

Zbigniew Marzec, Agnieszka Szalast-Pietrzak, Lucyna Wyszogrodzka-Koma,
Regina Kasperek¹, Anna Frąk

WPLYW PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH NA BIODOSTĘPNOŚĆ WAPNIA I MAGNEZU ZAWARTYCH W SUPLEMENTACH DIETY W WARUNKACH TRAWIENIA *IN VITRO*

Katedra i Zakład Żywności i Żywienia Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Kierownik: dr hab. Z. Marzec

¹Katedra i Zakład Farmacji Stosowanej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Celem prowadzonych badań była ocena wpływu obecności produktów spożywczych (mleka, chleba) i diety na potencjalną biodostępność Ca i Mg z suplementów diety w warunkach dwuetapowego enzymatycznego trawienia in vitro z wykorzystaniem celulozowych membran dializacyjnych. Zawartość Ca i Mg oznaczano metodą Atomowej Spektrometrii Absorpcyjnej. Zaobserwowano, iż zarówno forma, skład, jak i obecność produktów spożywczych wpływa na biodostępność składników mineralnych. Najlepsza biodostępność występowała dla niemal każdego suplementu diety w modelu z wodą i była zróżnicowana dla mleka, chleba i diety. Procent biodostępności magnezu z suplementów diety był wyższy w porównaniu do wapnia.

Hasła kluczowe: wapń, magnez, biodostępność, trawienie *in vitro*

Key words: calcium, magnesium, bioavailability, in vitro digestion

Rynek farmaceutyczny proponuje aktualnie bardzo szeroki asortyment suplementów diety i jest to grupa produktów dostępnych bez recepty, odnotowująca ciągły wzrost sprzedaży. Pacjenci sięgają po suplementy w celu uzupełnienia codziennej diety w składniki witaminowo – mineralne (1,2). W aspekcie żywieniowym zagadnienie biodostępności makro- i mikroelementów jest kluczowe zarówno w odniesieniu do spożywanej diety jak i do stosowanej suplementacji. Zmiennymi, które wpływają na różnice w procesie biodostępności są składniki żywniowe (3,4), a w odniesieniu do suplementów ich postać farmaceutyczna, skład produktu oraz rodzaj związku chemicznego w jakim występuje dany pierwiastek. Biodostępność powinna być oceniana metodami badawczymi z udziałem ludzi (*in vivo*), ale są one bardzo kosztowne, długotrwałe i skomplikowane, alternatywą są badania *in vitro*, które są tańsze, szybsze i pozwalają porównać różne grupy produktów i ich wpływ na biodostępność składników mineralnych. Jak potwierdzają badania porównawcze obu metod, wyniki uzyskiwane w badaniach *in vivo* wykazują dużą korelację z badaniami *in vitro* (5,6). Celem niniejszej pracy była ocena względnej biodostępności składników mineralnych (Mg, Ca) z 9 dostępnych na rynku suplementów diety metodą symulowanego enzymatycznego trawienia

