

Oponentský posudek disertační práce

Autor: Mgr. Dušan Koval

Název práce: Separace a charakterizace stereoizomerů fosfinátových pseudopeptidů a serinu kapilární elektroforézou

Oponent: Prof. Ing. Zdeněk Stránský, CSc.

Předložená práce tvoří ucelenou analytickou studii, která slouží významnému problému řešenému na Ústavu organické chemie a biochemie AV v Praze. Řešený problém je aktuální a autorův podíl na něm má jasný praktický význam, ovšem s důležitým dopadem na celkové výsledky úlohy základního výzkumu a to, podle mého názoru, zcela zásadní. Autorovy výsledky také znamenají nezanedbatelné příspěvky do oblasti separačních technik analytické chemie a to v teoretické (studium vlivu iontové síly, teploty na elektroforeticky měřené fyzikální konstanty), metodologické (volba elektrolytu v závislosti na struktuře a aciditě analytu) i ve zcela praktické rovině vlastních výsledků separace a stanovení derivátů jmenovaných pseudopeptidů a D-serinu.

V disertaci jsem také našel řadu dílčích vtipných nápadů (např. postup pro měření teploty uvnitř separační kapiláry).

Disertační práce shrnuje výsledky 7 publikací, které prošly recenzí v kvalitních časopisech (převážně Electrophoresis), 5 z nich bylo uveřejněno již v době předložení práce. Na všech je Mgr. Koval uveden jako první autor. Osobně vysoce hodnotím koncepci 5 prací tvořících přílohu, kde autor systematicky rozšiřuje poznatky o fosfinátových pseudopeptidech od jejich vlastní separace a stanovení přes určení jejich mobilit a disociačních konstant k poznání a separaci jejich stereoizomerů a k jejich fyzikálně chemické charakterizaci. Na tomto problémovém pozadí s lehkostí přispívá k zjemnění analytických postupů a zpřesnění fyzikálně chemických měření.

Málokdy jsem měl jako oponent tak nesnadnou pozici, abych našel prostor pro připomínky a vážnější námitky.

Práce i její teze mají uznanou strukturu, odpovídající rozsah a dobrou grafickou úroveň.

Velká pozornost je věnována (zde je autorův přínos k teorii migrace) vlivu iontové síly na mobility a disociační konstanty analytů a to jak v úvodní části, tak i v příložených publikacích.

Poněkud chudá je v přehledové části informace o studovaných analytech - fosfinátových pseudopeptidech. Zde bych očekával podrobnější data o jejich vlastnostech a také perspektivách jejich využití.

Některé části kapitoly „Výsledky“ patřily do úvodního přehledu. Typickým příkladem je pasáž 5.1.1.1.7., kam vysvětlení vlivu elektroosmotické pohyblivosti a způsobu měření nepatří.

Z drobných, pracně hledaných připomínek, uvádím:

Str. 15 nahoře: Zmatení pojmů technologie – metoda – technika..

Str. 19: V rovnici (2.12) mohl být vysvětlen „kombinatorický“ člen. Věta o symetrických elektrolytech za rovnicí (2.14) není srozumitelná.

Str. 25 nahoře: „Chromatografická“ rovnice (2.22) není příliš vhodná k vyjádření účinnosti vzhledem k tomu, že elektroforetické píky snad ani nemohou být gaussovské. Za rozptyl by měla být použita hodnota co nejbližší reálnému celkovému rozptylu.

Str. 26 nahoře: Pro vysvětlení m_{eof} na rozlišení bylo vhodné uvést rovnici uvažující s EOF.

Str. 27: Rovnice (2.35)? Asi má být:

$$m_{\text{eff}} = m_{\text{A}^-} \cdot 1 / (1 + 10^{(\text{pK} - \text{pH})})$$

Str. 34: Odkud byla převzata závislost (5.1)? Co znamená „teplota uvnitř kapiláry“? Je to teplota uprostřed, na stěně, nebo „střední“ teplota?

Str. 42, část 5.1.1.1.8: Jde o vliv koncentrace na pK_a nebo na pK_a^{mix} a tím pádem na aktuální nebo limitní mobilitu?

Rád bych slyšel odpověď na několik otázek:

1. Lze podélnou difúzi omezit snížením teploty? (ke str. 21).
2. Počet chirálních center a jejich stereoisomerie byl u všech studovaných „terapeutidů“ stejný?
3. Jak ovlivnila vysoká koncentrace protonů v kyselých „pufrech“ elektromigrační dispersi? (ke str. 36).
4. Proč nebylo pro určení mobilit a pK v kyselých BGE použito vyšší vložené napětí (v zájmu přesnějšího odečtu migračních časů, atd) (ke str. 37-38, resp. III, p. 777).
5. Za jedinou vážněji spornou otázku práce považuji volbu iontového rozměru v „rozšířeném Onsagerově modelu“ (str. 18, 44, resp. I, p.217, II, p. 148, etc.). Autor přijal tezi, že měřené pH odpovídá aktivitě hydratovaného protonu. Tento fakt spočívá na dohodě, že hydratovaný Cl^- ion má iontový rozměr $a = 0,456$ nm. Těžko si lze představit, že studované pseudopeptidy mají hydratovaný průměr stejný. Na volbě rozměru a závisejí „Debye-Hückelovské“ opravy vedoucí k limitním hodnotám. Předpokládám, že limitní (termodynamické) hodnoty byly nakonec vždy vypočteny podle rovnice (5.10) na str. 48, s hodnotou $a = 0,5$. Obr. 9 na str. 47 (V, Fig. 3, p. 3229) tento problém vystihuje jen částečně. **Tedy:** Byla např. vypočítána chyba, které se můžeme dopustit při opravě aktuálních veličin na limitní v intervalu $a < 0,5; 2,5 >$?

Závěr

V závěru rád konstatuji, že předložená práce je zcela mimořádná, autor cíle disertace splnil s přídavkem. Naměřená data jsou věrohodná a správně interpretovaná, téma může mít zajímavé pokračování.

Doporučuji disertaci k obhajobě a následující udělení vědecké hodnosti

Ph.D. panu Mgr. Dušanu Kovalovi

V Olomouci, dne 27. srpna 2006

prof. Ing. Zdeněk Stránský, CSc.