

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A MULTIPLEX MÉRÉSI MÓDSZER ALKALMAZÁSA  
BIOLÓGIA MINTÁK GYORS ANALÍZISÉBEN**

**RAKK DÁVID**

**TÉMAVEZETŐK:**

**DR. SZEKERES ANDRÁS**

TUDOMÁNYOS FŐMUNKATÁRS

**DR. VARGA MÓNIKA**

TUDOMÁNYOS MUNKATÁRS



**BIOLÓGAI DOKTORI ISKOLA  
SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM  
TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR  
MIKROBIOLÓGAI TANSZÉK**

**SZEGED**

**2023**

## IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A hibrid kvadrupól Orbitrap tömegspektrométerekben ötvöződnek a különböző tömeganalizátorok által biztosított előnyök úgy, mint a kvadrupól tömeganalizátorok szülőion szelekciója, valamint az Orbitrap tömeganalizátor segítségével megvalósítható nagyfelbontású adatgyűjtés. Előnyös tulajdonságai lévén ezen készülékek mennyiségi meghatározás szempontjából képesek felvenni az erre a célra leginkább elterjedt hármaskvadrupól tömegspektrométerekkel is a versenyt. Abban az esetben, ha egy módszerben 10 vagy annál több komponenst vizsgálunk egyszerre a teljes mérési ciklus túl sok mérési eseményből tevődik össze, így jelentős érzékenységmentesítést tapasztalunk. Az érzékenységmentesítés oka, hogy az Orbitrap tömeganalizátor mérési ideje jóval több időt vesz igénybe, mint a szülőionok gyűjtése csapdázása és fragmentálása, így túl sok mérési esemény esetén a teljes ciklusidő annyira hosszú lesz, hogy a készülék nem képes elegendő adatpont gyűjtésére a teljes kromatográfiás csúcs mentén. Az Orbitrap tömeganalizátor mérési ideje nem csökkenthető mivel így elveszne a készülék egyik legnagyobb erőssége a nagy tömegfelbontás. Ezt a problémát hivatott orvosolni a multiplex mérési technika (MSX), melynek alkalmazása esetén a készülék folyamatosan gyűjti, csapdázza és fragmentálja a különböző szülőionokat, majd azokat egyszerre injektálja az Orbitrap tömeganalizátorra. Ezáltal jelentősen csökkenthető a mérési események száma és rövidíthető a teljes mérési ciklus, így a készülék több adatpont rögzítésére képes egy kromatográfiás csúcs mentén. A MSX technika alkalmazása mellett a készülék valamennyi elektro-optikai berendezése a teljes mérési ciklusban hasznos munkát végez, ezáltal a készülék teljesítménye maximálisan kihasználható. Mivel a begyűjtött szülőionokat vagy fragmenseket a készülék egy időben analizálja, azok egyszerre jelennek meg a tömegspektrumon.

A multiplex mérési technikát elsőként a proteomikában alkalmazták adatfüggetlen mérési üzemmóddal (DIA) kombinálva. Jelentős eredményeket értek el peptidok fehérjék kvalifikálásában és kvantifikálásában. Ugyancsak DIA mérési üzemmóddal kombinálva használták kismolekulák, peszticidek, gyógyszermaradványok és mikotoxinok kimutatására. A szakirodalomban található multiplex módszerek azonban igen hosszúak, egy minta analízise 15-60 percet vesz igénybe. Továbbá nem találunk a szakirodalomban olyan tanulmányokat, amik a multiplex technikát a készülék legszelektívebbnek mondható párhuzamos reakció analízis (PRM) üzemmódjával

párosítják mennyiségi meghatározás céljából, vagy gyors, akár egy perces módszerekben használnák.

