, 3: bromát-ion, 4: nitrit-ion, 5: bromid-ion, 6: nitrát-ion, 7: szelenát-ion,
8: jodid-ion

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK:

1.) **Z. Szabó**, R. Ohmacht, C. W. Huck, W.M. Stöggel, G.K.Bonn

Influence of the Pore Structure on the Properties of Silica based Reversed Phase Packings for LC.., Journal of Separation Science, 2004, accepted, *in press*, **IF: 2,108**

2.) P. Molnár, **Z. Szabó**, E. Ósz, P. Oláh, G. Tóth, J. Deli, *Separation and Identification of Lutein Derivatives in Processed Foods*, Chromatographia, 60, 2004, 101-105. **IF: 1,145**

3.) Sz. Bellyei, A. Szigeti, A. Boronkai, **Z. Szabó**, J. Bene, B. Melegh, R. Ohmacht, T. Janaky, L. Barna, K. Sipos, P. Zavodszky, G. N. Than, B. Sümegi, H. Bohn, N. G. Than, *Cloning, sequencing, structural and molecular biological characterization of placenta protein 20 (PP20) / human thiamin pyrophosphokinase (hTPK)*, Placenta, 2004, accepted, *in press*, **IF: 2,706**

4.) Barna László, Bellyei Szabolcs, Szigeti András, Boronkai Árpád, **Szabó Zoltán**, Ohmacht Róbert, Janáky Tamás, Than Nándor Gábor, Szilágyi András, Závodszky Péter, Sümegi Balázs, *Humán placenta protein 20 (PP20) pirofoszfokináz: szerkezettől a funkcióig*, Biokémia, 2003, XXVII. ÉVF. 4. SZÁM, 88-95.

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK:

5.) M. G. Schmid, O. Gecse, **Z. Szabó**, F. Kilar, G. Gübitz, I. Ali, H. Y. Aboul-Enein, *Comparative study of the chiral resolution of β -blockers on cellulose tris-(3,5-dimethyl-phenylcarbamate) phases in normal and reversed phase modes*, Journal. Liquid Chromatography & Related Technologies. 24(16), 2001, 2493-2504., **IF: 0,762**

6.) **Z. Szabó**, E. Ósz, T. Lóránd, *MS and NMR investigation of bioactive quinazolones*, Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 61, 2004, 77-93. **IF: 1,611**

POSZTEREK:

1.) **Szabó Z.**, Böddi K., Ohmacht R, Az utánszilánizálás hatása a retencióra, Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Lilafüred, 2002. október 16-18., P-54

2.) **Szabó Z.**, Ohmacht R., Nagy boritottságú C18 és C30 állófázisok előállítása és vizsgálata, Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Lilafüred, 2002. október 16-18., P-55

3.) Fischer E., **Szabó Z.**, A máj, a vese és a vékonybél szerepe a testidegen anyagok eliminációjában, XXXIII. Membrán-Transzport Konferencia, Sümeg, 2003. május 20-23., P-18

4.) Fischer E., **Szabó Z.**, Intesztinális és hepatikus gyógyszerelimináció, A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXVII. Vándorgyűlése, Pécs, 2003. június 2-4., P-78

5.) Szigeti A., Bellyei Sz., Boronkai Á., Janáky T., **Szabó Z.**, Than G. N., Sümegi B., Bohn H., Than N. G., A placenta protein 20 (PP20)/ tiamin pirofoszfokináz molekuláris biológiai karakterizálása,

6.) P. Molnár, J. Deli, E. Ósz, **Z. Szabó**, P. Oláh, Gy. Tóth, Separation and Identification of Lutein Derivatives in Processed Foods, 5th Balaton Symposium on high-performance separation methods, September 3-5, 2003, Siófok. P-67

7.) P. Molnár, J. Deli, **Z. Szabó**, Gy. Tóth, V. Ördög, L. Vörös, L. Gy. Szabó, Carotenoid Composition of Some Freshwater and Soil Algae, 5th Balaton

Symposium on high-performance separation methods, September 3-5, 2003, Siófok.
P-175

8.) R. Ohmacht, **Z. Szabó**, L. Márk, W. Stöggel, Ch. Huck, G. K. Bonn, Optimisation of the Preparation of Silica Based Long-Chain Reversed Phase Packings for HPLC. II. Evaluation of C₃₀ Packing Materials with Different Pore Structure, 5th Balaton Symposium on high-performance separation methods, September 3-5, 2003, Siófok.
P-178

9.) **Z. Szabó**, R. Ohmacht, W. Stöggel, Ch. Huck, G. K. Bonn, Optimisation of the Preparation of Silica Based Long-Chain Reversed Phase Packings for HPLC. II. Evaluation of C₁₈ Packing Materials with Different Pore Structure, 5th Balaton Symposium on high-performance separation methods, September 3-5, 2003, Siófok.
P-199

10.) **Z. Szabó**, E. Ósz, T. Lóránd, MS and NMR investigation of bioactive quinazolones, 7th International Symposium on Instrumental Analysis, September 21-24, 2003, Pécs, P-68

ELŐADÁSOK:

1.) Ohmacht R., **Szabó Z.**, Hidrofób folyadékkromatográfiás állófázisok előállítás, Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Lilafüred, 2002. október 16-18., E-24

2.) **Z. Szabó**, J. Deli, R. Ohmacht, Determination of Deoxilutein (Anhydrolutein) Isomers from Sorrel Extract by Using High Performance Liquid Chromatography Coupled with both Diode Array and Mass Detections, 4th International Conference of PhD Students, August 11-17, 2003, Miskolc, Abstract :141-145.

3.) R. Ohmacht, **Z. Szabó**, L. Márk, W. Stöggel, Ch. Huck, G. K. Bonn, Effect of the Pore Structure on the Behaviour of Long Chain (C₁₈, C₃₀) Reversed Phase HPLC Packings, 7th International Symposium on Instrumental Analysis, September 21-24, 2003, Pécs, L-17