

Doc. RNDr. Vítězslav Maier, Ph.D.
Ústav soudního lékařství a medicínského práva
LF UP a Fakultní nemocnice Olomouc

Oponentský posudek disertační práce Ing. Jany Váňové

Využití komplexačních rovnováh při elektromigračních separacích přírodních látek

Ve své disertační práci se Ing. Váňová zabývá možnostmi stanovení kritické micelární koncentrace vybraných aniontových tenzidů, dále studiem tvorby liposomů a jejich agregace ve vodném prostředí. V disertační práci jsou také uvedeny experimentálně získané hodnoty rozdělovacích koeficientů pro systémy voda – oktanol, voda – micely tenzidu a voda – liposomy. Získané výsledky Ing. Váňová následně využila při optimalizaci podmínek separace (s pomocí MEKC a spojení LC-MEKC) vybraných přírodních antioxidantů a oligosacharidů se spektrofotometrickou detekcí a s hmotnostní spektrometrií. Vyvinuté metody pak úspěšně aplikovala na analýzu přírodních produktů.

Výsledky práce jsou podloženy dvěma prvoautorskými publikacemi v impaktovaných časopisech (Chemické Listy) a jednou prvoautorskou prací v recenzovaném časopise (Cogent Chemistry). Ing. Váňová je také spoluautorskou kapitoly v knize vydanou Americkou chemickou společností.

Práce je koncipována jako komentovaný soubor prací. Vlastní dotčené publikace jsou součástí disertační práce. Práce je koncipována přehledně a všechny výsledky jsou dokumentovány příslušnými grafy, obrázky a ukázkami separací.

Práce obsahuje minimum překlepů a několik drobných formálních nedostatků:

- v seznamu zkratk je uveden APS jako peroxosíran draselný, nešlo spíše o peroxodisíran amonný?;
- str. 11- dle mého názoru by bylo vhodnější používat spojení hmotnostní spektrometrie (čemuž odpovídá i zkratka MS) namísto hmotnostní detekce. Přece jen se jedná o identifikační a kvantifikační metodu zároveň;
- str. 16 – amfifilního namísto amfofilního;
- str. 19 ...hodnot směrníc přímek v oblasti pod a nad ..., ale chybí zde pro jakou závislost;
- str. 25 – uvádíte, že systémové píky v CE jsou tzv. rušivé vlivy. Máte představu jaký je mechanismus vzniku systémových píků?
- str. 28, obr. 1.7C – chybí pro jednotlivé body závislosti kapacitního faktoru na koncentraci SDS chybové úsečky. Kolikrát bylo opakováno měření pro každý bod závislosti?
- str. 35, tab. 1.5 – v textu ani v seznamu zkratk není definované zkratka AB pro alkybenzeny;
- str. 84, tab. 3.1 – Jak si vysvětlujete záporné hodnoty úseků kalibračních závislosti pro některé analyty? Bylo testováno, že navržené lineární modely jsou pro vystižení kalibrační závislosti nejvhodnější?

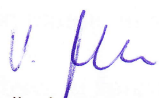
- str. 88 – Byly Vámi použité pokryté kapiláry připravovány v laboratoři, či získány komerčně?
- str. 90, obr. 3.16 – Jaké bylo použito dávkování při separaci ANTS derivátů oligosacharidů při analýze z krátkého konce? Byla studována výtěžnost pro derivatizační postup?
- str. 94, obr. 3.20 – Jak si vysvětlujete štěpení píků („oscilaci“) jednotlivých oligosacharidů při MS detekci při jejich CE-MS separaci. Je možné vysvětlit frontující profil píků?

V rámci rozpravy při obhajobě mám následující dotazy:

1. Zaujala mě úprava konce sprejovací špičky ve Vámi popisovaném spojení CE-MS. Jak probíhá zbroušení kapiláry na požadovaný úhel a jaká je opakovatelnost tohoto zbroušení?
2. Jaké problémy očekáváte, pokud byste měla realizovat spojení LC-MEKC s hmotnostní spektrometrií?

