

Szakmai beszámoló

A pályázat keretében végzett kutatások

(i) a tervezett vállalásokkal összhangban, azt más irányokkal is gazdagítva: "Új szervesanalitikai eljárások kidolgozása, alapkutató és különleges feladatok megoldására szolgáló, mátrixspecifikus (természetes és biológiai) alapkutató szinten" címen a két, kijelölt mezőben folyt, melyek közül --**az egyik (1.1)**, az aminosavak és aminok származékkészítésével, a kromatográfiás elválasztásukra alkalmas kölcsönhatások reakciómechanizmus tanulmányával, a származékok nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC), párhuzamos fotódiodasoros/fluoreszcenciás (DAD/FL), valamint, DAD/tömegspektrometriás (MS/{MS}) vizsgálatával, s analitikai módszer-optimalizálásával kapcsolatos kutatások,

--**a másik (1.2)**, az eltérő funkciós csoportú, egyszersmind 'aktív proton' tartalmú, azaz, szililszármazékká alakítható, vagy/és származékkészítés nélkül mérhető, s ily módon gázkromatográfiás elemzésre alkalmas vegyületek GC-MS analitikája: e vegyületek egy oldatból, egyetlen felvételtől való egyidejű elemzése volt.

(ii) Kutatásaink mindkét területen, nemzetközileg elismert, új tudományos eredményekhez vezettek.

1.1 Az aminosavak származékkészítésével, a kromatográfiás elválasztásukra alkalmas kölcsönhatások reakciómechanizmus tanulmányával, a termékek szerkezet/stabilitás összefüggésével kapcsolatos vizsgálatok és módszeroptimalizációk: a származékok nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC), párhuzamos diodasoros/fluoreszcenciás (DAD/FL), valamint, DAD/tömegspektrometriás (MS) elemzése alapján

(a) Előzmények: korábbi sztöchiometriai és tömegspektrometriás elemzéseinkkel bizonyítottuk [1-11], hogy az aminocsoportú vegyületek alapszerkezete meghatározó az OPA-reagenssel keletkező termékek tekintetében: az $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ molekulárszletet tartalmazók egynél több (ezek a korábban labilisnak vélt OPA-származékok), az $\text{NH}_2\text{-CH=}$ alapszerkezetűek egyetlen terméket adnak.

(a-1) Az elsődlegesen keletkező termék továbbalakulása a reaktánsok molekula arányának függvénye: az SH-csoportú segédanyag mólarányának növelésével az átalakulási termékek koncentrációja csökkenthető. Ez a tapasztalat, tömegspektrometriás evidenciák alapján, egy új, a primer aminocsoportú vegyületek OPA-származékainak keletkezését és stabilitását, egységes szemlélet alapján értelmező mechanizmus felfedéséhez és igazolásához vezetett.

(a-2) Az aminosavak származékkészítésével, a kromatográfiás elválasztásukra alkalmas *o*-ftálaldehid/SH-csoportú segédanyagokkal képzett származékaik reakciómechanizmus tanulmányával kapcsolatos kutatások.

Az aminosavakkal folytatott klasszikus és kromatográfiás kutatási tapasztalataink bázisán, érdeklődésünk mintegy 5 éve terelődött a cím szerinti származékkészítési reakcióra. Ekkor, az irodalom részletes elemzése nyomán kitűnt, hogy

(a-3) az OPA, különböző merkaptánok {3-merkaptopropionsav (MPA), vagy N-acetil-L-cisztein (NAC), vagy 2-merkaptóetanol (ME) } jelenlétében, aminosavakkal izoindollá alakulása, – a HPLC elválasztására szolgáló származékkészítések közül, minthogy vizes oldatban zajló, gyors kölcsönhatásokról van szó, – a legnépszerűbb eljárás (a javasolt származékkészítések 30-40%-át jelenti). Az érdeklődés eme módszer iránt lankadatlan: évenkénti összesítésben, 2008 első felével bezárólag is, az összes származékkészítéshez viszonyított 40-50% tartományában van. Ugyanakkor, e származékkészítés

--a kölcsönhatás lényegét érintő nagyszámú, feloldhatatlan ellentmondást tartalmazott.