Az élő szervezetekben található központi metabolitok meghatározása különösen fontos, hiszen mennyiségi változásokból számos betegségre következtethetünk. A központi metabolitok nagy száma, változatos kémiai tulajdonságai és széles koncentráció tartományt felölelő előfordulásuk a biológiai mintákban nagy kihívást jelent analitikai szempontból. Analízisük folyadékkromatográfiával csatolt tömegspektrometriával (LC-MS) igencsak nehézkes hiszen poláris, szolvatált körülmények között ionos vagy ikerionos mivoltuk miatt az általánosan elterjedt fordított fázisú töltetek nehézkesen használhatók. A probléma kiküszöbölhető származékképző reagensek alkalmazásával, ionpár-képző kromatográfia, vagy hidrofil interakciós folyadékkromatográfia használatával, ám ezek a megoldások segítségével rövid, 5 percnél rövidebb analízisidővel rendelkező módszerek nem fejleszthetők.

Ugyancsak nagy kihívás elé állítja az ezzel foglalkozó analitikusokat a fonalagombák által extracellurálisan kiválasztott mérgező hatású vegyületek, a mikotoxinok mennyiségi meghatározása. Bizonyos élelmiszerekben felső határukat az Európai Unióban az Európai Bizottság 1881/2006/EK rendelete szabályozza. A rendelet feldolgozatlan búzában és kukoricában az aflatoxin B1, aflatoxin B2, aflatoxin G1, aflatoxin G2, zearalenon, ochratoxin A, dezoxynivalnenol, fumonisin B1 és fumonisin B2 felső koncentrációját szabályozza. A jogszabályba foglalt alacsony,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ -os koncentrációk kimutatására a legelterjedtebbek az LC-MS alapú módszerek. A gabona mintákból hatékony kinyerésükre az eredetileg növényvédőszer meghatározására alkalmazható QuEChERS minteelőkészítési eljárás, a leginkább elterjedt eszköz. Bár a szakirodalomban számos multitoxin módszer elérhető, bennük egy minta analízise legtöbbször 8-15 percet vesz igénybe, illetve nem találunk olyan gyors módszereket, ahol nagyfelbontású Orbitrap készüléket használnának.

## CÉLKITŰZÉSEK

Doktori munkám során céлом volt olyan multiplex mérési technikát PRM mérési üzemmóddal kombináló módszerek fejlesztése, melyek segítségével a vizsgált komponensek egy percnél rövidebb analízisidővel vizsgálhatók. Ennek érdekében az alábbi célokat tűztem ki:

1. PRM-MSX módszerek fejlesztéséhez szükséges alapelvek kidolgozása.
2. PRM-MSX módszer fejlesztése központi metabolitok mennyiségi meghatározásához.
3. PRM-MSX módszer fejlesztése határértékkel rendelkező mikotoxinok kvantitatív méréséhez feldolgozatlan búza és kukorica mátrix esetén.
4. Fejlesztett módszerek validálás az érvényben lévő validációs útmutatóknak megfelelően.
5. Fejlesztett módszerek összehasonítása MSX technikát nem alkalmazó, szakirodalmi példák alapján fejlesztett módszerekkel.

## **ALKALMAZOTT MÓDSZEREK**

### **Mintaelőkészítési módszerek:**

- Szilárd-folyadék extrakció
- Módosított QuEChERS mintaelőkészítési módszer mely az alábbi elemekből tevődött össze: szilárd-folyadék extrakció, kizsázós folyadék-folyadék extrakció (SALLE), diszperz fázisú szilárd fázisú extrakció (dSPE), bepárlás visszaoldás.
- Mátrix azonos kalibrációs oldatsorozat alkalmazása búza és kukorica mátrix esetén.

### **Validálási paraméterek meghatározása:**

- Kimutatás és detektálás alsó határának megállapítása
- Dinamikus tartomány meghatározása
- Mátrixhatás meghatározása utólagos extraktum adagolós módszerrel
- Mátrixfaktor meghatározása kukorica és búza mátrix esetén
- Visszanyerés meghatározás kukorica és búza mátrix esetén

### **Méréstechnikai módszerek**

- Nagyfelbontású tömegspektrometria.
- Áramlásba történő injektációs analízis.
- Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia.
- Ultra nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia.

