



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Vitalija Kasparavičiūtė

Riebaluose tirpūs vitaminai A ir D įvairiose maisto matricose

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Doc. dr. Ina Jasutienė

KAUNAS, 2017

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Riebaluose tirpūs vitaminai A ir D įvairiose maisto matricose

Baigiamasis magistro projektas
Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

Vadovas

(parašas) Doc. dr. Ina Jasutienė
(data)

Recenzentas

(parašas) Doc. dr. Rimantė Vinauskienė
(data)

Projektą atliko

(parašas) Vitalija Kasparavičiūtė
(data)

KAUNAS, 2017



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Vitalija Kasparavičiūtė

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslas ir sauga, 621E40001

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

„Riebaluose tirpūs vitaminai A ir D įvairiose maisto matricose“

AKADEMINIO SĄŽININGUMO DEKLARACIJA

20 17 m. birželio 1 d.
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Vitalijos Kasparavičiūtės**, baigiamasis projektas tema „Riebaluose tirpūs vitaminai A ir D įvairiose maisto matricose“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

TURINYS

SANTRUMPOS.....	5
SANTRAUKA	6
SUMMARY	8
ĮVADAS.....	10
1 LITERATŪROS APŽVALGA	12
1.1 Vitaminai.....	12
1.2 Riebaluose tirpūs vitaminai.....	13
1.2.1 Vitaminas A	14
1.2.1.1 Biologinė reikšmė	15
1.2.2 Vitaminas D	17
1.2.2.1 Biologinė reikšmė	19
1.3 Vitaminų stabilumas.....	20
1.3.1 Veiksniai, turintys įtakos vitaminų stabilumui	21
1.3.2 Vitamino A stabilumas maisto perdirbimo ir saugojimo metu.....	22
1.3.3 Vitamino D stabilumas maisto perdirbimo ir saugojimo metu.....	25
1.4 Vitamino A paplitimas maiste.....	27
1.5 Vitamino D paplitimas maiste.....	29
1.6 Maisto praturtinimas biologiškai aktyviomis medžiagomis.....	31
1.6.1 Praturtinimas vitaminu A.....	32
1.6.2 Praturtinimas vitaminu D.....	35
2 TYRIMO METODIKA IR ORGANIZAVIMAS	38
2.1 Tyrimo atlikimo vieta ir laikas	38
2.2 Tyrimo objektas ir mėginių skaičius	38
2.3 Tyrimų metodai	42
2.3.1 Sausųjų medžiagų ir drėgmės nustatymas žuvyje, džiovinant 102 ± 2 °C temperatūroje	42
2.3.2 Riebalų kiekio nustatymas žuvyje Soksleto ekstrakcijos metodu.....	43
2.3.3 Vitaminų A ir D nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.....	44
2.3.4 Duomenų analizė	47
3 TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	48
3.1 Žalio pieno mėginiai.....	48
3.2 Rūgštiniu ir rūgštiniu–fermentiniu būdu pagaminta varškė bei išrūgos	50
3.3 Vitaminas D ₃ sutirštintame, nesaldintame piene.....	52
3.4 Obuolių sultys	54
3.5 Žalios ir karštai rūkytos žuvies mėginiai.....	55
IŠVADOS.....	58
BIBRIOGRAFINIŲ NUORODŲ SĄRAŠAS	59
PRIEDAI.....	69

SANTRUMPOS

A – retinolis;

ATP – adenzin trifosfatas;

CWS – šaltame vandenyje tirpus;

D₂ – ergokalciferolis;

D₃ – cholekalciferolis;

DNR – deoksiribonukleorūgštis;

E – tokoferolis;

ESCh – efektyvioji skysčių chromatografija;

H – holštenizacijos laipsnis;

IU – tarptautiniai vienetai;

K – naftochinonas;

KOH – kalio šarmas;

Ix – liuksai;

Min–max – minimali ir maksimali vertė;

MS – masių spektrometrija;

NADPH – redukuota nikotinamido adenino dinukleotido fosfato forma;

pH – vandenilio jonų koncentracija;

PRRB – plazmos retinolį rišantis baltymas;

RPN – rekomenduojama paros norma;

RT – riebaluose tirpus;

SM – sausoji masė;

UV – ultravioletiniai spinduliai;

VDRB – vitaminą D rišantis baltymas.

Kasparavičiūtė, Vitalija. Riebaluose tirpūs vitaminai A ir D įvairiose maisto matricose. *Magistro* baigiamasis projektas / vadovas doc. dr. Ina Jasutienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslu kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: *riebaluose tirpūs, maistas, vitaminas A, vitaminas D, praturtinimas.*

Kaunas, 2017. 72 p.

SANTRAUKA

Darbo tikslas – nustatyti įvairių veiksnių įtaką vitaminų A ir D kiekiui maisto matricose.

Šio tyrimo metu tirti maisto produktai, kuriuose riebaluose tirpūs A ir D₃ vitaminai aptinkami natūraliai ir specialiai vitaminu D₃ praturtinti produktai. Kadangi gausiais šių vitaminų šaltiniais laikomi tik nedaugelis maisto produktų, kaip tiriamieji objektai parinkti gana plačiai vartojami pieno produktai bei žuvis. Šaltame vandenyje tirpiu vitaminu D₃ praturtintos obuolių sultys, kuriose natūraliai šio vitamino nėra.

Vitaminų A ir D₃ kiekis maisto produktuose nustatytas atvirkščių fazių efektyviosios skysčių chromatografijos metodu, prieš tai atlikus 16 valandų trunkančią mėginio hidrolizę (20 °C temperatūroje tamsoje), po to sekančią skysčių–skysčių ekstrakciją heksanu, garinimą iki sausojo likučio, kuris ištirpintas mobiliojoje fazėje. Abu riebaluose tirpius vitaminus galima atskirti to paties chromatografinio skirstymo metu, tik registruojant chromatogramas esant skirtingam bangos ilgiui.

Dvylika mėnesių buvo tiriamas tų pačių karvių, suskirstytų į grupes pagal holštenizacijos laipsnį, pienas. Tyrimų duomenys atskleidė jog, didžiausia vidutinė vitaminų D₃ ir A vertė buvo būdinga 3 grupės karvių pienui (holštenizacijos laipsnis – H70–79), o mažiausia – 4 grupės (H80–89). Vidutinė vitamino D₃ vertė buvo 1,27 µg/100g trečioje ir 0,67 µg/100g ketvirtoje grupėje, vitamino A buvo atitinkamai 108,89 ir 67,66 µg/100g. Pirmosios karvių grupės, kurių holštenizacijos laipsnis H0–49, piene vidutinis vitaminų kiekis buvo 1,13 µg/100g D₃ ir 78,51 µg/100g A. Vertinant sezoniškumo įtaką vitaminų kiekiui piene nustatyta, jog statistiškai reikšmingai daugiausia vitamino D₃ piene buvo vasaros mėnesiais (1,56 µg/100g), kai kitu laikotarpiu 26–52 % mažiau. Vitamino A kiekis visus metus kito plačiose ribose, nuo 26,14 iki 216,19 µg/100g, todėl statistinė analizė neparodė reikšmingos sezoniškumo įtakos.

Laboratorinėmis sąlygomis dviem skirtingais būdais (rūgštiniu–fermentiniu ir rūgštiniu) pagaminta varškė praturtinta vandenyje arba riebaluose tirpiu kristaliniu cholekalciferoliu. Nustatyta, kad naudota vitamino forma (tirpumas) neturėjo įtakos jo išgavai varškėje. Tačiau vitamino D₃ išgavai įtakos turėjo varškės gamybos būdas: rūgštinio–fermentinio gamybos būdo varškėje vitamino išgava buvo 81,8 %, o rūgštiniu būdu pagamintoje varškėje – 61,9 %, tai yra

20 % mažiau. Rūgštiniu būdu gaminant varškę, didesnė dalis vitamino pereina į išrūgas, lyginant su rūgštiniu–fermentiniu gamybos būdu.

Pramoniniu būdu pagamintas nesaldintas sutirštintas pienas, praturtintas skirtingos formos vitamino D₃ preparatais. Buvo aktualu nustatyti, ar vitaminas tolygiai pasiskirsto sutirštinto pieno tūryje. Prieš sterilizaciją į pieną įterptas šaltame vandenyje tirpus vitamino D₃ preparatas (2,44 μg/100g) pasiskirstė tolygiai: tirtuose mėginiuose nustatytas vitamino kiekis partijos pradžioje buvo 2,39±0,41, viduryje 2,47±0,56 ir pabaigoje 2,53±0,34 μg/100g. Dviejų mėnesių laikotarpyje vitamino D₃ koncentracija skirtingose partijos vietose atrinktuose mėginiuose išliko reikšmingai nepakitusi. Tapatus rezultatas gautas ir prieš sterilizaciją į pieną įterpus riebaluose tirpų vitamino D₃ preparatą (1,75 μg/100g). Tyrimo pradžioje nustatytas įterpto vitamino D₃ kiekis produkte 1,61±0,21 μg/100g išliko nepakitęs dviejų mėnesių laikotarpyje – 1,63±0,29 μg/100g. Vitamino forma (tirpumas), sterilizacija ir laikymas tamsoje 4 °C temperatūroje produkte esančio vitamino kiekiui įtakos neturėjo, nustatytas nežymus verčių kitimas buvo nereikšmingas ir siejamas su tyrimo metodo neapibrėžtimi.

Vandenyje tirpaus vitamino D₃ preparatu 100 CWS/AM (DSM Nutritional Products, Nyderlandai) buvo praturtintos obuolių sultys, vitaminą įterpiant prieš ir po pasterizacijos. Sulčių mėginius laikant 4°C temperatūroje tamsoje bei šviesoje, buvo tiriama laikymo sąlygų įtaka vitamino stabilumui. Pridėtas vitamino kiekis buvo 9 μg/100g sulčių. Nustatyta, kad terminis apdorojimas neturėjo įtakos įterpto vitamino išgavai produkte: prieš pasterizaciją įterpto vitamino vidutinė išgava buvo 88,22 %, po pasterizacijos – 85,56 %, tačiau šis skirtumas nėra statistiškai reikšmingas. Kas 7 paras tiriant mėginius laikymo metu nustatyta, kad tamsoje 4 savaites vitaminas išliko stabilus, tačiau 4187 lx apšvietimas labai sumažino vitamino D₃ kiekį sultyse. Jau po 14 parų vitamino sumažėjo 2,1–2,3 karto: nuo 7,94 iki 3,78 ir nuo 7,70 iki 3,38 μg/100g. Po 30 parų laikymo vitamino kiekis sultyse sumažėjo 3 kartus, įterpto vitamino D₃ sultyse liko 2,70–2,72 μg/100g (34–35 %).

Tyrimai apie maisto produktų praturtinimą riebaluose ir vandenyje tirpiomis vitamino D₃ formomis viešinti 2017 metais Prancūzijoje vykusioje konferencijoje „16th Fat Soluble Vitamins Congress“ (žr. 1 priedas).

Ištirus žuvyje esantį riebaluose tirpių A ir D₃ vitaminų kiekį nustatyta, jog didesnio riebumo žaliajoje žuvyje – skumbrėje aptinkamas kur kas didesnis vitaminų D₃ (0,16 μg ir A (119,69 μg) kiekis sausoje masės dalyje, lyginant su šių vitaminų kiekiu mažiau riebioje lydekoje: atitinkamai 0,07 ir 50,80 μg.

Kasparavičiūtė, Vitalija. *The Fat-Soluble Vitamins A And D In Different Food Matrices*. Master's thesis in Food Science and Safety / supervisor assoc. prof. Ina Jasutienė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Technological Sciences, Food Technology

Key words: *fat-soluble, food, vitamin A, vitamin D, fortification*.

Kaunas, 2017. 72 p.

SUMMARY

The aim of this study is to determine the impact of various factors which affecting of vitamin A and D amounts in food matrices.

During the study was research food product were where fat soluble vitamins A and D₃ are being find naturally. The other group of the research products were fortified with vitamin D₃. As rich sources of these vitamins are considered only a few food products, for this reason the main products used for the research are widely used dairy products and fish. Cold water-soluble vitamin D₃ fortified apple juice, which does not contain vitamin D₃ naturally.

The amounts of the vitamin A and D₃ in foodstuffs was determined by using reverse phase high performance liquid chromatography, after the 16-hours sample hydrolysis (20 °C in the dark), then the next liquid-liquid extraction with hexane, evaporation to a dry residue which was dissolved in the mobile phase. Both of fat-soluble vitamins can be separated by the same chromatographic separation time only recording chromatograms at different wavelengths.

Twelve months have been studied to the same cows were divided into groups according to the holstein grade of milk. The data showed that the largest average of vitamins D₃ and A typical value of 3 group of cows milk (holstein grade – H70–79), while the lowest – 4 group (H80–89). The average value of vitamin D₃ was 1,27 µg/100g in the third and 0,67 µg/100g in the fourth group, vitamin A were respectively 108,89 ir 67,66 µg/100g. First group of cows milk with holstein grade in H0–49, average of vitamins content was 1,13 µg/100g D₃ and 78,51 µg/100g A. Assessing the impact of seasonality on vitamin content in milk showed that a statistically significant mainly vitamin D₃ in milk was in the summer period (1,56 µg/100g), another period when 26–52 % less. Vitamin A content of another full year within a wide range, from 26,14 to 216,19 µg/100g, so the statistical analysis showed no significant seasonal factors.

On the small-scale laboratory conditions in two different ways (acid-enzymatic or acidic) produced curd was enriched by water or fat soluble crystalline colecalciferol. It was found that the solubility of added vitamin had no effect on the recovery of vitamin D₃ in curd. The differences in vitamin recovery were caused by the method of curd production. In the curd samples made by acid-enzymatic method the vitamin D₃ recovery was 81,8 %, and in curd

produced by acid – 61.9%, which is 20 % less. Producing curd by acidic coagulation, bigger amounts of vitamin moves to whey, comparatively to the acid–enzymatic coagulation curd.

Commercially produced condensed milk was enriched by different forms of vitamin D₃ preparations. It was important to determine whether the vitamin are distributed evenly condensed milk volume. Cold water–soluble vitamin D₃ preparation (2,44 µg/100g) was added to the condensed milk before sterilization. Determinate equal vitamin distribution in all production line: beginning – 2,39±0,41, in the middle 2,47±0,56 and at the end 2,53±0,34 µg/100g. Two months of vitamin D₃ concentrations in different party places selected samples remained substantially unchanged. The same result about vitamin distribution in condensed milk obtained before sterilization insert fat–soluble vitamin D₃ preparation (1,75 mg/100 g). At baseline set added vitamin D₃ concentration in all product is 1,61±0,21 µg/100g remained unchanged two months – 1,63±0,29 µg/100g. Vitamin form (solubility), sterilization and storage in the dark at 4 °C had no effect on the amount of vitamin in the product, slight changes in set values were insignificant and is associated with the test method uncertainty

Apple juice was fortified by water–soluble vitamin D₃ preparation 100 CWS / AM (DSM Nutritional Products, the Netherlands), vitamin insertion before and after pasteurization. Juice samples stored at 4 °C in the dark and light storage conditions, it was examined the influence of vitamin stability. Added vitamin content was 9 µg/100 g of juice. It was found that heat treatment had no effect on the recovery of vitamin in the product: before pasteurization insert vitamin recovery by the average was 88,22%, followed by pasteurization – 85,56%, but this difference is not statistically significant. Every 7 days researching storage of samples showed that in the dark at 4 weeks of vitamin amount remained stable, but the 4187 lux illumination greatly reduced the amount of vitamin D₃ in juice. After only 14 days of vitamin decreased 2,1–2,3 times: from 7,94 to 3,78 and from 7,70 to 3,38 to µg/100g. After 30 days of storage vitamin concentration in juice decreased 3 times, inserted vitamin D₃ in juice left 2,70–2,72 µg/100g (34–35%).

Studies of food products fortification by fat and water soluble vitamin D₃ forms publicity in France in 2017 at the conference "16th Fat Soluble Vitamins Congress.

Research fat–soluble vitamins A and D₃ amounts in the fish, found that greater fat green fish – mackerel found much higher vitamin D₃ (0,16 µg) and A (119,69 µg), content in dry weight, comparison to those vitamins content less oily pike respectively: 0,07 and 50,80 µg.

ĮVADAS

Vitaminai yra svarbūs maisto komponentai reikalingi subalansuotai mitybai ir gerai sveikatos būklei palaikyti. Esant jų trūkumui galimi sunkūs gyvybiškai svarbių organizmo funkcijų ir sistemų sutrikimai [1]. Įprastinėje žmogaus mityboje ne visada pakanka reikiamų vitaminų kiekių, reikalingų normaliam vystymuisi ir funkcionavimui, būtent dėl šios priežasties dažnai tam tikri maisto produktai, dažniausiai pienas ir pieno produktai papildomi vitaminais.

Riebaluose tirpus vitaminas D pripažintas dėl savo svarbos skeleto sveikatai [2], o vitaminas A svarbus regos funkcijai, ląstelių augimui bei atsinaujinimui. Vitaminas D randamas gyvūninės kilmės maiste kaip cholekalciferolis (D₃), o ergokalciferolis (D₂) augalinės kilmės produktuose, kuriuose jis konvertuojamas iš provitamino – ergosterolio. Daugelis atliktų tyrimų parodė, kad gaunamas vitamino D kiekis kur kas mažesnis nei apskaičiuota jo optimali vertė. Pagrindinė to priežastis – gauname per mažai saulės UV spindulių (295–315 nm), esant ribotai saulės ekspozicija susidaro vitamino D deficitas, kyla poreikis vartoti maisto papildus bei kurti inovacijas maisto pramonėje – praturtinant maisto produktus tam tikromis deficitinėmis maisto medžiagomis.

Dauguma biologiškai aktyvių medžiagų jautrios šilumos ar šviesos poveikiui, todėl didžiausi vitaminų nuostoliai pastebimi gamybos, „po gamybiniu“ ir laikymo laikotarpiu, taip pat esant monotoniškai mitybai bei stokojant gyvūninės kilmės maisto. Industrializacija yra taip pat viena iš mažesnių biologiškai aktyvių medžiagų prieinamumą kasdieninėje mityboje nulėmusių priežasčių, todėl, kad padidėjo priklausomybė vartoti druską, cukrų, augalinius riebalus bei rafinuotus grūdus, kurie kaip žinoma prasti mikroelementų ir vitaminų šaltiniai [3].

Pirmojo ir Antrojo pasaulinių karų metu, maisto praturtinimas tapo plačiai paplitęs, siekiant užkirsti kelią mitybinių medžiagų trūkumui bei spręsti maisto produktų perdirbimo metu patiriamams biologiškai aktyvių medžiagų nuostoliams [4]. Maisto praturtinimas tai – sąmoningas vitaminų ir mineralinių medžiagų pridėjimas į maisto produktus, siekiant potencialios, ekonomiškos naudos visuomenės sveikatai. Taikomos praturtinimo programos orientuotos į maistinių medžiagų trūkumo likvidavimą, jų efektyvumas priklauso nuo praturtinimo lygio, praturtintų maisto produktų prieinamumo ir jų suvartojamo kiekio [5]. Tai itin svarbus privalumas augantiems vaikams, nėščioms ar žindančioms moterims bei kitoms rizikos grupėms, kurioms itin svarbi subalansuota ir pilnavertė mityba. 2012–2014 metais Lietuvoje atlikti epidemiologiniai tyrimai atskleidė, jog didelis vitamino D trūkumas kraujo serume nustatomas vyresnio amžiaus žmonių grupei, moterims dažniau negu vyrams [6]. Tam įtakos turi faktas, kad su amžiumi vitamino D sintezės odoje intensyvumas sumažėja ~ 4 kartus [7], be to šiai grupei priskiriami asmenys linkę vengti tiesioginio saulės poveikio bei riboti veiklą

lauke. Didžiausia deficito rizika fiksuojama žiemos laiku, nuo lapkričio iki gegužės mėnesio [8]. Net ir saulėtose pietų Europos šalyse fiksuojamas vitamino D trūkumas, nes dėl susiformavusių kultūrinių ar religinių įpročių, noro apsisaugoti nuo saulės spindulių bei padidėjusios rizikos susirgti odos vėžiu sutrikdoma vitamino D₃ sintezė odoje [9]. Žema vitamino D koncentracija kraujo serume nustatyta įvairiose amžiaus grupėse Šiaurės Amerikoje ir skirtingose Europos dalyse gyvenantiems žmonėms [10], todėl maisto praturtinimas vitaminais gali būti veiksminga ir tinkama strategija siekiant padidinti suvartojamų vitaminų kiekius bendroje populiacijoje.

Dažniausiai su praturtintu maistu, vartotojų tarpe, kylantis susirūpinimas siejamas su galimu kainos ir produkto juslinių savybių pokyčiu, praturtinto maisto ženkliniu, įterptos medžiagos perdozavimo rizika bei praturtinimui panaudotų maistinių medžiagų šaltiniais [3]. Nors maisto papildai yra veiksmingi siekiant praplėsti suvartojamų vitaminų ir mikroelementų racioną bei kiekius, tačiau deficitinėmis medžiagomis praturtinami įprastai vartojami maisto produktai yra geriausias būdas didinant vitaminų prieinamumą [11], nereikalaujant vartotojų elgesio ar mitybos pokyčių.

Tikslas, uždaviniai

Darbo tikslas – nustatyti įvairių veiksnių įtaką vitaminų A ir D kiekiui maisto matricose.

Uždaviniai:

1. Įvertinti sezoniškumo ir holštenizacijos laipsnio įtaką vitaminų A ir D₃ kiekiui piene.
2. Ištirti varškės gamybos būdo (rūgštinis ir rūgštinis–fermentinis) ir vitamino D₃ formos (kristalinis riebaluose tirpus ir tirpus šaltame vandenyje) įtaką vitamino išgavai varškėje.
3. Įvertinti vitamino D₃ pasiskirstymą ir stabilumą sutirštintame piene, pagamintame gamybinėmis sąlygomis.
4. Nustatyti pasterizacijos ir laikymo sąlygų įtaką šaltame vandenyje tirpaus vitamino D₃ stabilumui obuolių sultyse.
5. Nustatyti vitaminų A ir D₃ kiekį žuvies mėginiuose prieš ir po karšto rūkymo.

1 LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Vitaminai

Vitaminai yra biologiškai aktyvūs organiniai junginiai, kurie kaip būtini mikroelementai dalyvauja organizme palaikant medžiagų apykaitą ir fiziologines funkcijas. Nustatyta ir žinoma 13 vitaminų, kurie pagal tirpumą skirstomi į:

- tirpius riebaluose (A, E, D, K);
- tirpius vandenyje (B grupės, C).

Šie junginiai, net ir priklausantys tai pačiai grupei, labai skiriasi vienas nuo kito savo chemine sudėtimi, fiziologiniu poveikiu, biologine verte ir poreikiu. Riebaluose tirpūs vitaminai dalyvauja daugelyje reakcijų susijusių su medžiagų apykaita, svarbūs organizmo biologinėms funkcijoms: regėjimui (A), kalcio absorbcijai (D), pasižymi antioksidacinėmis savybėmis (E), dalyvauja kraujo krešėjimo procese (K) bei atlieka daugelį kitų funkcijų. Vartojimui skirti, technologiškai neapdoroti žali vaisiai ir daržovės išlaiko natūraliai juose esančius vitaminų kiekius. Pagrindiniai veiksniai lemiantys vitaminų nuostolius perdirbimo ar laikymo metu: temperatūra, deguonis, šviesa, drėgmė, vandens aktyvumas, pH, fermentų veikla, sunkieji metalai, ypač varis ir geležis. Vitaminų pradinio kiekio mažėjimas produkte taip pat priklauso ir nuo pačių vitaminų bei saugojimo ar apdorojimo trukmės [12]. Yra žinoma, jog vandenyje tirpių vitaminų nuostoliai gaunami, juos išplaunant virimo metu, o vitamino D koncentracija mažėja dėl jo polinkio į oksidaciją. Vitaminai A ir E jautrūs deguoniui, šviesai, šilumai, metalų jonams šių veiksnių poveikyje jų kiekis taip pat mažėja, todėl pravartu sekti vitaminų kiekio kitimą produktų perdirbimo ar saugojimo metu, nes tai svarbu technologiniu požiūriu siekiant optimizuoti gamybos procesą, kad būtų patiriamas kuo mažesnis maistinių medžiagų nuostolis [13].

Ligos, kuriomis susergama, kai žmogus negauna vitaminų, vadinamos avitaminozėmis, jeigu vitaminų gaunama nepakankamai, išsivysto hipovitaminozės, pasireiškiančios įvairiais medžiagų apykaitos sutrikimais, dažniau pasitaiko ne vieno, bet kelių vitaminų hipovitaminozės.

Hipovitaminozių ir avitaminozių priežastys gali būti egzogeninės ir endogeninės:

- vitaminų stoka maiste;
- padidėję organizmo poreikiai (augimas, nėštumas, sunkus darbas);
- vitaminų rezorbcijos plonosiose žarnose sutrikimai;
- vidaus organų, ypač kepenų ligos, kurių metu provitaminai nepaverčiami vitaminais, sutrinka įjungimas į fermentų sudėti ir t.t.;

- netinkamas maisto paruošimas, todėl suyra didelė dalis maisto produktuose esančių vitaminų;
- vaistų, turinčių antivitamininį poveikį, vartojimas;
- alkoholizmas.

Žinomos ir įgimtos avitaminozės, kurių atsiradimą nulemia genetiniai pakitimai, susiję su vitaminų rezorbcija, pernešimu, kofermentinių formų susidarymu arba su holofermentų sintezės sutrikimais. Šios avitaminozės nepagydomos net didelėmis vitaminų dozėmis ir dažniausiai prasideda vaikystėje, literatūroje aprašytos avitaminozės: I ir II tipo įgimtas rachitas, piktybinė mažakraujystė ir kitos [14]. Perteklinis vitaminų kiekis organizme sukelia hipervitaminozes, dažniausiai jos būdingos riebaluose tirpiems vitaminams, kurių dideli kiekiai organizmui – toksiški. Trūkstant riebaluose tirpių vitaminų, atsiranda specifinių pakitimų: sutrinka regėjimas, kalcio ir fosforo apykaita, kraujo krešėjimas, augimas ir kitos organizmo funkcijos.

Kiekybiniam vitaminų nustatymui naudojami greiti ir konkretūs analizės metodai, kurie parenkami kiekvienai analizei pagal jai būdingas fizikines ir chemines savybes. Efektyvioji skysčių chromatografija (ESCh) – tai metodas, kuris dažniausiai naudojamas riebaluose ir vandenyje tirpių vitaminų nustatymui. Metodo parinkimas priklauso nuo reikalaujamo tikslumo ir jautrumo, taip pat nuo trukdžių, kurie gali iškilti dėl tiriamo mėginio terpės. ESCh su UV absorbcija ir/arba fluorescencijos aptikimu yra nusistovėję ir plačiausiai naudojami vitaminų analizei, pagrindinis jų trūkumas, tiriant tam tikras analites sudėtinėse terpėse, yra mažas specifiskumas. Didesnis jautrumas ir specifiskumas būdingas skysčių chromatografijos – masių spektrometrijos (ESCh–MS) metodui, kuomet sudėtinėse terpėse galima atlikti kelių vitaminų sinchroninę analizę, to paties tyrimo metu [15]. Literatūroje aprašyta daug galimų ESCh metodų tinkančių vitaminų analizei tiek maiste, tiek farmaciniuose preparatuose, tačiau ne visi iš jų naudojami natūraliai maiste esantiems vitaminams nustatyti [16].

