

OTIMIZAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE COLESTEROL POR CLAE E TEORES DE COLESTEROL, LIPÍDIOS TOTAIS E ÁCIDOS GRAXOS EM CAMARÃO ROSA (*Penaeus brasiliensis*)¹

BRAGAGNOLO², Neura & RODRIGUEZ-AMAYA³, Délia

RESUMO

A produção de camarões no Brasil é expressiva com condições propícias para expansão. Apesar de ser bem apreciado em termos culinários e ser uma fonte rica de proteínas, o camarão é apontado como um alimento de alto conteúdo de colesterol. Considerando que o nível de colesterol sanguíneo humano é dependente não só do teor de colesterol, mas também da quantidade de gordura e do tipo de ácidos graxos na dieta, um estudo integrado destes três constituintes foi realizado em camarão rosa (*Penaeus brasiliensis*), tamanho médio proveniente de São Paulo. A extração e a determinação do teor de lipídios totais foram realizadas de acordo com método de Folch, Less & Stanley. O método para determinação de colesterol por cromatografia líquida de alta eficiência, com coluna C₁₈ e detector por conjunto de diodos, foi estabelecido no nosso laboratório. Este método mostrou-se eficiente, rápido e simples. A composição de ácidos graxos foi obtida por cromatografia gasosa com coluna capilar de sílica

fundida com DB-WAX. Os teores de colesterol e lipídios totais para camarão rosa médio foram 127 ± 9 mg/100 g e $1,0 \pm 0,1$ g/100 g, respectivamente. Foram detectados oitenta e sete ácidos graxos, sendo 20:5 ω 3 (EPA), 16:0, 22:6 ω 3 (DHA), 18:0, 18:1 ω 9, 16:1 ω 7, 20:4 ω 6 e 18:1 ω 7 os principais. O teor de colesterol encontrado no camarão analisado é alto. Por outro lado, o teor de gordura é baixo e os níveis de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente EPA e DHA, são altos.

Palavras-chave: colesterol, lipídios totais, ácidos graxos, camarão, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia gasosa de alta resolução.

SUMMARY

OPTIMIZATION OF CHOLESTEROL DETERMINATION BY HPLC AND LEVELS OF CHOLESTEROL, TOTAL LIPIDS AND FATTY ACIDS OF THE PINK SHRIMP (*Penaeus brasiliensis*). Shrimp production in Brazil is substantial, with good potential for expansion. Although well appreciated in culinary terms and as a rich source of protein, shrimp is classified as a high cholesterol food. Considering that the human cholesterol blood level depends not only on dietary cholesterol, but also on the amount of fat and the type of fatty acids in the diet, an integrated study of these three constituents was carried out in the Brazilian shrimp *Penaeus brasiliensis*, medium size, from the state of São Paulo. Extraction and determination of total lipids were undertaken according to the method of Folch, Less & Stanley. Cholesterol was determined by a high performance liquid chromatographic method, established in our laboratory, using a C₁₈ column and a photodiode array detector. This method was shown to be efficient, rapid and simple. The fatty acid composition was obtained by gas chromatography with a fused silica capillary

column DB-WAX. The cholesterol and total lipid contents for *P. brasiliensis* were 127 ± 9 mg/100 g and 1.0 ± 0.1 g/100 g, respectively. Eighty-seven fatty acids were detected, the principal fatty acids being 20:5 ω 3 (EPA), 16:0, 22:6 ω 3 (DHA), 18:0, 18:1 ω 9, 16:1 ω 7, 20:4 ω 6 and 18:1 ω 7. The cholesterol content found in the shrimp analyzed is high. On the other hand, the level of fat is low and the content of polyunsaturated fatty acid, especially of EPA and DHA, is high.

Key words: cholesterol, total lipids, fatty acids, shrimp, high performance liquid chromatography, high resolution gas chromatography.

1 — INTRODUÇÃO

A produção de camarões no Brasil cresceu significativamente nos últimos anos e tem excelentes condições para expansão. Além de aumentar a capacidade de suprir a demanda do mercado interno, o potencial para exportação é elevado (3). No entanto, os países desenvolvidos são relutantes em importar camarões, apesar de serem fontes ricas de proteínas, devido ao seu alto teor de colesterol. Além disso, dados nacionais sobre colesterol e ácidos graxos de camarão são praticamente inexistentes.

O colesterol do plasma humano depende não somente do colesterol, mas também do conteúdo de gordura e composição de ácidos graxos da dieta. O efeito dos ácidos graxos da dieta no nível de colesterol plasmático têm sido descrito em detalhes por mais de 30 anos (20). Recentes publicações têm dado ênfase a este

fato (15, 33, 34, 38, 39). Para manter o colesterol sanguíneo em baixos níveis, a dieta deve ser pobre em colesterol, gordura e ácidos graxos saturados (37). Assim, uma investigação conjunta destes três constituintes faz-se necessária.

Os principais métodos encontrados na literatura para determinação de colesterol em camarão são colorimétricos (12, 14, 26, 27) e cromatográficos (gasosa) (14, 18, 19, 21, 28, 30, 31). Uma vez que o camarão apresenta outros esteróis além do colesterol, os métodos cromatográficos são mais específicos, pois separam os esteróis e outros possíveis interferentes. Não foi encontrado nenhum trabalho utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para colesterol em camarão.

Todos os métodos constam das seguintes etapas: extração de lipídios, feita quase que universalmente pelo método de FOLCH, LESS & STANLEY (11), saponificação, extração da matéria insaponificável e medida do colesterol. Mais recentemente, está sendo proposta para vários tipos de produtos alimentícios, a saponificação da amostra, seguida por extração da matéria insaponificável e medição do colesterol (2, 22, 24, 32, 40). Embora a saponificação direta seja mais rápida para análise de colesterol, optou-se neste trabalho pela extração dos lipídios antes da saponificação por permitir a determinação de lipídios totais, colesterol e ácidos graxos a partir do mesmo extrato.

