

# WITAMINY

## 1. Wiadomości ogólne

Witaminy to niskocząsteczkowe związki organiczne, których obecność w organizmie w niewielkich ilościach jest niezbędna do prawidłowego przebiegu wielu procesów metabolicznych. Dla wielu organizmów, w tym zwierząt i człowieka są to związki egzogenne i muszą być dostarczane z pożywieniem.

Niektóre witaminy mogą być syntetyzowane z prekursorów zwanych prowitaminami np. witamina A z karotenoidów, witamina D<sub>3</sub> z 7-dehydrocholesterolu, czy witamina PP na jednej z dróg przemiany tryptofanu.

Witamina K i niektóre witaminy z grupy B mogą być syntetyzowane przez florę bakteryjną przewodu pokarmowego.

Klasyfikację witamin opiera się przede wszystkim na właściwościach fizycznych, dzieląc witaminy na:

- rozpuszczalne w tłuszczach
  - witamina A (retinol i jego pochodne)
  - witamina D (cholekalcyferol)
  - witamina E (tokoferol)
  - witamina K (filochinon)
- rozpuszczalne w wodzie
  - witamina C (kwas askorbinowy)
  - Witamina B<sub>1</sub> (tiamina)
  - Witamina B<sub>2</sub> (ryboflawina)
  - Witamina B<sub>3</sub> (niacyna)
  - Witamina B<sub>5</sub> (kwas pantotenowy)
  - Witamina B<sub>6</sub> (pirydoksyna)
  - Witamina B<sub>7</sub> (biotyna, witamina H)
  - Witamina B<sub>12</sub> (cyjanokobalamina)
  - kwas foliowy.

Budowa chemiczna witamin jest bardzo zróżnicowana i dlatego trudno je zaliczyć do określonej grupy związków, chociaż w oparciu o obecność azotu w cząsteczce możemy je podzielić na dwie grupy:

- a) witaminy będące związkami azotowymi – wszystkie witaminy z grupy B,
- b) witaminy nie zawierające azotu – A, D, E, K i C.

Większość witamin ma budowę pierścieniową lub zawiera w swoim składzie struktury pierścieniowe (za wyjątkiem kwasu askorbinowego i pantotenowego). Stosując kryteria klasyfikacji związków organicznych oba wyżej wymienione kwasy należą do związków

alifatycznych, natomiast witaminy A i D do związków alicyklicznych, witamina K do aromatycznych, a pozostałe witaminy do związków heterocyklicznych.

Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach są cząsteczkami polarnymi, hydrofobowymi, pochodnymi izoprenu mogą być magazynowane w organizmie nie muszą, więc być dostarczane w diecie codziennie a ich dostępność zależy od prawidłowego wchłaniania tłuszczów. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach uczestniczą między innymi w regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej, regulacji procesu krzepnięcia krwi, pełnią funkcję antyoksydacyjną, są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania tkanki nabłonkowej i procesu widzenia.

Witaminy rozpuszczalne w wodzie nie są magazynowane w organizmie, ich nadmiar wydalany jest z moczem, dlatego istotne jest ich codzienne dostarczanie z pożywieniem.

Witaminy rozpuszczalne w wodzie pełnią głównie funkcję koenzymów bądź kofaktorów wielu układów enzymatycznych uczestnicząc w metabolizmie cukrów, tłuszczów, białek oraz w gospodarce mineralnej organizmu.

W analizie jakości produktów spożywczych oznaczanie zawartości witamin zajmuje ważną pozycję. Jakościowe i ilościowe oznaczanie zawartości witamin i prowitamin wykonuje się różnymi metodami chemicznymi i fizykochemicznymi, a także mikrobiologicznymi. Metody chemiczne i fizykochemiczne opierają się na oznaczeniach kolorymetrycznych, spektrofotometrycznych, fluorymetrycznych, czy miareczkowych. W oznaczaniu witamin wykorzystuje się coraz częściej wysokosprawną chromatografię cieczową. W testach mikrobiologicznych wykorzystuje się fakt, że niektóre bakterie wymagają do swojego wzrostu określonych witamin (np. witamina B<sub>2</sub> jest niezbędna dla wzrostu bakterii kwasu mlekowego). Wybór metody zależy od badanej witaminy i jej stężenia w badanym materiale.

