

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra analytické chemie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2021

Autor/ka práce: **Jan Zíka**

Vedoucí práce: prof. RNDr. Šatínský Dalibor, Ph.D.

Konzultant/ka: -

Oponent/ka: Mgr. Khalikova Maria, CSc.

Název práce: **Vývoj HPLC metody pro analýzu potravních doplňků na bázi extraktu berberinu**

Rozsah práce: 71 stran, 42 obrázků, 27 tabulek, 42 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod: | velmi dobrá |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | dobrá |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | dobrá |
| i) Splnění cílů práce: | dobré |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | výborná |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | velmi dobrá |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená DP se zabývá vývojem a optimalizací HPLC metody pro analýzu potravních doplňků s berberinem. Cílem bylo vyvinout metodu pro identifikaci a kvantitativné stanovení devíti látek, ale bohužel kvůli nedostatku standardů validace byla provedena pouze částečně. V DP je větší množství obrázků a tabulek, však výsledky jsou málo diskutované. Závěry jsou nepřesné a obsahují chyby. V DP je velký prostor pro zlepšení a ukázkou získaných výsledků.

Dotazy a připomínky:

Není jasný podle kterých doporučení jste prováděl validaci metody. Zdroj není uveden samotný postup a požadavky neodpovídají nejčastěji používaným zdrojům (s. 28, s. 44). Věnujte pozornost požadavkům k faktoru symetrie píku. Přidejte zdroje do seznamu použité literatury.

Pravděpodobně došlo k chybě buď v části „6.2.3 Opakovatelnost“, nebo v kalibračních křivkách. Plochy píků se liší skoro dvakrát u stejné koncentrace standardů.

s. 29 – v části „6.1 Optimalizace metody“ uvádíte, že jste optimalizoval režim eluce, program gradientu, teplotu na koloně, průtok mobilní fáze a objem nástříků, ale v DP o tom chybí jakákoliv informace nebo diskuze.

V části „6.3.1 Stanovení obsahu účinných látek“ došlo k chybné interpretaci o deklarovaném obsahu berberinu v přípravku Allnature Berberin, protože se jedná o extrakt, nikoliv o čistou látku. Výsledky v Tab. 24 jsou chybné a závěr DP taky.

Příprava vzorků zahrnuje přidání IS, také zkoumáte jeho absorpční, ale v DP chybí cíl tohoto kroku a podle části popisující výsledky, IS nebyl využit. Chybí informace o výsledné koncentraci IS ve vzorku (v části 5.4.1-5.4.4 Příprava vzorků, s. 24-25). Také zcela chybí informace o 6 vyzkoušených IS v části „5.2 Použité chemikálie“.

s. 44 - Test způsobilosti systému – není uveden počet analýz, ze kterých byly počítané výsledky. Uveden je jen retenční čas, ale ne opakovatelnost retenčního času. Také bych doporučila uvádět v rámci testu způsobilosti systému opakovatelnost plochy pod píkem.

s. 43, s. 63 „tlak při kterém probíhala analýza je 19 MPa“ – jelikož jste používal gradientovou eluci, tlak by se měnil v čase analýzy.

s. 36 – při porovnání kolon bych doporučovala uvádět šířku píků anebo kapacitu píků pro správný závěr o účinnosti kolon.

Před volbou analytické kolony jste zjistili optimální vlnové délky, což byly 225 a 345 nm. Ale dále v DP ukazujete chromatogramy s jinou vlnovou délkou, tj. 276 nm (s. 36-41). V DP nebyl ukázán chromatogram s vlnovou délkou 345 nm.

V Tab. 5, s. 43 ukazujete finální podmínky včetně vlnové délky a uvádíte i chromatogram „demonstrující finální podmínky“, opět použita jiná vlnová délka.

Proč se zvolila kyselina fosforečná jako aditivum do mobilní fáze? Jsou publikované metody s kyselinou mravenčí a dokonce i bez přídavku aditiva do mobilní fáze (s. 20).

Používali jste kolony s totožným rozměrem (150*4,6 mm), ale s odlišnou velikostí částic, například 2,6 μm a 5 μm. Nezkoušeli jste upravovat podmínky metody pro lepší separační účinnost? Jaký zákon popisuje tuto závislost? (s. 22-23).

s. 54 – část „6.2.3 Opakovatelnost“ patří do Testu způsobilosti systému, jelikož byla provedena pomocí 6 nástříků. Pokud se tím myslí validační parametr Opakovatelnost metody, má být stanoven ze šesti nezávislých analýz homogenizovaného vzorku. Proč byla potřeba stanovit opakovatelnost nástříku na 4 koncentračních hladinách? Byly nějaké problémy během kalibrace metody?

Mezi minoritní výtky patří: zbytečné zavedení zkratk, které se v textu využívají jen jednou (TLC, GC); nepřesné zvolení terminologie jako např. klasické stacionární fáze, objem průtoku mobilní fáze, přijatelný retenční čas (s. 17, 29, 35); Tab. 6, s. 44 – chybí jednotky u retenčního času a šířky píku; Obr. 30-38 mají špatné popisky os x a y.

Vzhledem k výše uvedeným chybám, doporučuji práci k obhajobě s podmínkou, že student provede řádné změny v textu a po domluvě s vedením KACH vloží do SIS novou verzi DP.

hodnocení, práce je: dobrá

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

18. května 2021

podpis oponenta/ky