

## Analiza środowiskowa, żywności i leków

CHC 0230171

### Ćwiczenie 2: Analiza suplementów diety - oznaczanie żelaza

W organizmie ludzkim znajduje się 3,5 - 4,5 g żelaza. Rola żelaza w organizmie jest prawie wyłącznie związana z procesami oddychania komórkowego. Jest ono składnikiem wielu ważnych białek, np. hemoglobiny czy mioglobiny, występuje również w centrach aktywnych licznych enzymów takich jak: katalaza, peroksydazy oraz cytochromy. Żelazo jest niezbędne dla organizmu jako składnik krwiotwórczy oraz do transportu i magazynowania tlenu. Zapotrzebowanie na żelazo jest zmienne i zależy między innymi od wieku, płci i stanu organizmu. Norma dobowego spożycia waha się w dość dużych granicach. U osób dorosłych: od 10 mg/dobę u mężczyzn, do 20 mg u kobiet, z zastrzeżeniem że w okresie ciąży i karmienia powinno to być ok. 30 mg/dobę. Niedobór spotyka się w stanach zwiększonego zapotrzebowania, zaburzeń wchłaniania lub zwiększonej utraty żelaza. W takim przypadku może wystąpić niedokrwistość. W przypadku potwierdzonego niedoboru żelaza należy wprowadzić suplementację preparatami żelaza.

Nadmierne spożycie żelaza może prowadzić do zmniejszenia wchłaniania innych składników mineralnych (cynku, miedzi), zwiększenia ryzyka wystąpienia infekcji, nadmiernego gromadzenia żelaza w tkankach i ich uszkodzenie oraz zwiększenia wystąpienia chorób nowotworowych. Sole żelaza(III-VI) są nieszkodliwe, ponieważ się nie wchłaniają. [1]

Światowa Organizacja Zdrowia – WHO, jak i Instytut Żywności i Żywienia – IŻŻ są organizacjami mającymi na celu ochronę zdrowia, zwalczanie epidemii, jak i ustają normy dotyczące składu lekarstw i jakości produktów spożywczych. IŻŻ jest polskim odpowiednikiem WHO. Obie te instytucje ściśle ze sobą współpracują, wraz z Komisją Europejską i Organizacją do Spraw Wyżywienia i Rolnictwa – FAO.

Na podstawie wieloletnich badań i obserwacji ustalono normy dotyczące dawek pierwiastków, potrzebnych do prawidłowego funkcjonowania ludzkiego organizmu, jak i dawek pierwiastków toksycznych, mutagennych czy śmiertelnych. Dane związane z zapotrzebowaniem na żelazo zostały zebrane w Tabelach 1 i 2, pokazanych poniżej.

Tabela 1. Zapotrzebowanie na żelazo - dane WHO i IŻŻ.

	<i>Zalecane racje żywieniowe RDA [mg/dzień]</i>	<i>Najwyższy tolerowany poziom spożycia UL [mg/dzień]</i>	<i>Dzienne spożycie [mg/dzień]</i>	<i>Dawka toksyczna [mg]</i>
<i>Kobiety</i>	8 - 27	40 - 45	8,1 - 22,7	nie oznaczona
<i>Mężczyźni</i>	8 - 11	40		

Tabela 2. Zalecane dzienne dawki spożycia żelaza dla poszczególnych grup wiekowych z uwzględnieniem płci [2].

<i>Grupa wiekowa</i>	<i>Zalecana dzienna dawka żelaza [mg]</i>
<b>Mężczyźni w wieku:</b>	
11 - 18 lat	18
powyżej 19 lat	10

<b>Kobiety w wieku:</b>	
11 - 50 lat	18
powyżej 51 lat	10
w czasie ciąży i podczas laktacji	18

