

*Ryszard Świątlik, Paulina Dębska, Marzena Trojanowska*

## PORÓWNANIE PROFILI UWALNIANIA ŻELAZA Z WITAMINOWO-MINERALNYCH SUPLEMENTÓW DIETY ZAWIERAJĄCYCH DIGLICYNIAN ŻELAZA(II)

Katedra Ochrony Środowiska  
Uniwersytetu Technologiczno-Humanistycznego im. K. Pułaskiego w Radomiu  
Kierownik: prof. dr hab. R. Świątlik

*Zbadano profil uwalniania żelaza z trzech krajowych suplementów witamino-mineralnych zawierających diglicynian żelaza(II). Badania przeprowadzono w kwasie solnym o stęż.  $0,1 \text{ mol/dm}^3$ . Uwalnianie żelaza z tabletek przebiegało wg kinetyki zerowego rzędu, natomiast z kapsulek wg kinetyki pierwszego rzędu. Z preparatów zalecanych do przyjmowania po posiłku, ok. 90% żelaza ulegało uwolnieniu w czasie 45 min, natomiast z preparatu zalecanego do przyjmowania na czczo, przez pierwsze 20 min uwalniało się mniej niż 20% żelaza.*

Hasła kluczowe: żelazo, diglicynian żelaza(II), profil uwalniania, suplementy diety.  
Key words: iron, ferrous bis-glycinate, release profile, dietary supplements.

Niedobór żelaza to jeden z najpowszechniej występujących braków żywieniowych. Deficyt żelaza w organizmie może prowadzić do niedostatecznego utlenowania tkanek, efektem czego może być spadek aktywności fizycznej, osłabienie sprawności umysłowej oraz zdolności koncentracji, zaburzenia w procesach zapamiętywania, a także zmniejszenie odporności na infekcje (1). Do grupy szczególnego ryzyka zalicza się dzieci, młode kobiety, kobiety ciężarne i karmiące piersią, sportowców, wegetarian, osoby z zaburzeniami wchłaniania oraz z przewlekłą chorobą nerek (2). W Polsce ok. 25% kobiet ciężarnych oraz 26% dzieci w wieku przedszkolnym zmaga się z problemem anemii (3). Według szacunków WHO niedobór żelaza w organizmie dotyczy ok. 20% populacji świata (4, 5). Skutkiem chronicznego niedoboru żelaza jest niedokrwistość, która dotyka ok. 1,5–1,7 mld ludzi na świecie. Anemia uważana jest za globalny problem zdrowotny, dotyczący nie tylko krajów rozwijających się, ale również rozwiniętych (6).

Pochodną diagnozowanych niedoborów żelaza i innych mikroelementów jest stale rosnący rynek suplementów diety. Sprzyja temu również intensywne reklamy tych preparatów. Oczekuje się, że krajowy rynek suplementów diety oceniany w 2015 r. na 3,6 mld zł, osiągnie ponad 5 mld zł do 2020 r. (7). Z braku odpowiednich badań, trudno jest określić skuteczność suplementacji. Pewien element niepewności do tego zagadnienia wnoszą same preparaty. Prawne usytuowanie suplementów diety w grupie produktów spożywczych sprawia, że konsumenci nie mogą mieć pewności czy skład jakościowy i ilościowy nabywanego produktu jest zgodny z deklaracją na etykiecie oraz czy uwolnienie substancji czynnej z preparatów doustnych następuje w określonym miejscu i czasie.

