

Caracterização da fração lipídica de amostras comerciais de camarão-rosa

Andréa Figueiredo Procópio de Moura, Rosângela Pavan Torres, Jorge Mancini-Filho, Alfredo Tenuta Filho

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. SP, Brasil

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a fração lipídica de amostras comerciais refrigeradas de camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*). O teor médio de lípidos totais foi de $1,13 \pm 0,09$ g/100g. Quanto ao perfil de ácidos graxos, este revelou a presença de 32,9% de saturados, 20,4% de monoinsaturados e 40,5% de polinsaturados. Foram identificados e quantificados 18 ácidos graxos, sendo 7 saturados (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0), 4 monoinsaturados (16:1w7, 17:1w9, 18:1w9, 20:1w9) e 7 polinsaturados (18:2w6, 18:3w3, 20:2w6, 20:4w6, 20:5w3, 22:5w3, 22:6w3). Os teores de colesterol livre variaram entre 92 e 136 mg/100g, correspondendo a um valor médio de 118mg/100g. Ao mesmo tempo, foi constatada a ocorrência de 7-cetocolesterol livre, denunciando a oxidação do colesterol, em níveis de 0,185 a 0,366 µg/g. A composição de ácidos graxos foi quantificada por CG, com coluna de sílica fundida Supelcowax 10, e a determinação do colesterol e 7-cetocolesterol por HPLC, em fase normal, com coluna µ-Porasil e detector de fotodiodos.

Palavras-chave: Camarão, lípidos, ácidos graxos, colesterol, 7-cetocolesterol, pescado

SUMMARY. Characterization of the lipid portion of pink shrimp commercial samples. The objective of this study was to describe the fresh cooled pink-shrimp (*Penaeus brasiliensis* and *Penaeus paulensis*) lipid. The total lipid content was $1,13 \pm 0,09$ g/100g while fatty acid profile showed 32,9% saturated, 20,4% monounsaturated and 40,5% polyunsaturated. Eighteen fatty acids were detected, seven saturated (14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0), four monounsaturated (16:1w7, 17:1w9, 18:1w9, 20:1w9) and seven polyunsaturated (18:2w6, 18:3w3, 20:2w6, 20:4w6, 20:5w3, 22:5w3, 22:6w3). The free cholesterol content was 92 to 136 mg/100g with average of 118mg/100g. In same time, was observed the occurrence of free 7-ketocholesterol, a product of cholesterol oxidation, in levels of 0,185 to 0,366 µg/g. The fatty acid profile was obtained by gas chromatography with a fused silica column Supelcowax 10. The cholesterol and 7-ketocholesterol was determined by high performance liquid chromatography using a µ-Porasil column, normal phase, and a diode array detector.

Keywords: Shrimp, lipid, fatty acid, cholesterol, 7-ketocholesterol, fish.

INTRODUÇÃO

A produção de camarão no Brasil vem crescendo a cada ano. A pesca extrativa atingiu, em 1997, a marca de 61 mil toneladas que, somadas às 7200 oriundas da carcinicultura, chega a quase 70 mil toneladas. A produção de camarão cultivado é uma atividade relativamente recente no Brasil, mas em franco crescimento. O estímulo neste setor reflete uma tendência crescente na população, que tem aumentado o consumo de pescado em busca de uma alimentação mais balanceada e saudável. Os produtos marinhos além de possuírem proteínas com elevado valor biológico, se constituem na maior fonte de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa da série ω_3 , os quais têm sido extensivamente estudados graças a seu envolvimento na prevenção de doenças cardiovasculares, hipertensão, arritmias, desordens autoimunes e câncer (1). Ao se preconizar dietas com altas concentrações de ácidos graxos ω_3 tem-se motivado o consumo de produtos marinhos.