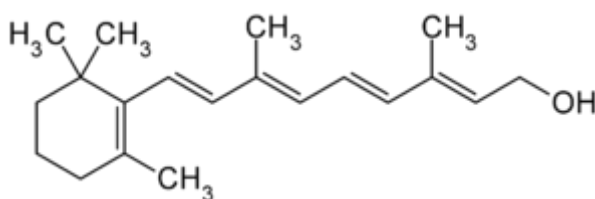
Ilościowe oznaczanie witamin w produktach spożywczych sprawia wiele trudności, co jest spowodowane występowaniem ich w bardzo małych ilościach oraz wrażliwością na czynniki fizykochemiczne. Duża część witamin występuje w produktach w postaci związanej, co wymaga zastosowania np. hydrolizy kwasowej lub enzymatycznej.

Witaminy występują w produktach spożywczych w sposób naturalny lub mogą być wprowadzone do nich jako dodatek w trakcie procesów technologicznych. Dodatek witamin do artykułów żywnościowych jest stosowany głównie w celu wyrównania strat witamin istotnych dla zdrowia, a typowych dla tych produktów. Najczęściej są to witaminy A i D, C oraz witaminy z grupy B.

## 2. Charakterystyka fizykochemiczna, występowanie w żywności, trwałość oraz metody wykrywania wybranych witamin

### 2.1. Witamina A

Pojęcie witaminy A obejmuje związki z grupy polienów mające w składzie pierścień  $\beta$ -jononu i wykazujące aktywność biologiczną retinolu (forma alkoholowa witaminy A), do których zalicza się oprócz retinolu również retinal (forma aldehydowa), estry retinolu (octowy i palmitynowy) oraz kwas retinowy.



Rys. Wzór strukturalny retinolu

Bezpośrednimi prekursorami witaminy A są karotenoidy, zawierające co najmniej jeden pierścień  $\beta$ -jononowy, które są bardzo rozpowszechnione w świecie roślinnym. W organizmie zwierzęcym witamina A tworzy się wskutek enzymatycznego, połączonego z utlenieniem rozpadu prowitaminy. Czysty retinol jest znacznie lepiej wykorzystywany z pożywienia aniżeli karotenoidy, dlatego zawartość witaminy A w produktach spożywczych określa się przez osobne ustalenie ilości retinolu i karotenoidów (szczególnie istotne znaczenie ma  $\beta$ -karoten), a następnie przelicza się na równoważniki (ekwiwalent) retinolu.

Karotenoidy obejmują liczną grupę związków, głównie barwników roślinnych – czerwonych, czerwono pomarańczowych, pomarańczowych i żółtych. Barwa jest uwarunkowana obecnością sprzężonych wiązań podwójnych. Wiele karotenoidów nie wykazuje właściwości witaminy A, np. likopen o barwie pomarańczowej występujący w pomidorach.

Źródła witaminy A w żywności:

#### a) produkty pochodzenia zwierzęcego

- podroby (zwłaszcza wątroba) – 1500  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g
- tłuste ryby (tuńczyk, węgorz) – 150-1500  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g
- jaja – 270  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g
- masło – 814  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g
- sery dojrzewające 200-500  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g