## Eredmények

### 1. PRM-MSX módszerek fejlesztéséhez szükséges alapelvek kidolgozása.

Meghatároztuk azokat az alapelveket, amik egy sikeres multiplex módszer kidolgozásához szükségesek. Megállapítottuk, hogy multiplex technika alkalmazása esetén egy mérési eseményben csak olyan vegyületek vizsgálhatók melyek legalább egy darab egyedi pontos tömegű fragmenssel rendelkeznek. Két fragmenst akkor tekintettünk különbözőnek, ha legalább 50 ppm eltérés volt tömeg/ töltés értékük között. Amennyiben ez a feltétel nem teljesül, úgy a vegyületeket külön mérési eseménybe kel sorolni. Megállapítottuk, hogy izobár vegyületeket, illetve olyan vegyületeket, amik prekursor  $m/z$  értékei között kisebb a különbség mint 0,4  $m/z$ , egy mérési eseménybe kell elhelyezni, különbséget viszont csak akkor tudunk köztük tenni, ha legalább egy darab egyedi fragmenssel rendelkeznek. Megállapítottuk, hogy kellő szelektivitású multiplex módszer csak úgy fejleszhető, ha kihasználjuk a készülékre jellemző legszűkebb, 0,4  $m/z$  széles kvadrupól izolációs ablakot, valamint a vizsgált vegyületek két specifikus fragmensét monitorozzuk 3 ppm széles tömegablakban. Abban az esetben, ha a két specifikus fragmens aránya az előre megállapított értéktől nagyban eltér, a mennyiségi meghatározás nem lehetséges az adott minta esetében.

### 2. Központi metabolitok mennyiségi meghatározására alkalmas multiplex módszer fejlesztése

A kidolgozott alapelvek alapján mennyiségi meghatározást lehetővé tévő módszert fejlesztettünk központi metabolitok mérésére. A módszerfejlesztés során olyan vegyületeket választottunk ki, amelyek a központi metabolikus útvonal tagjai, ahhoz kapcsolódó aminosavak és egyéb metabolikus szempontból fontos vegyületek. A huszonhárom választott vegyület detektálásához negatív ionizációs módot választottunk, míg belső standardként egy szintetikus aminosavat, a tienil-alanint alkalmaztunk. Figyelembe véve a kidolgozott alapelveket a vegyületeket öt mérési eseménybe soroltuk. Különbséget tudtunk tenni az izobár citromsav és izocitromsav között, hiszen mind a két vegyület esetében találtunk egyedi fragmenst. Az alkalmazott beállítások mellett a teljes mérési ciklus 64 ms hosszúságú, a teljes módszer pedig 36 másodperc hosszúságú volt

### **3. Központi metabolitok mennyiségi meghatározására alkalmas multiplex módszer validálása**

A kidolgozott módszert az érvénybe lévő validálási útmutatóknak megfelelően különböző analitikai teljesítményjelzőkkel jellemeztük. A fejlesztett módszer teljesítette a szelektivitási követelményeket. Valamennyi komponensre meghatároztuk a kimutatás alsó határát (LLOQ), és azokat összevetettük egy általunk fejlesztett, multiplex technikát nem alkalmazó módszerrel, amely viszont egyszerre csak egy vegyület meghatározására volt alkalmas. Megállapítottuk, hogy csupán három vegyület esetén kis mértékben csökkent az érzékenység multiplex technika alkalmazása esetén, azaz a multiplex technika alkalmazása egyes vegyületeknél csökkentheti az érzékenységet, ám összességben nem jár nagyságrendi érzékenység csökkenéssel. Az összes vizsgált vegyületre lineáris kalibrációs egyenest kaptunk, továbbá a kalibrációs egyenesek megfelelő illeszkedéssel rendelkeztek. Összevetve a multiplex és a nem multiplex módszerek alkalmazása esetén kapott dinamikus tartományokat megfigyeltük, hogy a multiplex technika alkalmazása önmagában nem eredményez szűkebb dinamikus tartományt.

