



Oponentský posudek doktorské disertační práce Ing. Hany Dvořákové.

Předložená práce se zabývá analýzou směsí triacylglycerolů a vývojem příslušných analytických metod. Lipidy jsou dnes důležitým tématem nejen ve vědeckém světě, jejich role v udržení zdraví a předcházení civilizačním nemocem stále nabývá na významu. K pochopení otázek souvisejících s výživou a metabolismem lipidů je nezbytný dobrý analytický nástroj umožňující lipidy stanovit. Metody vyvinuté v rámci posuzované disertační práce jsou využitelné v řadě oblastí, jako je např. diagnostika v medicíně, hmyzí fyziologie nebo lipidomické studie.

Disertační práce má formu souboru separátů spojených literárním úvodem. Osobně jsem velkým příznivcem této formy disertace (nač opisovat či dokonce překládat články, které prošly mezinárodní, mnohdy tvrdou recenzí?). Musím disertantku pochválit za strukturu práce, se kterou jsem se setkala poprvé. Při předešlých oponenturách podobných prací se disertanti zaměřili na dlouhý úvod a prakticky vůbec nezmiňovali vlastní výsledky, obsažené v publikacích. Články, které již prošly zahraniční recenzí, nedávaly tak oponentovi mnoho prostoru pro komentář a diskusi. Ing. Dvořáková naopak věnuje podstatnou část práce právě diskusi a kritickému zhodnocení publikovaných výsledků, což je pro oponenta čtivé a zároveň to zdůrazňuje vlastní obsah disertační práce. Z toho hlediska může být její práce příkladem pro následovníky.

Doktorandka publikovala 4 články, které tvoří základ disertace. Publikace se objevily v mezinárodních časopisech s velmi dobrými impakt faktory, což je samo o sobě známkou úspěšného splnění zadaného tématu. Články tvoří pěkný ucelený soubor a jsou rozhodně dostačujícím podkladem pro doktorskou disertační práci. Doktorandka však není prvním autorem u žádného z nich, takže si nelze udělat přesnou představu o jejím podílu na uvedených pracích. Prosím na tomto místě o vyjádření o podílu na publikacích.

Na rozdíl od zasloužené pochvaly týkající se struktury disertace zasluhuje formální provedení značnou kritiku. Disertantka si nedala práci s formulacemi, názvoslovím, užívá chemickou „hantýrku“, zbytečné anglikanismy tam, kde existují vžitá česká termíny a narazila jsem i na hrubé gramatické chyby. Seznam formálních chyb a nedostatků je uveden níže.

Dotazy a připomínky k disertaci

1. Str. 17, u výčtu funkcí lipidů by se nemělo zapomínat na jejich funkci signální i funkci prekursorů signálních molekul (Wenk M. R., Nature Reviews **2005**, 4, 594-610).
2. Str. 18, u výčtu známých desaturas je třeba připomenout hmyz, u něhož existují i další typy desaturas, např. $\Delta 11$ běžná při biosyntéze feromonů motýlů.
3. Str. 24-25, místo „optická isomerie“ bych rozhodně doporučovala používat výraz „chiralita“.
4. Kap. 3.1.2. Je škoda, že nejsou zakresleny schematické vzorce složených lipidů, aby si čtenář mohl udělat rychlou představu o struktuře. Zatímco TG, jejichž obecný vzorec je na str. 23 uveden, je znám každému, u složených lipidů už to tak triviální není.
5. Str. 43, „úspěch interesterifikace je provázen změnou barvy“ – proč?

Dotazy a komentář k jednotlivým publikacím

Práce I. Jak přesně je třeba držet teplotu při chromatografii, aby nedošlo k posunu retenčních časů a chvostování píků?

Práce II. Do jakých ECN se touto metodou dostanete? Existuje nějaké omezení z hlediska velikosti molekuly?

Práce III. Je randomizace skutečně náhodná (statistická), nebo může dojít přednostně k tvorbě určitých TG? Zachovává se konfigurace dvojné vazby (nemůže částečně dojít k isomerisaci)? Závěrem této studie se zdá být důležitý poznatek, že typ analyzátoru neovlivňuje významně výsledky, proto může práce sloužit jako základ pro studie jiných vědeckých laboratoří.

Práce IV. Zdá se, že v živočišném tuku některých zvířat jsou obsaženy vícenenasycené MK s kombinací *cis* i *trans* konfigurací dvojných vazeb. Jak jsou takové isomery rozdělitelné a jak lze určit, která vazba má *cis* a která *trans* konfiguraci?

Formální nedostatky

Zkratky, „počet uhlíků“ – lépe „počet atomů uhlíku“; „iont“ – správně „ion“

Str. 17, „číslování atomových uhlíků“ – „číslování atomů uhlíku“ nebo „uhlíkových atomů“

Str. 19, kyselina „linoleová“ – správně „linolová“; „linoleinová“ – správně „linolenová“; „dokosapentaenová (C22:6n-3)“ – správně „dokosaheptaenová“.

Str. 20. Co je „cyklický uhlíkový kruh“?

Tabulka 1. Běžně v literatuře používaná a zažitá zkratka pro kyselinu C20:5 je EPA a pro C22:6 je DHA. Bylo by lépe se držet těchto mezinárodně uznávaných zkratk.

Str. 22, „použití Fischerovi projekce“ – hrubá chyba. Dále je správnější používat termín „hydroxyskupina“ než „hydroxylová skupina“. Hydroxylem je názvoslovně míněn radikál.

Str. 23, „steroyl“ – správně „stearoyl“; „linoleoyl“ – správně „linoloyl“.

