

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra biofyziky a fyzikální chemie

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

Posudek oponenta bakalářské práce

Rok obhajoby: 2021

Autor/ka práce: **Martina Salvová**

Vedoucí práce: Ing. Vladimír Kubíček, CSc.

Konzultant/ka:

Oponent/ka: Doc. Ing. Alice Lázníčková, CSc.

Název práce: **HPLC stanovení rifampicinu**

Rozsah práce: 45 stran, 11 obrázků, 17 tabulek, 19 citací

Hodnocení práce:

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Předložená studie vznikla na základě požadavku kooperující katedry vyvinout HPLC metodu stanovení antibiotika rifampicinu s dostatečnou citlivostí pro práci s biologickým materiálem. V současné době je pro stanovení této látky používána vysoce citlivá hmotnostně-spektroskopická detekce, která je ovšem velmi drahá jak co do přístrojového vybavení, tak i díky vysokým nárokům na kvalitu použitých mobilních fází.

Studentka svoji studii postavila na práci autorů Mohana a Sharda, kteří pracovali na standardním HPLC zařízením s UV detekcí s klasickou RP-kolonou, a s využitím stávajícího vybavení katedry použila podobný systém s citlivější fluorescenční detekcí, kdy pracovala jak s čistými vodnými roztoky studované látky, tak v několika případech i s extrakty pomocí MTBE z biologických vzorků (buněčné roztoky). Pro vyhledání optimálních podmínek analýzy použila mobilní fáze s různými poměry koncentrací voda-acetonitril nebo acetátový pufr-acetonitril v izokratickém uspořádání. K dosažení vysoké citlivosti metody vyzkoušela i použití větších nástřikových objemů. Se zvětšujícím se objemem při nástřiku se ale mírně posouval retenční čas a hlavně docházelo k deformaci profilu píků. Ke zkrácení retenčních časů analytu vyvinula i metodu s gradientovou elucí, která byla následně použita ke stanovení kalibrační křivky analytu z vodných roztoků a k analýze čtyř biologických vzorků,

jejichž koncentraci studentka neznala, kdy porovnávala výsledky po jednoduché a dvojí extrakci a dvojí objemy nástříků. Při porovnání těchto výsledků se nedá provést rozumné hodnocení stanovených koncentrací, protože nebyla změřena kalibrační křivka analytu po extrakci z biologického materiálu. Nedá se říci, jestli na velkém rozptylu hodnot hraje roli malá stabilita látky nebo jde o jiný problém, například týkající se velikosti nástříku.

I když v této pilotní studii v rozsahu bakalářské práce nebylo dosaženo citlivosti potřebné ke stanovení rifampicinu v nízkých koncentracích v biologickém materiálu například pro farmakokinetické studie nebo pro stanovení koncentrace této látky v buněčných kulturách, byly provedeny základní pokusy pro vývoj citlivější metody stanovení rifampicinu v biologickém materiálu HPLC metodou s fluorescenční detekcí. Práce svým rozsahem i vypracováním odpovídá požadavkům kladeným na bakalářské práce.

Dotazy a připomínky:

Práce je napsaná velmi přehledně, v některých případech bych však před zkratku uvedla při prvním použití termínu i jeho celé znění.

1. Jak se dá vysvětlit z hlediska chromatografického procesu profil deformovaného píku při velkých objemech nástříků vysokých koncentrací tohoto analytu? Nezlepšil by se profil při snížení průtokové rychlosti mobilní fáze?
2. Jaké by se daly předpokládat výsledky analýzy při použití jiného typu kolony, například Chromolith Performance RP-18e, Atlantis T3 C18, atd. již použité v jiných publikacích?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Hradci Králové

24. května 2021

podpis oponenta/ky