De acordo com o National Fisheries Institute (2), nos últimos 20 anos o consumo per capita de camarão cresceu

66%; em 1996 foi de 1,13kg/pessoa/ano nos Estados Unidos. No Brasil, o consumo deste crustáceo é maior nas regiões litorâneas, tendo sido neste mesmo ano de 0,78 kg/pessoa/ano na região metropolitana de Belém, menor que a média americana, porém com grandes perspectivas de elevação (3).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a fração lipídica de amostras comerciais refrigeradas de camarão-rosa através do teor lipídico, composição de ácidos graxos, da concentração de colesterol livre e da ocorrência de 7-cetocolesterol livre.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizadas indistintamente as espécies *Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*, comercializadas com o nome genérico de camarão-rosa. Dez lotes (300g cada) foram adquiridos no comércio local (São Paulo - SP), oriundos de diferentes procedências, classificados como camarão-rosa médio, com tamanhos de 13-15 cm de comprimento e peso variando entre 30 e 33g. A remoção do exoesqueleto,

cefalotórax e intestino foi realizada no laboratório seguida da trituração das amostras em homogeneizador.

O colest-5-ene-3 β -ol (colesterol - C8667) e o 3 β -hidroxicolest-5-ene-7-one (7-cetocolesterol - C2394) foram adquiridos da Sigma Chemical Co. O hexano (Aldrich - 110-54-3) e o isopropanol (EM Science - PX1838-1) usados tinham grau HPLC e os demais reagentes grau ACS.

Métodos

A determinação de umidade foi realizada segundo a AOAC (4) e o extrato lipídico total obtido de acordo com Bligh & Dyer (5).

Para a determinação da composição de ácidos graxos foi utilizado um cromatógrafo a gás Hewlett-Packard modelo HP 6890, equipado com detetor de ionização de chama, coluna capilar de sílica fundida (Supelcowax 10), com 30m de comprimento e 0,25mm de diâmetro interno, nas seguintes condições cromatográficas: coluna isotérmica à temperatura de 230°C, vaporizador e detetor à temperatura de 250°C, utilizando hélio como gás de arraste, com fluxo de 1ml/min. A identificação foi realizada pela comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos das amostras com os dos padrões correspondentes, e os resultados calculados em percentagem de área. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram preparados utilizando o método de Hartman & Lago (6).

Para a dosagem de colesterol e 7-cetocolesterol livres foi utilizado um sistema de HPLC Shimadzu, modelo SCL-10A_{vp}, equipado com detetor de fotodiodos SPD-M10A_{vp}, sistema de bombas LC-10AD_{vp} e injetor automático de amostras SIL-10AD_{vp}. Foi empregado o método de Csallany et al. (7), utilizando uma coluna de sílica, μ -Porasil 30 x 0,39 cm (Waters Associates), diâmetro de poro de 10 μ m, em fase normal. A identificação dos picos de colesterol (206nm) e 7-cetocolesterol (233nm) se deu pela comparação dos tempos de retenção da amostra em relação aos padrões correspondentes, e a quantificação por padronização externa pela medida da área do pico. A curva-padrão do 7-cetocolesterol foi construída de 0,1 a 0,5 μ g e a do colesterol de 10 a 50 μ g ($r^2=0,999$). O limite de detecção foi de 1×10^{-9} g (8) e o teste de recuperação para o colesterol e 7-cetocolesterol de 99,9% e 93,5%, respectivamente.

RESULTADOS

Os níveis de umidade encontrados nos diferentes lotes de camarão-rosa variaram de 75,6 a 81,5 g/100g, sendo em média 78g/100g, enquanto o teor lipídico médio foi de $1,13 \pm 0,09$ g/100g.

O perfil de ácidos graxos revelou a presença de 33% de saturados, 20% de monoinsaturados e 41% de polinsaturados. Foram identificados 18 ácidos graxos, sendo 7 saturados, 4 monoinsaturados e 7 polinsaturados (Tabela 1).

