

Určování asociačních konstant komplexů enantiomerů dipeptidu β -ALA-D,L-TYR a jeho derivátů s 2-hydroxypropyl- β -cyklodextrinem kapilární zónovou elektroforézou

Oponentský posudek diplomové práce Terezy Schimperkové

Oponent: RNDr. Kateřina Ušelová, PhD.

Předkládaná diplomová práce Terezy Schimperkové se zabývá využitím kapilární zónové elektroforézy ke stanovení asociačních konstant enantiomerů dipeptidu β -Ala-D,L-Tyr a jeho derivátů s 2-hydroxypropyl- β -cyklodextrinem. Práce obsahuje velmi rozsáhlou teoretickou část, kde jsou relativně podrobně, ne vždy však zcela přesně zavedeny základní elektroforetické jevy a veličiny, definována asociační konstanta, vysvětlen princip různých CZE metod pro stanovení asociačních konstant atd. Na teoretickou část předkládané práce navazuje relativně stručná experimentální část a kapitola výsledky a diskuze zabývající se vlastním stanovení asociačních konstant.

Po formální stránce je práce přehledně členěna a s minimem překlepů (dva). Přesto si dovoluji upozornit na zjištěné formální nedostatky:

- 1) Str.25, odstavec 2 ...s platem je lineárně závislá na koncentraci analytu.
- 2) Str. 29, rovnice (2.36), (2.37), (2.38) chybí vysvětlení významu symbolů $[A_f]$, $[A_{tot}]$ a $[L_f]$ (v seznamu použitých symbolů vysvětleny jsou).
- 3) Str. 32, řádek 2 ...použitelná je doporučena přibližná... .

Po odborné stránce mám k teoretické části předkládané diplomové práce následující faktické připomínky:

- 1) V práci je opakovaně použit chybný pojem „standardní teplota“.
- 2) Běžně používaný pojem „migrační čas EOF“ bych navrhovala nahradit např. formulací „čas průchodu markeru EOF detektorem“ apod., neboť pojem migrační čas by měl být používán výhradně pro látky vykazující vlastní elektroforetickou pohyblivost.
- 3) Pojem elektroosmotický tok je zaveden a vysvětlen v kapitole 2.1.2, přesto v předchozí kapitole autorka s tímto pojmem pracuje.
- 4) Na str.17, první odstavec...v blízkosti stěny vytváří potenciálový rozdíl,... .
- 5) Str.17, odstavec druhý ...Mezi pH 3-8 rychlost EOF... .
- 6) Definiční vztah (2.26) pro termodynamickou asociační konstantu není v pořádku. Termodynamickou asociační konstantu nelze definovat poměrem rychlostních konstant přímé a zpětné reakce.
- 7) V práci je chybně zaveden a používán pojem „standardní koncentrace“. Jedná se hodnotu molární koncentrace, která se ve většině případů volí 1 mol dm^{-3} . Symboly c_A^0 , c_L^0 a c_{AL}^0 jsou zavádějící.
- 8) Aktivitní koeficient nevyjadřuje aktivity příslušných složek v roztoku za standardních podmínek, jak je uvedeno na str. 22.
- 9) Objasnění závislosti stechiometrické (zdánlivé) a normalizované asociační konstanty na teplotě, tlaku a iontové síle na str. 23, odstavec první je chybné.
- 10) Je-li v práci zmiňována jako jedna z používaných metod ke stanovení asociačních konstant CAE (kapilární afinitní elektroforéza) s částečným plněním, bylo by vhodné metodu popsat přesněji, včetně podrobnějšího popisu obrázku 2.4 (str. 26-27); obdobně pro průtokovou CAE a obr. 2.5.

- 11) Efektivní pohyblivost je dána součtem součinnů aktuálních (ne iontových) pohyblivostí a molárních zlomků jednotlivých iontových forem dané látky. (str.29; (2.35))
- 12) Vztah (2.42) doplněný o absolutní hodnotu nábojových čísel vyjadřuje tzv. „rozšířený“ Debye-Hückelův limitní zákon, jehož platnost není limitována na uni-univaletní elektrolyty.
- 13) Formulace na str. 31 dole, že ...Běžně se pro zředěný roztok zavádí, že individuální aktivitní koeficient je roven střednímu aktivitnímu koeficientu....je chybně. Též vztah (2.44) je uveden nesprávně.

