

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Kémia Doktori Iskola

**A tömegspektrometria előnye savas és amfoter
kis és makromolekulák vizes és nemvizes
közegű elektroforetikus analízisében**

PhD értekezés

Berkics Balázs Viktor

Témavezetők

Dr. Kilar Ferenc
egyetemi tanár

Fenyvesiné Dr. Páger Csilla
egyetemi adjunktus



Pécs, 2024.

I. Bevezetés

A kapilláris elektroforézis (CE) egy modern, sokoldalú analitikai technika, amelyet pozitívan töltött, negatívan töltött és töltés nélküli vegyületek elválasztására használnak, akár ugyanabban a mérésben is. Bár a módszert először Tiselius használta 1937-ben, a CE alapjait Hjertén fektette le 1967-ben, aki először mutatta be a különböző vegyületek elválasztásának (elméletét, előnyeit és hátrányait) lehetőségét olyan forgócsövek segítségével, amelyek belső átmérője 3 mm volt szabad zóna elektroforézisben. Az évek során különböző CE módokat fejlesztettek ki és tanulmányoztak, nevezetesen a kapilláris zóna elektroforézist (CZE), a kapilláris gélelektroforézist (CGE), a micelláris elektrokinetikus kapilláris kromatográfiát (MEKC), az izotachoforézist (ITP), a kapilláris izoelektromos fókuszálást (CIEF) és a kapilláris elektro-kromatográfiát (CEC). A CE mára egy általánosan használt elválasztási technikává vált, mivel nagyon kis mennyiségű mintát igényel (1-10 nL), könnyen automatizálható és alkalmazható, rövid elemzési idővel rendelkezik és rendkívül sokoldalú.

A CE során többféle detektálási stratégia alkalmazható. Korábban leginkább UV vagy fluoreszcens detektorokat használtak, melyekhez szükséges a kapilláris külső bevonatának eltávolítása. Más készülékeket vezetőképesség és amperometrikus detektorokkal szereltek fel. Manapság a tömegspektrometria (MS) egyre gyakrabban használt detektálási mód a CE-ben. A CE és az MS kapcsolása igen hatékony analitikai eszközt eredményez, mivel kombinálja a kiemelkedő detektálási érzékenységet, a szerkezeti információk nyújtásának képességét és a CE magas elválasztási hatékonyságát. Így a CE-MS mind a detektálást, mind az ismeretlen minta szerkezetének meghatározását kínálja.

A kapilláris elektroforézis képes elkerülni a szerves oldószerek használatát az elválasztások során. A nemvizes kapilláris elektroforézis (NACE) a környezeti és toxicitási aggályok mellett akkor kerül szóba, ha az adott vizsgálandó vegyület nem oldódik közönséges vizes oldószerekben, pufferben és felületaktív anyagokban, például hidrofób ionos vegyületeknél. Emellett a

legtöbb szerves oldószer könnyebben párolog és alacsonyabb felületi feszültséggel rendelkezik, mint a víz, ami a NACE-t alkalmasabbá teszi az MS-hez való kapcsoláshoz. Ennek eredményeként a NACE-MS kapcsolat nagyon hatékony és sokoldalú, mivel ez az analitikai technika számos előnnyel rendelkezik: gyors, alacsony mintafelhasználású és magas szelektivitású.

Az értekezésben bemutatásra kerülő kifejlesztett módszerek hozzájárulnak:

- 6 féle szerves sav kimutatásához bormintákból és ezáltal borok minőségi ellenőrzéséhez, eredetvizsgálatához;
- tömegspektrometriás kapcsolat kialakításához szekvenciális injektálási protokollal megvalósított kapilláris izoelektromos fókuszálás során, új lehetőségeket nyitva fehérjék elválasztásához;
- lipid A molekulák szerkezeti vizsgálatához, foszforilációs és acilációs profiljaik meghatározáshoz, ezáltal a bakteriális fertőzések és kiváltott immunválaszaik pontosabb megértéséhez.