1.2 Riebaluose tirpūs vitaminai

Riebaluose tirpūs vitaminai A, D, E ir K struktūriškai panašūs į ciklinius izoprenoidų polimerus, yra tirpūs riebaluose ir aliejuose. Šių vitaminų absorbcija ir transportas žarnyne susijęs su lipidais, organizme saugojami ir kaupiami kepenyse bei riebaliniame audinyje, o šalinami lėtai, atsižvelgiant į jų lipofilinę prigimtį. Vitaminas A kartu su vitaminu D turi tam tikrą panašių savybių – tirpumas riebaluose, jautrumas šviesai ir deguoniui, taip pat tam tikro laipsnio terminis stabilumas (termostabilesniu laikomas vitaminas D) [4]. Abu šie vitaminai priskiriami riebaluose tirpių grupei, kuriai būdinga perteklinio kiekio įtakojamas toksiškumas bei galimas deficitas, kuomet su maistu gaunami nepakankami kiekiai. Vitamino K trūkumas

organizme labai retas reiškinys, todėl, kad jis natūraliai sintetinamas organizme, žarnyno floros mikroorganizmų [12].

Šių vitaminų nustatymas svarbus, nes jie būtini svarbių organizmo funkcijų reguliavime. Pirmutinis nustatymo žingsnis – tinkamas mėginio paruošimas ir apdorojimas. Dažniausiai vitaminų išskyrimui naudojami mėginiai: maistas ir farmaciniai preparatai. Itin svarbus vitaminų kiekio ištyrimas žmogaus, gyvūno skysčiuose (piene, kraujyje), nes tokiu būdu galima nustatyti tiriamo vitamino deficito ir galimos patologijos santykį.

Kiekybinė vitaminų ir jų metabolitų analizė klinikinėje chemijoje yra vienas iš sudėtingesnių uždavinių jų nustatyme. Maža cirkuliuojančių metabolitų koncentracija mėginyje, panašiomis cheminėmis savybėmis pasižyminčios pašalinės medžiagos, dideli giminingų neutralių lipidų kiekiai ir jautrumas UV spinduliams bei šilumai yra pagrindinės tai įtakojančios priežastys [16].

1.2.1 Vitaminas A

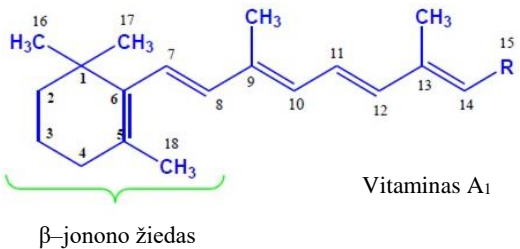
Vitaminas A, kitaip dar vadinamas – retinoliu organizme virsta retinaliu (aldehidu) ir retinolio rūgštimi, visi šie junginiai yra aktyvios vitamino A formos (žr. 1 lentelė) [12]. Vitamino A struktūra sudaryta iš β -jonono žiedo ir penkių konjuguotų dvigubųjų jungčių.

Retinolis – pirminis alkoholis, sudarytas iš β -joninio žiedo, šoninės grandinės – 2 izopreno liekanų ir pirminės alkoholio grupės. Audiniuose ar organuose (kepenyse) randamas esterių pavidalu susijungęs su ilgos grandinės riebalų rūgštimis.

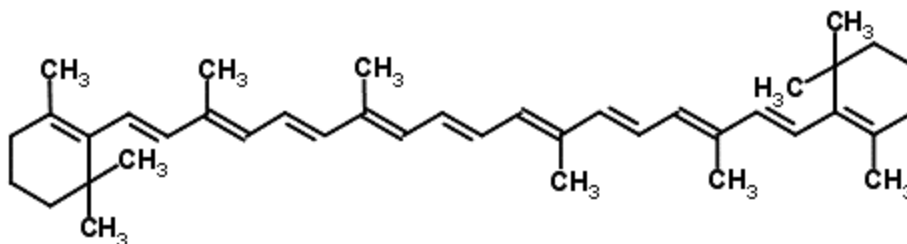
Retinalis – aldehidas, kuris susidaro oksiduojantis retinoliui. Retinalis ir retinolis gali virsti vienas kitu.

Retino rūgštis susidaro oksiduojantis retinaliui, iš retinolio rūgšties negali susidaryti nei retinalis, nei retinolis.

1 lentelė. Retinoidų formos [12]

 <p style="text-align: center;">Vitaminas A₁</p> <p style="text-align: center;">β-jonono žiedas</p>	R	
	R=CHO	Retinalis (vitamino A aldehidas)
	R=CH₂OH	Retinolis (vitaminas A)
	R=COOH	Retino rūgštis (tretinoinas) arba vitamino A rūgštis

Vitamino A provitaminai α , β , γ – karotiniai, kuriuos sintetina augalai, aktyviausias iš jų yra β – karotinas (žr. 1 pav.). Gamtiniuose karotinuose vyrauja trans – dvigubųjų ryšių sistema. Šie dvigubieji ryšiai yra konjuguoti, jie suteikia karotinui specifinę geltoną ar raudoną spalvas [14]. Žarnyno gleivinės ląstelėse fermentas karotindioksigenazė oksiduoja didesnę β –karotino dalį į 2 retinolio molekules. Iš α ir γ –karotinų, turinčių vieną β –jonono žiedą, susidaro po 1 vitamino A molekulę, kita karotinų dalis rezorbuojama plonajame žarnyne ir cirkuliuoja kraujyje lipoproteinų kompleksuose.



Pav 1. β – karotinas

Retinolio esteriai esantys maiste, patekę į plonąją žarnyną hidrolizuojami į retinolį ir laisvąsias riebalų rūgštis, kad retinolis būtų rezorbuotas būtina tulžies rūgštis. Vitaminas A žarnų gleivinėje reesterifikuojamas prie retinolio prijungiamos ilgos grandinės riebalų rūgštys ir chilomikronuose patenka į limfa, po to į kraują. Chilomikronuose esantys retinolio esteriai nunešami į kepenis ir jose kaupiami. Esant vitamino A poreikiui, retinolis išskiriamas iš kepenų, jį perneša plazmos retinolį rišantis baltymas (PRRB) [28]. Cheminė vitamino A prigimtis ir savybės nurodytos 2 lentelėje.

2 lentelė. Pagrindinės vitamino A savybės

Gamtinė (natūrali) forma	A1 (retinolis), A2 (3–dehidro–retinolis)
Aktyvi forma	retinolis, retinalis, retino rūgštis
Vitamino A provitaminas	β –karotinas
Saugojama	kepenys, riebalinis audinys (organizme)

1.2.1.1 Biologinė reikšmė

Koncentruotuose tirpaluose retinolis ir jo esteriai yra nuo gelsvos iki rausvos spalvos, kurie aušdami ima stingti ir turi malonų švelnų kvapą. Vitaminas A netirpus vandenyje ir glicerolyje, bet gerai tirpsta daugelyje organinių tirpiklių [28]. Siekiant išlaikyti kuo ilgiau stabilų tiek aliejinį, tiek kristalinį vitaminą A, būtina jį laikyti šaltai, tamsoje ir sausoje azoto atmosferoje.

Vitamino A ir jo analogų skilimą skatina aplinkos deguonis ir šviesa, ypač kai šie junginiai paviršiuje paskleisti plona plėvele [29]. Kepenyse ar plazmoje su baltymais surištas vitaminas A išlieka stabilus sušaldytas laikomas prie $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros, sandariai uždarytuose, hermetiškuose, tamsiuose induose. Šių savybių žinojimas įgalina pramoniniu būdu iš biologinių medžiagų išskirti vitaminą A, išvengiant oksidacijos ir izomerizacijos ir išlaikyti jį stabilų kuo ilgesnį laiką [30].

Esant vitamino A poreikiui jis išskiriamas iš kepenų, už pernašą į kitus audinius atsakingas PRRB. Vitamino A aktyvios formos (žr. 2 lentelė) dalyvauja regėjimo procese, reguliuoja augimą, ląstelių diferenciaciją. Retino rūgštis veikia augimą ir ląstelių diferenciaciją, tačiau nedalyvauja regėjimo procese, spermatogenezėje ir placentos formavimesi. Taip pat retino rūgštis itin svarbi embriono vystymuisi ir genų ekspresijai. Sąveikaudama su konkrečiomis DNR nukleotidų sekomis tiesiogiai veikia genų ekspresiją ir transkripciją, kuri savo ruožtu reguliuoja organizmo ląstelių vystymąsi. Už regėjimo procesą atsakingas vitamino A aldehidas (11 cis-retinalis) susidarantis iš retinolio arba β -karotino. Tinklainėje aptinkamos dviejų rūšių fotoreceptorių ląstelės vadinamos: lazdelėmis ir kolbelėmis. 11 cis-retinalis įeina į lazdelėse esančio pigmento rodopsino sudėtį, kuris turi įtakos regėjimui prieblandoje ir tamsoje. β -karotinas ir kiti karotinoidai nutraukdami peroksidacijos reakcijas veikia kaip antioksidantai apsaugodami riebalus. Retinoidai (žr. 1 lentelė) dažniausiai naudojami dermatologinėms ligoms ir pažeidimams gydyti (odos infekcijoms), epitelio ląstelių atstatymui (žaisdoms), ypač sergant krūties vėžiu, gydant aknę, spuogus ir vištakumą [12].

Ilgesį laiką negaunant reikiamo šio vitamino kiekio galima vitamino A avitaminozė:

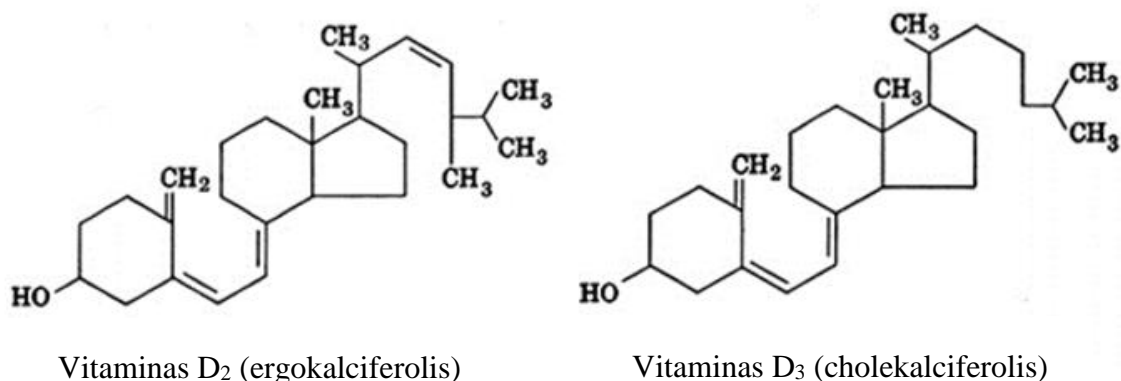
- naktinis aklumas (vištakumas): pablogėja regėjimas tamsoje ar prieblandoje;
- folikulinė hiperkeratozė: šiurkšti oda, nes sulėtėja epitelio atsinaujinimas;
- sumažėjęs atsparumas infekcijai: dėl virškinimo organų, šlapimo ir lyties organų gleivinės ląstelių keratinizacijos ląstelių membranose atsiranda įtrūkimų, į ląsteles lengviau patenka mikroorganizmai, skatina vėžinius susirgimus ypač odos ir plaučių;
- mažakraujystė (anemija): jei ir gaunamas pakankamas kiekis geležies ligą sukelia sumažėjęs geležies transportas iš kepenų, nes geležį pernešančio baltymo sintezei reikia vitamino A;
- lėtinės kepenų ligos;
- sulėtėjęs vaikų augimas, apsigimimai [14].

Didesnis ir ilgiau trunkantis vitamino A trūkumas sukelia ragenos sausumą, perštėjimą vadinamą – kseroftalmija, tai gali sukelti akių drumstumą, opų formavimąsi ar vėliau sekantį apakimą. Taip pat sutrinka ir dauginimosi funkcija – susilpnėja spermatogenezė, placentos susidarymas [12].

Gaunant per didelius vitamino A kiekius (~7,5 mg/parą) susergama hipervitaminoze, tai žalinga tiek vaikams, tiek suaugusiems. Ankstyvieji toksiniai simptomai pastebimi odoje, dėl suintensyvėjusios keratino sintezės oda tampa sausa, žvynuota [12]. Hipervitaminozės atveju padidėja kepenys, blužnis, atsiranda galvos, sąnarių skausmai, pykinimas, galimas svorio mažėjimas, plaukų slinkimas, šviesos baimė, neigiamas poveikis kaulų tankiui (padidėja lūžių ir osteoporozės rizika), teratogeninis poveikis (kaukolės ir veido, kaulų anomalijos). Labai didelės vienkartinės dozės gali sukelti trumpalaikį ūmų toksinį poveikį: galvos skausmą, vėmimą, viduriavimą, apetito stoką ir dirglumą visose amžiaus grupėse. Toksiškas vitamino A provitamino (β -karotino) poveikis nenustatytas, išskyrus būdingą odos pageltimą, vartojant karotinoidais gausų maistą [30].

1.2.2 Vitaminas D

Vitaminas D augalų bei gyvūnų organizmuose gali būti aptinkamas vienoje iš dviejų skirtingų formų: vitamino D₂ (ergokalciferolis) arba vitamino D₃ (cholecalciferolis), šie du vitaminai vienas nuo kito skiriasi šoninėmis grandinėmis, kurios D₃ – sočios, o D₂ nesočios (žr. 2 pav.). Tiek vitaminas D₂, tiek D₃ yra neaktyvūs žmogaus organizme, poveikis audiniams pastebimas po serijos transformacinių reakcijų vykstančių metabolizmo metu. Vitaminas D₂ ir jo provitaminas (ergosterolis) dažniausiai randami augaluose, grybuose, pelėsiuose taip pat pasitaiko ir tam tikruose bestuburių rūšyse. Vitaminas D₃ sintetinamas iš jo pirmtako odoje, taikant ultravioletinių spindulių poveikį [17].



Pav 2. Vitamino D formos

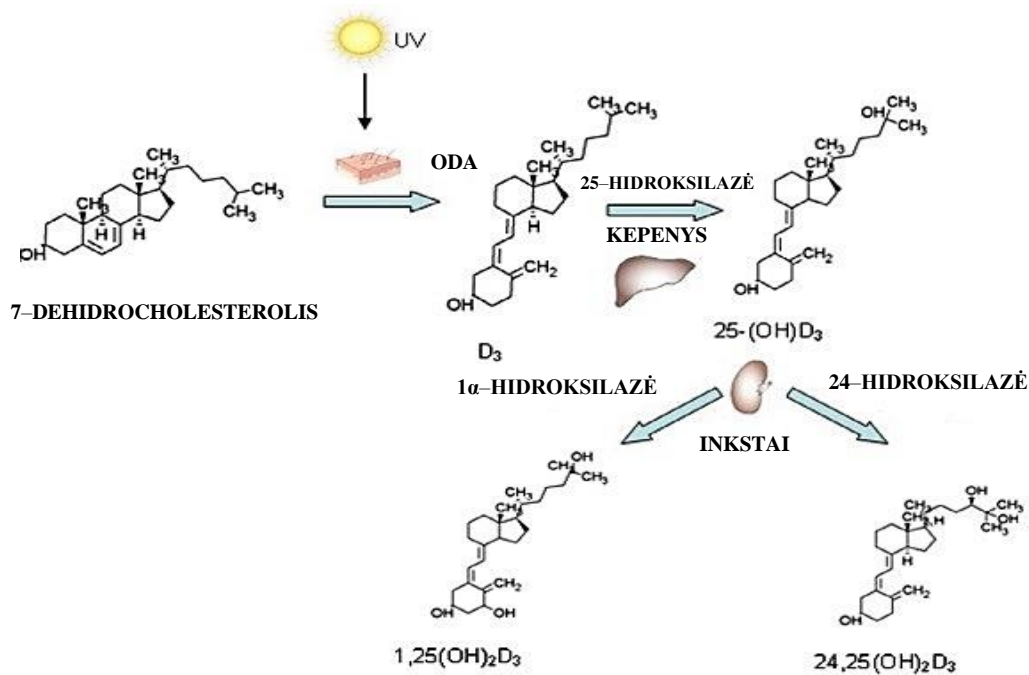
D₂ ir D₃ yra bespalviai kristalai, netirpūs vandenyje, bet gerai tirpūs riebaluose ir kituose organiniuose tirpikliuose. Didžioji žmogui reikalingo vitamino D dalis susidaro odoje iš 7-dehidrocholesterolio nefermentinės reakcijos metu, veikiant UV spinduliams (295–300 nm.), kuo

spindulių gaunama daugiau, tuo sintezė intensyvesnė (žr. 3 pav.). Su maistu gaunama tik nedidelė šio vitamino dalis, daugiausiai jo randama: galvijų riebaluose, kiaušinių tryniuose, žuvų kepenyse, saulėgrąžų aliejuje ir kituose maisto produktuose.

Už vitamino D pernešimą į plazmą atsakingas specifinis baltymas – transkalciferolis arba vitamino D rišantis baltymas (VDRB) [18]. VDRB į kepenis transportuoja abi vitamino D formas, kur vyksta jų hidroksilinimas į neaktyvią 25–OH–D formą. 25–OH–D yra pagrindinė organizme cirkuliuojanti ir kaupiama vitamino D forma [19], ji hidroksilinama veikiant fermentui 1 α –hidroksilazei į aktyvią 1,25–(OH) $_2$ D $_3$ formą, kuri ir yra atsakinga už biologinį vitamino D aktyvumą [20;72]. Vitamino D aktyvios formos susidarymą reguliuoja prieskydinių liaukų hormonas – parathormonas (PTH), nes stimuliuoja 1–hidroksilazės aktyvumą, be to 1,25–(OH) $_2$ D $_3$ susidarymas reguliuojamas grįžtamojo ryšio principu. Padidėjus jo koncentracijai, slopinama inkstų 1 α –hidroksilazė, bet aktyvinama 24–hidroksilazė, todėl susidaro 24,25–(OH) $_2$ D $_3$.

25–OH–D taip pat gali būti hidroksilintas mitochondrijų fermento 24–hidroksilazės dėka, kuris randamas inkstų kanalėliuose, žarnose, kremzlėse ir placentoje. Šios hidrolizės reakcijos pagrindinis produktas 24,25–dihidroksivitaminas D $_3$ (24,25–(OH) $_2$ D $_3$), kuris yra santykinai neaktyvus metabolitas lyginant su 1,25–(OH) $_2$ D $_3$ (žr. 3 pav.). Abiejose hidroksilinimo reakcijose, vykstančiose kepenyse ir inkstuose, dalyvauja citochromas P $_{450}$, NADPH, Mg $^{2+}$ ir molekulinis deguonis [20; 14].

Už kraujyje cirkuliuojančio vitamino D ir jo metabolitų pernešimą į audinius atsakingi VDRB ir serumo albuminai. Dėl didelio vitamino D giminingumo su albuminu, pernašoje, kaip nešiklis dažniau dalyvauja VDRB, tačiau serume dominuojantys albuminai kiekybiniu atžvilgiu sudaro didesnę vitamino D ir jo metabolitų nešėjų dalį [21;22]. Nustatyta jog VDRB gali būti randamas ant įvairių ląstelių paviršių, įskaitant žmogaus neutrofilus, taip pat jo gausu serume, pilvaplėvės [23] bei stuburo smegenų skystyje.



Pav 3. Vitamino D₃ metabolizmo kelias [24]

1.2.2.1 Biologinė reikšmė

Nei vitaminas D₂, nei D₃ nėra aktyvūs organizme. Biologiškai aktyviausia vitamino D forma yra 1,25–dihidroksicholekalciferolis – 1,25–(OH)₂D₃ (kalcitriolis). Šio junginio tiek struktūra, tiek veikimas panašus į steroidinių hormonų, todėl 1,25–(OH)₂D₃ vadinamas D hormonu.

Kalcitriolis (1,25–(OH)₂D₃) vaidina pagrindinį vaidmenį kalcio ir fosforo apykaitoje. Pilnas vitamino D metabolizmas pateiktas 3 pav. [24]. Pagrindiniai kalcitriolio taikiniai yra plonųjų žarnų, kaulinio audinio ir inkstų kanalėlių ląstelės, o viena iš svarbiausių funkcijų – kalcio ir fosforo jonų pernaša pro žarnyno gleivinę. Žarnyno gleivinės ląstelėse kalcitriolis indukuoja baltymų – kalcį sujungiančio baltymo (CaSB) Ca²⁺, ATP–azės ir kitų, dalyvaujančių pernešant kalcio ir fosforo jonus pro žarnyno gleivinę, sintezę. 1,25–(OH)₂D₃ padeda palaikyti pastovią kalcio jonų ir fosfato koncentraciją kraujyje, kuri būtina kaului formuotis ir atsinaujinti. Kauluose jis stimuliuoja kalcio ir fosforo mobilizaciją iš kaulų, šiame procese dalyvauja ir parathormonas. Manoma, kad vitaminas D reguliuoja kaulinio audinio ląstelių diferenciaciją bei osteoklastų formavimąsi [25].

Žinoma, jog esant vitamino D trūkumui vaikai suserga rachitu, o suaugusieji ir vaikai – osteomaliacija [26]. Esant vitamino D stygiui organizme pasireiškia tam tikri sutrikimai: sutrinka kalcio ir fosforo apykaita (sumažėja Ca²⁺ ir fosfatų kiekis kraujo plazmoje), sutrinka kaulinio audinio mineralizacija, nustoja augti kaulai, tampa minkšti. Veikiami kūno svorio jie

deformuojasi (iškrypsta stuburas). Šonkaulių galai kaulo ir kremzlės vietoje sustorėja, krūtinkaulis atsikiša į priekį, galva būna didelė ir kampuota, mažėja raumenų tonusas. Vaikų sergančių rachitu pirmieji dantys išdygsta pavėluotai, netaisyklingos formos. Dėl mažos Ca^{2+} koncentracijos serume galimi tetaniniai raumenų susitraukimai, atsirandantys, kai kalcis iš kraujo mobilizuojasi į kaulus (sveikimo metu). Be viso to vitaminas D taip pat labai svarbus daugelio kitų organizmo sistemų reguliavime, tokių kaip: imūninės, širdies ir kraujagyslių, reprodukcinės. Vitamino D veikla pastebima daugelyje ir audinių ir organų įskaitant kepenis, kasą, smegenis, plaučius, odą, riebalinį audinį. Dėl plataus paplitimo organizme nepakankamas vitamino D kiekis gali sukelti netik gerai žinomą rachitą, bet ir osteoporozę, osteoartritą, tuberkuliozę, cukrinį diabetą, sklerozę, periodonto ligas, inkstų ir kepenų pažeidimus (nefrozinis sindromas, kepenų ir tulžies sindromas), kasos sutrikimus bei navikus – apimančius visas amžiaus grupes [27;73].

Vitamino D avitaminozė galima sergant kepenų ir ypač inkstų ligomis, nes sutrinka aktyvaus vitamino D susidarymas, mažėja kalcio koncentracija kraujyje. Trūkstant vitamino D suaugusiems sutrinka kaulinio audinio atsinaujinimas, suminkštėja kaulai, ko pasekoje didėja osteoporozės bei kaulų lūžių rizika [24]. Galimi ir įgimti vitamino D avitaminozės atvejai, pasireiškiantys dėl 1–hidroksilazės nepakankamo aktyvumo arba dėl kalcitriolio receptorių nevisavertiškumo.

Hipervitaminozė galima tiek vaikams, tiek suaugusiems kai organizmas šio vitamino gauna per daug. Pernelyg didelė saulės spindulių ekspozicija nesusintetina padidinto vitamino D kiekio organizme, vienintelis UV spindulių neigiamas poveikis – odos nudegimas. Vitamino D sukeltas toksiškumas būdingas papildų perdozavimo atveju. Kalcio ir fosfato keikis kraujyje padidėja, nes jie mobilizuojami iš kaulų, rezorbuojami žarnyne ir reabsorbuojami inkstuose [14]. Kaulai demineralizuojami ir greičiau lūžinėja, mažai tirpios kalcio druskos nusėda mikštuosiuose audiniuose (inkstuose, plaučiuose, kraujagyslėse ir kt.), vitamino D metabolitai sustiprina įvairių audinių kalcifikaciją, įskaitant ir kraujagysles. Taip pat didėja kalcio išsiskyrimas su šlapimu, vitamino D perteklius gali skatinti aterosklerozės vystymąsi, anoreksiją, raumenų silpnumą, pykinimą, inkstų akmenligę bei augimo sulėtėjimą [12].

1.3 Vitaminų stabilumas

Viena iš visiems vitaminams bendrai galiojančių savybių yra tai, jog nei vienas iš jų nėra visiškai stabilus maiste. Maisto produktų mechaninis ar terminis apdorojimas sukelia kintančius vitaminų nuostolius, kurie labai skiriasi priklausomai nuo gaminimo būdo bei maisto rūšies.

Natūraliai maiste esantys vitaminai skirtingai jautrūs daugeliui faktorių veikiančių maistą ir jo ingredientus iš karto po derliaus nuėmimo iki galutinio pateikimo vartotojui (žr. 3 lentelė). Skirtingų vitaminų stabilumas svyruoja nuo santykinai stabilių (niacinas) iki sąlyginai nestabilių (B₁₂) ir tai lemia gebėjimas išlaikyti aktyvumą po cheminių ir fizinių veiksnių poveikio [31].

3 lentelė. Vitaminų jautrumas maisto perdirbimo metu [71]

Didelis jautrumas	Vidutinis jautrumas	Mažas jautrumas
A (retinolis)	β-karotinas	Folio rūgštis
B ₁ (tiaminas)	K (mėsoje)	B ₂ (riboflavinas)
C (askorbo rūgštis)		B ₃ (niacinas)
E (α-tokoferolis)		B ₆ (piridoksinas)
		B ₁₀ (biotinas)
		B ₁₂ (kobalaminas)
		Cholinas
		D
		K (daržovėse)

1.3.1 Veiksniai, turintys įtakos vitaminų stabilumui

Stabilumui įtakos turinčių veiksnių poveikis priklauso nuo vitamino rūšies ir savybių. Fizikinius ir cheminius veiksnius apima: šiluma, drėgmė, sąveika su oru (deguonimi) arba šviesa, rūgštinė ar šarminė aplinka [32]. Šių veiksnių poveikio intensyvumas ir ekspozicijos laikas turi įtakos vitaminų kiekio kitimui maiste jo perdirbimo (ypač tuomet, jei taikomas terminis apdorojimas), laikymo ar platinimo metu. Riebaluose tirpių vitaminų jautrumas fiziniams ir cheminiams veiksniams pateiktas 4 lentelėje.

