

Abstrakt:

Fosfolipidy jsou důležitou skupinou polárních lipidů tvořících hlavní složku buněčných membrán. Jejich zastoupení se může měnit v závislosti na mnoha faktorech okolního prostředí, ve kterém se buňka nachází. Stanovení membránových fosfolipidů je nepostradatelné v mnoha vědeckých, průmyslových a hospodářských odvětvích.

Cílem této práce bylo vyvinout separační metodu pro stanovení membránových fosfolipidů, pomocí které by bylo možné provést analýzu fosforylovaných částí fosfolipidů i mastných kyselin z jednoho vzorku. Pro stanovení byla zvolena komprehenzivní plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC×GC-MS). Tato metoda umožňuje separaci celého vzorku na dvou sériově zapojených odlišných kolonách, mezi kterými je rozhraní nazvané modulátor.

Součástí přípravy vzorku bylo rozštěpení vazby v molekule fosfolipidu pomocí enzymu fosfolipasa C, čímž došlo k uvolnění fosforylovaných polárních hlav. Tyto polární části bylo nutné před analýzou derivatizovat. Princip zvolené derivatizace spočíval v použití dvou různých silylačních činidel (hexamethyldisilazan a *N,O*-Bis(trimethylsilyl) trifluoracetamid) ve dvou krocích. Byly vybrány podmínky pro efektivní separaci silylderivátů fosforylovaných hlav pomocí GC×GC-MS využívající kryogenní modulátor. Jednotlivé silylderiváty byly identifikovány podle hmotnostních spekter z MS detektoru a byly vybrány jejich charakteristických intenzivní fragmenty.

Vyvinutá metoda byla otestována na reálných vzorcích membránových lipidů bakterie *Bacillus subtilis*. Ve vzorcích byly identifikovány silylderiváty kyseliny fosforečné, fosfoglycerolu, fosfoethanolaminu a fosfoserinu.

Klíčová slova:

fosfolipidy, enzymatická hydrolýza, mastné kyseliny, derivatizace, komprehenzivní plynová chromatografie, biologický materiál