II. Célkitűzések

Munkánk során olyan robusztus és megbízható módszerek kidolgozására helyeztük a hangsúlyt, melyek lehetővé teszik a kapilláris elektroforézis és tömegspektrometria kapcsolását mind vizes, mind nemvizes közegben. A kidolgozott vizes és nemvizes módszereket ezután alkalmaztuk biológiai szempontból fontos minták elemzésére.

Főbb céljaink:

- CZE-ESI/QTOF-MS módszer optimalizálásának segítségével szerves savak mennyiségi meghatározása vörösborokban.
- Szekvenciális injektálási protokoll fejlesztése a fehérje minták hatékony kapillárisba való bejuttatására a tömegspektrometriás elemzés érdekében, mellyel az amfolitok zavaró hatása kikerülhető.
- Nemvizes közegben CE-MS módszer alkalmazásával (az oldódási korlátok kiküszöbölésével) a lipid A izomerek szétválasztása és jellemzése foszforilációs és acilációs mintázataik alapján.
- A megfelelő CE polarítások és MS detektálási körülmények kiválasztása, ideértve a szívóhatás és külső nyomás alkalmazását is, annak érdekében, hogy a lipid A molekulák negatív és pozitív ionizációs módokban fragmentációs mintázatokon keresztül kerüljenek azonosításra.
- A lipid A foszforilációs és acilációs izomereinek szétválasztása és jellemzése CE-MS és CE-MS/MS módszerrel.

III. Anyagok és módszerek

1. Reagensek

A macedón Vranec bor analizéséhez használt reagensek - tejsav, szukcininsav, almasav, borkősav, shikiminsav és citromsav standardok, polibrén (hexadimetrin-bromid, PB), ecetsav, hangyasav, ammónium-hidroxid és nátrium-hidroxid - a Sigma-Aldrich-től (Steinheim, Németország) származtak. Ultratiszta desztillált víz (LC-MS Chromasolv®) a Fluka-tól (Buchs, Svájc) származott.

A fehérje elválasztásokhoz víz, metanol (LC-MS CHROMASOLV® minőség), hangyasav (eluens komponens LC-MS-ben) és ammónium-hidroxid oldat (28,0–30,0%), lizozim (14,3 kDa) tojásfehérjéből (≥90%), citokróm c (12,4 Da) lószívából (≥95%), miogloblin (17,0 kDa) lószívából (≥90%), és β-laktoglobulin A (18,4 kDa) tejből (szarvasmarha) származó a Sigma-Aldrich-től (Steinheim, Németország, és Saint Louis, MO, USA) kerültek beszerzésre. A foszforsav (85 m/m %), a nátrium-hidroxid és a sósav a Spektrum 3D-től (Debrecen, Magyarország) származott.

A lipid A analízis során metanol (MeOH) (LC-MS Chromasolv®), diklórmetán (DCM) (Chromasolv Plus, HPLC-hez, ≥99,9%), trietilamin (TEA) és ecetsav (AcOH) (eluens adalékanyagok LC-MS-hez), nátrium-hidroxid (NaOH) és acetonitril (ACN) a Sigma-Aldrich-től (Steinheim, Németország) kerültek beszerzésre.

2. Alkalmazott műszerek és szoftverek

Munkánk során Agilent 7100 kapilláris elektróforézis készülékkel és Agilent 6530 Q-TOF LC-MS rendszerrel dolgoztunk. A két készülék összekapcsolása egy Agilent Jet Stream ESI interfészen keresztül történt. A CE készülék irányításához és az adatfeldolgozáshoz a ChemStation B. 04.03. és 7.01 verziót használtuk. A tömegspektrométert az Agilent MassHunter B.04.00 szoftver irányította.

