DOI: 0.17058/rjp.v7i1.9332 OPEN ACCESS 30

Vitaminas do complexo B: uma breve revisão

Aline Rubert¹
Bruno Engel²
Ana Lúcia Becker Rohlfes³
Liliane Marquardt⁴
Nádia de Monte Baccar³

RESUMO

A maioria das vitaminas do complexo B atua como coenzimas de reações de catabolismo dos macronutrientes, os quais produzem energia para o organismo. Este grupo de vitaminas é essencial em pequenas quantidades para o organismo e devem ser obtidas a partir da alimentação, pois não são sintetizadas pelo organismo. Alimentos de origem vegetal são importantes fonte de vitaminas, sendo fundamental fazer parte da dieta alimentar. A ausência sistemática de vitaminas na dieta resulta, quase sempre, em crescimento e desenvolvimento deficientes e outras perturbações orgânicas, configurando-se um quadro sintomatológico característico de carência. O presente trabalho de revisão tem por objetivo o enfoque em vitaminas do complexo B: tiamina (B1), riboflavina (B2) e ácido fólico (B9), seus benefícios à saúde, bem como os métodos analíticos de quantificação das mesmas em alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: Vitaminas do complexo B. Alimentos. Benefícios à saúde. Quantificação.

ABSTRACT

Most of the B vitamins act as coenzymes of macronutrient catabolism reactions, which produce energy for the body. This group of vitamins is essential in small quantities for the body, and should be obtained from the diet, as they are not synthesized by the body. Foods of plant origin are important source of vitamins, being essential to be part of the diet. The systematic absence of vitamins in the diet results, almost always, in deficient growth and development and other organic disturbances, forming a characteristic symptomatological picture of deficiency. This review aims to focus on vitamins of the B complex: thiamine (B1), riboflavin (B2) and folic acid (B9) its health benefits, as well as the analytical methods of quantification of the same in foods.

KEYWORDS: Vitamins of the B complex. Foods. Health benefits. Quantification.



¹Aluna do Curso de Química da Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC.

²Aluno do Curso de Química Industrial da Universidade de Santa Cruz do Sul.

³Professoras do Departamento de Química e Física na Universidade de Santa Cruz do Sul. <nadia@unisc.br>

⁴Professora do Departamento de Engenharia, Arquitetura e Ciências Agrárias na Universidade de Santa Cruz do Sul.

1 INTRODUÇÃO

A população, de um modo geral, tem-se preocupado com a qualidade dos alimentos consumidos, tanto em relação ao seu aspecto nutricional quanto aos possíveis efeitos maléficos que possam afetar diretamente a qualidade de vida (MAIHARA, et al., 2006). Com isso, nos últimos anos houve aumento do interesse dos consumidores por alimentos que, além de apresentarem características nutricionais desejáveis, possam fornecer também substâncias benéficas à saúde humana (OLIVEIRA, 2014).

Um dos fatores mais importante em alimentos se refere ao seu conteúdo em vitaminas (TANNENBAUM; YOUNG; ARCHE, 1993). As vitaminas são elementos essenciais necessários em pequenas quantidades pelo organismo, pois o mesmo não consegue produzir, sendo desta maneira necessária uma fonte externa para suprir as necessidades do organismo, estas fontes podem ser produtos de origem animal ou vegetal. Cada vitamina desempenha uma função no organismo assim como sua carência causa um problema relativo a esta função (DANTAS et al., 2012).

Alimentos de origem vegetal são um importante componente da dieta, sendo tradicionalmente servidas junto com um alimento proteico e um carboidrato. Elas fornecem não apenas variedade de cor e textura às refeições, mas também compostos funcionais como as vitaminas (CARVALHO et al., 2006)

As vitaminas são compostos muito sensíveis podendo ser degradados por vários fatores, como temperatura, presença de oxigênio, luz, umidade, pH, duração do tratamento a que foi submetido o alimento, entre outros. (PRIORI et al., 2016; CORREIA; FARAONI; PINHEIRO SANT'ANA, 2008).

Estudos científicos relacionam a ingestão de vitaminas do complexo B com a prevenção de doenças cardiovascular (FIORITO et al, 2014; CARVALHO et al., 2006).

Nesse sentido, considerando-se a importância do tema, o presente trabalho objetiva investigar, na literatura, os principais aspectos relacionados às vitaminas do complexo B: tiamina (B1), riboflavina (B2) e ácido fólico (B9) como benefícios, doses diárias recomendadas, absorção no organismo, principais fontes alimentares e métodos analíticos para suas quantificações.

2 VITAMINAS

As vitaminas são compostos orgânicos de natureza e composição variada, que embora sejam necessárias em pequenas quantidades, desempenham uma ampla gama de

funções no organismo (VIEIRA, 2011). São necessárias para a síntese de cofatores essenciais e para um grande número de reações metabólicas controladas por enzimas e coenzimas (BALL, 2006).

