

## Oponentský posudek dizertační práce

**Mgr. Martin Beneš** (Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha):

### Studium komplexačních rovnováh kapilární zónovou elektroforézou

Oponent: RNDr. Václav Kašička, CSc., Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.,  
Praha

---

Námětem předkládané dizertační práce je studium komplexních rovnováh kapilární zónovou elektroforézou (CZE) s přidavkem komplexního činidla do základního elektrolytu neboli kapilární afinitní elektroforézou (ACE). Komplexní rovnováhy jsou významné chemické reakce v mnoha oblastech anorganické, organické, supramolekulární, analytické i fyzikální chemie a uplatnění nacházejí i v separačních metodách, kde zvyšují jejich selektivitu a citlivost. Je tedy zřejmé, že studium komplexních rovnováh je velmi důležité, a tudíž i téma dizertační práce je velmi aktuální a vědecky i prakticky významné.

Autor si stanovil tři hlavní cíle:

1. Rozšířit dynamický simulační program Simul 5 o komplexační rovnováhy a experimentálně ověřit platnost navrženého modelu.
2. Potvrdit funkčnost a platnost částečného linearizovaného modelu elektroforézy uvažujícího komplexaci analytu s neutrálním komplexačním činidlem implementovaného do programu PeakMaster 5.3 Complex a využít tento model k vysvětlení vlivu komplexace na tvar píku analytu.
3. Vyšetřit a popsat vliv interakce složek základního elektrolytu (BGE) s komplexačním činidlem na stanovení konstant stability.

Rád konstatuji, že všechny tyto náročné cíle autor úspěšně splnil. Výsledky dizertační práce představují významný a cenný příspěvek k teoretickému popisu elektromigračních procesů, jejichž důkladné pochopení a prozkoumání je tím důležitější, čím více se kapilární elektromigrační (CE) metody uplatňují v analytické praxi. Práce výhodně navazuje na předchozí výsledky pracoviště autora, na kterém je teorie elektromigračních procesů dlouhodobě studována a jež v této oblasti patří ke světové špičce.

Výsledky přinášejí řadu nových poznatků. Rozšířený program Simul 5 Complex umožňuje předpovědět efektivní mobilitu, amplitudu i tvar píku analytu v prostředí obsahujícím komplexní činidlo. Linearizovaný model elektromigrace implementovaný do programu PeakMaster 5.3 Complex dovoluje za cenu mírného zjednodušení předpovědět polohu a tvar píku při daném složení základního elektrolytu obsahujícího komplexní činidlo ve velmi krátkém čase několika sekund. Tento program je velmi užitečným nástrojem pro optimalizaci separačních podmínek CZE a ACE analýz a může významně zkrátit a celkově zefektivnit vývoj nových CE metod. Získané výsledky významným způsobem rozšiřují znalosti o chování elektrolytových systémů, ve kterých dochází ke komplexaci složky základního elektrolytu přidaným komplexním činidlem, konkrétně elektroneutrálním chirálním selektorem cyklodextrinového typu. Bylo teoreticky odvozeno a srovnáním s výsledky simulačního programu i praktických experimentů potvrzeno, že tato komplexace významně ovlivňuje vlastnosti, např. pH, specifickou elektrickou vodivost a iontovou sílu základního elektrolytu, mění počet a mobility systémových zón (píků) a významně zkresluje hodnoty konstant stability komplexů analytu s komplexujícím činidlem (ligandem). Proto by při stanovování konstanty stability komplexu analyt-ligand mělo být vždy ověřeno, že žádná složka základního elektrolytu s ligandem komplex nevytváří.

O výborné kvalitě dosažených výsledků svědčí skutečnost, že již byly publikovány celkem v šesti člancích v prestižních mezinárodních časopisech s relativně vysokým impakt-faktorem (Analytical Chemistry, Journal of Chromatography A a Electrophoresis). Důkazem významného příspěvku autora k dosaženým výsledkům je, že ve čtyřech z těchto šesti publikací je prvním nebo druhým spoluautorem. M. Beneš je spoluautorem dalších čtyř publikací, jež s tématem dizertační práce také úzce souvisejí. Výsledky dizertace byly dále prezentovány na mezinárodních konferencích, a to ve čtyřech přednáškách a sedmi plakátových sděleních.

Po formální stránce je dizertační práce sepsána pečlivě a přehledně. Oceňuji, že jednotlivé publikace, které tvoří základ dizertační práce, jsou stručně shrnuty a okomentovány v samostatných subkapitolách.

