

Ph.D. értekezés tézisei



**Élelmiszertudományi Kar**

**LC-MS MÓDSZEREK FEJLESZTÉSE TERMÉSZETES ÉS SZERVES  
SZINTÉZIS EREDETŰ SZELÉNVEGYÜLETEK AZONOSÍTÁSÁRA**

**Egressy-Molnár Orsolya**

**Témavezető:**

Dernovics Mihály

**Készült:**

Budapesti Corvinus Egyetem

Alkalmazott Kémia Tanszék

**Budapest, 2014**

**A doktori iskola**

**megnevezése:** Élelmiszertudományi Doktori Iskola

**tudományága:** Élelmiszertudományok

**vezetője:** Dr. Felföldi József  
Egyetemi tanár, DSC  
BCE, Élelmiszertudományi Kar,  
Fizika- Automatika Tanszék

**Témavezető:** Dr. Dernovics Mihály  
Egyetemi docens, PhD  
BCE, Élelmiszertudományi Kar,  
Alkalmazott Kémia Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása

## BEVEZETÉS

A szelén esszenciális mikroelem az emberek számára, a táplálékból való felvehetősége azonban erősen függ az adott módosulatótól. A szelén szerves vegyületei általában könnyebben felvehetőek és kevésbé toxikusak. A minimum szükséges- és a már mérgező szelénbeviteli-koncentrációk között csak kis különbség van, ezért a szelénpótlást szigorúan szabályozni kell.

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hivatal (EFSA) által jóváhagyott, szelénpótlásra használható anyagok közül a szelénnel dúsított élesztő mennyiségileg a legfontosabb és az egyetlen szerves eredetű forma. A szelénnel dúsított élesztő szeléntartalmának 60-80%-a szelenometionin formájában van jelen. Mivel ennek az aminosavnak a felvehetősége erősen függ a kiralitásától, nélkülözhetetlen egy olyan módszer, mely az enantiomereket képes elválasztani és az esetleges, racém szelenometioninnal való hamisítást kimutatni.

A szelénnel dúsított élesztő számos kis molekulatömegű szerves szelénkomponenst is tartalmaz. Az eddig kimutatott több mint 70 komponens közül azonban csak alig több mint tíz kapható meg standard vegyület formájában. Mivel abszolút mennyiségük és pontos összetételük fermentációról fermentációra változik, ezen komponensek szintetizálása lehetővé tenné a különböző élesztősarzsok azonosítását.

Bár a szelénnel dúsított élesztő jól használható szelénpótlásra, közvetlen fogyasztásra több szempontból sem alkalmas. Az ideális funkcionális élelmiszer egy olyan kalapos gomba lenne, melynek szelén-metabolizmusa az élesztőére hasonlít, és a felvett szervetlen szelént szerves komponensekké alakítja át.

## CÉLKITŰZÉSEK

A munkámat három nagy témakörbe csoportosítottam. Az első kutatás célja a különböző mintaelőkészítési-módszereknek a mintákból kivont szelenometionin D,L-enantiomer arányára gyakorolt hatásának vizsgálata volt, melyet a következő lépéseken keresztül valósítottam meg:

1. elvégeztem két gyakran használt mintaelőkészítést (enzimes és metánszulfonsavas bontás) két különböző mintán (szelénrel dúsított élesztő és *Lecythis minor*, Jacq.(majomcsésze-dió)),
2. mindkét mintára optimalám az enantiomer-specifikus derivatizációs módszert,
3. optimalám egy HPLC-ICP-MS módszert a D,L-enantiomerek elválasztására,
4. meghatároztam az összes szeléntartalom-értékeket kinyerési és oszlop-visszanyerési adatok meghatározása céljából,
5. összehasonlítottam és statisztikailag értékeltem a különböző mintákból és a különböző módszerekkel mért eredményeket.

A második témakör célja a 2,3-dihidroxi-propionil csoport azonosításának igazolása volt, melyet a következő lépéseken keresztül valósítottam meg:

1. kidolgoztam négy szelénmódosulat-konjugátum szintézisét (2,3-dihidroxi-propionil-szelenocisztein-glutation, 2,3-dihidroxi-propionil-szelenocisztein-szelenocisztein, di-N-2,3-dihidroxi-propionil-szelenocisztein és szelenocisztein-glutation), melyek valamennyi szelénrel dúsított élesztőszarzsban megtalálhatók,
2. optimalám a kémiai reakció körülményeit, és a továbblépéshez megfelelő mennyiségű szintézisterméket nyertem ki,
3. kromatográfias tisztítási lépést fejlesztettem ki minden szintézislépés között,
4. HPLC-ESI-QTOF-MS elúciós és fragmentációs adatokat gyűjtöttem a szintetizált komponensekről, azok szerkezetének azonosítására.