O objetivo deste trabalho foi estabelecer um método para determinação de colesterol, por cromatografia líquida de alta eficiência, lipídios totais e composição de ácidos graxos, por cromatografia gasosa de alta resolução, a partir do mesmo extrato, em camarão.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Material

Foram analisados cinco lotes de camarão rosa (*P. brasiliensis*), tamanho médio, proveniente do litoral de São Paulo. De cada lote, constituído de 20 kg , foi tomada uma amostra de ½ kg, a qual foi limpa, removendo-se a cabeça, casca, pernas, cauda e intestino, e triturada em multiprocessador até obtenção de uma massa homogênea. Para a análise tomaram-se subamostras de 10 g em duplicata.

Em média, os camarões pesaram 28 ± 5 g e tinham tamanho de $15,8 \pm 0,8$ cm.

2.2 – Métodos

A extração dos lipídios e a determinação do teor de lipídios totais foram realizadas pelo método de FOLCH, LESS & STANLEY (11). O colesterol foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência por um método estabelecido anteriormente para ovos (7) e otimizado no presente trabalho para camarão, e a composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa de alta resolução. Os três métodos estão sumariamente descritos na *Figura 1*.

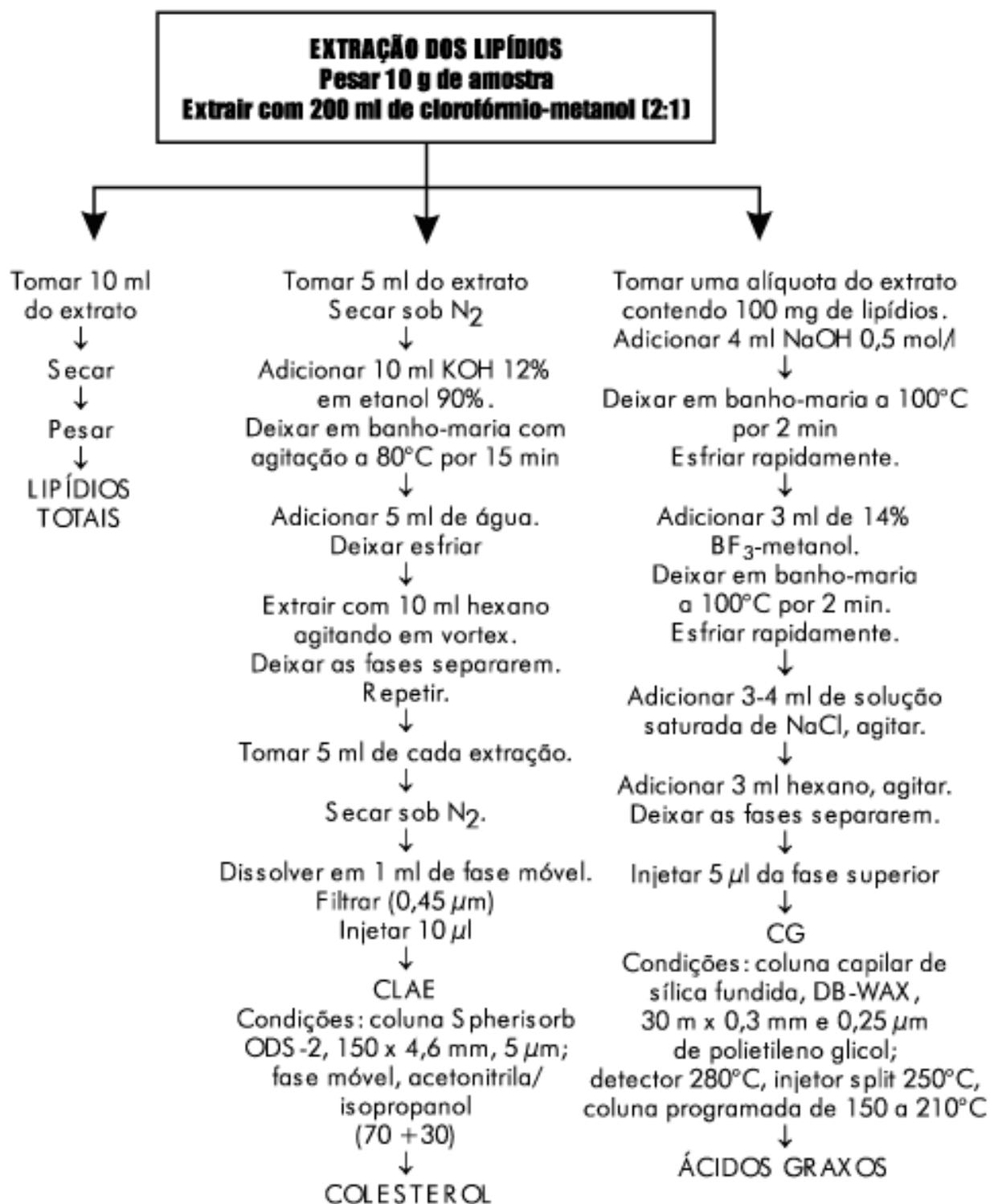


FIGURA 1. Fluxograma para determinação de lipídios totais, colesterol e ácidos graxos.