### **4. Központi metabolitok mennyiségi meghatározására alkalmas multiplex módszer alkalmazása biológiai mintákon**

A fejlesztett módszerrel három modell organizmusban (*Aspergillus nidulans*, *Arabidopsis thaliana* és a HO-1-N-1 humán karcinóma sejt vonal) határoztuk meg a vizsgált vegyületek koncentrációját. A növényi és humán sejt mintákban minden metabolit mennyiségét öt százaléknál kisebb szórással tudtuk meghatározni, a fonalas gomba extraktumokban több komponens mennyiségi meghatározása esetén is öt és tíz százalék közötti szórást tapasztaltunk. Megállapítottuk, hogy a meghatározott mennyiségek a szakirodalmi példákkal jó korrelációt mutatnak, jelentős eltérést egyik vegyület esetén sem találtunk. Ezen túl mind a három vizsgált mátrixban vizsgáltuk az egyes komponensekre jellemző mátrixhatást. Mivel a vizsgált vegyületek esszenciális mivolta miatt mátrix-vak minta készítésére nem volt lehetőségünk, utólagos extraktum adagolós technika segítségével határoztuk meg a mátrixhatást. Megállapítottuk, hogy valamilyen mátrixnak minden komponensre ionelnyomó hatása volt, de az egyik esetben sem volt nagyobb harminc százaléknál.

## **5. Felső határértékkel rendelkező mikotoxinok mennyiségi meghatározására alkalmas multiplex módszer fejlesztése**

Multiplex mérési technika alkalmazásával mennyiségi meghatározásra alkalmas módszert fejlesztettünk olyan mikotoxinok mérésére, amely felső határértékét feldolgozatlan búzában és kukoricában az Európai Unió Bizottsága különböző rendeletekkel szabályozza. A végső módszer 11 mikotoxint és egy belső standardot tartalmazott. Az első pontban megfogalmazott alapelvek csak akkor érvényesültek, ha az azonos alapvázsal rendelkező vegyületeket különböző csoportba soroltuk, így a végső módszer 4 mérési eseményből tevődött össze. Az így fejlesztett módszer mérési ciklusideje 256 ms volt. Az előkísérletek során nyers extraktumból nem tudtuk valamennyi vizsgált mikotoxint határértékben detektálni, a végső módszerben egy többlépéses, módosított QuEChERs mintaelőkészítési eljárást alkalmaztunk, amely egy szilárd-folyadék extrakcióból, egy kisózással folyadék-folyadék extrakcióból, egy diszperz szilárd fázisú folyadék extrakcióból, és egy bepárlás visszaoldási lépésből tevődött össze. Bár elválasztás nem történt rajta, a mátrixhatás csökkentése érdekében egy rövid kromatográfiás oszlopot is alkalmaztunk, így a végső módszer egy perc hosszúságú volt.

## **6. Felső határértékkel rendelkező mikotoxinok mennyiségi meghatározására alkalmas multiplex módszer validálása**

A fejlesztett módszer teljesítette a validációs útmutatókban szelektivitásra vonatkozó elfogadási kritériumokat, egyik komponens se volt kimutatható a készített mátrix-vak mintákból. A kimutatási határok vizsgálata során megállapítottuk, hogy mind búza mind kukorica mátrixban határértéknél kisebb alsó kimutatási határt (LLOQ) tudtunk elérni. A szakirodalmi példák alapján fejlesztett UHPLC-MS/MS módszerrel alacsonyabb kimutatási határokat értünk el, aminek az oka, hogy ez a módszer alkalmazott kromatográfiás elválasztást, így a mért mikotoxinoktól elválasztott mátrix komponensek ionelnyomó hatása kevésbé érvényesült. Mind a két mátrixban valamennyi komponensre meghatároztuk a dinamikus tartományt és a kimutatás felső határát (ULOQ). Valamennyi komponensre lineáris kalibrációs egyenesek kaptunk, megfelelő illeszkedéssel. A fejlesztett UHPLC-MS/MS módszerrel hasonlóan széles dinamikus tartományokat tudtunk elérni, mint a multiplex módszerrel. A mátrixhatás meghatározása