Warto podkreślić, że skuteczne uzupełnienie dziennego zapotrzebowania człowieka na mikroelementy jest nie tylko zależne od przyjmowanej dawki, ale także od stopnia jej wchłaniania przez organizm. W tym aspekcie, szczególnie ważne jest zagadnienie uwalniania substancji czynnej, ponieważ czas przebywania preparatu w żołądku jest zależny od właściwości preparatu oraz stopnia i charakteru wypełnienia żołądka treścią pokarmową. W przypadku przyjęcia preparatu na czczo, opróżnianie żołądka zachodzi stosunkowo szybko (8–20 min). Spożycie posiłku opóźnia opróżnianie żołądka, przez co czas pasażu preparatu zwiększa się do ok. 2 godz. (8, 9). Biorąc pod uwagę, że absorpcja żelaza zachodzi w jelicie cienkim, badanie kinetyki uwalniania żelaza z preparatów doustnych w modelowym kwasie żołądkowym może być źródłem cennych informacji o potencjalnej biodostępności żelaza, oraz biorównoważności różnych preparatów. Testy *in vitro* są również wykorzystywane do identyfikowania czynników mających decydujący wpływ na potencjalną biodostępność żelaza w różnych formach preparatów doustnych (10).

O ile wśród krajowych publikacji nietrudno znaleźć prace dotyczące kontroli składu suplementów żelaza dostępnych na krajowym rynku (11), to już zagadnienie oceny dostępności żelaza, wprowadzanego tymi suplementami, nie było do tej pory podejmowane.

Celem pracy było zbadanie profili uwalniania żelaza z popularnych suplementów witaminowo-mineralnych, zawierających w swoim składzie żelazo(II) w formie chelatu aminokwasowego.

## MATERIAŁ I METODY

Badano trzy dostępne na krajowym rynku doustne suplementy witaminowo-mineralne zawierające żelazo w postaci chelatu diglicynianu żelaza(II): *AnemioLady forte*, *Chela Ferr bio-complex*, *Chela Ferr forte*, które w dalszym tekście określono jako: suplement I, suplement II oraz suplement III. Charakterystykę preparatów zestawiono w tab. I.

Tabela I. Charakterystyka badanych suplementów diety

Table I. Characteristics of dietary supplements tested

Preparat	Postać	Skład	Deklarowana zawartość żelaza w tabletkach/kapsułce (mg) (% zalecanego spożycia dziennego)	Dawkowanie
Suplement I	tabletki	Celuloza mikrokryształiczna, diglicynian żelaza(II), witamina C, spirulina, sole magnezowe kwasów tłuszczowych, dwutlenek krzemu, kwas stearynowy, hydroksypropylometyloceluloza, glikol polietylenowy, poliwinylpirolidon, dwutlenek tytanu, kompleks miedziowy chlorofiliny, witamina B <sub>6</sub> , kwas foliowy, witamina B <sub>12</sub> .	16,8 (120%)	1 tabletko rano przed posiłkiem

Tabela I. Charakterystyka badanych suplementów diety (cd.)

Table I. Characteristics of dietary supplements tested (cont.)

Preparat	Postać	Skład	Deklarowana zawartość żelaza w tabletkach/kapsułkach (mg) (% zalecanego spożycia dziennego)	Dawkowanie
Suplement II	kapsułki	Maltodekstryna, celuloza mikrokrystaliczna, diglicynian żelaza(II), witamina C, sole magnezowe kwasów tłuszczowych, kwas foliowy, witamina B <sub>6</sub> , witamina B <sub>12</sub> , żelatyna (składnik otoczki), dwutlenek tytanu	14 (100%)	1 kapsułka po posiłku
Suplement III	kapsułki	Maltodekstryna, celuloza mikrokrystaliczna, diglicynian żelaza(II), witamina C, sole magnezowe kwasów tłuszczowych, kwas foliowy, witamina B <sub>6</sub> , witamina B <sub>12</sub> , żelatyna (składnik otoczki), dwutlenek tytanu	28 (200%)	1 kapsułka po posiłku

