

¿ES POSIBLE DETECTAR Y CUANTIFICAR LAS VITAMINAS HIDROSOLUBLES (B1, B6, B9, B12, C) EN FLUIDOS BIOLÓGICOS POR MÉTODOS CROMATROGRÁFICOS ?



TRABAJO FIN DE GRADO - CONVOCATORIA FEBRERO 2020

CARMEN DIAZ ENRIQUEZ

Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

INTRODUCCIÓN

Las vitaminas son sustancias orgánicas complejas, biológicamente activas, forman parte de los micronutrientes y son fundamentales para el buen funcionamiento del cuerpo humano. La **vitamina B1** está implicado en la conducción de los impulsos nerviosos y en el metabolismo del oxígeno. La **vitamina B6** favorece la formación de los neurotransmisores: dopamina, norepinefrina, GABA y acetilcolina, y ayuda en la absorción de la B12. La **vitamina B9** favorece la formación de glóbulos rojos, facilita el transporte del oxígeno. La **vitamina B12** contribuye en la formación de las células y de los ácidos grasos. La **vitamina C** participa en reacciones de oxidación y transferencia de oxígeno, absorción de hierro, protege del estrés oxidativo y de los procesos degenerativos.

OBJETIVOS

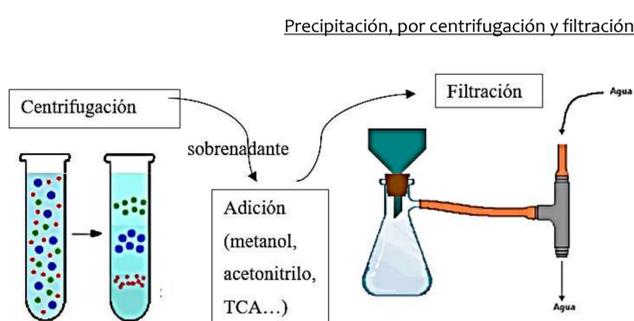
1. Revisión bibliográfica de estudios realizados sobre muestras biológicas para la determinación de vitaminas hidrosolubles.
2. Análisis cromatográfico de vitaminas hidrosolubles en plasma.

MATERIALES Y MÉTODOS

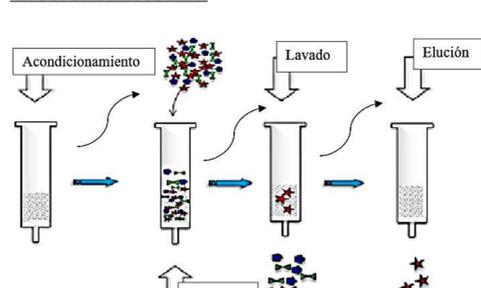
Se ha realizado una búsqueda bibliográfica de los métodos analíticos utilizados para la determinación de vitaminas hidrosolubles existiendo diversas variaciones para cada uno. Se han consultado artículos recogidos en bases de datos como PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, SciELO, Google Patents, Tesis Doctorales en Red y en distintas páginas webs como FAO.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