3. Mérési körülmények

A borminta esetében 80 cm hosszú, 50 μm belső átmérőjű polibrénnel fedett kapillárist használtunk. Méréseink során -20 kV feszültségkülönbséget alkalmaztunk. Háttéreelektrolitnak 50 mM ammónium-acetát puffer pH=6,0 választottuk. A köpenyfolyadék (1 v/v % hangyasav oldat) 0,7 μL /perc áramlással került szállításra egy LC izokratikus pumpával (1260 Infinity sorozat, Agilent Technologies, Waldbronn, Németország). Az ESI/QTOF-MS negatív ionizációs módban működött, 4,5 kV porlasztófeszültséget alkalmazva. Szárító gáznak nitrogént alkalmaztunk 325°C-on, 8 L/perc áramlási sebességgel. A porlasztó gáz nyomása 35 psi volt. A köpenygáz hőmérséklete 350°C volt, 11 L/perc áramlással. A TOF-MS paraméterei a következők voltak: fragmentátor, 100 V, és szkimmer, 65 V. A repülési idő analizátor által szkennelt tömeg/töltés (m/z) tartomány 50–250 m/z volt, maximális adatfelvételi idővel 1000 ms/spektrum.

A fehérjék izoelektromos fókuszálása során Ampholine (pH 3,5–10; pH 7–9; pH 4-6) amfolitokat alkalmaztunk. Méréseink során 70 cm hosszú és 50 μm belső átmérőjű PAA bevonatú kapillárist (61,5 cm az UV-detektorig) használtunk. Anolitiként és katolitiként 50 mM hangyasav (pH 2,3) oldatot és 100 mM ammónium-hidroxid (pH 11,0) oldatot készítettünk, illetve az anolit és katolit oldatokat egymással titráltuk, amikor az elektrolitok más pH-értékeket igényeltek. Az amfolit zónák típusa, koncentrációja és hossza változott. A tipikus „40/6/40” injektálás során „40/6/40” másodpercg injektáltuk egymás után injektálva az amfolitot, a mintoldatot és újra az amfolitot. Méréseink során a következő elrendezések is alkalmazásra kerültek: „80/6/80”; „160/6/0”; „0/6/160”; „40/6/0” vagy „0/6/40”. A kísérletek során az alkalmazott feszültségkülönbség +20 kV (télerősség 286 V/cm) volt. A minták 10 perc fókuszálást követően 50 mbarral kerültek mobilizálásra a feszültségkülönbség fenntartása mellett. MS körülmények: a porlasztó gáz (N_2) nyomása 20 psi, a szárító gáz (N_2) hőmérséklete és áramlási sebessége 300°C és 7 L/perc, a köpenygáz (N_2) hőmérséklete és áramlási sebessége pedig 300°C és 11 L/perc volt.

Az ESI kapilláris feszültsége 4000 V volt, a fragmentor és a szkimmer potenciálja 200 V, illetve 65 V-ra volt állítva. A köpenyfolyadék (4:1 metanol/víz, 1% v/v hangyasav tartalommal) 10 µL/perc áramlási sebességgel működött.

Lipid A minták esetében az optimális háttélelektrolit oldat összetétele MeOH:DCM:TEA:AcOH (40:60:1,08:0,36, v/v/v/v) volt. A mérések kezeletlen kvarc kapillárisokban (50 µm belső átmérő és 55 cm hossz) történtek +30 és -30kV feszültségkülönbség alkalmazása mellett. Az eredeti Agilent rozsdamentes acél ESI tű lecserélésre került az Agilent G7100–60041 platina tűre. Az MS körülmények: köpenyfolyadék 0,06% (v/v) TEA-t és 0,02% (v/v) AcOH-t tartalmazott MeOH-ban 5 µL/perc áramlási sebességgel, amit egy izokratikus pumpa (Agilent Technologies) adagolt a szplitteren keresztül 1:100 arányban. Az elektropray feszültség mind a negatív, mind a pozitív ionmódokban 3,0 kV-ra volt állítva. A nitrogén szárító gáz áramlási sebessége 5,0 L/perc volt 200°C-on, 15 psi nyomással. Az ionsúcsok CID MS/MS kísérletekkel prekursor m/z-függő lineáris ütközési energia gradiens alkalmazásával kerültek azonosításra mind pozitív-, mind negatív-ion módokban.