São reconhecidas treze vitaminas, na nutrição humana, sendo estas divididas em dois grupos de acordo com a sua solubilidade: as hidrossolúveis e as lipossolúveis (BALL, 2004).

As vitaminas lipossolúveis são representadas pelas (vitaminas A, D, E e K) e constituem um grupo de sustâncias químicas, com estrutura variada, solúveis em solventes orgânicos, podendo ser armazenadas na gordura corpórea e atingir níveis tóxicos quando consumidos em excesso. As vitaminas hidrossolúveis incluem a vitamina C e as vitaminas do complexo B (B1, B2, B6, B12, ácido fólico, ácido pantotênico, niacina e biotina) e não são normalmente armazenadas em quantidades significativas no organismo, o que leva à necessidade de um suprimento diário dessas vitaminas (ARRUDA, 2009). Esta simples classificação reflete a biodisponibilidade das vitaminas e como a solubilidade influencia a absorção intestinal e pelos tecidos (BALL, 2006).

O teor de vitaminas dos alimentos é bastante variado, dependendo, no caso de vegetais, da espécie, do estágio de maturação, da época de colheita, de variações genéticas, do manuseio pós-colheita, das condições de estocagem, do processamento e do tipo de preparação (CORREIA; FARAONI; PINHEIRO SANT´ANA, 2008).

2.1 VITAMINA B1

A vitamina B1, também chamada de tiamina, é uma vitamina hidrossolúvel essencial para o bem-estar dos seres humanos e animais, havendo necessidades adicionais da mesma em estágios da vida como crescimento gravidez e lactação. Esta vitamina está associada à utilização do alimento e à produção ou interconversão de energias no organismo (ROSA et.al, 2009).

A tiamina é formada pela ligação de metileno entre uma molécula de pirimidina substituída e um anel tiazol (Figura 1).

Figura 1-Estrutura química da tiamina (vitamina B1)

Fonte: Moreschi, 2006.

A forma fisiologicamente ativa da tiamina é a TPP, coenzima que atua como uma cocarboxilase na descarboxilação oxidativa de alfacetoácidos, como o piruvato e o alfacetoglutarato. Participa também nas reações da transcetolase na via da pentose fosfato, fornecendo ribose para a síntese de nucleotídeos e ácidos nucleicos. Tem papel na síntese de ácidos graxos, por promover a redução da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH). Há evidências que a TPP e a tiamina trifosfato (TT) participam da transmissão do impulso nervoso Helio (VANNUCCHI; CUNHA, 2009).

É essencial para ajudar as células a converterem carboidrato em energia e é necessária para o bom funcionamento das células nervosas e do cérebro (MAIHARA et al., 2006). A absorção da tiamina ocorre no intestino por dois processos distintos: transporte ativo e difusão passiva. O estoque de tiamina não é grande e ocorre em vários órgãos, sendo que metade do teor se encontra nos músculos esqueléticos, seguido de fígado, coração, rins e cérebro. A maior parte de tiamina estocada, aproximadamente 80%, apresenta-se na forma de pirofosfato de tiamina e o excesso é rapidamente excretado pela urina e, em pequenas quantidades pela bile (MORESCHI, 2006).

A deficiência de vitamina B1 ocorre por causa da ingestão insuficiente ou aumento no requerimento durante a gravidez, lactação, dieta rica em carboidratos, infecção parasíticas crônicas. Esta deficiencia pode ser observada em indivíduos subnutridos, pacientes com doenças crônicas ou em quadros de anorexia e alcoolismo (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a).

A vitamina B1 é encontrada em quantidades relativamente pequenas em uma ampla variedade de alimentos. São consideradas fontes ricas desta vitamina as leveduras, farelo de trigo, cereais integrais e castanhas (VANNUCCHI; CUNHA, 2009; INSEL et al., 2007; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a). Hortaliças, frutas, ovos, carne de frango, carneiro e boi são fontes intermediárias, enquanto o leite contém quantidades relativamente baixas de tiamina (VANNUCCHI; CUNHA, 2009; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a). No entanto, por ser uma das vitaminas do complexo B mais sensíveis à temperatura, podem ocorrer perdas durante o processamento térmico de alimentos (PRIORI et al., 2016; OLIVEIRA, 2014; BALL, 2006; COULTATE, 1996).

A dose diária recomendada (DDR) de tiamina varia para o homem e para a mulher, em função da diferença de tamanho e consumo de energia. Para um homem a partir dos 19 anos, a DDR é de 1,2 mg/dia; para uma mulher, com a mesma idade, a DDR será de 1,1 mg/dia. A gravidez e lactação aumentam a necessidade de energia, devendo a ingestão de

tiamina ser superior nestas fases. A recomendação de tiamina durante a gravidez é de 1,4 mg/dia, enquanto que durante a lactação a DDR é de 1,5 mg/dia (BELLOWS; MOORE, 2012; INSEL et al., 2007).