során megállapítottuk, hogy a legtöbb vizsgált mikotoxin esetén a mátrixnak jelentős ionelnyomó hatása van, ám a két koncentráción öt ismételtsben meghatározott mátrixfaktorok szórása húsz százaléknál kisebb volt minden mért komponens esetén, így a módszer teljesítette az ide vonatkozó előírásokban foglaltakat. A fejlesztett UHPLC-MS/MS módszer esetén valamennyi komponensre kisebb mátrixhatást figyeltünk meg, aminek oka a kromatográfiás elválasztásban keresendő. A visszanyerés vizsgálata során az Európai Bizottság ide vonatkozó rendeletében megfogalmazott követelményeket a módszer minden mért komponens esetén teljesítette, minden komponensre 0-7 és 0.9 közötti visszanyerés értékeket kaptunk. Ha a kapott LLOQ értékeket a visszanyeréssel korrigáljuk, a korrigált értékek ugyan úgy kisebbek az egyes mikotoxinokra vonatkozó határértéknél. Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy a fejlesztett multiplex módszerrel abban az esetben is képesek vagyunk a vizsgált vegyületek határérték alatti mennyiségi meghatározására, ha figyelembe vesszük az alkalmazott extrakciós eljárás esetleges tökéletlenségeit.

#### **Összegésként a következő eredményekről számolhatunk be:**

1. Kidolgoztuk egy specifikus FIA-PRM-MSX módszer fejlesztéséhez szükséges alapelveket.
2. FIA-PRM-MSX módszert fejlesztettünk központi metabolitok analízisére.
3. A központi metabolitok mérésére fejlesztett FIA-PRM-MSX módszer valamennyi vizsgált validációs paramétere megfelelt a validációs útmutatókban leírt elfogadási kritériumoknak.
4. A fejlesztett FIA-PRM-MSX módszer sikeresen alkalmaztuk biológiai mintákon
5. PRM-MSX módszert fejlesztettünk határértékkal rendelkező mikotoxinok analízisére.
6. A mikotoxinok mérésére fejlesztett PRM-MSX módszer valamennyi vizsgált validációs paramétere megfelelt a validációs útmutatókban leírt elfogadási kritériumoknak.
7. A mikotoxinok mérésére fejlesztett PRM-MSX módszer alkalmas valamennyi vizsgált mikotoxint határértéknél kisebb koncentrációban történő mennyiségi meghatározására, búza és kukorica mátrixban.

## Summary

In my doctoral thesis FIA-PRM-MSX methods were developed with the help of Orbitrap MS, which can be used for quantification of the tested compounds with a fast analysis time.

In the first step, we laid out the basic principles that are necessary for the successful development of an FIA-PRM-MSX method.

Then a method for measuring central metabolites and their associated amino acids was developed. During the development of the method, the 23 tested compounds were classified into five groups, so the entire measurement method was 36 seconds long. The developed method successfully fulfilled all examined validation requirements. During the measurement of biological samples, the tested compounds were successfully detected in filamentous fungi, human cells, and plant extracts.

MSX method was also developed for the quantitative determination of mycotoxins with upper limit determined by the European Union in unprocessed wheat and corn. During the development of the method, the 12 investigated mycotoxins were classified into four groups according to their fragmentation characteristics. The sample preparation and the sample loading procedure were also optimized; thus, the entire method was one minute long. The method was validated according to the EMA guidelines and compared with a UHPLC-MS/MS method developed based on examples from the literature. During the validation of the method, it was found that it is suitable for the quantification of all tested mycotoxins in limit value in a wheat and corn matrix. In addition, linear calibration lines were obtained for all components. During the examination of the matrix effect, high ion suppression effect was detected for the investigated compounds, but the standard deviation of the matrix factor was always less than 20%. The developed sample preparation procedure had a better recovery than the minimum values recommended in the legislation for all tested mycotoxins, with a small standard deviation. If the observed detection limits were corrected by recovery, the corrected LLOQ values for all examined compounds were smaller than the limit values.

Overall, two PRM-MSX methods were developed using MSX technique, which were suitable for the simultaneous detection of more than ten components with an analysis time of one minute or less.