IV. Eredmények

1. A vizes közegben történt módszerfejlesztések eredményei

i. Macedón Vranec borminta CZE-ESI-QTOF-MS vizsgálata

Egy gyors elválasztási módszer került kifejlesztésre CZE-ESI/QTOF-MS alkalmazásával, mellyel sikerült a különböző szerves savak koncentrációit meghatározni egy macedón vörösbor mintából. A borban elválasztott szerves savak: a tejsav, a borostyánkósav, az almasav, a borkósav, a shikiminsav és a citromsav. A kísérletek során két illékony puffer, az ammónium-acetát és az ammónium-formiát került kipróbálásra az MS detektálás optimalizálása érdekében. Egyik háttélelektrolittal sem sikerült az egyes vegyületek alapvonalbeli elválasztása, azonban ez nem volt szükséges, mivel megfelelő extrahált ion elektroferogramok keletkeztek, és a részleges elválasztás még mindig biztosított előnyöket. Az ammónium-acetát használata megfelelő extrahált ion csúcsokat eredményezett, így kiválasztásra került háttélelektroltként. Az ammónium-acetát koncentrációjának növelése 10-ről 75 mM-ig a csúcsok szélesedését, míg alacsonyabb háttélelektrolit koncentrációk hosszabb migrációs időket eredményeztek. Optimális körülményként az 50 mM ammónium-acetát puffer (pH=6,0) lett kiválasztva a szerves savak elválasztására.

Sem 80 cm-es, sem 120 cm-es kapilláris használatával nem sikerült az egyes vegyületek alapvonalbeli elválasztása. Kiemelendő, hogy a borkósav, almasav és borostyánkósav egymáshoz közel vándorolt, ezt követte a tejsav, shikiminsav és citromsav. A 4 perces futtatási idő miatt 80 cm-es kapilláris került kiválasztásra a kísérletekhez.

Az elválasztás és a csúcsalak fenntartása érdekében a 20 kV-nál magasabb potenciálkülönbség nem került alkalmazásra, mivel a feszültség növelése rosszabb felbontást és csúcscsúszedést

eredményezett. A kísérletek során köpenyolyadéként 1% v/v hangyasavat használtunk, ami megfelelően elősegítette a szerves savak ionizációját.

ii. Fehérje minták CIEF-szekvenciális injektálás-ESI-QTOF-MS vizsgálata

A módszerfejlesztés során egy négy fehérjét tartalmazó keverék került mintaként alkalmazásra (lizozim, pI: 11,35; citokróm c, pI: 10,25; miogloblin, pI: 6,8; β -laktoglobulin A, pI: 5,3). Szekvenciális injektálási protokoll segítségével mind az amfolit, mind a mintakeverék bejuttatásra került egy 70 cm hosszú, PAA-bevonatú kapillárisba CIEF-ESI/QTOF-MS analízis során. A CIEF mérések során UV- és MS-detektálást is alkalmaztunk. Egy 10 perces fókuszálási lépés után a minta mobilizációja 50 mbar nyomás alkalmazásával valósult meg az UV- illetve MS detektorhoz, az alkalmazott feszültség fenntartása mellett. Összehasonlítottuk az 1%-os Ampholine pH 3,5–10 amfolit oldatot és „40/6/40” injektálás protokollt, egy fele akkora (0,5% v/v) amfolit koncentráció, de hosszabb „80/6/80” injektálási protokoll alkalmazásával. Különböző injektálási protokollok kerültek összehasonlításra, mint például „80/6/80”, „160/6/0” vagy „0/6/160”, 0,5%-os, az előzőhöz képest szűkebb pH tartományú, Ampholine pH 7–9 amfolit oldat alkalmazása mellett. Ekkor megfigyelhető, hogy a kapillárisban kialakuló amfolit zónák hossza szinte azonos maradt. Különösen figyelemre méltó, hogy a széles pH-tartományú amfolit használatakor a két bázikus fehérje nem volt jól elválasztható, habár a másik két fehérje alapvonal szinten elvált. A szűk pH-tartományú amfolitok (pH 7–9) használata esetén azonban hasonló kísérleti feltételek mellett (alkalmazott nyomás, mobilizáció) az el nem választott két bázikus fehérje a pH gradiens katód felőli szélére vándorolt.

