

## Influência da cozedura e da maltagem no conteúdo de folatos em quinoa (*Chenopodium quinoa*)

### Influence of cooking and malting on content of folates in quinoa (*Chenopodium quinoa*)

Carla Mota<sup>1</sup>, Inês Delgado<sup>1</sup>, Mariana Santos<sup>1</sup>, Ana Sofia Matos<sup>2</sup>, Duarte Torres<sup>3,4</sup>, Maria V. Chandra-Hioe<sup>5</sup>, Isabel Castanheira<sup>1</sup>

carla.motta@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

(2) Departamento de Engenharia Mecânica e Industrial, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal.

(3) Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

(4) Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

(5) ARC Training Centre for Advanced Technologies in Food Manufacture, School of Chemical Engineering, Sydney, Austrália.

#### \_Resumo

O folato ou vitamina B9 é essencial ao organismo sendo a alimentação a maior fonte deste nutriente. A deficiência nesta vitamina pode provocar alterações no crescimento e desenvolvimento de doenças como a anemia. A quinoa é um pseudocereal isento de glúten conhecido essencialmente pelo seu elevado valor nutritivo. Neste trabalho avaliou-se o efeito do processamento no teor em folatos naturais das sementes de quinoa. As amostras de quinoa recolhidas foram sujeitas a cozedura tradicional, cozedura a vapor e maltagem. A determinação simultânea de formas naturais de folatos, ácido fólico, 5-metiltetrahydrofolato, tetrahydrofolato, 5-formiltetrahydrofolato e 10-formiltetrahydrofolato foi realizada por cromatografia de ultra eficiência com deteção por espectrometria de massa com triplo quadrupolo (UPLC-MS/MS). A forma predominante encontrada em todas as amostras foi o 5-metiltetrahydrofolato. O teor de folatos totais mais elevado foi obtido nas amostras cruas (294 µg/100 g edível). A quinoa maltada apresenta uma redução significativa do teor de 5-metiltetrahydrofolato e um aumento significativo do 10-formiltetrahydrofolato. Na quinoa cozida e cozida a vapor o 5-metiltetrahydrofolato é o vitâmero que apresenta o fator de retenção mais elevado. Uma dose equivalente de quinoa independentemente do processamento, representa cerca de 32% da dose diária recomendada de folato podendo, por isso, ser classificada como rica em folatos.

#### \_Abstract

Folates or B9 vitamin is essential for numerous body functions being food the main source of this nutrient. The deficiency in this vitamin can cause changes in growth and in development of diseases such anaemia. Quinoa is a known gluten-free pseudocereal known by his high nutritional value. This study evaluated the effect of processing on the content of natural folates of quinoa seeds. The quinoa samples were submitted to traditional cooking, steaming and malting. The simultaneous determination of natural forms of folates, 5-methyltetrahydrofolate, tetrahydrofolate, 5-and 10-formiltetrahydrofolato formiltetrahydrofolato and folic acid was accomplished by ultra efficient chromatography with detection by mass spectrometry in a triple quadrupole (UPLC-MS/MS). The predominant form of folate found in all samples was 5-methyltetrahydrofolate. The highest total folate content was obtained in the raw samples (294 µg/100 g edible portion). Malted quinoa, evidence a significant reduction of 5-methyltetrahydrofolate content and a significant increase in 10-formiltetrahydrofolato. In boiled and steam quinoa, 5-methyltetrahydrofolate is the vitamer with the highest retention factor. An equivalent portion of quinoa, apart of processing, represents about 32% of the recommended daily intake of folate and may, for that reason, be classified as rich in folates.

#### \_Introdução

O folato ou vitamina B9 é um termo genérico para tetrahydrofolato (THF) e engloba os vitâmeros que ocorrem naturalmente nos alimentos bem como formas sintéticas adicionadas. A deficiência nutricional em vitamina B9 é comum nos indivíduos cuja dieta tem deficiência neste nutriente (1). Esta insuficiência pode ser exacerbada por condições de má absorção como acontece, por exemplo, em indivíduos com doença celíaca e durante a gravidez e aleitamento. De acordo com o mais recente relatório da *European Food Safety Authority* (EFSA) (2), a recomendação para a ingestão (PRI, *Population Reference Intakes*) estabeleceu-se em 330 µg *dietary folate equivalents* (DFE) /dia para adultos.