4 lentelė. Riebaluose tirpių vitaminų jautrumas fiziniams ir cheminiams veiksniams [70]

Vitaminas	Šviesa	Oksidatoriai	Reduktoriai	Šiluma	Drėgmė	Rūgštys	Šarmai
A	+++	+++	+	++	+	++	+
D	+++	+++	+	++	+	++	++
E	++	++	+	++	+	+	++
K	+++	++	+	+	+	+	+++

+ mažai jautrus arba nejautrus; ++ jautrus +++ labai jautrus

Technologinis maisto produktų perdirbimo procesas keičia ne tik galutinio produkto juslines charakteristikas, maistingumą, maisto medžiagų įsisavinamumą (prieinamumą), bet turi

įtakos ir pridėtų ar natūraliai maiste esančių vitaminų kiekiui. Maisto pramonėje, naudojant stabilizuotas ar įkapsuliuotas vitaminų formas, galima ženkliai padidinti jų stabilumą. Dažniausiai perdirbimo metu produktas apdorojamas termiškai ir kai kuriais atvejais tai gali užtrukti gana ilgą laiką. Pieno produktų apdorojimui taikomiems terminiams procesams riebaluose tirpūs vitaminai – A ir D yra kur kas atsparesni, lyginant su vandenyje tirpiaisi (riboflavinu, niacinu, pantoteno rūgštimi ir biotinu). Aukšta temperatūra ir trumpas blanširavimo laikas suteikia geresnį vitaminų sulaikymą produkte, nei žema temperatūra ir ilga blanširavimo trukmė, taip pat blanširavimas garu pranašesnis už vaisių ir daržovių blanširavimą vandeniui [31].

Maisto produktų švitinimas taip pat vienas iš veiksnių, galinčių sumažinti vitaminų kiekį maiste. Jonizuojančioji spinduliuotė, kaip maisto sterilizavimo metodas, priimtas ir naudojamas daugelyje šalių, įskaitant Europos Sąjungą. Maisto produktų ir jų ingredientų švitinimas griežtai kontroliuojamas įstatymų ir taikomas tik tiems produktams, kuriems gresia aukštas mikrobiologinio užterštumo lygis. Įrodyta, jog jonizuojanti spinduliuotė, sukelia vitaminų kiekio pokyčius, kurie susiję su apšvitės doze. Esant mažoms dozėms (iki 1 kGy) nustatyti nereikšmingi nuostoliai, tačiau didesnių dozių poveikyje (3–10 kGy) stebimas reikšmingas vitaminų kiekio sumažėjimas, apšvitintų produktų tolimesnio laikymo metu. Įrodyta jog, riebaluose tirpūs vitaminai: A ir E bei vandenyje tirpus tiaminas švitinimui jautriausi, tuo tarpu niacinas, riboflavinai ir vitaminas D gana stabilūs [31].

1.3.2 Vitamino A stabilumas maisto perdirbimo ir saugojimo metu

Maistiniu atžvilgiu vitaminą A gauname iš dviejų skirtingų šaltinių: gyvūninės kilmės retinolį ir β -karotiną bei kitus karotinoideus su augalais. Vitaminas A yra vienas iš daugelio labilių junginių, iš kurių retinilo esteriai pasižymi didesniu stabilumu už retinolį. Dėl būdingo jautrumo deguoniui vitamino A preparatai parduodami kartu su antioksidantu priedu (tokoferoliu) sudarant apsauginę plėvelę arba stabilios vitamino A formos kuriamos panaudojant: retinilo acetatą, propionatą ar palmitatą, kurie sąveikoje su vitaminu A suformuoja želatinos–angliavandenių matricą. Tokiu būdu suformuojamos granulės, kurios gali būti įterpiamos tiek į žmonių maistą, tiek į gyvulių pašarus išlaikydamos apie 90 % savo aktyvumo iki 6 mėnesių (užtikrinant tinkamas laikymo sąlygas).

Tiek retinolis, tiek jo esteriai inaktyvuojami UV spindulių (šviesos) poveikyje bei veikiant kintančio valentingumo metalų jonams (Fe, Cu). Paprastai vitaminas A santykinai stabilus terminio apdorojimo metu (120–130 °C), fiksuojamas nežymus retinolio sumažėjimas sterilizuotame ir itin aukšta temperatūra apdorotame piene lyginant su šviežiu, nenugriebtu pienu (palmitato esteriai kaitinimui už retinolį atsparesni). Tačiau ilgą laiką, aukštoje temperatūroje

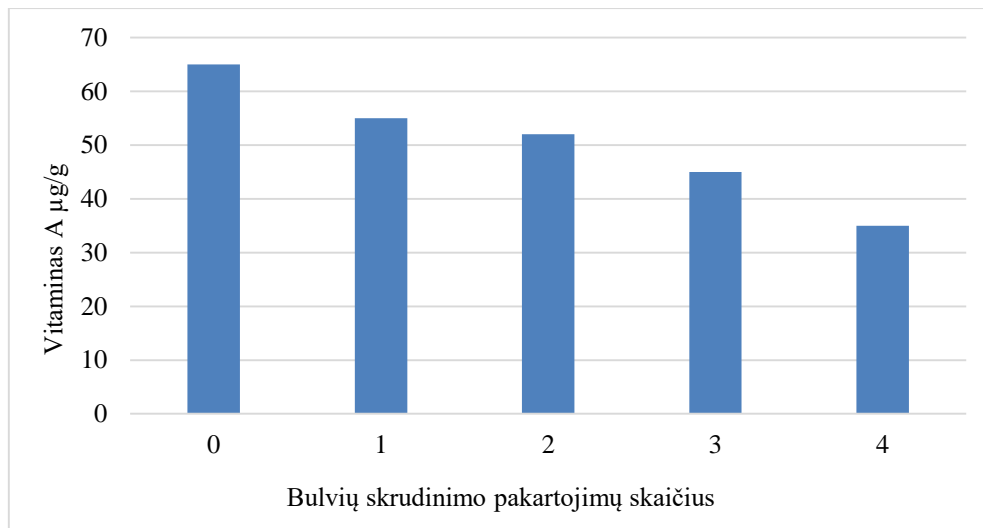
laikytame piene ar svieste stebimas ženkliai sumažėjęs vitamino A aktyvumas. Vitamino A provitaminu laikomas, didžiausią mitybinę ir komercinę svarbą iš visų karotinoidų turintis – β -karotinas [31]. Šie junginiai paprastai randami, kaip augalų pigmentai, suteikdami daugeliui vaisių ir daržovių būdingas geltoną, oranžinę ar raudoną spalvas. Karotinoidų stabilumas tapatus vitamino A stabilumui, jie taip pat jautrūs deguoniui, šviesai ir rūgščiai terpei, todėl produktai, kurių sudėtyje yra β -karotino turi būti apsaugoti nuo šviesos ir tiesioginio kontakto su oru (deguonimi). Žinoma, jog apdorojimas sieros dioksidu padeda sumažinti karotinoidų nuostolius daržovių dehidratacijos ar laikymo metu. Šilumos poveikyje, įprasto virimo ir/ar blanširavimo metu α -karotinas 1,9 karto stabilesnis už β -karotiną. Yra keletas įrodymų apie askorbo rūgšties apsauginį poveikį β -karotinui, įskaitant ir kitus skystus ar miltelių pavidalo karotinoidus [33; 34]. Askorbo rūgštis veikia kaip antioksidantas, apsaugodama karotinoidus nuo greitosios oksidacijos.

6 mėnesius laikant kukurūzų ir kviečių miltus (kambario temperatūroje) esant normaliomis sąlygomis, vitamino A išlieka daugiau kaip 95 %. Pakėlus temperatūrą iki 45 °C vitamino A stabilumas saugojimo metu sumažėja, išliekant 72 % (žr. 5 lentelė).

5 lentelė. Vitaminų kiekio pokytis laikant kvietinius miltus atitinkamoje temperatūroje esant 9 % drėgmei [70]

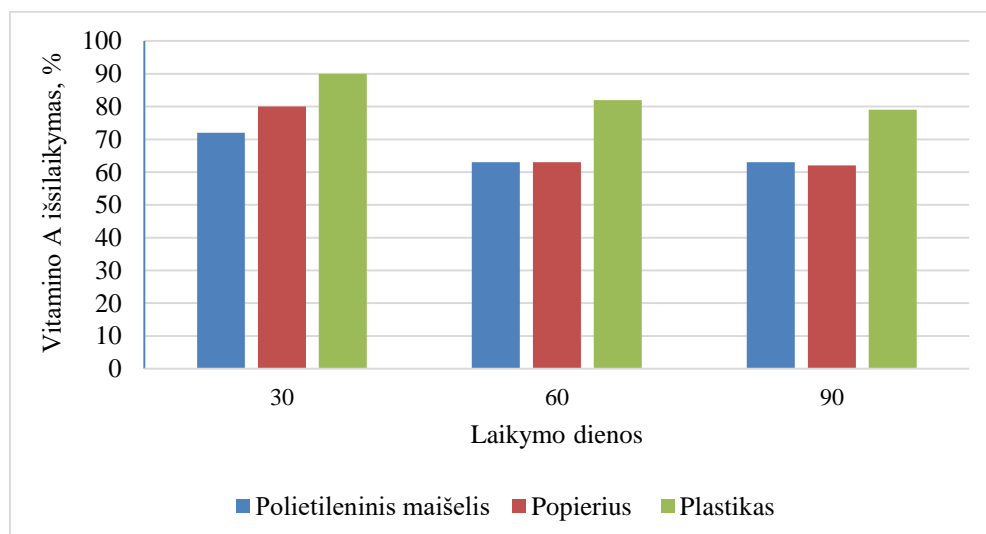
Vitaminas	Kiekis /kg							
	Žymuo etiketėje	Pradinis kiekis	Laikant 20 °C temperatūroje			Laikant 45 °C temperatūroje		
			Po 2 mėnesių	Po 4 mėnesių	Po 6 mėnesių	Po 2 mėnesių	Po 4 mėnesių	Po 6 mėnesių
A, IU	16,53	18,08	18,08	17,68	17,53	16,53	14,18	12,92
E, IU	33,07	35,05	35,05	35,05	35,05	35,05	35,27	35,49
B6, mg	4,41	5,18	4,85	5,07	4,85	4,85	4,85	4,63

Kepant duoną stebimi riboti vitamino A nuostoliai (10–20 %), tačiau didesnis praradimas stebimas skrudinimo metu. Po pirminio bulvių kepimo sojos pupelių aliejuje, esant 117–170 °C temperatūrai, išlieka 65 % pradinio vitamino A kiekio, tačiau po 4 pakartotinių skrudinimų vitamino A lieka mažiau kaip 40 % (žr. 4 pav.).



4 pav. Vitamino A stabilumas keptose ir pakartotinai skrudintose bulvėse [70]

Pakuotės parinkimas glaudžiai susijęs su parduodamo produkto galiojimo laiku bei kaina. Siekiant išlaikyti pradinį vitamino A kiekį būtina jį apsaugoti nuo deguonies ir šviesos. Vitaminas A lengvai oksiduoja skystuose produktuose (piene, aliejuje), todėl geriausias sprendimas – orui nelaidžios stiklinės taros parinkimas, tačiau stiklas sunkus, trapus ir brangus, todėl dažniausiai pasirenkamos plastikinės pakuotės. Kadangi plastikas laidus deguoniui ir tokioje pakuotėje vitaminas A neapsaugotas, problema sprendžiama pakuotę apdorojant atitinkamomis plastmasinėmis dangomis ar tiesiog siekiant išvengti vitamino nuostolio pridėjus perteklinis vitamino A kiekis. Šviesos patekimas taip pat gali būti sumažinamas parenkant šviesai nelaidžius konteinerius, tamsaus stiklo ar plastiko skardines ar dėžes. 5 paveiksle pateiktas vitamino A stabilumas skirtingų medžiagų pakuotėse.



5 pav. Laikymo įtaka cukruje esančio vitamino A stabilumui, esant skirtingų medžiagų pakuotėms [70]

1.3.3 Vitamino D stabilumas maisto perdirbimo ir saugojimo metu

Aplinkos deguoniui taip pat itin jautrus Vitaminas D₂, kuris laikomas kambario temperatūroje suyra kelių dienų laikotarpyje. Kristalinis cholekalciferolis (D₃) pasižymi didesniu stabilumu, manoma jog dėl struktūroje esančių dvigubųjų jungčių, kurių ergokalciferolis turi daugiau. Abu vitaminai (D₂ ir D₃) jautrūs šviesai ir rūgštims, tačiau santykinai atsparūs šilumos poveikiui. Aliejinės formos preparatai stabilesni už kristalinius, todėl dažniausiai komerciškai naudojamas aliejinis ar antioksidantais (pvz. tokoferoliu) stabilizuotas miltelių pavidalo vitaminas D, apsaugotas šviesai nelaidžia pakuote su inertiniu dujų užpildu [31].

Mokslinėje literatūroje pateikti vitamino D stabilumo tyrimai atskleidė, kad vitaminų degradacija priklauso nuo konkrečių maisto gaminimo, apdorojimo ar net laikymo sąlygų, pvz. įtakos turi temperatūra, deguonis, šviesa, drėgmė, pH [35]. Kutsky (1981) [42] teigė, jog vitaminas D₃ buvo nestabilus oksidacijai ir šviesai, bet stabilus rūgščių ir šarmų poveikyje. Cremin ir Power (1985) [42] teigė jog, vitaminas D₃ nestabilus oksidacijai, šviesai ir rūgštims, o atsižvelgiant į Blanco, Fernandez ir Gutierrez [36] tyrimus 2000, manyta, jog vitaminas D jautrus šilumai ir drėgmei, tačiau stabilus oksidacijai ir rūgštims.

Gana aišku, jog individualūs tyrimai pateikė gan prieštarigus duomenis, todėl galima manyti, kad vitamino D stabilumas galėjo būti glaudžiai siejamas su produktu, kuriame jis yra. Upreti, Mistry ir Warthesen (2002) [37], Wagner ir kt. (2008) [38] bei Ganesan, Brothersen ir McMohan (2011) [39] atliko vitamino D kiekybinius tyrimus, su iš pasterizuoto pieno pagamintu sūriu ir nustatė, jog 9 mėnesių laikotarpyje vitamino D₃ kiekis nesumažėjo. Vitaminas D₃ sūryje išliko stabilus tiek trumpo [40], tiek ilgo jo laikymo metu [41; 38]. Kaushik ir kt. (2014) [42] vitaminu D₂ ir Ca praturtinto šviežio, pasterizuoto, virto ir sterilizuoto pieno terminio stabilumo tyrimai atskleidė, jog skirtingų terminų procesų metu patirti vitamino D₂ nuostoliai nežymus ir statistiškai nereikšmingi ($p > 0,05$), o tai reiškia, jog šilumos poveikyje vitaminas D išlieka stabilus.

Piene esantis vitaminas D atsparus – pasterizacijai, virimui ir sterilizacijai. Liu (2003) [43] paskelbė, jog vitaminas D stabilus liesame piene atliekant pasterizaciją aukštoje temperatūroje per trumpą laiką (72 °C/15 s) bei itin aukštos temperatūros reikalaujančiuose procesuose. Panašūs rezultatai pastebėti ir Wagner ir kt. (2008) [38], kuris paskelbė, jog pieno kaitinimas 72 °C temperatūroje, 16 s neturi įtakos vitamino D koncentracijos kitimui piene bei nepastebėjo jokių vitamino D koncentracijos pokyčių kaitinant sūrį 100 ir 232 °C laipsnių temperatūroje.

Kaushik ir kt. (2014) [42] ištyręs piene esančio vitamino D₂ jautrumą šviesai, parenkant skirtingą šviesos šaltinio intensyvumą (1485, 2970 ir 4455 lx) ir laikant mėginį stiklinėje taroje 7 parų laikotarpyje nustatė, kad vitamino D₂ kiekio sumažėjimas statistiškai nereikšmingas

($p > 0,05$) lyginant su pradine koncentracija prieš tyrimą. Tačiau atkartojus tyrimą su polietilenu pakuote pastebėtas statistiškai reikšmingas vitamino D₂ kiekio sumažėjimas lyginant su pradiniu kiekiu.

Brown ir Wnuk (1988) [42] aprašė eterinių aliejų, vitaminų ir kvapiųjų medžiagų junginių praradimą vaisių sultyse, supakuotose polietilenuose pakuotėse. Citrusinių vaisių žievelėse esantis eterinis aliejus lengvai prasiskverbia per taros vidinį sluoksnį ir yra absorbuojamas polietileno.

Pieno produktuose esančio vitamino D stabilumas aprašytas dar keletu tyrėjų darbuose. Banville ir kt. (2000) [40] savo tyrimų duomenimis teigė, jog 3–4 mėnesius brandintame sūryje vitaminas D išlieka stabilus, tačiau vėliau sumažėja. Holick ir kt. (1992) [44] įvertino piene esančio vitamino D stabilumą laikymo metu 4 °C temperatūroje 7 parų laikotarpyje ir nepastebėjo reikšmingo kiekio sumažėjimo saugojimo metu. Upreti ir kt. (2002) [37] nustatė, kad 9 mėnesių laikotarpyje nepastebimas vitamino D kiekio sumažėjimo, šiuo vitaminu praturtintame sūryje, tyrimą atliekant tiek kambario, tiek minusinėje temperatūroje. Liu (2003) [43] tyrė vitamino D koncentracijos pokytį laikymo metu, laikant mėginius skirtingose pakuotėse, ir nustatė, kad didesnė vitamino D koncentracija piene išliko stikliniuose buteliukuose laikytuose mėginiuose, nei tuose, kurie buvo laikomi plastikinėje taroje. Kazmi ir kt. (2007) [41] nustatė, jog vitaminas D išliko stabilus vitaminu praturtintame sūryje, jogurte ir leduose per visą jų tinkamumo vartoti laiką.

Ne visi mokslininkai, tyrę vitamino D stabilumą, priėjo prie vieningos nuomonės. Cremin, Power (1985) ir Kutsky (1981) [42] teigė, jog vitaminas D jautrus šviesai, o Renken and Warthesen (1993) [45] nustatė nedidelį vitamino D kiekio sumažėjimą šviesos poveikyje, didesnę dėmesį sutelkdami ties tinkamos pakuotės parinkimu esant šviesos ekspozicijai. Jų manymu vitamino D netenkama ne dėl šviesos, bet dėl naudojamos pakavimo medžiagos (polietileno) laikymo metu – akyta polimerų mikrostruktūra ir hidrofobinės savybės traukia ne tik riebalus, bet kartu ir riebaluose tirpius komponentus, ko pasekoje mažėja ir riebaluose tirpių vitaminų kiekis [42].

Galima daryti išvadą, kad piene esantis vitaminas D yra stabilus terminio apdoravimo metu (pasterizuojant, verdant, sterilizuojant). Taip pat esantis piene išlieka stabilus laikant stiklinėje ir plastikinėje taroje šaldytuve, esant 4°C temperatūrai, tačiau stebimas nuostolis pieno mėginius laikant polietilenuose pakuotėje. Vitaminas D stabilus šviesos atžvilgiu laikomas tamsaus stiklo taroje, priešingi rezultatai gauti polietilenuose maišeliuose laikytų mėginių, kur nustatytas reikšmingas vitamino D kiekio sumažėjimas.

Vitaminui D kaip ir kitiems riebaluose tirpiems vitaminams (A, E, K) perdozavimo atveju būdingas toksiškas poveikis [37], todėl stabilumo nustatymas perdirbimo, pakavimo ir vėlesnio

laikymo metu svarbus ne tik maisto pramonei, siekiančiai praturtinti produkciją vitaminu D, bet ir vartotojų atžvilgiu.

1.4 Vitamino A paplitimas maiste

Retinolis paplitęs gyvūninės kilmės maisto produktuose: piene, svieste, sūryje, kiaušinio trynyje, menkėje, pomidoruose bei šiuo vitaminu praturtintuose maisto produktuose (grūduose, aliejuje, liesame piene) [48]. Vitamino A provitamins β–karotinas aptinkamas augalinės kilmės maiste, ypač sodrių spalvų, tamsiose daržovėse bei vaisiuose (kuo spalva intensyvesnė tuo karotinoidų daugiau) – žaliose lapinėse daržovėse, špinatuose, brokoliuose, morkose, kopūstuose moliūguose, citrusiniuose vaisiuose, bulvėse [50] ypač karotinoidų gausu raudonajame palmių aliejuje (žr. 6 lentelė).

6 lentelė. Vitamino A šaltiniai [52]

Maistas	Porcijos dydis	Vitaminas A (μg)*
Daržovės		
Bulvė su lupena (virta)	vidutinė	1096
Moliūgas (konservuotas)	125 ml	1007
Morkos (virtos)	125 ml	653–709
Morka (žalia)	61 g (1 morka)	509
Špinatai (virti)	125 ml	498
Ropė (virta)	125 ml	290–466
Žalių lapų salotos	250 ml	258
Raudonų lapų salotos	250 ml	218
Vaisiai		
Abrikosai (džiovinti)	60 ml	191
Abrikosai (konservuoti)	125 ml	169
Raukšlėtasis melionas (žalias)	125 ml	143
Grūdai	Aptinkamas itin mažas vitamino A kiekis	
Pienas ir pieno produktai		
Sūris		
Ožkos kietasis	50 g	243
Ožkos pusiau mikštas	50 g	204
Čederio liesas	50 g	220
Rikotos	125 ml	140–156
Mėlynasis rokforas	50 g	99–147
Pienas		
Liesas, 1%, 2%, šokoladinis pienas	250 ml	137–163
3,3%	250 ml	119
Mėsa ir mėsos produktai		

Kalakuto kepenys (virtos)**	75 g	16950
Veršelio kepenys (virtos)**	75 g	15052–15859
Jaučio kepenys (virtos)**	75 g	5808–7082
Avies kepenys (virtos)**	75 g	5618–5836
Kiaulės kepenys (virtos)**	75 g	4054
Vištos kepenys (virtos)**	75 g	3222
Žuvis ir jūros gėrybės		
Ungurys (virtas)	75 g	853
Tunas (žalias arba virtas)	75 g	491–568
Atlantinė silkė (marinuota)	75 g	194
Skumbrė (virta)	75 g	189
Moliuskai (virti)	75 g	128
Lašiša „Chinook“ (virta)	75 g	112–118
Austrės (virtos)	75 g	110
Riebalai ir aliejai		
Menkių kepenų aliejus	5 ml	1382
Kiti		
Kiaušinis (virtas)	2 dideli	190–252
Sojos gėrimas	250 ml	103–104

*Vitamino A kiekis, kuris iš karotinoidų organizme paverčiamas vitaminu A; **Nėščios moterys turėtų riboti suvartojamų kepenų kiekius

Tiek per didelės, tiek per mažos vitamino A dozės gali turėti neigiamos įtakos organizmui, sukeldamos tam tikras ligas bei regėjimo sutrikimus. Rekomenduojama vitamino A paros norma paskiriama atsižvelgiant į amžių, lytį bei reprodukcinę būklę (žr. 7 lentelė). Suaugusioms moterims ir vyrams nustatytas vitamino A paros poreikis atitinkamai 700 µg/900 µg (ne daugiau, kaip 3000 µg/d) [50], toksinis šalutinis poveikis (apsinuodijimas arba kitaip hipervitaminozė) būdingas vartojant didesnes, kaip 25,000 IU/dieną vitamino A dozes (1 IU atitinka 0,3 µg retinolio arba 0,6 µg β-karotino), kūdikiai ir vaikai perdozavimui jautresni. Padidintas β-karotino vartojimas nėra toksiškas, tačiau pakinta odos pigmentacija, oda įgyja geltoną arba oranžinį atspalvį, kurie išnyksta sumažinus suvartojamų karotinoidų kiekius.

7 lentelė. Rekomenduojama vitamino A paros norma [50]

Amžius	Moterys	Vyrai	Nėščios moterys	Žindančios moterys
0–6 mėnesių	400 µg	400 µg		
7–12 mėnesių	500 µg	500 µg		
1–3 metų	300 µg	300 µg		
4–8 metų	400 µg	400 µg		
9–13 metų	600 µg	600 µg		
≥14 metų	700 µg	900 µg	770 µg	1300 µg

Geriausias būdas organizmui suteikti rekomenduojamas vitaminų paros normas – valgyti tiek gyvūninės, tiek augalinės kilmės maistą, įvairius vaisius bei daržoves, praturtintus pieno produktus, ankštinius augalus, lęšius ir kruopas bei vengti monotoniškos mitybos.

1.5 Vitamino D paplitimas maiste

Vitamino D daugiausiai gaunama su maistu, kuriame jis aptinkamas natūraliai ar vartojant šiuo vitaminu praturtintus produktus (pvz. duoną, sausus dribsnius, margarina, aliejų, pieną ir kt.), kurių etiketėje nurodoma tiksli pridėto vitamino D kiekio vertė [46]. Kaip gausiu vitamino D šaltiniu pasižymi tik keli maisto produktai (žr. 8 lentelė): pienas, menkės kepenų aliejus, riebios žuvys, tokios kaip: lašiša, skumbrė ar sardinės. Mažesni vitamino D₃ ir jo metabolitų, 25–hidroksivitamino D₃ kiekiai aptinkami mėsoje ir kiaušinių tryniuose [47]. Augalinės kilmės ergokalciferolis (D₂) gaunamas jį sintetinančių grybų ir mielių dėka [48].

8 lentelė. Vitamino D šaltiniai [51]

Maistas	Porcijos dydis	Vitaminas D (IU)
Daržovės ir vaisiai	Aptinkamas itin mažas vitamino D kiekis	
Apelsinų sultys (praturtintos vitaminu D)	125 ml	50
Grūdai	Aptinkamas itin mažas vitamino D kiekis	
Virtas kiaušinio trynys	du dideli	57–88
Pienas ir pieno produktai		
Pienas (3.3%, 2%, 1%)	250 ml	103–105
Nugriebto pieno milteliai	24 g (250 ml pieno)	103
Jogurtas (praturtintas vitaminu D)	175 g	58–71
Mėsa ir mėsos produktai		
Virta kiauliena	75 g	6–60
Kulinariniai mėsos gaminiai (kiaulienos, jautienos saliamis)	75 g	30–54
Virtos jaučio kepenys	75 g	36
Žuvis ir jūros gėrybės		
Raudonoji lašiša „Nerka“ (konservuota, virta arba žalia)	75 g	394–636
Lašiša „Coho“ (žalia arba virta)	75 g	338–422
Lašiša „Chinook“ (žalia arba virta)	75 g	382–387
Atlantinė lašiša (žalia arba virta)	75 g	206–245
Upėtakis (virtas)	75 g	148–208
Ežerinis sykas (virtas)	75 g	135
Skumbrė	75 g	343
Skumbrė (virta)	75 g	78

Skumbrė (konservuota)	75 g	219
Atlantinė silkė (marinuota)	75 g	202
Atlantinė silkė (virta)	75 g	161
Ikrai (žali)	30 g	145
Sardinė (konservuota)	75 g	144
Otas (virtas)	75 g	144
Tunas ilgapelekis (žalias arba virtas)	75 g	99–106
Tunas baltasis (konservuotas)	75 g	60
Riebalai ir aliejai		
Menkių kepenų aliejus	5 ml	427
Margarinas	5 ml	25–36
Kiti		
Ožkos pienas (praturtintas vitaminu D)	250 ml	100
Ryžių, avižų, migdolų gėrimas (praturtintas vitaminu D)	250 ml	85–90
Sojos gėrimas (praturtintas vitaminu D)	250 ml	86

Nustatytas vitamino D poreikis dienoje, pagal skirtingas amžiaus ir lyties grupes išreiškiamas rekomenduojama paros norma, 9 lentelė (RPN), kuri tenkina sveiko žmogaus paros poreikį šiam vitaminui, lygiagrečiai 10 lentelėje pateikiamos ir maksimalios neigiamo poveikio sveikatai nesukeliančios vitamino D dozės. Maisto produktai teikiantys daugiau kaip 20 % rekomenduojamos paros normos laikomi didelio maistingumo šaltiniais [49].