--Az ellentmondások széles választékából*, néhány létfontosságú aminosav (glicin, β -alanin, γ -aminovajsav, ornitin és lizin) kis stabilitása, a kis stabilitás okának felderítése, kitüntetett jelentőségűnek bizonyult. (*úgy mint, az SH-csoportú segédanyag szerepére, a reagens élettartamára, elkészí-

tési módjára, tárolására vonatkozó ellentmondó javaslatok). Sokoldalú, sztöchiometriai és szerkezetilemző kutatásainknak köszönhetően bizonyítottuk, hogy

--az eredeti szerkezetükben az $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ egységet tartalmazó primer aminocsoportú vegyületek, (a fentebb részletezett aminosavak, s valamennyi alifás mono- és diamin), elsődlegesen keletkező izoindoljai, egy következő OPA-molekula felvételével, két OPA-molekulát tartalmazó termék(ek)é alakulnak. Stabilitásuk, amennyiben e származékok értékelése a kölcsönhatásban keletkező termékek összegén alapul, megegyezik az $\text{NH}_2\text{-CH=}$ eredeti szerkezetű vegyületekből származó egyetlen termékkel. Ez a tapasztalat egy három évtizedes irodalmi dilemma magyarázatául, s megoldásául szolgált.

--A kölcsönhatás mechanizmusának egyértelmű tapasztalatát analitikailag folyamatosan hasznosítottuk: az OPA/SH csoportú segédanyag = 1/50 molarányú reagens használatára tettünk javaslatot: választott esetekben (mono- és diaminok), az elsődlegesen keletkező izoindol átalakulását jelentősen visszaszorítottuk, s ezzel az aminosavak és a $\text{C}_1\text{-C}_5$ alifás aminok egyidejű meghatározását oldottuk meg.

--Lezárt OTKA pályázatunk eredményei nyomán az SH-csoportú segédanyagoknak az aminosav- és aminszármazékok jellemző sztöchiometriai viselkedésére és stabilitására gyakorolt hatása új megvilágításba került: eddigi tapasztalatok alapján, az SH-csoportú segédanyag alkil-láncán lévő funkciócsoportjával (-COOH , -OH) összefüggésben.

(b) **A 2004-2007-es pályázati ciklusban** más OPA/merkaptán tartalmú reagensok, s a primer aminocsoport közötti kölcsönhatás még felderítetlen, további összefüggéseinek tisztázására került sor.

(b-1) Folytattuk az aminosav-analitikai eljárások, elsősorban az OPA/merkaptán származékok alapkutatás-szintű szisztematikus, összevető értékelését (szerkezet/reakciómechanizmus/termékek stabilitása): e vizsgálatok eredményeként megállapítottuk, hogy a leggyakrabban alkalmazott OPA-MCE reagens használata a legkevésbé előnyös: különös tekintettel az $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ egységet tartalmazó primer aminocsoportú vegyületek stabilitása tekintetében.

(b-2) További vizsgálataink az általunk eddig még nem kutatott vegyületcsoportok viselkedésére ($>\text{C}_5$ alifás aminok, alifás diaminok, biogén aminok), s az SH-csoporton kívül más funkciócsoportot nem tartalmazó segédanyag, az etántiol hatásának felderítésére vonatkoztak [12-15].

A kutatás kiterjesztése, következő lépéseiként

--egyrészt, a SH-csoporton kívül, más funkciócsoportot nem tartalmazó SH-csoportú etántiol segédanyagként való hatását vizsgáltuk [12],

--másrészt, a primer és szekunder aminocsoportok egyidejű származékképzésének sztöchiometriai és mechanizmus tanulmányát készítettük el: e tanulmány eredményeként a reakciókörülményeket úgy optimáltuk, hogy a primer aminocsoportok OPA származékokká, a szekunder aminocsoportok FMOC származékokká alakulása mennyiségi és mellékreakció mentes legyen [12].