#### b) produkty roślinne

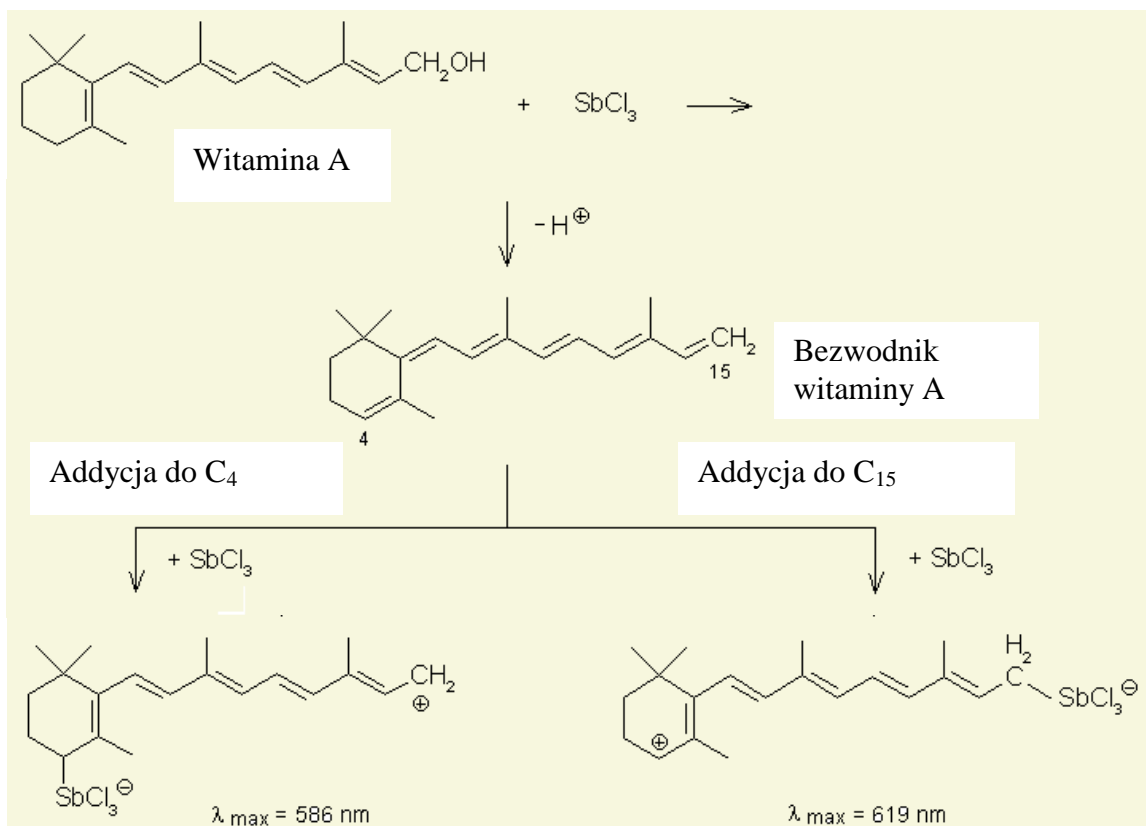
- marchew – 1656  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g
- nać pietruszki – 902  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g
- szpinak – 707  $\mu$ g ekwiwalentu wit. A/ 100g

- boćwina – 670 µg ekwiwalentu wit. A/ 100g
- czerwona papryka – 528 µg ekwiwalentu wit. A/ 100g
- morele – 254 µg ekwiwalentu wit. A/ 100g

Zarówno retinol jak i beta-karoten należą do witamin wrażliwych na działanie tlenu, światła i wysokiej temperatury, zwłaszcza w środowisku kwaśnym. Witamina A oraz prowitamina w środowisku beztlenowym są trwałe w temperaturze do 130°C. W wyższej temperaturze są możliwe termiczne przemiany obejmujące, min. stereoizomeryzację oraz cyklizację łańcucha nienasyconego. W obecności tlenu substancje te łatwo ulegają rozkładowi. Proces jest przyspieszany przez: promienie UV, enzymy, jony metali ciężkich, nadtlarki. Produkty utleniania witaminy A i karotenów są biologicznie nieczynne. W związku z tym w trakcie procesów kulinarnych w warunkach domowych jak i procesów technologicznych w trakcie produkcji dochodzi do około 20% strat tej witaminy.

Karotenoidy jak i retinol można wyekstrahować z badanego materiału za pomocą rozpuszczalników organicznych, najczęściej chloroformu, a także alkoholu i acetonu.

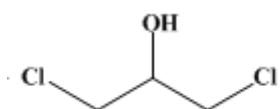
Obecne w rozpuszczalniku związki z tej grupy dzięki obecności w ich budowie wiązań podwójnych sprzężonych tworzą w obecności trichlorku antymonu (odczynnik Carra-Price'a - nasycony chloroformowy roztwór trichlorku antymonu) chromofory barwy niebieskiej.



Witamina A daje również barwne produkty w reakcji z kwasem trichlorooctowym, trifluorooctowym w roztworach chloroformowych, z chlorkiem metylenu lub etylenu. W

reakcjach tych zachodzą interferencje obcych substancji. Witaminę A można również wykryć i oznaczyć ilościowo poprzez pomiar absorpcji w nadfiolecie ( $\lambda=325\text{nm}$ ), jednak i w tym przypadku w oznaczeniu mogą przeszkadzać substancje wykazujące absorpcję w tym samym zakresie długości fali.