Para a determinação de colesterol por CLAE, foram inicialmente avaliados 3 procedimentos de saponificação: a) 0,5 g de amostra, 1

ml de KOH 50%, 90 °C por 1 hora com agitação (24); b) 10 ml do extrato clorofórmico (equivalente a 0,5 g de amostra), 1 ml de KOH 40 %, 85°C por 1 hora (19); c) 10 ml do extrato clorofórmico (equivalente a 0,5 g de amostra), 10 ml de KOH 12 % em etanol a 90%, 80 °C por 15 min com agitação (4).

Foram também testadas extrações consecutivas da matéria insaponificável e limpeza do extrato hexano contendo os insaponificáveis com uma minicoluna de sílica (eluentes: 9% de éter etílico em hexano, diclorometano e hexano) e com cartucho descartável Sep-pak C₁₈. (eluentes: acetonitrila/isopropanol (1+1), n-hexano/isopropanol (4+1) e hexano).

Para a escolha da fase móvel testaram-se várias proporções (50+50, 60+40 e 70+30) de acetonitrila/isopropanol, sendo que obteve-se a melhor separação do colesterol com acetonitrila/isopropanol (70+30).

O teste de recuperação foi feito adicionando-se quantidades conhecidas de colesterol na amostra.

Foi utilizado um cromatógrafo líquido com sistema ternário de solventes (VARIAN, 9010); válvula "Rheodyne" com alça de 10 µl; coluna, Spherisorb ODS-2, 150 x 4,6 mm, 5 µm; coluna de guarda, Spherisorb ODS-2, 10 x 4,6 mm, 5 µm; fase móvel, acetonitrila/isopropanol (70+30); vazão, 1,0 ml/min (pressão de 45 atm.); detector por conjunto de diodos (WATER 994); e integrador processador (VARIAN, 4400). Espectros de absorvância foram tirados entre 190 e 300 nm e os cromatogramas a 210 nm. O tempo de corrida cromatográfica foi de 15 minutos. Todos os solventes usados foram grau cromatográfico, filtrados e degaseificados em ultra-som antes do uso.

A identificação do pico de colesterol foi feita por comparação dos

tempos de retenção do padrão e o da amostra, por co-cromatografia e espectros de absorvância. A pureza dos picos foi verificada através dos espectros de absorvância obtidos no início, ápice e término do pico (*Figura 2*).

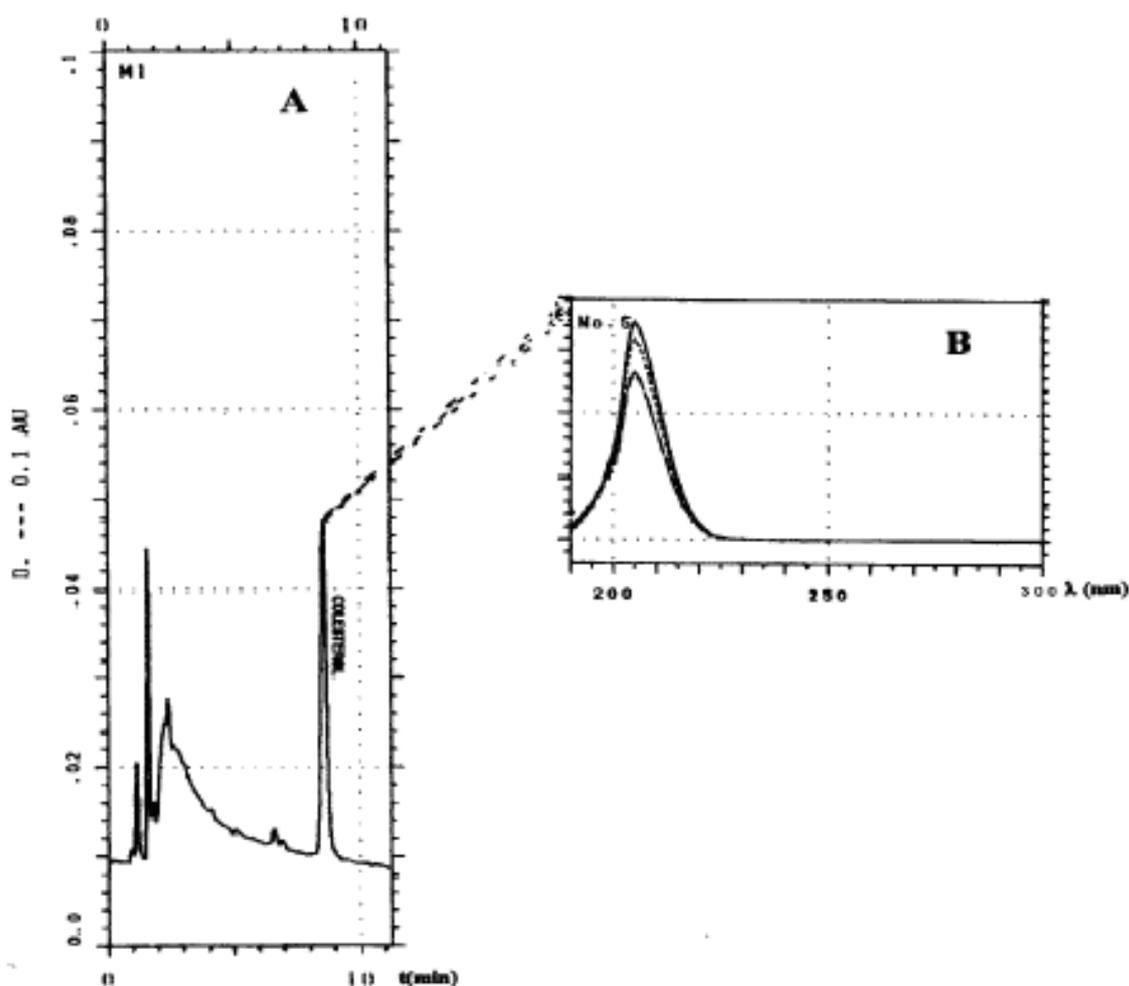


FIGURA 2. Cromatograma típico obtido por CLAE (A) de uma amostra de camarão rosa e espectros de absorvância (B) obtido pelo detector por conjunto de diodos.