(b-3) A primer és szekunder aminocsoportok reakciókészségével kapcsolatos, szerkezet/stabilitásra vonatkozó kutatások HPLC-MS, valamint HPLC-MS/MS módszerrel készültek. E vizsgálatok eredményeit analitikailag hasznosítottuk. A vegyes termékek várható összetételének ismeretében [12], az optimális reakciókörülmények kialakítása után, elsőként tettünk javaslatot az OPA-etántiol/fluorenilmetil-kloroformáttal való kétlépcsős származékkészítésre [12,13].

Az új eljárás, a sokoldalúan igényelt, biogén aminok, kitüntetetten a szekunder aminocsoportú spermidin és spermin, OPA-ET-FMOC vegyes termékeinek, vizes oldatbani gyors, a korábbihoz viszonyított sokszoros válaszjellel való elemzését teszi lehetővé [13,14].

(b-4) Az aminosavak és aminok, mindösszesen 37 összetevő fehérjementesített biológiai szövetekből való egyidejű elemzésére gyors, közvetlen módszert javasoltunk [13]. Az eljárást sajtok aminosav/amin tartalmának meghatározására is bevezettük [15].

(c) Eredményeink nemzetközi elfogadottságát és értékelését fémjelzi, hogy --témavezető, a Pittcon-2005, 2006, 2007, 2008 (USA) konferenciákon, minden évben, a Bioanalytical-I vagy/és a Bioanalytical-II szekció titkára volt (a felkérés már 2009-re is megérkezett).

--A aminosavak és aminok elemzése tárgykörében témavezetőt az Elsevier egy többszerzős könyv szerkesztésére kérte fel, amelynek 4 fejezetében saját eredményeivel vesz részt. A Journal of Chromatography Library 70. kötete, 2005 júniusában, 655 oldalon jelent meg az Elsevier gondozásában (Editor: Ibolya Molnár-Perl), "Quantitation of amino acids and amines by chromatography (methods and protocols)" címmel. A könyvben témavezető, mindösszesen 162 oldalon (Chps. 1.2.2., p. 120-137; 1.2.3., p. 137-163; 2.2.1., p.405-445; 3. 577-606), a korábbi, s a legújabb, az aminosavak és aminok kromatográfiás elemzésének, csoportunk által megoldott, analitikai alap kutatások kérdéseit foglalta össze [15].

-- Ugyancsak a 2005 év eredményei közé sorolható, hogy megjelent az Academic Press felkérésére írt monográfia részlet: I. Molnár-Perl: Liquid Chromatography, In Encyclopedia of Separation Science, Academic Press, 2005, Amino Acids, 2nd edition, Vol 5, Liquid Chromatography, Amino Acids, p. 239-252. [16].

--Témavezető ismételt meghívást kapott az analitikai szekció-titkári teendőinek ellátására és az analitikai szekció nyitó előadására, a kétévenkénti, 2003 után, 2005-ben is, a Bécsben rendezett, 9th International Congress on Amino Acids and Proteins konferenciára (A 2007-ben, ugyane minőségben, 10th International Congress on Amino Acids and Proteins konferencián részvétel, jöllehet a részvételi díjat a meghívó vállalta, anyagiak hiányában, sajnálatos módon, megghiúsult.)

--Az aminoscsoport analitikájával kapcsolatos kutatások ismertsége és elismertsége, s a 2005-ben megjelent monográfia [15] eredményeként kapott a témavezető egy Workshop szervezésére való felkérést az IMA'05 (Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications, 2005 October 2-6, Heraklion, Crete) konferencián. A workshop hat előadásból állott: meghívott előadói (ötten) a monográfia szerzői voltak, témavezető előadásának címe: "The stability and characteristics of the o-phthalaldehyde derivatives of amino acids and amines: the role of the SH-group containing additive; optimum analytical conditions for food matrices"

--Témavezető meghívott előadója volt a BCEIA konferenciának (Peking, 2005 október), az aminosav kutatás tárgyköréből tartott összefoglaló előadást (I. Molnár-Perl: "The Stability and Characteristics of the o-Phthalaldehyde Derivatives of Amino Acids and Amines, The role of the SH-Group containing additive regarding optimum analytical conditions and derivatization-mechanism: LC/MS, LC/DAD/FL study")

--A 2006-os év jelentős eredményeihez tarozik, hogy a pályázat kutatási tárgyköréből két PhD munka került végleges lezárásra.