### Oznaczanie ogólnej zawartości żelaza

Trzy tabletki/kapsułki suplementu I i II lub dwie kapsułki suplementu III roztworzano w 25 cm<sup>3</sup> kwasu solnego o stęż. 6 mol/dm<sup>3</sup>. Roztwory doprowadzono do wrzenia, a po ostudzeniu sączono bezpośrednio do kolb pomiarowych o poj. 100 cm<sup>3</sup>, które następnie uzupełniano wodą dejonizowaną do kreski. Stężenie żelaza ogólnego oznaczano metodą spektrofotometryczną z 1,10 fenantroliną analogicznie jak to opisano w pracy *Atkins'a* (12). Absorbancję mierzono spektrofotometrem Jenway 6300, przy  $\lambda = 510$  nm. Stężenie żelaza wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej (0,2 – 8 mg/dm<sup>3</sup>). Granica wykrywalności dla Fe wynosiła 0,2 mg/dm<sup>3</sup>. Oznaczenie żelaza przeprowadzono dla 7 próbek każdego suplementu. Poprawność oznaczeń kontrolowano metodą dodatku wzorca, stosując roztwór wzorcowy BDH Spectrosol ( $c_{Fe} = 1000$  mg/cm<sup>3</sup>), odzysk nie był niższy niż 94%. Średnia precyzja oznaczeń wyrażona jako względne odchylenie standardowe wynosiła 6%.

### Badanie uwalniania żelaza

Badanie profilu uwalniania żelaza wykonano za pomocą uproszczonego zestawu aparaturowego, którego głównym elementem była kolba kulista poj. 750 cm<sup>3</sup>, którą po napełnieniu płynem akceptorowym (HCl o stęż. 0,1 mol/dm<sup>3</sup>, 500 cm<sup>3</sup>) umieszczano w łaźni wodnej z wytrząsaniem (typ OLS 200 – Grant). Mieszanie utrzymywano na poziomie 100 ruchów postępowo-zwrotnych/min. Porcję badanego preparatu (1 tabletkę lub 1 kapsułkę) umieszczano w płynie akceptorowym po doprowadzeniu układu do stałej temp. 37 °C ± 0,5 °C. Do badań pobierano pipetą, w odstępach 10 min, po dwie próbki płynu akceptorowego o objętości 5 cm<sup>3</sup>. Badanie prowadzono przez 90 min. Dla każdego preparatu wykonano trzy serie badań. Próbkę płynu akceptorowego umieszczano w kolbach pomiarowych o poj. 50 cm<sup>3</sup> i dalej postępowano analogicznie do oznaczania żelaza ogólnego.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość żelaza w badanych suplementach spełniała wymogi farmakopealne. Oznaczone zawartości żelaza były bardzo bliskie zawartościom deklarowanym przez producenta: suplement I:  $17,14 \pm 0,71$  mg wobec 16,8 mg, suplement II:  $13,70 \pm 0,34$  mg wobec 14 mg oraz suplement III:  $27,62 \pm 0,40$  mg wobec 28 mg. Norma farmakopealna przewiduje możliwość odchylenia  $\pm 10\%$  dla preparatów o deklarowanej zawartości substancji leczniczej poniżej 100 mg (13). Warto podkreślić, że w rzeczywistości suplementy diety nie podlegają aż tak rygorystycznym wymaganiom, granice tolerancji dla zawartości składników mineralnych w suplementach żywnościowych wynoszą od  $-20\%$  do  $+45\%$  wartości deklarowanej na etykiecie (14). Wszystkie trzy preparaty odznaczały się również wysoką jednolitością zawartości żelaza, RSD od 1,5% do 4,1% ( $n = 7$ ).

Wyniki pomiarów towarzyszących badaniu dostępności farmaceutycznej badanych suplementów zebrano w tab. II.