Condições cromatográficas: coluna Spherisorb ODS-2, 150 x 4,6 mm, 5 μ m; fase móvel acetonitrila/isopropanol (70+30); vazão, 1 ml/min.

A quantificação foi feita por padronização externa e a curva de calibração foi construída de 1,0 a 4,0 μ g/10 μ l. A curva foi linear,

passou pela origem e cobriu a faixa de concentração das amostras.

Para a análise dos ácidos graxos, uma alíquota do extrato de lipídios, contendo aproximadamente 0,1 g de lipídios, foi seca em rota-evaporador e saponificada. Os ácidos graxos foram metilados pelo método de METCALFE, SCHMITZ & PELKA (35), usando trifluoreto de boro-metanol como agente esterificante.

A cromatografia gasosa, para análise de ácidos graxos, foi realizada em cromatógrafo VARIAN, modelo 3300, equipado com: detector por ionização em chama; injetor split, razão de 100:1; coluna capilar de sílica fundida, 30 m de comprimento x 0,30 mm de diâmetro interno e contendo 0,25 µm de polietileno glicol (DB-WAX da J & W Scientific, Califórnia, USA); e integrador processador INTRALAB 4290. As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna, 150°C por 11 min, programada a 210°C numa razão de 3°C/min; gás de arraste, hidrogênio numa vazão de 1,26 ml/min com velocidade linear de 39,4 cm/s; gás "make-up", nitrogênio a 30 ml/min; temperatura do injetor; 250°C; e temperatura do detector, 280°C.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada pelo uso em conjunto dos seguintes parâmetros: comparação do tempo de retenção corrigido de ésteres metílicos dos ácidos graxos das amostras e padrões; co-cromatografia de padrões e amostras; e comprimento equivalente da cadeia (ECL') como é realizada em peixes (1, 5, 8, 10, 16, 25, 36). A quantificação foi feita por normalização. Um cromatograma típico dos ácidos graxos encontrados em camarão rosa pode ser observado na *Figura 3*.

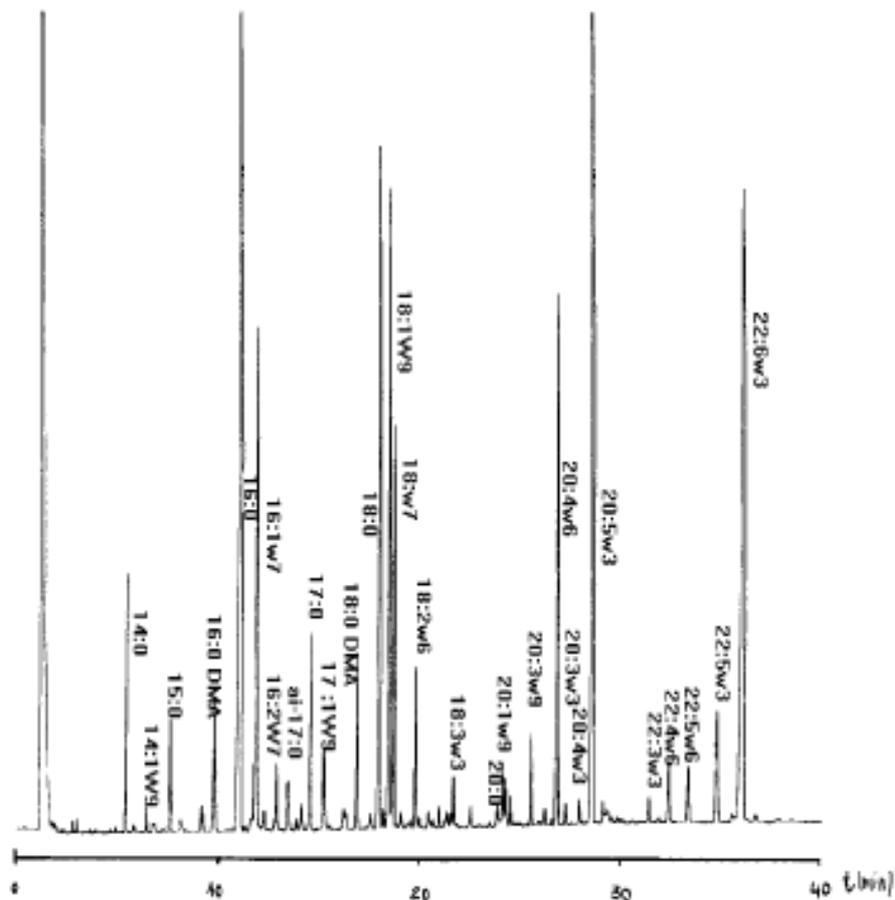


FIGURA 3. Cromatograma típico obtido por CG dos ácidos graxos de camarão rosa.

Condições cromatográficas: coluna de sílica fundida DB-WAX, 30m, 0,3mm e 0,25 μ m; temperatura programada da coluna, 150°C por 11 min subindo a 210°C numa razão de 3°C/min.

3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Avaliação do método por CLAE para colesterol

As médias dos teores de colesterol obtidos pelos três procedimentos de saponificação estão apresentadas na *Tabela 1*. A saponificação de acordo com BOHAC *et al* (4) apresentou o menor coeficiente de variação (CV) e é mais rápida. Além disso, a

extração dos lipídios totais antes da saponificação permitiu a determinação de lipídios totais e a composição de ácidos graxos a partir do mesmo extrato. Como as médias obtidas por este procedimento foram menores, um teste de recuperação foi realizado (*Tabela 2*), obtendo-se em média $96 \pm 1\%$ de recuperação em dois diferentes níveis, percentagens consideradas muito boas.