A quantidade de folatos presente naturalmente nos alimentos varia bastante. Alimentos descritos como fonte de folatos naturais incluem as ervilhas e feijões, vegetais de folha verde e frutos como a laranja (3). Os folatos podem também ser encontrados em extrato de levedura, grãos integrais, nozes, abacate e em vísceras de animais, como fígado e rim (4). A quinoa é um pseudocereal conhecido essencialmente pelo seu elevado valor nutritivo e poucas ou nenhuma prolaminas sendo por isso considerada isenta de glúten (5, 6). Tal como acontece com outras vitaminas, o armazenamento e os processamentos culinários, conduzem a uma degradação dos folatos devido à sua instabilidade térmica (7). Por outro lado o processo de maltagem contribui para um aumento da bioacessibilidade destes micronutrientes, quer pelo aumento da sua concentração, quer pela diminuição de antinutrientes como fitatos (8). Assim, torna-se importante considerar o efeito da cozedura e da maltagem na composição em folatos destes alimentos. A informação

artigos breves\_ n. 1

sobre o teor destes micronutrientes em alimentos processados é muito importante, especialmente para os pacientes em que a ingestão de vitamina B9 é essencial.

### \_Objetivo

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da maltagem e da confeção (cozedura e cozedura a vapor) no teor de folatos naturais da quinoa. Para tal foi desenvolvido um método analítico por ultra eficiência com deteção por espectrometria de massa num triplo quadrupolo (UPLC-MS/MS) em condições de reprodutibilidade e rastreabilidade para quantificar os diferentes vitâmeros de folato das sementes cruas, cozidas e maltadas.

### \_Materiais e métodos

As amostras de quinoa foram recolhidas entre março de 2014 e setembro de 2015 e sujeitas a cozedura tradicional, cozedura a vapor e maltagem. Foram determinadas em simultâneo as formas naturais de folatos: ácido fólico (FA), 5-metiltetrahydrofolato (5-MTHF), tetrahydrofolato (THF), 5-formiltetrahydrofolato (5-CHOTHF) e 10-formiltetrahydrofolato (10-CHOTHF). O método inclui a utilização de padrões internos de referência isotopicamente marcados ( $^{13}\text{C}_5$  FA e  $^{13}\text{C}_5$  5-MTHF). Para a análise cromatográfica utilizou-se o cromatógrafo AcQuity UPLC-TQD. Os folatos foram extraídos da matriz por método trienzimático precedido de dissolução em solução tampão, pH 7.2. Os resultados foram obtidos em triplicado em condições de garantia da qualidade suportados pelos requisitos descritos na norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. Os resultados são apresentados em  $\mu\text{g}/100$  g edível. O fator de retenção (FR) de cada nutriente foi calculado segundo a abordagem definida pela USDA (2007) (9).

### \_Resultados e discussão

Foram analisados cinco vitâmeros de folato com resultados acima do limite de deteção (LOD) para o FA, 5-MTHF e 10-CHOTHF e abaixo do LOD para o 5-CHOTHF ( $< 0,24 \mu\text{g}/100$  g) e THF ( $< 0,56 \mu\text{g}/100$  g) Os resultados analíticos são apresentados na **tabela 1**. A forma predominante encontrada em todas as amostras foi o 5-MTHF. Perfil idêntico, em percentagem das diferentes formas de folato, foi descrito por De Brouwer *et al.* (10) para o arroz. O teor de folatos totais mais elevado foi encontrado nas amostras cruas ( $294 \mu\text{g}/100$  g edível). No que diz respeito ao FA verifica-se uma diminuição significativa do seu teor após processamento, no entanto, para o 10-CHOTHF não foram encontradas diferenças. Para o 5-MTHF ocorre um aumento com a cozedura, quer tradicional quer a vapor mas a maltagem não produz qualquer efeito. Verificamos que em termos de folatos totais a cozedura mantém o teor de folatos enquanto que a maltagem não parece produzir nenhuma alteração significativa ( $P < 0.01$ ). Os resultados encontrados, embora proporcionalmente em concordância com os existentes na tabela de composição da USDA (2011) (11), são substancialmente mais elevados. Este facto deve-se essencialmente a diferenças na metodologia para a determinação de folatos totais e de apresentação de resultados. Na USDA (2011) os valores foram obtidos pelo método microbiológico. Os resultados obtidos por Gregory que utilizou o método microbiológico são também mais elevados que os obtidos no nosso estudo (12).

