

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ

ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΓΕΝΙΚΑ...

- Είναι απαραίτητες για την φυσιολογική ανάπτυξη, συντήρηση και λειτουργία του οργανισμού που δεν είναι σε θέση να τις συνθέσει.
- Ρυθμίζουν την ισορροπία του νευρικού συστήματος.
- Δεν έχουν θερμιδική αξία.
- Ρυθμίζουν την μεταβολική διαδικασία και την απορρόφηση των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και των λιπών.

ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ

- Υδατοδιαλυτές

- ❖ Σύμπλεγμα βιταμινών Β

1. **B1 (Θειαμίνη)**

2. **B2 (Ριβοφλαβίνη)**

3. **B4 (Νιασίνη)**

4. **B5 (Παντοθενικό οξύ)**

5. **B6 (Πυριδοξίνη)**

6. **B8 (Βιοτίνη)**

7. **B9 (Φολικό οξύ)**

8. **B12 (Κοβαλαμίνη)** Κύρια πηγή τους είναι το γάλα, το ασπράδι αβγού, το κρέας, τα ψάρια, το λάδι και οι πατάτες

9. **Βιταμίνη C (Ασκορβικό οξύ)** Κύρια πηγή της είναι τα φρέσκα λαχανικά και τα εσπεριδοειδή

ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ

- Λιποδιαλυτές
 1. **Βιταμίνη Α** (ψάρια, γαλακτοκομικά, καρότα)
 2. **Βιταμίνη D (D2 & D3** γάλα)
 3. **Βιταμίνη Ε** (έλαια και ορισμένα λαχανικά)
 4. **Βιταμίνη Κ** (φύλλα φυτών)

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ

- Χημικές
- Φυσικοχημικές
- Μικροβιολογικές
- Βιολογικές

ΘΕΙΑΜΙΝΗ Β1

- Είναι λευκό, κρυσταλλικό σώμα, υγροσκοπικό με $M_B=337,3$
- Είναι διαλυτή στο νερό και την αλκοόλη, αδιάλυτη στον αιθέρα και το βενζόλιο.
- Είναι σχετικά σταθερή στην θερμοκρασία, αλλά σε θ αποστείρωσης καταστρέφεται.
- Σε όξινο pH διατηρεί την ενεργότητά της, αλλά καταστρέφεται σε ουδέτερο ή αλκαλικό περιβάλλον.



ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ Β1

- Μέθοδος θειοχρώματος (φθορισμομετρική)

Στηρίζεται στην εκχύλιση της θειαμίνης με θερμό αραιό HCl και κατεργασία του εκχυλίσματος με διάλυμα φωσφατάσης . Το προϊόν της υδρόλυσης χρωματογραφείται και η εκλούμενη θειαμίνη οξειδώνεται με διάλυμα σιδηροκυανιούχου καλίου προς θειόχρωμα που μετριέται φθορισμομετρικά στα 435nm.

- Χρωματογραφικός προσδιορισμός με **HPLC**

Η θειαμίνη εκχυλίζεται από το τρόφιμο με θειικό οξύ. Το προϊόν της υδρόλυσης κατεργάζεται με παπαίνη και τριχλωρικό οξύ. Ακολουθεί φυγοκέντριση και χρωματογραφία με **HPLC**. Ακολουθεί φθορισμομετρικός προσδιορισμός όπως προηγουμένως.

- Χρωματομετρικός προσδιορισμός

Στηρίζεται στην αντίδραση της θειαμίνης με διάλυμα άλατος **Reinecke** που δίνει ίζημα. Το ίζημα διαλύεται σε ακετόνη και μετριέται χρωματομετρικά στα 435 nm.

- Σταθμικός προσδιορισμός

Στηρίζεται στην καταβύθιση της θειαμίνης κατόπιν αντίδρασης με πυριτοβολφραμικό και υδροχλωρικό οξύ. Το ίζημα εκπλένεται , ξηραίνεται και ζυγίζεται. 1g ιζήματος=0,193 g θειαμίνης.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ Β1

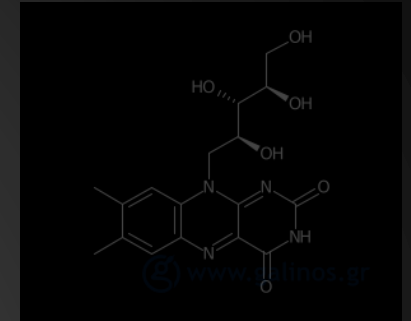
- **Ογκομετρικός προσδιορισμός**

Με την προηγούμενη καταβύθιση, στο ίζημα προστίθεται δείκτης και ογκομετρείται με πρότυπο πυριτοβολφραμικό οξύ. Σαν τελικό σημείο λαμβάνεται η μετατροπή του χρώματος από κίτρινο σε μωβ. 1mL πυριτοβολφραμικού οξέος 0,05N=8,43mg θειαμίνης.