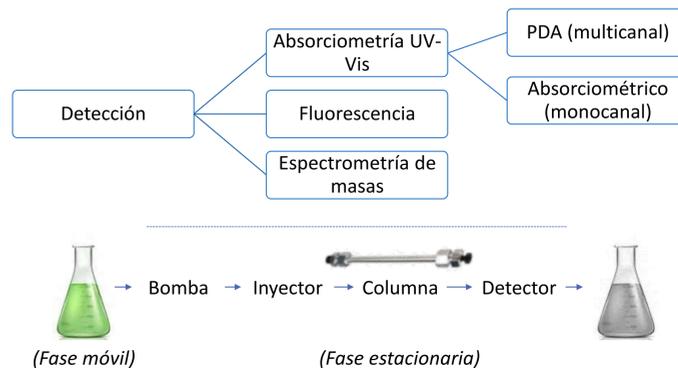
PRETRATAMIENTO



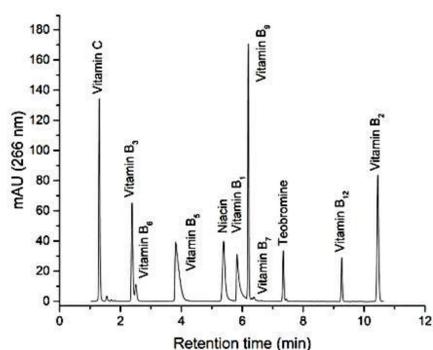
Extracción en fase sólida



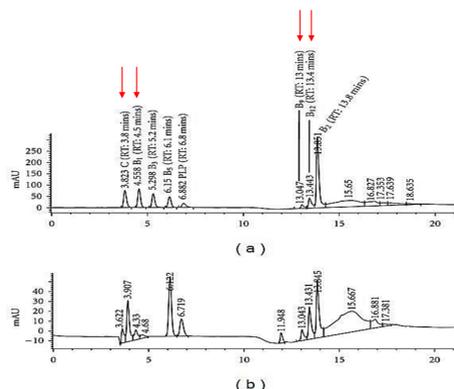
MÉTODOS CROMATROGRÁFICOS



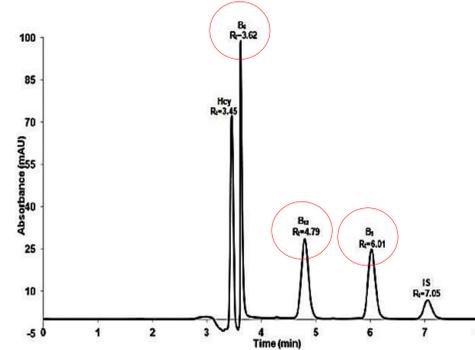
ESTUDIOS REVISADOS



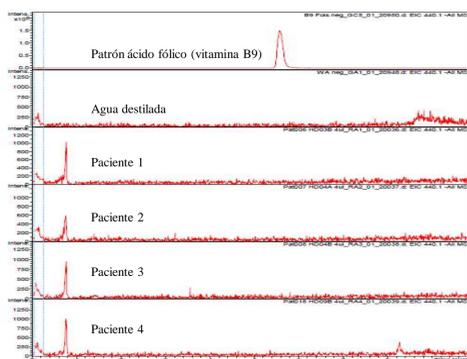
Cromatograma de la separación de vitaminas hidrosolubles en plasma humano. FE Reprisil- C18, FM HK2PO4: metanol 97:3, caudal 0,9 mL/min, T=35 °C, pH = 7,0, detección a $\lambda = 266$ nm.



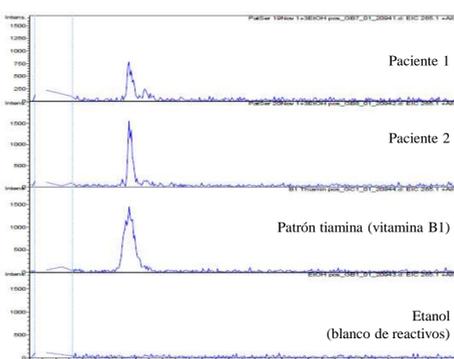
Cromatogramas representativos de disolución estándar (a) y muestras de plasma (b). FE Reprisil- C18, FM TFA 0,01%: metanol 100% (isocrático) 95:5, 2:98, 95:5, caudal 0,2 mL/min, T=30°C, pH = 2,3, detección a $\lambda = 280$ nm.



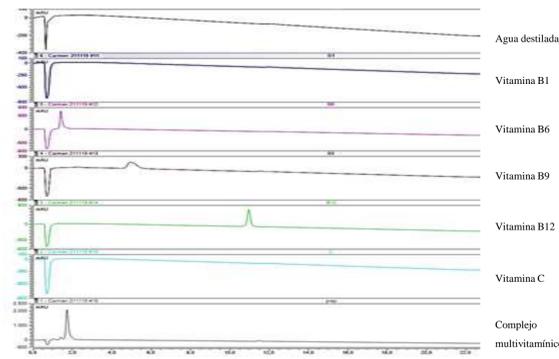
Cromatograma obtenido en las condiciones experimentales: FE Reprisil-C18, FM metanol: ac.1-heptanosulfónico (33:67) con trietilamina 0,05%, caudal 0,5 mL/min, T = 28 °C, pH=2,3, detección a $\lambda = 280$ nm.



Separación de ácido fólico (B9) por UHPLC- MS. Condiciones de separación: FE Reprisil- C18, FM metanol: tampón formiato (isocrático), caudal 0,5 mL/min, T = 40°C, pH = 5, detección a $\lambda = 254$ nm



Separación de la tiamina (B1) por UHPLC-MS. Condiciones de separación: FE Reprisil- C18, FM metanol: tampón formiato (isocrático), caudal 0,5 mL/min, T = 40°C, pH = 5, detección a $\lambda = 254$ nm.



Detección de tiamina, piridoxina, ácido fólico, cianocobalamina y ácido ascórbico por UHPLC- UV

CONCLUSIONES

Tras la lectura de distintas publicaciones y la realización del pequeño experimento, puedo concluir que es viable el análisis de vitaminas en plasma de forma rápida y fiable mediante alguno de los métodos explicados anteriormente, pero siempre con un pretratamiento previo. El uso del HPLC acoplado a MS o UV supone un método selectivo, robusto y eficiente en el tiempo de análisis para la detección y cuantificación simultánea de vitaminas hidrosolubles en matrices biológicas complejas como el plasma y la orina. Estos métodos se pueden utilizar en ensayos clínicos de rutina donde se requiere un análisis multivitamínico.

BIBLIOGRAFIA

- Giorgi MG, Howland K, Martin C, Bonner AB. A Novel HPLC Method for the concurrent analysis and quantitation of seven water – soluble vitamins in biological fluids (plasma and urine): A validation study and application, Sc World J.2012;2(12):35972.
- Shaik MM, Gan SH. Rapid resolution liquid chromatography method development and validation for simultaneous determination of homocysteine, vitamins B(6), B(9), and B(12) in human serum. Indian J Pharmacol. 2013;45(2):159–167.
- Alcántara Durán, Jaime. Optimización de un método para la determinación de una mezcla de compuestos orgánicos en suplementos alimenticios mediante HPLC. Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales. 2015.
- Ángeles Carbajal Azcona, Departamento de Nutrición Facultad de Farmacia Universidad Complutense de Madrid. Manual de nutrición y dietética. Capítulo 11. 2013.
- Małgorza Szczuko, Rafał Migrata, Arleta Drozd, Marcin Banaszczak, Dominika Maciejewska, Dariusz Chlubek, Ewa Stachowska. Role of water soluble vitamins in the reduction diet of an amateur sportsman. Central European Journal of Biology. 2018.
- Zhang Y, Zhou WE, Yan JQ, et al. A Review of the Extraction and Determination Methods of Thirteen Essential Vitamins to the Human Body: An Update from 2010. Molecules. 2018;23(6):1484. Published 2018 Jun 19.