Suplementy diety, to, zgodnie z ustawą o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia [3], środki spożywcze, które mają na celu uzupełnienie normalnej diety. Powinny być skoncentrowanym źródłem witamin, składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny. Wprowadzane są do obrotu w opakowaniach umożliwiających łatwe dawkowanie, w postaci np. kapsułek, tabletek, drażetek, saszetek z proszkiem, ampułek z płynem itp., które przeznaczone są do spożywania w jak najmniejszych, odmierzonych ilościach [4, 5]. Suplementy diety, jako środki spożywcze, powinny charakteryzować się odpowiednimi cechami zarówno pod względem jakości sensorycznej i wartości odżywczej, a także bezpieczeństwa dla zdrowia konsumenta. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia o składzie i oznakowaniu suplementów diety preparaty te powinny w swoim składzie zawierać witaminy i składniki mineralne, które występują naturalnie w żywności i są spożywane jako jej część [6]. Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety z dnia 9 października 2007 roku (Dz. U. z dnia 24 października 2007 r.) [7] zawiera, między innymi, wykaz witamin i składników mineralnych oraz ich formy chemiczne, które mogą być stosowane w produkcji suplementów diety. W przypadku żelaza mogą to być, jedynie: węglan żelazawy, cytrynian żelazawy, cytrynian amonowo-żelazowy, glukonian żelazawy, fumaran żelazawy, dwufosforan sodowo-żelazowy, mleczan żelazawy, siarczan żelazawy, dwufosforan żelazowy (pirofosforan żelazowy), cukrzan żelazowy, żelazo elementarne (karbonyl + żelazo elektrolityczne + zredukowany wodór) oraz dwuglicynian żelaza. Rozporządzenie to precyzuje również zalecaną ilość żelaza jako 800 mg na dzień.

## PRÓBKII

Przedmiot badań stanowią preparaty witaminowo-mineralne dla dorosłych powszechnie dostępne w aptekach i supermarketach. W tabeli numer 3, zamieszczonej poniżej, zestawiono dane pozwalające na identyfikację badanego preparatu i weryfikację danych pomiarowych, tj. nazwę preparatu, jego przeznaczenie, zawartość żelaza w jednej tabletkce preparatu, zalecaną dobową dawkę preparatu oraz nazwę producenta.

Tabela 3. Skład analizowanych preparatów witaminowo-mineralnych.

<i>Preparat producent</i>	<i>Zastosowanie /przeznaczenie</i>	<i>Zawartość żelaza w 1 tabletkce [mg]</i>	<i>Zalecana dawka dobowa</i>
<b>Centrum Silver z Luteiną Wyeth®</b>	preparat multiwitaminowy dla osób po 50 roku życia	3,5	1 tabletkca
<b>Duovit KRKA</b>	preparat dla dzieci powyżej 10 roku życia i dorosłych	10	1 tabletkca
<b>Falvit® M Jelfa</b>	dla kobiet ciężarnych i karmiących piersią	26	1 tabletkca
<b>Multisal® Polfa S.A.</b>	dla dorosłych	9,0	1 tabletkca 1-3 razy dziennie
<b>Vigor® complete US Pharmacia</b>	suplement diety dla dorosłych	14	1 tabletkca

<b>Vita-miner luteina Aflofarm</b>	dla dorosłych	9,92	1 tabletką
<b>Vitalal® Jelfa</b>	dla dorosłych	6,15	1 tabletką

### **UWAGA!**

Przed przystąpieniem do wykonania ćwiczenia powinna zostać wyznaczona średnia masa tabletek preparatu wybranego przez grupę współpracujących studentów. Średnią masę tabletek analizowanego preparatu wyznacza się jako średnią arytmetyczną (i odchylenie standardowe) z wyników pomiarów masy co najmniej różnych 10 tabletek wybranych losowo z każdego opakowania każdej z serii analizowanych preparatów multiwitaminowych.

### ***Odczynniki - do przygotowania w czasie zajęć:***

*Roztwór podstawowy wzorca Fe:* roztwór przygotowany z azotanu żelaza (III) o stężeniu Fe wynoszącym 1000 ppm, zakwaszony kwasem azotowym (stężenie HNO<sub>3</sub> w roztworze powinno wynosić ok 4-5%).

