

## Abstrakt

Tato práce se zabývá vývojem a optimalizací podmínek metody, kterou lze využít k porovnání aktivity enzymu  $\beta$ -*N*-acetylhexosaminidasy při hydrolýze jejího přirozeného substrátu a tzv. chromogenního substrátu, který se často využívá při studiu enzymové kinetiky. Jako substrát pro štěpení byl zvolen 4-nitrofenyl-*N,N'*-diacetyl- $\beta$ -D-chitobiosid. Tento oligosacharid obsahuje vazbu, kterou enzym štěpí v přirozeném substrátu, a zároveň také vazbu, která se vyskytuje v substrátu chromogenním. Pro stanovení produktů, jež vznikají při enzymatické hydrolýze 4-nitrofenyl-*N,N'*-diacetyl- $\beta$ -D-chitobiosidu byla využita kapilární zónová elektroforéza. Nejprve bylo nutno najít optimální složení základního elektrolytu, tedy jeho hodnotu pH a koncentraci. Optimálním základním elektrolytem byl roztok tetraboritanu sodného o koncentraci 25 mmol/l a hodnotě pH 10,25. Následně byla zjištěna opakovatelnost měření, kalibrační závislosti a linearita, limit detekce a limit kvantifikace. Opakovatelnost migračních časů se pohybovala do 0,6%, opakovatelnost plochy píků pak v rozmezí 2,5 až 6,3%. Limity detekce metody byly v rozmezí 0,005-0,120 mmol/l. Nakonec byla optimalizovaná metoda úspěšně použita ke sledování průběhu skutečného enzymového štěpení.