- **Μικροβιολογικός προσδιορισμός**

Στηρίζεται στην κατανάλωση της θειαμίνης για την ανάπτυξη του μικροοργανισμού *Ochromonas danica*. Το εκχύλισμα του δείγματος προστίθεται στο θρεπτικό υλικό , μετά προστίθεται ο μικροοργανισμός και ακολουθεί επώαση στους 27 ° C για 5-7 μέρες κάτω από φθορίζον φως. Κατόπιν μετριέται η ένταση του θολώματος στα 436 nm. Κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη και η ποσότητα της θειαμίνης στο άγνωστο δείγμα προσδιορίζεται γραφικά.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ Β2



- Είναι κρυσταλλικό στερεό με MB=376
- Είναι ελάχιστη διαλυτή στο νερό, είναι λίγο διαλυτή στην αιθανόλη.
- Έχει πικρή γεύση και εμφανίζει κιτρινοπράσινο φθορισμό.
- Είναι σταθερή έναντι της θ , των ισχυρών οξέων και της οξείδωσης.
- Συναντάται και ελεύθερη και δεσμευμένη με πρωτεΐνες στο γάλα.
- Προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά, φθορισμομετρικά, χρωματογραφικά & μικροβιολογικά

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ Β2

- **Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός**

Η ριβοφλαβίνη εκχυλίζεται από ξηρά δείγματα με θερμό HCl σε ατμόλουτρο. Το εκχύλισμα αποχρωματίζεται κατόπιν οξείδωσης με KMnO_4 και ακολουθεί μέτρηση της απορρόφησης στα 267nm.

- **Φθορισμομετρικός προσδιορισμός**

Ακολουθείται η παραπάνω διαδικασία παραλαβής της ριβοφλαβίνης. Μετριέται ο φθορισμός του αποχρωματισθέντος διαλύματος πριν και μετά την αναγωγή της ριβοφλαβίνης με διθειώδες νάτριο. Η διαφορά στον φθορισμό είναι ανάλογη του ποσού της περιεχόμενης Β2.

- **Χρωματογραφικός προσδιορισμός (HPLC)**

Προσδιορίζεται απευθείας σε στήλη με ανιχνευτή φθορισμού στα 545nm με την βοήθεια πρότυπης καμπύλης.

- **Μικροβιολογικός προσδιορισμός**

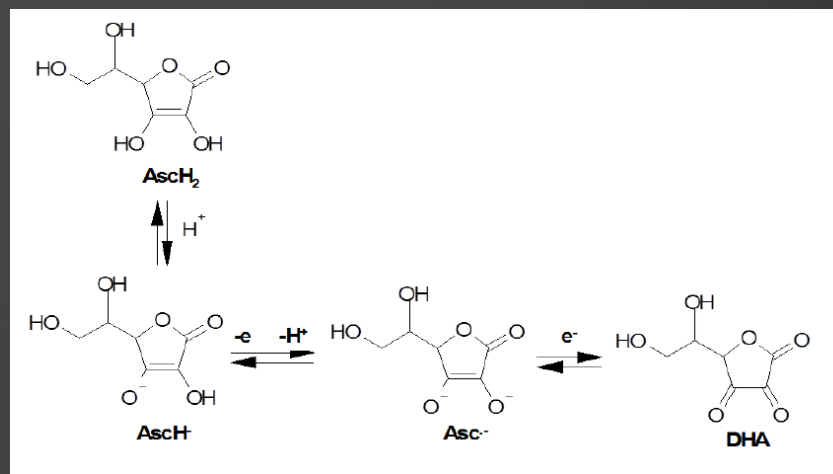
Προσδιορίζεται με την βοήθεια του μικροοργανισμού *Lactobacillus casei*. Το σύστημα επωάζεται στους 37°C επί 72 ώρες. Ακολουθεί νεφελομετρική ανάλυση.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ Β6, Β12 & ΝΙΑΣΪΝΗ

- Η νιασίνη προσδιορίζεται μικροβιολογικά με τον μικροοργανισμό *Lactobacillus plantarum*.
- Η Β6 (πυριδοξίνη) προσδιορίζεται μικροβιολογικά με τον μικροοργανισμό *Saccharomyces carlsbergensis*.
- Η Β12 (κοβαλαμίνη) προσδιορίζεται μικροβιολογικά με τον μικροοργανισμό *Lactobacillus leichmanii*.

