

## COLESTEROL: MODIFICAÇÕES DA METODOLOGIA OFICIAL DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ E SUA QUANTIFICAÇÃO EM MASSAS ALIMENTÍCIAS \*

Deise Aparecida Pinatti MARSIGLIA \*\*  
Maria Lima GARBELOTTI \*\*  
Claudio de FLORA \*\*  
Odair ZENEBO \*\*  
Marcelo Vaz LEONARDO \*\*

RIALA6/761

MARSIGLIA, D.A.P.; GARBELOTTI, M.L.; FLORA, C.; ZENEBO, O. & LEONARDO, M.V. - Colesterol: modificações da metodologia oficial do Instituto Adolfo Lutz e sua quantificação em massas alimentícias. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54 (1): 51-4, 1994.

**RESUMO:** O teor de colesterol é utilizado pela legislação vigente como parâmetro no controle do número de ovos utilizados na fabricação de massas alimentícias. A modificação proposta no procedimento analítico utilizado no Instituto Adolfo Lutz, apresentou vantagens conduzindo a obtenção de resultados mais reprodutíveis e com maior exatidão. Essas modificações foram com relação à extração do colesterol, bem como na formação do complexo colorido responsável pela absorção medida espectrofotometricamente. A metodologia proposta foi aplicada em amostras de ovos "in natura", gemas liofilizadas e massas alimentícias com ovos, o que permitiu verificar que 44,44% das massas analisadas apresentaram teor de colesterol abaixo do limite mínimo exigido pela legislação em vigor.

**DESCRITORES:** colesterol; determinação de colesterol; ovos e massas alimentícias.

### INTRODUÇÃO

O colesterol é um dos compostos orgânicos mais disseminados no reino animal, como tal faz parte da composição dos ovos. O teor de colesterol é utilizado pela legislação vigente como parâmetro para o controle do número de ovos utilizados na fabricação de massas alimentícias<sup>1, 2 e 3</sup>.

Vários métodos têm sido utilizados para extração e dosagem de colesterol em ovos, gemas e outros alimentos<sup>9</sup>. O Instituto Adolfo Lutz, como Laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo, adota metodologia espectrofotométrica descrita no seu livro de Normas Analíticas<sup>7</sup>. Este método tem apresentado dificuldades técnicas no que diz respeito à reprodutibilidade dos resultados encontrados.

Com o objetivo de encontrarmos metodologia analítica que permita a obtenção de resultados confiáveis e de execução compatível com as condições dos laboratórios de Saúde Pública, os autores do presente trabalho buscaram modificações no procedimento analítico adotado pelo Instituto Adolfo Lutz.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Material

Farinha de Trigo  
Ovos in natura  
Massas alimentícias  
Gemmas liofilizadas

\* Realizado na Seção de Doces e Amiláceos do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

**Reagentes:**

Clorofórmio P.A.  
Anidrido acético P.A.  
Ácido acético glacial  
Ácido sulfúrico concentrado  
Colesterol P.A.

**Equipamentos:**

Espectrofotômetro \*\*\*  
Extrator de Soxhlet  
Banho-Maria

**Métodos:**

**Preparo da Mistura Reagente:** Misturar 100 mL de ácido acético glacial, 110 ml de anidrido acético e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado em frasco ambar com tampa. Conservar em geladeira e usar no período de uma semana.

**Curva Padrão:** Preparar uma solução-mãe utilizando 0,100g de colesterol P.A. dissolvido em clorofórmio e transferido para balão volumétrico de 100 mL. A partir desta, preparar diferentes diluições tomando-se alíquotas de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 mL em balões volumétricos de 100mL, completar o volume com clorofórmio. Transferir 5mL de cada uma dessas soluções para um tubo de ensaio envolto com material opaco. Adicionar 5mL da mistura reagente. Tampar o tubo, agitar e levar ao banho-maria à 37°C por 20 minutos. Ler em espectrofotômetro à 625nm. Traçar a curva padrão absorvância x Concentração de colesterol.

**Procedimentos:** Pesar 2g da amostra finamente pulverizada (que passe por um tamis de 20 mesh). Colocar em cartucho de extração. Extrair com clorofórmio em aparelho Soxhlet, durante 20 horas. Retirar o cartucho com a amostra e reduzir o volume do solvente no balão até cerca de 15 mL, destilando o clorofórmio.