9 lentelė. Rekomenduojamas vitamino D paros norma [49]

Amžius	Moterys	Vyrai	Nėščios moterys	Žindančios moterys
0–12 mėnesių	400 IU (10 µg)	400 IU (10 µg)		
1–13 metų	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)		
14–18 metų	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)
19–50 metų	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)
51–70 metų	600 IU (15 µg)	600 IU (15 µg)		
>70 metų	800 IU (20 µg)	800 IU (20 µg)		

RPN vertė išreikšta tarptautiniais vienetais (IU), kurių 40 IU biologinis aktyvumas atitinka 1 µg

10 lentelė. Maksimali vitamino D paros norma [49]

Amžius	Moterys	Vyrai	Nėščios moterys	Žindančios moterys
0–6 mėnesių	1000 IU (25 µg)	1000 IU (25 µg)		
7–12 mėnesių	1500 (38 µg)	1500 (38 µg)		
1–3 metų	2500 IU (63 µg)	2500 IU (63 µg)		
4–8 metų	3000 IU (75 µg)	3000 IU (75 µg)		
≥9 metų	4000 IU (100 µg)	4000 IU (100 µg)	4000 IU (100 µg)	4000 IU (100 µg)

1.6 Maisto praturtinimas biologiškai aktyviomis medžiagomis

Pastaruoju metu itin išaugo susidomėjimas mikroelementais ir jų kaip maisto komponentų trūkumu mityboje. Viena iš pagrindinių to priežasčių – įvairių ligų ir sveikatos sutrikimų pagausėjimas. Daugiau kaip 2 milijardai žmonių visame pasaulyje kenčia patirdami mikroelementų trūkumą, kurį sukelia nepakankami vitaminų ir mineralinių medžiagų kiekiai maiste [8].

Mikroelementai yra atsakingi už įvairius nespecifinius fiziologinius sutrikimus, todėl esant jų trūkumui sumažėja atsparumas infekcijoms, dažni medžiagų apykaitos sutrikimai, sutrikęs fizinis ir psichomotorinis vystymasis [30]. Jodo, geležies, vitaminų A ir D bei cinko trūkumas siejamas su rimčiausiais sveikatos rizikos veiksniais, todėl geriausias būdas išvengti mikroelementų nepakankamumo – užtikrinti sveikos ir subalansuotos mitybos vartojimą [53], tačiau dėl prastų mitybos įpročių ir nepakankamos informacijos sklaidos tai prieinama ne visiems.

Siekiant įveikti mikroelementų deficito maiste problemą PSO ir MŽŪO (Pasaulio sveikatos organizacija ir maisto ir žemės ūkio organizacija) Tarptautinėje mitybos konferencijoje – 1992 metais, gruodžio mėnesį kartu su 159 šalimis patvirtino Pasaulio mitybos deklaraciją įsipareigodami:

- „dėti visas pastangas likviduojant jodo ir vitamino A trūkumą“;
- „mažinti visų kitų mikroelementų trūkumą maiste“.

Pripažinta viena svarbiausių iš tuo metu aptartų strategijų – maisto praturtinimo vitaminais ir mineralinėmis medžiagomis strategija. Maisto praturtinimas tam tikrais elementais ne tik užtikrina pilnavertiškesnę mitybą (gaunami prarasti ar net natūraliais maiste neaptinkami komponentai) bet ir kartu nereikalaujama radikalių maisto vartojimo pokyčių. Išsivysčiusiose šalyse maisto produktų praturtinimas, kaip priemonė prarastiems (perdirbimo, laikymo metu) vitaminams atkurti naudojama jau daugiau kaip 80 metų. Kai kurie B grupės vitaminai ir buvo pagrindiniai tai nulėmę veiksniai, siekiant atstačius prarastą kiekį sumažinti su jų deficitu siejamų ligų dažnumą, mat šių vitaminų (tirpių vandenyje) atsargos organizme nekaupiamos, todėl juos būtina nuolat gauti su maistu.

Maisto praturtinimas mažinant A, D tam tikrų B grupės (tiaminas, riboflavinai, niacinas) vitaminų, jodo ir geležies trūkumą pramoninėse šalyse, turi ilgą istoriją. Joduotos druskos vartojimas 1920 metais įvestas Šveicarijoje bei Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) ir palaipsniui išplito visame pasaulyje [4]. Nuo 1940 metų grūdų produktai praturtinami tiaminu, riboflavinu, niacinu (B grupės vitaminais), margarinai vitaminu A Danijoje [54] ir pieno produktai vitaminu D JAV [55]. Mažiems vaikams skirtas maistas papildomas geležimi, tyrimai

įrodė, jog tai iš esmės sumažino geležies trūkumo sukeltos anemijos riziką šioje amžiaus grupėje. Kviečių praturtinimas folio rūgštimi tapo plačiai paplitęs Amerikoje taip pat ši strategija priimta Kanadoje, Jungtinės Valstijose ir 20–yje Lotynų Amerikos šalių. Atsižvelgiant į gana ilgai trukusią cukraus praturtinimu vitaminu A programą matoma sėkmė gerokai sumažinant vitamino A trūkumą jaučiamą centrinės Amerikos dalies gyventojams. Paklausą lėmė tai, jog druska vartojama labai mažais kiekiais bei dažnai esti netinkamos kokybės, mažas paplitimas ir kartu suvartojimas būdingas aliejui/margarinui ir kvietiniams miltams taip pat maža pieno produktų ir kukurūzų miltų paklausa ir suvartojimas bei dažna jų gamyba namuose [54]. Panašios iniciatyvos pradėtos taikyti ir kituose pasaulio regionuose [4].

1.6.1 Praturtinimas vitaminu A

Vitamino A trūkumas dažniausiai nustatomas nėščioms moterims, iki mokyklinio amžiaus ir vyresniems vaikams (paaugliams). Pilnavertė mityba apimanti tiek augalinės, tiek gyvūninės kilmės maisto įvairovę gali suteikti rekomenduojamas vitamino A paros normas, tačiau daugelyje besivystančių šalių, esant monotoniškai mitybai, kuri grindžiama grūdų ir ankštinių augalų paklausa su maistu gaunami vitamino A kiekiai (dėl prastai pasirinktų šaltinių) nepakankami. Atsižvelgiant į šią priežastį, maisto papildymas vitaminu A gali būti naudinga ir veiksminga intervencija [54].

Maisto praturtinimas vitaminais priklauso nuo pačio produkto, jo savybių, technologinių (gamybinių) parametrų bei norminių aplinkybių. Vitaminas A yra nestabilus junginys, todėl komerciniai jo preparatai sutinkami esterių pavidalu, kurie dažniausiai sudaromi su palmitino ar acto rūgštimi. Retinilo acetatas ir retinilo palmitatas kartu su provitaminu A (β -karotinu) yra pagrindinės komercinės vitamino A formos, kurios gali būti panaudotos įvairaus maisto praturtinimui. Dėl intensyvios oranžinės spalvos β -karotino taikymas šiuo tikslu ribotas, tačiau jis gali būti plačiai panaudojamas siekiant suteikti apelsino geltonumo spalvą margarinui bei gaiviesiems gėrimams. Skiriami du galimi vitamino A įterpimo į maistą būdai:

- riebios formos vitaminas A gali būti tiesiogiai įterpiamas į riebalų turintį maistą ar emulsuojamas į vandens pagrindą (pvz. pieną);
- sausos formos vitaminas A gali būti įmaišomas į maistą ar disperguojamas vandenyje priklausomai nuo to ar preparatas skaidosi šiltame ar šaltame vandenyje.

Įvairių vitamino A formų charakteristikos ir pritaikymas pateikti 11 lentelėje. Tiek aliejinės, tiek sausos retinolio formos gali būti panaudojamos maisto produktų praturtinimo tikslais. Sausos formos dažniausiai dengtos želatinos ar krakmolo apvalkalėliais ir į visas įterpiami antioksidantai [4].

11 lentelė. Pramoninės vitamino A formos ir jų panaudojimas [4]

Vitamino A forma	Savybės	Pritaikymas
Aliejinis vitamino A acetatas	Antioksidantais stabilizuoti acto rūgšties retinolio esteriai	Praturtinamas riebalų turintis maistas – ypač margarinai ir pieno produktai
Aliejinis vitamino A palmitatas	Antioksidantais stabilizuoti palmitino rūgšties retinolio esteriai	Praturtinamas riebalų turintis maistas – ypač margarinai ir pieno produktai
Aliejinis vitamino A palmitatas ar acetatas kartu su vitaminu D ₃	Antioksidantais stabilizuotas retinolio esterio ir cholekalciferolio mišinys	Praturtinamas abiejų vitaminų reikalaujantis riebalų turintis maistas - ypač margarinai ir pieno produktai
Sausas vitamino A palmitatas ar acetatas	Antioksidantais stabilizuota retinolio - vandens forma (pvz. želatinoje, krakmole)	Praturtinami vandens pagrindo bei sausi produktai (miltai, pieno milteliai, gėrimų milteliai)
Sausas vitamino A palmitatas ar acetatas kartu su vitaminu D ₃	Antioksidantais stabilizuota retinolio ir cholekalciferolio - vandens forma (pvz. želatinoje, krakmole)	Praturtinami vandens pagrindo bei sausi produktai (miltai, pieno milteliai, gėrimų milteliai)

Veikiant aplinkos veiksniams: UV spinduliams, šilumai ar deguoniui tirpale esančio gryno vitamino A ir β -karotino kiekis mažėja, todėl siekiant išlaikyti pradinę koncentraciją būtinas antioksidantų bei orui nelaidžios pakuotės panaudojimas [30]. Žinoma, jog minimalūs vitamino A nuostoliai fiksuojami produktą laikant sandariose skardinėse, tačiau šiuo vitaminu praturtintuose grūduose, cukruje ar aliejuje priklausomai nuo aplinkos ir laikymo sąlygų bei trukmės praradimas gali siekti net 40 % [56].

Vitaminu A praturtinami įvairūs produktai (žr. 12 lentelė), tačiau vienas iš dažniausiai pasirenkamų – margarinai. Tiek pramoninėse, tiek besivystančiose šalyse populiarus darosi vitamino įterpimas į javų miltus bei augalinius aliejus, o kai kuriose centrinės Amerikos dalyse šis vitaminas pageidaujamas cukruje. Įterpiamo vitamino kiekį, formą ir praturtinamo produkto rūšį apibūdina praturtinimo programos. Manoma, kad produktas geba absorbuoti apie 90 % įterpiamo vitamino. Yra dvi priežastys lemiančios riebių maisto produktų (margarinai ir aliejaus) praturtinimo vitaminu A paklausą:

1. aliejuje tirpi vitamino A forma yra pigiausia;
2. aliejus apsaugo vitaminą nuo oksidacijos saugojimo metu, taip pat palengvina vitamino absorbciją [54].

12 lentelė. Vitaminu A praturtinami maisto produktai [30]

Maisto produktas	Vitamino A forma	Stabilumas
Margarinas	Retinilo palmitatas (aliejinė forma)	Geras
Javų miltai	Retinilo acetatas ar palmitatas (stabilizuotos sausos formos)	Pakankamas
Aliejai	β -karotinas ir retinilo acetatas arba palmitatas (aliejinės formos)	Geras
Cukrus	Retinilo palmitatas (vandeninė forma)	Pakankamas
Pieno milteliai	Retinilo acetatas ar palmitatas (sausos vandenyje disperguojamos formos)	Geras
Natūralus pienas	Retinilo acetatas (pageidautinas) arba palmitatas (aliejinė forma, emulsuoti)	Geras/pakankamas (priklauso nuo pakavimo medžiagų)
Kūdikių mišiniai	Retinilo palmitatas (vandenyje disperguojamos granulės)	Geras
Užtepai	Retinilo acetatas arba palmitatas (aliejinė forma)	Geras

Vitaminu A praturtintas margarinas į kai kurias šalis įvežtas anksčiau, kaip 1920 metais ir nuo tada išpopuliarėjo, kaip sviesto pakaitalas tarp vaikų. Indijoje hidrintas aliejus, kuris naudotas kaip alternatyva „angl. *ghee*“ sviestui prisotinamas vitaminu A nuo 1953. Kai kurios šalys į margariną įterpia nuo 1 iki 15 mg/kg vitamino A. Tai suteikia 2–40 % rekomenduojamos paros normos, darant prielaidą, kad per dieną šio produkto suvartojama 15 g [54].

Aliejus yra ideali matrica riebaluose tirpiam vitaminui A stabilizuojant retinolį ir apsaugant vitaminą nuo oksidacijos. Praturtinimo vitaminu A technologija gana paprasta, lengvai ir nebrangiai įgyvendinama, tačiau lyginant su margarino praturtinimu taikoma retai. Vertinant įterpto vitamino stabilumą eksperimentiniai tyrimai atskleidė, jog sandarioje taroje laikytame sojų pupelių aliejuje vitaminas A išlieka stabilus 9 mėnesius. Mažiau kaip 15 % vitamino A prarandama pupelių virimo metu ir apie 60 % kai aliejus skrudinimui naudojamas pakartotinai [56]. Retinilo acetatas/palmitatas yra į aliejų įterpiamo vitamino A pagrindas. Rekomenduojama į augalinį aliejų įterpti 18 mg/kg vitamino A, tuomet su 16 g aliejaus gaunama 50 % žmogui rekomenduojamos paros normos [54].

Miltų praturtinimas vitaminu A veiksmingas dėl lengvo sausos formos vitamino įmaišymo į produktą su kitais priedais, tačiau nustatyta, jog 30–50 % į grūdus dedamo vitamino netenkama transportavimo ar laikymo metu [57;54]. Venesueloje kukurūzų miltų praturtinimas, pagal Nacionalinę programą, vykdomas nuo 1993 metų. Į miltus įterpiama 2,7 mg/kg vitamino A, su kurių 80 g/d gaunama – 30 % rekomenduojamos paros normos, darant prielaidą, jog laikymo, transportavimo ar gamybos proceso metu vitamino A netenkama apie 15 % [54]. Praturtinus

kvietinius miltus retinoliu – 4,5 mg/kg, iš jų keptoje duonoje nustatyta 2,2 µg/g retinolio koncentracija. Tai teikia apie 33 % rekomenduojamos paros normos iki mokyklinio amžiaus vaikų grupėje [58].

Cukraus praturtinimas vitaminu A buvo įgyvendintas Kosta Rikoje ir Gvatemaloje 1970 – siais. Ši cukraus praturtinimo programa pripažinta, kaip veiksminga priemone didinant vitamino A kiekį žindyvių piene [54] bei tokiu būdu suteikiant kūdikiams trečdalį rekomenduojamos vitamino A paros normos [59]. Gvatemaloje ir Salvadore per dieną suvartojant 30–120 g cukraus, kuris praturtintas 9 mg/kg vitaminu A, gaunama 45–185 % rekomenduojamos paros normos (>3 metų amžiaus) [54]. Dideli cukraus kiekiai gausiai naudojami maisto pramonėje pvz.: gaiviųjų gėrimų gamyboje ar konditerijoje. Nustatyta, jog 9 mėnesius laikant vitaminu A praturtintą cukrų, priklausomai nuo laikymo sąlygų, vitamino išlieka 40–70 %. Praturtintame vitaminu A cukruje esantis retinolis išlieka stabilus kepimo proceso metu, tačiau didelė dalis jo prarandama gėrimų gamyboje (2 savaites laikant vitaminu A praturtinto nerafinuoto cukraus tirpalą nuostoliai siekia 60 %). Šie patiriami nuostoliai gali turėti neigiamų finansinių pasekmių, todėl nėra tikslinga gaiviųjų gėrimų sektoriuje naudoti šiuo vitaminu praturtintą cukrų.

Atsižvelgiant į tai, jog ryžiai yra vieni iš pagrindinių, daugelyje šalių dažnai vartojamų maisto produktų, kuriuose vyrauja didelis vitamino A trūkumas, ryžių praturtinimas vitaminais – didelį potencialą turinti, visuomenės sveikatos, mažinant vitamino A deficitą, strategija [54]. Tačiau dėl techninių priežasčių ryžių praturtinimas kol kas dar tik eksperimentuojamas (mažo masto malūnai, ryžių gavybos šalyse trukdo praturtinimo programų vystymą), nors programa biologiškai veiksminga, tačiau per brangi.

Kiti vitaminu A sėkmingai praturtinami produktai: pieno milteliai, maistas kūdikiams ir vaikams, jogurtas, greitai paruošiami makaronai.

Galimas ūminis ar lėtinis neigiamas poveikis sveikatai pasireiškia nuo suvartoto per didelio retinolio kiekio, tačiau tai dažniausiai siejama ne su praturtintu maistu, bet papildų vartojimu ir tai nėra būdinga vitamino A provitaminui (β–karotinui).

1.6.2 Praturtinimas vitaminu D

Tiek vitaminas D₂ (ergokalciferolis), tiek D₃ (cholecalciferolis) gali būti įterpiami į maistą [60], ženklinimo etiketėje nurodant įterpto vitamino tipą. Abi šios formos pasižymi panašiu biologiniu aktyvumu bei jautrumu deguoniui ir šviesai, tačiau vitaminas D₃ gali būti daugiau nei 3 kartus veiksmingesnis, pakeliant ir išlaikant – 25–hidroksivitamino D kiekį organizme. Kadangi vitaminas D tirpus riebaluose, todėl gali būti įterpiamas į riebalų turintį maistą (pvz. nenugriebtą pieną, sūrį), neatmetant galimybės praturtinti ir mažo riebumo maisto produktus –

liesą pieną, neriebų jogurtą, apelsinų sultis ir kitus. Šiam tikslui sukuriama skirtingų savybių vitamino D preparatai (miltelių, emulsinės ar aliejinės formos) tinkantys praturtinti įvairias terpes [4;61]. Dažniausiai komerciškai naudojama sausa, stabilizuota vitamino D forma, kartu su antioksidantų priedu (pvz. tokoferoliu). Praturtinimui taikoma technologija parenkama paprasta ir nebrangi, dažniausiai vitaminu D praturtinti maisto produktai juslinėmis savybėmis mažai skiriasi nuo savo analogų [37;39]. Vitamino įterpimas į pieną ir pieno produktus, duoną, sultis lemia gerą jo biologinį prieinamumą.

Didžioji dalis organizme cirkuliuojančio 25–hidroksivitamino D kilusi saulės spindulių (UV) ekspozicijos dėka iš provitamino 7–dehidrocholesterolio [62]. Sezoniniai pokyčiai, tamsios pigmentacijos oda, senėjimas ir kiti veiksniai turi įtakos šiam procesui. Aplinkos, kultūriniai ir fiziologiniai pakitimai gali sutrikdyti įprastą vitamino D sintezę odoje, todėl su maistu gaunamas vitaminas turi kompensuoti patiriamą deficitą [63]. Jungtinių Amerikos Valstijų (JAV) ir Kanados gyventojai labai priklausomi nuo vitaminu D praturtintų maisto produktų ir papildų, dėl gaunamo nepakankamo saulės spindulių kiekio ir reto maisto produktų vartojimo, kuriuose vitaminas D aptinkamas natūraliai.

Natūraliai maiste esanti vitamino D koncentracija yra kintanti. Riebi žuvis (lašiša, skumburė) yra priskiriama prie gausiausių vitamino D šaltinių [64], nors kepenys ir kiti organai (riebalinis audinys), taip pat pasižymi dideliu vitamino D kiekiu, tačiau vartojami rečiau dėl didelio juose esančio cholesterolio kiekio. Kanadoje ir JAV maisto praturtinimas vitaminu D griežtai kontroliuojamas dėl potencialaus toksiškumo. Nuolat vartojant padidintomis dozėmis riebaluose tirpius vitaminus galimas pertekliaus kaupimas organizme, pasireiškiantis hipervitaminoze. Kuriant teisės aktus teisėtam maisto praturtinimui vitaminu D ir kalciumu (Ca) šios dvi šalys naudojasi tomis pačiomis mitybos rekomendacijomis dėl maksimalių ir saugių vitamino D ir Ca ribų maiste visoms amžiaus ir lyties grupėms.

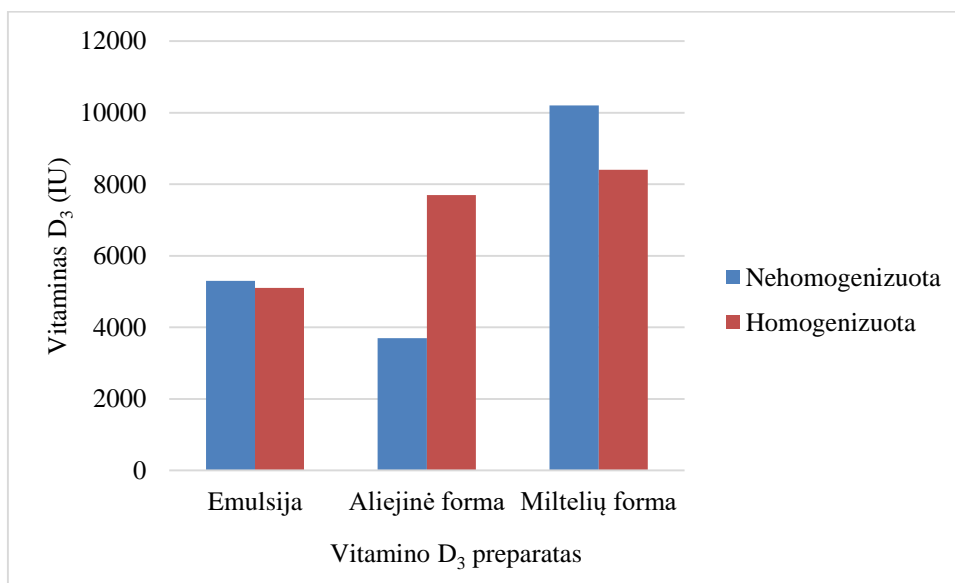
Susirūpinimą kelia stiprus ryšys tarp vitamino D nepakankamumo ir lėtinių ligų rizikos. Būtina užtikrinti produktų praturtinimo mechanizmo efektyvumą (sumažinti vitaminų nuostolius gamybos proceso metu, užtikrinti tolygų pasiskirstymą visame produkte) ir užkirsti kelią vitamino D deficitui organizme [65]. Vartojant mažesnius nei numatyta vitamino D kiekius padidėja I tipo cukrinio diabeto [66], reumatoidinio artrito ir išeminės sklerozės rizika [67;68].

Maisto praturtinimo vitaminu D pradžia laikomas atsakas į vis dažniau vaikų tarpe, nustatomą rachitą. 1932 metais nustačius vitamino D₂ struktūrą, Kanadoje ir JAV vitamino priedas į pieną tapo svarbiausia vitamino D deficito įtakojamo rachito likvidavimo priemone [5;69]. Vitaminu D dažniausiai praturtinami pienas ir kiti pieno produktai, o kai kurios šalys taiko vitamino įterpimą ir į margariną. Kanadoje margarinas vitaminu D praturtinamas 530 IU/100g, o vitamino įterpimas į pieną paremtas suvartojamu kiekiu dienoje t.y. ne mažiau kaip

300 IU ir ne daugiau kaip 400 IU vitamino D litre pieno, su kurio 250 ml gaunama 44 % rekomenduojamos paros normos. Kiti galimi praturtinti produktai: sutirštintas pienas, ožkos pienas, pieno milteliai. Augalinės kilmės pienas (pvz. sojos) privalo būti praturtinamas vitaminu D, Ca taip pat ir kitomis maistinėmis medžiagomis (pvz. vitaminu B₁₂) siekiant suteikti panašią į karvės pieno maistinę vertę. Idealus kandidatas praturtinimui vitaminu D – sūris. Al-khalidi ir kt. (2012) [5] aprašė kazeino baltymų panaudojimą pramoninių būdu įterpiant vitaminą D į sūrį. Tyrimas atskleidė, kad daugiau, kaip 90 % į pieną įterpto vitamino D₃ išliko “Čederio,, ir “Mocarelos,, sūriuose. Naudojant kazeino baltymus, vitamino D₃ nuostoliai išrūgose sumažinti iki 8 %. Ganesan ir kt. (2011) [39] atliko trijų skirtingų vitamino D₃ preparatų (emulsijos, miltelių ir aliejinės formos) įterpimą į “Čederio,, sūrį dviem skirtingais būdais:

1. tiesiogiai įmaišant į visą pieną;
2. homogenizuojant į dalį (10 %) pieno.

Tyrimo rezultatai atskleidė, jog homogenizacija pagerino aliejinės formos vitamino D preparato sulaikymą produkte, tačiau tiesioginis miltelių pavidalo vitamino D₃ preparato įterpimas į sūriui gaminti naudojamą pieną pripažintas – našiausiu (žr. 6 pav.).



6 pav. Skirtingų vitamino D₃ preparatų sulaikymas čederio sūryje [39]

2 TYRIMO METODIKA IR ORGANIZAVIMAS

2.1 Tyrimo atlikimo vieta ir laikas

Tyrimas buvo atliktas Kauno technologijos universiteto maisto mokslo ir technologijos katedroje.

Tyrimo atlikimo laikas 2016–2017 metai.

2.2 Tyrimo objektas ir mėginių skaičius

Kaip gausiu vitamino D šaltiniu pasižymi tik keli maisto produktai: pienas, menkės kepenų aliejus, riebios žuvys, tuo tarpu vitaminas A taip pat aptinkamas pieno produktuose, žuvų taukuose, augalinėje žaliavoje (morkose, pomidoruose ir kt.). Nors riebaluose tirpūs vitaminai randami įvairiuose maisto produktuose, tačiau didžiausiais jų kiekis aptinkamas – riebalų turinčiame maiste, kas ir lėmė tiriamųjų objektų atranką ir mėginių paskirstymą.

- ***Žalio pieno mėginiai***

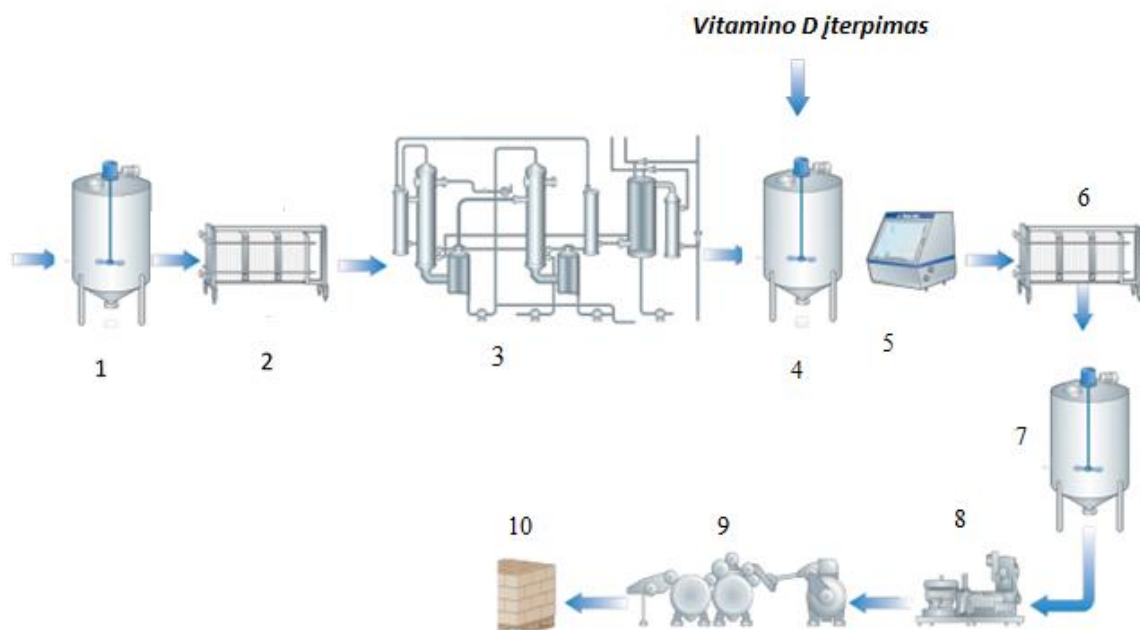
Dvylikos mėnesių laikotarpyje tirti tų pačių ūkininkų tiekti žalio pieno mėginiai. Buvo atrinkta 10 karvių su skirtingu holštenizacijos laipsniu: 4 senojo genotipo (iki H30) ir po 2 karves iš 2 (H59, H64), 3 (H70, H75) ir 4 (H81, H85) sudarytų grupių. Tyrimo metu tirta ne tik riebaluose tirpių vitaminų A ir D koncentracija žaliame skirtingo genotipo karvių piene, bet įvertinta ir sezoniškumo įtaka šių vitaminų kiekiui skirtingais periodais t.y. ganykliniu ir tvartiniu laikotarpiu.

