

Téma diplomové práce	Kapillarelektrophoretische Bestimmung von Lactulose
Jméno studenta, studentky	Kristýna Holcová
Jméno oponenta	Radim Kučera, PharmDr., Ph.D.

II. Posudek oponenta

Kristýna Holcová předložila diplomovou práci (DP), kterou vypracovala v rámci programu ERASMUS na zahraničním pracovišti - Department für Medizinische/Pharmazeutische Chemie, Universität Wien, Rakousko.

Cílem DP bylo:

- vypracovat elektroforetickou metodu pro stanovení laktulózy v léčivém přípravku s využitím tvorby komplexů s měďnatými kationty.

Diplomová práce má rozsah 84 stran a je členěna obvyklým způsobem do 7 kapitol (teoretická část, cíl práce, experimentální část, výsledky a diskuse, závěr a použitá literatura – celkem 23 citací). Práce je dále doplněna abstrakty v českém a anglickém jazyce, seznamem zkratk a stručným životopisem autorky.

1. Teoretická část se zabývá:

Vlastnostmi laktulózy (chemické, farmakologické) a možnostmi stanovení této látky popsány v literatuře. Zvláštní pozornost je věnována analýze cukerných látek pomocí kapilární elektroforézy. Dále se poměrně podrobně autorka věnuje teoretickým základům elektroforetických metod, popisu instrumentace a jednotlivým modifikacím kapilární elektroforézy. Jsou zmíněny základní parametry pro validaci analytických metod.

2. Kapitulu experimentální část tvoří (mimo charakterizace přístroje, popisů přípravy elektrolytů etc.) řada elektroforeogramů, na kterých jsou uvedeny separace za různých experimentálních podmínek.

3. V kapitole výsledky a autorka stručně diskutuje vliv jednotlivých experimentálních podmínek na separaci laktulózy a dalších příbuzných cukrů. Jsou zde uvedeny i výsledky validace vyvinuté metody. Svá tvrzení dokládá elektroforeogramy, grafy a tabulkami.

4. V kapitole Závěr diplomant shrnuje výhody kapilární elektroforézy a shrnuje dosažené výsledky.

Celá práce je sepsána v německém jazyce s drobnými gramatickými chybami a minimem překlepů. Nicméně díky v textu chybějícím odkazům na většinu elektroforeogramů a jejich umístěním v metodické části je práce pro čtenáře méně přehledná.

K předložené práci mám několik poznámek:

Od 1.1.2011 je v platnosti Ph.Eur. 7; u některých látek chybí dodavatel či výrobce; Dle mého názoru není zapotřebí uvádět tolik elektroforeogramů a stačilo by slovní zhodnocení vlivu experimentálních podmínek, zvláště pokud nedochází k podstatným změnám v separaci. V experimentální části by měly být popsány finální podmínky separace (velikost kapiláry, elektrolyt, promývací cyklus, atd.).

U obrázků 41-45 je špatně uveden vzorec síranu měďnatého;

Dále bych se chtěl zeptat:

V práci uvádíte několik výhod kapilární elektroforézy oproti ostatním instrumenálním technikám (HPLC, GC) – jednou z výhod je i krátký čas analýzy – ve vašem případě trvala analýza laktulózy cca 30 minut – jak dlouho trvá analýza pomocí HPLC popř. GC?

V práci uvádíte koncentraci $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – vzhledem k mechanismu separace neměla být v práci uvedena koncentrace jinak?

Testovali jste 4mM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i u kapiláry 67/60cm?

Jak dlouhé jste používala kapiláry pro stanovení? v textu se objevují 37/30 cm; 47/40cm a 67/60cm

U některých elektroforeogramů uvádíte napětí u některých proud – má to nějaký význam? Proč se dělal test linearity i na krátké kapiláře, když se separace potom prováděla na delší? Proč byly 2 způsoby přípravy vzorků pro test linearity – jak jste přepočítávala naměřené hodnoty?

Můžete vysvětlit rozdíly ve složení testovaných směsí např. u obr.5 a 7?

Jaká je koncentrace manitolu ve směsi ostatních cukrů?

Jakou látku jste používala pro ověření migračního času EOF?

Je popis píků na obr.51 správný?

Můžete vysvětlit rozdíly v migračních časech laktulózy a IS na obr. 36,37 a obr. 41 a dalších?

Dále uvádíte, že po analýze je kapiláru nutno propláchnout – v práci postrádám promývací cykly před i po analýze.

Mohla byste prosím vysvětlit kapitolu 3.5 – „Dichtebestimmung“ a v souvislosti s tím tab. 6?

Str. 69 – uvádíte, že isopropanol a methanol v konc. 10 a 15% mají pozitivní efekt na separaci – jakou separaci máte na mysli a na základě čeho tak usuzujete?

Při stanovení vám vyšel obsah průměrně cca 67% máte pro to nějaké vysvětlení - nezkoušeli jste analyzovat přípravek, který by nebyl po době použitelnosti?

Závěrem konstatuji, že z předložené práce je patrné značné množství vykonané experimentální práce. Diplomantka se poměrně dobře vypořádala s daným tématem jak po jazykové stránce tak i po stránce věcné. Na druhé straně lepší organizace textu a možná podrobnější diskuse k vlivu experimentálních podmínek na stnovované látky by přispěla k vyšší kvalitě předkládané práce. Předpokládám, že část těchto nedostatků pramení z omezené možnosti v komunikaci s konzultantem práce na zahraničním pracovišti. Doporučuji k práci doplnit Errata. Nicméně výše uvedené připomínky nesnižují práci Kristýny Holcové, která splňuje požadavky kladené na tento typ kvalifikačních prací, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace **výborně**

V Hradci Králové dne 30.5.2011

Podpis oponenta diplomové práce