Tabela 1: Efeito da cozedura e maltagem na composição em folatos da quinoa ( $\mu\text{g}/100$  g peso seco).

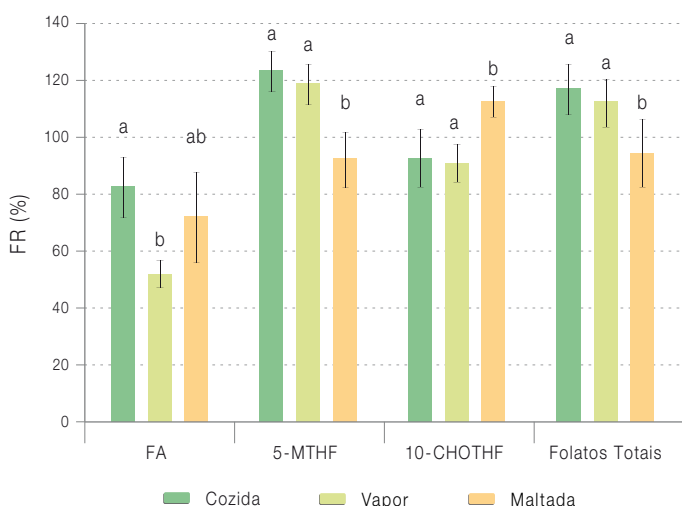
Quinoa	Processamento				P <sup>1</sup>
	Crua	Cozida	Vapor	Maltada	
Humidade g/100g	11.7 <sup>a</sup> ± 0.17	66.6 <sup>b</sup> ± 0.21	62.8 <sup>c</sup> ± 0.02	5.90 <sup>d</sup> ± 0.03	***
FA	9.35 <sup>a</sup> ± 1.15	7.57 <sup>a,b</sup> ± 1.10	4.81 <sup>b</sup> ± 1.01	6.41 <sup>b</sup> ± 1.59	*
5 - MTHF	259 <sup>a</sup> ± 13.4	313 <sup>b</sup> ± 11.4	302 <sup>b</sup> ± 16.7	233 <sup>a</sup> ± 29.5	**
10 - CHOTHF	53.4 <sup>a</sup> ± 8.35	47.9 <sup>a</sup> ± 9.86	47.9 <sup>a</sup> ± 17.07	57.8 <sup>a</sup> ± 8.22	n.s.
Folatos totais	322 <sup>a,c</sup> ± 8.3	369 <sup>b</sup> ± 19.0	355 <sup>a,b</sup> ± 21.5	297 <sup>c</sup> ± 31.3	**

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados; (1) Probabilidade estatística do tratamento: n.s. (não significativo);  $P > 0.05$ ; (\*)  $P < 0.05$ ; (\*\*)  $P < 0.01$ ; (\*\*\*)  $P < 0.001$ ; Média na mesma linha com letras diferentes são significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) (n=4).

artigos breves\_ n. 1

Os resultados dos efeitos de processamento estão apresentados no **gráfico 1**. Na quinoa maltada ocorre uma redução significativa do teor de 5-MTHF (FR  $\approx$  0,9) e um aumento significativo do 10-MTHF mas sem efeito na soma dos folatos totais da quinoa maltada. Na quinoa cozida e cozida a vapor o 5-MTHF é o vitâmeros que apresenta o FR mais elevado (FR  $\approx$  1,1).

Gráfico 1: Percentagem da retenção de folatos na quinoa processada.



Barras com letras diferentes são significativamente diferentes, por processamento; ( $P < 0,05$ ).