TABELA 1. Comparação de três procedimentos de saponificação.

Amostra	Concentração de colesterol (mg/100 g)					
	Procedimento a		Procedimento b		Procedimento c	
	média±dp*	CV(%)	média±dp	CV(%)	média±dp*	CV(%)
1	138±2	2	140±2	2	131±1	1
2	140±20	14	141±2	1	130±4	3
3	129±5	4	117±24	21	118±1	1

*Média e desvio-padrão de análises em triplicatas

Procedimento a, KOVACS, ANDERSON & ACKMAN (24); procedimento b, KANEDA *et al* (19); procedimento c, BOHAC *et al* (4)

TABELA 2. Taxas de recuperação do colesterol pelo método estabelecido.

Colesterol adicionado (mg)	n	% Recuperação
		média ± dp
4	2	96 ± 1
8	2	96 ± 1

n= número de repetições

No teste de recuperação pelo método inteiro, KOVACS, ANDERSON & ACKMAN (24) obtiveram recuperação de 103,4% para bacalhau. Não foi encontrado nenhum trabalho sobre

colesterol em camarão que envolveu teor de recuperação.

No teste de extrações consecutivas dos insaponificáveis por hexano observou-se que apenas duas extrações foram necessárias, uma vez que na terceira extração não detectou-se nenhum colesterol.

A limpeza com minicoluna de sílica ou sep-pak de C18 não foi eficiente nas condições testadas uma vez que retinha, além dos interferentes, uma quantidade significativa de colesterol. De qualquer forma, a análise cromatográfica sem etapas de limpeza, não foi prejudicada por interferentes (*Figura 2*).

3.2 – Teores de lipídios totais e colesterol

Os resultados de lipídios totais e colesterol obtidos para camarão rosa (*P. brasiliensis*) encontram-se na *Tabela 3*. O teor de lipídios totais foi em média igual a 1%, variando de 0,8 a 1,1%, o qual está de acordo com os apresentados pelo EXPERT PANEL ON FOOD SAFETY AND NUTRITION (9) com valores menores de 1% para camarão em geral. Esta comissão explica que o músculo do camarão contém menos que 1% de lipídios totais, porque o depósito de gordura é estocado no hepatopâncreas, o qual fica localizado na região da cabeça. KRZECZKOWSKI (29) obteve 2,8 a 3,0% de lipídios totais quando todo camarão (*Pandalus borealis*) foi analisado e 1,2 a 1,5% quando apenas a carne foi analisada.

TABELA 3. Teores de lipídios totais e colesterol em camarão rosa (*Penaeus brasiliensis*).

Lote	Lipídios totais (%)*	Colesterol (mg/100g)*
1	1,0	136
2	1,1	124
3	1,1	112
4	0,9	132
5	0,8	131
Média geral \pm dp	1,0 \pm 0,1	127 \pm 9

* Média de análises em duplicata

dp = desvio-padrão

Há concordância também com KRZYNOWEK & PANUNZIO (31) que relataram uma faixa de 0,8 a 1,1% em 11 amostras de camarão de várias espécies (*Pandalus borealis*, *P. setiferous*, *P. durarum notialis*, *P. aztecus aztecus*, *P. durarum durarum*, *P. aztecus subtilis*) e vários locais (EUA, Brasil, Canadá, Honduras e Equador); KING *et al* (21), com 1,19% no verão, 1,34% no inverno e 1,26% em camarão rosa (*Pandalus borealis* e *P. jordani*) cozido; JOHNSON *et al* (18), com média de 1,2% em camarão *P. aztecus*. Valores mais baixos foram encontrados por KOTB, HADEED & AL-BAKER (23) com média de 0,5%, em camarão de espécie não especificada.

A média de 127 mg/100g para colesterol obtida no presente trabalho foi semelhante a de KRITCHEVSKY & TEPPER (27) que encontraram 138 mg/100g em camarão (espécie não especificada). No entanto, foi maior que a encontrada por KRISHNAMOORTHY *et al* (26) que obtiveram em média 96 mg/100g para camarão branco (*Penaeus setiferus*). Foi menor que a apresentada por KRZYNOWEK & PANUNZIO (31) que encontraram em média 152 mg/100g, com faixa de 135 a 186 para diferentes espécies de camarões provenientes de vários locais; por

JOHNSTON *et al* (18) com média de 201 mg/100g para camarão *P. azteus*; e por KRITCHEVSKY *et al* (28) que encontraram valores médios de 200 mg/100g em espécie de camarão não especificada. Estas discrepâncias podem ser atribuídas à espécie, estação do ano, tipo de alimentação, tamanho, local de origem e também ao método utilizado. O colesterol foi determinado pelo método colorimétrico nos trabalhos de KRITCHEVSKY & TEPPER (27), KRISHNAMOORTHY *et al* (26), KRITCHEVSKY *et al* (28); gravimétrico por JOHNSTON *et al* (18) e cromatográfico (gasosa) por KRZYNOWEK & PANUNZIO (31).

Vários autores (13, 14, 17, 21, 28) encontraram colesterol como o principal esterol em camarão, perfazendo 94 a 99% do total. Como esteróis secundários, foram detectados brassicasterol (21) e desmosterol (17). No presente trabalho, não houve a preocupação de determinar outros esteróis além do colesterol.