### **A dolgozat alapját képező publikációk:**

**Dávid Rakk**, József Kukolya, Biljana D. Škrbić, Csaba Vágvölgyi, Mónika Varga, and András Szekeres. 2023. “Advantages of Multiplexing Ability of the Orbitrap Mass Analyzer in the Multi-Mycotoxin Analysis.” *TOXINS* 15 (2): 134, IF: 5.075

Aruna, Vigneshwari, **Dávid, Rakk**, Németh Anikó, Kocsubé Sándor, Kiss Noémi, Csupor Dezső, Papp Tamás, Škrbić Biljana, Vágvölgyi Csaba, and Szekeres András. 2019. “Host Metabolite Producing Endophytic Fungi Isolated from *Hypericum Perforatum*.” *PLOS ONE* 14 (5). IF:2.74

### **A dolgozat témájához kapcsolódó konferencia összefoglalók**

**Dávid Rakk**, E. Szász, N. Nagy, M. Varga, B. Škrbiš, R. Fenyar, Cs. Vágvölgyi, and A. Szekeres. 2019. “Semi-Targeted Identification of Secondary Metabolites from Endophytic Fungi Isolated from *Artemisia Annu*.” In Book of Abstracts. 21st Danube-Kris-Mures-Tisza (DKMT) Euroregional Conference on Environment and Health, 36.

### **Referált folyóiratban megjelent egyéb publikációk:**

Vadovics, Máté, Jemima Ho, Nóra Igaz, Róbert Alföldi, **Dávid Rakk**, Éva Veres, Balázs Szücs, et al. 2022. “*Candida Albicans* Enhances the Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma In Vitro and In Vivo.” *MBIO* 13 (1). IF=7.786

Váradi, Orsolya Anna, **Dávid Rakk**, Olga Spekker, Gabriella Terhes, Edit Urbán, William Berthon, Ildikó Pap, et al. 2021. “Verification of Tuberculosis Infection among Vác Mummies (18th Century CE, Hungary) Based on Lipid Biomarker Profiling with a New HPLC-HESI-MS Approach.” *TUBERCULOSIS* 126. IF=2.973

Zhumakayev, Anuar R., Mónika Vörös, András Szekeres, **Dávid Rakk**, Csaba Vágvölgyi, Attila Szücs, László Kredics, Biljana D. Škrbić, and Lóránt Hatvani. 2021. “Comprehensive Characterization of Stress Tolerant Bacteria with Plant Growth-Promoting Potential Isolated from Glyphosate-Treated Environment.” *WORLD JOURNAL OF MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY* 37 (6). IF=4.253

Gál, Eleonóra, Zoltán Veréb, Lajos Kemény, **Dávid Rakk**, András Szekeres, Eszter Becskeházi, László Tiszlavicz, et al. 2020. “Bile Accelerates Carcinogenic Processes in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells through the Overexpression of MUC4.” SCIENTIFIC REPORTS 10 (1). IF=4.379

Takács, István, András Szekeres, Ákos Takács, **Dávid Rakk**, Miklós Mézes, Ágnes Polyák, Lóránt Lakatos, et al. 2020. “Wild Strawberry, Blackberry, and Blueberry Leaf Extracts Alleviate Starch-Induced Hyperglycemia in Prediabetic and Diabetic Mice.” PLANTA MEDICA: NATURAL PRODUCTS AND MEDICINAL PLANT RESEARCH 86 (11): 790–799. IF=3.352

Turbat, Adiyadolgor, **Dávid Rakk**, Aruna Vigneshwari, Sándor Kocsubé, Huynh Thu, Ágnes Szepesi, László Bakacsy, et al. 2020. “Characterization of the Plant Growth-Promoting Activities of Endophytic Fungi Isolated from Sophora Flavescens.” MICROORGANISMS 8 (5). IF=4.128

Váradi, Orsolya Anna, Ildikó Szikossy, Olga Spekker, **Dávid Rakk**, Gabriella Terhes, Edit Urbán, Berthon William, et al. 2020. “Lipid Biomarker-Based Verification of TB Infection in Mother’s and Daughter’s Mummified Human Remains (Vác Mummy Collection, 18th Century, CE, Hungary).” ACTA BIOLOGICA SZEGEDIENSIS 64 (2): 99–109.