in vitro, w następujących modelach: suplement + woda, suplement + homogenat diety, suplement + mleko oraz suplement + chleb.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiło 9 suplementów diety, dostępnych aktualnie na rynku aptecznym, zawierających w swoim składzie minerały oraz minerały w połączeniu z witaminami. Wybrano trzy suplementy diety zawierające tylko magnez (Blumag Jedyny, Chela-Mag, Magnum Junior), cztery produkty witaminowo – mineralne (Complex, Falvit, Vigor, Wapń-Magnez-D₃), jeden suplement mineralny zawierający wapń i magnez (Wapń-Magnez-Cynk) oraz jeden produkt zawierający tylko wapń (Calcium). Produkty te były zróżnicowane pod względem postaci farmaceutycznej (tabletki, kapsułki, tabletki musujące, saszetki z proszkiem do rozpuszczania), oraz formy chemicznej składnika mineralnego. W celu określenia potencjalnej biodostępności Ca i Mg z suplementów diety w obecności produktów spożywczych, próbki poddano trawieniu enzymatycznemu w warunkach *in vitro* (3,6,7) pepsyną (trawienie żołądkowe) oraz pankreatyną (jelito cienkie). Ilość pierwiastka dyfundującego przez membranę celulozową do dializatu w fazie trawienia jelitowego przyjęto za jego względną biodostępność. Badania prowadzono w następujących układach: suplement + woda, suplement + homogenat diety, suplement + mleko oraz suplement + chleb. W modelach badawczych wykorzystano: uśrednioną próbę pięciodniowej całodziennej diety pobranej z Domu Pomocy Społecznej w Lublinie, mleko 1,5 % UHT firmy Mlekovita, chleb „Regionalny na naturalnym zakwasie” przedsiębiorstwa piekarskiego z Lublina (skład: mąka pszenna, mąka żytnia, woda, drożdże, sól). W poszczególnych układach badawczych z mlekiem, chlebem i homogenatem diety oraz wodą, odważano suplement w ilości ¼ jednorazowej dawki (np. tabletki) i odpowiednio 25g mleka, 15g chleba, 25g homogenatu diety i uzupełniano wodą destylowaną do 50g. Następnie doprowadzano odczyn mieszaniny do pH 2,0 za pomocą roztworu 2 mol/dm³ HCl oraz poddano działaniu pepsyny w ilości 2cm³ 10% pepsyny w 0,1 mol/dm³ HCl na badaną próbę. Próbki umieszczano w termostatowanej łaźni wodnej o temperaturze 37°C i wytrząsano przez 2 godziny. W kolejnym etapie doprowadzano pH do wartości 6,5 przy użyciu 6% NaHCO₃ oraz poddawano działaniu pankreatyny w ilości 5ml 0,4% roztwór enzymu w 0,1 mol/dm³ NaHCO₃. Uzyskany homogenat przenoszono ilościowo do celulozowych membran dializacyjnych i ponownie wytrząsano w łaźni wodnej, w tych samych warunkach przez 2 godziny. Po zakończeniu procesu trawienia tuby dializacyjne opróżniano i odważano z nich po 50g homogenatu do tygli kwarcowych, które poddawano mineralizacji na sucho w piecu muflowym w temperaturze 450°C. Po zakończeniu mineralizacji próbki przenoszono ilościowo do kolbek miarowych o pojemności 50 cm³. Oznaczenie zawartości pierwiastków Ca i Mg wykonano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej. Dla dializatów oznaczenie zawartości pierwiastków wykonywano tą samą metodą z roztworów dializacyjnych. Dla Ca i Mg wykonano ślepą próbę odczynnikową, a uzyskane wyniki odjęto od uzyskanych w poszczególnych układach. Każda z próbek była analizowana w sześciu powtórze-

niach, a wyniki względnej biodostępności dla danego układu zostały wyrażone jako wartości średnie \pm SD. Potencjalną biodostępność względną w % (B%), wyrażono jako stosunek ilości składnika mineralnego jaka uległa dyfuzji przez membranę i była w równowadze w całej objętości badanego układu (D), do całkowitej ilości tego pierwiastka w badanym układzie, czyli sumy ilości obecnej w homogenacie wewnątrz tuby dializacyjnej (T) i w dializacie (D), pomnożony przez 100, wg wzoru:

$$B\% = [D / (T + D)] \times 100\%$$

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na względną biodostępność Ca i Mg w układach badawczych wpływała obecność produktów spożywczych, jak również skład suplementu, postać farmaceutyczna oraz rodzaj związku chemicznego danego pierwiastka (8,9,10). Z próbek żywności stosowanych w układach badawczych względną biodostępność Ca wynosiła odpowiednio 55,54% dla chleba, 32,17% dla mleka oraz najniższa 24,82% dla diety, natomiast w odniesieniu do Mg najwyższą biodostępność 87,53% była dla mleka, 66,01% dla diety i najniższa 57,90% dla chleba. Niemal wszystkie suplementy diety odznaczały się najlepszą biodostępnością dla obu pierwiastków w układzie suplement + woda, w pozostałych modelach była ona zróżnicowana. Dane dotyczące względnej biodostępności Ca i Mg z suplementów diety z produktami spożywczymi przedstawia tabela I. Najwyższą biodostępnością we wszystkich układach badawczych z grupy 8 badanych suplementów diety zawierających magnez wyróżniał się produkt mineralny: Wapń-Magnez-Cynk (tabletki powlekane), zawierający w swoim składzie tlenek i glukonian magnezu. W poszczególnych modelach najniższe wartości biodostępności magnezu uzyskano dla następujących suplementów diety: Vigor Complete (tabletki powlekane, zawierający tlenek magnezu) 58,62% (suplement diety + woda) oraz 25,61% (suplement diety+ chleb); Falvit (tabletki drażowane, zawierające tlenek magnezu) 49,42% (suplement diety+ homogenat diety) oraz 52,97% (suplement diety+ mleko). Identycznie jak w przypadku magnezu najwyższą względną biodostępność wapnia we wszystkich badanych modelach zaobserwowano dla suplementu diety Wapń-Magnez-Cynk (tabletki powlekane), zawierający w swoim składzie węglan i glukonian wapnia. Natomiast najniższą biodostępnością wapnia w badanych układach odznaczały się następujące produkty: Complex (tabletki, zawierający fosforan wapnia) 27,57% (suplement diety + homogenat diety) oraz 18,75% (suplement diety + mleko); Vigor Complete (tabletki powlekane, zawierający wodorofosforan wapnia) 41,97% (suplement diety+ woda) oraz 16,50% (suplement diety + chleb). Otrzymane wyniki potwierdzają liczne doniesienia z piśmiennictwa krajowego, jak i światowego, wskazujące bezpośredni wpływ składu diety na względną biodostępność składników mineralnych (3,5,6). Potwierdzono także zależność pomiędzy biodostępnością, a składem chemicznym suplementu diety. Ogólnie lepsza była procentowa biodostępność Mg w stosunku do Ca z tych samych suplementów diety zawierających oba te pierwiastki we wszystkich modelach badawczych.

