

**Analytický protokol s výsledky**  
**Stabilitní analýza Plodnost booster pro muže.**

.....  
Vypracoval: Ing. Martin Szotkowski Ph.D.

V Brně dne: 03.11.2023

# 1. Úvod

Zadání od dodavatele Verra bylo analyzovat dodané vzorky Plodnost booster pro muže se zaměřením na provedení stabilitních testů. Jako podmínky byly na základě vzájemné domluvy zvoleny teplota 37 °C a test byl prováděn po dobu 21 dní. V rámci stabilitních testů budou prováděny analýzy termolabilních látek obsažených ve vzorku, tedy primárně obsažených vitamínů. Dále bude provedena analýza obsahu minerálů a obsahu karnitin tartrátu ve vzorku. Cílem je otestovat zda procesy tvrdnutí a hnědnutí vzorku jsou spojeny s degradací produktu.

Dodané vzorky byly před jednotlivými analýzami uskladněny v mrazu při teplotě -15 °C pro zabezpečení stability vzorku.

## 2. Postup laboratorního stanovení

Stabilitní testy budou provedeny za výše popsaných podmínek 37°C po dobu 3 týdnů. Vzorky byly odebrány v intervalech Po – St – Pa. Přičemž pro simulaci běžného používání byla krabička každá den otevřena na dobu 30 sekund a mírně protřepána. Pro analýzu byly odebrány vždy 4 tobolky, jejichž obsah byl zhomogenizován a následně podroben sérií analýz dle předchozí domluvy:

Jednotlivé analyty byly analyzovány následovně:

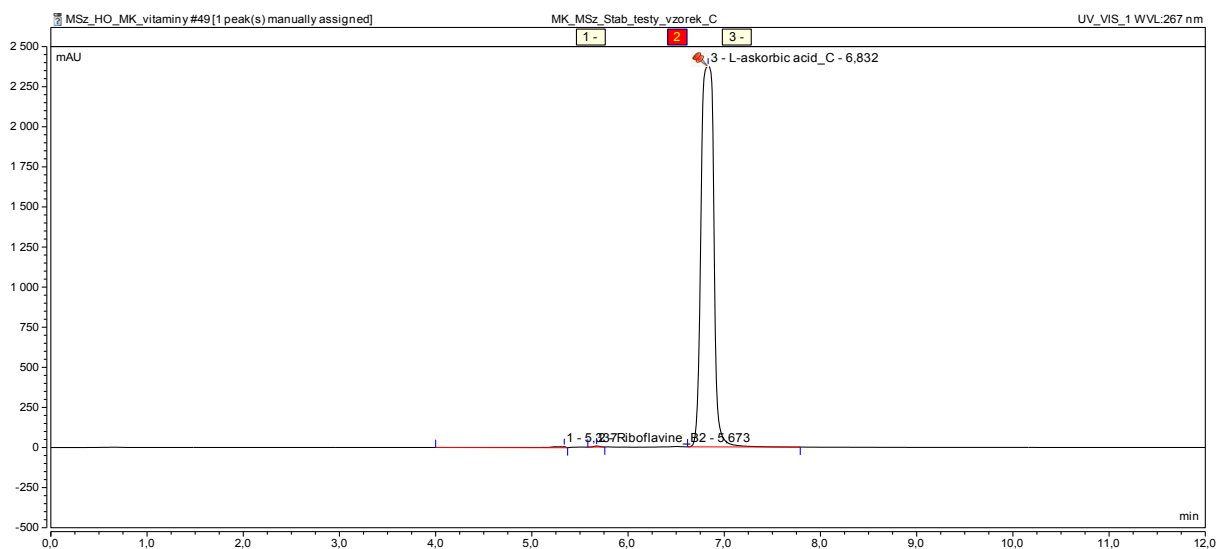
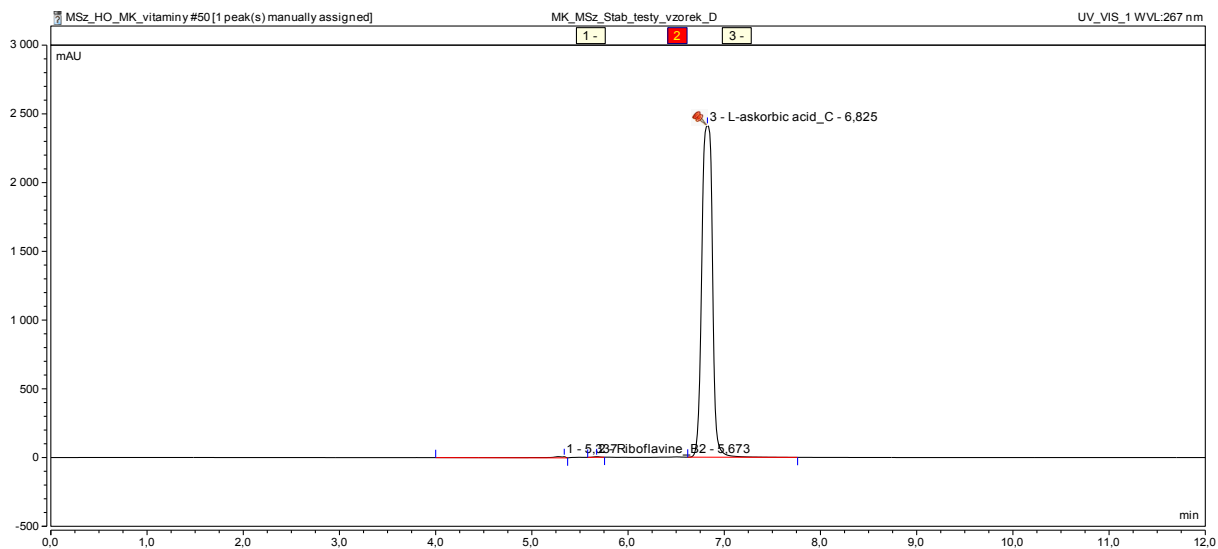
1. Minerály – ICP-OES – optická emisní spektrometrie
  - a. Sestava Horiba Ultima 2
  - b. Vzorek 20 mg, rozklad v kyselině dusičné
2. Karnitin tartrát a L-arginin – HPLC-DAD-RI – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s refraktometrickým detektorem.
  - a. Kolona Luna Omega Sugar NH2 250 mm x 2,1 mm x 3,0 µm
  - b. Sestava Dionex UltiMate 3000 s detektorem RefractoMax 512
  - c. 20 mg vzorku rozpuštěno ve 2 ml 50mM roztoku octanu sodného
3. Vitaminy C a B – HPLC-DAD – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole
  - a. Kolona Luna Omega Sugar NH2 250 mm x 2,1 mm x 3,0 µm
  - b. Sestava Dionex UltiMate 3000 s detektorem Dionex 3000 DAD
  - c. 30 mg vzorku rozpuštěno ve 2 ml 1% roztoku kyseliny ortho-fosforečné
4. Vitaminy E a D<sub>2</sub>, Koenzym Q<sub>10</sub> a betakaroten– HPLC-DAD – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole
  - a. Kolona Kinetex C18-EVO, 150 mm x 4,6 mm x 2,6 µm
  - b. Sestava Dionex UltiMate 3000 s detektorem řady Vanquish
  - c. 25 mg extrahováno metodou dle Folsche

## 3. Výsledky

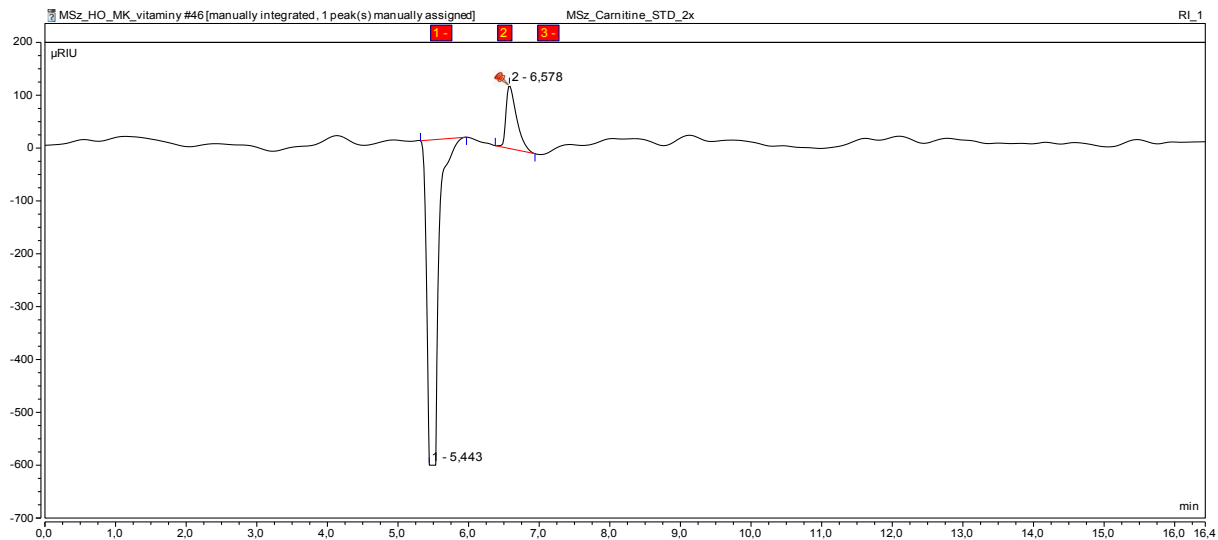
V této kapitole jsou uvedeny výsledky provedených analýz. Před započítáním stabilitních testů byly provedena rekalibrace všech měřených molekul pomocí komerčně zakoupených standartů od dodavatele Merck.