### **EKSTRAKCJA ŻELAZA**

Do zlewki o pojemności 150 - 250 cm<sup>3</sup> (w zależności od dostępności) odważyć dokładnie około 1g rozdrobnionego preparatu i dodać (pod wyciągiem) 25 cm<sup>3</sup> 6M kwasu solnego HCl (**uwaga:** proszę sprawdzić jakie stężenie molowe ma 35-37 % kwas solny, dostępny na pracowni, a następnie przygotować kwas solny 6-cio molowy).

Próbki wymieszać i pozostawić na parę minut do przereagowania. Następnie zlewki wraz z zawartością przenieść do łaźni piaskowej i, przykryte szkiełkiem zegarkowym, ogrzewać do zagotowania. W tym stanie roztwory utrzymywać przez 15 minut. W razie odparowania próbek dodawać wodę destylowaną. Po upływie 15 minut od momentu zagotowania się roztworów próbki zdjąć z łaźni piaskowej (ogrzewanie wyłączyć). Ciepłe (ale nie gorące) roztwory przenieść ilościowo do kolb miarowych o pojemności 100,0 cm<sup>3</sup>. Do przemywania zlewek użyć małych ilości gorącej wody destylowanej. Roztwory schłodzić do temperatury pokojowej i uzupełnić kolby wodą destylowaną do kreski. Znajdujący się w kolbach osad oddzielić od roztworu przez sączenie na twardym sączku.

Należy przygotować trzy równoległe próbki materiału oraz tzw. ślepą próbę.

Przed wykonaniem pomiarów roztwory próbek należy rozcieńczyć tak, by stężenie żelaza w roztworach mieściło się w zakresie prostoliniowości krzywej wzorcowej – czyli od 1 do 5 ppm. Stężenie kwasu solnego w próbkach rozcieńczonych powinno być takie samo jak w próbkach wyjściowych (podczas rozcieńczania próbek należy dodać odpowiednią ilość stężonego HCl).

### **WYZNACZENIE ZAWARTOŚCI ŻELAZA W BADANEJ PRÓBCE**

#### **1. Przygotowanie roztworów wzorcowych**

Przed przystąpieniem do przygotowania roztworów wzorcowych należy sprawdzić (metodą ważenia) pojemność kilku, losowo wybranych całego zestawu, kolb miarowych i pipet.

Mając do dyspozycji azotan żelaza(III) przygotować podstawowy roztwór wzorca o stężeniu żelaza równym 1000 ppm.

W tym celu do kolby miarowej o pojemności 250,0 cm<sup>3</sup> (lub mniejszej) wprowadzić odpowiednią ilość soli (**wcześniej obliczoną i dokładnie odważoną**). Następnie dodać ok. 25 cm<sup>3</sup> wody i potrzebną ilość stężonego kwasu azotowego – tak by stężenie końcowe wynosiło 4-5%. Wymieszać ruchem okrężnym zawartość kolby. Uzupełnić kolbę wodą destylowaną do kreski i dokładnie wymieszać.

Posługując się jednomicowymi pipetami o pojemności 1, 2, 5, 10 i 20 cm<sup>3</sup> oraz kolbkami o pojemności 50,00 cm<sup>3</sup> przygotować roztwory wzorcowe żelaza do sporządzenia krzywej wzorowej (czyli do wyznaczenia zależności pomiędzy stężenia żelaza w roztworze a mierzoną absorbancją) rozcieńczając odpowiednio roztwór podstawowy wzorca Fe (roztwór o stężeniu żelaza wynoszącym 1000 ppm). Jeżeli to będzie konieczne proszę wcześniej sporządzić roztwór wzorca o stężeniu pośrednim pomiędzy stężeniem wzorca podstawowego a stężeniami roztworów do krzywej kalibracji – np.: 50 czy 100 ppm.

**UWAGA:** zakres prostoliniowości krzywej wzorcowej dla żelaza w przypadku pomiarów dokonywanych przy zastosowaniu atomowej spektrometrii absorpcyjnej wynosi: 1-5 ppm.

Roztwory wzorcowe służące do przygotowania krzywej kalibracji powinny być zakwaszone kwasem azotowym. W przypadku tego ćwiczenia należy również sporządzić dwa roztwory wzorca o stężeniach z zakresu prostoliniowości krzywej wzorcowej zakwaszone kwasem solnym – o stężeniu HCl zbliżonym do stężenia tego kwasu w próbkach.