Transferir quantitativamente para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com o mesmo solvente.

Transferir 5 mL do extrato para um tubo de ensaio envolto em material opaco. Adicionar 5mL da mistura-reagente. Tampar o tubo, agitar e levar ao banho-maria à 37°C por 20 minutos. Ler em espectrofotômetro à 625nm. Determinar o teor de colesterol usando a curva padrão previamente estabelecida.

**Teste de recuperação do colesterol:** Para testar a metodologia proposta foi utilizada farinha de trigo

adicionada de colesterol P.A. na concentração de 1%. Foram tomadas 3 porções de 2g da mistura preparada e seguida a metodologia modificada.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A curva padrão para a determinação de colesterol segundo a metodologia proposta, encontra-se na figura 1.

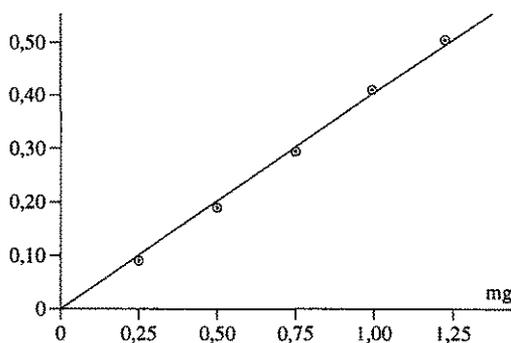


FIGURA 1

ABSORVÂNCIA X CONCENTRAÇÃO

O Teste de recuperação do colesterol adicionado à farinha de trigo apresentou índices de colesterol de 0,99, 1,04 e 0,93 g/100g, indicando uma recuperação média de 99%. A extração contínua em Soxhlet evita as possíveis perdas do processo de recorte das bordas do papel de filtro utilizado no método descrito no livro de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz<sup>7</sup>. A substituição de proveta graduada por balão volumétrico para diluição do extrato para um volume conhecido, é muito mais adequada e permite maior precisão.

A reação de LIEBERMAN-BUCHARD modificada por SHEFTEL, sofre interferência da luz, temperatura e quantidade de ácido sulfúrico utilizado, além do que o material usado deve estar rigorosamente seco<sup>6</sup>. Assim, a proposta de utilização de tubos de ensaio envoltos em material opaco e o controle da temperatura do banho-maria são fundamentais para se obter um resultado confiável. Quanto à medida do reduzido volume de ácido sulfúrico de 0,2 mL, indicado no método tradicional<sup>7</sup>, torna-se muito mais difícil a sua precisão, uma vez que este ácido concentrado é extremamente viscoso e a permanência de uma pequena quantidade nas paredes da pipeta, pode levar a resultados não reprodutíveis. A utilização de uma mistura-reagente, previamente preparada em proporção definida, revelou ser mais adequada por apresentar resultados mais exatos, provavelmente pela maior polaridade do meio reagente<sup>11</sup>.

\*\*\* MICRONAL Espectrofotômetro B382

A metodologia proposta foi aplicada em ovos "in natura" e em massas alimentícias com ovos, expostos à venda no comércio da cidade de São Paulo e em gemas liofilizadas. Os resultados encontrados estão nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1

Teor de colesterol em Ovos "in natura" e em Gemas liofilizadas

Amostra	Concentração de Colesterol		
	Ovos "in natura" (clara + gema)	Gema liofilizadas	
	g/100 g	g/ovo	g/100 g
A	0,404	0,211	1,463
B	0,425	0,222	1,163
C	0,431	0,225	1,475
Média	0,420	0,219	1,367

TABELA 2

Teor de colesterol em Massas Alimentícias com Ovos

Concentração de Colesterol (g/100 g)	
0,0411	0,0466
0,0419	0,0506
0,0381	0,0660
0,0412	0,0575
0,0587	

O teor médio de colesterol de 0,219 g/ovo, encontrado nas análises dos ovos "in natura", é comparável com os teores registrados na literatura em trabalhos realizados por JIANG et al<sup>8</sup>, BEYER & JENSEN<sup>1</sup>, que obtiveram 195 e 198 mg/ovo respectivamente. Destacamos que estes trabalhos citados utilizaram Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

(CLAE), método este de difícil utilização nos Laboratórios de Saúde Pública, em suas atividades rotineiras de controle e fiscalização dos alimentos, em função do seu alto custo.