Hanczkó Róbert megvédte dolgozatát "Aminosavak és aminok származékkészítése o-ftálaldehid reagensekkel: eltérő tioltartalmú termékek összehasonlító értékelése HPLC alkalmazásával" címen.

Kutlán Diána PhD értekezését 2007-ben védte "Az aminosavak és aminok kölcsönhatása o-ftálaldehiddel; a termékek stabilitása, reakciómechanizmusa és analitikája" címen.

Témavezető két jelentős nemzetközi konferencián tartott előadást,

--a Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry, Biomedical Methods szekciójában: I.Molnár-Perl: HPLC of Amino Acids and Amines: Improved Derivatization with the o-phthalaldehyde Reagents (Pittcon-2006, March 12-17, Orlando, Florida, USA) és

--az International Studies in Tryptophan Research analitikai szekciójában egy összefoglaló előadásra kapott meghívást: I. Molnár-Perl: Advancements in the Rapid and Sensitive Analyses of Tryptophan and its Metabolites by Chromatography (Istry-2006, July 4-7, Tokyo, Japan).

--Hanczkó Róbert eredményeit az ISC ifjú analitikusok fórumán szóbeli előadásra választották (ISC-2006, August 21-25, Copenhagen) R. Hanczkó, I.Molnár-Perl: Characteristics and Stability of Amino Acids and C₁-C₅ Aliphatic Amines as their o-phthalaldehyde/ethanethiol derivatives címen.

1.2 Az eltérő funkciós csoportú, egyszersmind ‘aktív proton’ tartalmú, azaz, szililszármazékká alakítható, vagy/és származékkészítés nélkül mérhető, s ily módon gázkromatográfiás elemzésre alkalmas vegyületek GC-MS analitikája: e vegyületek egy oldatból, egyetlen felvételtől való egyidejű elemzése.

(a) Előzmények: A szacharidok, polialkoholok, karbonsavak és aminosavak egy oldatból, egyetlen felvételtől, trimetilszilil (TMS)-oxim éter/észter származékokkénti, szimultán GC-MS elemzése [18-26].

E kutatások eredményeiből is nagyszámú, köztük két, felkérésre írt review közlemény jelent meg [21,24], nemzetközi fórumokon számos előadás hangzott el. A területre vonatkozó alap kutatás, --egyrészt a szacharid-(oxim) trimetilszilil (TMS) éterek sztöchiometriai vizsgálatán, --másrészt a nyomnyi mennyiségű karbonsav és aminosav összetevők TMS-származékainak fragmentum-analitikai tanulmányán alapult. E kutatások eredményeként nyílt mód a 40-80% mennyiségű szacharidok/polialkoholok jelenlétében, az összességükben is több nagyságrenddel kisebb mennyiségű karbonsavak, egy oldatból, egyetlen felvételtől, GC/MS elemzésére: a legkülönbözőbb természetes mátrixokban zajló élettani és technológiai folyamatok nyomon követésére: releváns összetevőik minőségi-mennyiségi elemzése alapján.

(b) A **2004-2007-es pályázati ciklus** alap kutatási terve szerint a TMS (oxim) éter/észterekkénti analízis rendszerünket mind az elemzőrendszerbe bevont vegyületek, mind az elemzendő mátrixok tekintetében gyarapítottuk:

(b-1) A szacharidok, polialkoholok, karbonsavak és aminosavak szimultán elemzése kiegészítésként, rendszerünket a flavonoidok meghatározásával gazdagítottuk. A flavonoidok a természetes mátrixok, ezidő szerint, egyik legrelevánsabb (antioxidáns tulajdonságúak, oltalmazó hatásúak a rák, az infarktus és a szív-koronaria betegségek megelőzésében), s egyben legösszetettebb szerves vegyületcsoportja. Szerkezetük szerint, antocianidinek, katechinek, flavonok, flavanolok, flavanonok és izoflavonok, amelyek a természetes mátrixokban mind szabad állapotban, mind β -glükozidjaiként fordulnak elő. Minthogy nagyszámú hidroxilcsoportot tartalmaznak szililszármazékokként, GC-MS módszerrel jól mérhető; metoxi-csoportú változataik származékkészítés nélkül is meghatározhatók.

