

## **Streszczenie**

### **Wstęp**

Zgodnie z obowiązującym prawem Unii Europejskiej w Polsce suplementy diety są rejestrowane jako żywność. Na całym świecie odnotowano wiele przypadków zafałszowań suplementów stosowanych w celu redukcji masy ciała. Łatwa procedura rejestracyjna, możliwość dystrybucji poprzez sprzedaż internetową i niekiedy brak informacji o prawdziwym składzie preparatów niesie ze sobą ogromne niebezpieczeństwo dla zdrowia publicznego jak i poszczególnych osób stosujących suplementy diety.

### **Cel pracy**

Ocena bezpieczeństwa stosowania suplementów diety przyjmowanych w celu redukcji masy ciała, poprzez analizę ich składu, rodzajów i ilości substancji czynnej, czystości mikrobiologicznej w odniesieniu do motywów, okoliczności i warunków zdrowotnych osób je stosujących.

### **Materiał i metody**

Badaniom jakościowym poddano 100 suplementów diety zebrany częściowo (67) podczas akcji społecznej pozwalającej na nieodpłatne sprawdzenie składu zażywanych suplementów. Pozostałe próbki zebrano we własnym zakresie. Próbki poddano analizie jakościowej i ilościowej na obecność substancji czynnych takich jak: sibutramina, kofeina, 2,4-dinitrofenol, fentermina, synefryna, efedryna, kwas chlorogenowy. Analiza jakościowa została wykonana przy użyciu chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC-MS). Analizę ilościową wykonano przy użyciu ultrawysokosprawnej chromatografii cieczowej (UHPLC). Preparaty zostały poddane badaniom mikrobiologicznym makro- i mikroskopowym pod kątem obecności pleśni patogennych, z wykorzystaniem metody płytkowej, w celu obliczenia wskaźnika CFU/ml oraz badaniem przy użyciu metody MALDI-TOF.

Przeprowadzono walidację metod oznaczania ilościowego kofeiny i sibutraminy określając parametry: granicę oznaczalności i wykrywalności, zakres krzywej kalibracyjnej, precyzję, współczynnik determinacji oraz dokładność

### **Wyniki**

Spośród 100 przebadanych suplementów 52 okazały się być zafałszowane poprzez: zmianę składu bez poinformowania o tym konsumenta (27), obecność substancji nadającej preparatowi miano produktu leczniczego (33), zabiegi mające na celu zafałszowanie prawdziwego składu (30), przekroczenie maksymalnej dozwolonej dawki jednorazowej kofeiny (2), kontaminację patogenną pleśnią (9/17).

23 badane suplementy diety zawierały w składzie sibutraminę w dawkach wahających się między 1,8-20,18 mg w pojedynczej porcji. 29 preparatów zawierała kofeinę w dawkach 1,2-431,0 mg na jedną porcję. Ponadto wykryty obecność substancji takich jak: fentermina (1), dimetyloglicyna (1) oraz fenoloftaleina w preparacie zawierającym sibutraminę.

60% ankietowanych osób przyjmujących suplementy diety, zaobserwowała u siebie występowanie działań niepożądanych związanych ze stosowaniem suplementu, 34,2% cierpiało na choroby przewlekłe, 60% ankietowanych zakupiła suplement w internecie, 63% respondentów nie stosowało żadnej diety wraz z suplementacją. Pośród analizowanych suplementów 51 nie była zarejestrowana w Polsce, zaledwie 25 preparatów widniało w rejestrze GIF-u. 3 preparaty nie powinny w ogóle znajdować się w sprzedaży, gdyż producent wycofał się z wprowadzania produktu do obrotu. W przypadku jednego preparatu, w rejestrze suplementów widnieje uwaga brzmiąca co następuje: „nie powinien być dopuszczony do obrotu”.

## **Wnioski**

1. W badaniach zafałszowanych suplementów diety należy przeanalizować każdą porcję preparatu, bądź jak największą dostępną ilość, z uwagi na brak powtarzalności dawki w porcjach suplementów pochodzących z jednego opakowania.
2. Nie należy zakładać, że dawka substancji czynnej w preparacie o tej samej nazwie będzie taka sama jak w przebadanym już suplementcie, mimo jednakowego wyglądu opakowania i numeru serii.
3. Bezwzględnie należy przebadać suplement pod kątem obecności pleśni.
4. Użyta metoda GC-MS okazała się skuteczna w przypadku analizy jakościowej przebadanych suplementów diety.
5. Użycie UPLC do analiz ilościowych okazało się skuteczne i~wystarczające, jednak zaleca się aby skonfrontować uzyskane wyniki używając LC-MS'a (co nie było możliwe ze względu na zbyt małą ilość zgromadzonego do badań materiału).
6. Metoda MALDI-TOF posiadała ograniczenia w stosunku do identyfikacji pleśni, głównie z powodu budowy drobnoustrojów. W przypadku pleśni zalecane byłoby korzystać z metody sekwencjonowania w celu potwierdzenia rodzaju grzyba.
7. Należy zaostrzyć przepisy wprowadzania do obrotu suplementów diety oraz wprowadzić kontrole podobne do tych, które są przeprowadzane dla produktów leczniczych.
8. Zafałszowane suplementy diety stosowane w celu redukcji masy ciała stanowią zagrożenie dla zdrowia publicznego. Zagrożenie wynika z obecności niezarejestrowanych bądź wycofanych z obrotu substancji czynnych oraz substancji, których obecność w preparacie powoduje, że w rozumieniu prawa takie suplementy diety stają się produktem leczniczym. Brak oznaczeń składu, powoduje niemożność określenia czy istnieją przeciwwskazania do stosowania preparatu, różnice w zawartości substancji czynnej nawet w obrębie jednego opakowania są czynnikami zwiększającymi ryzyko wystąpienia stanów zagrożenia życia. Brak kontroli lekarza w farmakoterapii prowadzonej substancjami takimi jak sibutramina, kofeina czy fentermina nie powinna mieć miejsca. Brak poinformowania lekarza o~zażywanych suplementach, które mogą zawierać substancje stosowane w leczeniu nadciśnienia czy otyłości mogą prowadzić do błędnej interpretacji stanu zdrowia chorego. Sytuacją równie niebezpieczną są przekroczone maksymalne dozwolone jednorazowe dawki substancji zawartych w zafałszowanych suplementach.