Marik, Tamas, Chetna Tyagi, Dora Balazs, Peter Urban, Agnes Szepesi, Laszlo Bakacsy, Gabor Endre, **Dávid Rakk**, András Szekeres, M.A. Andersson, H. Salnonen, I.S. Druzhinina, C. Vágvolgyi, and L. Kredics, 2019. “Structural Diversity and Bioactivities of Peptaibol Compounds From the Longibrachiatum Clade of the Filamentous Fungal Genus Trichoderma.” FRONTIERS IN MICROBIOLOGY 10. IF=4.235

Marik, T, C Tyagi, G Racic, **Dávid Rakk**, A Szekeres, C Vagvolgyi, and L Kredics. 2018. “New 19-Residue Peptaibols from Trichoderma Clade Viride.” MICROORGANISMS 6 (3). IF=4.167

### **Egyéb közlemények:**

Gál, E, Z Veréb, **Dávid Rakk**, A Szekeres, E Becskeházi, L Tiszlavicz, L Czakó, T Takács, P Hegyi, and V Venglovecz. 2022. “The Effect of Bile on Pancreatic Cancer, the Importance of Mucins.” *Central European Journal of Gastroenterology and Hepatology, Gasztroenterológia és Hepatológiai Szemle*, 8 (Suppl. 1): 77–77.

Várad, Orsolya Anna, Olga Spekker, Frank Maixner, Albert Zink, **Dávid Rakk**, Csaba Vágvolgyi, Gabriella Terhes, et al. 2022. “The Development, Verification and Objectives of a Mycocerosic Acid Based HPLC-HRMS Method for TB Diagnostics in Paleopathology.” In ICEPT-3 Meeting. Tuberculosis in Evolution. Program, 9–9.

Várad, Orsolya Anna, Olga Spekker, Ildikó Szikossy, Enikő Szvák, **Dávid Rakk**, Gabriella Terhes, Ildikó Pap, et al. 2022. “In Search of TB among the Members of the Hausmann Family: Mycocerosic Acid-Based TB Diagnostics via HPLC-HRMS.” In *Abstract Book: 10th World Congress on Mummy Studies Bolzano, Italy 05-09 September 2022.*, 153–153.

Gál, E., Z. Veréb, **Dávid Rakk**, A. Szekeres, E. Becskeházi, L. Kemény, L. Tiszlavicz, et al. 2021. “Effects of Bile Acids on Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells.” *PANCREATOLOGY* 21: S73–S74. doi:10.1016/j.pan.2021.05.197.

Gál, E, Z Veréb, **Dávid Rakk**, A Szekeres, E Becskeházi, L Kemény, L Tiszlavicz, et al. 2020. “Importance of Bile Acids in the Progression of Pancreatic Cancer.” *Central European Journal of Gastroenterology and Hepatology, Gasztroenterológia és Hepatológiai Szemle* 6 (Suppl 2): 51–51.

Várad, Orsolya Anna, **Dávid Rakk**, Anita Kecskeméti, Gabriella Terhes, Olga Spekker, Csaba Vágvolgyi, András Szekeres, and György Pálfi. 2019. “Optimization of Lipid Biomarker Analysis Revealing the Ancient TB Infections.” In IIIrd Conference of the Török Aurél Anthropological Association, 20–21.

A, Bartal, **Dávid Rakk**, Manczinger L, Shine K, Alharbi N S, Khaled J M, Vágvölgyi Cs, and Szekeres A. 2018. “Lipopeptide Profiling of a *Bacillus Amylolyquefaciens* Strain Extract by HPLC-HRMS Technique.” In 16th Wellmann International Scientific Conference “Hello Modern Agriculture!,” 113–114.

B, Volford, **Dávid Rakk**, Endre G, Škrbić B, Vágvölgyi Cs, and Szekeres A. 2018. “Purification of Secondary Metabolites from the Ferment Broth of Endophytic Fungi of *Taxus Baccata*.” In 16th Wellmann International Scientific Conference “Hello Modern Agriculture!,” 98–99.

**Dávid Rakk**, Vigneshwari A, Škrbić B, Varga M, Vágvölgyi Cs, and Szekeres A. 2018. “Effect of Different Extraction Methods on the Metabolite Profile of *Aspergillus* Sp. Isolated from *Juniperus Communis*.” In 16th Wellmann International Scientific Conference “Hello Modern Agriculture!,” 78–79.

Adiyadolgor, Turbat, **Dávid Rakk**, Jigjid Enkh-Amgalan, Vágvölgyi Csaba, and Szekeres András. 2017. “Determination of Plant-Growth Promoting Compound in Endophytes, Isolated from *Sophora Flavescens*.” *ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA* 64 (Supplement 1): 183–184.