- ***Nesaldintas sutirštintas pienas***

UAB „Marijampolės pieno konservai“ pagaminti vitaminu D₃ praturtinti sutirštinto pieno mėginiai. Buvo dvi pramoninės gamybos, įterpiančios riebaluose ištirpintą kristalinį vitaminą D₃ (Vitamin D₃ 1.0 MIU/g, DSM, Niderlandai) ir sausąjį vandenį tirpų vitaminą D₃ (Dry vitamin D₃ 100 CWS/AM, DSM, Niderlandai). Siekiant nustatyti ar įterpto vitamino D₃ koncentracija gaminyje pasiskirstė tolygiai, mėginiai buvo atrinkti partijos pradžioje, viduryje ir pabaigoje po sterilizacijos. Vertinant vitamino išsilaikymą, mėginiai buvo tiriami po pagaminimo ir išlaikius 2 mėnesius.

Nesaldinto sutirštinto pieno konservų gamybos technologijos schema pateikta 7 paveiksle. Tiršinimui skirtas normalizuotas (1), pasterizuotas (2) ir iki sutirštinimo temperatūros atšaldytas

pienas teka į dvikorpusinį vakuuminį garinimo aparatą (3), kuriame koncentruojamas iki standartinio sausųjų medžiagų kiekio. Tirštintas pienas tiekiamas į tarpinį rezervuarą (4), kuriame įmaišomas vitaminas D. Toliau vitaminu D praturtintas sutirštintas pienas homogenizuojamas. Plunžerinio homogenizatoriaus (5) sudarytu slėgiu tirštintas pienas patenka į plokštelinį šaldytuvą (6) ir atšaldomas iki 4 °C temperatūros, po to patenka į tarpinį rezervuarą (7). Tirštintas pienas fasuojamas į skardines dėžutes automatu (8), dėžutės su produktu sterilizuojamos būgniniame sterilizatoriuje (9), atvėsinaimos ir sandėliuojamos (10). Sterilizuoto pieno mėginiai laikomi +6 °C temperatūroje šaldytuve 6 mėn. iki tyrimo.



7 pav. Sutirštinto nesaldinto sterilizuoto pieno gamybos technologijos proceso schema: 1 – normalizavimo rezervuaras; 2 – pasterizatorius; 3 – dvikorpusinį vakuuminį garinimo aparatą; 4 – tarpinis rezervuaras; 5 – homogenizatorius; 6 – plokštelinis šaldytuvas; 7 – tarpinis rezervuaras; 8 – fasavimo į skardines dėžutes automatas; 9 – būgninis sterilizatorius; 10 – laikymo kamera

- **Žalios ir karštai rūkytos žuvies mėginiai**

Tirta žalia bei KTU kompetencijos centre imituojant pramonines sąlygas pagaminta karštai rūkyta jūros lydeka ir skumbė. Tyrimo metu tirta žalioje ir karštai rūkytoje skumbėje ir jūros lydekoje bei karštai rūkytos skumbės file natūraliai esanti vitaminų A ir D₃ koncentracija, įvertinta terminio proceso – rūkymo įtaka riebaluose tirpių vitaminų (A ir D₃) kiekiui žuvyje.

- **Rūgštinių ir rūgštinių–fermentinių būdu pagaminta varškė bei išrūgos**

Laboratorinėmis sąlygomis buvo gaminta varškė ir atskirtos išrūgos. Rūgštinės varškės gamybai naudotas sausas mezofilinių pienarūgščių kultūrų raugas CHN–19 (Chr. Hansen, Danija), susidedantis iš *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ir *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*.

2,5 % riebumo pasterizuotas pienas pašildytas iki 30 °C temperatūros, užraugtas mezofilinių pienarūgščių kultūrų raugu, kartu pridedant ir vitamino D₃ preparatų. Į 2 l pieno pridėta 0,1 g raugo ir 0,4000 g šaltame vandenyje tirpaus vitamino D₃ preparato (2 l pieno vitamino D₃ – 1000 µg) ir kitu atveju, vietoje vandenyje tirpaus vitamino, dėtas etanolyje ištirpintas ir grietinėle praskiestas kristalinis vitaminas D₃ – 400 µl gauto mišinio (2 l pieno vitamino D₃ – 1000 µg). Palikta per naktį 24°C temperatūroje. Sekančią dieną susidariusi sutrauka atsargiai supjaustoma vertikaliomis ir horizontaliomis linijomis maždaug 2 cm kubeliais ir paliekama 30 min ramybėje, kad išsiskirtų išrūgos. Kad jos greičiau išsiskirtų, sutrauka pašildoma iki 55 °C temperatūros. Po 20–25 min. susidariusi sutrauka sukręsta į sūrmaišį ir palikta savaiminiam susislėgimui. Kai baigia skirtis išrūgos, pasveriami susidariusių išrūgų ir gautos varškės masė.

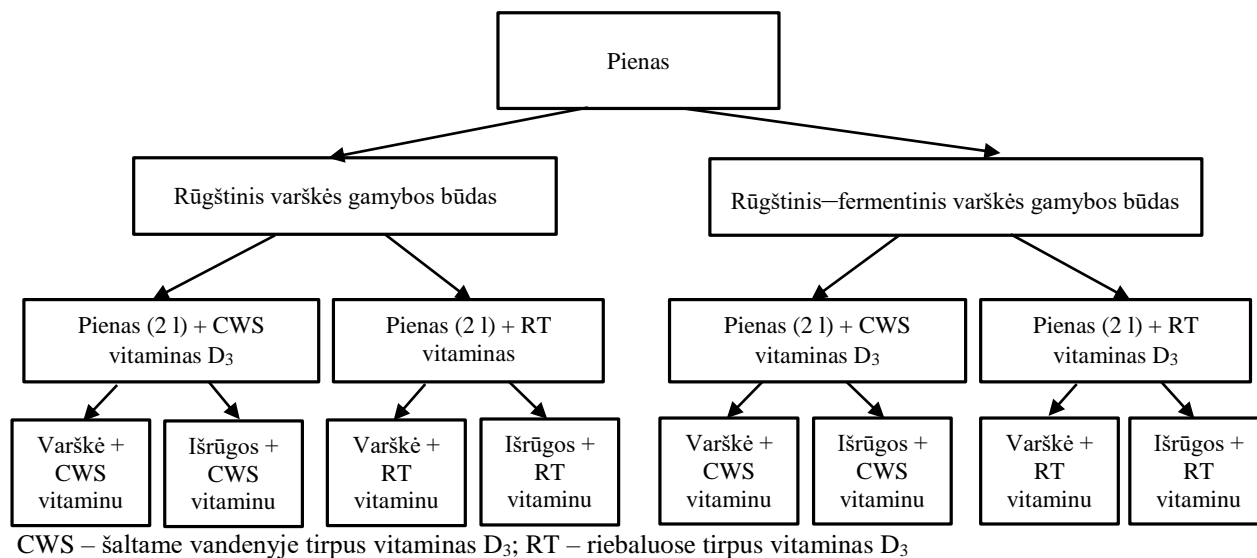
Gaminant varškę rūgštinių–fermentinių būdu pradžioje 2 l pieno mišinys su raugu (0,14 g) CHN–19 (Chr. Hansen, Danija) 30 °C temperatūroje laikomas 2–3 valandas, kol jo rūgštingumas pasiekia ~6,5 pH, tuomet į jį pridedama ištirpinto 1ml H₂O 0,18 g himozino fermento (Hansen sticks, CHR Hansen, Danija) ir maišoma 5–6 min. ir paliekama rauginti 31–32 °C temperatūroje iki sutraukos susidarymo 5–6 val. Nustačius rauginimo pabaigą ir susidarius pakankamai tankiai varškės sutraukai, kuri susmulkinama ir sumaišoma. Susmulkinta sutrauka paliekama 30 min, kad išsiskirtų išrūgos. Siekiant greitesnio išrūgų išsiskyrimo sutrauka pašildoma iki 60 °C temperatūros ir šioje temperatūroje išlaikoma 20–25 min. [74]. Išsiskyrus išrūgoms, sutrauka kartu su išrūgomis pilama į sūrmaišį, kuris pakabinamas ir paliekamas nuvarvėti, tokiu būdu gaunama varškė ir išrūgos. Pasveriami susidariusių išrūgų ir gautos varškės masė.

Gaminant varškę rūgštinių ir rūgštinių–fermentinių gamybos būdu buvo dedami vitamino D₃ preparatai:

- 1) šaltame vandenyje tirpus vitaminas D₃ (Dry vitamin D₃ 100 CWS/AM, DSM, Nederlandai). Preparato 0,4000 g gryno vitamino D₃ yra 1000 µg;

- 2) kristalinis cholekalciferolis (Sigma Aldrich, Lenkija). 0,1g cholekalciferolio ištirpintas 10 ml etanolio ir gautas tirpalas sumaišytas su 30 ml grietinėlės. Gauto mišinio 1 ml yra 2500 µg vitamino D₃.

Bendra tyrimo schema pateikta 8 pav., eksperimentas kartotas tris kartus. Šio tyrimo metu palyginta dviejų skirtingų varškės gamybos būdų bei panaudoto vitamino preparato įtaka pridėtų vitaminų išgavai varškėje ir išrūgose.



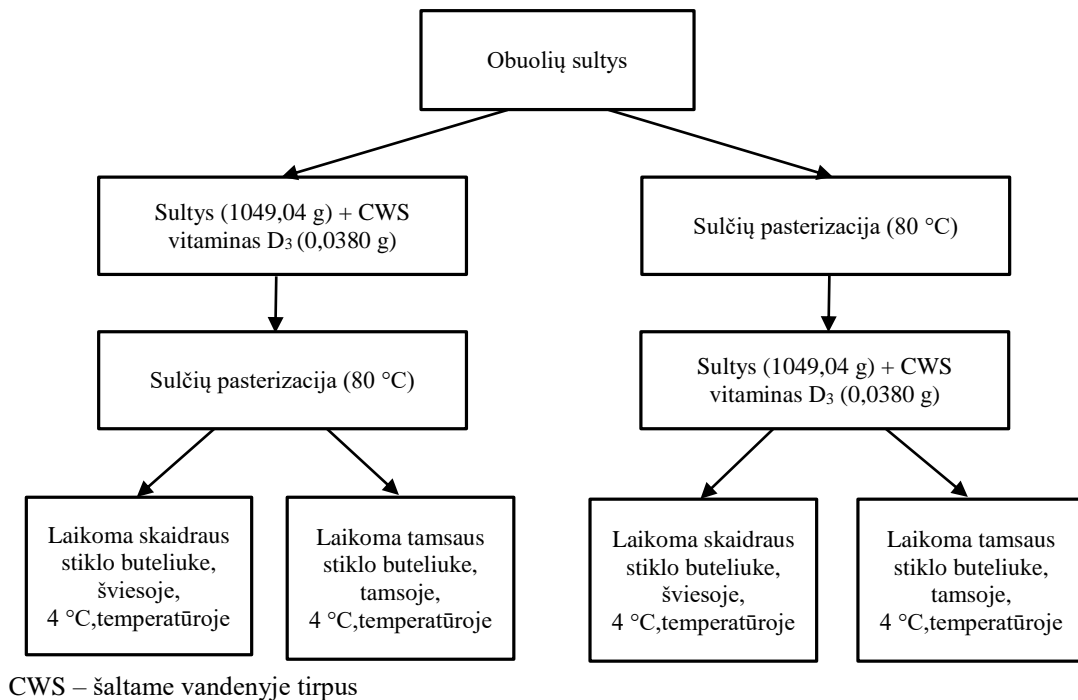
8 pav. Rūgštinės/ rūgštinės–fermentinės varškės tyrimo schema

Obuolių sultys

Atrinkti ir nuplauti obuoliai supjaustyti skiltelėmis, susmulkinti ir iš gautos masės išspaustos obuolių sultys. Jos padalintos į dvi dalis:

- I. Į sultis prieš pasterizaciją įterpiama šaltame vandenyje tirpi vitamino D₃ forma 9 μg/100 g (Dry vitamin D₃ 100 CWS/AM, DSM, Niderlandai).
- II. Į sultis šaltame vandenyje tirpi vitamino D₃ forma įterpiama po pasterizacijos.

Pasterizacija vykdoma sultis kaitinant iki 80 °C temperatūros, viso pasterizavimo metu būtina užtikrinti tinkamą higieną. Sultys išpilstomos į skaidraus ir tamsaus stiklo buteliukus, kurie laikomi šaldytuve 4°C temperatūroje tamsoje (tamsaus stiklo buteliukai sudedami į nepermatomą dėžutę) ir šviesoje, esant 4187 Lux'ų dirbtiniam apšvietimui (žr. 9 pav.). Vitamino D₃ kiekis nustatomas iškart po įterpimo ir kas dvi savaites viso tyrimo metu, t.y. po 1, 2, 3 ir 4 savaičių. Tokiu būdu įvertinamas sultyse įterpto šaltame vandenyje tirpaus vitamino D₃ stabilumas terminiam poveikiui – vykdant pasterizaciją bei jautrumas šviesai. Tyrimas kartotas du kartus.



9 pav. Obuolių sulčių tyrimo schema

2.3 Tyrimų metodai

2.3.1 Sausųjų medžiagų ir drėgmės nustatymas žuvyje, džiovinant 102 ± 2 °C temperatūroje

Tyrimas atliktas vadovaujantis standartu: „LST ISO 1442:2000 Mėsa ir mėsos produktai. Drėgmės kiekio nustatymas (pamatinis metodas) (tpt ISO 1442:1997 (E))“ [75].

Įranga, priemonės

Biuksai, stiklinės lazdelės, smėlis, analitinės svarstyklės, eksikatorius, džiovinimo spinta.

Darbo eiga

Į švarius, sausus biuksus plonu sluoksniu paskleidžiamas smėlis, dedama stiklinė lazdelė tuomet biuksai ir jų dangteliai 1 val. džiovinami džiovinimo spintoje, kurioje nustatyta 102 ± 2 °C temperatūra, kad visi paviršiai džiūtų vienodai, biuksų dangteliai dedami greta. Po džiovinimo biuksai su dangteliais išimami iš spintos ir sudedami į eksikatorių, atšalę biuksai uždengiami ir pasveriami 0,0001 g tikslumu.

Paruoštas biuksas atidengiamas ir į jį sveriamas 5 g žuvies bandinio (smulkintos), biuksas uždengiamas ir su turiniu pasveriamas 0,0001 g tikslumu (W_1). Svėrimo metu jau pasverti ir uždengti biuksai sudedami į eksikatorių (ruošiami du kartotiniai to paties mėginio pavyzdžiai).

Džiovinimas atliekamas atidengtus biuksus sudedant į džiovinimo spintą 102 ± 2 °C temperatūroje, periodiškai sveriant iki nekintančios masės. Džiovinama apie ~4 valandas bet priklausomai nuo žuvies rūšies procesas gali užtrukti ir ilgiau.

Baigus džiovinti, biuksai išimami iš džiovinimo spintos, uždengiami ir dedami į eksikatorių, kuriame ataušta iki kambario temperatūros, ataušę su turiniu pasveriami 0,0001 g tikslumu (W_2).

Rezultatų skaičiavimas: drėgmės kiekis apskaičiuojamas procentais pagal formulę:

$$W = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100; \quad (1)$$

kur:

W – analizuojamo produkto pavyzdžio drėgmė %;

W_1 – analizuojamo produkto pavyzdžio masė gramais prieš džiovinimą;

W_2 – analizuojamo produkto pavyzdžio masė gramais po džiovinimo.

(Aritmetinis vidurkis skaičiuojamas pagal dviejų kartotų mėginių rezultatus).

2.3.2 Riebalų kiekio nustatymas žuvyje Soksleto ekstrakcijos metodu

Įranga, priemonės

Filtrinis popierius, siūlas, chloroformas, Soksleto ekstrahavimo aparatas The behrotest ® In-Line Extraction Unit (Düsseldorf, Vokietija), eksikatorius, džiovinimo spinta (Nahita Drying oven model 631 plius, Ispanija).

Darbo eiga

Po drėgmės žuvyje nustatymo, biuksuose likusios sausos medžiagos (SM) panaudojamos žuvyje esančių riebalų analizei. Tyrimo metu į paruoštą filtrinį popierių suberiamos biuksuose likusios SM (be nuostolių) ir susukami rišulėliai (2x4 cm). Turimi rišulėliai pasveriami analitinėmis svarstyklėmis 0,0001 g tikslumu (M_1) ir sudedami į ekstrakcinę kamerą, pilamas tirpiklis (chloroformas), kuris pasiekęs virimo temperatūrą išplauna tiriamuosiuose mėginiuose esančius riebalus. Ekstrahuojantis tirpiklis parenkamas taip, kad būtų kuo gimingesnis analitei, kuo mažiau gimingas matricai, kuo lakesnis ir kuo mažiau klampus (tada jį lengviau pašalinti iš mėginio).

Ekstrakcija grindžiama – tirpiklio išgarinimu jam kondensuojantis šaldytuve ir tekant per mėginį. Tirpiklio grįžimas į kolbą remiasi sifono principu, todėl vyksta ciklais, t.y. tirpalas grįžta į kolbą tik kai ekstrakcinėje kameroje susikaupia tam tikras tirpiklio kiekis, ekstrakcijos trukmė ~4 valandos [76]. Po ekstrakcijos išsūlėliai išimami iš kameros ir tirpiklio nugarinimui paliekami traukos spintoje (~1,5 paros), porai valandų sudedami į džiovinimo spintą, pernešami į eksikatorių ir sveriami 0,0001 g tikslumu (M_2).

Rezultatų skaičiavimas:

$$M = M_1 - M_2; \tag{2}$$

kur:

M – analizuojamo produkto pavyzdžio riebalų kiekis g;

M_1 – analizuojamo produkto pavyzdžio masė g prieš ekstrakciją;

M_2 – analizuojamo produkto pavyzdžio masė g po ekstrakcijos.

(Aritmetinis vidurkis skaičiuojamas pagal dviejų kartotų mėginių rezultatus).

2.3.3 Vitaminų A ir D nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu

Vitamino D kiekis maiste nustatomas vadovaujantis standartu: „LST EN 12821:2009 Maisto produktai. Vitamino D nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Cholekalciferolio (D_3) ir ergokalciferolio (D_2) matavimas“ [77]. Vitaminui A nustatyti naudotas standartas: „LST EN 12823–1:2001 Maisto produktai. Vitamino A nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. 1 dalis. Visai trans–retinolio ir 13–cis–retinolio nustatymas“ [78]. Būdingos vitaminų A ir D chromatogramos bei kalibracinės kreivės pateiktos 2 ir 3 prieduose.

Standartiniai tirpalai

Mėginio apmuilininimui naudojamas KOH (50) ruošiamas iš 50 g KOH ir 100 ml distiliuoto vandens, vitamino D_3 nustatymui naudoti standartiniai tirpalai ruošti:

- *Vitamino D_2 pradinis tirpalas (D_2St , 20mg/100ml)*. Kruopščiai atsverta 20 mg ergokalciferolio (Sigma–Aldrich, Čekija) į 100 ml matavimo kolbą, iki žymės atskiesta etanolio ir išmaišyta. Tirpalo koncentracija 20 mg/100 ml.
- *Vitamino D_2 standartinis tirpalas (D_2I , 2mg/100ml)*. Į 100 ml matavimo kolbą naudojant pipetę įpilta 10 ml vitamino D_2 standartinio tirpalo (D_2St) ir iki žymės atskiesta etanolio bei išmaišyta. Tirpalo koncentracija 2 mg/100 ml.

- *Vitamins D₂ standard working solution (D₂II, 0,02mg/100ml)*. In 100 ml measuring flask using pipette add 1 ml of vitamin D₂ standard solution (*D₂I*) and two drops of ethanol or dilute. Solution concentration 0,02 mg/100 ml.

Analogously prepare (primary, standard and standard working) vitamin D₃ solutions (*D₃st*, *D₃I*, *D₃II*), in place of ergocalciferol, use cholecalciferol (Sigma–Aldrich, Lenkija).

- *Standard D₂+D₃ solution*. In 100 ml measuring flask using pipette add 1 ml of vitamin D₂ standard solution (*D₂I*) and 1 ml of vitamin D₃ standard solution (*D₃I*) and two drops, dilute with methanol or dilute. Solution concentration of vitamin D₂ 0,02 mg/100 ml, vitamin D₃ – 0,02 mg/100 ml.

Vitamin A preparation use the following solutions:

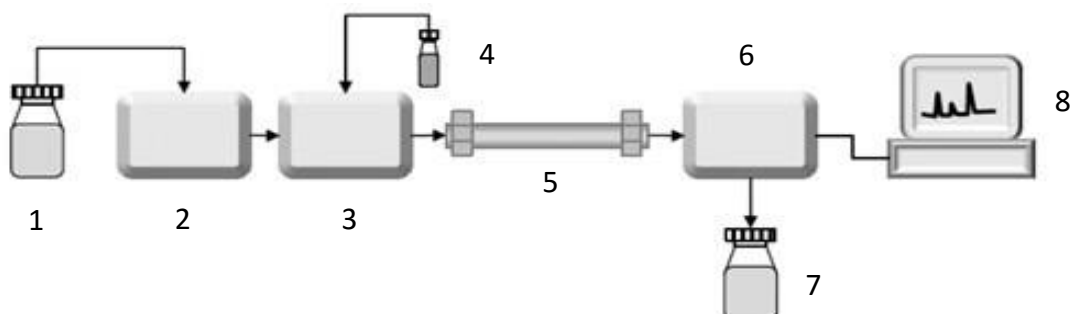
- *Primary trans–retinol solution*. In 50 ml measuring flask add 50 mg of vitamin A–palmitate (Sigma–Aldrich, Šveicarija) (1 mg of retinol), dissolve in n–hexane and dilute to two drops. Primary solution concentration 1 mg/ml.
- *Standard trans–retinol solution*. Prepare from primary solution by diluting, extract, purify. Concentration and purity set by measuring trans–retinol solution in ethanol and measuring its absorption peak at 325–326 nm. Prepare solutions in dark, at lower temperature like 4 °C.

Mėginio paruošimas

Sample, if needed homogenize (solid consistency) and protect from light (dark glass vial, foil). In dark glass vial using analytical scales (0,0001 g of retinol) add 1–2 g of sample, add 0,2 g of ascorbic acid (Reachem, Slovakija), pyrogallol (at the end), add 3 ml KOH (Reachem, Slovakija) and 8 ml of ethanol (Stumbras, Lietuva) and 1 ml of internal standard – II dilution (0,02 mg/100 ml) of vitamin D₂. To avoid oxidation in vial, add nitrogen gas (2 min.) to remove oxygen. Cold precipitation (hydrolysis) is performed at 20 °C temperature, for 12 h and continuously stirred for 24 h (~16h) in thermostated shaker (Shaking Water Baths THERMOLAB® by GFL, product–No–1092, Vokietija). To extract lipophilic vitamins after precipitation add 9 ml of water and 10 ml of n–hexane (Avantor Performance Materials, Lenkija), vial content is diluted in dilution, which is 2 minutes intensively stirred (to dissolve the sample). To remove solvent, evaporate in dark, to remove solvent, concentrate the organic extract, and extract again with water and vacuum evaporator (IKA RV 10 Rotary Evaporator, Vokietija; KNF LABOACT

Chemically-resistant Vacuum Systems, Vokietija) iki sausumo. Prieš chromatografinę analizę (žr. 10 pav.) sausasis likutis ištirpinamas 1 ml mobilios fazės (95 % metanolio ir 5 % vandens) ir perfiltruojama per membraninį filtrą 0,22µm.

Chromatografinė analizė



10 pav. Efektyviosios skysčių chromatografijos schema: 1 – tirpiklis; 2 – siurblys; 3 – injektorius; 4 – mėginys; 5 – kolonėlė; 6 – detektorius; 7 – atliekos; 8 – duomenų surinkimo įrenginys

Analizei atlikti naudotas chromatografas Shimadzu Prominence (Shimadzu Corp., Japonija) su diodų matricos detektoriumi ir automatinio mėginių įvedimo įrenginiu, naudota YMC-Pack ODS-A (porų dydis 5 µm, 150x 4 mm, YMC Co) chromatografinė kolonėlė. Vitaminas D registruotas esant 265 nm bangos ilgiui, vitaminas A – 325 nm. Kolonėlės temperatūra 40 ° C, judrioji fazė sudaryta iš 95 % metanolio ir 5 % vandens, tekėjimo greitis 1 ml/min, injekcijos tūris 50 µl. Duomenys apdoroti LC Solutions programine įranga.

Rezultatų skaičiavimas

Vitamins D₃ masės dalies (M_{D3}) apskaičiavimas pagal lygtį:

$$M_{D3} = \frac{V_{D3} \times M_{vs} \times 100}{V_{D2} \times R_f \times m_{m\acute{e}g}} \quad \mu\text{g}/100\text{g}; \quad (3)$$

kur:

m_{vs} – vitamino D₂ masė 1 ml vidinio standarto, µg;

m_{mėg} – mėginio masė, g;

R_f – atskyrimo faktorius;

V_{D3} – vitamino D₃ smailės plotas mėginio chromatogramoje;

V_{D2} – vitamino D₂ smailės ploto aukštis mėginio chromatogramoje.

Etaloninio tirpalo atskyrimo faktorius apskaičiuojamas pagal lygtį:

$$R_f = \frac{V_{EtD3} \times m_{EtD2}}{V_{EtD2} \times m_{EtD3}}, \quad (4)$$

kur:

V_{EtD3} – vitamino D₃ smailės plotas;

V_{EtD2} – vitamino D₂ smailės plotas;

m_{EtD2} – vitamino D₂ koncentracija etaloniniame tirpale, µg/ml;

m_{EtD3} – vitamino D₃ koncentracija etaloniniame tirpale µg/ml.