3.3 – Composição de ácidos graxos

Cerca de 91 picos apareceram no cromatograma (*Figura 3*), dos quais 79 ácidos graxos e 4 dimetilacetais (DMA) foram identificados. Os principais ácidos graxos encontrados foram 20:5 ω 3 (EPA), 16:0, 22:6 ω 3 (DHA), 18:0, 18:1 ω 9, 16:1 ω 7, 20:4 ω 6 e 18:1 ω 7 (*Tabela 4*), os quais somam em torno de 79% do total de ácidos graxos. Os ácidos graxos principais variaram de 3,6 a 18,7% do total de ácidos graxos.

TABELA 4. Composição de ácidos graxos (% por área) dos lipídios de camarão rosa (*Penaeus brasiliensis*).

Ácidos graxos e DMA	Média ± dp*	Ácidos graxos	Média ± dp
10:0	0,3±0,0	19:0	0,1±0,0
12:0	0,2±0,0	19:1ω11	0,2±0,0
14:0	1,6±0,3	19:1ω9	0,4±0,0
14:1ω5	0,2±0,0	NI	0,2±0,0
15:0 (iso)	0,1±0,0	NI	0,1±0,0
15:0	1,0±0,1	18:3ω3	0,5±0,0
15:1ω9	0,2±0,0	18:4ω3	0,2±0,0
15:1ω7	0,2±0,0	20:0	0,2±0,0
16:0 DMA	1,4±0,2	20:1ω11	0,5±0,1
16:0	14,9±0,5	20:1ω9	0,4±0,1
16:1ω9	0,2±0,0	20:1ω8	0,3±0,0
16:1ω7	6,3±0,7	20:3ω9	0,8±0,1
16:1ω5	0,2±0,0	20:3ω6	0,1±0,0
16:2ω7	0,6±0,0	20:4ω6	5,2±0,2
ai-17:0	0,8±0,0	20:3ω3	0,2±0,0
16:2ω5	0,1±0,0	20:4ω3	0,2±0,0
16:2ω4	0,3±0,0	20:5ω3	18,7±2,3
17:0	1,9±0,2	22:0	0,3±0,1
17:1ω9	1,0±0,1	22:1ω11	0,1±0,0
17:1ω7	0,3±0,0	22:3ω3	0,3±0,0
17:1ω5	0,1±0,0	22:4ω6	0,6±0,1
18:0 DMA	1,6±0,2	22:5ω6	0,7±0,1
18:1 DMA	0,2±0,0	22:5ω3	1,4±0,2
18:0	8,6±0,8	22:6ω3	13,3±0,6
18:1ω11	0,2±0,0	24:0	0,2±0,1
18:1ω9	7,9±0,8	Saturados	30,2
18:1ω7	3,6±0,2	Monoinsaturados	22,6
18:1ω5	0,2±0,0	Poliinsaturados	45,0
18:1ω3	0,1±0,0	Poliinsaturados/ Saturados	1,5
18:2ω6	1,5±0,1	Total ω3	35
18:2ω5	0,1±0,0	Total ω6	8,1
18:2ω4	0,1±0,0	ω3/ω6	4,3
18:2ω3	0,1±0,0	EPA + DHA	32

*Média e desvio-padrão de cinco lotes analisados em duplicata.

DMA = dimetilacetil, i = iso, ai = anteiso, NI = não identificados

Foram também detectados traços (< 0,1%) de 13:0, i-14:0, 14:0 DMA,

14:1ω9, ai-15:0, 16:1ω11, 16:2ω6, 17:1ω11, 17:2ω5, 18:1ω6, 19:1ω7,

18:2 ω 6	1,5 \pm 0,1	Total ω 3	35
18:2 ω 5	0,1 \pm 0,0	Total ω 6	8,1
18:2 ω 4	0,1 \pm 0,0	ω 3/ ω 6	4.3
18:2 ω 3	0,1 \pm 0,0	EPA + DHA	32

*Média e desvio-padrão de cinco lotes analisados em duplicata.

DMA = dimetilacetil, i = iso, ai = anteiso, NI = não identificados

Foram também detectados traços (< 0,1%) de 13:0, i-14:0, 14:0 DMA, 14:1 ω 9, ai-15:0, 16:1 ω 11, 16:2 ω 6, 17:1 ω 11, 17:2 ω 5, 18:1 ω 6, 19:1 ω 7, 19:1 ω 3, 19:2 ω 6, 19:2 ω 5, 20:1 ω 7, 20:1 ω 5, 20:1 ω 4, 20:2 ω 6, 20:2 ω 5, 20:2 ω 3, 21:0, 22:1 ω 9, 22:1 ω 7, 22:1 ω 5, 22:1 ω 3, 21:4 ω 6, 21:6 ω 3 e seis ácidos graxos não identificados.

Utilizando colunas recheadas, foram identificados 29 ácidos graxos em camarão *Pandalus borealis* por KRZECZKOWSKI (29); 26 em camarão *P. aztecus* por BOTTINO, LILLY & FINNE (6) e 22 em espécie de camarão não especificada por KOTB, HADEED & AL-BAKER (23). KRZYNOWEK & PANUNZIO (31), utilizando coluna capilar, identificaram apenas 11 ácidos graxos em diferentes espécies de camarões de vários locais. KING *et al* (21) identificaram 27 ácidos graxos, também com coluna capilar, em camarão cozido *Pandalus borealis* e *P. jordani*.