Aruna, Vigneshwari, **Dávid Rakk**, Németh Anikó, Csorba Attila, Papp Tamás, Vágvölgyi Csaba, and Szekeres András. 2017. “Endophytic Fungi Producing Bioactive Plant Metabolites.” *ACTA MICROBIOLOGICA HUNGARICA* 64 (Supplement 1): 162.

Endre, G, **Dávid Rakk**, M Varga, Cs Vágvölgyi, and A Szekeres. 2017. “Optimization of a Solvent System for Purifying Aflatoxins with Liquid-Liquid Chromatography.” *MIKOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK-CLUSIANA* 56 (1): 91–93.

Turbat, A, **Dávid Rakk**, E-A Jigjid, Cs Vágvölgyi, and A Szekeres. 2017. “Isolation of Endophytes Producing Plant-Growth Promoting Compounds.” *MIKOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK-CLUSIANA* 56 (1): 149–150.

Váradi, Orsolya Anna, **Dávid Rakk**, Anita Kecskeméti, Zsolt Bereczki, Edit Urbán, Gabriella Terhes, Csaba Vágvölgyi, András Szekeres, and György Pálfi. 2017a. “Mycobacterium Tuberculosis Komplex Okozta Fertőzés Kimutatása Ásatag Csontanyagból Lipid Biomarkerek Segítségével.” International Conference on Application of Natural-, Technological- and Economic Sciences, 26–26.. 2017b. “Verification of Ancient TB Infection Cases Using Specific Lipid Biomarkers.” In 2nd Conference of the Török Aurél Anthropological Association: Past and Present of Biological Anthropology: The Heritage of Török Aurél’s Oeuvre, 11–12.

Váradi, Orsolya Anna, **Dávid Rakk**, Anita Kecskeméti, Zsolt Bereczki, Edit Urbán, Gabriella Terhes, Csaba Vágvölgyi, E. Minnikin David, György Pálfi, and András Szekeres. 2017. “Detection of Ancient TB Infection from Bones on the Base of Specific Lipid Biomarkers.” In 19th DKMT Euroregional Conference on Environment and Health, 56–56.

Vigneshwari, A, **Dávid Rakk**, A Németh, A Csorba, T Papp, Cs Vágvölgyi, and A Szekeres. 2017. “Endofiton Gombák Által Termelt Növényi Metabolitok Vizsgálata = Plant Metabolites Production by Fungal Endophytes.” MIKOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK-CLUSIANA 56 (1): 27–29.

**Összesített impakt faktor: 43.088**

MTMT azonosító: 10057731

## Nyilatkozat

Én, Dr. Szekeres András (Tudományos főmunkatárs, Szegedi Tudományegyetem, Mikrobiológiai Tanszék) Rakk Dávid doktor jelölt témavezetője nyilatkozom, hogy Rakk Dávid nagyban hozzájárult az alábbi publikációk elkészítésében, valamint doktori dolgozatában foglalt eredmények az alábbi publikációkon alapulnak:

**Dávid Rakk**, József Kukolya, Biljana D. Škrbić, Csaba Vágvölgyi, Mónika Varga, and András Szekeres. 2023. “Advantages of Multiplexing Ability of the Orbitrap Mass Analyzer in the Multi-Mycotoxin Analysis.” TOXINS 15 (2): 134, IF<sub>2022</sub>: 5.075

Aruna, Vigneshwari, **Dávid Rakk**, Németh Anikó, Kocsubé Sándor, Kiss Noémi, Csupor Dezső, Papp Tamás, Škrbić Biljana, Vágvölgyi Csaba, and Szekeres András. 2019. “Host Metabolite Producing Endophytic Fungi Isolated from Hypericum Perforatum.” PLOS ONE 14 (5). IF<sub>2019</sub>:2.74

Továbbá nyilatkozom arról is, hogy Rakk Dávid doktori disszertációjában részletezett eredmények nem lettek felhasználva más doktori disszertációkhoz, illetve a jövőben sem lesznek felhasználva.

Szeged, 2023 május 30

Dr. Szekeres András