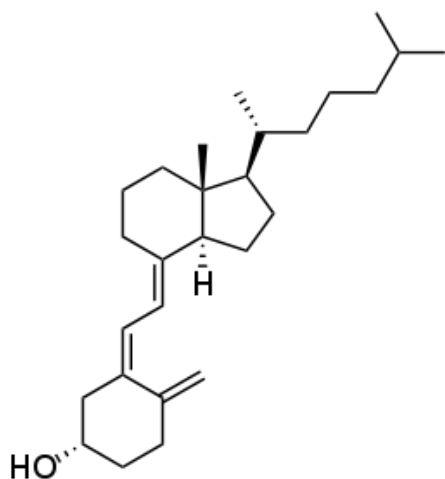
Inną metodą oznaczania witaminy A jest reakcja z 1,3-dichlorohydryną gliceryny, lub aktywowaną dichlorohydryną (otrzymaną przez destylację 1,3-dichlorohydryny gliceryny pod zmniejszonym ciśnieniem). Reakcję tę przeprowadza się zwykle w obecności trichlorku antymonu.



1,3-dichlorohydryna gliceryny

## 2.2. Witamina D

Witamina D stanowi grupę związków o budowie sterydowej. Witaminy D z tej grupy powstają z odpowiednich prowitamin w wyniku przemiany fotochemicznej i termicznej. Najbardziej efektywną długością fali do otrzymania witaminy D jest 280 nm. Istnieje ok. 10 prowitamin, z których powstają związki o aktywności witaminy D. Z punktu widzenia żywienia człowieka najważniejsze są witaminy D<sub>2</sub> i D<sub>3</sub>, nazywane odpowiednio ergokalcyferolem i cholekalcyferolem. Prowitaminą cholekalcyferolu jest 7-dehydrocholesterol, natomiast ergokalcyferolu – ergosterol.



Rys. Wzór strukturalny witaminy D<sub>3</sub> (cholekalcyferolu)

Witamina D występuje w żywności w niewielkich ilościach, głównie w produktach pochodzenia zwierzęcego.

Źródła witaminy D w żywności:

- tłuste ryby (śledź, łosoś, pstrąg tęczowy) – powyżej 10  $\mu\text{g}$  wit. D/ 100g
- margaryny wzbogacane – 5-10  $\mu\text{g}$  wit. D/ 100g
- kurczak – 2-5  $\mu\text{g}$  wit. D/ 100g
- wątroba wieprzowa i wołowa- poniżej 2  $\mu\text{g}$  wit. D/ 100g

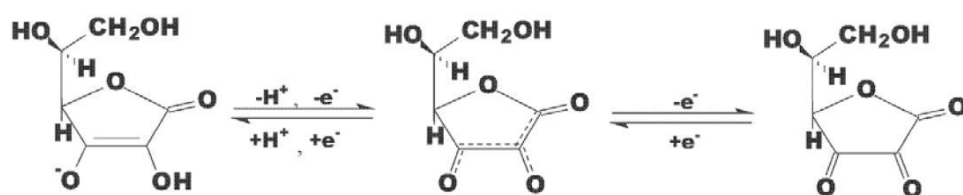
Witamina D jest odporna na działanie podwyższonej temperatury i nie zmienia się w czasie długotrwałego przechowywania. Jest również trwała w środowisku zasadowym, natomiast jest wrażliwa na działanie kwasów. Pod wpływem silnego promieniowania UV ulega zniszczeniu. Roztwory tłuszczu stabilizują witaminę D, w środowisku beztłuszczowym w obecności tlenu witamina D łatwo ulega autooksydacji. Jej straty w procesach przetwórczych są niewielkie.

Witaminę D można wykryć w tych samych reakcjach co karotenoidy i retinol, z tym, że witamina D daje w nich połączenia o innych barwach. W przypadku produktów zawierających obie witaminy można zastosować reakcję z odczynnikiem Carra-Price'a, w której pochodna witaminy A o barwie niebieskiej powstaje wcześniej, niż chromofor o barwie fioletowej, będący pochodną witaminy D.

Do wykrywania witaminy D można zastosować spektrofotometrię w ultrafiolecie (np. przy  $\lambda = 264 \text{ nm}$ ), a także w podczerwieni. Można zastosować ponadto fluorymetrię do dodaniu bezwodnika kwasu octowego i kwasu siarkowego w obecności witaminy D następuje fluorescencja badanego roztworu po odpowiedniej aktywacji światłem. Witaminę D wykrywa się również w reakcji z aniliną, z którą w obecności stężonego kwasu solnego witamina ta daje czerwone zabarwienie.