Os ácidos graxos majoritários encontrados no presente trabalho foram também os principais nos trabalhos de KING *et al* (21) e KRZYNOWEK & PANUNZIO (31), porém, a ordem não foi a mesma. Maior valor de 18:1 ω 9 e menor valor de 18:0 foi detectado por KING *et al* (21) em camarão cozido *Pandalus borealis* e *P. jordani*. No trabalho de KRZYNOWEK & PANUNZIO (31), das cinco amostras analisadas (espécies e locais diferentes), duas amostras foram diferentes com maior valor de 14:0, 18:1 ω 9 e 18:2 ω 6 e menor valor de 16:1 ω 7 no *P. durarum notialis* proveniente do Equador e maior valor de 20:4 ω 6 no de Honduras. KOTB, HADEED & AL-BAKER (23) também encontraram 18:2 ω 6 como principal em camarão (espécie não especificada), mas não especificaram a posição da dupla ligação de alguns ácidos graxos como 18:1. BOTTINO, LILLY & FINNE (6) não detectaram o 18:1 ω 7 em espécie de camarão não

especificada, o qual pode estar junto com 18:1 ω 9, desde que os autores relataram que o mesmo pode conter outros ácidos graxos 18:1, explicando seu alto teor. Por outro lado, KRZECZKOWSKI (29) identificou e quantificou apenas 20:5 ω 3, 18:1 ω 9, 16:0, 22:6 ω 3 e 16:1 ω 7 como principais e identificou alguns ácidos graxos que não foram detectados no presente trabalho, como 14:1 ω 6, 15:1 ω 6, 17:1 ω 8 e 22:4 ω 3.

No camarão rosa (*P. brasiliensis*) o total de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados foi 30,2, 22,6 e 45,0%, respectivamente. Dos ácidos graxos saturados, o palmítico (16:0) foi o predominante com 14,9%. Os ácidos graxos monoinsaturados mais comuns foram 18:1 ω 9 (7,9%) e 16:1 ω 7 (6,3%). Dos ácidos graxos poliinsaturados os mais abundantes foram EPA e DHA, justamente os ácidos graxos poliinsaturados considerados de maior importância para saúde humana. Estes dois ácidos graxos somaram 32%, alcançando o mesmo teor que o verificado no bacalhau. Os presentes resultados são semelhantes aos de BOTTINO, LILLY & FINNE (6), porém, maiores em ácidos graxos saturados e menores em poliinsaturados que KRZECZKOWSKI (29) e KING *et al* (21).

A razão P/S e ω 3/ ω 6 foi 1,5 e 4,1, respectivamente. Valores semelhantes foram obtidos para P/S por KING *et al* (21) e por BOTTINO, LILLY & FINNE (6). Para ω 3/ ω 6, KING *et al* (21) obtiveram valor maior (7,9) que o obtido no presente trabalho.

4 — CONCLUSÃO

- O método para determinação de colesterol por cromatografia líquida de alta eficiência demonstrou-se eficiente, simples e rápido.

– O alto teor de colesterol encontrado no camarão é alto. Por outro lado o teor de gordura é baixo e os níveis de ácidos graxos poliinsaturados, especialmente EPA (20:5 ω 3) e DHA (22:6 ω 3), são altos.

5 — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ACKMAN, R. G. WCOT (capillary) gas-chromatography. In: **Analysis of Oils and Fats**. Eds. HAMILTON, R. J. & ROSSEL, J. B. Elsevier Applied Science, Essex, 1987, p.137.
- (2) AL-HASSANI, S. M.; HLAVAC, J. & CARPENTER, M. W. Rapid determination of cholesterol in simple and multicomponent prepared foods. **J. AOAC Intern.**, **76**: 902, 1993.
- (3) ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE CAMARÕES. Folha de São Paulo, Agrofolha 1, 17/10/95.
- (4) BOHAC, C. E.; RHEE, K. S.; CROSS, H. R. & ONO, K. Assesment of metodologies for colorimetric cholesterol assay of meats. **J. Food Sci.**, **53**: 1642, 1988.
- (5) BANNON, C. D., CRASKE, J. D. & NORMAN, L. M. Effect of overload of capillary gas-liquid chromatographic columns on the equivalent chain lengths of C18 unsaturated fatty acid methyl esters. **J. Chromatogr.**, **44**: 43, 1988.
- (6) BOTTINO, N. R., LILLY, M. L. & FINNE, G. Fatty acid stability of Gulf of Mexico brown shrimp (*Penaeus aztecus*) held on ice and in frozen storage. **J. Food Sci.**, **44**:1778, 1979.
- (7) BRAGAGNOLO, N. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação comparativa de três métodos para determinação de colesterol em gema de ovo. **Arq. Biol. Tecnol.**, **36**: 237, 1993.
- (8) CHRISTIE, W. W. Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas-chromatography. **J. Chromatog.**, **447**: 305, 1988.
- (9) EXPERT PANEL ON FOOD SAFETY AND NUTRITION. Foods from aquaculture. **Food. Tec.**, **9**: 87, 1991.

- (10) FLANZY, J.; BOUDON, M.; LEGER, C. & PIHET, J. Application of Carbowax 20M as an open-tubular liquid phase in analyses of nutritionally important fats and oils. **J. Chromatog. Sci.**, **14**: 17, 1976.
- (11) FOLCH, J. LESS, M. & STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, **226**: 497, 1957.
- (12) GALLAGHER, M. & BROWN, W. D. Composition of San Francisco bay brine shrimp (*Artemia salina*). **J. Agric. Food Chem.**, **23**: 630, 1975.
- (13) GAGOSIAN, R. B. Sterols of the lobster (*Homarus americanus*) and the shrimp (*Pandalus borealis*). **Experientia**, **31**: 878, 1975.
- (14) GORDON, D. T. Steroids in mollusks and crustacea of the Pacific Northwest. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, **59**: 536, 1982.
- (15) GRUNDY, S. M. & DENKE, M. A. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **J. Lip. Res.**, **31**: 1149, 1990.
- (16) HANSEN, H. L. & ANDRESEN, K. Calculation of the retention time of the "air peak" in gas chromatograms. **J. Chromatogr.**, **34**: 246, 1968.
- (17) IDLER, D. R. & WISEMAN, P. Sterols of crustacea. **Int. J. Biochem.**, **2**: 91, 1971.
- (18) JOHNSTON, J. J.; GHANBARI, H. A.; WHEELER, W. B. & KIRK J. R. Characterization of shrimp lipids. **J. Food Sci.**, **48**: 33, 1983.
- (19) KANEDA, T.; NAKAJIMA, A.; FUJIMOTO, K.; KOBAYASHI, T.; KIRIYAMA, S.; EBIHARA, K.; INNAMI, T.; TSUJI, K.; TSUJI, E.; KINUMAKI, T.; SHIMMA, H. & YONEYAMA, S. Quantitative analysis of cholesterol in food by gas-liquid chromatography. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, **26**: 497, 1980.
- (20) KEYS, A.; ANDERSON, J. T. & GRANDE, F. Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. **Metabolism**, **14**: 776, 1965.