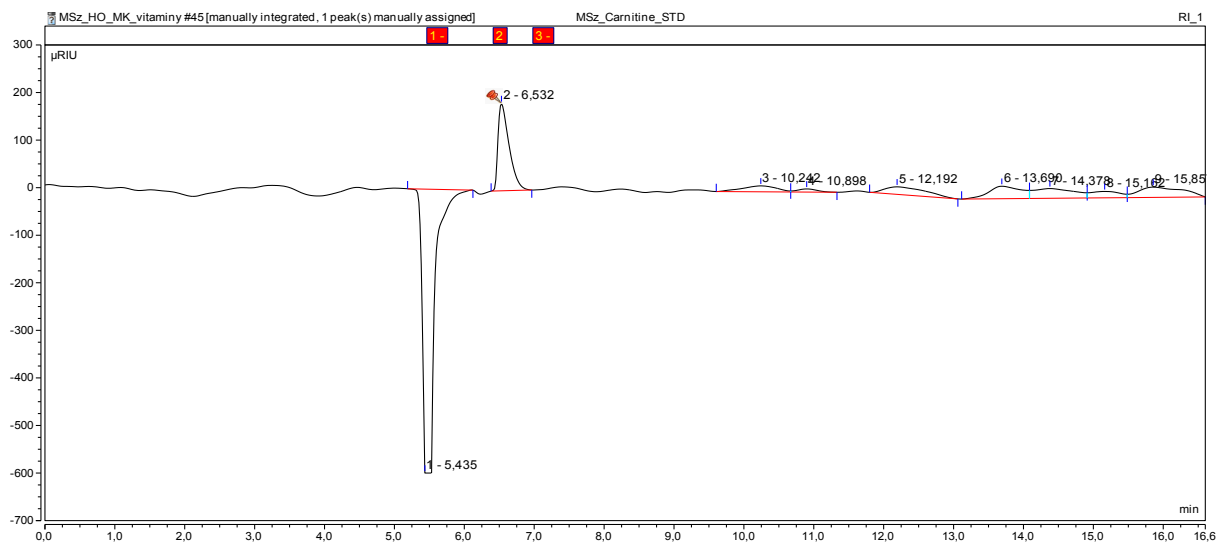
### 3.1. Ukázka naměřených spekter vzorků a výpočet obsahu měřených látek

V následující kapitole jsou uvedeny příklady naměřených výsledků (chromatografická spektra)

