

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra Analytické chemie

Kandidát **Mgr. Barbora Honegrová**

Školitel **prof. RNDr. Petr Solich, CSc.**

Název disertační práce **Využití moderních separačních metod pro klinické účely**

Předložená práce se zabývá vývojem metod pro stanovení vitamínů A a E v biologickém materiálu pomocí kapalinové chromatografie.

V teoretickém úvodu jsou popsány bioanalytické přístupy ke stanovení analytů ze vzorku v komplexních maticích – zejména problematika úpravy vzorku před analýzou, separační chromatografické přístupy využívané v analýze a dále jsou zevrubně diskutovány principy validace bioanalytických metod. Cílové analyty jsou charakterizovány jak z chemického, tak funkčního hlediska.

Experimentální část obsahuje tři oddíly. Dva se zabývají vývojem chromatografických metod s cílem zjistit nejvhodnější podmínky pro stanovení vitamínu A a E v různých biologických materiálech – sérum, lipoproteinové vrstvy a mateřské mléko v klinickém hodnocení v rámci Fakultní nemocnice Hradec Králové. Třetí část pak sleduje stabilitu vitamínů v mateřském mléce a vliv pasterizace (62,5 °C po dobu 20 minut) a skladování na jejich hladiny.

1. Byla provedena studie vhodnosti různých typů UHPLC kolon (monolitická kolona II. generace, kolony plněny celoporézními a povrchově porézními částicemi) pro analýzu retinolu a  $\alpha$ -tokoferolu v séru a v mateřském mléce s důrazem na vhodnost pro rutinní stanovení velkého množství vzorků v rámci klinické laboratoře. Monolitická kolona druhé generace Chromolith HighResolution dosáhla nejlepší separační účinnosti ze všech porovnávaných kolon pro zamýšlený účel.
2. Byla provedena studie stability retinolu a  $\alpha$ -tokoferolu v mateřském mléce. Byl hodnocen vliv pasterizace a dlouhodobého skladování mateřského mléka za snížené teploty (-27 °C) na obsah liposolubilních vitamínů. Podařilo se prokázat, že ani tepelná úprava ani skladování po celou dobu trvanlivosti (12 týdnů) neovlivňuje obsah těchto esenciálních složek, což je důležité z důvodu zajištění správné výživy pro nedonošené a předčasně narozené novorozence.
3. Byla vyvinuta HPLC metoda pro simultánní stanovení retinolu,  $\alpha$ - a  $\gamma$ -tokoferolu metodou vnitřního standardu s fluorescenční detekcí pro hodnocení účinnosti aferézy u pacientů léčených na separátorovém centru FN HK. Nová metoda je vhodná pro stanovení cílových analytů v séru a lipoproteinových vrstvách. Krátký čas analýzy, 3 minuty, je výhodný pro série velkého počtu vzorků v klinické laboratoři.