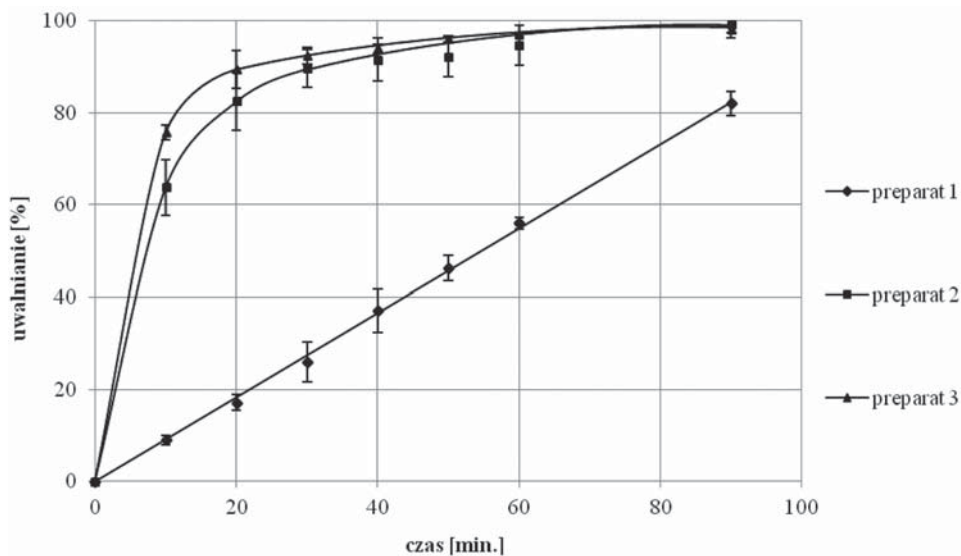
Tabela II. Stężenie żelaza w płynie akceptorowym ( $\text{mg}/\text{dm}^3$ )Table II. Iron concentration in the acceptor liquid ( $\text{mg}/\text{dm}^3$ )

Czas (min)	Suplement I	Suplement II	Suplement III
0	< LOD	< LOD	< LOD
10	$3,01 \pm 0,35$	$17,87 \pm 2,93$	$42,48 \pm 1,77$
20	$5,88 \pm 0,54$	$23,57 \pm 1,98$	$51,07 \pm 2,09$
30	$9,11 \pm 1,36$	$26,14 \pm 1,06$	$53,93 \pm 1,94$
40	$13,26 \pm 1,51$	$27,28 \pm 1,26$	$55,99 \pm 1,51$
50	$16,92 \pm 0,93$	$28,09 \pm 1,24$	$58,42 \pm 2,29$
60	$20,92 \pm 0,39$	$29,48 \pm 1,21$	$60,37 \pm 2,23$
90	$31,33 \pm 0,92$	$31,61 \pm 0,87$	$62,41 \pm 2,31$

Na podstawie uzyskanych danych sporządzono profile uwalniania, obrazujące zależność procentu uwolnionej dawki Fe od czasu (ryc. 1). Uwalnianie żelaza w kwasie HCl o stęż.  $0,1 \text{ mol}/\text{dm}^3$  zachodziło w sposób zróżnicowany.

Zbliżonym profilem uwalniania żelaza odznaczały się preparaty kapsułkowe. Inny charakter miał przebieg uwalniania żelaza z tabletek, które rozpuszczały się ze znacznie mniejszą intensywnością. Poczynione obserwacje znalazły potwierdzenie w wynikach testu statystycznego, przeprowadzonego metodą czynników różnicy i podobieństwa (15). Jako preparat odniesienia przyjęto suplement II (tab. III). Profile uwalniania żelaza dla suplementu II i suplementu III można uznać za podobne, ponieważ współczynnik różnicy  $f_1$  okazał się mniejszy niż 15, a współczynnik podobieństwa  $f_2$  większy niż 50 (16).

Dalsza analiza wyników badań kinetycznych wykazała, że mechanizm uwalniania żelaza z tabletek suplementu I był inny niż mechanizm uwalniania żelaza z kapsułek suplementów II i III. W pierwszym przypadku zgodnie z kinetyką zerowego rzędu, żelazo przechodziło do roztworu akceptorowego ze stałą szybko-



Ryc. 1. Profile uwalniania żelaza z badanych suplementów diety.

Fig. 1. Release profiles of iron from the dietary supplements tested.