2.2 VITAMINA B2

A riboflavina (vitamina B2) é um nutriente essencial que mantém as funções do metabolismo em condições normais, atuando como cofator nas reações enzimáticas, principalmente em sistema de transporte de elétrons (DELGADILLO; AYALA, 2009).

O termo vitamina B2 engloba três compostos com a mesma atividade vitamínica: riboflavina, flavina manonucleotideo ou riboflavina 5-fosfato (FMN) e flavina adenima dinucleotídeo ou riboflavina 5-adenosildifosfato (FAD) (DELGADILLO; AYALA, 2009; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003b; RUSSELL; VANDERSLICE, 1992).

A riboflavina, 7,8-dimetil-10-ribitil-isoaloxazina (Figura 2), é uma vitamina hidrossolúvel pertencente ao complexo vitamínico B2 (SOUZA et al., 2005). Esta vitamina é composta por uma molécula de isoaloxazina com cadeia lateral de ribitol (BALL, 2004; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003b; POWERS, 2003).

Figura 2: Estrutura química da riboflavina (vitamina B2)

Fonte: Arruda, 2009.

As formas fisiologicamente ativas, FAD e FMN, têm papel vital no metabolismo como coenzimas para uma grande variedade de flavoproteínas respiratórias, algumas das quais contendo metais (como a xantina oxidase). A riboflavina atua como cofator redox no metabolismo gerador de energia, sendo essencial para a formação dos eritrócitos, a neoglicogênese e na regulação das enzimas tireoideanas (VANNUCCHI; CUNHA, 2009).

A riboflavina participa de diversas reações redox centrais no metabolismo humano, através dos cofatores FMN e FAD, que atuam como intermediário na transferência de elétrons (DELGADILLO; AYALA, 2009; POWERS, 2003; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003b).

De acordo com Maihara et al. (2006) a vitamina B2 ajuda as células a converterem carboidrato em energia sendo essencial para o crescimento de células, produção de células vermelhas e para a saúde dos olhos e da pele. Em relação às demais vitaminas a riboflavina é umas mais estáveis frente ao calor, mas há perdas significativas quando está exposta a luz (COULTATE, 1996).

As deficiências da riboflavina são raras, uma vez que estão relacionadas com o metabolismo de outras vitaminas, verificando-se uma deficiência conjunta de diferentes vitaminas. Os sinais que demonstram a falta da riboflavina incluem feridas no canto da boca e no nariz, língua brilhante, lisa e inflamada e problemas de visão (DELGADILLO; AYALA, 2009; BALL, 2004). A distribuição da riboflavina nos alimentos é ampla, mas a sua concentração é baixa. Entre as fontes de alimentos, podem-se destacar o leite e seus derivados, carne e vísceras (como fígado e rins), vegetais folhosos verdes (como a couve, brócolis, repolho e agrião), ovos e ervilhas (VANNUCCHI; CUNHA, 2009).

Segundo Bellows e Moore (2012) e Insel et al. (2007) a DDR para o homem é superior à da mulher, sendo de 1,3 mg/dia e 1,1 mg/dia, respectivamente. Durante a gravidez e a lactação a DDR sobe para 1,4 mg/dia e 1,6 mg/dia, respectivamente.

2.3 VITAMINA B9

O ácido fólico é uma vitamina pertencente ao complexo B (vitamina B9), participa do metabolismo dos aminoácidos e da síntese dos ácidos nucléicos, sendo essencial para a formação das células do sangue (CARVALHO et al., 2006). É quimicamente conhecida como ácido pteroilglutâmico (Figura 3) ou ácido fólico (2-amino-4-hidroxi-6 metilenoaminobenzol-L-glutâmico) e está presente em muitos alimentos (LIMA; CATHARINO; GODOY, 2003; RUGGERI et al., 1999).

Figura 3: Estrutura química do ácido fólico.

Fonte: LIMA; CATHARINO; GODOY, 2003.

O termo "ácido fólico" refere-se especificamente ao ácido pteroilmonoglutâmico (PteGlu). Nos alimentos, o anel pterina é reduzido para dar origem aos folatos, como 7,8 – diidrofolato (DHF) ou 5,6,7,8 – tetrahidrofolato (THF) (DELLA LUCIA et al., 2011; BALL, 2006). De acordo com Catharino, Godoy e Lima-Pallone, (2006) os folatos fazem parte das vitaminas do grupo B e são importantes para processos bioquímicos, como síntese e reparo de DNA.

Os folatos têm um papel fundamental no processo da multiplicação celular, sendo, portanto, imprescindível durante a gravidez. O folato interfere com o aumento dos eritrócitos, o alargamento do útero e o crescimento da placenta e do feto. O ácido fólico é requisito para o crescimento normal, na fase reprodutiva (gestação lactação) e na formação de anticorpos. Atua como coenzima no metabolismo de aminoácidos (glicina) e síntese de purinas e pirimidinas, síntese de ácido nucleico DNA e RNA e é vital para a divisão celular e síntese proteica (SANTOS; PEREIRA, 2007).