### 2.3. Witamina C

Witamina C, czyli kwas L/+ askorbowy zwana potocznie kwasem askorbinowym jest dobrze rozpuszczalna w wodzie i stanowi ważny układ oksydoredukcyjny działający w środowisku kwaśnym. Podczas reakcji jej forma endiolowa oddaje 2 atomy wodoru i przechodzi w kwas dehydroaskorbinowy. Atomy wodoru wykorzystywane są w procesach hydroksylacji np. proliny w hydroksyprolinę, w przemianie fenyloalaniny i tyrozyny.



kwas askorbinowy

kwas dehydroaskorbinowy

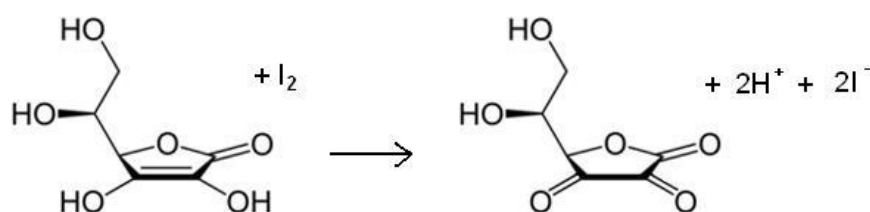
Podstawowym źródłem witaminy C w żywności są warzywa, owoce i ziemniaki. Jednak poszczególne warzywa i owoce różnią się zawartością tej witaminy w bardzo dużym zakresie.

Źródła witaminy C w żywności:

- natka pietruszki – 178 mg wit. C/100g
- papryka czerwona – 144 mg wit. C/100g
- brukselka i brokuły – 83-94 mg wit. C/100g
- inne warzywa kapustne – 68-48 mg wit. C/100g
- ziemniaki – 14 mg wit. C/100g
- czarne porzeczki – 182 mg wit. C/100g
- truskawki – 66 mg wit. C/100g
- kiwi - 59 mg wit. C/100g
- cytryny - 50 mg wit. C/100g

Witamina C wykazuje dużą wrażliwość na działanie różnych czynników środowiskowych np.: tlenu i temperatury oraz obojętne i alkaliczne pH środowiska. Po utlenieniu do kwasu dehydroaskorbinowego łatwo ulega dalszemu rozkładowi, tracąc jednocześnie właściwości witaminy. Obecne w produktach roślinnych enzymy z grupy oksydaz przyspieszają utlenianie kwasu askorbinowego. W warunkach beztlenowych jest on odporny na wysoką temperaturę. Kwas dehydroaskorbinowy jest mniej trwały w tych warunkach i tym tłumaczy się straty witaminy C podczas ogrzewania. W obecności tlenu obie formy ulegają nieodwracalnemu utlenianiu do produktów nieaktywnych biologicznie, zwłaszcza w obecności jonów niektórych metali, szczególnie  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{3+}$ .

Klasyczne metody oznaczania witaminy C polegają na wykorzystaniu właściwości redukujących tej witaminy. Witamina C redukuje niebieski związek 2,6-dichlorofenolindofenol do produktu barwy różowej sama utleniając się do kwasu dehydroaskorbinowego. Barwnik 2,6-dwuchlorofenolindofenol utlenia kwas askorbinowy a sam redukuje się do formy, która jest bezbarwna. Barwnik ten jest jednocześnie indykatorem, który w środowisku kwaśnym przybiera barwę różową a w zasadowym niebieską. Na redukujących właściwościach kwasu askorbinowego bazuje kilka innych metod, w których w charakterze czynników utleniających stosowane są heksacyjanożelazian(III) potasu, jodan lub bromian potasu, błękit metylenowy. Można również wykorzystać do wykrywania witaminy C reakcję redukcji jodu przez kwas askorbinowy.



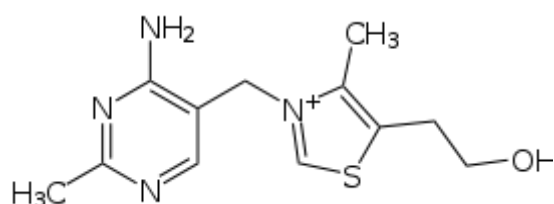
Rys. Reakcja kwasu askorbinowego z jodem

Niektóre z fizykochemicznych metod oparte są na tworzeniu osazonów w reakcji kwasu dehydroaskorbinowego z 2,4-dinitrofenylohydrazyną.