Trans–retinolio koncentracija apskaičiuojama naudojantis išoriniu standartu pagal lygtį:

$$M_A = \frac{m_{st} \times V_{még} \times 1000}{V_{st} \times m_{még} \times 50} \times 100 \quad \mu\text{g}/100\text{g}; \quad (5)$$

kur:

m_{st} – trans–retinolio masė standartinio tirpalo 1 ml, µg;

$m_{még}$ – mėginio masė, g;

V_{st} – trans–retinolio smailės plotas chromatogramoje;

$V_{még}$ – tiriamojo mėginio smailės plotas chromatogramoje;

1000 – mikrogramų perskaičiavimo į miligramus koeficientas;

100 – masės koncentracijos perskaičiavimo į 100 g koeficientas;

50 – išvirkšto mėginio tiriamojo tirpalo tūris mikrolitrais.

2.3.4 Duomenų statistinė analizė

Analizuojant duomenis naudota Microsoft Excell 2015 metų programa, apskaičiuoti: aritmetiniai vidurkiai, standartiniai nuokrypiai ir koreliacija. Statistinė duomenų analizė, esant tikimybei $p < 0,05$ atlikta statistiniu paketu „SPSS for Windows“, versija 15.0 (SPSS Inc., IL, USA, 2006).

3 TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 Žalio pieno mėginiai

Piene yra visų žinduolių mitybai reikalingų vitaminų, vandens fazėje aptinkami B grupės vitaminai, o susiję su pieno riebalų rutulėliais riebaluose tirpūs – A, D, E ir K. Piene aptinkami itin maži vitaminų E ir K kiekiai todėl pieno produktai nelaikomi pagrindiniais šių vitaminų šaltiniais. Dažnai pienui būdingą gelsvą spalvą suteikia jame esantis β -karotinas, o vitaminas E pasižymi antioksidaciniu poveikiu, saugo pieno riebalus nuo oksidacijos. Vieni vitaminai į pieną patenka kartu su gaunamu maistu ar pašarais, kiti sintetinami žarnyno mikrofloros – organizme (K). Piene esančių vitaminų kiekiams įtakos turi įvairūs veiksniai, iš kurių svarbiausi: laktacijos periodas, maistas/pašarai (metų laikas), amžius bei fiziologinė būklė. Riebaluose tirpių vitaminų kiekis piene ir pieno produktuose priklauso nuo riebalų kiekio juose.

Piene natūraliai aptinkamas tik nedidelis vitamino D kiekis, todėl JAV taikomas vitamino D₃ savanoriškas įterpiamas į pieną (100 IU/250 ml), o Kanadoje, pagal įstatymą, pienas prisotinamas 35–40 IU/100 ml, taip pat daugelyje šalių į pieną įterpiamas ir vitaminas A, ypač į liesą ar sumažinto riebumo pieną [79;80]. Šviesos poveikis mažina vitaminų A ir D₃ kiekį produkte (piene), todėl pienas turi būti laikomas šviesai nelaidžioje, tamsaus plastiko ar kartono pakuotėje.

Metus laiko tirtuose, tų pačių ūkininkų tiektuose, skirtingo kolštenizacijos laipsnio karvių pieno mėginiuose nustatytas riebaluose tirpių A ir D₃ vitaminų kiekis. Viso iširta – 88 pieno mėginiai, kurie pagal karvių holštenizacijos laipsnį suskirstyti į 4 grupes:

1. grupė (H0–H49): H17; H17; H20; H29,
2. grupė (H50–H69): H59; H64,
3. grupė (H70–H79): H70; H75,
4. grupė (H80–H89): H81; H85.

Iš tyrimų rezultatų matyti, kad visoms grupėms būdingas tirtų vitaminų kiekio išsibarstęs kitimas pieno mėginiuose (žr. 13 lentelė). Didžiausia vidutinė vitamino D₃ vertė 1,27 μ g/100g ir A vertė 114,54 μ g/100g nustatyta 3 grupėje, mažiausia – vitamino D₃ 0,67 ir A 67,66 μ g/100g – ketvirtoje grupėje. Atlikta statistinė analizė (esant tikimybei $p < 0,05$) parodė statistiškai reikšmingą skirtumą tarp tirtų grupių vertinant vitamino D₃ koncentraciją piene, kuris statistiškai mažiausias 4 grupės karvių piene (0,67 \pm 0,36 μ g/100g), taip pat statistiškai reikšmingas skirtumas nustatytas vitamino A kiekio atžvilgiu: 3 grupės karvių piene vitamino A koncentracija didžiausia (114,54 \pm 50,46 μ g/100g), o 4 grupės – mažiausia (67,66 \pm 31,14 μ g/100g). Galima teigti, jog mažiausias vitaminų A ir D₃ kiekis būdingas 4 grupės karvių pienui

(H81, H85), o didžiausias vitamino A kiekis karvių pienui, kurių holštenizacijos laipsnis H70, H75 (3 grupė).

13 lentelė. Vitaminų D₃ ir A kiekis skirtingo holštenizacijos laipsnio karvių pieno mėginiuose, $\mu\text{g}/100\text{g}$

Rodiklis	Grupė			
	1 (H 0–49)	2 (H 50–69)	3 (H 70–79)	4 (H 80–89)
Mėginių skaičius, n	32	18	19	19
Vitaminas D ₃	1,13±0,66 ^a	1,05±0,67 ^a	1,27±0,94 ^a	0,67±0,36 ^b
Ribos min–max	0,42–2,54	0,4–2,50	0,38–2,94	0,13–1,53
Vitaminas A	78,51±31,37 ^a	86,72±48,85 ^a	114,54±50,46 ^c	67,66±31,14 ^b
Ribos min–max	33,53–164,09	26,14–195,20	32,89–216,19	28,09–161,19

± standartinis nuokrypis, ^{a, b, c} – vidurkiai, lentelės eilutėse pažymėti skirtingomis raidėmis, statistiškai reikšmingai skiriasi tarpusavyje ($p < 0,05$)

Vertinant sezoniškumo įtaką vitaminų kiekiui piene nustatyta, kad mažiausia vitamino D₃ vidutinė vertė buvo pavasarį 0,75 $\mu\text{g}/100\text{g}$ ir žiemą 0,78 $\mu\text{g}/100\text{g}$, tai 2 kartus mažiau nei vasaros ir 1,5 karto mažiau nei rudens sezone. Statistiškai reikšmingai skyrėsi vidutinis vitamino D₃ kiekis vasaros sezone – jis buvo didžiausias (1,56 $\mu\text{g}/100\text{g}$), nors maksimali viso tyrimo laikotarpiu nustatyta vertė 2,94 $\mu\text{g}/100\text{g}$ buvo rudens sezone.

Vitamino A vidutinės vertės mažesnės buvo vasarą (79,83 $\mu\text{g}/100\text{g}$) ir pavasarį (80,8 $\mu\text{g}/100\text{g}$), tačiau lyginant su vitaminu D₃ tokio pat ryškaus pokyčio tarp skirtingų sezonų nematyti (žr. 14 lentelė). Didžiausia vidutinė vitamino A vertė nustatyta žiemos periodu (98,38 $\mu\text{g}/100\text{g}$), tačiau didžiausias viso tyrimo laikotarpiu nustatytas vitamino A kiekis piene buvo pavasario sezone – 216,19 $\mu\text{g}/100\text{g}$. Kaip matome, vitamino A kiekis kito labai plačiose ribose, statistinė analizė neparodė reikšmingų skirtumų tarp vitamino kiekio pavasario, vasaros, rudens ir žiemos laikotarpiu.

14 lentelė. Vitaminų D₃ ir A kiekis skirtingais sezonais karvių pieno mėginiuose, $\mu\text{g}/100\text{g}$

Rodiklis	Sezonas			
	Pavasaris	Vasara	Ruduo	Žiema
Mėginių skaičius, n	30	20	25	13
Vitaminas D ₃	0,75±0,30 ^a	1,56±0,84 ^b	1,15±0,86 ^a	0,78±0,35 ^a
Ribos min–max	0,25–1,51	0,38–2,54	0,13–2,94	0,4–1,44
Vitaminas A	80,8±37,59 ^a	79,83±40,55 ^a	89,43±52,29 ^a	98,38±36,90 ^a
Ribos min–max	26,14–216,19	33,06–153,91	34,02–195,20	32,89–178,44

± standartinis nuokrypis, ^{a, b} – vidurkiai, lentelės eilutėse pažymėti skirtingomis raidėmis, statistiškai reikšmingai skiriasi tarpusavyje ($p < 0,05$)

Kadangi pieno sudedamosios dalys nėra stabilios ir jų kiekybinė bei kokybinė įvairovė priklauso nuo daugelio veiksnių, manoma jog vasaros (ganykliniu) laikotarpiu piene esančių sausųjų medžiagų (vitaminų, makro(mikro) elementų, baltymų, riebalų ir kt.) aptinkami didesni kiekiai nei tvartiniu, kuomet gyvulio organizme sunaudojamos per vasarą sukauptos mineralinių medžiagų ir vitaminų atsargos. Taip pat teigiama, jog įtakos turi žiemos metu tiekiami konservuoti pašarai (silosuota žolė, džiovintas šienas), kurie maistingumu neprilygsta šviežiai žolei [83].

Apibendrinus visus 88 ištirtus pieno mėginius, nustatyta vidutinis vitamino D₃ kiekis buvo $1,05 \pm 0,71 \mu\text{g}/100\text{g}$ ir A kiekis $85,65 \pm 42,62 \mu\text{g}/100\text{g}$. Vidutinis tirto pieno riebumas buvo $4,87 \pm 1,10 \%$. Vertinant koreliaciją tarp vitaminų kiekio, nustatyta silpna priklausomybė tarp vitaminų D₃ ir A ($r = 0,39$), tačiau ryšio tarp pieno riebumo ir vitamino A kiekio nenustatyta ($r = 0,01$), o ryšys tarp riebumo ir vitamino D₃ kiekio labai silpnas – r lygi $0,12$.

Pieno tyrimų eigoje, pasitaikius galimybei ištirtas dviejų veislių ožkų pienas bei jame esantys riebaluose tirpūs A ir D₃ vitaminai. Gauti ožkų piene esančių vitaminų kiekiai palyginti su karvių piene nustatytu šių vitaminų kiekiu. „Zaneno“ veislės ožkų piene nustatyta $0,62 \pm 0,04 \mu\text{g}/100\text{g}$ vitamino D₃ ir $46,68 \pm 2,33 \mu\text{g}/100\text{g}$ vitamino A, „Prancūzų alpinės“ veislės ožkų piene atitinkamai $0,53 \pm 0,22 \mu\text{g}/100\text{g}$ ir $48,88 \pm 4,36 \mu\text{g}/100\text{g}$. Lyginant su šių vitaminų kiekiu karvės piene, ožkos piene jų nustatyta mažiau. Ožkų pienas tirtas pavasario sezono tuoj po ožkavimosi, tai galėjo turėti įtakos gautiems rezultatams. Skirtumo tarp skirtingų veislių ožkų piene esančių vitamino kiekio nenustatyta, nors jų pieno riebumas skyrėsi – „Zaneno“ veislės buvo $3,80 \pm 0,20 \%$, o „Prancūzų alpinės“ – $4,97 \pm 0,15 \%$.

3.2 Rūgštiniu ir rūgštiniu–fermentiniu būdu pagaminta varškė bei išrūgos

Laboratorinėmis sąlygomis, dviem skirtingais būdais (rūgštiniu ir rūgštiniu–fermentiniu) pagaminta varškė praturtinta šaltame vandenyje tirpiu ir kristaliniu riebaluose tirpiu cholekalciferoliu. Eksperimentas formuotas dviem būdais lyginant didesnio ($1000 \mu\text{g}/2 \text{ l}$ pieno) ir mažesnio ($100 \mu\text{g}/2 \text{ l}$ pieno) vitamino D₃ kiekio pasiskirstymą produkte bei išgavą varškėje ir išrūgose priklausomai nuo varškės gamybos būdo.

Nustatyta, jog vitamino forma (tirpumas) neturėjo įtakos vitamino D₃ kiekiui produkte (žr. 15 lentelė). Rūgštiniu–fermentiniu būdu pagamintoje varškėje esančio riebaluose ir vandenyje tirpaus vitamino D₃ kiekis buvo tolygus, atitinkamai: $15,59 \pm 1,55$ ir $16,59 \pm 2,65 \mu\text{g}/100\text{g}$ bei $13,98 \pm 0,82$ ir $14,98 \pm 1,16 \mu\text{g}/100\text{g}$. rūgštiniu gamybos būdu pagamintoje varškėje.

15 lentelė. Vitaminas D₃ varškėje (pridėta 100 µg/ 2 l pieno)

Produktas	Gamybos metodas	Vitamino D ₃ forma	D ₃ µg/100g	Išgava, %
Išrūgos	Rūgštinis–fermentinis	Riebaluose tirpus	1,49±0,33	12,63 ^{aA}
		Vandenyje tirpus	1,58±0,71	13,80 ^{aA}
	Rūgštinis	Riebaluose tirpus	2,73±0,45	36,16 ^{aB}
		Vandenyje tirpus	2,10±0,35	32,50 ^{aB}
Varškė	Rūgštinis–fermentinis	Riebaluose tirpus	15,59±1,55	80,68 ^{aA}
		Vandenyje tirpus	16,59±2,65	82,92 ^{aA}
	Rūgštinis	Riebaluose tirpus	13,98±0,82	60,82 ^{aB}
		Vandenyje tirpus	14,98±1,16	62,97 ^{aB}

* mažosios raidės rodo reikšmingą skirtumą tarp vitamino formų, didžiosios – gamybos būdo, kai p<0,05

Vitamino D₃ išgavos skirtumas matomas priklausomai nuo varškės gamybos būdo: rūgštiniu–fermentiniu būdu pagamintoje varškėje vidutinė riebaluose ir vandenyje tirpaus vitamino D₃ vertė buvo 15,59±1,55 ir 16,59±2,65 µg/100g, tai atitinka 80,68 ir 82,92 % į pieną įterpto vitamino. 1,3 karto mažesnis vitamino D₃ kiekis nustatytas rūgštiniu būdu gamintoje varškėje 60,82 ir 62,97 % (vidutinė riebaluose ir vandenyje tirpaus vitamino D₃ vertė 13,98±0,82 ir 14,98±1,16 µg/100g), šiuo atveju pasitvirtino tarp skirtingo varškės gamybos būdo vyraujantis, statistiškai (esant tikimybei p<0,05) reikšmingas skirtumas p=0,028.

Atitinkamai didesnis kiekis išrūgų ir kartu jose esančio riebaluose ir vandenyje tirpaus vitamino D₃ nustatytas rūgštiniu būdu gamintoje varškėje – 36,16 ir 32,50 %, mažiau vitamino aptikta rūgštinio–fermentinio varškės gamybos būdo išrūgose atitinkamai: 12,63 ir 13,80 %.

Į pieną įterpus 10 kartų didesnę vitamino D₃ kiekį (1000 µg/ 2 l), gauti analogiški rezultatai (žr. 16 lentelė). Praturtinimui panaudota vitamino forma neturėjo įtakos jo kiekiui varškėje ir išrūgose, tačiau rūgštinis–fermentinis gamybos būdas nulėmė didesnę vitamino kiekį varškėje. Lyginant su prieš tai buvusio eksperimento rezultatais, gauta vitamino išgava buvo mažesnė, tačiau varškė buvo gaminta laboratorinėmis sąlygomis, skyrėsi jos drėgmė ir tekstūra, tai galėjo nulemti gautus skirtumus.

16 lentelė. Vitaminas D₃ varškėje (pridėta 1000 µg/ 2 l pieno)

Produktas	Gamybos metodas	Vitamino D ₃ forma	D ₃ µg/100g	Išgava, %
Išrūgos	Rūgštinis–fermentinis	Riebaluose tirpus	11,50±0,15	18,84 ^{*aA}
		Vandenyje tirpus	12,30±0,35	19,66 ^{aA}
	Rūgštinis	Riebaluose tirpus	22,20±0,22	26,37 ^{aB}
		Vandenyje tirpus	23,68±0,23	30,94 ^{aB}
Varškė	Rūgštinis–fermentinis	Riebaluose tirpus	167,75±0,77	66,90 ^{aA}
		Vandenyje tirpus	188,14±0,58	72,03 ^{aA}
	Rūgštinis	Riebaluose tirpus	91,87±1,27	45,78 ^{aB}
		Vandenyje tirpus	108,88±2,69	50,11 ^{aB}

* mažosios raidės rodo reikšmingą skirtumą tarp vitamino formų, didžiosios – gamybos būdo, kai p<0,05

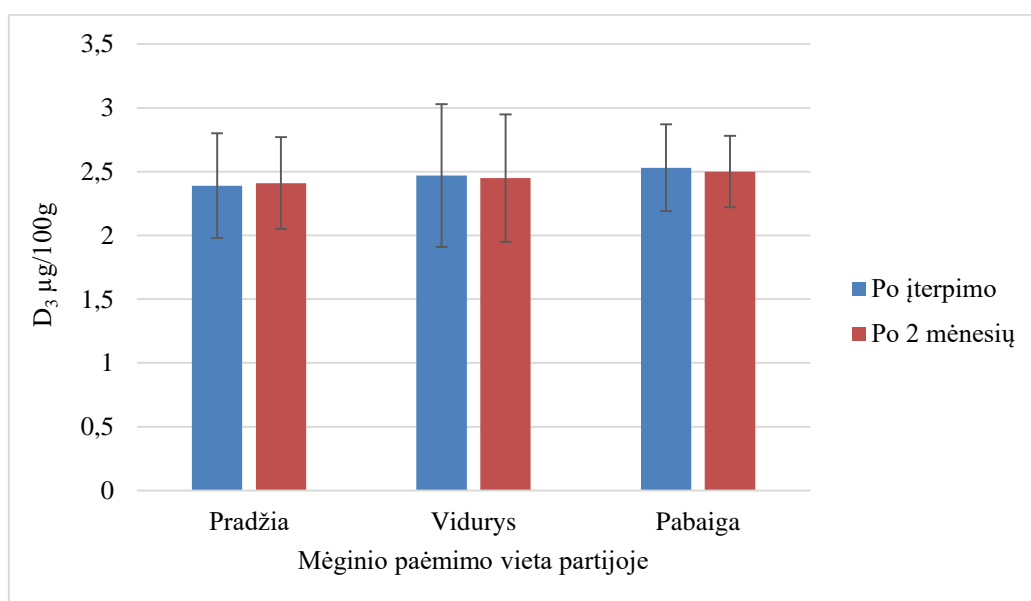
Kadangi gaminant vitaminu praturtintą varškę svarbu įterpti vitamino sulaikymas varškėje, šiuo atveju pranašesniu laikomas rūgštinis–fermentinis varškės gamybos būdas dėl patiriamų mažesnių vitamino D₃ nuostolių galutiniame produkte.

3.3 Vitaminas D₃ sutirštintame nesaldintame piene

Pramoniniu gamybos būdu į sutirštiną nesaldintą pieną prieš homogenizaciją ir sterilizaciją įterpti skirtingos formos vitamino D₃ preparatai:

- sausas vandenyje tirpus vitaminas D₃ (Dry vitamin D₃ 100 CWS/AM, DSM, Nyderlandai) įterptas į 10252 kg pieno (D₃ 2,44 µg/100 g);
- riebaluose ištirpintas kristalinis vitaminas D₃ (Vitamin D₃ 1.0 MIU/g, DSM, Nyderlandai) įterptas į 1000 l pieno, numatyta produkte esanti gryno vitamino D₃ koncentracija – 1,75 µg/100 ml.

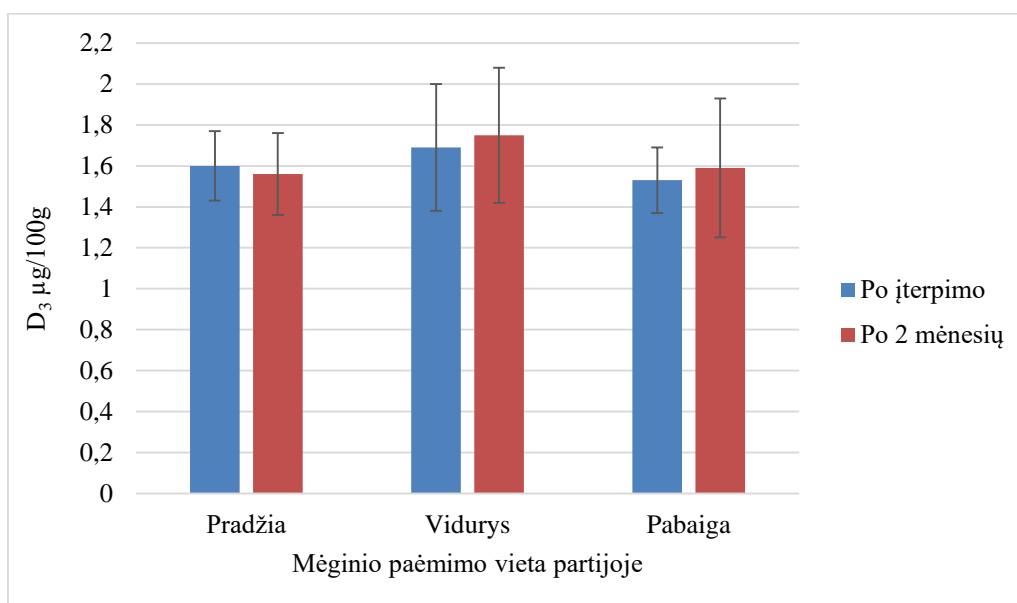
Gaminant riebaluose tirpiaais vitaminais praturtintus produktus, labai svarbu užtikrinti tolygų vitaminų pasiskirstymą. Todėl buvo tiriami partijos pradžioje, viduryje ir pabaigoje atrinkti sutirštinto pieno mėginiai po sterilizacijos. Tyrimo metu nustatytas tolygus šaltame vandenyje (žr. 11 pav.) tirpaus vitamino D₃ pasiskirstymas produkto partijos pradžioje, viduryje ir pabaigoje imtuose mėginiuose, atitinkamai – 2,39±0,41; 2,47±0,56 ir 2,53±0,34 µg/100 g. Skirtumas tarp lyginamųjų partijos vietų siekia: 0,14 µg/100g, kuris įrodo tolygų įterpto vitamino įmaišymą visoje partijoje ir nėra statistiškai reikšmingas.



11 pav. Šaltame vandenyje tirpaus vitamino D₃ pasiskirstymas gamybos linijos pradžioje, viduryje ir pabaigoje

Dviejų mėnesių laikotarpyje praturtintame produkte esanti vitamino D₃ koncentracija išliko reikšmingai nepakitusi, nuo 2,39±0,41 iki 2,41±0,36 partijos pradžioje, viduryje 2,47±0,56–2,45±0,50 ir pabaigoje 2,53±0,34–2,50±0,28 μg/100 g. Bendra vitamino D₃ koncentracija produkte iškart po įterpimo – 2,46±0,11 μg/100 g ir praėjus dviem mėnesiams 2,45±0,12 μg/100 g. Sterilizacija ir laikymas tamsoje (4°C), vitamino kiekiui įtakos neturėjo, matomas neryškus verčių svyravimas esantis 0,02–0,03 ribose, kuris laikomas nereikšmingu ir siejamas su tyrimo metodo jautrumu.

Ištyrus pramoniniu būdu pagaminto sutirštinto nesaldinto pieno, praturtinto riebaluose tirpia vitamino D₃ forma (žr. 12 pav.) mėginius, taip pat nustatytas tolygus vitamino D₃ pasiskirstymas skirtingose partijos vietose imtuose mėginiuose: pradžioje vitamino D₃ – 1,60±0,17, viduryje 1,69±0,31 ir pabaigoje 1,53±0,16 μg/100 g. Dviejų mėnesių laikotarpyje, toje pačioje partijos vietoje atrinktuose mėginiuose vitamino D₃ kiekis išliko ženkliai nepakitęs ir buvo atitinkamai 1,56±0,20; 1,75±0,33 ir 1,59±0,34 μg/100 g. Nustatytas vidutinis vitamino D₃ kiekis produkte tyrimo pradžioje – 1,61±0,21 μg/100 g išliko nepakitęs dviejų mėnesių laikotarpyje – 1,63±0,29 μg/100 g, laikant tamsoje, 4 °C temperatūroje.



12 pav. Riebaluose tirpaus vitamino D₃ pasiskirstymas gamybos linijos pradžioje, viduryje ir pabaigoje

Tyrimo rezultatai parodė, kad vitaminas D₃ tolygiai įmaišomas į produktą nepriklausomai nuo jo tirpumo formos. Į nesaldintą, sutirštiną pieną (10252 kg) įterpus vandenyje tirpaus vitamino D₃ (2,44 μg/100 g) produkte nustatytas vitamino kiekis – 2,46±0,11 μg/100 g, išgava vertinama 100 %. Antrosios pramoninės gamybos metu įterpus riebaluose tirpią vitamino D₃ formą į 1000 l nesaldinto, sutirštinto pieno (1,75 μg/100 ml), produkte nustatytas vitamino kiekis

– $1,61 \pm 0,29$ $\mu\text{g}/100$ g. Kadangi pramoninės gamybos metu produkto tūris matuotas litrais, o vitamino D₃ kiekybinė analizė išreikšta $\mu\text{g}/100$ g, šiuo atveju išgava vertinama žinant sutirštinto pieno tankį – 1,07, t.y. 1070 kg sutirštintame nesaldintame piene esanti riebaluose tirpus kristalinio vitamino D₃ koncentracija – $1,64$ $\mu\text{g}/100$ g. Nustatytas ne tik tolygus vitamino D₃ įmaišymas bet ir 98 % siekianti vitamino išgava produkte.

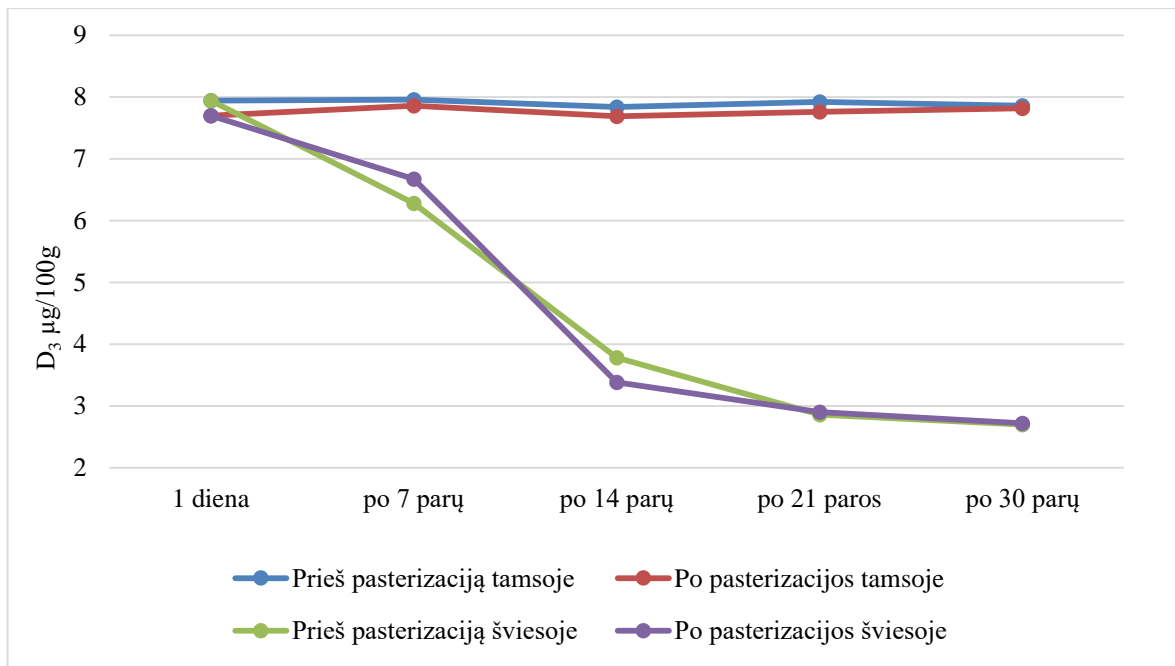
3.4 obuolių sultys

Laboratorinėmis sąlygomis išspaustos obuolių sultys padalintos į dvi eksperimentines grupes ir praturtintos prieš pasterizaciją ir po jos įterpant šaltame vandenyje tirpus vitamino D₃ preparatą – $0,0380$ g į $1049,04$ g sulčių (D₃ 9 $\mu\text{g}/100$ g).