A harmadik cél a *Hericium erinaceus* (süngomba) szelénmetabolitjainak vizsgálata és azonosítása volt, melyet a következő lépéseken keresztül valósítottam meg:

6. a *Hericium erinaceus* termőtesteket szervesen szelénrel kíméletesen dúsítottam,
7. optimalám az extrakciós és mintatisztítási módszereket,
8. a mintaextraktum szelénkomponenseit frakciószedéssel koncentráltam,
9. az extraktumot HPLC-ESI-QTOF-MS módszerrel vizsgáltam meg és a szelénkomponenseket azonosítottam,
10. összehasonlítottam a gomba szelénmetabolitjait az élesztő metabolitjaival, valamint a az élesztő kén anyagcsere-útvonalával a S-Se analógok azonosítása céljából.

## AGYAGOK ÉS MÓDSZEREK

ICP- MS Agilent 7500cs (Agilent, Santa Clara, CA, USA) rendszerrel vizsgáltam a Se különböző izotópjait. A műszer egy Agilent 1200 HPLC rendszerrel volt összekötve, amely egy kibővített mintabeviteli hurokkal volt ellátva (+400 µL). A HPLC-ICP-MS analízist 5% O<sub>2</sub> gáz mellett hajtottam végre szerves alapú oldószerek esetén. Ütközési gáznak H<sub>2</sub> gázt használtam.

A szelenometionin frakció tisztítására egy PRPX-100 (4.6 mm x 250 mm x 5 µm; Hamilton; Reno, Nevada, USA) anioncserés oszlopot használtam. Enantiomer-elválasztásra egy XTerra MS C<sub>18</sub> (Waters; Milford, USA; 4.6 mm x 250 mm x 5 µm) fordított fázisú oszlopot vettem igénybe.

A 2,3-dihidroxi-propionil-glutation szintézis köztes termékeit HPLC-ESI-MS rendszerrel is követtem nyomon, amely egy QTRAP 3200 tömegspektrométerre (ESI-QQQ-MS; Applied Biosystems/Sciex; Foster City, CA, USA) épült.

A szelénmódosulatok azonosítására egy Agilent 6530 Accurate-Mass ESI-QTOF-MS műszert alkalmaztam Agilent 6220 eredetű „dual ion spray” ionforrással. A berendezés Agilent 1200 típusú HPLC rendszerrel volt összekapcsolva.

A különböző mintaelőkészítési módszereknek a kivont szelenometionin D,L-arányára gyakorolt hatásának vizsgálata során a mintákat (CRM SELM-1 szelénrel dúsított élesztő és majomcsésze-dió (*Lecythis minor*, Jacq.)) a két leggyakrabban használt mintaelőkészítési módszerrel, metánszulfonsavas hidrolízissel és enzimkeverékes emésztéssel készítettem elő. Az első esetben a mintához tömény savat adtam, majd reflux alatt forrásban nyolc órán át kezeltem. Az enzimes bontás esetén a mintát semleges pH értékű pufferben oldottam fel, majd 37 °C-on 24 órán át inkubáltam. Az enantiomer-elválasztás előtt egy anioncserés kromatográfiás tisztítási lépésre volt szükség. Az enantiomer-elválasztás *O*-ftálaldehiddel és *N*-izobutiril-ciszteinnel történő derivatizálással és fordított fázisú kromatográfiás elválasztással történt.

A 2,3-dihidroxi-propionil csoport azonosításának igazolása során a glicerinsavat felszabadítottam sójából, pentaklórfenol segítségével aktiváltam, majd kromatográfiásan tisztítottam. A szelenocisztint DMF-ben (*N,N'*-dimetil-formamid) HCl segítségével feloldottam, majd a vizet fagyasztással eltávolítottam. A szelenocisztint és glicerinsavat 4-metilmorfolin jelenlétében DMF-ben kapcsoltam össze. A szintézisterméket folyadékkromatográfiás frakciószedéssel tisztítottam. A konjugátumot oxidatív reakcióban

glutationnal kapcsoltam össze. A reakciót NaI-dal katalizáltam, az oxidálásra  $H_2O_2$ -t használtam. Szelenocisztint szintén kapcsoltam össze glutationnal, ditiotreitolt (DTT),  $H_2O_2$ , és NaI jelenlétében.

