



**Věc: Posudek oponenta diplomové práce**

Jméno a příjmení uchazečky: **Bc. Marie Březinová**

Název práce: **Cílená analýza větvených esterů mastných kyselin pomocí LC/MS**

Diplomová práce Bc. Marie Březinové byla rozčleněna do šesti hlavních kapitol: Teoretická část, Cíle práce, Experimentální část, Experimentální výsledky, Diskuze a Závěr. Jednotlivé části svým rozsahem a charakterem odpovídají požadavkům kladeným na diplomové práce. Hlavní cíle diplomové práce, optimalizovat HPLC/MS metodu pro charakterizaci esterů hydroxylovaných mastných kyselin a aplikace této metody na reálné vzorky, byly splněny. Vzhledem k prokázané souvislosti studované lipidové třídy s problematikou inzulínové rezistence pacientů s diabetem 2. typu je dané téma velice aktuální. Byl optimalizován celý proces přípravy vzorků tukové tkáně a plasmy až po jejich analýzu. Konkrétně byla provedena optimalizace postupu extrakce lipidů, oddělení esterů hydroxylových kyselin od ostatních lipidových tříd, optimalizace jejich separace a nastavení MS detekce, která umožnila přesnou kvalitativní i kvantitativní analýzu. V práci byla stručně popsána pravidla retence a fragmentace studované třídy lipidů umožňující identifikovat chemická individua, pro které nejsou komerčně dostupné standardy. Nakonec byly vyvinutým postupem analyzovány vzorky tukové tkáně a plazmy myši konzumujících stravu bohatou na omega-3 mastné kyseliny a kontrolní skupiny myši.

Formální a grafická i jazyková úroveň práce vyhovuje standardům vyžadovaným u diplomových prací. Svým širokým experimentálním rozsahem je předkládaná diplomová práce nadprůměrná. Nicméně kvalitu a snadnější pochopitelnost práce by zvýšil přesnější popis některých experimentů. Například v kapitole 4.1. je popsán rozdíl výtěžnosti extrakce lipidů s citrátovým puforem a PBS. Není uvedeno, jak se lišily výtěžnosti jednotlivých metod (podle Folche, Bligha-Dyera a metoda využívající *terc*-butyl(methyl)ether), jaká ze zmíněných metod je porovnávána na Obrázku 4.1.1. a nejsou popsány podmínky chromatografie u zmíněného obrázku. Dále není zřejmé, jakého typu SPE kolony se týká obrázek 4.2.2. a jak byly získány plochy zobrazené ve sloupcovém grafu tohoto obrázku. Obecně se u některých obrázků místo popisu a podmínek objevuje vysvětlení studovaného jevu. Tyto nedostatky nebrání obhájení diplomové práce.

Diplomovou práci Bc. Marie Březinové doporučuji k obhajobě.

Dotazy k obhajobě

1. Pro separaci 12 a 13-PAHSA byla využita metoda DMS. V popisu Obrázku 4.5.1.E je uvedeno „DMS oddělení izomerů 12-/13- PAHSA“. Podle hodnot na ose x se jedná o chromatogram. Na uvedeném obrázku není zřejmé zlepšení separace v porovnání s 4.5.1.F. Lze ukázat mobilogram separace těchto izomerů?
2. Pro identifikaci polohy esterové vazby isomerů FAHFA bylo v práci popsáno využití fragmentačních spekter MS<sup>3</sup>. Pokusila jste se využít charakteristických fragmentů 12-/13-PAHSA pro jejich kvantifikaci a obejít tak problém s jejich separací?

3. Pro popis retenčního chování lipidů v RP-HPLC se často používá „equivalent carbon number“ (ECN) související s počtem uhlíků a počtem dvojných vazeb v molekule lipidu. Lze z naměřených dat podle popsaných posunů odhadnout, že retence FAHFA stoupá s ECN, jak bylo publikováno třeba pro triacylglyceroly nebo voskové estery?
4. Identifikovala (kvantifikovala) jste i jiné FAHFA než PAHSA v analyzovaných biologických materiálech?

Datum vypracování posudku: 20.5. 2015

Jméno a příjmení, podpis oponenta: RNDr. Vladimír Vrkoslav Ph.D.