## 2.4. Witamina B<sub>1</sub> (tiamina)

Chemicznie witamina B<sub>1</sub> jest związkiem zawierającym pierścień pirymidynowy i tiazolowy. Jest prekursorem pirofosforanu tiaminy, który pełni funkcje koenzymu w reakcjach dekarboksylacji  $\alpha$ -oksokwasów oraz reakcjach katalizowanych przez transketolazy. Witamina B<sub>1</sub> łatwo rozpuszcza się w wodzie trudniej w etanolu i nie rozpuszcza w eterze czy acetonie.

Tiamina występuje w znacznych ilościach zarówno w produktach pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Spośród produktów roślinnych wyjątkowo dobrym źródłem są produkty zbożowe i suche nasiona roślin strączkowych. W produktach zbożowych zawartość tej witaminy waha się w zależności od gatunku zboża, wysokości wymiału oraz procesów technologicznych stosowanych w produkcji. W produktach zwierzęcych charakteryzują się zróżnicowaną zawartością tej witaminy w zależności od udziału tkanki mięśniowej i łącznej oraz tłuszczu.



Rys. Wzór strukturalny witaminy B<sub>1</sub> (tiaminy)

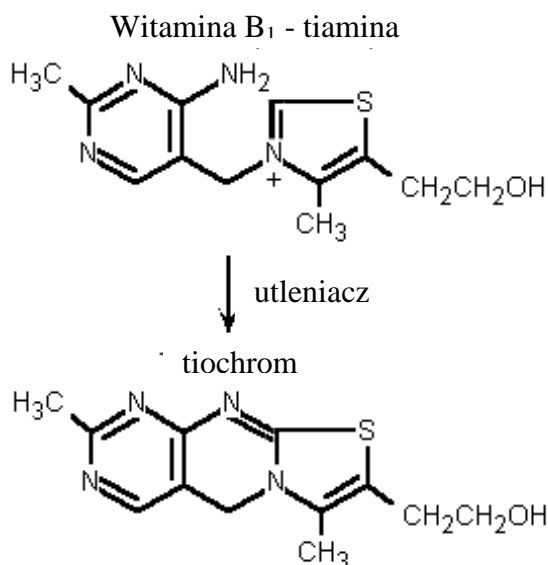
Źródła witaminy B<sub>1</sub> w żywności:

- drożdże – powyżej 1 mg wit. B<sub>1</sub> /100g
- soczewica czerwona - powyżej 1 mg wit. B<sub>1</sub> /100g
- wieprzowina (schab) – 0,98 mg wit. B<sub>1</sub> /100g
- kasze: gryczana i jaglana, otręby pszenne – 0,5- 1,0 mg wit. B<sub>1</sub> /100g
- nasiona roślin strączkowych - 0,5- 1,0 mg wit. B<sub>1</sub> /100g
- mąka, makarony, pieczywo pszenne i żytnie – 0,1-0,5 mg wit. B<sub>1</sub> /100g
- ryby (makrele, łososie) – 0,1-0,5 mg wit. B<sub>1</sub> /100g

Tiamina jest stosunkowo termostabilna, zwłaszcza w środowisku kwaśnym. W środowisku zbliżonym do obojętnego lub w zasadowym ulega rozkładowi na pojedyncze układy pierścieniowe, tracąc aktywność biologiczną. W wyniku rozpadu tiaminy powstaje tiochrom, związek wykazujący niebieską fluorescencję w świetle UV. Destrukcyjnie działa na



tiaminę również  $\text{SO}_2$ . Straty witaminy podczas zabiegów kulinarnych i technologicznych są zatem najmniejsze w środowisku kwaśnym i przy ograniczonym dostępie tlenu.

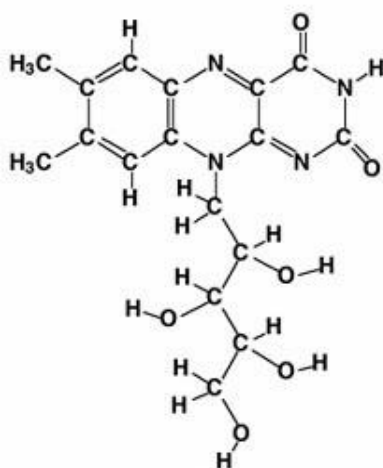


Rys. Powstawanie tiochromu z tiaminy

Oznaczanie tiaminy w żywności wymaga jej ekstrakcji skojarzonej z hydrolizą w celu uwolnienia z połączeń z białkami. Do wykrywania witaminy B<sub>1</sub> można zastosować metodę tiochromową, jednak w reakcji tej powstaje wiele innych związków fluoryzujących, które należy usunąć z ekstraktu z użyciem kolumn wypełnionych kationitem. Do oznaczania tiaminy wykorzystuje się również metodę opartą na reakcji między tiaminą a diazowaną aminą aromatyczną i pomiarze absorbancji powstałego związku w świetle UV.