A deficiência de ácido fólico está associada a uma série de doenças como anemia megaloblástica, malformações congênitas, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (DELLA LUCIA et al.,2011; CATHARINO; GODOY; LIMA-PALLONE, 2006; LIMA, CATHARINO; GODOY, 2003). Segundo Catharino, Godoy e Lima-Pallone (2006) a ausência desta vitamina pode implicar na doença de Alzheimer, síndrome de Down, desordens cerebrais. Silva, Santos e Batistuti (2013) ressaltam que a carência do ácido fólico é o principal fator de risco para os defeitos na formação do tubo neural. Esta vitamina recebeu nos últimos anos um aumento de atenção dos nutricionistas e cientistas médicos devido a sua importância na prevenção de má formação de fetos (NASSER et al., 2005).

As melhores fontes de folato são as vísceras, o feijão e os vegetais de folhas verdes como o espinafre, aspargo e brócolis. Outros exemplos de alimentos fontes de ácido fólico são: abacate, abóbora, batata, carne de vaca, carne de porco, cenoura, couve, fígado, laranja, leite, maçã, milho, ovo, queijo (SANTOS; PEREIRA, 2007). Nasser et al. (2005) relatam que a beterraba, entre outros vegetais, está entre os alimentos que possuem uma excelente fonte de ácido fólico.

O organismo absorve cerca de 100% de ácido fólico dos suplementos e alimentos fortificados, mas apenas dois terços de folato presente naturalmente em alimentos. Para dar conta desta diferença, o valor de DDR é expresso em equivalentes de folato (EF). De modo a evitar deficiências de vitamina B9, foram estabelecidas doses diárias. A DDR para homens e mulheres, maiores de 19 anos, é de 400 µg de EF por dia. Para mulheres grávidas ou lactantes,

as doses aumentam significativamente passando a ser 600 µg de EF por dia para grávidas e 500 µg de EF por dia durante a lactação (INSEL et al., 2007).

3 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE VITAMINAS DO COMPLEXO B

A literatura apresenta várias técnicas aplicadas para determinação de vitaminas em alimentos, como a Cromatografia Gasosa (CG), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Eletroforese Capilar (EC), fluorimetria, métodos bioespecíficos e microbiológicos. No entanto, os maiores avanços têm sido observados na utilização da CLAE em função de sua rapidez, alta sensibilidade, precisão e exatidão (ARRUDA, 2009).

Para a determinação das vitaminas do complexo B em alimentos, é necessária uma extração prévia a fim de facilitar a sua análise. O método adequado de extração depende de alguns critérios, tais como, a informação analítica necessária, a análise de informações exigidas, a natureza da matriz dos alimentos (diferentes formas de vitaminas são frequentemente encontradas em carnes, vegetais e produtos lácteos), a forma como a vitamina ocorre naturalmente ou como é adicionada, a natureza e quantidades relativas de substâncias potencialmente interferentes, a estabilidade da vitamina ao calor e pH e a seletividade e especificidade do método analítico utilizado (BALL, 2006).

3.1 QUANTIFICAÇÃO DA VITAMINA B1

Segundo Arruda (2009) os métodos descritos na literatura para análise da vitamina B1 em alimentos são a fluorimetria, CG, CLAE e microbiológico.

Para determinação da tiamina por fluorimetria é necessário fazer a derivatização da mesma para a formação do tiocromo, visto que esta vitamina não é naturalmente fluorescente. A conversão acontece pela reação da tiamina com ferricianeto de potássio em meio básico e o tiocromo é extraído como isobutanol (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a). Ainda, segundo o mesmo autor, a tiamina não é volátil e é termossensível e sua determinação direta pela CG só é possível após a reação com sulfito que quebra a tiamina formando 5(2-hidroxietil)4-metil-tiazol, extraído com solvente orgânico.

Já, para a quantificação por métodos microbiológicos, é necessário inicialmente obter a forma livre da vitamina para após empregar o micro-organismo específico para o qual a vitamina seja essencial. Os micro-organismos empregados na quantificação da tiamina são

geralmente *Lactobacillus virdescens* e o *Lactobacillus fermentum* (OLLILAINEN et al., 2001).

Em relação ao emprego da CLAE a separação cromatográfica é alcançada com colunas de fase reversa e detecção por ultravioleta (UV) ou fluorescência. Quando da utilização de detector de fluorescência, a vitamina B1 é submetida à derivatização para formação de um composto fluorescente (tiocromo) que pode ser realizada sob forma de pré ou pós-coluna (ROSA et al.,2009; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a).