Tabela I. Zawartość wapnia i magnezu w czterech modelach badawczych oraz procent biodostępności względnej (wartości średnie oraz odchylenie standardowe, N = 6).

Table I. Analyzed concentration of calcium and magnesium in four models and percentage dializability (mean and SD, N=6).

Produkt	Blumag Jedyny, kapsułki	Chela-Mag, kapsułki	Magnum Junior, saszetki do rozpuszczania	Complex, tabletki	Falvit, tabletki	Vigor, tabletki	Wapń, Magnez, Cynk, tabletki	Wapń, Magnez, D ₃ tabletki musujące	Calcium, tabletki musujące
Mg									
Układ									
D (mg) ± SD	11,93±1,52	15,37±0,71	24,30±0,42	13,99±0,52	7,24±0,21	11,18±0,14	23,42±0,73	13,39±0,61	
T (mg) ± SD	4,18±0,17	6,40±0,47	13,81±0,45	7,28±0,93	4,44±0,75	10,81±0,58	4,95±0,47	6,62±0,63	
B%	83,64%	80,86%	73,47%	76,48%	71,03%	58,62%	94,18%	77,67%	
D (mg) ± SD	28,54±4,25	16,36±4,25	30,43±4,77	12,28±0,28	7,92±0,21	11,81±0,71	23,39±0,61	11,90±0,57	
T (mg) ± SD	16,17±0,89	14,31±0,18	17,24±0,27	16,02±1,98	10,70±0,44	12,86±0,87	11,56±0,57	10,31±0,38	
B%	72,55%	60,23%	69,65%	50,57%	49,42%	55,48%	76,99%	63,28%	
D (mg) ± SD	6,70±0,20	14,82±0,46	16,70±0,91	11,57±0,38	6,94±0,16	12,22±1,16	22,79±0,76	13,91±0,20	
T (mg) ± SD	5,86±0,16	7,36±2,08	14,20±0,70	10,85±2,57	8,15±0,48	12,75±0,37	10,97±0,50	9,30±0,40	
B%	61,16%	77,52%	62,82%	60,53%	52,97%	56,39%	77,66%	70,16%	
D (mg) ± SD	34,63±0,83	11,89±1,21	13,15±0,25	8,88±0,87	6,72±0,31	9,09±0,56	22,13±1,53	12,59±1,49	
T (mg) ± SD	31,30±1,13	9,02±0,12	13,35±0,32	14,44±0,75	9,31±0,16	32,02±0,79	13,25±1,27	10,50±0,92	
B%	60,45%	60,23%	57,62%	43,79%	48,20%	25,61%	71,24%	63,23%	
Ca									
D (mg) ± SD				22,27±0,65	16,94±4,16	15,02±0,66	50,61±2,70	45,32±0,17	27,89±4,83
T (mg) ± SD				26,50±0,35	9,73±0,82	26,20±0,44	13,35±1,08	66,21±3,31	18,49±4,49
B%				52,91%	70,42%	41,97%	90,16%	47,20%	68,94%
D (mg) ± SD				13,43±0,33	16,33±1,50	12,11±1,76	45,45±2,20	50,83±3,60	21,20±0,48
T (mg) ± SD				43,28±1,06	21,72±0,77	32,21±2,77	34,49±1,54	67,00±0,11	31,12±1,85
B%				27,57%	49,76%	31,83%	65,39%	50,87%	47,27%
D (mg) ± SD				12,57±1,05	20,94±0,84	24,68±3,24	52,29±0,58	43,37±2,28	33,16±0,68
T (mg) ± SD				65,02±5,59	36,03±1,69	42,97±4,40	45,45±1,38	89,40±3,27	37,92±3,72
B%				18,75%	42,29%	38,23%	61,56%	38,26%	54,29%
D (mg) ± SD				6,83±0,46	12,01±0,68	5,21±0,27	40,29±2,52	44,14±5,35	14,85±0,86
T (mg) ± SD				39,90±0,41	19,35±0,18	31,43±0,70	32,63±1,75	79,42±5,44	27,65±0,10
B%				16,87%	44,10%	16,50%	62,98%	39,71%	40,51%