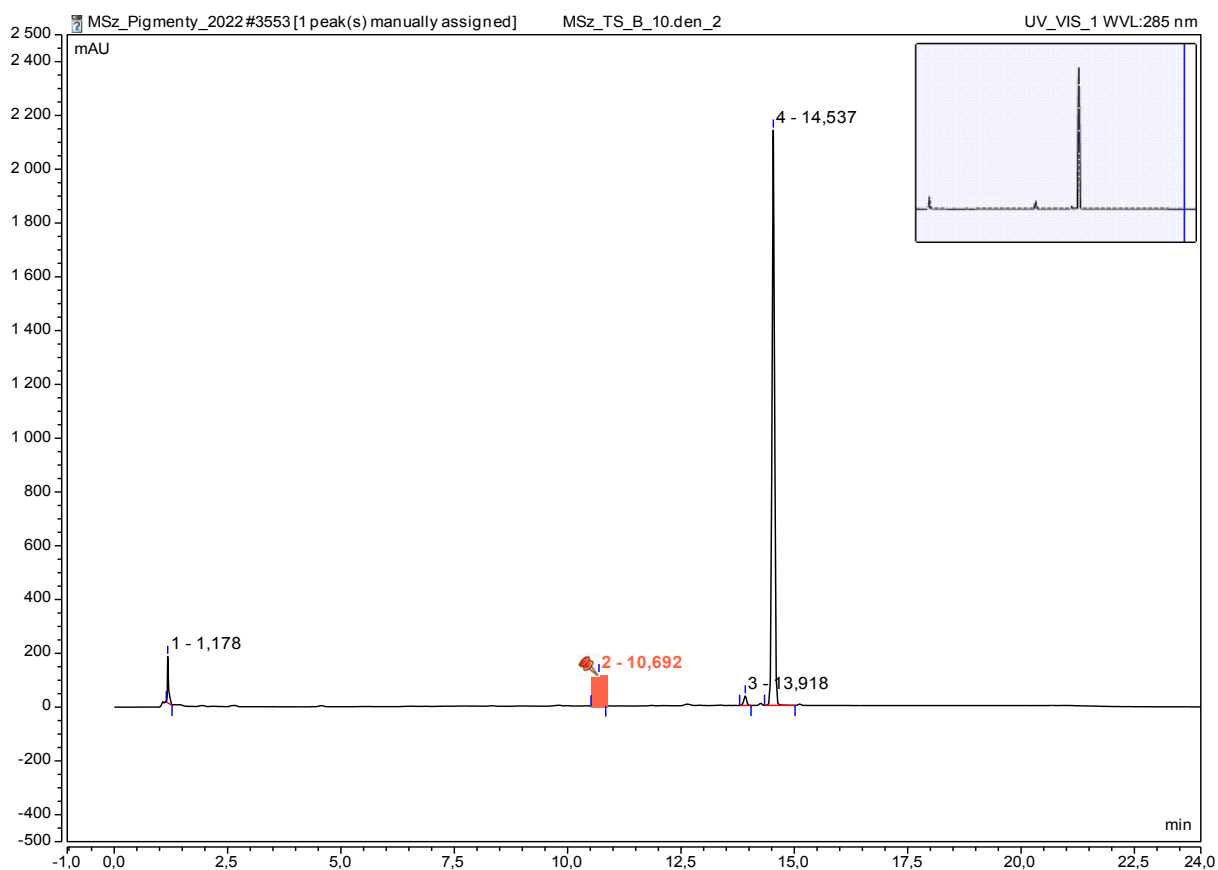


### 1. Chromatogramy analýzy HPLC-DAD vitamínu C ve vzorku – ukázka

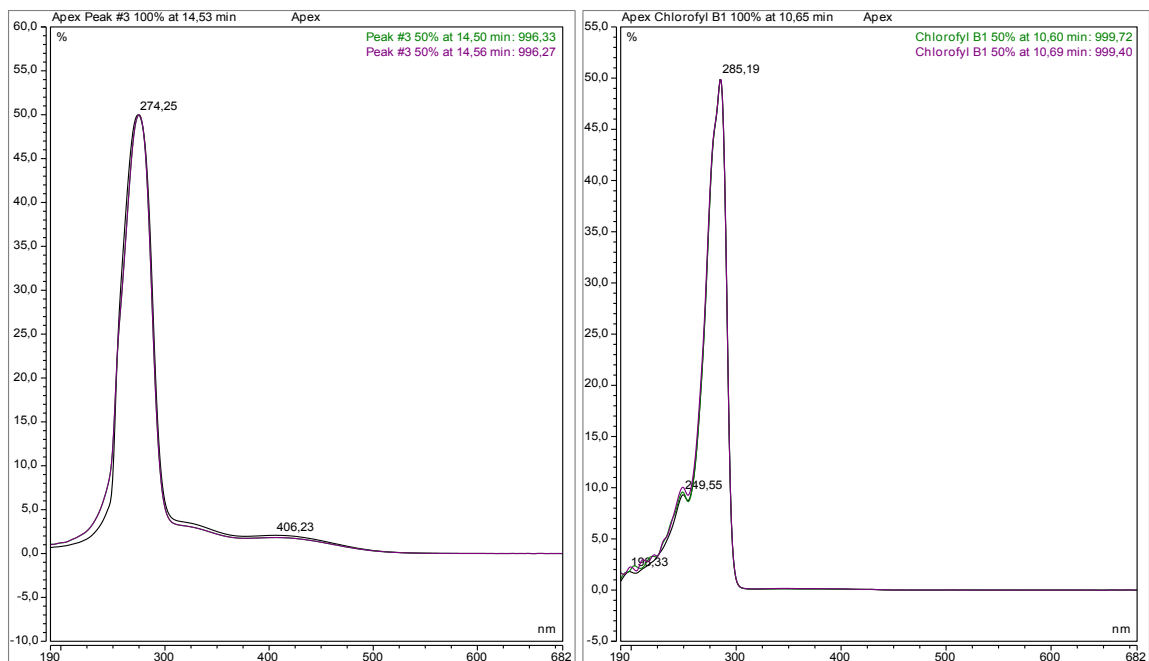




2. Chromatogram analýzy HPLC-DAD-RI karnitin tartrátu ve vzorku – ukázka. Carnitine je pík označený číslem 2.



3. Chromatogram analýzy HPLC-DAD lipofilních vitamínů ve vzorku – ukázka. Pík č. 2 je Ergocalciferol D2, Pík č. 4 je Alfa-tokoferol – vitamín E



#### 4. Absorbční spektra Tokoferolu (Vit E) a Ergokalciferolu (D2)

Příklad výpočtu Vit E

Kalibrační křivka pro standart tokoferolu  $y = 0,669x + 0,3371$

Výpočet: Plocha píku vzorku 8,39854

$$8,39854 = 0,669x + 0,3371$$

$$8,06145 = 0,669x$$

$$x = 12,05 \text{ mg/ml}$$

Další výsledky a výpočty se provádějí stejně. V případě potřeby mohu zaslat použité výpočtové excely.

### 3.2. Souhrné výsledky a komentáře

Tabulka č.2 Souhrné výsledky stabilitních testů.

		0. den	2. den	4.den	6. den	8. den	10. den	12. den	14.	21. den
L-karnitin báze	mg	1462,71	1445,20	1451,35	1438,25	1467,28	1472,05	1453,28	1448,20	1437,88
L-Arginin	mg	487,21	472,37	480,1	475,28	450,3	467,81	472,48	481,4	477,09
Betakarotem	mg	4,40	4,44	4,39	4,41	4,35	4,20	4,18	4,31	4,28
Koenzym Q10	mg	9,88	9,91	9,82	9,78	9,54	9,67	9,27	9,75	9,68
Vitamin E tokoferol	mg	12,11	12,05	11,89	12,03	12,11	11,87	11,92	11,78	11,64
