



Prof. RNDr. Věra Pacáková, CSc.
Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie
ALBERTOV 2030, 128 40 Praha 2, ČR
tel. + fax +420224913538, pacakova@natur.cuni.cz
V Praze dne 6.2.2017

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Václava Pavlíčka „Využití kapilární a čipové elektroforézy pro klinický výzkum“

Předkládaná dizertační práce Mgr. Václava Pavlíčka je rozdělena na dvě samostatné části. První kapitola shrnuje problematiku vývoje velmi rychlého stanovení kyseliny močové a kreatininu v lidské moči a séru prostřednictvím kapilární elektroforézy s UV detekcí, kdy bylo navrženo zcela originální řešení pro provádění desetivteřinové elektroforetické separace na komerčním elektroforetickém přístroji Agilent HP3D CE. Druhá část disertační práce je věnována vývoji zcela nové metodiky rychlého stanovení steviol glykosidů v potravinách a potravinových doplňcích pomocí kapilární elektroforézy s bezkontaktní vodivostní detekcí.

Téma práce je velmi aktuální. Vývoj nových metod aplikovatelných v klinické praxi je nezbytný a nikdy nekončící proces. Důležitými vlastnostmi nových analýz jsou jejich cena, snadnost a rychlost provedení.

Práce má předem daný rámec, strukturu a členění, to co bylo naplánované, bylo následně precizně provedeno. Cíle jsou jasně vymezené a experimenty v práci dostatečně popsány. Přehled o současném stavu problematiky je zpracován přehledně a srozumitelně.

Práce je velmi dobře sepsána a třebaže je velmi rozsáhlá (141 stran), je dobře čtivá. Je logicky členěná, výsledky jsou správně interpretovány.

Za hlavní výhody navržených metod založených na kapilární elektroforéze lze považovat velmi krátké doby analýzy a vysokou separační účinnost. Metoda CE má však i své nevýhody, na rozdíl od kapalinové chromatografie není zdaleka tak robustní a vyžaduje dávkování koncentrovanějších vzorků.

Autorovy názory na aplikaci kapilární elektroforézy jsou velmi optimistické. Zná autor nějaké klinické laboratoře, které používají kapilární elektroforézu k rutinním analýzám biologických materiálů? Sám autor na str. 27 píše „Na rozdíl od automatizovaných systémů používaných v klinické laboratoři, vyžaduje přístroj CE nadprůměrné technické znalosti“ a dále na str. 26 se praví: „Pravděpodobně jedním z hlavních důvodů, proč CE nenahradila gelovou elektroforézu pro rutinní analýzy sérových proteinů, je fakt, že není schopna během jedné analýzy separovat současně více vzorků a získané výsledky analýzy nelze následně vzájemně porovnat [10] – tato práce je však již z roku 1997.

Velmi dobrý nápad aplikovaný v předkládané disertaci je spojení dvou kapilár za účelem snížení limitu detekce. Je tak možné se vyhnout derivatizaci a eliminovat vliv matrice. Významným kladem metody je minimální spotřeba vzorku a činidel, což je ve shodě s požadavky zelené chemie.

K autorovi mám následující připomínky a dotazy:

- Seznam zkratk a symbolů je vyčerpávající, ale některé jsou zbytečné, viz např. USA, %, g., °C, cm, apod.

- Některé názvy jsou částečně v angličtině: Str. 12 - 2-(N-morpholin)ethansulfonová kyselina, 4-(cyclohexylamino)ethansulfonová kyselina
- Str. 53: Co je to vysokoúčinná papírová chromatografie (HPTLC) (cit. 69). Nejedná se o vysokoúčinnou tenkovrstvou chromatografii?
- Str. 84: Co je to sophorosylová jednotka?
- Str. 108, tabulka 5.2 a str. 112, tabulka 5.3: Obsahy rebaudiosidu a steviosidu se obtížně porovnávají s údaji uváděnými výrobcem, neboť jsou uváděna v různých jednotkách. Bylo by možné je sjednotit?
- Nestabilita dynamicky modifikovaných kapilár je všeobecně známa. Testoval autor také možnost chemicky navázat polymer nebo použít některou komerčně dostupnou chemicky modifikovanou kapiláru? Jak ovlivní každodenní výměna kapiláry provedený počet analýz?
- Zajímalo by mne srovnání rychlosti CE a enzymatické analýzy kyseliny močové a kreatinu.
- Mohl by autor porovnat vyvinutou CE metodu stanovení steviosidu a rebaudiosidu A s publikovanými metodami, zejména s HPLC, z hlediska přesnosti, citlivosti a rychlosti stanovení?

Závěr:

Výsledky disertace představují významný přínos k zavádění nových metod do klinické praxe. Autor prokázal velmi dobré teoretické znalosti zkoumané problematiky a schopnost tvůrčí vědecké práce. Doporučuji, aby disertační práce Mgr. Václava Pavlíčka byla přijata k obhajobě a aby se stala základem pro udělení vědecké hodnosti Ph.D.

V. Pavlíček