ΒΙΤΑΜΙΝΗ C

- Είναι παράγωγο εξοζών και για αυτό μπορεί να ταξινομηθεί στους υδατάνθρακες.
- Εμφανίζεται σε δύο μορφές, το ασκορβικό οξύ (ανηγμένη μορφή) και το δεύδρο-ασκορβικό οξύ (οξειδωμένη μορφή). Οι δύο μορφές είναι αντιστρεπτές.



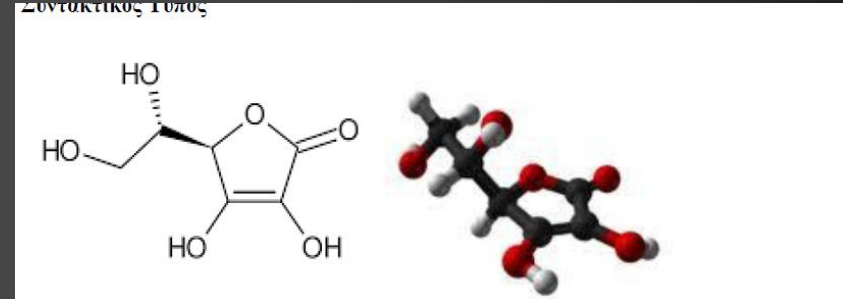
ΒΙΤΑΝΙΝΗ C

- **Ευεργετικές ιδιότητες**

1. Αντιοξειδωτικές ιδιότητες
2. Αντικαρκινική δράση
3. Συμμετέχει στην σύνθεση ορμονών των επινεφριδίων
4. Βελτιώνει αγγειακή λειτουργία
5. Συμμετέχει στον σχηματισμό κολλαγόνου
6. Επιδιόρθωση συνδετικού ιστού δοντιών, οστών, χόνδρων
7. Διατηρεί ακέραια τα τριχοειδή αγγεία
8. Ενισχύει απορρόφηση σιδήρου
9. Ρυθμίζει τα επίπεδα της χοληστερόλης στο αίμα
10. Διεγείρει τους φυσικούς αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού

ΒΙΤΑΜΙΝΗ C

- Έλλειψη βιταμίνης C
 1. Κίνδυνος εμφάνισης σκορβούτο
 2. Πρόκληση καρδιαγγειακών νοσημάτων
 3. Βραδεία επούλωση πληγών, καταγμάτων
 4. Αναιμία
 5. Μειωμένη αντίσταση στις λοιμώξεις
 6. Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο της Ε.Ε. (E300)



ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΣΕ ΒΙΤΑΜΙΝΗ C

| ΤΡΟΦΙΜΟ | mg/100 g |
|--|----------|
| Αγριοτριανταφυλλιά | 2000 |
| Φραγκοστάφυλα | 200 |
| Πράσινες πιπεριές | 100 |
| Ακτινίδια, λαχανάκια Βρυξελλών, μπρόκολο | 90 |
| Μάνγκο | 80 |
| Κουνουπίδι | 60 |
| Λάχανο | 55 |
| Πορτοκάλια, φράουλες | 50 |
| Γκρέιπ φρουτ, λεμόνια | 40 |
| Γλυκοπατάτες | 25 |
| Ντομάτες | 20 |
| Πατάτες, νέας εσοδείας | 16 |
| Σαλάτα μαρούλι | 15 |
| Μπανάνες | 10 |
| Μήλα | 6 |

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C

- **Χημικός/ Ογκομετρικός προσδιορισμός**

Στηρίζεται στις αναγωγικές ιδιότητες του ασκορβικού οξέος. Ανάγει ποσοτικά τον δείκτη 2,6-διχλωροφαινολ-ινδοφαινόλη. Το διάλυμα οξινίζεται και ακολουθεί ογκομέτρηση με δείκτη. Σαν τελικό σημείο της ογκομέτρησης λαμβάνεται το σημείο σχηματισμού ελαφράς ρόδινης χροιάς.

- **Φθορισμομετρικός προσδιορισμός**

Στηρίζεται στην μετατροπή του ασκορβικού οξέος σε δευδροασκορβικό οξύ και στην αντίδραση της α-δικέτο ομάδας με ο-φαινυλενοδιαμίνη. Η προκύπτουσα κινολοξολίνη προσδιορίζεται στα 430nm.

