

Oponentský posudek

na dizertační práci Mgr. Dušana Kovala
nazvanou „Separace a charakterizace stereoizomerů fosfinátových
pseudopeptidů a serinu kapilární elektroforézou“

Dizertační práce Mgr. Dušana Kovala se zabývá, jak zcela vystihuje její název, separací a charakterizací zajímavých biologicky aktivních látek - fosfinátových pseudopeptidů, a dále popisuje nově vyvinutou metodu pro enantioselektivní separaci serinu. Práce ukazuje možnosti kapilární elektroforézy jako separační metody i jako techniky umožňující získání potřebných fyzikálně-chemických charakteristik.

Práce je pěkně koncipována, velmi dobře pisatelsky i graficky vyvedena. Zajímavá je speciální, poněkud archaická čeština. Teoretická část dobře shrnuje potřebná základní fakta týkající se kapilární elektroforézy, včetně příslušných rovnic. Následně autor soustřeďuje svoji pozornost k popisu některých rušivých jevů, kterým je třeba čelit, aby kapilární elektroforéza poskytovala spolehlivé výsledky. Po obecném úvodu následuje část, ve které autor shrnuje výsledky z publikovaných prací. Na detaily je odkazováno k příslušným publikacím připojeným k dizertační práci. I bez těchto detailů je však vybráno vše podstatné a práce je velice přehledná. Převážná část se soustřeďuje na fosfinátové pseudopeptidy, jejichž charakterizaci se Mgr. Koval povětšinou zabýval v průběhu svého postgraduálního studia. Závěrem je poněkud nekonzistentně přidána metoda pro stanovení *D*-serinu. Jde o velmi pěknou myšlenku, takže se nedivím, že se s ní autor chtěl pochlubit, ale vzhledem k množství ostatních výsledků prezentovaných v dizertační práci bych dávala přednost tuto práci sem nezahrnout.

Dizertant se může pochlubit velmi aktivní publikační činností. V době, kdy byla dizertační práce podána, bylo publikováno v recenzovaných časopisech pět prací, u kterých byl Mgr. Koval prvním autorem, dvě práce byly v recenzním řízení, u dalších šesti publikací byl spoluautorem. Kromě toho prezentoval devět plakátových sdělení na mezinárodních konferencích a čtyři na národních konferencích s mezinárodní účastí. Tato fakta jasně ukazují píli a experimentální i publikační schopnosti dizertanta.

K práci mám několik drobných připomínek/poznámek:

Výše zmíněná zvláštní čeština někdy vede k formulačním i názvoslovným nepřesnostem. Je vhodné používat současné chemické názvosloví.

Hodnoty pH by měly být udávány se stejnou přesností (počet desetinných míst).

Formulace „...EOF.....významně ovlivňuje.....rozlišení analytů, a tím i účinnost separace.“
Účinnost spíš ovlivňuje rozlišení.

Následující dotazy mají sloužit spíše jako náměty do diskuze:

Část práce je zaměřena na měření, příp. se zde hovoří o odhadech, hodnot pK_A . Bylo zkoušeno též využití nějakého výpočetního programu (např. PALLAS) pro určení pK_A ?

Máte nějaké vysvětlení, proč jsou píky v oxalátovém pufru širší než v dalších sledovaných pufrech (s. 36 a obr. 4)?

Jak je to se systémovými zónami v obr. 4?

Co znamená tzv. nepufrující složka uváděná v tab. 4 na s. 39?

Při srovnávání separace diastereomerů fosfinátových pseudopeptidů (dle publikace IV) metodami CZE a HPLC nejsou použity v kapalinové chromatografii analytické separační podmínky – např. velký průměr kolony, vysoká průtoková rychlost. Jak by vypadalo srovnání výsledků za analytických podmínek v HPLC?

Pro obrácení EOF byl při měření neutrálních a kyselých fosfinátových pseudopeptidů v kyselé oblasti ($pH < 2$) použit Polybren (s. 40), který způsobil dobrou stabilitu EOF. Snižování pohyblivosti EOF při $pH > 4,5$ bylo vysvětleno počínající disociací silanolových skupin. Je to pravděpodobné i přes přítomný Polybren?

Není stanovení hodnot pK_A fosfinátových pseudopeptidů prováděné ze směsí diastereomerů při nedostatečném rozlišení jednotlivých píků zatížené velkou chybou?

Jestliže k separaci diastereomerů fosfinátových pseudopeptidů dochází v oblastech, kde pH pufru je blízké („přimyká se“) pK_A analytů (s. 52), jak je metoda robustní? Malá změna pH BGE musí způsobit velkou změnu pohyblivosti analytu.

Co jsou ostatní píky v chromatogramech na obr. 13 (s. 53)? Jak byly identifikovány odpovídající píky v elektroferogramech a chromatogramech?

Drobnými připomínkami, spíše náměty do diskuze, nikterak nemohu snížit nespornou kvalitu předkládané práce. Autor jak vlastní dizertační práci, tak početnými publikacemi a plakátovými sděleními dílčích výsledků na mezinárodních příp. národních konferencích jednoznačně prokázal své vědecké kvality.

Práce Mgr. Dušana Kovala bezesporu splňuje všechny požadavky kladené na disertační práci, a proto ji s radostí doporučuji k obhajobě a dalšímu řízení.

V Praze dne 12.7.2006



Eva Tesařová