D – wartości średnie (mg) dla zawartości pierwiastka w dializacie; T – wartości średnie (mg) dla zawartości pierwiastka wewnątrz membrany celulozowej; B% – wartości średnie (%) biodostępności względnej pierwiastka.

WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały bezpośredni wpływ produktów spożywczych na procent względnej biodostępności Ca i Mg z suplementów diety. Lepszą biodostępność wykazywały produkty mineralne zawierające związki nieorganiczne w połączeniu z organicznymi badanymi pierwiastków (tlenek + glukonian magnezu, węglan + glukonian wapnia) w porównaniu do suplementów witaminowo- mineralnych, w których składzie występowały związki nieorganiczne (tlenek magnezu, fosforan lub wodorofosforan wapnia).

Z. Marzec, A. Szalast-Pietrzak, L. Wyszogrodzka-Koma,
R. Kasperek, A. Frąk

THE INFLUENCE OF DIFFERENT FOOD COMPONENTS ON AVAILABILITY OF CALCIUM
AND MAGNESIUM FROM SUPPLEMENTS IN CONDITION OF *IN VITRO* DIGESTION

Summary

The aim of the study was to estimate the availability of minerals (Ca, Mg) from supplements in the conditions of simulated *in vitro* method, using equilibrium dialysis after gastric digestion. Four different models of food components (water, mixed meal, milk and bread) were added to the supplement and their influence on the relative index of availability was studied after the elemental analysis by atomic absorption spectrometry. All food components had a negative effect on the availability of minerals from supplements; the best availability almost for all supplements was from the water solution. The study revealed that better availability of minerals was from the organic than inorganic compounds

PIŚMIENNICTWO

1. *Wawer I.*: Suplementy diety dla ciebie. WEKTOR, Warszawa 2009.-2. *Stoś K., Krygier B., Głowala A., Jarosz M.*: Skład wybranych suplementów diety w świetle obowiązujących wymagań. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011; 44(3):596-603.- 3. *Van Dyck K., Tas S., Robberecht H., Deelstra H.*: The influence of different food components on the *in vitro* availability of iron, zinc and calcium from a composed meal. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 1996 Nov;47(6):499-506.- 4. *Krejpcio Z., Suliburska J., Hyżyk A., Dyba S., Grochowicz A.*: Ocena zawartości i potencjalnej biodostępności składników mineralnych z żywności dla diabetyków. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012; 45 (3):1105-1109.-5 *Bueno L, Pizzo JC, Freitas O, Barbosa Júnior F, dos Santos JE, Marchini JS, Dutra-de-Oliveira JE.*: Bioavailability of iron measurement in two nutrients multiple solutions by *in vitro* and *in vivo*; a comparative methodology between methods. *Nutr Hosp.* 2013; 28(1):93-9. – 6. *Miller D.D., Schricker B.R., Rasmussen RR & Van Campen D.*: An *in vitro* method for estimation of iron availability from meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1981, 34, 2248-2256.- 7. *Neumann M., Moderska K., Grajek K., Grajek W.*: Modele przewodnictwa pokarmowego *in vitro* do badań nad biodostępnością składników odżywczych. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość.* 2006, 1, (46), 30-45.- 8. *Skibniewska K.A., Kozirak W., Fornal L., Markiewicz K.*: *In vitro* availability of minerals from oat products. *J. Sci. Food Agric.* 2002. 82(14): 1676-1681.-9. *Skibniewska K.A., Fornal L., Konopka I.*: Uwalnianie żelaza i magnezu z chleba w procesie trawienia *in vitro*. *Rocz. Państ. Zakł. Hig. Supplement* 2004,55: 55-60.-10. *Kłobukowski J.A., Skibniewska K.A., Kowalski I.M.*: Calcium bioavailability from dairy products and its release from food by *in vitro* digestion. *J Elem.*, 2014; 1:277-288.

Adres: 20-093 Lublin, ul. Chodźki 4a