A négy fehérje elválasztását elvégeztük Ampholine pH 7–9 amfolitokkal MS-detektálással, miután jelentős módosításokat vezettünk be a CIEF kísérletekben. Annak ellenére, hogy a PAA bevonat nem mobilizálja a pH gradienst, a CE műszer kapcsolódása az MS-hez az ESI interfészen keresztül indukálja a zónamobilizációt

(porlasztógáz szívó hatása). A nyomás alkalmazásának hiányában is a komponensek jelentősen gyorsabban érték el az MS detektort, mint a korábbi UV-detektálást alkalmazó kísérletben. Az eredmények azt mutatják, hogy a „40/6/40” injektálási protokoll alkalmazása (csak 0,5 v/v% amfolitok felhasználásával) a négy fehérje elválasztását eredményezte, bár eltérő felbontással.

Az amfolit koncentrációjának hatása az elválasztás hatékonyságára és a pH gradiensre három különböző koncentráció esetén került megfigyelésre Ampholine pH 4-6 oldattal. Az amfolit koncentrációjának csökkentése 1% -ról 0,5% -ra és 0,25% -ra élesebb fehérje csúcsokat és rövidebb pH gradiens zónákat eredményez. Bár a két bázikus fehérje sávja átfedi egymást (nem választhatók el egymástól), a mioglobin és a β -laktoglobulin A jól elkülönülnek az alapvonalon.

2. A nemvizes közegben történt módszerfejlesztések eredményei

i. Lipid A NACE–ESI-QTOF MS/MS vizsgálata

Az első kísérletek célja a nemderivatizált bakteriális foszfoglilolipidek elválasztása volt NACE–ESI-MS segítségével. Tekintettel a lipid A önmagában rejlő heterogenitására, a különböző komponensek, amelyek magas felbontású Q-TOF MS mérésekkel kerültek megkülönböztetésre, egyszerre voltak jelen a mintában. A lipid A anionok elemzéséhez a *S. sonnei* esetében az elválasztás közegéül szolgáló oldószer tiszta metanol volt, amelyhez 0,36:0,12 térfogatarányban (v/v) TEA:AcOH elegyet adtunk.

ii. Az elválasztás hatékonysága és szelektivitása

Az elválasztás hatékonyságának és szelektivitásának optimalizálása érdekében a háttérelektrolit oldat oldószer-összetételének, elektrolit-összetételének és elektrolit-koncentrációjának hatása

került vizsgálatra, azon céllal, hogy mit okoz a kiválasztott lipid A komponensek migrációs idejében, az elválasztás hatékonyságában és a felbontásban.

iii. Foszforilációs hely és acilálási profil meghatározása tömegspektrometriával

A 40-60% DCM-t tartalmazó háttérelktrolitban a lipid A molekulák megnövelt oldhatósága növelte a detektált MS jelek intenzitását és csökkentette az alsó kimutatási határértékeket. Ez a fejlesztés lehetővé tette a pontos szerkezetazonosításhoz szükséges MS/MS fragmentációs mérések végrehajtását. A háttérelktrolitban és a köpenyolyadékban a TEA, mint adalék került alkalmazásra, mely negatív ion módban lúgossá téve a közeget segítette a lipid A komponensek deprotonálódását $[M-H]^-$ vagy pozitív ionmódban lehetővé tette a trietil-amónium addukt-ionok $[M + H + TEA]^+$ kialakulását.