A *Hericium erinaceus* (süngomba) szelénmetabolitjainak vizsgálata során a szelénrel dúsított gombát a természetzősákok SeIV-el történő beoltásával állítottam elő. A kísérlet különböző fázisaihoz különböző mintaelőkészítést alkalmaztam. Az összes szeléntartalom meghatározásához mikrohullámú roncsolást végeztem salétromsavval és hidrogén-peroxiddal. A szelenometionin meghatározásához enzimés emésztést alkalmaztam pronáz E keverékkel. A kis molekulatömegű szelénkomponensek azonosításához vizes ill. ultrahangos extrakciót és méretkizárásos kromatográfias tisztítást használtam. Az összegyűjtött frakciókat ionpárképzős fordított fázisú kromatográfias tisztításnak vettem alá, majd a HPLC-ESI-QTOF-MS rendszerrel azonosítottam és fragmentáltam a komponenseket.

## EREDMÉNYEK

A különböző mintaelőkészítési-módszerek a kivont szelenometionin D,L-arányára gyakorolt hatásának vizsgálata során megkísértem a mintákat liofilezéssel töményíteni, ám a koncentrálnódó metánszulfonsav irreverzibilisen koagulálta a mintákat. A módszer validálására az enantiomer-elválasztást kereskedelmi forgalomban kapható, racém D,L-szelenometionin standardon is elvégeztem.  $R=2,4$  értékű kromatográfias felbontást sikerült így elérnem, mely lehetővé tette volna akár külső vagy belső kalibráció használatát. A minták D-szelenometionin-tartalma azonban túl alacsonynak bizonyult standard addíció alkalmazásához, így két külön, külső kalibrációt kellett készíteni a két enantiomer méréséhez. A kalibrációs görbék meredeksége 6561 counts/ng volt az L-enantiomerre és 4127 counts/ng volt a D-enantiomerre.

Két különböző mintát, a majomcsésze-dió fehérje frakcióját és a CRM SELM-1 élesztőt két különböző mintaelőkészítéssel kezeltem, majd a kapott D,L-enantiomer arányokat statisztikai analízisnek vettem alá. Megállapítottam, hogy az azonos módszerrel kezelt különböző minták D,L-enantiomerek aránya közt nincs szignifikáns különbség, ami azt igazolja, hogy mindkét módszer mintafüggetlen. Az analízis azt is kimutatta, hogy szignifikáns különbség volt az azonos minták különböző módszerekkel mért D,L-enantiomer arányai között. A D-enantiomer aránya 2.2-2.7% között változott metánszulfonsavas hidrolízis esetén, és 0.5-0.6% volt enzimés bontás után. Tekintve, hogy a metánszulfonsavas eljárást elterjedten alkalmazzák körelemzések során is (derivatizálással vagy anélkül) különös

figyelmet kellene fordítani a mennyiségi meghatározásra, ugyanis olyan kalibrációs görbe, amit eltérő D,L-enantiomer arányú keverékkel vettek fel, félrevezető eredményt fog adni. A különbség nem elhanyagolható mértékű, lehetséges, hogy korábbi kísérletek nagy bizonytalansága mögött is ez állhat. Az eredményeim alapján ezt a különbséget figyelembe kell venni, mert a mérési bizonytalansággal azonos nagyságrendű is lehet.

A 2,3-dihidroxi-propionil csoport azonosításának igazolása során az egyik legnagyobb kihívást az jelentette, hogy a glicerinsavnak semmilyen észterezett formája nem volt kereskedelmi forgalomban elérhető, valamint hogy a glicerinsav polimerek képzésére hajlamos. A glicerinsav aktiválására az irodalomban több szerző is a pentafluorfenolt javasolja, mivel gyorsabban reagál, és a pentaklórfenol eltávolítása a reakciótermékek közül nehezebben oldható meg. A kísérleteim során azonban azt tapasztaltam, hogy a pentafluorfenolos aktiválás nem eredményezett mérhető mennyiségű észtert, ezért az aktiválási lépést pentaklórfenollal ismételt meg. Azt is megfigyeltem, hogy a reakció meglehetősen lassú. Újabb 24 órás inkubálási idő alkalmazásával egy nagyságrenddel több szintézisterméket sikerült kinyernem.