(b-3) Analízisrendszerünknek a flavonoidokra kiterjesztése egy tájékozódó tanulmánnyal indult, amely egy Review munkában realizálódott [27]: e tanulmány, első megközelítésben, két flavanon, a naringenin és heszperidin szilil származékokkénti fragmentumanalitikai vizsgálatát tartalmazta.

(b-4) A flavonoidok GC-MS elemzésére vonatkozó alap kutatás részletes származékkészítési, sztöchiometriai és fragmentumanalitikai vizsgálatokra épült [28]:

--Három antocianidin (pelargonidin, cianidin, malvidin), egy flavonol (kvercetin), két flavon (apigenin, luteolin) és két flavanon (naringenin, heszperetin) TMS(oxim)-származékainak szelektív fragmentációját és e fragmentum ionok mennyiségi meghatározásra való alkalmasságát, valamennyi vizsgált esetben, elsőként bizonyítottuk.

--Megállapítottuk, hogy a származékkészítés során (oximmá alakítás, majd szililezés) az antocianidinek és a flavanonok TMS-oximokat, a flavanolok és flavonok TMS-származékokat képeznek.

--Az antocianidinek oximmá alakulásának jellemző reakcióútját, s a folyamatban keletkező termékeket elsőként azonosítottuk és mértük.

(b-5) Egy, újabb terület felé nyitás az antrakionok szimultán elemzése volt, szacharidokkal, karbonsavakkal aminosavakkal és polialkoholokkal együtt: e kutatásaink a növényanalitika izgalmas irányai felé terelődtek. A glikozidok enzimés és nem szelektív hidrolíziseiben keletkező termékek elemzésének igényével: analízisrendszerünk kivételes lehetőségeit hasznosítottuk [29], s HPLC-MS vizsgálatokkal kiegészítve bizonyítottuk, hogy a két módszer együttes alkalmazása hatványozottan értékes információt tartalmaz.

--Négy antrakinon modell-vegyület (antrakinon, kinizarin, alizarin, purpurin) származékkészítését, trimetilszilil- és *terc*-butil-dimetilszilil-származékaik fragmentációját, GC-MS módszerrel követtük: --bizonyítottuk, hogy a származékká alakítás előnyös és szükséges, s a származék-készítő szerek választékából (BSA, HMDS, MTBSTFA), a HMDS a legkedvezőbb.

--Elsőként írtuk le a festőbuzér-mintákban azonosított, a kereskedelemben nem kapható antrakinonok, a pszedopurpurin és lucidin, valamint, a lucidin bomlásterméke, a nordamnakantál TMS-származékainak fragmentációját, s fragmentum ionjaik mennyiségi mérésre való alkalmasságát.

(b-6) Új ismeretként értékeljük a nem redukáló és redukáló glikozidkötésű szacharidok TMS- és TMS(oxim)-származékainak egymástól eltérő, jellemző fragmentációját. Nagyszámú, eltérő polimerizációs fokú és mennyiségű glikozid TMS(oxim)-származékainak részletes fragmentum analitikai tanulmánya alapján

--bizonyítottuk, hogy a redukáló és nem redukáló szacharidok, eltérő és jellemző fragmentum-ionokat adnak, mindezek alapján,

--autentikus vegyület hiányában is, azonosíthatók és mennyiségileg mérhetőek.