A pozitív ionmódú tandem tömegspektrumokban domináns B típusú ionok (B_1 és B_2 , melyek a glükózamin diszacharid glikozid kötéseinek $C1'$ és $C1$ pozícióiban történő hasadása révén keletkeztek) kerültek megfigyelésre. Ezek a fragmentációs ionok diagnosztikai ionként szolgálnak a lipid A foszforilációs mintázatának detektálására. Például a B_2 ion jelzi a foszforilációs állapotot a $C1$ pozícióban a hozzáadott adduktképző ágens (TEA), valamint a $C1$ szubsztituens (azaz H_3PO_4 a $C1$ -foszforiláció esetén vagy H_2O a $C4'$ -foszforiláció esetén) elvesztésével. Továbbá, a B_1 ion közvetett információt nyújt a foszforilációs állapotról a $C4'$ pozícióban.

A pozitív ionmódú tandem tömegspektrumokban két különböző B_1 ioncsúcs jelent meg az azonos B_2 típusú ioncsúcs mellett 1264 m/z értéknél, amely bizonyítékot szolgáltat két tetra-acilált $C4'$ -monofoszforilált lipid A izomer ($P4'$ és $P4'^*$ vegyületek) jelenlétére, különböző acilálási mintázatokkal.

A negatív-ionizációs módban rögzített tandem tömegspektrumok értékes információkat nyújtanak a lipid A acilálási mintázatairól. A deprotonált monofoszforilált lipid A prekurzorainak $[M-H]^-$ fragmentációja során az észterkötött zsírsavak (mind elsődleges,

mind másodlagos) lehasadnak. A fragmentációs folyamatokat szabályozó egyetlen foszfát csoport pozíciója miatt a zsírsav-vesztések egymást követően (C4'-foszforiláció esetén) vagy versengőbben (C1-foszforiláció esetén) történhetnek. Annak ellenére, hogy a különböző pozícióban foszforilált izomer szerkezetek között eltérések vannak az észterkötés-hasadások preferenciájában, rendkívül hasonló tandem tömegspektrumok keletkeznek, amelyek azonos m/z értékekkel rendelkeznek, különböző relatív intenzitásokkal. A NACE-ESI-MS/MS módszer nagy szelektivitást és érzékenységet kínál, lehetővé téve a foszforilációs izomerek CID fragmentációs folyamatainak pontos meghatározását és összehasonlítását.

V. Tézisek

1. Sikertelt robusztus és megbízható módszereket kidolgozunk kapilláris elektroforézis és tömegspektrometria összekapcsolásával, vizes és nemvizes közegben egyaránt.
2. Módszerünkkel sikerült hat különböző szerves savat (tejsav, borostyánkősav, almasav, borkősav, shikiminsav és a citromsav) azonosítanunk és emellett a szerves savak koncentrációit meghatározni vörösbőr mintából CZE-ESI/QTOF-MS segítségével.
3. A fehérjék (lizozim, citokrórn c, mioglobinn, β -laktoglobulin A) elválasztását szintén vizes közegben, szekvenciális injektálási protokoll segítségével izoelektromos fókuszálással és MS detektálással valósítottuk meg. Kísérleteink során változtattuk a különböző pH tartományú amfolit fajtákat és koncentrációikat, „szendvics” és „félszendvics” injektálási típusokat, valamint az injektált zónák hosszát.
4. Nemvizes közegben CE-MS módszer alkalmazásával sikerült a lipid A komponenseket elválasztanunk. A mérések során négy csúcs csoport került megkülönböztetésre 25 perces elválasztási idő alatt, amelyek a nem-, C4'-monofoszfórilált, C1-monofoszfórilált és biszfoszfórilált lipid A-t képviselték. Változtatásra került a háttérelktrolit oldat oldószere-összetétele és koncentrációja abból a célból, hogy mit okoz a kiválasztott lipid A komponensek migrációs idejében, az elválasztás hatékonyságában és a felbontásban.
5. A lipid A molekulákat pozitív és negatív ionizációs módokban fragmentációs mintázatokon keresztül azonosítottuk foszfórilációs és acilációs mintázataik alapján. A metanol fokozatos cseréje diklórmétánra jelentős hatással volt a tetra-acilációs izomerek kritikus párhainak szétválasztására. A TEA és AcOH elektrolit adalékok mól- és térfogatarányainak változtatását is

tanulmányoztuk mind normál, mind fordított CE polaritási
módban.

