

## Streszczenie

Celem niniejszej dysertacji było opracowanie nowych metodologii oznaczania związków biologicznie aktywnych, jakimi są fosfolipidy, z zastosowaniem sprzężonych technik separacyjnych. W pracy przedstawiono i zaprezentowano wyniki badań mieszczących się z sześciu publikacjach naukowych.

W początkowym etapie badań zostały wykorzystane techniki ekstrakcyjne, takie jak ekstrakcja ciecz-ciecz (LLE) wykorzystując tutaj metodą Folcha oraz ekstrakcja do fazy stałej (SPE) w celu wyizolowania lipidów, a następnie fosfolipidów z próbek mleka oraz żółtka jaja kurzego. Następnie przy użyciu metod chromatograficznych, uzyskane ekstrakty zostały poddane analizie jakościowej z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie jedno- i dwuwymiarowym, z detekcją UV oraz spektrometrią mas (HPLC-UV-MS). Fosfolipidy rozdzielono w układzie faz odwróconych (RP-LC) oraz w chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Na tym etapie badań, zostały wykorzystane nowe wypełnienia do faz stacjonarnych (tworzących tak zwaną pseudo błonę biologiczną). Analiza chromatograficzna pozwoliła na rozdzielenie fosfolipidów na poszczególne klasy dla próbek mleka i żółtka jaja kurzego. Zastosowanie nowych faz stacjonarnych wykazało wyższą selektywność, lepszą rozdzielczość i charakteryzowało się krótszym czasem analizy w porównaniu z klasycznymi komercyjnie dostępnymi fazami stacjonarnymi na bazie krzemionki.

Wykorzystanie metod spektrometrii mas (ESI-MS/MS, MALDI) pozwoliło na identyfikację kwasów tłuszczowych budujących cząsteczki fosfolipidów. Oprócz scharakteryzowania profili kwasów tłuszczowych żółtka jaja kurzego i mleka, udało się również zidentyfikować wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA), w tym kwasy omega 3 i omega 6. Wykorzystanie specyficznych trybów skanowania w MS, takich jak monitorowanie reakcji prekursor/produkt (MRM) pozwoliło na kompleksową identyfikację kwasów tłuszczowych żółtka jaja. Udało się scharakteryzować i zidentyfikować kwasy tłuszczowe dla 11 klas fosfolipidów, które łącznie tworzyły 124 różne kombinacje kwasów tłuszczowych.

Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS) umożliwiła charakterystykę profilu kwasów tłuszczowych dla 4 próbek pochodzących z różnej suplementacji diety. Na podstawie tych badań określono zależności wynikające z różnej suplementacji diety i to w jaki sposób dieta wpływa na metabolizm kwasów tłuszczowych a tym samym na zawartość kwasów omega 3 i 6.

W ostatnim kroku przeprowadzonych badań, wykorzystano zaawansowany pakiet narzędzi chemometrycznych (FA, PCA) w celu sklasyfikowania 38 kombinacji kwasów tłuszczowych w cząsteczce fosfatydylocholiny w próbkach przed i po suplementacji diety. W pracy przedstawiono, że zastosowanie sprzężonych technik separacyjnych z pakietem narzędzi chemometrycznych stwarza nowe możliwości interpretacyjne w określeniu podobieństw/różnic w obrębie badanej grupy związków.

Justyna Nalesek  
23.08.2016