Vzhledem k velmi rozsáhlému teoretickému úvodu předkládané práce se domnívám, že experimentální část a kapitola výsledky a diskuze by měly být zpracovány podrobněji a interpretaci výsledků by měla být věnována větší pozornost. V experimentální části práce zcela chybí informace o postupu výpočtu složení zvolených základních elektrolytů, o jejich přípravě a o způsobu stanovení pH. Z údajů v Tab. 5.1 není zřejmé, zda uvedené pH je experimentálně stanovené či teoreticky vypočtené. Rovněž není uvedena hodnota iontové síly používaných pufrů. Z uvedených informací též není zřejmé, kolikrát byl daný elektroforetický experiment proměřen a v případě, že několikrát, jakým způsobem byla data zpracována pro grafické znázornění (zda jsou vynášena všechna experimentálně stanovená data, či průměrné hodnoty).

Ke kapitole výsledky a diskuze mám následující faktické připomínky, upozornění a vyplývající dotazy:


- 1) Experimentální náplní předkládané diplomové práce je stanovení asociačních konstant enantiomerů dipeptidu β -Ala-D,L-Tyr a jeho derivátů se zvoleným chirálním selektorem. Zkoumané analyty se řadí do skupiny slabých elektrolytů. V práci postrádám klíčovou informaci o příslušných disociačních konstantách. Jsou tyto hodnoty dostupné v literatuře, pokud ne, má autorka představu o jejich hodnotě?
- 2) Autorka v předkládané práci koriguje experimentálně stanovené efektivní pohyblivosti zkoumaných analytů na viskozitu základního elektrolytu pomocí poměrů proudů v BGE bez a s přidavkem zvoleného chirálního selektoru. Autorka konstatuje, že v některých případech po provedení zmíněné korekce dochází ke značnému rozptylu korigovaných pohyblivostí. Testovala autorka i jiné postupy korekce experimentálních dat na viskozitu základního elektrolytu? Prosím autorku o jejich stručný přehled.
- 3) Jaký byl důvod volby složení vzorku enantiomerů zkoumaných analytů v poměru L:D 1:2? Proč nebyly enantiomery studovány jednotlivě? Nemůže přítomnost obou enantiomerů ve vzorku ovlivnit hodnotu stanovované asociační konstanty?
- 4) Autorka zkoumané analyty detekuje UV/VIS detektorem. V takovém případě rozlišujeme dva typy detekce – přímou a nepřímou. Kterou z těchto metod autorka používá? Prosím autorku o stručné objasnění podstaty obou metod.
- 5) Jaký zjednodušující předpoklad je učiněn při využití rovnice (2.38) jako regresní funkce závislosti efektivní pohyblivosti sledovaného analytu na koncentraci zvoleného chirálního selektoru v základním elektrolytu?
- 6) U grafů znázorněných na obrázcích 5.9-5.14 není zřejmé, zda na ose nezávisle proměnné jsou vyneseny efektivní pohyblivosti korigované na viskozitu, teplotu, případně obojí, či nekorigovaná data.

- 7) V Tab. 5.5 jsou zaznamenány stanovené asociační konstanty pro Fru- β -Ala-D,L-Tyr pro různé hodnoty pH separačního elektrolytu. V popisce ke zmiňované tabulce by zřejmě nemělo být uvedeno, že se jedná o asociační konstanty komplexů enantiomerů, ale směsi enantiomerů.
- 8) V závěru práce autorka porovnává zdánlivé asociační konstanty zkoumaných analytů stanovené v roztocích o významně rozdílných hodnotách iontové síly, což považuji za zavádějící.

I přes množství připomínek a dotazů k předkládané práci konstatuji, že vytyčené cíle práce byly splněny. Kladně hodnotím především vhodný výběr zkoumaných analytů (slibní kandidáti pro nová antibiotika) a množství odvedené experimentální práce autorky. Předkládanou práci proto doporučuji k obhajobě jako práci diplomovou.

V Praze 19.5.2008

Kateřina Ušelová



Hodnocení diplomové práce Terezy Schimperkové s názvem

Určování asociačních konstant komplexů enantiomerů dipeptidu β -ALA-D,L-TYR a jeho derivátů s 2-hydroxypropyl- β -cyklodextrinem kapilární zónovou elektroforézou

Navrhuji předkládanou diplomovou práci ohodnotit známkou 2.

V Praze 20.5.2008-

RNDr. Kateřina Ušelová, PhD.
oponent práce