Tabela III. Współczynniki równoważności-podobieństwa ( $f_2$ ) oraz współczynniki różnicy ( $f_1$ )Table III. Coefficients of equivalence-similarities ( $f_2$ ) and differential rates ( $f_1$ )

Suplement II	Suplement I	Suplement III
	$f_1$	
	77,91	9,21
$f_2$		
	10,57	54,23

ścią, niezależną od jego zawartości w preparacie. Z kolei, kapsułki suplementów II i III uwalniały żelazo wg kinetyki zbliżonej do kinetyki pierwszego rzędu – szybkość procesu malała wraz ze spadkiem jego zawartości w kapsułce. Stałe szybkości uwalniania  $k$  wyznaczono na podstawie równań regresji:  $c = c_0 - k \cdot t$  oraz  $\ln c = \ln c_0 - k \cdot t$ , które dla liniowych odcinków miały następującą postać:  $c = 17,21 - 0,155t$  ( $r^2 = 0,9991$ ),  $\ln c = 2,5047 - 0,0824t$  ( $r^2 = 0,9889$ ) oraz  $\ln c = 3,224 - 0,118t$  ( $r^2 = 0,9814$ ).

Stałe szybkości uwalniania  $k$  wynosiły:  $0,155 \text{ mg} \cdot \text{min}^{-1}$  (suplement I),  $0,0824 \text{ min}^{-1}$  (suplement II), oraz  $0,118 \text{ min}^{-1}$  (suplement III), natomiast czasy połowicznego uwalniania żelaza  $t_{1/2}$  kształtowały się następująco: suplement I – 55,3 min, suplement II – 8,4 min, suplement III – 5,9 min.

W czasie 60 min z tabletki suplementu I uwalniało się 56% deklarowanej dawki żelaza, natomiast z preparatów II i III (kapsułki) – niemal całość deklarowanych dawek, odpowiednio 95% oraz 97%. Farmakopealne wymagania (minimum 75%

w czasie 45 min) (13) spełniały suplementy II i III. Podobne wartości można spotkać w literaturze. Czasy pełnego uwalniania żelaza z konwencjonalnych suplementów dostępnych na rynku brytyjskim były zależne od chemicznej formy żelaza: siarczan żelaza(II) – 48 min, fumaran żelaza(II) – 57 min, glukonian żelaza(II) – 64 min (17). Z suplementów dostępnych dla konsumentów w Argentynie w analogicznych warunkach w ciągu 60 min uwalniało się od 30% do 100% żelaza (18).

Zgodnie z zaleceniami producenta suplementy II i III należy przyjmować po posiłku. Zatem, kapsułki będą na tyle długo przebywać w żołądku, że nastąpi pełne uwolnienie żelaza. Do jelita cienkiego, w którym następuje wchłanianie, żelazo trafi już w formie rozpuszczonej. Inaczej należy prognozować los żelaza dostarczanego suplementem I, który zgodnie z zaleceniem powinien być przyjmowany rano przed posiłkiem. Przyjmując 20-minutowy czas przebywania, można oczekiwać, że w środowisku soku żołądkowego uwolnieniu ulegnie niespełna 20% deklarowanej dawki żelaza. Można zatem oczekiwać, że pomimo tej samej postaci chemicznej żelaza, badane preparaty mogą odznaczać się różną tolerancją gastryczną, a ich zamiana np. pod wpływem reklamy ekspozycyjnej czynnik ceny lub zawartości diglicynianu żelaza(II) może prowadzić do nieoczekiwanych dla konsumenta efektów gastrycznych.

## WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały, że profil uwalniania żelaza z suplementów diety zawierających ten sam związek żelaza może być różny. Uwalnianie żelaza z tabletek przebiegało wg kinetyki zerowego rzędu, natomiast z kapsułek wg kinetyki pierwszego rzędu. Preparaty kapsułkowane odznaczały się zbliżoną biorównoważnością. Z preparatów zalecanych do przyjmowania po posiłku, ponad 90% żelaza ulegało uwolnieniu w czasie 45 min, natomiast z preparatu zalecanego do przyjmowania na czczo, przez pierwsze 20 min ulegało uwolnieniu mniej niż 20% żelaza. Można zatem oczekiwać, że badane preparaty mogą odznaczać się różną tolerancją i do ich zamiany należy podchodzić z ostrożnością.