Terminis sulčių apdorojimas neturėjo įtakos pridėto vitamino D₃ išgavimui. Prieš pasterizaciją įterpto vitamino kiekis sulčių mėginyje buvo $7,94$ $\mu\text{g}/100$ g, tai sudaro 88,22 % įterpto vitamino kiekio, po pasterizacijos nustatytas vitamino D₃ kiekis sultyse – $7,70$ $\mu\text{g}/100$ g, atitinka 85,56 % įterpto vitamino (žr. 13 pav.).

Nenustatytas vitamino kiekio pokytis sultis laikant tamsoje, 4 °C temperatūroje: po 30 parų sultyse nustatyta stabili prieš pasterizaciją įterpto bei po pasterizacijos įterpto vitamino D₃ koncentracija $7,86 \pm 0,05$ – $7,82 \pm 0,08$ $\mu\text{g}/100$ g (t.y. 87,33–86,89 % įterpto vitamino D₃). Tačiau stebimas vitamino kiekio sumažėjimas sultis laikant šviesoje (4187 lx), esant 4 °C temperatūrai: po 7 parų (prieš ir po pasterizacijos įterpto vitamino D₃) – 1,2 karto ($6,28$ – $6,67$ $\mu\text{g}/100$), po 14 parų 2,1–2,3 karto ($3,78$ – $3,38$ $\mu\text{g}/100$), po 21 paros 2,7 karto ($2,89$ – $2,9$ $\mu\text{g}/100$).

Pradinė vitamino D₃ koncentracija po 30 parų sultyse sumažėjo beveik 3 kartus, nuo $7,94$ – $7,7$ (vitaminas D₃ įterptas prieš/po pasterizacijos) iki $2,70$ – $2,72$ $\mu\text{g}/100$ g, nustatyto pradinio vitamino D₃ kiekio sultyse išliko 34–35 %. Atlikta statistinė analizė, esant tikimybei $p < 0,05$ parodė statistiškai reikšmingą skirtumą tarp šviesoje ir tamsoje (30 parų) laikytų sulčių mėginių $p = 0,0001$.



13 pav. Vitamino D₃ kiekis sulčių laikymo metu

Biancuzzo ir kt. [60] tyrė vitaminu D praturtintų apelsinų sulčių efektyvumą didinant organizme esančią 25(OH)D₂ koncentraciją. Kiekvieną savaitę, atlikti kraujo tyrimų rezultatai parodė, kad serume esanti 25(OH)D₂ koncentracija buvo žymiai didesnė tų subjektų, kurie vartojo vitaminu D praturtintas apelsinų sultis (1000 IU), negu tų, kuriems skirtas placebo t.y. apelsinų sultys be vitamino D. Šiuo atveju sulčių praturtinimas veiksmingas būdas siekiant gauti didesnius vitamino D kiekius su įprastai vartojamu maistu.

3.5 Žalios ir karštai rūkytos žuvies mėginiai

Jūros gėrybės bei žuvis yra geras svarbių, teigiamą naudą sveikatai teikiančių, vitaminų (A, B komplekso, D) ir mineralinių medžiagų (seleno, jodo, geležies) šaltinis. Maisto gaminimo metu sukeliama tam tikrų maistinių medžiagų nuostoliai, kurie dažniausiai būdingi vandenyje tirpiems vitaminams, terminių procesų metu. Apimant daugelį gaminimo būdų, vitaminų išlaikymas jūros gėrybėse vidutiniškai siekia apie 85 %.

Vitaminų kiekiai, netgi tos pačios rūšies žuvyje ar skirtingose jos dalyse gali ženkliai skirtis. Įtakos tam turi sezoniniai pokyčiai, mityba, fiziologinė būklė ir nerštas. Žinoma, jog retinolis yra nestabilus šildymo metu dalyvaujant deguoniui, todėl kepimas ant grotelių ar virimas garuose turi įtakos vitamino A kiekiui likučiu maiste. Dažniausiai tose žuvies dalyse, kurios paprastai maistui vartojamos rečiau (kepenys, žarnynas) yra susitelkę kur kas didesni riebaluose tirpių vitaminų kiekiai, nei maistiniu požiūriu vertinamuose raumenyse. Vitaminai A

ir D daugiausiai susitelkę otų ir menkių kepenyse, priešingai unguryje – aptinkami kituose kūno dalyse.

Šio tyrimo metu nustatytas žalioje ir rūkytoje žuvyje natūraliai aptinkamas riebaluose tirpių vitaminų A ir D₃ kiekis. Siekiant gauti tikslesnį rezultatą ir kartu atmesti paklaidą dėl rūkymo metu patiriamo drėgmės, kartu ir svorio nuostolio, gauta reikšmė (µg/100g) perskaičiuota į vitaminų kiekį sausoje žuvies masės dalyje (SM). Kaip ir literatūroje teigiama, taip ir šiame tyrime nustatyta, jog didesnio riebumo žuvyje aptinkamas didesnis riebaluose tirpių vitaminų kiekis. Nustatyta, jog žalioje skumbrėje (SM) aptinkamas kur kas didesnis vitaminų A ir D₃ kiekis lyginant su lydeka atitinkamai: 0,16±0,03 ir 0,07±0,01 µg/100g vitaminui D₃ bei 119,69±42,54 ir 50,80±1,92 µg/100g vitaminui A, 17 lentelė.

Rūkytoje skumbrėje aptinkamas šiek tiek didesnis vitamino D₃ kiekis – 0,23±0,02 µg, lyginant su rūkytos skumbrės file esančiu vitamino kiekiu – 0,19±0,01 µg ir 1,8 karto mažesnis vitamino A kiekis atitinkamai: 316,74±131,26 ir 554,58±156,32 µg, SM dalyje. Teigiama jog, mažesni vitaminų kiekį gali įtakoti nuo file pašalintos riebaluose tirpiaisiais vitaminais gausios dalys, tokios kaip pvz. papilvė.

17 lentelė. Vitaminų A ir D₃ kiekis žuvyje, µg/100g

Mėginiai	Riebumas, %	Sausos medžiagos, %	Vitaminas D ₃		Vitaminas A	
			µg/100g	sausoje masėje	µg/100g	sausoje masėje
Šaldyta skumbrė	20,04±0,40	36,91±1,78	5,98±0,85	0,16±0,03	43,64±13,75	119,69±42,57
Karštai rūkyta skumbrė	25,03±0,34	41,46±1,16	9,65±0,87	0,23±0,02	132,38±57,94	316,74±131,26
Karštai rūkyta skumbrės file	21,88±0,17	48,10±1,01	9,75±0,97	0,19±0,01	266,75±75,19	554,58±156,32
Šaldyta lydeka	1,89±0,80	20,13±1,52	1,47±0,22	0,07±0,01	10,17±0,96	50,80±1,92
Karštai rūkyta lydeka	1,93±0,18	23,30±0,36	11,62±2,56	0,50±0,11	28,92±1,52	124,09±6,07

Erkan ir kt. (2010) [81], analizavo žalios skumbrės audiniuose esančią vitamino A koncentraciją, kuri 3 kartus didesnė (141 µg/100g) negu šio tyrimo metu gauti rezultatai: 43,64 µg/100g, tačiau Merdžhanova ir kt. (2013) [82] nustatytas vitamino A kiekis sutampa su šio tyrimo rezultatu atitinkamai: 44,90 ir 43,64 µg/100g. Skirtumą tarp tyrimų rezultatų gali įtakoti skirtingas sugavimo ar neršto laikas, žuvies fiziologija bei tai, jog tirta skirtinga, o ne ta pati žalia bei rūkyta žuvies dalis.

Karštai rūkytos žuvies mėginiuose nustatytas tirtų vitaminų kiekio padidėjimas. Karštai rūkytoje skumbrėje nustatyta 1,4 karto didesnė vitamino D₃ koncentracija (0,23±0,02 µg/SM), lyginant su žuvimi prieš rūkymą (0,16±0,03 µg/SM). Lydekoje prieš rūkymą (0,07±0,01 µg/SM) vitamino D₃ aptinkama 7 kartus mažiau negu po rūkymo (0,5±0,11 µg/SM).

Vertinant vitamino A kiekį žuvyje nustatyta, jog rūkytoje lydekoje vitamino A aptinkama 2,4 kartus daugiau ($124,09 \pm 6,07 \mu\text{g}/\text{SM}$), negu šaldytoje, termiškai neapdorotoje žuvyje ($50,80 \pm 1,92 \mu\text{g}/\text{SM}$). Dešimt kartų riebesnėje šaldytoje skumbrėje (20,04 % riebumo) nustatytas vitamino A kiekis 2,6 karto mažesnis ($119,69 \pm 42,57 \mu\text{g}/\text{SM}$) negu rūkytoje skumbrėje ($316,74 \pm 131,26 \mu\text{g}/\text{SM}$) bei 2,3 karto didesnis ($119,69 \mu\text{g}$) negu šaldytoje lydekoje ($50,80 \mu\text{g}$).

Panašūs rezultatai, apie riebaluose tirpių vitaminų kiekio padidėjimą po terminio apdoravimo pateikti ir Bernhard ir Schlich [84], kurie tyrė α -tokoferolio ir β -karotino kiekį žaliuose ($0,32 \pm 0,05$ ir $0,05 \pm 0,01 \text{ mg}/100\text{g}$) ir termiškai apdorotuose ($1,54 \pm 0,16$ ir $0,27 \pm 0,04 \text{ mg}/100\text{g}$) brokoliuose. Padidėjusį vitaminų kiekį grindė teigdami, jog pažeidus augalų ląstelių sienelės ir atskyrus nuo baltymų komplekso padidinamas riebaluose tirpių vitaminų biologinis prieinamumas, todėl žalių daržovių terminis apdoravimas skatina lipofilinių vitaminų pagausėjimą produkte. Maisto ruošimo (perdirbimo) būdai veikia natūraliai maiste aptinkamų pigmentų koncentraciją. Karotinoidai ir antocianinai jautrūs šilumos, šviesos, pH ir deguonies poveikiui, tačiau priklausomai nuo technologijos šių junginių koncentracija gali padidėti arba sumažėti. Murador ir kt. [85] nustatė, jog karotinoidų kiekis sumažėja kepimo metu, o maisto troškinimas sukelia šių junginių koncentracijos padidėjimą. Clausen ir kt. [86] tyrė žalioje ir termiškai apdorotoje kiaulienoje esantį vitamino D₃ kiekį ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$) ir nustatė, jog didžioji dalis vitamino aptinkama riebaliniame audinyje bei odoje. Virtoje mėsoje aptinkamas didesnis vitamino D₃ kiekis lyginant su kiekiu aptinkamu termiškai neapdorotoje kiaulienoje, tačiau vitamino kiekio perskaičiavimas į esantį sausoje masės dalyje šį skirtumą paneigia.

Rūkytoje žuvyje sumažėja vandens kiekis, taigi padaugėja sausų medžiagų masė, kas ir matoma 17 lentelėje. Karšto rūkymo metu žuvis apdorojama termiškai, veikiant karšto oro srautu. Produktas įgyja ne tik specifinį kvapą ir skonį (dėl dūmuose esančių fenolių ir jų darinių) bet kartu vyksta ir fermentacijos procesas (cheminiai pokyčiai) dėka žuvyje esančių fermentų. Didesnį vitaminų kiekį mėginyje gali nulemti dėl pakitusios žuvies riebalų struktūros (po terminio apdoravimo) lengviau išekstrahuojami riebaluose tirpūs vitaminai, taip pat gali suklaidinti chromatografiškai neatskirti panašūs į vitaminus junginiai, kurie padidina ieškomų analizių smailių plotus. Manome, kad būtini išsamesni, termiškai apdorotoje ir neapdorotoje žuvyje esančių vitaminų tyrimai, keičiant mėginių hidrolizės ir ekstrakcijos sąlygas bei atliekant atrankesnę, lyginant su diodų matricos detekcija, masių spektrometrijos analizę.

IŠVADOS

1. Vidutiniškai daugiausia vitaminų D₃ (1,27 µg/100g) ir A (108,89 µg/100g) buvo trečios grupės karvių, kurių holštenizacijos laipsnis nuo 70 iki 79 %, piene. Senojo genotipo karvių, kurių holštenizacijos laipsnis iki 50 %, piene vidutinis vitamino D₃ kiekis buvo 1,13 µg/100g, A – 78,51 µg/100g. Vertinant sezoniškumo įtaką vitaminų kiekiui piene nustatyta, kad daugiausia vitamino D₃ piene buvo vasaros mėnesiais (1,56 µg/100g), vitamino A kiekis visus metus kito plačiose ribose (26,14–216,19 µg/100g) ir nepriklausė nuo sezono.
2. Nustatyta, jog praturtinimui naudota vitamino D₃ forma (kristalinis riebaluose tirpus arba šaltame vandenyje tirpus cholekalciferolis) neturėjo įtakos vitamino kiekiui varškėje, tačiau vitamino išgava priklausė nuo varškės gamybos būdo. Rūgštiniu–fermentiniu būdu pagamintoje varškėje nustatyta 20 % (p=0,028) didesnė riebaluose ir vandenyje tirpaus vitamino D₃ išgava – 80,68 ir 82,92 % lyginant su rūgštiniu varškės gamybos būdu 60,82 ir 62,97 %.
3. Pramoniniu būdu pagamintame sutirštintame nesaldintame piene, praturtintame šaltame vandenyje tirpiu ir riebaluose tirpiu vitaminu D₃, nustatytas vitamino kiekis partijos pradžioje, viduryje ir pabaigoje atrinktuose mėginiuose reikšmingai nesiskyrė, t.y. vitaminas homogenizacijos metu pasiskirstė tolygiai. Pridėjus 2,44 µg/100 g šaltame vandenyje tirpaus vitamino, vidutinis nustatytas jo kiekis piene buvo 2,46±0,11 µg/100 g, pridėjus 1,64 µg/100 g riebaluose tirpaus vitamino – 1,61±0,29 µg/100 g. Du mėnesius išlaikius mėginius 4°C temperatūroje, vitamino kiekis išliko stabilus.
4. Terminis sulčių apdorojimas neturėjo įtakos pridėto šaltame vandenyje tirpaus vitamino D₃ išgavimui, prieš ir po pasterizacijos įterpto vitamino išgava sultyse skyrėsi nereikšmingai ir buvo atitinkamai 88,22 ir 85,56 %. Nustatytas įterpto vitamino D₃ kiekio mažėjimas sultis laikant šviesoje (4187 lx), 4 °C temperatūroje: po 30 parų vitamino D₃ sultyse išliko 34–35 % pradinio rasto kiekio.
5. Nustatyta, jog žalioje žuvyje – skumbrėje (20,04 % riebumo) buvo kur kas didesnis vitaminų A ir D₃ kiekis, lyginant su mažesnio riebumo lydeka (1,89 % riebumo) atitinkamai: 119,69±42,54 ir 0,16±0,03 µg skumbrėje bei 50,80±1,92 ir 0,07±0,01 µg (sausoje masės dalyje) lydekoje. Po rūkymo nustatytus didesnius vitaminų kiekius, lyginant su termiškai neapdorota žuvimi, galėjo lemti terminio apdorojimo metu vykstantys pokyčiai žuvyje: galbūt iš pakitusio produkto išekstrahuojamas didesnis vitamino kiekis ar kartu su vitaminais chromatografinio skirstymo metu sulaikomi panašūs junginiai, kurie nėra atskiriami.

BIBRIOGRAFINIŲ NUORODŲ SĄRAŠAS

1. Sanchez–Hernandez, D., G. H. Anderson, A. N. Poona, E. Pannia, C. E. Choa, P. S. P. Huota, R. Kubanta. Maternal fat–soluble vitamins, brain development, and regulation of feeding behavior: an overview of research. *Nutrition Reserch*. 2016, 36, 1045–1054. ISSN 0271–5317.
2. CEGLIA L. Vitamin D and its role in skeletal muscle. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2009, 12(6), 628–633. ISSN 1363–1950.
3. RITU, G., A. GUPTA. Fortification of Foods with Vitamin D in India. *Nutrients*. 2014, 6, 3601–3623. ISSN 2072–6643.
4. ALLEN, Lindsay et. al. Guidelines on food fortification with micronutrients. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006, pp 3–4;13;24;48–49;81–83;110–112;130 [žiūrėta 2017–02–08]. ISBN 924 1594012. Prieiga per: http://www.who.int/nutrition/publications/guide_food_fortification_micronutrients.pdf
5. AL–KHALIDI, Banaz. Casein Proteins as a Vehicle to Deliver Vitamin D₃: Fortification of Dairy Products with vitamin D₃ and Bioavailability of Vitamin D₃ from Fortified Mozzarella Cheese Baked with Pizza. Graduate Department of Nutritional Sciences [interaktyvus]. Toronto, 2012, pp.3 [žiūrėta 2017–02–04]. Prieiga per: https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/33319/3/AlKhalidi_Banaz_201211_MSc_thesis.pdf
6. BLEIZGYS, A. Vitamin D Levels of Out–Patients: Variability by Age Groups and Seasons. *Fat Soluble Vitamins Congress–Paris, France*. 2017(3), 21–23, pp. 41.
7. JOLLIFFE, D., A., Y. HANIFA, K. D. WITT, T. R. VENTON, M. ROWE, P. M. TIMMS, E. HYPONEN, R. T. WALTON, C. J. GRIFFITHS, A. R. MARTINEAU. Environmental and genetic determinants of vitamin D status among older adults in London, UK. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 2016, 164, 30–35. ISSN 0960–0760
8. SAMANIEGO–VAESKEN, M. L., E. ALONSO–APERTE, and G. VARELA–MOREIRAS. Vitamin food fortification today. *Food & Nutrition Research*. 2012, 56, 1–9. ISSN 1654–6628.
9. MOULAS, A., and E. KATSIANIDOU. Fortification of food for addressing vitamin D deficiency. *Fat Soluble Vitamins Congress–Paris, France*. 2017(3), 21–23, pp. 49.
10. OVESEN L., C. BROT, and J. JAKOBSEN. Food contents and biological activity of 25–hydroxyvitamin D: a vitamin D metabolite to be reckoned with? *Annals of Nutritional Metabolism*. 2003, 47, 107–113. ISSN 0250–6807.

11. CASHMAN, K., D. Vitamin D: dietary requirements and food fortification as a means of helping achieve adequate vitamin D status. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 2015, 148, 19–26. ISSN 0960–0760.
12. RAVISANKAR, P., A. ABHISHEKAR REDDY, B. NAGALAKSHMI, O. SAI KOUSHIK, B. VIJAYA KUMAR, and P. SAI ANVITH. The Comprehensive Review on Fat Soluble Vitamins. *IOSR Journal Of Pharmacy*. 2015, 5(11), 12–28. ISSN 2250–3013.
13. SANTOS, J., A. MENDIOLA, M. B. OLIVEIRA, E. IBANEZ, and M. HERRERO. Sequential determination of fat–and water–soluble vitamins in green leafy vegetables during storage. *Journal of Chromatography A*. 2012, 11(26), 179–188. ISSN 0021–9673
14. PRAŠKEVIČIUS, Antanas., Jūratė BURNECKIENĖ ir Laima IVANOVIENĖ. Fermentai ir vitaminai. Kaunas: Kauno medicinos universitetas, biochemijos katedra, 2001, pp. 109–111;112–113;117;121–122;125–127;130. ISBN 9955479124.
15. TAGUCHI, K., E. FUKUAKI, and T. BAMBIA. Similtaneous analysis for water and fat–soluble vitamins by a novel single chromatography technique unifying supercritical fluid chromatography and liquid chromatography. *Journal of chromatography A*. 2014 10(3), 270–277. ISSN 0021–9673.
16. LUQUE–GARCIA, J.L., and M.D. LUQUE DE CASTRO. Extraction of fat–soluble vitamins. *Journal of Chromatography A*. 2001, 3(11), 3–11. ISSN 0021–9673.
17. ALOIA, J. F. Clinical review: The 2011 report on dietary reference intake for vitamin D: where do we go from here? *J Clin Endocrinol Metab*. 2011, 96(10), 2987–2996. ISSN 0021–972X.
18. CHRISTAKOS, S., D. V. AJIBADE, P. DHAWAN, A. J. FECHNER, L. J. MADY. Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010, 39(2), 243–253. ISSN 0889–8529.
19. HOLICK, M. F. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*. 2004, 79(3), 362–371. ISSN 0002–9165.
20. OMDAHL, J. L., H. A. MORRIS, and B. K. MAY. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation. *Annu Rev Nutr*. 2002, 22, 139–166. ISSN 0199–9885.
21. CHISHIMBA, L., D. R. THICKETT, R. A. STOCKLEY, and A. M. WOOD. The vitamin D axis in the lung: a key role for vitamin D–binding protein. *Thorax*. 2010, 65(5), 456–462. ISSN 0040–6376.
22. CHUN, R. F., J. S. ADAMS, and M. HEWISON. Back to the future: a new look at ‘old’ vitamin D. *J Endocrinol*. 2008, 198(2), 261–269. ISSN 0022–0795.

23. LANTERI, P., G. LOMBARDI, A. COLOMBINI, and G. BANFI. Vitamin D in exercise: Physiologic and analytical concerns. *Clinica Chimica Acta*. 2013, 415, 45–53. ISSN 0009–8981
24. KASALOVA, E., J. AUFARTOVA, L. K. KRČMOVA, D. SOLIČHOVA, P. SOLIČH. Recent trends in the analysis of vitamin D and its metabolites in milk – A review. *Food Chemistry*. 2015, 171, 177–190. ISSN 0308–8146.
25. BIKLE, D. D. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014, 21(3), 319–329. ISSN 1074–5521.
26. MUNASINGHE L. L., Y. YUAN, N. D. WILLOWS, E. L. FAUGHT, J. P. EKWARU, and P. J. VEUGELERS. Vitamin D deficiency and sufficiency among Canadian children residing at high latitude following the revision of the RDA of vitamin D intake in 2010. *Br J Nutr*, 2017, 117(3), 457–465. ISSN 0007–1145.
27. PRENTICE A., G. R. GOLDBERG, I. SCHOENMAKERS. Vitamin D across the lifecycle: physiology and biomarkers. *Am J Clin Nutr*. 2008, 88(2), 500S–506S. ISSN 0002–9165.
28. Human Vitamin and Mineral Requirements. Role of vitamin A in human metabolic processes. [interaktyvus]. Agriculture and Consumer Protection Department. [žiūrėta 2016–08–23]. Prieiga per: <http://www.fao.org/docrep/004/y2809e/y2809e0d.htm>
29. YEH, Y. H., Y. T. LEE, Y. L. HSIEH. Effect of cholestin on toxicity of vitamin A in rats. *Food chemistry*. 2012, 132(1), 311–318. ISSN 0308–8146
30. KULKARNI, M. L. Vitamins in health and disease. [interaktyvus]. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd. First Edition: 2012, pp. 37–38. [žiūrėta 2017–01–30]. ISBN 978–93–50–25–708–1. Prieiga per: <https://books.google.lt/books?id=kYeYBAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=lt#v=onepage&q&f=false>.
31. SKIBSTED, Leif H., Jens RISBO, and Mogens L. ANDERSEN. Chemical deterioration and physical instability of food and beverages. Woodhead Publishing Series in Food Science [interaktyvus]. Technology and Nutrition: Number 186, 2010, pp. 542–545; 553–555 [žiūrėta 2016–12–14]. ISBN 9781845694951. Prieiga per: <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.ktu.edu/lib/ktu-ebooks/detail.action?docID=1584744>
32. HEMERY, Y., M., L. FONTAN, R. MOENCH–PFANNER, A. LAILLOU, J. BERGER, C. RENAUD, S. AVALLONE. Influence of light exposure and oxidative status on the stability of vitamins A and D₃ during the storage of fortified soybean oil. *Food Chemistry*. 2015, 184, 90–98. ISSN 0308–8146.

33. SANCHEZ–MORENO, C., I. PLAZA, B. De ANCOS, and M. P. CANO. Vitamin C, provitamin A carotenoids and other carotenoids in high–pressurised orange juice during refrigerated storage. *Food Chem.* 2003. 51(3), 647–653. ISSN 0021–8561.
34. MORAIS, H., P. RODRIGUES, C. RAMOS, E. FORGÁCS, T. CSERHÁTI, and J. OLIVEIRA. Effect of ascorbic acid on the stability of beta–carotene and capsanthin in paprika (*Capsicum annum*) powder. *Nahrung.* 2002. 46(5), P. 308–310. ISSN 0027–769X.
35. LESKOVA, E., J. KUBIKOVA, E. KOVACIKOVA, M. KOSICKA, J. PORUBSKA, M. KOSICKA. Vitamin losses: retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2006, 19, 252–276. ISSN 0889–1575.
36. BLANCO, D., M. P. FERNANDEZ, and M. D. GUTIERREZ. Simultaneous determination of fat soluble vitamins and provitamins in dairy products by liquid chromatography with a narrowbore column. *Analyst.* 2000, 125(3), 427–431. ISSN 0003–2654.
37. UPRETI, P., V. V. Mistry, and J. J. Warthesen. Estimation and fortification of vitamin D₃ in pasteurized process cheese. *Journal of Dairy Science.* 2002, 85(12), 3173–3181. ISSN 0022–0302
38. WAGNER, D., G. SIDHOM, S. J. WHITING, D. ROUSSEAU, and R. VEITH. The bioavailability of vitamin D from fortified cheeses and supplements is equivalent in adults. *Journal of Nutrition.* 2008, 138(7), 1365–1371. ISSN 0022–3166.
39. GANESAN, B., C. Brothersen, and D. J. McMohan. Fortification of cheddar cheese with vitamin D does not alter cheese flavour perception. *Journal of Dairy Science.* 2011, 94(7), 3708–3714. ISSN 0022–0302.
40. BANVILLE, C., J. C. VUILLEMARD, C. LACROIX. Comparison of different methods for fortifying cheddar cheese with vitamin D. *International Dairy Journal.* 2000, 10, 375–382. ISSN 0958–6946.
41. KAZMI, S. A., R. VIETH, D. ROUSSEAU. Vitamin D₃ fortification and quantification in processed dairy products. *International Dairy Journal.* 2007, 17, 753–759. ISSN 0958–6946
42. KAUSHIK, R., B. SACHDEVA, and S. ARORA. Vitamin D₂ stability in milk during processing, packaging and storage. *LWT – Food Science and Technology.* 2014, 56, 421–426. ISSN 0023–6438.
43. LIU, Y. Beta lactoglobulin complexed vitamin A and vitamin D in skim milk: Shelf life and bioavailability. A dissertation submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University. Nutrition–food science, 2003.