Para a extração da vitamina são comumente empregados a hidrólise ácida, enzimática e desproteinização. Para a quantificação total desta vitamina é aplicada a hidrólise ácida seguida da enzimática. A hidrólise ácida geralmente é executada com ácido clorídrico ou ácido sulfúrico e banho-maria, autoclave ou ácido tricloroacético (TCA), a fim de desnaturar as proteínas da matriz. (ROSA et al., 2009; BALL, 2006; BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a).

Em alimentos, onde predomina a forma livre da vitamina B1, a hidrólise ácida deve ser conduzida em temperaturas mais baixas do que as utilizadas na extração das demais vitaminas do complexo B, uma vez que a tiamina é a mais a sensível ao calor. Na determinação das diferentes formas da vitamina (livres e ligadas) é suficiente empregar um agente desproteinizante na amostra, seguida de filtração e centrifugação (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a).

No uso do tratamento enzimático ocorre a desfosforilização das vitaminas para a forma livre. As enzimas mais utilizadas são: *takadiastase*, *claradistase* e *mylase* (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003a). Estudos desenvolvidos por Vieira (2011), e Presoto e Almeida-Muradian (2008), apresentam extração das vitaminas do complexo B com enzima diástase fúngica, a qual apresentou eficiência na desfosforilização da tiamina.

Por sua vez, estudos realizados por Vieira (2011) demonstraram que a adição da enzima *takadiastase* apresentou resultados mais satisfátorios do que a adição da enzima *claradiastase*.

3.2 QUANTIFICAÇÃO DA VITAMINA B2

De acordo com Arruda (2009) para análise da riboflavina em alimentos, os métodos geralmente empregados são: fluorimetria, método microbiológico e CLAE.

A vitamina B2 pode ser encontrada na forma livre e nas formas ligadas, FAD e FMN. Assim é possível quantificar o teor das diferentes formas presentes, para determinação do teor total é necessária primeiramente à conversão das formas ligadas para a livre durante a etapa de extração (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003b).

No método fluorimétrico para vitamina B2, não há necessidade de fazer uma derivatização como na vitamina B1, visto que a vitamina de interesse é naturalmente fluorescente. O método oficial da *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC) utiliza hidrólise ácida seguida de precipitação de proteínas para extração da vitamina B2 e oxidação dos interferentes com permanganato de potássio, sem afetar os teores de vitamina B2. Após estas etapas é feita a leitura de sua fluorescência (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003b).

Segundo estudos realizados por Van Den Berg et al. (1996) a quantificação da riboflavina pelo método microbiólogico emprega os microrganismos *Lactobacillus casei* e o *Enterococcus Faecalis*, com leituras de absorvância realizadas à 540 ou 590 nm.

Em relação a CLAE, a fase reversa é a mais utilizada, com misturas de solventes com soluções aquosas contendo tampão ou par iônico como fase móvel. A detecção mais empregada é a de fluorescência, podendo também utilizar detecção por UV (BIANCHINI-PONTUSCHKA, 2003b; OTTAWAY, 1993).

Os processos de extração da riboflavina e da tiamina são muito similares, podendo ser utilizado um mesmo procedimento para as duas vitaminas, bem como a determinação cromatográfica simultânea ou sequencial (OTTAWAY,1993).

Vieira (2011), Arruda (2009), Furlani e Godoy (2008), Moreschi (2006) e Maihara et al. (2006) em suas pesquisas, desenvolveram um método que permite análise simultânea das vitaminas do complexo B incluindo a tiamina B1 e a riboflavina B2 obtendo resultados satisfatórios. Ainda, Khaksari et al. (2017) realizaram a quantificação simultânea de vitamina lipossolúvel (A e E) e hidrossolúvel (complexo B), sendo o primeiro trabalho a detectar simultaneamente as vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO

Os métodos para análise de ácido fólico podem ser métodos biológicos, químicos, bio-específicos, microbiológicos e cromatográficos, sendo que os dois últimos são os mais utilizados (ARCOT; SHRESTHA, 2005).

No método microbiológico os microrganismos usados são *Lactobacillus rhamnosus*, *Enterococcus hirae* e *Pediococcus acidilatici*. Para a análise de folatos totais em alimentos, normalmente se emprega o ensaio microbiológico com *Lactabacillus rhamnosus* (*L. casei*) com diferentes processos de digestão enzimática (DeVRIES et al., 2005).

Segundo estudos realizados por Ball (2006) e Holasová, Fiedelrová e Vavreinová (2008) na extração do ácido fólico é realizado processo de digestão trienzimático, que consiste do tratamento seqüencial da matriz alimentícia com protease e α-amilase antes da adição da conjugase. A protease e a α-amilase são utilizadas para digerir a matriz alimentícia e liberar os folatos, enquanto que a conjugase promove a hidrólise dos poliglutamatos para mono ou diglutamatos (DeVRIES, et al., 2005).

Catharino, Godoy e Lima-Pallone (2006) desenvolveram um método de determinação de folatos e ácido fólico em alimentos por CLAE cuja extração emprega adição de acetato de amônio e para a purificação do extrato, ácido tricloroacético (TCA).