VI. Publikációs lista

1. Az értekezés alapjául szolgáló publikációk

- Violeta Ivanova-Petropulos, Zaneta Naceva, Viktor Sándor, Lilla Makszin, Laura Nagy, **Balázs Berkics**, Trajce Stafilov, Ferenc Kilár, Fast determination of lactic, succinic, malic, tartaric, shikimic and citric acids in red Vranec wines by CZE-ESI-QTOF-MS, ELECTROPHORESIS, 2018, 39(13), pp. 1597-1605 <https://doi.org/10.1002/elps.201700492>
- Csilla Páger, Nikoleta Biherczová, Roland Ligetvári, **Balázs Viktor Berkics**, Tamás Pongrácz, Viktor Sándor, Anita Bufa, Viktória Poór, Andrea Vojs Staňová, Ferenc Kilár, Advanced online mass spectrometry detection of proteins separated by capillary isoelectric focusing after sequential injection, JOURNAL OF SEPARATION SCIENCE, 2017, 40(24), pp. 4825-4834, <https://doi.org/10.1002/jssc.201700695>
- Viktor Sándor*, **Balázs Viktor Berkics***, Anikó Kilár, Béla Kocsis, Ferenc Kilár, Ágnes Dörnyei, NACE–ESI-MS/MS method for separation and characterization of phosphorylation and acylation isomers of lipid A, ELECTROPHORESIS, 2020, 41(13-14), pp. 1178-1188, <https://doi.org/10.1002/elps.201900251>

* **Megosztott első szerzőség Dr. Sándor Viktorral**

2. Az értekezés témájában készült nem referált konferencia absztraktok

- **Berkics Balázs Viktor**; Pongrácz Tamás; Poór Viktória; Sándor Viktor; Csóka Balázs; Fenyvesiné Páger Csilla; Kilár Ferenc, Nitrofenol festékek és fehérjék elválasztása kapilláris izoelektromos fókuszálással, izoelektromos fókuszálás kapcsolása tömegspektrométerrel, Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2014, Egerszalók, Magyarország 2014.10.12. - 2014.10.14.

- Fenyvesiné Páger Csilla; Biherczova Nikoleta ; Ligetvári Roland; **Berkics Balázs Viktor**; Sándor Viktor; Kílár Ferenc, Kapilláris izoelektromos fókuszálás alkalmazása tömegspektrometriás detektálással fehérjekeverék elválasztására, Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2016, Kecskemét, Magyarország 2016.11.09. - 2016.11.11.
- Violeta Ivanova - Petropulos ; Zaneta Naceva ; Viktor Sándor; **Balázs Berkics**; Trajce Stafilov ; Ferenc Kílár, Determination of Organic Acids in Wines Using Capillary Zone Electrophoresis - Electrospray Ionization / Quadrupole - Time - of - Flight - Mass Spectrometry (CZE - ESI/QTOF - MS), 16th CEEPUS Symposium and Summer School on Bioanalysis, Warsaw, Lengyelország 2016.07.06. - 2016.07.15.
- Sándor Viktor; Kílár Anikó; **Berkics Balázs**; Kocsis Béla; Kílár Ferenc;; Dörnyei Ágnes, Comparison of LC-MS and CE MS for the analysis of immunostimulant bacterial membrane glycolipids, 12th Balaton Symposium on High-Performance Separation Methods, Siófok, Magyarország 2019.09.11. - 2019.09.13.