A fentebbi, (b-1–b-6) pontokban részletezett alapkutatások analitikai felhasználása sorából, új kutatási eredményként tekintjük a különféle mátrixok összetevőinek, előzetes kivonási és dúsítási lépés nélkül, a mátrix jelenlétében, s kivonatokban, egy oldatból egyetlen gázkromatográfiás felvételtől való minőségi-mennyiségi azonosítását, nagyságrendileg eltérő mennyiségekben [27-31].

(b-7) Az 1.2 csoportba sorolt legújabb irányként jelentkezik a szililezési technika kiterjesztése aktív protont tartalmazó funkciós csoportú gyógyszervegyületekre, valamint a környezeti vizek egyéb szennyezőinek elemzésére [32].

(c) Az 1.2 tárgykörből, nemzetközi fórumokon elhangzott előadások az alábbiak voltak:

--Ibolya Molnár Perl, Zsófia Füzfai: Gas Chromatographic Analysis of the Omnipotent Flavonoids (Pittcon-2007, February 25 - March 2, Chicago, IL, USA)

--I. Molnár-Perl*: Chromatographic analysis of flavonoids and their benefits in human nutrition (*meghívott előadás); 7th International Conference of VITAMINS, (September 19. - 21. 2007, Prague, Czech Republic)

--Ibolya Molnár-Perl: Possibilities in the identification and quantification of flavonoids simultaneously with acids, sugars and sugar alcohols in natural matrices by GC-MS, (Pittcon-2008, March 3-6, New Orleans, USA)

--I. Molnár-Perl* , I. Boldizsár, Zs. Füzfai, F. Tóth, É. Sedlák, I. Gyurján: Behavior and characteristics of various lignan glycosides under enzymatic and acidic hydrolyses (*meghívott előadás); HPLC-MS and GC-MS studies, 8th International Conference of VITAMINS, (September 9. - 11. 2008, Zlin, Czech Republic)

--A tárgykörből Füzfai Zsófia PhD dolgozatát 2008-ban védte ” Természetes mátrixok szerves összetevőinek minőségi - mennyiségi elemzése, trimetilszilil származékokként, egyetlen oldatból, GC-MS eljárással” címen.

Mindkét kutatási területünk aktualitását az egyetemi ifjúság érdeklődése jellemzi:

Témavezető ”GC-MS és HPLC a szerves vegyületek analitikájában” című speciális kollégiumának évenként 10 -20 hallgatója van.

A PhD hallgatók aktivitását, s a terület relevanciáját fémjelzi, hogy a két kutatási terület eredményeiből, 2004-2007 pályázati ciklusban, a fentebb részletezettekén kívül,

--hazai fórumokon 5 szóbeli előadás és 6 poszter-előadás

--nemzetközi fórumokon 6 poszter-előadás volt.

A harmad és negyedéves hallgatók, valamint a diplomamunkát készítő, végzős hallgatók téma iránti érdeklődését mutatja, hogy a két kutatási területről

--5 diákköri dolgozat, és

--6 diplomadolgozat készült.

Hivatkozások:

- [1] I. Molnár-Perl, Derivatization and Chromatographic Behavior of the OPA Amino Acid Derivatives with Various SH-group Containing Additives (**Review**), *J. Chromatogr.*, A 913, 283-302, 2001.
- [2] D. Kutlán and I. Molnár-Perl, Advances in the Characteristics and Stability Properties of the OPA/3-Mercaptopropionic acid and OPA/N-Acetyl-L-cysteine Derivatized Amino Acids, *Chromatographia*, 53 (2001) S0-188-19, F. Tóth, D. Kutlán, I. Molnár-Perl*, Advances in the Evaluation of the Stability of Amino Acid Derivatives Obtained with the OPA/3-Mercaptopropionic Acid and with the OPA/N-Acetyl-L-Cysteine Reagents: HPLC/MS Study, *J. Chromatogr.* 949 (2002) 99-124
- [4] D. Kutlán, P. Presits & I. Molnár-Perl, (**Review**) Behavior and Characteristics of Various Mono and Diamine Derivatives Obtained with the OPA/3-Mercaptopropionic Acid and with the OPA/N-Acetyl-L-Cysteine Reagents, *J. Chromatogr.* 949 (2002) 235-248
- [5] D. Kutlán, I. Molnár-Perl, Simultaneous Analysis of Amino Acids and Amines as Their OPA/MPA Derivatives: Amino Acid and Amine Composition of Vines, *J. Chromatogr.* 987 (2003) 311-322
- [6] I. Molnár-Perl (**Review**), Quantitation of Amino Acids and Amines of the Same Matrix by HPLC: Simultaneously or Separately and Amines Alone Subsequently to Their Isolation from Amino Acids, *J. Chromatogr.* 987 (2003) 291-309
- [7] P. Presits, I. Molnár-Perl, HPLC of tryptophan and its metabolites: as OPA derivatives on the basis of their UV and Fluorescence spectra, simultaneously, *Chromatographia* 57 (2003) S-87 – S-92
- [8] R. Hanczkó, I. Molnár-Perl, Derivatization, Stability and Chromatographic Behavior of *o*-Phthaldialdehyde Amino Acid and Amine Derivatives: *o*-Phthaldialdehyde/2-Mercaptoethanol Reagent, *Chromatographia* 57 (2003) S-103 – S-114
- [9] R. Hanczkó, D. Kutlán, F. Tóth, I. Molnár-Perl*, Behavior and Characteristics of the C₆-C₈ n-Aliphatic and Phenylethyl Amines Obtained with the OPA/3-Mercaptopropionic Acid and with the OPA/N-Acetyl-L-Cysteine Reagents, *J. Chromatogr. A* 1031 (2004) 51-66.
- [10] A. Csámpai, F. Tóth, D. Kutlán, I. Molnár-Perl*, Differences in the Stability and Behavior of the *o*-Phthaldialdehyde Derivatives of Histidine and 3-Methylhistidine, *J. Chromatogr. A* 1031 (2004) 67-78.
- [11] T. Törő, Cs. Ágoston, I. Molnár-Perl* GC/MS Study on the Composition of the *o*-Phthaldialdehyde/Ethanedithiol Derivatives of Aliphatic Amines, *Chromatographia*, 60 (2004) S155-S161.
- [12] R. Hanczkó, Á. Kőrös, F. Tóth, I. Molnár-Perl*, Behavior and characteristics of biogenic amines, ornithine and lysine derivatized with the *o*-phthalaldehyde-ethanedithiol-fluorenylmethyl chloroformate reagent, *J. Chromatogr. A* 1087 (2005) 210-222.
- [13] Á. Kőrös, R. Hanczkó, A. Jámbor, Y. Qian, A. Perl, I. Molnár-Perl*, Analysis of amino acids and biogenic amine in biological tissues as their *o*-phthalaldehyde/ethane-thiol/fluorenylmethyl chloroformate derivatives by HPLC: a deproteinization study, *J. Chromatogr. A*, 1149 (2007) 46-55.
- [14] R. Hanczkó, Y. Qian, A. Jámbor, A. Perl, I. Molnár-Perl* (**Review**) Advances in the *o*-phthalaldehyde derivatizations: a comeback to the *o*-phthalaldehyde-ethanedithiol reagent, *J. Chromatogr. A*, 1163 (2007) 25-42.
- [15] Á. Kőrös, Zs. Varga, I. Molnár-Perl*, Simultaneous analysis of amino acids and amines as their *o*-phthalaldehyde-ethanedithiol-fluorenylmethyl chloroformate derivatives in cheese, *J. Chromatogr. A*, 1203 (2008) 146-152.
- [16] I. Molnár-Perl: Quantitation of amino acids and amines by chromatography (methods and protocols) Elsevier 2005 (Ed. I. Molnár-Perl) *Journal of Chromatography Library*, Vol. 70, Elsevier, Chps. 1.2.2., p. 120-137; 1.2.3., p. 137-163; 2.2.1., p. 405-445; 3. 577-606.
- [17] I. Molnár-Perl: Liquid Chromatography, In *Encyclopedia of Separation Science*, Academic Press, 2005, Amino Acids, 2nd edition, Vol 5, Liquid Chromatography, Amino Acids, p. 239-252.
- [18] I. Molnár-Perl, A. Vasánits and K. Horváth: Simultaneous GC/MS Quantitation of Phosphoric, Aliphatic and Aromatic Carboxylic Acids, Proline and Hydroxymethylfurfural as Their Trimethylsilyl Derivatives: in Model Solution II. *Chromatographia.*, 48, 111-119, 1998
- [19] K. Horváth and I. Molnár-Perl*: Simultaneous GC/MS Quantitation of Phosphoric-, Aliphatic and Aromatic Carboxylic Acids, Proline and Hydroxymethylfurfural as their Trimethylsilyl Derivatives: in *Honey*. *Chromatographia.*, 48, 120-126, 1998