Str. 24, enzymy mají rozdílnou „specifiku“ – správně „specifitu“.

Str. 28, „fosfatidyl“ vs „fosfatydyl“ – je použito obojí dokonce v témže odstavci.

Str. 33, alkylový řetězec „s uhlíky C18 nebo C8“ – lépe „o délce C18...“

Str. 52, směs TG neobsahovala „isomerii“, ale „isomery“.

Str. 53, co je „silná koeluce“? Látky buď koeluují, nebo ne.

V celém textu jsou používány výrazy „hydroxy kyseliny“ a „epoxy kyseliny“ jako 2 slova, správně se píše dohromady. Druhé názvy jsou někde psány kurzívou a jinde ne, v odborném textu je správně kurzíva. Dále jsou v celé práci užívány nepěkné anglikanismy, což se mi zdá zbytečné v případě, že existuje zavedený český výraz (kolektor = sběrač, rozseparovat = rozdělit, kompozice = složení, hardwary = přístroje, étery (ether)).

Závěrem bych chtěla říci, že uvedené připomínky nejsou zásadního charakteru a nikterak nesnižují úroveň předložené práce. Celkově hodnotím práci jako velmi dobrou a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze dne 11. února 2013

Doc. RNDr. Irena Valterová, CSc.



Mikrobiologický ústav AV ČR

Vídeňská 1083
14220 Praha
Česká Republika

☎ 420-241 062 300

Fax 420-241 062 347

💻 rezanka@biomed.cas.cz

<http://www.biomed.cas.cz/~rezanka>

Praha 2/7/2013

Oponentní posudek

Disertační práce

Ing. Hany Dvořákové

vypracované na téma

HPLC/MS charakterizace regioizomerních směsí triacylglycerolů

Předložená doktorská disertační práce Ing. Dvořákové je věnována relativně nové problematice, zabývající se dělením regioizomerů triacylglycerolů (TG) pomocí HPLC a identifikací pomocí MS.

Disertační práce má rozsah 84 stran s obvyklým členěním kapitol pro daný obor. Jako přílohy jsou v anglickém originále připojeny 4 články z prestižních mezinárodních časopisů.

V podstatě tak lze disertaci charakterizovat jako soubor dvou částí a to českého úvodu a anglicky psaných příloh.

Anglicky publikované články jsou na vysoké, dá se říci na světové úrovni a dokumentují jak vynikající experimentální zručnost, tak i znalosti a schopnosti, které vysoce převyšují standardní znalosti průměrného disertanta. V podstatě mám k této části pouze jedinou otázku. V tabulce 1 (Anal. Chem.) je uveden poměr iontů $[LLn]^+/[LnLn]^+$ u symetrického TG (LnLLn) 100:61. U všech ostatních TG, tj. až do TG se sedmi C=C, je tomu naopak. Jedná se o překlep, nebo je to vlastnost TG s více než 7 dvojnými vazbami? Osobně se kloním k překlepu, aspoň já jsem nepozoroval ani u TG s patnácti C=C obrácení poměru.

Bohužel česky psaná část disertační práce je podstatně hůře napsaná. Hned v úvodní části, např. ve zkratkách jsou překlepy, např. HPLC/MS – spojení s hmotnostním spektrometrií nebo na str. 28 je uvedeno: fosfatidylserin a fosfatidylinositol, atd.

Naneštěstí nezůstalo jen u překlepů, ale i u naprosto protichůdných tvrzení, např. na str. 13 se píše „že TG mající 3 různé mastné kyseliny tvoří R/S optické izomery“, kdežto na str. 24 je správné tvrzení (poslední 2 řádky).

V tabulce 1 na str. 21 disertace chybí triviální názvy tak běžných kyselin, jako kyselina nervonová nebo kyselina arachidonová, zde by stačilo si důkladně přečíst např. citaci [10].

Biosyntéza mastných kyselin, viz str. 18 je popsána nepříliš dobře. Pokud počítáme, že startérová jednotka má 2 atomy uhlíku a je prodloužena v šesti krocích pokaždé o dva atomy uhlíku, nemohou být výsledkem kyseliny palmitová nebo stearová ($2+6 \times 2=14$ a ne 16 nebo 18).

Dále se dle mého názoru autorka zbytečně zamotala do popisu dalších lipidů a to jak jednoduchých, tj. sterolů, vosků atd., tak i složených, tj. fosfolipidů, případně i sfingolipidů, o těch není v žádné publikované práci ani zmínka. Naopak bych doporučil se např. u ESI zmínit o přídavku iontů Li^+ , které umožní nejen zvýšení

intenzity molekulárních aduktů, ale umožňují i stanovení poloh dvojných vazeb v mastných kyselinách TG, viz např. články skupiny vedené Hsu (J Am Soc Mass Spectrom 2010, 21, 657–669 nebo stejný časopis 1999, 10, 587–599).

Cíle disertační práce jsou jasně definovány a po prostudování celé předložené práce mohu konstatovat, že rovněž splněny, i když je s podivem, že ani na jedné ze 4 publikací není Ing. Dvořáková jako první autorka.

Celkově pokládám předloženou Disertační práci Ing. Hany Dvořákové vypracovanou na téma „HPLC/MS charakterizace regioizomerních směsí triacylglycerolů“ za práci kvalitní, která zcela splňuje požadavky kladené na tento typ prací podle § 47 odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, a dále dle příslušného Studijního a zkušebního řádu Univerzity Pardubice ji doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 5. února 2013



RNDr. Tomáš Řezanka, CSc.