A CLAE permite a separação dos diferentes isômeros de folatos e a quantificação individual de cada um. Diferentes métodos foram estudados usando métodos de detecção como UV (RUIZ-RICO et al., 2016; CATHARINO; GODOY; LIMA-PALLONE, 2006; VIEIRA, 2011) e detecção de fluorescência (SAMANIEGO-VAESKEN; ALONSO-APERTE; VARELA-MOREIRAS, 2013).

Alguns métodos utilizando a Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas sequencial (CLAE-EM/EM) têm sido descritos. Thomas, Lanagan e Pawlosky (2003) desenvolveram um método para análise de ácido fólico em sucos cítricos; Pawlosky et al. (2003) empregaram esta técnica para alimentos fortificados com ácido fólico; e, Cellar et al. (2016) apresentam a determinação simultânea das vitaminas do complexo B: tiamina(B1), riboflavina (B2), nicotinamida e ácido nicotínico (B3), ácido pantoténico (B5), piridoxina (B6), biotina (B7) e ácido fólico (B9) em fórmulas para lactentes e nutrientes relacionados e afirmam que o método empregado apresentou precisão e exatidão, além de ser simples, eficaz e rápido.

Estudos comparativos desenvolvidos por Alaburda et al. (2008) empregando CLAE com detecção UV e ensaios microbiológicos utilizando micro-organismo *Enterococcus hirae* para determinação do ácido fólico em farinha de trigo fortificada asseguraram que ambos os métodos são eficazes para a determinação do ácido fólico, tendo resultados semelhantes.

Pesquisas elaboradas por Silva, Santos e Batistuti (2013) utilizaram a técnica de Espectrofotometria de UV-Vis para a quantificação de ácido fólico em alimentos fortificados. O método desenvolvido permitiu a quantificação do ácido fólico por meio de um comprimento de onda na região do UV em 255 nm, conferindo praticidade, confiabilidade e baixo custo para a utilização deste método na rotina laboratorial das indústrias farmacêutica e de alimentos.

4 CONCLUSÃO

Alimentos de origem vegetal são importantes componentes da dieta, pois fornecem nutrientes importantes, como as vitaminas além de ter pouca gordura e calorias. Além disso, eles possuem compostos funcionais, que beneficiam a nutrição básica, contribuindo para melhorar o estado de saúde e reduzir o risco de doenças cardiovascular.

Entre as técnicas analíticas descritas na literatura, a CLAE vem apresentando avanços em função de sua rapidez, alta sensibilidade, precisão e exatidão, embora os outros métodos também possam ser empregados com êxito em estudos que necessitem a identificação e quantificação das vitaminas do complexo B como tiamina B1, riboflavina B2 e ácido fólico B9.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Laboratórios de Ensino de Química e ao Curso de Química da Universidade de Santa Cruz do Sul, bem como à Secretaria do Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia (SDECT/RS).

REFERÊNCIAS

ARCOT, J.; SHRESTHA A. Folate: methods of analysis. *Trends in Food Science e Technology*, v.16 p.253–266, 2005. Disponível em: http://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00210-7. Acesso em: 20 abr. 2017.

ARRUDA, V. A. S. de. *Estabilidade de vitaminas do complexo B em pólen apícola*. 2009. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos Área de Bromatologia – Mestrado e Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Acesso em: 27 abr. 2017.

ALABURDA, J. et.al. Determination of folic acid in fortified wheat flours. *Journal of Food Composition and Analysis*. v. 21, p.336–342, 2008. Acesso em: 08 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.jfca.2007.12.002

BALL, G.F.M. Vitamins: Their Role in the Human Body. Blackwell Publishing. London, 2004.

BALL, G. F. M. Vitamins in foods: Analysis, Bioavailability, and Stability. Taylor & Francis Group. New York, 2006.

BELLOWS, L.; MOORE R. Water-Soluble Vitamins: B-Complex and Vitamin C. *Food and Nutrition*, 2012. Disponível em: https://extension.colostate.edu/docs/pubs/foodnut/09312.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2017.

- BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; PENTEADO, M. D. V. C. Vitamina B1. In: *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos*. Ed.1. Barueri: Manole, cap7, p.229-316, 2003a.
- BIANCHINI-PONTUSCHKA, R.; PENTEADO, M. D. V. C. Vitamina B2. In: *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos*. 1. ed. Barueri: Manole, cap8, p.376-396, 2003b.
- CARVALHO, P. G. B. et al. Hortaliças como alimentos funcionais. *Horticultura Brasileira*. Brasília, v.24, n. 4, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/hb/v24n4/01.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2017.
- CELLAR, A. M. et al. A new sample preparation and separation combination for precise accurate, rapid, and simultaneous determination of vitamins B1, B2, B3, B5, B6, B7 in infant formula and related nutrionals by LC-MS/MS. *Analytica Chimica Acta*, 934, p. 180-185, 2016. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.05.058
- COULTATE, T. P. Food, the chemistry of its components. 3. ed. Cambridge: royal society of chemistry, p. 208-244, 1996.
- CORREIA, L. F. M.; FARAONI, A. S.; PINHEIRO SANT'ANA, H. M. Efeitos do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. *Alimentos e Nutrição*. Araraquara n. 1, v. 19, p. 83-95, 2008. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/204/209>. Acesso em: 08 mar. 2017.
- CATHARINO, R. R; GODOY H. T.; LIMA-PALLONE, J. A. Metodologia analítica para determinação de folatos e ácido fólico em alimentos. *Química Nova*, São Paulo, v.29, n.5, p.972-976, 2006. Acesso em: 15 abr. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000500016.
- DANTAS, J. I. A. et. al. Biossíntese de vitaminas em frutos e hortaliças. *Agropecuária científica no semiárido*, Campinas, v. 8, n. 4, p. 22-37, 2012. Disponível em: http://revistas.ufcg.edu.br/acsa/index.php/ACSA/article/viewFile/246/pdf>. Acesso em: 15 abr. 2017.
- DELLA LUCIA, C.M. et. al. Otimização de método para análise de folatos em hortaliças folhosas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. *Química Nova*, São Paulo, v. 34, n. 2, p.335-340, 2011. Acesso em: 08 mar. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000200029.
- DELGADILLO, J; AYALA, G. Efectos de la deficiencia de riboflavina sobre el desarrollo del tejido dentoalveolar, en ratas. *Revista: Anales de la Facultad de Medicina*, 2009. Disponível em:http://www.redalyc.org/pdf/379/37912416004.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2017.
- DeVRIES, J.W. et al. Microbiological assay-trienzyme procedure for total folates in cereals and cereal foods: collaborative study. *Journal of AOAC International*, v.88, n.1, p.05-15, 2005. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/15759720/. Acesso em: 7 abr. 2017.

- FIORITO, G. et al. B-vitamins intake, DNA-methylation of One Carbon Metabolism and homocysteine pathway genes and myocardial infarction risk: The EPICOR study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, n.5, v.24, p. 483–488, 2014. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2013.10.026.
- FURLANI, R. P. Z; GODOY H. T. Vitamins B1 and B2 contents in cultivated mushrooms. *Food Chemistry*. Campinas, v. 106 p. 816-819, 2008. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://doi.org/10.1016/foodchem.2007.06.007
- HOLASOVÁ, M.; FIEDELROVÁ L.T.V; VAVREINOVÁ, S. Determination of Folates in Vegetables and their Retention During Boiling. *Czech J. Food Sci.* v. 26, n. 1, p. 31-37, 2008. Disponível em: http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/00811.pdf>. Acesso em: 7 abr. 2017.
- INSEL, P. et al. Water Soluble Vitamins. In: *Nutrition* 4th ed. Jones and Bartlett Publishers. USA, p. 429-466, 2007.
- KHAKSARI, M. et al. Determination of water-soluble and fat-soluble vitamins in tears and blood serum of infants and parents by liquid chromatography/mass spectrometry. *Experimental Eye Research*, v.155, p.54-63, 2017. Acesso em: 20 mar. 2017. DOI: http://10.1016/j.exer.2016.12.007
- LIMA, J.A.; CATHARINO, R.R.; GODOY, H.T. Folatos em vegetais: importância, efeito do processamento e biodisponibilidade. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v.14, n.1, p.123-129, 2003. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/848/727>. Acesso em: 2 mar. 2017.
- MAIHARA, V.A. et al. Avaliação Nutricional de Dietas de Trabalhadores em Relação a Proteínas, Lipídeos, Carboidratos, Fibras Alimentares e Vitaminas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.16, n.3, p.672-677, 2006. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000300029.
- MORESCHI, E. C. P. Desenvolvimento e validação de métodos cromatográficos e avaliação da estabilidade de vitaminas hidrossolúveis em alimentos. 2006. Tese ((Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos Área de Bromatologia Mestrado e Doutorado)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Acesso em: 20 abr. 2017
- NASSER, C. et al. Semana da Conscientização Sobre a Importância do Ácido Fólico. *Journal of epilepsy and clinical neurophysiol*, v.11, n.4, 2005. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1676-26492005000400009.
- OLIVEIRA, V.S. de. *Influência do processamento em ultrassom no licopeno e vitamina E e B.* 2014. 101 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química Mestrado e Doutorado) Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2014.
- OLLILAINEN, V. et al. Certification of B-group vitamins (B1, B2, B6 and B12) in four food rederence materiais. *Journal of agricultural and food chemistry*, v.49 n.1 p.315-321, 2001. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11305253>. Acesso em: 04 mar. 2017.