K práci mám následující připomínky, dotazy a náměty do diskuse:

1. Pro dizertační práci by byl výstižnější následující název: Studium komplexních rovnováh kapilární afinitní elektroforézou. V českém jazyce je běžně užívaný termín „komplexní rovnováhy“ vhodnější než anglikanizující termín „komplexační rovnováhy“. Separační mód elektroforézy, do jejíhož základního elektrolytu je přidán ligand vytvářející komplexy s vybranými analyty a ovlivňující jejich efektivní mobility a zvyšující tak selektivitu separace, je podle terminologie IUPAC (*Pure Appl. Chem.*, 2004, 76/2, 443–451), klasifikován jako afinitní elektroforéza.
2. V práci se vyskytuje několik ne zcela přesných termínů a formulací:
  - V českém názvosloví by měl výraz „kyselina“ předcházet před její specifikací, tj. např. místo „2-(N-morfolin)ethansulfonová kyselina“ by správně mělo být „kyselina 2-(N-morfolino)ethansulfonová“.
  - Pro charakterizaci acidobazických rovnováh je v práci používán obecný termín „disociační konstanta“ místo oficiálního termínu „konstanta acidity“, resp. místo přesnějších alternativních termínů „acidobazická disociační konstanta“, „kyselá disociační konstanta“ nebo „ionizační konstanta“. U termínu „disociační konstanta“ by mělo být vždy uvedeno, disociace jaké entity se konstanta týká, tj. zda se jedná o disociaci kyseliny nebo disociaci komplexu na jeho složky nebo disociaci molekuly na její fragmenty či jednotlivé atomy, apod.
  - Podobně, místo obecných termínů „vodivost“ resp. „specifická vodivost“ by alespoň při jejich prvním uvedení měl být použit úplný název „elektrická vodivost“ resp. „specifická elektrická vodivost“.
  - Tvar molekul cyklodextrinů charakterizovaný na str. 9., par. 2, jako „komolý kužel“ by měl být přesněji popsán jako „dutý komolý kužel“, neboť pro cyklodextriny je charakteristická vnitřní dutina jejich molekul.
  - Příliš silné je tvrzení (str. 15, par. 2, aj.), že „nejčastější stechiometrie komplexu analyt-komplexní činidlo je 1:1“. Možná to platí pro komplexy cyklodextrinů, obecně však nikoli. Pro komplexy kovů s anorganickými či organickými ligandy jsou stechiometrie velmi různé.
3. V úvodu na str. 9 by řada zde uvedených tvrzení měla být podložena odkazy na původní literární zdroje, např. pro využití jednotlivých druhů stereoselektorů (cyklodextrinů, makrocyclických antibiotik, crown etherů a cyklofruktanů) pro chirální analýzu opticky aktivních látek CE metodami.
4. Pro vztahy (7) na str. 18, (15) na str. 28 a (16) na str. 33 by měly být uvedeny literární zdroje, odkud byly převzaty resp. by mělo být uvedeno, jak byly odvozeny.

5. Jak konkrétně byl kompenzován příspěvek nabitého cyklodextrinu k iontové síle základního elektrolytu zmiňovaný na str. 19, par. 1.
6. Na str. 20, par. 1, je zmíněno několik disperzních jevů vyskytujících se v CE metodách: difúze, teplotní efekty, adsorpce, elektromigrační disperze a laminární tok. Jaké další disperzní jevy se v CE metodách uplatňují?
7. Jak významné (procentuálně) byly korekce migračních časů (efektivních mobilit) při použití HVL funkcí pro stanovení migračních časů analytů v prezentovaných experimentech?
8. Je možné na základě dosavadního studia elektrolytových systémů obsahujících cyklodextriny vyslovit určitá doporučení pro volbu složek pufrů, které nevytvářejí s cyklodextriny rušivé komplexy?

Závěr:

Výsledky dizertační práce přinášejí nové cenné poznatky, které významným způsobem rozšiřují znalosti o průběhu elektromigračních separačních procesů, ve kterých se uplatňují komplexní rovnováhy. Tyto poznatky, implementované do simulačních programů elektromigračních procesů Simul Complex a PeakMaster Complex dovolují podstatně urychlit optimalizaci elektrolytových systémů pro analýzy a separace široké škály prakticky významných analytů CE metodami. Autor prokázal výborné teoretické znalosti zkoumané problematiky a schopnost jejich tvůrčí aplikace. Práce i přiložené autoreferáty v českém i anglickém jazyce splňují požadavky kladené na dizertační práce ve studijním programu fyzikální chemie. Proto doporučuji, aby dizertační práce Mgr. Martina Beneše byla přijata k obhajobě a aby se stala základem pro udělení vědecké hodnosti PhD.



V Praze, dne 19.8.2014

RNDr. Václav Kašička, CSc.