Az aktív észter és a szelenocisztin összekapcsolásából egy keverék keletkezik, mely tartalmaz szelenocisztint változatlan formában, valamint egyszeresen és kétszeresen észterezett szelenocisztint is, ezért egy kromatográfiás tisztítási lépésre is szükség volt. Mind az egyszeresen és mind a kétszeresen észterezett komponenszt frakciószedéssel összegyűjtöttem, és fragmentációnak vettem alá. Mindkét komponens alkalmas további szintézisre, és mindegyik megtalálható minden szelénrel dúsított élesztősarzsban is.

A szelenocisztein-glutation konjugátum szintézise során az oxidatív reakció beindítása okozta a legtöbb nehézséget; az oldat ugyanis nagy feleslegben tartalmazott DDT-t a szelenocisztin feloldásához. Az irodalomban több olyan cikket is találtam, melyben a szerző azt állította, hogy a redukált glutationt mindössze  $H_2O_2$  használatával már oxidálni lehet. Ezen információ alapján az első kísérletemben a szelenocisztin oldatát redukált glutationnal kevertem össze, és cseppenként hidrogén-peroxidot adtam hozzá annak reményében, hogy Se-S hidak fognak kialakulni. Az eredményeket ESI-QQQ-MS rendszerrel értékeltem ki. A mérési adatok nem mutattak változást a glutation oxidációs állapotában. Még huszonötszörös  $H_2O_2$  használata mellett sem volt kimutatható mennyiségű konjugátum vagy oxidált glutation az oldatban. A redukált glutation előbb szenvedett bomlást, minthogy oxidálódott volna. Végül az irodalomban találtam meg a megoldást: a reakcióhoz NaI katalizátor szükséges. A szintetizált szelenocisztein-glutationt kromatográfiásan kitisztítottam és HPLC-ESI-QTOF-MS rendszerrel megvizsgáltam. Bár a szelenocisztein és glutation összekapcsolását a

szelenocisztein-glicerát és a glutation összekapcsolásának optimalására hajtottam végre, ez önmagában is teljes módszer, és az egyik célkomponenst eredményezi.

A szelenocisztein-glutation összekapcsolásából szerzett eredmények és a kromatográfias tisztítási eljárások mind szükségesek voltak ahhoz, hogy mérhető mennyiségű 2,3-DHP-szelenocisztein-glutationt tudjak szintetizálni. Az utolsó szintézislépést követően újabb tisztításra volt szükség. Mivel még a speciális fordított fázisú oszlopokon, melyeket alacsony szerves oldószer-tartalmú eluenssel is lehet használni, ennek a komponensnek alig van visszatartása, így robusztusabb technikát, az anioncserés kromatográfiát választottam. A komponenseket tisztítás után ESI-QTOF-MS analízisnek vettem alá, és megállapítottam, hogy a fragmensek egyeznek az irodalomban leírt fragmensekkel.

Ugyan a szelenocisztein-glutation és a 2,3-DHP-szelenocisztein-glutation egyes fragmensei megegyeznek (pl. a  $\gamma$ -Glu specifikusak), a fragmensek többsége eltérő. A legnagyobb különbség a szelenocisztein ( $m/z$  167.95) megjelenésében figyelhető meg. A 2,3-DHP-szelenocisztein-glutation fragmentációja során nagy mennyiségben keletkezik a 2,3-DHP-szelenociszteinnel ( $m/z$  255.97) együtt, de mennyisége alig detektálható a szelenocisztein-glutation fragmentálásakor. Míg a Se-S híd hasadása jellemző a DHP-szelenocisztein-glutation többi fragmensére is, a DHP-csoport hiánya stabilizálja e kötést a szelenocisztein-glutationban, és a hasadás jellemzően a S vagy Se másik oldalán történik. Ez a különbség szokatlan olyan komponensek esetén, melyek alapszerkezete megegyezik.

A *H. erinaceus* (süngomba) szelénmetabolitjainak vizsgálata során az összes szeléntartalom 42,3  $\mu\text{g/g}$  sz.a.-nak adódott, ami közel egy nagyságrendbe esik a természetes szelénakkumuláló gombák szeléntartalmával.