Závěrem prohlašuji, že předložená disertační práce Ing. Jany Váňové splňuje všechna kritéria kladené na disertační práce k získání hodnosti Ph.D. Uvedené připomínky nijak nesnižují kvalitu předkládané práce, a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne 23. 10. 2017


Vítězslav Maier

Posudek oponenta na disertační práci Ing. Jany Váňové „Využití komplexačních rovnováh při elektromigračních separacích přírodních látek“

Práce je předložena jako komentovaný soubor čtyř vědeckých prací publikovaných v recenzovaných odborných časopisech, sbornících symposií a jako jedna kapitola v knize v letech 2013 – 2017. Ing. J. Váňová je u tří prací uvedena jako první autor a u kapitoly v knize jako spoluautor. V disertační práci je řešeno téma využití kapilární elektroforézy jak pro určení některých důležitých fyzikálně-chemických konstant (hodnota kritické micelární koncentrace, rozdělovací koeficient), tak pro spojení s UV/Vis a hmotnostní detekcí pro analýzu vybraných antioxidantů a oligosacharidů. Každému z řešených témat je v práci věnována samostatná kapitola, kde jsou nejprve vysvětleny základní teoretické aspekty řešené tematiky na které navazuje poměrně podrobně popsaná experimentální část, jejíž výsledky byly uveřejněny formou publikace.

Tímto způsobem je popsána kapitola 1 s výstupem: „Stanovení kritické micelární koncentrace tenzidů pomocí kapilární elektroforézy“ uveřejněným ve sborníku přednášek (2015), kapitola 2 s výstupem: „Determination of distribution constants of antioxidants between liposomes, alkylsulfate micelles, octanol and water using electrokinetic chromatography“ (uveřejněným ve sborníku z konference, 2016) a „Determination of distribution constants of antioxidants by electrokinetic chromatography“, publikovaným v Cogent Chemistry (2017). Třetí, velmi rozsáhlá kapitola se zabývá aplikací MEKC, CZE a CZE/MS pro separaci vybraných antioxidantů a oligosacharidů s publikací: „CZE a MEKC separation of phenolic compounds“, uveřejněné v Chemických listech (2013) a „Využití směsných micel v MEKC separaci přírodních antioxidantů“, uveřejněných ve sborníku přednášek (2014). Poslední 4. kapitola se zabývá vícerozměrnými separacemi a řeší zajímavé spojení LC v první dimenzi a MEKC v druhé dimenzi, pro identifikaci komplexních vzorků, jakými jsou např. rostlinné extrakty a výluhy. V tomto případě se jedná o identifikaci fenolických kyselin a flavonoidů ve výluhu květů černého bezu. Publikáční výstup z této tematiky zatím není. Výstupem bez uvedení příslušné kapitoly je pak „Characterization of *Sambucus nigra* L. infusions using capillary electrophoresis and liquid chromatography-tandem mass spectrometry“ uveřejněné formou kapitoly v „Instrumental Methods for Analysis and Identification of Bioactive Molecules, ACS Symposium Series“ (2014).

Práce je sepsána pečlivě a věcně správně, s dostatkem relevantních literárních zdrojů, jimiž jsou jednotlivé kapitoly zakončeny. Pro lepší přehlednost by podle mého mínění bylo vhodnější zařadit příslušné publikace přímo za jednotlivé kapitoly. Cíle jsou jasně vytčeny a splněny. Během své disertační práce vykonala předkladatelka velké množství experimentální práce a získala řadu zajímavých výsledků, na jejichž základě bych očekávala vyšší publikační aktivitu ve smyslu plnohodnotného článku či článků v mezinárodním impaktovaném časopise namísto příspěvku v konferenčních sbornících nebo článku v posterové sekci Chemických listů.

K předložené práci mám následující dotazy:

Mohla by se předkladatelka vyjádřit k výše zmiňované publikační aktivitě? Jaký byl její podíl při přípravě kapitoly 8?

Výluh z černého bezu byl analyzován třemi analytickými metodami – HPLC-MS/MS, CE-UV a 2D LC-MEKC. Mohla by je předkladatelka navzájem porovnat, co se týče vhodnosti jejich použití pro analýzu takto komplexních matic?

Jaké by byly možnosti kvantitativní analýzy spojení LC-MEKC pro tyto účely?

Autorka prokázala odbornou způsobilost v oblasti využití vysokoúčinných separačních metod pro studium některých důležitých fyzikálně-chemických parametrů i aplikaci na reálné, komplexní vzorky. Je schopna samostatně vědecky pracovat a výsledky své práce zformulovat do publikací. Na základě výše uvedeného hodnocení mohu konstatovat, že předložená disertační práce splňuje kritéria požadovaná pro tento typ práce, a proto ji doporučuji k dalšímu řízení.

V Praze 31. 10. 2017

Doc. RNDr. Z. Bosáková, CSc.