- **Χρωματογραφικός/ογκομετρικός προσδιορισμός**

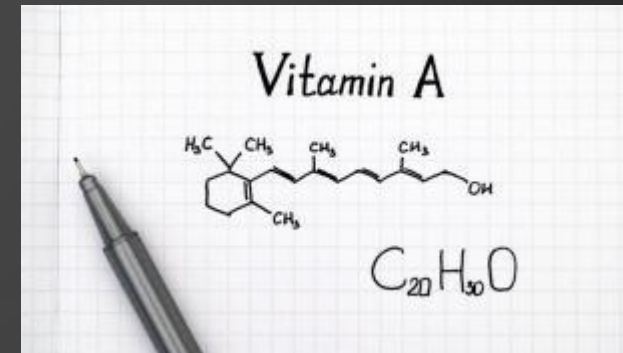
Το διάλυμα χρωματογραφείται με διάλυμα οξικού βουτυλεστέρα κορεσμένου με νερό/αιθανόλη. Η κηλίδα του ασκορβικού οξέος αποξύνεται και προσδιορίζεται ογκομετρικά όπως προηγουμένως.

- **Φωτομετρικός προσδιορισμός**

Το δευδροασκορβικό οξύ αντιδρά με 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνη και δίνει 2,4-δινιτροφαινολ-υδραζόνη η οποία μετά από διάλυση δίνει χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα στα 520-525nm.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Α

- Είναι ακόρεστη αλκοόλη, κίτρινη, κρυσταλλική με $M_B=286,5$
- Είναι διαλυτή στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες και αδιάλυτη στο νερό.
- Οξειδώνεται στον αέρα, είναι ανθεκτική έναντι της θερμοκρασίας.
- Απαντά στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του λίπους.



ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Α

- Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός

Το δείγμα σαπωνοποιείται με κατακόρυφο ψυκτήρα παρουσία καυστικού καλίου. Το προϊόν διαχωρίζεται σε διαχωριστική χοάνη παρουσία αιθέρα. Το υπόλειμμα διαλύεται σε 2-προπανόλη και μετρείται στα **325nm**.

- Χρωματογραφικός προσδιορισμός

Το δείγμα σαπωνοποιείται όπως προηγουμένως και το ασαπωνοποίητο κλάσμα εκχυλίζεται με εξάνιο. Μέρος του διαλύματος χρωματογραφείται και η εκλουόμενη βιταμίνη Α προσδιορίζεται στα **514nm**.

- Χρωματομετρικός προσδιορισμός (Μέθοδος Carr-Price)

Το δείγμα σαπωνοποιείται και το υπόλειμμα διαλύεται σε χλωροφόρμιο. Στο διάλυμα προστίθεται τριχλωριούχο αντιμόνιο. Μετρείται η απορρόφηση στα **620nm** και η βιταμίνη Α προσδιορίζεται με την βοήθεια πρότυπης καμπύλης.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

- Απαντά κυρίως στις μορφές D2 & D3. Και οι δύο βιταμίνες έχουν την ίδια δράση.
- Έλλειψη της προκαλεί ραχίτιδα.
- Είναι σταθερότερη της βιταμίνης A.
- Βρίσκεται στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του λίπους.
- Προσδιορίζεται με;

1. Αέρια χρωματογραφία

Το δείγμα σαπωνοποιείται και το ασαπωνοποίητο κλάσμα εκχυλίζεται με αιθέρα. Η βιταμίνη D ισομερίζεται και διαχωρίζεται από τις βιταμίνες A και E με χρωματογραφία στήλης. Με επίδραση επταφθοροβουτυρικού ανυδρίτη και εκχύλιση με πετρελαικό αιθέρα προσδιορίζεται με **GC**.

2. HPLC

Προβλέπεται εκχύλιση και καθαρισμός του δείγματος με διγλιτονίνη και χρωματογραφία στήλης. Ακολουθεί χρωματογράφιση σε διάφορες στήλες.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε

- Αποτελεί ομάδα βιολογικά δραστικών ουσιών, των τοκοφερολών.
- Η πιο δραστική είναι η α-τοκοφερόλη.
- Είναι κίτρινο, παχύρευστο λάδι, αδιάλυτο στην αλκοόλη και τον αιθέρα.
- Δρα σαν φυσικό αντιοξειδωτικό που προστατεύει τα ακόρεστα λιπαρά οξέα από την οξείδωση.
- Βρίσκεται στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του λίπους.
- Προσδιορίζεται με **TLC & HPLC**.

Το δείγμα σαπωνοποιείται και το ασαπωνοποίητο κλάσμα εκχυλίζεται με αιθέρα. Οι τοκοφερόλες α και β διαχωρίζονται από τις υπόλοιπες με **TLC**. Οι κηλίδες διαλύονται σε αιθανόλη, προστίθεται τριχλωριούχος σίδηρος και ακολουθεί μέτρηση στα **520nm**.