O rendimento de confeção para as amostras processadas e a respetiva dose equivalente (DE) ao alimento cru foi calculado a partir da tabela de equivalentes a uma porção publicada pela Direção-Geral da Saúde (2012) (13) que define para cereais e derivados crus uma DE de 35 g. Assim estimou-se para a quinoa cozida, cozida a vapor e maltada uma DE de 83, 81 e 35 g, respetivamente. Seguindo a abordagem do Regulamento Europeu nº 1169/2011 (14) e considerando a recomendação para indivíduos com idade superior a 15 anos, o valor de 330 µg DFE/dia, os alimentos podem ser descritos como “fonte de folatos” ou “rico em folatos” se a percentagem das recomendações satisfeitas pelo consumo de uma dose do alimento suprir mais de 15 ou 30% das recomendações em folatos, respetivamente. Assim a quinoa, por dose equivalente, independentemente do processamento, satisfaz entre 31 e 33% da recomendação em folatos podendo, por isso, em qualquer situação ser descrita como rica em folatos.

**\_Conclusões**

O método analítico reportado neste trabalho, evidencia a importância de determinar os diferentes vitâmeros que constituem o folato total. O desempenho do UPLC-MS/MS revelou-se adequado para avaliar o teor de folatos neste pseudocereal. Atendendo aos resultados concluiu-se que o perfil de folatos na quinoa está dependente do processamento. Em qualquer dos casos, a quinoa apresenta por dose equivalente teores superiores a 30% da recomendação da EFSA. Seguindo as recomendações vigentes, a quinoa pode ser considerada um alimento rico em folatos devendo por isso ser incluída na dieta do doente celíaco, grávidas e puérperas, entre outros.

**Referências bibliográficas:**

- (1) World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Vitamin and mineral requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand, 21-30 September 1998. Geneva: WHO, 2004. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42716/1/9241546123.pdf?ua=1>
- (2) EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for folate. EFSA Journal. 2014;12(11):1-59. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2014.3893/full>
- (3) Dietitians of Canada. Food Sources of Folate [Em linha]. (consultado 17/5/2015). [www.dietitians.ca/Your-Health/Nutrition-A-Z/Vitamins/Food-Sources-of-Folate.aspx](http://www.dietitians.ca/Your-Health/Nutrition-A-Z/Vitamins/Food-Sources-of-Folate.aspx)
- (4) Truswell S. The B Vitamins. In: Mann J, Truswell AS (eds). Essentials of Human Nutrition. 3rd ed. Melbourne: Oxford University Press, 2003.
- (5) Arendt EK, Bello FD. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. Dublin: Academic Press, 2008.
- (6) Moreno ML, Comino I, Sousa C. Alternative grains as potential raw material for gluten-free food development in the diet of celiac and gluten-sensitive patients. Austin J Nutri Food Sci. 2014;2(3):1016. <http://austinpublishinggroup.com/nutrition-food-sciences/fulltext/ajnfs-v2-id1016.php>
- (7) McNulty H, Pentieva K. Folate bioavailability. Proc Nutr Soc. 2004;63(4):529-36.
- (8) Hotz C, Gibson RS. Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. J Nutr. 2007;137(4):1097-100. <http://jn.nutrition.org/content/137/4/1097.long>
- (9) USDA Table of Nutrient Retention Factors, Release 6. Beltsville, Maryland: U.S. Department of Agriculture, 2007. [www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/retrn/retrn06.pdf](http://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/retrn/retrn06.pdf)
- (10) De Brouwer V, Storozhenko S, Stove CP, et al. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for the sensitive determination of folates in rice. J. Chromatogr. B 2010; 878(3-4):509-13
- (11) Composition of foods raw, processed, prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Beltsville, Maryland: U.S. Department of Agriculture, 2011. [www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/SR24/sr24\\_doc.pdf](http://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Data/SR24/sr24_doc.pdf)
- (12) Gregory JF, Quinlivan EP, Davis SR. Integrating the Issues of Folate Bioavailability, Intake and Metabolism in the Era of Fortification. Trends Food Sci Technol. 2005;16(6-7):229-40.
- (13) Direção-Geral da Saúde. Roda dos Alimentos, Tabela de Equivalentes. Lisboa: DGS, 2012.
- (14) União Europeia. Regulamento nº 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. JO 22.11.2011: L 304/18-63. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1169/oj>