- OTTAWAY, P.B.The technology of vitamins in food. London, New York, 1993.
- PAWLOSKY, R.J. et al. Mass spectral determinations of the folic acid content of fortified breads from Chile. *Food Comp. Anal*, v.16 p.281-286, 2003. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00033-4
- POWERS, J.H. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *American Society for Clinical Nutrition*. p.1352–1360, 2003.
- PRESOTO, A.E.F.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Validação de métodos cromatográficos por clae para análise das vitaminas b1, b2, b6 e niacina naturalmente presentes em farinha de cereais. *Química Nova*, São Paulo, v. 31 n.3, p.498-502. 2008. Acesso em: 15 mar. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000300006
- PRIORI, D. et al. Characterization of bioactive compounds, antioxidant activity and minerals in landraces of pumpkin (*Cucurbita moschata*) cultivated in Southern Brazil. *Food Science and Technology*, Campinas, v.37. n.1, 2016. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.05016
- RUGGERI, S. et al. Determination of folate vitamers in food and in Italian reference diet by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. p. 237-245, 1999. Disponível em: http://www.academia.edu/20612477/Determination_of_folate_vitamers_in_food_and_in_Italian_reference_diet_by_high-performance_liquid_chromatography. Acesso em: 20 abr. 2017.
- RUIZ-RICO, M. et al. Protective effect of mesoporous silica particles on encapsulated folates. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. v. 105 p. 9-17, 2016. Acesso em: 20 abr. 2017. DOI: http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.05.016
- RUSSELL, L. F.; VANDERSLICE, J. T. Non-degradative extraction and simultaneous quantitation of riboflavin, flavin mononucleotide, and flavin adenine dinucleotide in foods by HPLC. *Food Chemistry*, v.43 p.151-162 1992. Disponível em: https://naldc.nal.usda.gov/download/39712/PDF>. Acesso em: 5 mar. 2017.
- ROSA, J. S. et al. Determinação de Tiamina em Grãos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Derivatização Pós-Coluna. *Comunicado Técnico Embrapa*, Rio de Janeiro, jan.2009.
- SAMANIEGO-VAESKEN, M. L.; ALONSO-APERTE, E.; VARELA-MOREIRAS, G. Voluntary food fortification with folic acid in Spain: Predicted contribution to children's dietary intakes as assessed with new food folate composition data. *Food Chemistry*, p.526-532, 2013. Acesso em: 5 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.01.092
- SANTOS, P. M.; PEREIRA Z.M. The effect of folic acid fortification on the reduction of neural tube defects. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.23 n.1 p.17-24, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/csp/v23n1/02.pdf >. Acesso em: 20 abr. 2017.

- SILVA, M. W.; SANTOS F.R.; BATISTUTI, J.P. Validação de um novo método analítico para quantificação de ácido fólico por espectrofotometria- UV. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 24, n. 3, p. 275-282, 2013. Disponível em: http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/283/2758. Acesso em: 6 mar. 2017.
- SOUZA, A. C. S. de. et al. Riboflavina: uma vitamina multifuncional. *Química Nova*, São Paulo, v.28, n.5, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n5/25919.pdf>. Acesso em: 6 mar. 2017.
- TANNENBAUM, S.R.; YOUNG, V.R.; ARCHER, M.C. Vitaminas y minerales. In: FENNEMA, O.R. *Química de los alimentos*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 537-613.
- THOMAS, P. M.; LANAGAN V. P.; PAWLOSKY, R. J. Determination of 5-methyltetrahydrofolic acid and folic acid in citrus juices using stable isotope dilution-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 2003. Acesso em: 20 abr.2017. DOI: http://doi.org/10.1021/jf020902e
- VANNUCCHI, V.; CUNHA, C.F.S. Vitaminas do Complexo B: Tiamina, Riboflavina, Niacina, Piridoxina, Biotina e Ácido Pantotênico. *Série de Publicações ILSI Brasil*, 2009. Disponível em: http://ilsi.org/brasil/wp-content/uploads/sites/9/2016/05/09-Complexo-B.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2017.
- VAN DEN BERG, H. et al. Third EU MAT intercomparison on methods for the determination of vitamins B-l, B-2 and B-6 in food. *Food Chemistry*. v. 57, n. 1, p. 101-108, 1996. Acesso em: 17 fev. 2017. DOI: http://doi.org/10.1016/0308-8146(96)00145-8
- VIEIRA, B. D. T. N. *Determinação simultânea das vitaminas do complexo B em carne de bovino por HPLC*. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011. Disponível em: http://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4185/1/Tese%20vitaminas.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2017.
- RUBERT, Aline et al. Vitaminas do complexo B: uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v. 7, n. 1, jan. 2017. ISSN 2237-048X. Disponível em: https://online.unisc.br/seer/index.php/jovenspesquisadores/article/view/9332>. Acesso em: ... doi: http://dx.doi.org/10.17058/rjp.v7i1.9332.