## **Summary**

### **Background**

According to European Law, dietary supplements are registered as food in Poland. All over the world there has been many cases concerns counterfeited dietary supplements used as weight loss agents. These products can be bought in commonplace pharmacies, herbal and medical shops, grocery shops or even through the Internet. Despite them being treated as drugs by their consumers, they are subject to far less strict regulations. Some of the counterfeited products contain substances not included in the description of the product.

### **Aim of the study**

The purpose of this paper is to assert the safety of using dietary supplements aimed at weight loss. It will be determined if their ingredients, the amount and type of them, as well as their microbiological purity is considered adequate for their intended purposes and does not pose any health risks.

### **Materials and methods**

As part of this research, 100 dietary supplements were tested. Out of these, 67 were obtained through a social campaign - in exchange for testing the supplied product for free. The rest of the samples were purchased directly. 29 were tested for caffeine and 23 for sibutramine. 17 % of the samples were tested for microbiological contamination with pathogenic fungi. A total of 139 valid responses were collected for a survey on the usage of weight loss supplements. Interestingly, out of these, 60 had normal BMI, meaning they did not have any reason to take these supplements in the first place.

Qualitative analysis was performed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). For quantitative analysis, UHPLC was used. Liquid-solid extraction with methanol was used for analytes isolation.

Both methods for quantitative analysis developed in this study have been validated by specifying parameters such as precision, the range of the calibration curve, limit of quantification, limit of detection, accuracy and the determination coefficient. The analyzed supplements were subjected to macro- and microscopic microbiological examinations for pathogenic molds, using the lamellar method, to calculate the CFU / ml index and test using the MALDI-TOF method.

## **Results**

During testing, a number of alarming facts were discovered for the majority of the samples. Over half of them had changed ingredients from what was reported on their labels, 33 contained substances that should only be used in drugs, while 30 had misleading labels aimed at hiding their real contents. There were two instances where the maximum allowed dosage of caffeine was exceeded. Additionally, 45% of the samples were contaminated with fungi.

These supplements have caused side effects in 60% of the surveyed. One in three suffered from chronic illnesses and over 60% did not follow any diet while using these supplements. These products were usually bought through the Internet (60% of cases). Only 25 were registered in GIF, while over 50 were not even registered in Poland. 3 samples should not have been sold anymore and in one case it was noted in the supplements' registry that it should not be sold at all.

For supplements containing sibutramine, the consistency of the amount of the active ingredient was also tested. In the 10 samples from the same batch (same name of the supplement, expiration date and serial number), only one was within the restrictions set in Polish Pharmacopoeia for drugs.

Out of the supplements that tested positive during the microbiological analysis, 5 contained sibutramine, while 2 caffeine.

The results indicate that dietary supplements are often fraudulent products. They contain harmful substances and are frequently consumed by users who are not aware of their possible side effects and conflicts with other drugs. Due to poor manufacturing conditions, they are quite often contaminated with fungi. As a result of their very inconsistent quality, it is recommended to test more than one sample from a given batch for proper results.

## **Conclusions**

1. In studies of adulterated dietary supplements, it is necessary to analyze each portion or as much available quantity as possible due to the lack of repeatability of the dosage within one pack of supplements.

2. It should not be assumed that the dose of the active substance in the counterfeited dietary supplement will be the same as in already analyzed product in spite of the same name and serial number.
3. It is necessary to examine dietary supplements for the presence of mold.
4. The GC-MS method has proven to be effective in the qualitative analysis of dietary supplements.
5. The use of UHPLC for quantitative analysis has proved to be effective and sufficient, but it is advisable to confront the results obtained using LC-MS (which was not possible due to the insufficient amount of material collected)
6. The MALDI-TOF method has limitations on the identification of mold, mainly due to the construction of micro-organisms. For mold, it would be advisable to use the sequencing method to confirm the type of fungus.
7. The provisions for the marketing of dietary supplements should be tightened and similar to those referring to medications
8. If there is no indication of genuine composition, it is impossible to determine whether there are contraindications to use a dietary supplement. Factors that increase the risk of life-threatening conditions are differences in the content of active substance occurring even within one package. The absence of a doctor's control in pharmacotherapy with substances such as sibutramine, caffeine or phentermine should not occur. Failure to inform the patient's physician about supplements that may contain substances used to treat hypertension or obesity may lead to misinterpretations of patients health. An equally dangerous situation is the exceed the maximum allowable single dose of substances contained in the counterfeited supplements.