Az ionpárpépzős, fordított fázisú HPLC-ICP-MS rendszerrel kapott kromatogramon a két legnagyobb csúcsot szelenometioninként (20,7  $\mu\text{g/g}$ .) és *Se*-metilszelenociszteinként (0,3  $\mu\text{g/g}$ .) azonosítottam. Az együttes koncentrációjuk majdnem eléri az összes szeléntartalom 50%-át. Ehhez hasonlóan még sohasem publikáltak a szakirodalomban szerves szelénforráson nevelt kalapos gombák esetében. Ez a magas szerves szeléntartalom arra utal, hogy a *H. erinaceus* szelénmetabolizmusának útvonalai a többi kalapos gomba ismert útvonalai helyett a szelénrel dúsított élesztő útvonalaira hasonlítanak. Ennek bizonyítására további kísérleteket hajtottam végre a szelénrel-dúsított élesztő tipikus anyagcsere-termékei után kutatva, különös tekintettel a szelén-adenozil csoportra.

Az ionpárpépzős fordított fázisú HPLC tisztítás során két frakciót gyűjtöttem össze: a legnagyobb-, valamint az utolsónak eluálódó szeléntartalmú csúcsot. Az előbbi szelenometioninként azonosítottam, az utóbbit további kromatográfias tisztításnak vettem



alá, ahol két szeléntartalmú csúcsot sikerült kitisztítanom. Ezeket a HPLC-ESI-QTOF-MS rendszerrel megvizsgáltam, és három szeléntartalmú komponenst mutattam ki melyek tömeg/töltés aránya 362,03623, 360,05707 és 346,04163 volt. A legnagyobb koncentrációjú,  $m/z$  346,04163 7,5 percnél eluálódott, és a fragmentációja alapján *Se*-metil-5-szelenoadenozinként azonosítottam.

Az 1,3 percnél eluálódó  $m/z$  360,05707 komponens azonosítása nem volt ilyen egyértelmű. Az elemi összetétel alapján csak egy lehetséges összetétele lehet: egy  $-CH_2$  csoporttal nagyobb, mint a *Se*-metil-5-szelenoadenozin, tehát  $C_{12}H_{18}N_5O_3Se^+$  /elméleti  $m/z$  360,0569;  $\delta + 0.47$  ppm/. Az MS/MS adatok adenozil, adenin és ribóz csoportok vesztésére utaltak. Ezek alapján az adatok alapján két lehetséges szerkezet létezik: *Se*-etil-5-szelenoadenozin, és *Se*-dimetil-5-szelenónium-adenozin, egy kationos komponens, amelyet korábban még nem sikerült kimutatni. Mivel több stabil kationos szelénkomponens is ismert (mint például a trimetilszelenónium ion, a *Se*-adenozil-szelenometionin és a *Se*-metilszelenometionin) a pontos tömeg és a fragmentáció alapján egyik szerkezet sem zárható ki. A szerkezet meghatározásához ezért további adatokat kell figyelembe venni: (1) Az  $m/z$  360,05707 komponens a holtterfogathoz közel eluálódott. Egy etilcsoport metilcsoport helyett nem okozott volna ekkora különbséget a retenciós időben. (2) A *Se*-metil-5-szelenoadenozin oxidált formáját is sikerült kimutatnom, de az  $m/z$  376,0519 elméleti tömegnél nem detektáltam komponenst. (3) A *Se*-metil-5-szelenoadenozin kétszeresen töltött formáját nem detektáltam kimutatható mértékben, az  $m/z$  360,05707 komponens viszont folyamatosan jelen volt egyszeresen és kétszeresen töltött formában is, ami egy olyan szerkezetre utal, ami könnyen ionizálódik többszörös töltéssel, valószínűleg a kationos szerkezete miatt. (4) Csak a *Se*-metil-5-szelenoadenozint sikerült  $[M-H]^+$  pszeudomolekuláris ionként (és hangyasav-addukttal is) kimutatni. Ezek a megfigyelések közvetetten igazolják, hogy az  $m/z$  360,05707 komponens a *Se*-dimetil-5-szelenónium-adenozin.

Meglepő, hogy a szelénnel dúsított élesztő legnagyobb koncentrációjú komponensét, a *Se*-adenozil-szelenohomociszteint nem sikerült kimutatni. A jelenlegi adatokból nem lehet megállapítani, hogy ezt a két gomba metabolikus útvonalainak különbsége, vagy a szelénnel való dúsítás koncentráció-különbsége (2000 ppm vs. 43 ppm) okozza-e. Ugyanakkor a magas szelenometionin és szeleno-metilszelenocisztein tartalom valamint a szeleno-adenozil komponensek jelenléte különlegessé teszi a *H. erinaceust* a többi *Agaricomycetes* között. Ez a szokatlan szelénmetabolizmus jó alapot ad egy funkcionális élelmiszer kifejlesztéséhez.