R. Świetlik, P. Dębska, M. Trojanowska

### COMPARISON OF DISSOLUTION PROFILES OF COMMERCIALY AVAILABLE IRON SUPPLEMENTS CONTAINING FERROUS BIS-GLYCINATE CHELATE

#### Summary

This study focused on analysing iron dissolution profiles from three domestic vitamin/mineral supplements containing ferrous bisglycinate. The studies were carried out in a gastric acid mode. Iron dissolution from tablets proceeded according to zero-order kinetics and from capsules according to first-order kinetics. About 90% of iron was dissolved within 45 minutes from supplements taken after meals whereas less than 20% of iron was dissolved during the first 20 minutes from supplements to be taken on an empty stomach.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Mękus M., Respondek W.*: Żelazo – niezbędny składnik pokarmowy. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2013; 40(1): 16-29. – 2. *Gowin E., Horst-Sikorska W.*: Żelazne zapasy – komu w XXI wieku grozi niedobór żelaza? *Farm. Współcz.*, 2010; 3: 139-146. – 3. WHO: The Global Prevalence of Anaemia in 2011. World Health Organization; Geneva 2015. – 4. *Martinez-Navarrete N., Camacho M.M., Martinez-Lahuerta J., Martinez-Manzo J., Fito P.*: Iron deficiency and iron fortified food – a review. *Food Res. Int.*, 2002; 35(2-3): 225-231. – 5. *Jeppsen R.B.*: Toxicology and safety of Ferrochel and other iron amino acid chelates. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 2001; 51(1): 26-34. – 6. *Benoist B., McLean E., Egli I., Cogswell M.*: Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005. WHO Global Database on Anaemia. World Health Organization; Geneva 2008. – 7. Raport PMR: Rynek suplementów diety w Polsce 2015. Prognozy rozwoju na lata 2015–2020. – 8. *Sznitowska M., Kaliszan R.*: Biofarmacja. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2014; 84-106. – 9. *Neumann M., Goderska K., Grajek K., Grajek W.*: Modele przewodnictwa pokarmowego in vitro do badań nad biodostępnością składników odżywczych. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2006; 1(46): 30-45. – 10. *Patricio J.P.H., Santos C., Cerdeira R.*: In vitro dissolution profile of two commercially available iron preparations. *Drugs R&D*, 2012; 12(1): 35-40.

11. *Pawlak A., Rajczykowski K., Loska K., Ahnert B., Wiechula D.*: Ocena zawartości żelaza w witaminowo-mineralnych suplementach diety. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2016; 49(1): 23-31. – 12. *Atkins R.C.*: Colorimetric determination of iron in vitamin supplement tablets. A general chemistry experiment. *J. Chem. Educ.*, 1975, 52(8), 550. – 13. Polish Pharmacopea VI. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, PTF, Warszawa 2002, t. I, 184. – 14. Komisja Europejska, Dyrekcja Generalna ds. Zdrowia i Konsumentów, Wytocznice z grudnia 2012r. w zakresie określenia limitów tolerancji dla składników odżywczych wymienionych na etykietach. Dostępna na: [gis.gov.pl/images/bz/guidance\\_tolerances\\_december\\_2012\\_pl.pdf](http://gis.gov.pl/images/bz/guidance_tolerances_december_2012_pl.pdf). – 15. *Iwaniec M., Popieluch M.*: Ocena podobieństwa profili uwalniania. Praktyczna statystyka dla farmacji. *Świat Przemysłu Farmaceutycznego*, 2008; 5: 23-26. – 16. *Ostróżka-Cieślak A., Dolińska B., Ryszka F.*: Ocena dostępności farmaceutycznej magnezu z tabletek o niemodyfikowanej szybkości uwalniania. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2015; 6: 166-171. – 17. *Zariwala M.G., Somavarapu S., Farnaud S., Renshaw D.*: Comparison study of oral iron preparations using a human intestinal model. *Scientia Pharmaceutica*, 2013; 81: 1123-1139. – 18. *Basualdo S., Torti H., Fuda J., Nunez M., Segall A.I.*: Comparison of dissolution profiles of formulations containing ferrous sulfate and fumarate. *Dissolution Technologies*, 2012; 19(4): 47-50

Adres: 26-600 Radom, ul. Chrobrego 27