- (21) KING, I. CHILDS, T.; DOSETT, C. OSTRANDER, J. G. & MONSEN, R. Shellfish: proximate composition, minerals, fatty acids, and sterols. **J. Am. Diet. Assoc.**, **90**: 677, 1990.
- (22) KLATT, L. V.; MITCHELL, B. A. & SMITH, R. L. Cholesterol analysis in foods by direct saponification - gas chromatographic method: Collaborative study. **J. AOAC Intern.**, **78**: 75, 1995.
- (23) KOTB, A. R.; HADEED, A. F. A. & AL-BAKER, A. A. Omega-3 polyunsaturated fatty acid content of some popular species of Arabian Gulf fish. **Food Chem.**, **40**: 185, 1991.
- (24) KOVACS, M. I. P.; ANDERSON, W. E. & ACKMAN, R. G. A simple method for the determination of cholesterol and some plant sterols in fishery-based food products. **J. Food Sci.**, **44**: 1299, 1979.
- (25) KRAMER, J. K. G.; FOUCHARD, R. C. & JENKINS, K. J. Differences in chromatographic properties of fused silica capillary columns, coated, crosslinked, bonded, or crosslinked and bonded with polyethylene glycols (Carbowax 20M) using complex fatty acid methyl ester mixtures. **J. Chromatog. Sci.**, **23**: 54, 1985.
- (26) KRISHNAMOORTHY, R. V.; VENKATARAMIAH, A.; LAKSHMI, G. J. & BIESIOT, P. Effects of cooking and of frozen storage on the cholesterol content of selected shellfish. **J. Food Sci.**, **44**: 314, 1979.
- (27) KRITCHEVSKY, D. & TEPPER, S. A. The free and ester sterol content of various foodstuffs. **J. Nutrition**, **74**:441, 1961.
- (28) KRITCHEVSKY, D.; TEPPER, S. A.; DiTULLO, N. W. & HOLMES, W. L. The sterols of seafood. **J. Food Sci.**, **32**: 64, 1967.
- (29) KRZECZKOWSKI, R. A. Fatty acids in raw and processed Alaska pink shrimp. **J. Amer. Oil Chem. Soc.**, **47**: 451, 1970.
- (30) KRZYNOWEK, J. Sterols and fatty acids in seafood. **Food Technol.**, **39**: 61, 1985.
- (31) KRZYNOWEK, J. & PANUNZIO, L. J. Cholesterol and fatty acids in several species of shrimp. **J. Food Sci.**, **54**: 237, 1989.

- (32) MAURICE, D. V.; LIGHTSEY, S. F.; HSU, K. T.; GAYLORD, T. G. & REDDY, R. V. Cholesterol in eggs from different species of poultry determined by capillary GLC. **Food Chem.**, **50**: 367, 1994.
- (33) MAZIER, M. J. P. & JONES, P. J. H. Dietary fat quality and circulating cholesterol levels in humans: A review of actions and mechanisms. **Progr. Food Nutr. Sci.**, **15**: 21, 1991.
- (34) MENSINK, R. P. Effects of fats and oils on risk factors for coronary heart disease. **Proc. 6o Latin American Congress and Exhibit on Fats and Oils Processing**, p. 95, 1995.
- (35) METCALFE, L. D.; SCHMITZ, A. A. & PELKA, J.R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Anal. Chem.**, **12**: 514, 1966.
- (36) MIWA, T. K.; MIKOLAJCZAK, K. L.; EARLE, F. R. & WOLFF, I.A. Gas chromatographic characterization of fatty acids. Identification constants for mono- and dicarboxylic methyl esters. **Anal. Chem.**, **32**: 1739, 1960.
- (37) NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of high blood cholesterol in adults. **Arch. Int. Med.**, **148**: 36, 1988.
- (38) O'DEA, K.; TRAIANEDES, K.; CHISHOLM, K.; LEYDEN, H; SINCLAIR, A. J. Cholesterol-lowering effect of a low-fat diet containing lean beef is reversed by the addition of beef fat. **Am. J. Clin. Nutr.**, **53**: 491, 1990.
- (39) SINCLAIR, A. J. Dietary fat and cardiovascular disease: the significance of recent developments for the food industry. **Food Australia**, **45**: 226, 1993.
- (40) ULBERTH, F. & REICH, H. Gas chromatographic determination of cholesterol in processed foods. **Food Chem.**, **43**: 387, 1991.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

¹ Recebido para publicação em 14/05/97. Aceito para publicação em 04/12/97.

² ITAL, Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada. C.P. 139. CEP 13073-001. Campinas, SP.

³ Depto. de Ciência de Alimentos, FEA, UNICAMP. C.P. 6121. CEP 13081-970. Campinas, SP.