## **2. Oznaczenie żelaza**

**UWAGA:** znając deklarowaną przez producenta zawartość żelaza w analizowanym suplemencie i zakres pomiarowy prostoliniowego odcinka krzywej wzorcowej proszę zaproponować sposób rozcieńczenia próbki umożliwiający pomiar oznaczanego pierwiastka – tj. rozcieńczenie roztworów próbek do stężenia mieszczącego się w zakresie prostoliniowości krzywej wzorcowej. Rozcieńczając próbki należy pamiętać o zakwaszeniu roztworów kwasem solnym.

Oznaczenia zawartości żelaza wykonać z zastosowaniem atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu.

Z równania krzywej wyznaczonego na podstawie zależności mierzonych absorbancji wcześniej przygotowanych roztworów wzorcowych od stężenia żelaza wyznaczyć wartość stężenia jonów żelaza w badanej próbce. Obliczyć zawartość żelaza w preparacie w mg/g oraz odchylenie standardowe przeprowadzonego oznaczenia.

Obliczyć zawartość żelaza(II) w analizowanym preparacie witaminowo-mineralnym (w przeliczeniu na średnią masę tabletki).

## **SPRAWOZDANIE**

Sprawozdanie może zawierać bardzo krótki opis zastosowanej procedury i stosowanych metod pomiarowych, natomiast powinno zawierać dokładny opis przygotowania próbek suplementu diety do pomiaru, opis przygotowania roztworów wzorców, oraz wyniki obliczeń zawartości żelaza(II) w tym preparacie. Proszę porównać wyznaczoną zawartość z danymi podawanymi przez producentów preparatów na opakowaniu suplementu oraz z dobowym zapotrzebowaniem osób dorosłych na żelazo.

## UWAGA !

Bardzo proszę w obliczeniach uwzględnić dane dotyczące ślepych prób, a końcowe wyniki podać jako średnie arytmetyczne obliczone z danych dla wszystkich przygotowanych prób.

## LITERATURA

1. edited by Seńczuk, W., Toksykologia, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1999.  
Kabata – Pendias A., *Biogeochemia pierwiastków śladowych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1999
2. Harper H.A., Rodwell V., Mayer P., *Zarys chemii fizjologicznej*, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1983
3. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 7 lutego 2005 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia. Dz.U. 2005, nr 31, poz. 265
4. Waszkiewicz-Robak B., *Suplement diety - środek spożywczy czy alternatywa produktu leczniczego?*, Agro Przemysł 2/2009
5. Brzozowska A., Roszkowski W., Pietruszka B., Kałuża J., *Witaminy i składniki mineralne jako suplementy diety*, Żywność. Nauka, Technologia, Jakość 2005, 4 (45) Supl., 5 – 16
6. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie specyfikacji, kryteriów czystości, wymagań dotyczących pobierania próbek i metod analitycznych stosowanych w trakcie urzędowej kontroli żywności do oznaczania parametrów właściwych dla poszczególnych dozwolonych substancji dodatkowych, poszczególnych substancji pomagających w przetwarzaniu oraz zawartości zanieczyszczeń. (Dz. U. 2003, nr 59, poz. 530; Dz. U. 2004, nr 94, poz. 934; Dz. U. 2005, nr 58, poz. 511)
7. Rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety z dnia 9 października 2007 roku (Dz. U. z dnia 24 października 2007 r.)
8. Skoog D.A., West D.M., Holler F.J., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Saunders College Publishing, 1996
9. Templeton D., Ariese A., Cornelis R., Danielsson L. G., Muntau H., van Leeuwen H. P., Łobinski R., *Pure Appl. Chem.*, 72, 8 (2000) 1453 -1470
10. Hulanicki A., *Współczesna chemia analityczna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001
11. Marczenko Z., Balcerzak M., *Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1998
12. Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1996
13. Cygański A., *Metody spektroskopowe w chemii analitycznej*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 1997