- [20] I. Boldizsár, K. Horváth, Gy. Szedlai and I. Molnár-Perl*: Simultaneous GC/MS Quantitation of Simple Sugars, Measured in the Hydrolyzates of Immunostimulant, Water Dissolvable Polysaccharides of Basidiomycetes. *Chromatographia.*, 47, 413-419, 1998
- [21].I. Molnár-Perl: (**Review**) Simultaneous Quantitation of Acids and Sugars by chromatography: GC or HPLC?: *J. Chromatogr.*, 845, 181-195, 1999
- [22] I. Molnár-Perl, Zs. Katona and P. Sass: Simultaneous Determination of Sugars and Acids in Apricots by GC/MS, *J. Chromatogr.*, 847, 93-104, 1999
- [23] I. Molnár-Perl, Zs.F. Katona: GC-MS of Amino Acids as Their Trimethylsilyl /tert.butyl-dimethylsilyl Derivatives: in Model Solutions III. *Chromatographia*, 51, S-227-236, 2000.
- [24] I. Molnár-Perl, (**Review**) Role of Chromatography in the Analysis of Sugars, Carboxylic Acids and Amino Acids in Food. *J. Chromatogr.A* 891, 1-32, 2000.
- [25] Zs. Füzfai, E. Kovács, I. Molnár-Perl* Identification and Quantitation of the Main Constituents of Sour Cherries: Simultaneously, as Their Trimethylsilyl Derivatives, by GC-MS, *Chromatographia*, 60 (2004) S145-S152.
- [26] Zs. Füzfai, Zs.F. Katona, E. Kovács, I. Molnár-Perl*, Simultaneous identification and quantification of the sugar, polyalcohol, carboxylic and amino acid contents of sour cherry, apple and ber fruits as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography mass spectrometry, *J. Agr. Food Chem.* 52 (2004) 7444-7452.
- [27]. I. Molnár-Perl, Zs. Füzfai (**Review**), Chromatographic techniques in the analysis of flavonoids, *J. Chromatogr. A* 1073 (2005) 201-227.
- [28] Zs. Füzfai, I. Molnár-Perl*, GC-MS Fragmentation Study of Flavonoids as Their Trimethylsilyl Derivatives: Analysis of Flavonoids in Model Solutions and in Citrus Fruits, *J. Chromatogr. A*, 1149 (2007) 88-101.
- [29] I. Boldizsár, Z. Szűcs, Zs. Füzfai, I. Molnár-Perl, Analysis of Anthraquinones Mainly by HPLC and GC, *J. Chromatogr. A*, 1133 (2006) 259-274.
- [30] Zs. Füzfai, I. Boldizsár, I. Molnár-Perl*, Characteristic fragmentation patterns of the trimethylsilyl (oxime) derivatives of glycosides by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, 1177 (2008) 183-189.
- [31] A. Kakasy, Zs. Füzfai, L. Kursinszki, I. Molnár-Perl*, É. Lemberkovics, Analysis of non-volatile constituents in *Dracocephalum moldavica* L., *Chromatographia* 63 (2006) S17-S22.
- [32] Á. Sebők, A. Vasanits-Zsigrai, Gy. Záray, I. Molnár-Perl*, Identification and quantification of pharmaceuticals present in waste waters, as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography mass spectrometry, *Talanta*, 76 (2008) 642-650.