Vitamin D2 -ergokalciferol	µg	24,63	24,70	24,81	24,61	23,98	24,87	24,63	24,71	24,61
Kyselina listová	µg	197,23	194,87	195,8	191,23	189,7	192,31	190,01	187,5	188,32
Kyselina askorbová	mg	492,30	487,31	480,8	484,23	501,2	490,24	483,14	485,3	478,32

Zinek	mg	9,98	-	-	-	-	-	-	10,02	9,94
Selen	µg	68,1	-	-	-	-	-	-	64,8	67,1

Pozn: Menší propady v obsahu látek neznamenají, že dochází k rozkladu a ztrátě daného vitamínu, suplementu. Je to v drtivé většině případů způsobenou chybou měření, která je dána chybou/ odchylkou měření přístroje, při pipetování a extrakci vzorku atd.

#### 4. Závěr

Z výsledků je patrné, že dodaný produkt, Booster pro muže, je velmi stabilní a obsah deklarovaných látek, které byly vybrány pro analýzu je ve vzorku obsažen v deklarovaných množstvích. Tvorba hrudek či mírné zhnědnutí je dáno charakterem vzorku. Lyofylizáty mají obecně tendenci se při procesu lyofylizace i poté zpětně agregovat. Množství vody/ vlhkosti, které mohly nasát je však marginální a na stabilitu a hlavně funkčnost suplementu nemá žádný vliv. Kapsle slouží jako účinná bariéra pro průniku vody. Zároveň materiál kapsle – upravená celulosa má obecně strukturu vodu odpuzující. V případě klasické želatinové kapsle by sorbce byla mírně vyšší.