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Meghatároztam a szelenometionin racemizációjának mértékét metánszulfonsavas (MSA) és pronase E-vel végrehajtott fehérjehidrolízist követően. Megállapítottam, hogy az enzim hidrolízis nem vezet racemizációhoz, ugyanakkor az MSA hidrolízis több mint 2% D-enantiomer képződéshez vezet attól függetlenül, hogy a minta fehérjetartalma növényi vagy gomba eredetű volt.
2. Megállapítottam, hogy a HPLC-ICP-MS rendszer szignifikánsan eltérő érzékenységet mutat OPA- és NIBC-reagenssekkal derivatizált D- és L-szelenometioninra abban az esetben, amikor izokratikus elválasztáson alapuló RP-HPLC-ICP-MS módszert alkalmazunk.
3. Kifejlesztettem és végrehajtottam a 2,3-dihidroxi-propionil-szelenocisztein-glutation, 2,3-dihidroxi-propionil-szelenocisztein-szelenocisztein, di-N-2,3-dihidroxi-propionil-szelenocisztein és a szelenocisztein-glutation konjugátumok szintézisét.
4. Igazoltam, hogy szelenometabolomikai szinten rokonság áll fenn a szelénrel dúsított élesztő és a szelénrel dúsított *Hericium erinaceus* (süngomba) között. Kinyertem és HPLC-ESI-QTOF-MS rendszer segítségével azonosítottam egy új, korábban még le nem írt szelénmódosulatot, a Se-dimetil-5-szelenóium-adenozint.

## PUBLIKÁCIÓS TEVÉKENYSÉG

### Angol nyelvű folyóirat cikkek:

1. **Orsolya Egressy-Molnár**, Anna Magyar, Attila Gyepes and Mihály Dernovics, 2014, Validation of the 2,3-dihydroxy-propionyl group in selenium speciation by chemical synthesis and LC-MS analyses, RSC Advances Issue 52,4, 27532-27540 I.F: 3.708
2. **Egressy-Molnár, O.**, Vass, A., Németh, A., García-Reyes, J.F., Dernovics, M, 2011, Effect of sample preparation methods on the D,L-enantiomer ratio of extracted selenomethionine, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 401 (1) , pp. 373-380 I. F: 3.778

### Nemzeti és nemzetközi konferenciák:

1. Dernovics Mihály - Németh Anikó - **Egressy-Molnár Orsolya** (2011): “Kapcsolt tömegspektrometriai rendszerek szerepe az újonnan felfedezett szelénmódosulatok azonosításában.” Mikroelem Miniszimpózium, Budapest. 18/10/2011
2. Németh Anikó - **Egressy-Molnár Orsolya** - Winfried Behr - Juan F. García-Reyes - Dernovics Mihály (2011): “Növényi kén- és szelénanyagcsere folyamatok analog intermedierjeinek azonosítása ortogonális és kapcsolt tömegspektrometriai módszerekkel.” MKE 1. Nemzeti Konferencia, Sopron, 22-25/05/2011
3. Dernovics Mihály - **Egressy-Molnár Orsolya** - Juan Francisco García-Reyes - Németh Anikó - Shuxun Shao (2011): “Food-Related Phytoremediation Initiative in the Seleniferous Area of Jianshi County, Enshi T.M.A.P., China: Challenges for Selenium Speciation and LC/MS Based Food Analysis”. Chinese-European Cooperation for a Long-Term Sustainability – International Conference at the Corvinus University of Budapest. 10-11/11/2011
4. **Egressy-Molnár Orsolya** - Vass Andrea - Dernovics Mihály (2012): Unique metabolism of selenium in *Herichium erinaceus* (lions's mane mushroom). TEFC Conference, Visegrád, 15-17/11/2012

5. **Orsolya Egressy-Molnár**, József Lénárt, Júlia Gyórfi, Mihály Dernovics, (2013)  
Hericium erinaceus: a mushroom with yeast-like Se-metabolism, European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Krakkó, Lengyelország, 10-15/02/2013
  
6. **Orsolya Egressy-Molnár**, Attila Gyepes, Anna Magyar Mihály Dernovics (2014)  
Validation of the 2,3-dihydroxi-propionyl group in selenium speciation by chemical synthesis and LC-MS analyses. 8<sup>th</sup> International Franco-Spanish Workshop, Pau, Franciaország, 08-10/07/2014