

*Jakub Czaja, Kamil Knyszewski, Natalia Martyniuk, Anna Michalska,
Piotr Szefer, Anna Lebiedzińska*

ZAWARTOŚĆ WITAMINY B₆ W WYBRANYCH SUPLEMENTACH DIETY I PREPARATACH LECZNICZYCH

Katedra i Zakład Bromatologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. *Piotr Szefer*

Celem pracy było oznaczenie zawartości witaminy B₆ w wybranych produktach leczniczych i suplementach diety. Zaadaptowana metoda HPLC z detekcją UV/Vis może być stosowana do oznaczania zawartości witaminy B₆ w preparatach farmaceutycznych i suplementach diety.

Hasła kluczowe: witamina B₆, HPLC, suplementy diety.

Keywords: vitamin B₆, HPLC, dietary supplements.

Witaminy z grupy B są koenzymami i kofaktorami przemian metabolicznych zachodzących w organizmie. Przewlekłe niedobory witamin grupy B mogą być jednymi z czynników ryzyka rozwoju chorób metabolicznych (1, 2).

Ze względu na rolę witaminy B₆ w przemianach homocysteiny jej niedobory można wiązać ze zwiększonym ryzykiem chorób układu krążenia, szczególnie przy jednoczesnej niedostatecznej podaży folianów i witaminy B₁₂. Homocysteina jest uważana za czynnik ryzyka w rozwoju chorób układu krążenia, cukrzycy, a także niektórych nowotworów, poprzez działanie prooksydacyjne na ścianę naczyń krwionośnych, nasilając proliferację endotelium, utlenianie lipoprotein o niskiej gęstości i zwiększając agregację trombocytów, dając początek miażdżycy (3–5).

W badaniach epidemiologicznych wykazano, że jawne niedobory witaminy B₆ są rzadko spotykane, natomiast łagodne niedobory mogą dotyczyć nawet 50% populacji europejskiej (6). Wszystkie formy omawianej witaminy są wrażliwe na działanie światła, promieniowania UV oraz ogrzewania, szczególnie w roztworach obojętnych i alkalicznych. Za najbardziej termostabilną uznaje się pirydoksyne, którą stosuje się w preparatach leczniczych i suplementach diety (7, 8).

Celem pracy było oznaczenie zawartości witaminy B₆ w wybranych suplementach diety i produktach leczniczych przy zastosowaniu metody HPLC z detekcją UV.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem doświadczalnym było 8 preparatów, w tym 6 suplementów diety i 2 produkty lecznicze. Produkty lecznicze były jednoskładnikowe „*Vitaminum B₆*”

w tabletkach i ampułkach, a suplementy diety oprócz witaminy B₆ zawierały inne witaminy i składniki mineralne.

W przypadku tabletek odważono od 1 do 7 tabletek/drażetek (zależnie od masy pojedynczej tabletki), dokładnie je sproszkowano i odważono trzy równoległe naważki o masie 0,1 g, które rozpuszczono w wodzie dejonizowanej. Preparat *Vitaminum B₆* ze względu na wysoką zawartość pirydoksyny w tabletkach (50 mg) rozcieńczono dwukrotnie do objętości 100 cm³. Przygotowane roztwory przesączono przez sączki bibułowe MN 615¼ (Ø 110 mm) i odwirowano. Inny schemat postępowania zastosowano dla proszków; zważono zawartość dwóch saszetek badanych preparatów, a następnie odważono trzy 0,5 g naważki. Rozcieńczone roztwory przesączono przy użyciu filtrów Titan 2 HPLC. Łącznie przygotowano 24 próbki badanych preparatów.

Do oznaczenia zawartości witaminy B₆ w suplementach diety i produktach leczniczych dokonano adaptacji metody z wykorzystaniem techniki HPLC z detekcją UV (8, 9).

Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu UltiMate 3000 (Dionex, ESA) z detektorem Photodiode Array Detector UV, z automatycznym podajnikiem próbek. Zadowalający rozdział uzyskano stosując fazę ruchomą: metanol, woda (20:80, v/v), o pH 3,5 w przebiegu izokratycznym przy prędkości przepływu 0,8 mL/min. Zastosowano kolumnę Hypersil Gold C18 5 µm (250 × 4,6 mm), natryk 20 µL. Warunki detekcji: UV, λ=290 nm. Dokładność i precyzję zastosowanej metody sprawdzono poprzez oznaczenie zawartości witaminy B₆ w badanych, wzbogaconych próbkach. Średni odzysk witaminy B₆ wynosił od 98,49 do 106,90%. Uzyskano satysfakcjonującą dokładność i precyzję pomiarów analitycznych.

WYNIKI

Zawartość witaminy B₆ w analizowanych preparatach leczniczych i suplementach diety przedstawiono w tabeli I.

Deklarowana zawartość witaminy B₆ w badanych preparatach leczniczych i suplementach była zróżnicowana; od 0,72 mg do 50 mg pirydoksyny w 1 tabletkach/saszetce/ampułce. Oznaczona zawartość pirydoksyny w badanych próbkach w stosunku do zawartości deklarowanej mieściła się w granicach od 95,8% do 126,3% (tabela I). W preparatach farmaceutycznych oznaczono średnio 47,98 i 47,92 mg witaminy B₆, co stanowiło 96% zawartości deklarowanej przez producenta. Natomiast w suplementach diety zawartość oznaczanej witaminy we wszystkich próbkach była wyższa w stosunku do deklaracji producenta; wynosiła od 101,6 do 126,3% w stosunku do ilości deklarowanej.

Dzięki suplementacji diety konsument może wzbogacić swoją dietę witaminami, związkami mineralnymi, czyli wyrównać ewentualne niedobory pokarmowe. Niedobory witaminy B₆ mogą prowadzić do stłuszczenia wątroby przez kumulację trójglicerydów i estrów cholesterolu, spadku odporności, wzmożonego odkładania szczawianu wapnia w nerkach, zwiększonego uszkodzenia wątroby przy współistniejących chorobach metabolicznych np. cukrzycy. Ponadto, niedobór pirydoksyny może być jedną z przyczyn nadmiaru homocysteiny w przypadku stosowania diety wysokobiałkowej bogatej w metioninę. Witamina B₆ bierze udział w usuwaniu nadmiarów homocysteiny na drodze transsulfuracji (10–12).

Tabela I. Zawartość witaminy B₆ w produktach leczniczych i suplementach diety w mg/100 g (średnia zawartość ± odchylenie standardowe i zakres)Table I. The concentrations of B₆ vitamins in dietary supplements and therapeutic formulations in mg/100 g (means ± SD and range)

Nazwa preparatu	Tabletka[g] ampułka [mL]	Wielkość naważki [g] lub [mL]	Oznaczona zawartość witaminy B ₆ [mg]	Deklarowana zawartość witaminy B ₆ [mg]	Stosunek zawartości oznaczonej do deklarowanej [%]
Produkty lecznicze					
Vitaminum B ₆ (r-r)	2,0	1,0	47,98 ± 0,38 (47,48 – 48,36)	50,0	96,0
Vitaminum B ₆ (tabl.)	0,0998	0,1	47,92 ± 0,45 (47,20 – 48,42)	50,0	95,9
Suplementy diety					
Multivitaminum Forte	0,1931	0,1	0,79 ± 0,01 (0,77 – 0,80)	0,72	109,4
Falvit	1,3156	0,1	2,49 ± 0,07 (0,23 – 0,26)	2,0	124,5
Feminatal N	0,7864	0,1	2,23 ± 0,07 (2,13 – 2,31)	2,2	101,6
Vita-Femin	1,5077	0,1	2,53 ± 0,03 (0,24 – 0,26)	2,0	126,3
Vibovit Junior	1,9550	1,0	0,78 ± 0,03 (0,75 – 0,81)	0,7	111,8
Visolvit Junior	7,3697	0,5	1,23 ± 0,03 (1,11 – 1,27)	1,0	122,6

Zapotrzebowanie na witaminę B₆ zależne jest od podaży białka, dlatego osoby spożywające dietę bogato-białkową powinny zwracać uwagę na zawartość tej witaminy w spożywanych posiłkach. Osoby w podeszłym wieku, szczególnie powyżej 75 lat, a zwłaszcza chorzy na miażdżycę narażeni są na niedobory witaminy B₆, które mogą się objawiać zaburzeniami metabolicznymi prowadzącymi do szeregu chorób przewlekłych (1, 2, 12, 13).