## 2.5. Ryboflawina

Ryboflawina to związek o zabarwieniu żółtopomarańczowym, należącym do grupy barwników zwanych flawinami. Podstawowym elementem budowy ryboflawiny jest układ izoaloksazynowy (trójpierścieniowy):

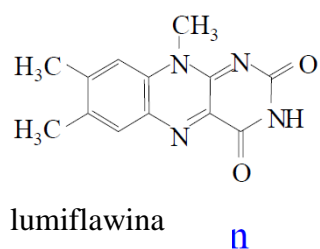
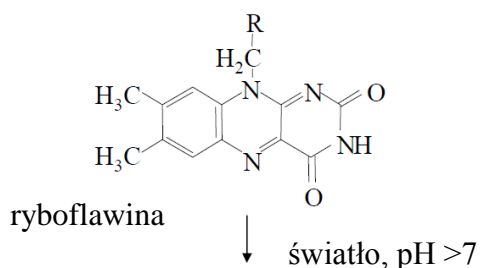


Rys. Ryboflawina

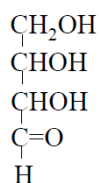
Ryboflawina tworzy dwie formy koenzymatyczne: fosforan ryboflawiny, czyli mononukleotyd flawinowy (FMN) i di nukleotyd flawinoadeninowy (FAD).

Ryboflawina łatwo rozpuszcza się w roztworach zasadowych, lub w obecności innych substancji (NaCl, amid kwasu nikotynowego), trudniej w wodzie. Nie rozpuszcza się w większości rozpuszczalników organicznych. Roztwory ryboflawiny wykazują żółtozieloną fluorescencję, największą w pH 6-8.

Najbardziej charakterystyczną właściwością ryboflawiny jest jej wrażliwość na działanie światła., tzn. jej fotolabilność. Fotochemiczny rozkład ryboflawiny w obojętnych lub kwaśnych roztworach prowadzi do powstania lumichromu, natomiast w alkalicznym środowisku produktem fotolizy jest lumiflawina. Lumiflawina wykazuje silniejszą fluorescencję niż ryboflawina, co jest wykorzystywane w wykrywaniu tej witaminy w żywności. Fluorymetryczne oznaczanie ryboflawiny również znajduje zastosowanie w praktyce. Przez wykonaniem oznaczeń witaminy B<sub>2</sub> tą metodą należy poddać próbkę hydrolizie enzymatycznej, gdyż FMN i FAD wykazują znacznie mniejszą fluorescencję.



+



tetroza

Ryboflawina jest związkiem termostabilnym, jednak obserwuje się znaczne straty tej witaminy podczas obróbki i przygotowywania potraw. Jest to spowodowane jej fotolabilnością. Np. w mleku rozprowadzanym w szklanych opakowaniach straty tej witaminy spowodowane

działaniem światła są znaczne. Również suszenie produktów spożywczych w świetle słonecznym powoduje rozkład ponad 50% tej witaminy.

**Opracowano na podstawie:**

Gawęcki J.: „Witaminy”, Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Poznań 2002

Kunachowicz H., Nadolna I. i in.: „Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw”, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009

„Instrukcje do ćwiczeń laboratoryjnych z analizy żywności” Materiały dostępne w Internecie: [www.chem.ug.edu.pl/analiza/dydaktyka/zywnosc7.pdf](http://www.chem.ug.edu.pl/analiza/dydaktyka/zywnosc7.pdf)

Moszczycki P., Pyć R.: „Biochemia witamin”, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1998.

Stryjecka-Zimmer M.: „Przepisy do ćwiczeń z biochemii dla studentów Wydziału Lekarskiego”, Lublin 2004. Materiały dostępne w Internecie: [www.lekarski.linuxpl.eu/2lek/download.php?id=24](http://www.lekarski.linuxpl.eu/2lek/download.php?id=24)