44. HOLICK, M. F., Q. SHAO, W. W. LIU, and T. C. CHEN. The vitamin D content of fortified milk and infant formula. *New England Journal of Medicine*. 1992, 326(18), 1178–1181.
45. RENKEN, S. A., and J. J. Warthesen. Vitamin D stability in milk. *Journal of Food Science*. 1993, 58(3), 552–556. ISSN 1750–3841.
46. HOLDEN, J. M., and L. E. Lemar. Assessing vitamin D contents in foods and supplements: challenges and needs. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2008, 88(2), 551S–553S. ISSN 0002–9165.
47. PATTERSON, K. Y., K. M. PHILLIPS, R. L. HORST, W. C. BYRDWELL, J. EXLER, L.E. LEMAR, and J. M. HOLDEN. Vitamin D content and variability in fluid milks from a US Department of Agriculture nationwide sampling to update values in the National Nutrient Database for Standard Reference. *American Dairy Science Association*. 2010, 93(11), 5082–5090. ISSN 0022–0302.
48. FANALI, C., G. D'ORAZIO, S. FANALI, A. GENTILI. Advanced analytical techniques for fat-soluble vitamin analysis. *Trends in Analytical Chemistry*. 2017, 87, 82–97. ISSN 0165–9936.
49. National Institutes of Health. Vitamin D. Office of Dietary Supplements [interaktyvus]. 2016 [žiūrėta 2017–03–06]. Prieiga per: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/>
50. Linus Pauling Institute. Micronutrient Information Center. Vitamin A. Micronutrient Information Center [interaktyvus]. 2000–2017 [žiūrėta 2017–03–13]. Prieiga per: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/vitamins/vitamin-A>
51. Food Sources of Vitamin D. Dietitians of Canada [interaktyvus]. 2016 [žiūrėta 2017–03–09]. Prieiga per: <https://www.dietitians.ca/getattachment/464f3006-0bb2-4f1a-a338-0b21d148bacb/FACTSHEET-Food-Sources-of-Vitamin-D.pdf.aspx>
52. Food Sources of Vitamin A. Dietitians of Canada [interaktyvus]. 2010 [žiūrėta 2017–03–09]. Prieiga per: <https://www.dietitians.ca/Your-Health/Nutrition-A-Z/Vitamins/Food-Sources-of-Vitamin-A.aspx>
53. RUEL, Marie T. Can food-based strategies help reduce vitamin A and iron deficiencies? A review of recent evidence. Washington, DC [interaktyvus]. International Food Policy Research Institute, 2001, pp 5–7 [žiūrėta 2017–02–15]. ISBN 0–89629–504–4. Prieiga per: https://books.google.lt/books?id=J99pvYLAP5IC&printsec=frontcover&hl=lt&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

54. DARY, O., and J. O. MORA. International Vitamin A Consultative Group. Food fortification to reduce vitamin A deficiency: International vitamin a consultative group recommendations. *J. Nutr.* 2002, 132(9), 2927S–2933S. ISSN 0022–3166
55. RAJAKUMAR, K., S. L. GREENSPAN, S. B. THOMAS, and M. F. HOLICK. Solar ultraviolet radiation and vitamin D: A historical perspective. *Am. J. Public Health.* 2007, 97(10), 1746–1754. ISSN 0090–0036.
56. FAVARO, R. M. D., J. F. FERREIRA, I. D. DESAI, and J. E. DUTRA DE OLIVEIRA. Studies on fortification of refined soybean oil with all–transretinyl palmitate in Brazil: stability during cooking and storage. *Journal of Food Composition and Analysis.* 1991, 4(3), 237–244. ISSN 0889–1575.
57. ATWOOD, S. J., T.G. SANGHVI, V. SHARMA N. CAROLAN. Stability of vitamin A in fortified vegetable oil and corn soy blend used in child feeding programs in India. *Journal of Food Composition and Analysis.* 1995, 8(1), 32–44. ISSN 0889–1575.
58. SOLON, F. S., R.D.W. KLEMM, L. SANCHEZ, I. DARNTON–HILL, N. E. CRAFT, P. CHRISTIAN, and K. P. WEST. Efficacy of a vitamin A–fortified wheat–flour bun on the vitamin A status of Filipino schoolchildren. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2000, 72(3), 738–744. ISSN 0002–9165.
59. MILLER, M., J. HUMPHREY, E. JOHNSON, E. MARINDA, J. BROOKMEYER, and J. KATZ. Why do children become vitamin A deficient? *J. Nutr.* 2002, 132(9), 2867S–2880S. ISSN 0022–3166.
60. BIANCUZZO, R.M., A. YOUNG , D. BIBULD, M. H. CAI, M. R. WINTER, E. K. KLEIN, A. AMERI, R. REITZ, W. SALAMEH, T. C. CHEN and M. F HOLICK. Fortification of orange juice with vitamin D₂ or vitamin D₃ is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010, 91(6), 1621–1626. ISSN 0002–9165.
61. GROSSMANN, R.E., and V. TANGPRICHA. Evaluation of vehicle substances on vitamin D bioavailability: A systematic review. *Mo. Nutr Food Res.* 2010, 54(8), 1055–1061. ISSN 1613–4125.
62. CHEN, T.C., F. CHIMEH, Z. LU, J. MATHIEU, K. S. PERSON, A. ZHANG, N. KOHN, S. MARTINELLO, R. BERKOWITZ, and M. F. HOLICK. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D. *Arch Biochem Biophys.* 2007, 460(2), 213–217. ISSN 0003–9861.
63. HOLICK, M. F. Vitamin D: a D–Lightful health perspective. *Nutr Rev.* 2008, 66(10), S182–S194 . ISSN 0029–6643.

64. NAKAMURA, K., M. NASHIMOTO, Y. OKUDA, T. OTA, and M. YAMAMOTO. Fish as a major source of vitamin D in the Japanese diet. *Nutrition*. 2002, 18(5), 415–416. ISSN 0899–9007.
65. CALVO, M. S., and S. J. WHITING. Prevalence of vitamin D in sufficiency in Canada and the United States: importance to health status and efficacy of current food fortification and dietary supplement use. *Nutr Rev*. 2003, 61(3), 107–113. ISSN 0029–6643.
66. HYPPONEN, E., E. LAARA, A. REUNANEN, M. R. JARVELIN, and S. M. VIRTANEN. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 2001, 358(9292), 1500–1503. ISSN 0140–6736.
67. MERLINO, L. A., J. CURTIS, T. R. MIKULS, J. R. CERHAN, L. A. CRISWELL, and K. G. SAAG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women’s Health Study. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(1), 72–77. ISSN 0004–3591.
68. MUNGER, K. L., S. M. ZHANG, E. O’REILLY, M. A. HERNAN, M. J. OLEK, W. C. WILLETT, and A. ASCHERIO. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology*. 2004, 62(1), 60–65. ISSN 0028–3878.
69. CALVO, M.S., and S. J. WHITING. Public health strategies to overcome barriers to optimal vitamin D status in populations with special needs. *Journal of Nutrition*. 2006, 136(4), 1135–1139. ISSN 0022–3166.
70. Fortification basics. Stability. DSM [interaktyvus]. [žiūrėta 2016–08–23]. Prieiga per: https://www.dsm.com/content/dam/dsm/nip/en_US/documents/stability.pdf
71. DIONÍSIO, A. P., R. TAKASSUGUI GOMES, and M. OETTERER. Ionizing Radiation Effects on Food Vitamins – A Review. *Braz. Arch. Biol. Technol*. 2009, 52(5), 1267–1278. ISSN 1516–8913.
72. HENRY, H. L. Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011, 25(4), 531–541. ISSN 1521–690X.
73. PFEIFER, M., B. Begerow B, and H. W. Minne. Vitamin D and muscle function. *Osteoporos Int*, 2002, 13(3), 187–194. ISSN 0937–941X.
74. GUDONIS, Aloyzas. *Pieno gaminių technologija: mokomoji knyga. Kauno technologijos universitetas* [interaktyvus]. Kaunas, 2012, pp. 20;207–209 [žiūrėta 2016–11–07]. ISBN 9786090207031. Prieiga per: DOI: 10.5755/e01.9786090207031.
75. *LST ISO 1442:2000. Mėsa ir mėsos produktai. Drėgmės kiekio nustatymas (pamatinis metodas) (tpt ISO 1442:1997(E)) : Meat and meat products. Determination of moisture content (Reference method) : tarptautinis standartas ISO 1442:1997 Turi Lietuvos Standarto Statusą.*
Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2000.

76. VIČKAČKAITĖ, Vida. *Ekstrakciniai mėginio paruošimo dujų chromatografiniai analizės metodai: mokomoji knyga* [interaktyvus]. Vilnius, 2008, pp. 16 [žiūrėta 2017–01–15]. ISBN 978–9955–33–277–0. Prieiga per: http://www.chgf.vu.lt/files/doc/mokomoji_medziaga/ekstrakciniai_meginio_paruosimo_budai.pdf
77. LST EN 12821:2000. *Maisto produktai. Vitamino D nustatymas didelės skyros skysčių chromatografijos metodu. Cholekalciferolio (D3) ir ergokalciferolio (D2) matavimas : Foodstuffs – Determination of vitamin D by high performance liquid chromatography – Measurement of cholecalciferol (D3) and ergocalciferol (D2) : tarptautinis Europos standartas LST EN 12821:2000 Turi Lietuvos Standarto Statusą.* Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2000.
78. LST EN 12823–1:2001. *Maisto produktai. Vitamino A nustatymas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. 1 dalis. Visai trans–retinolio ir 13–cis–retinolio nustatymas : Foodstuffs – Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography – Part 1: Measurements of all–trans–retinol and 13–cis–retinol : tarptautinis Europos standartas LST EN 12823–1:2001 Turi Lietuvos Standarto Statusą.* Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2000.
79. CALVO, M.S., and S. J. WHITING. Survey of current vitamin D food fortification practices in the United States and Canada. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013, 136, 211–213. ISSN 0960–0760.
80. CALVO, M. S., and S. J. WHITING, C. N. BARTON. Vitamin D fortification in the United States and Canada: current status and data needs. *Am J Clin Nutr.* 2004, 80(6), 1710S–1716S. ISSN 0002–9165.
81. ERKAN, N., A. SELCUK, and A. OZDEN. Amino Acid and Vitamin Composition of Raw and Cooked Horse Mackerel. *Food Analytical Methods.* 2010, 3(3), 269–275. ISSN 1936–9751.
82. MERDZHANOVA, A., M. STANCHEVA, D. A. DOBREVA, and L. MAKEDONSKI. Fatty acid and fat soluble vitamins composition of raw and cooked Black Sea horse mackerel. *Ovidius University Annals of Chemistry.* 2013, 24(1), 27–34. ISSN 1223–7221.
83. Urbšienė, D. Pieno kokybės priklausomybė nuo pašaro ir šėrimo. Pieno ūkis [interaktyvus]. *Gyvulininkystės žinynas, LSMU Gyvulininkystės institutas*, 2013 [žiūrėta 2017–05–19]. Prieiga per: <http://www.pienoukis.lt/pieno-kokybes-priklausomybe-nuo-ivairiu-veiksniu-iv-dalis/>

84. BERNHARD, S., E. SCHLICH. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. *Journal of Food Engineering*. 2006, 77, 327–333. ISSN 0260–8774.
85. MURADOR, D., C., D. THIMOTEO DA CUNHA B, V. VERA DE ROSSO. Effects of cooking techniques on vegetable pigments: A meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels. *Food Research International*, 2014, 65, 177–183. ISSN 0963–9969.
86. CLAUSEN, I., J. JAKOBSEN, T. LETH, L. OVESEN. Vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ in raw and cooked pork cuts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2003, 16, 575–585. ISSN 0889–1575.

Padėka

Nuoširdžiai dėkoju tiriamojo projekto vadovei doc. dr. Inai Jasutienei už pagalbą, konsultacijas bei suteiktas žinias rašant magistro baigiamąjį darbą.

KTU Maisto mokslo ir technologijų katedros dėstytojams ir laboratorijų darbuotojams už pagalbą atliekant tyrimus.

16th Fat Soluble Vitamins Congress - Paris, France - March 21-23, 2017

SESSION 3 - VITAMIN D - FLASH POSTER

Ina Jasutiene - Abstract n° D15

City: Kaunas Country: Lithuania
Institution: Kaunas University of Technology
Speciality: Food technologist
Email: Ina.jasutiene@ktu.lt

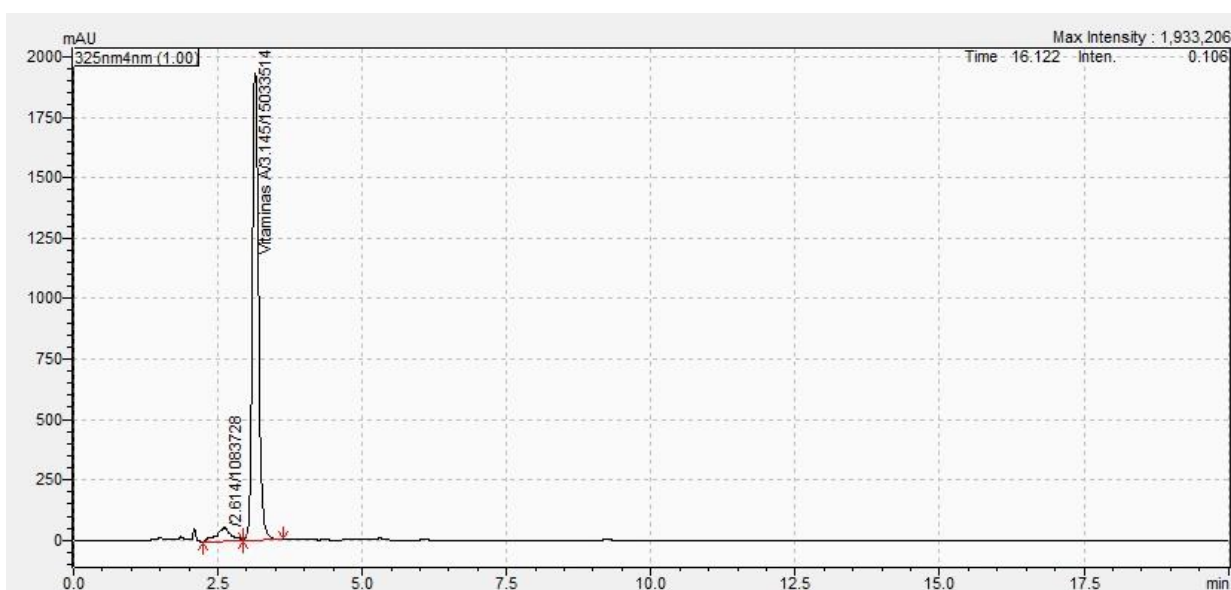
Title of abstract: Fortification of foodstuffs by cold water soluble vitamin D₃ preparation

Authors and addresses: Vitalija Kasparavičiūtė, Milda Keršienė, Ina Jasutienė, Daiva Leskauskaitė
Department of Food Science and Technology, Kaunas University of Technology, Radvilenu str. 19, Kaunas - LT-50254, Lithuania

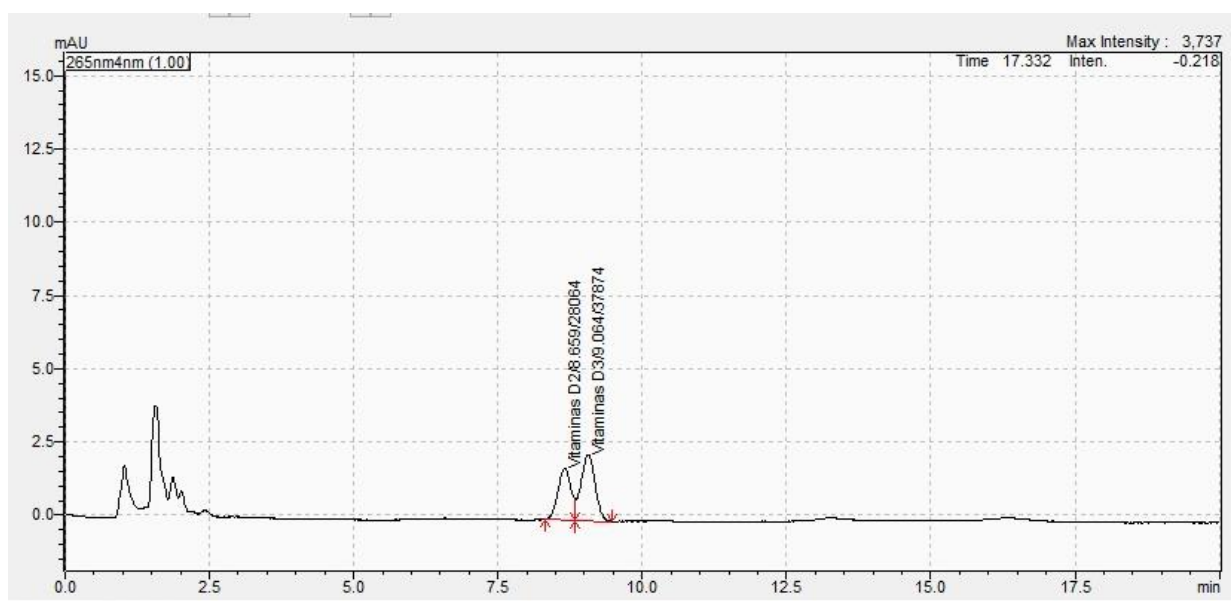
Key words: hydrosoluble vitamin D₃, food fortification, stability

Abstract: Limited number of foods naturally contains vitamin D. Therefore it is important to find the best ways for the addition of vitamin D into food products. The recovery of added vitamin in the final product, depending on the fortification method used, remains a challenge for the food manufactures. Usually for the fortification of food vitamin D in liposoluble form is used. However, sometimes food manufacturers need the hydrosoluble vitamin D. In the current study we examined the possibility to employ the commercial cold water soluble vitamin D₃ preparation 100 CWS/AM (DSM Nutritional Products, Netherlands) for the fortification of food products. Apple juice and two dairy products - curd and condensed milk, were enriched by this vitamin D preparation. Vitamin D₃ content in food products was determined by reverse phase HPLC after overnight saponification at room temperature, extraction with hexane, evaporation and dry residual dissolving in mobile phase.

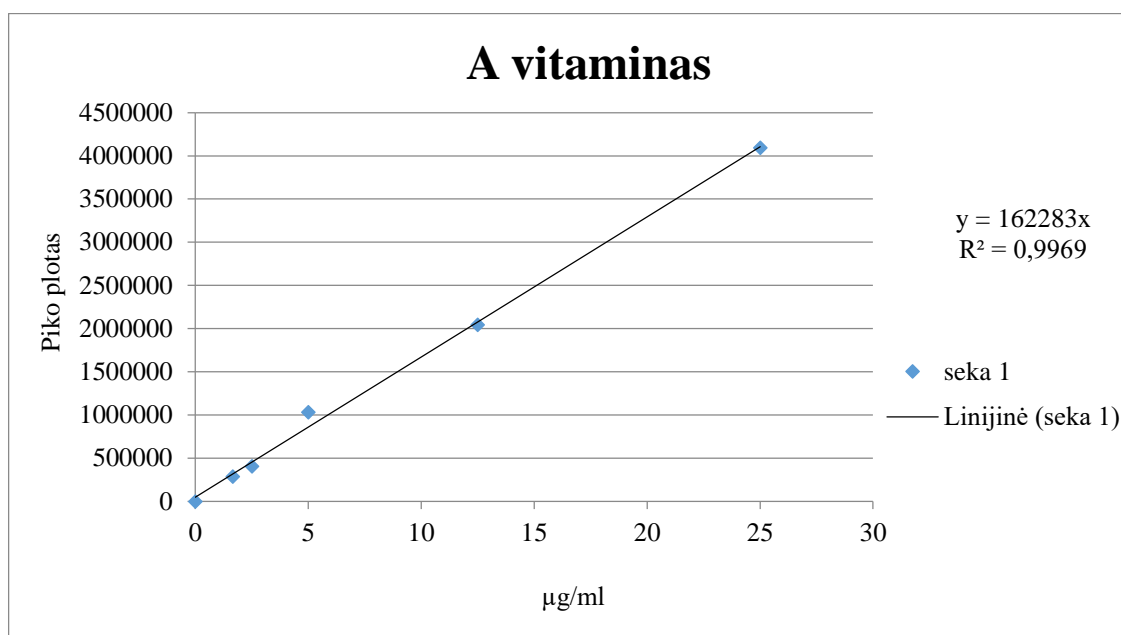
Apple juice was fortified by cold water soluble vitamin D₃ before and after pasteurization. Heat treatment had no effect on the recovery of vitamin in the product – in both cases it was 85.5%. No changes in the vitamin content were recorded during juice storage in the dark at 4°C for one month. However, vitamin D content decreased more than 2 times after storage of juice at 4°C for one month in the illuminated place (4187 lx). The recorded decrease of vitamin D was from 7.6 µg/100g in freshly prepared juice to 2.7 µg/100g after storage. Two samples of curd were produced by acid and acid-enzymatic coagulation methods in the small-scale laboratory conditions. Products were enriched by water soluble 100 CWS/AM preparation and lipid soluble crystalline cholecalciferol. It was found that the solubility of added vitamin had no effect on the recovery of vitamin D₃ in curd. The differences in vitamin recovery were caused by the method of curd production. In the curd samples made by acid-enzymatic method the vitamin D₃ recovery was 83% and in curd produced by acid fermentation the recovery was considerably smaller - 63%. Industrial trial was performed with the condensed milk enriched by the cold water soluble vitamin preparation. Vitamin preparation 100 g was added to the 10252 kg condensed milk before sterilization (D₃ 2.44 µg/100g). Determination of vitamin content in the beginning, middle and end of the production line showed, that vitamin distribution was equal – 2.45±0.31 µg/100g. After two months of storage, no decrease of vitamin was observed in the fortified condensed milk.



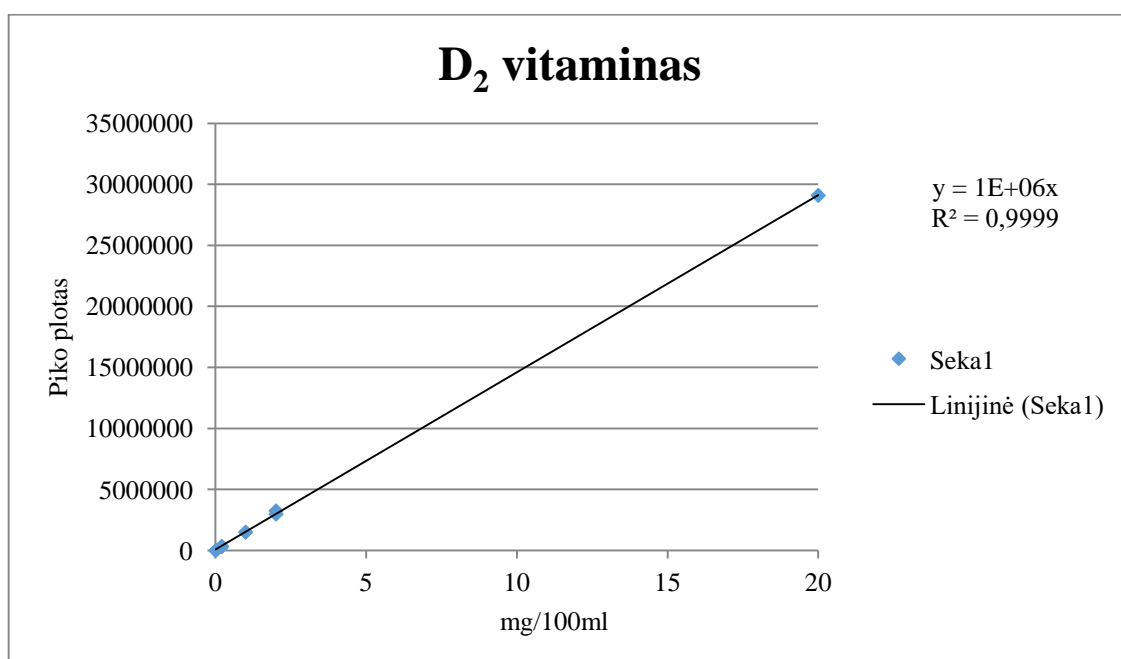
1 pav. Vitamino A chromatograma, sulaikymo laikas ties 3,145 min.

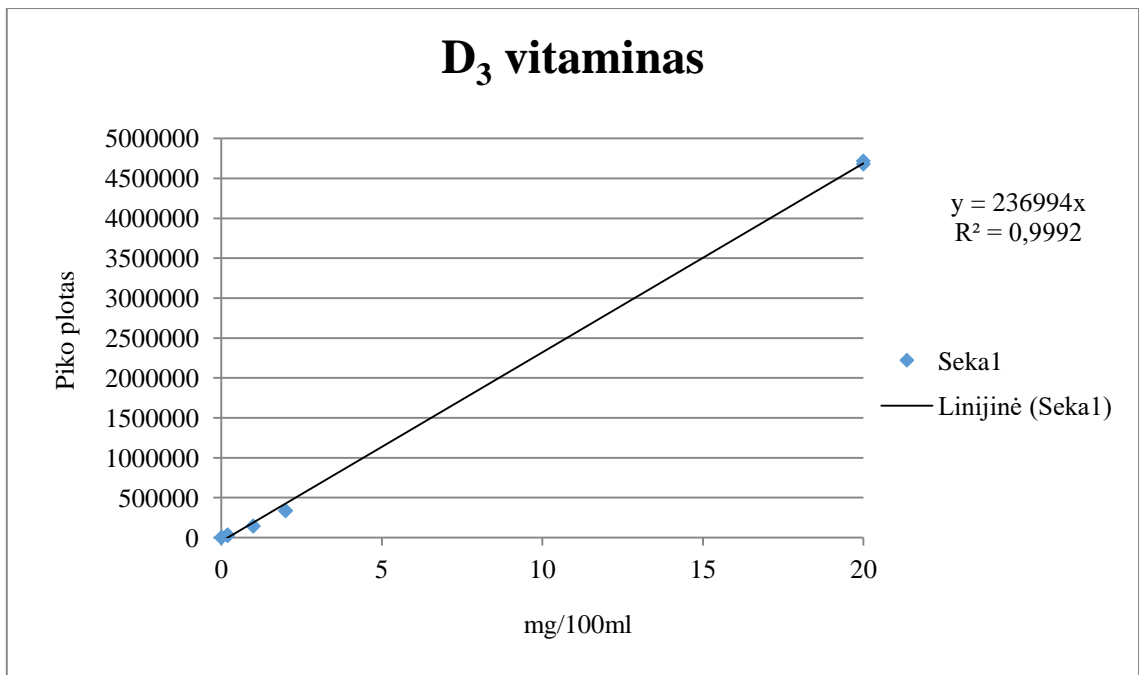


2 pav. Vitaminų D₂ ir D₃ chromatograma. Sulaikymo laikas vitaminui D₂ ties 8,659 min., vitaminui D₃ 9,064 min.



3 pav. Vitamino A kalibracinė kreivė

4 pav. Vitamino D₂ kalibracinė kreivė



5 pav. Vitamino D₃ kalibracinė kreivė