Nadmierna podaż witamin również nie sprzyja zachowaniu zdrowia, dlatego, tak ważne jest opracowanie nowoczesnych metod analitycznych pozwalających na szybkie i dokładne określenie zawartości witamin w produktach spożywczych i w suplementach diety (1).

Rozwój nauki o żywności i związane z nim nowe technologie wytwarzania oraz pojawienie się nowych produktów, takich jak suplementy diety, to czynniki generujące rozwój nowoczesnych metod instrumentalnych stosowanych w analizie żywności.

WNIOSKI

1. Zaadaptowana metoda HPLC może być stosowana do rutynowych oznaczeń witaminy B₆ w jedno- i wieloskładnikowych preparatach.

2. Zawartość witaminy B₆ w badanych produktach leczniczych była zbliżona do deklaracji producenta (96%), natomiast w 5 rodzajach wieloskładnikowych suplementów diety była wyższa w stosunku do deklarowanej przez producenta, wynosiła od 109,4 do 126,3%.

J. Czaja, N. Martyniuk, A. Michalska, K. Knyszewski,
P. Szefer, A. Lebidzińska

THE CONTENT OF VITAMIN B₆ IN SELECTED DIETARY SUPPLEMENTS
AND THERAPEUTIC FORMULATIONS

Summary

The proposed separation and detection procedures were successfully applied for evaluation of the vitamin B₆ in dietary supplements and therapeutic formulations. The results of our investigations have demonstrated that there are differences in the determined vitamin B₆ content and the one declared by the dietary supplement producers.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bulhak-Jachymczyk B.*: Witaminy, [w:] Normy żywieniowe człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych, [red.] *Jarosz M., Bulhak-Jachymczyk B.*: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2008; 172-232. – 2. *GroeberUwe.*: Mikroskładniki odżywcze. Wyd. MedPharm, Wrocław, 2010; 48-51. – 3. *Williams K.T., Schalinske K.L.*: Homocysteine metabolism and its relation to health and disease, *Biofactors*, 2010; 36(1): 19-24. – 4. *Bogotowska-Stieblach A.*: Otyłość a choroby układu sercowo-naczyniowego, *Postępy Nauk Medycznych*, t. XXVI, nr 5B, 2013. – 5. *Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB.*: Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Advances in nutrition* 2012, 3: 21-38. – 6. *Ahmad I., Mirza T., Qadeer K., Nazim U., Vaid F.*: Vitamin B₆: deficiency diseases and methods of analysis, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2013; 26(5): 1057-1069. – 7. *Różańska D., Iłow R., Regulska-Iłow B.*: Wpływ procesów kulinarnych na zawartość wybranych witamin w żywności. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 2013; 46, (3), 250-257. – 8. *Bui L.T., Small D.M.*: The stability of pyridoxine hydrochloride used as a fortificant in Asian wheat flour noodles, *Food Chemistry*, 2012; 130: 841-846. – 9. *Kall M.A.*: Determination of total vitamin B₆ in foods by isocratic HPLC: a comparison with microbiological analysis, *Food Chemistry*, 2003; 82: 315-327. – 10. *Kozłowski P.M., Kamachi T., Kumar M., Yoshizawa K.*: Reductive elimination pathway for homocysteine to methionine conversion in cobalamin-dependent methionine synthase, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 2012; 17: 611-619.
11. *Mayengbam S., Raposo S., Aliani M., House J.D.*: Oral exposure to the anti-pyridoxine compound 1-amino d-proline further perturbs homocysteine metabolism through the transsulfuration pathway in moderately vitamin B₆ deficient rats, *J. Nutr. Biochem.*, 2015; 26: 241-249. – 12. *Ślusarska B.*: Zachowania zdrowotne w prewencji ryzyka sercowo-naczyniowego, *Folia Cardiologica Excerpta* 2012, tom 7, 1, 51-59. – 13. *Williams K.T., Schalinske K.L.*: Homocysteine metabolism and its relation to health and disease, *Biofactors*, 2010; 36(1): 19-24.

Adres: 80-216 Gdańsk, Al. Gen. Hallera 107