Utilizando o método colorimétrico de ZLATKIS et al, FERREIRA & CAMPOS<sup>4</sup>, obtiveram em média 1238 mg/100g de gema. Na Tabela de Composição Química dos Alimentos de FRANCO<sup>5</sup>, o valor de colesterol para gema de ovos é de 1500mg/100g. Assim, o teor médio de colesterol em gemas liofilizadas de 1,367 g/100g encontrado pela aplicação do presente método está de acordo com o registrado pela literatura.

Com relação as massas alimentícias com ovos, os resultados encontrados indicam que 44,44% (4 das 9 amostras analisadas), estão em desacordo com a legislação vigente, que exige o teor mínimo de 0,45 g de colesterol por kg, para receber a denominação de "Massa com Ovos".

## CONCLUSÕES

As modificações propostas no presente trabalho, apresentam vantagens, pois conduzem a obtenção de resultados mais reprodutíveis, com maior exatidão e com menor fonte de erro analítico, além da sua praticidade.

De acordo com os resultados encontrados, expressiva parcela das Massas Alimentícias com Ovos, expostas à venda no comércio da cidade de São Paulo, não está sendo preparada com adição de quantidade de ovos exigida pela legislação em vigor.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao pesquisador Paulo Tiglea pela colaboração prestada na realização deste trabalho.

RIALA6/761

MARSIGLIA, D.A.P.; GARBELOTTI, M.L.; FLORA, C.; ZENEBON, O. & LEONARDO, M.V. - Cholesterol: modifications in official methodology in the Adolfo Lutz Institute and its quantification in the food paste. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 51-4, 1994.

**SUMMARY:** The actual legislation use the cholesterol concentration as the control parameter in the number of eggs for food paste fabrication. The proposed modification in the analytical procedure utilized in the Adolfo Lutz Institute, presented advantages such as better reproduction and more accuracy. These modifications are, the cholesterol extraction, as well as the color complex formation measured in the spectrophotometer. The proposed methodology was applied in samples of "in natura" eggs, dehydrated yolk and food paste with eggs. This fact permitted verify that 44,44% of the paste analysed present cholesterol concentration down of the limit required by the legislation.

**DESCRIPTORS:** Cholesterol; cholesterol determination; eggs and food paste.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEYER, R. S. & JENSEN, L. S. Overestimation of the cholesterol content of eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37: 917- 1989a.
2. BRASIL. Leis, Decretos etc. - Resolução nº 01/76 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 03 jun. 1976. Seção I, Parte I.
3. BRASIL. Leis, Decretos etc. - Resolução nº 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 24 jul. 1978. Seção I, pt. I, p.11.515. Aprova Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, relativas a alimentos (e bebidas)...
4. FERREIRA, M.O.O. & CAMPOS, E. Efeito do nível de energia da dieta sobre o nível de colesterol da gema. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, 32 (1):77-1980.
5. FRANCO, G. *Nutrição*. Texto básico e tabela de composição química dos alimentos, 6ª ed. Rio de Janeiro. Atheneu. pg. 181-1982.
6. HIDAL, F.S.T. Colesterol - Da determinação em ovos e produtos que contém ovos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* - out 1946 - vol. VII nº 2 (139-148) - São Paulo.
7. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 3ª ed. São Paulo, 1985 v.1, p. 57-59.
8. JIANG, Z; FENTON, M. & SIM, J.S. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. *Poultry Science*, 70:1015-1991.
9. NIX, D.F.; WASHBURN, K.W. A rapid technique for extraction of yolk cholesterol. *Poultry Science* 53:1118-1122, 1974.
10. SÃO PAULO. Leis, Decretos etc - Decreto nº 12.486, de 20 de outubro. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. *Diário Oficial*, São Paulo, p.1, 21 out. 1978 (NTA 49).
11. SISLER, H.H. *Química dos solventes não aquosos*. Trad. Cactano Belliboni. São Paulo. Polígono. pg. 117-120,1969.

Recebido para publicação: 18.11.93