TABELA 1

Ácidos graxos (% por área) de *Penaeus brasiliensis* + *Penaeus paulensis*, *Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*

Ácidos Graxos (%)	<i>P. brasiliensis</i> + <i>P. paulensis</i> (a)	<i>P. brasiliensis</i> (b)	<i>P. paulensis</i> (c)
14:0 Mirístico	1,6 \pm 0,2	1,6 \pm 0,3	1,5
15:0 Pentadecanóico	1,0 \pm 0,03	1,0 \pm 0,1	0,6
16:0 Palmítico	18,2 \pm 1,6	14,9 \pm 0,5	16,3
17:0 Margárico	2,1 \pm 0,1	1,9 \pm 0,2	1,8
18:0 Estearíco	10,1 \pm 0,4	8,6 \pm 0,8	14,5
20:0 Araquídico	-	0,2 \pm 0,0	-
22:0 Beênico	-	0,3 \pm 0,1	-
Saturados	32,9	30,2	34,7
16:1 ω 7 Palmitoléico	6,6 \pm 0,4	6,3 \pm 0,7	3,4
17:1 ω 9 Heptadecenóico	1,0 \pm 0,2	1,0 \pm 0,1	-
18:1 ω 9 Oléico	12,2 \pm 0,1	7,9 \pm 0,8	11,0
18:1 ω 7 Vacênico	-	3,6 \pm 0,2	-
20:1 ω 9 Eicosanóico	0,5 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	1,6
Monoinsaturados	20,4	22,6	16,0
18:2 ω 6 Linoléico	2,5 \pm 0,4	1,5 \pm 0,1	1,1
18:3 ω 3 Linolênico	0,4 \pm 0,03	0,5 \pm 0,0	-
20:2 ω 6 Eicosadienóico	0,7 \pm 0,02	-	-
20:4 ω 6 Araquidônico	6,7 \pm 0,8	5,2 \pm 0,2	-
20:5 ω 3 Eicosapentanóico	17,8 \pm 0,7	18,7 \pm 2,3	17,9
22:5 ω 3 Docasapentaenóico	1,7 \pm 0,3	1,4 \pm 0,2	2,5
22:6 ω 3 Docosaexaenóico	10,7 \pm 0,8	13,3 \pm 0,6	11,2
Polinsaturados	40,5	45,0	42,7

(a) Resultados do presente trabalho; (b) Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12); (c) Takada et al. (13).

A concentração de colesterol livre variou de 92 a 136 mg/100g, com valor médio de $118 \pm 15,3$ mg/100g. Foi constatada a ocorrência de 7-cetocolesterol livre em concentrações que variaram entre 0,185 e 0,366 μ g/g, com valor médio de 0,230 μ g/g. Com exceção de duas amostras, que apresentaram concentrações mais elevadas (>0,300 μ g/g), os demais mostraram valores bastante semelhantes, em torno de 0,197 μ g/g (Tabela 2).

TABELA 2

Colesterol e 7-cetocolesterol livres em camarão-rosa (n=10 lotes)

Concentração	Colesterol mg/100g	7-Cetocolesterol μ g/g
Mínima	92,1	0,185
Máxima	135,9	0,366
Média	118	0,230
Desvio-padrão	15,3	0,100
Coefficiente de variação (%)	13	31

DISCUSSÃO

Teor lipídico

O camarão-rosa (*P. brasiliensis* e *P. paulensis*) demonstrou um baixo conteúdo lipídico em estreita concordância com outras espécies de camarão estudadas, relatadas na literatura. Johnston *et al.* (9) encontraram uma concentração de 1,2g/100g em *Penaeus aztecus*; King *et al.* (10), 1,3g/100g em *Pandalus borealis* e *Pandalus jordani*; e, Krzynowek & Panunzio (11), de 0,8 a 1,1g/100g em 5 espécies diferentes: *P. durarum notialis*, *P. vannanei*, *P. aztecus aztecus*, *P. durarum durarum*, *P. aztecus subtilis*. Em relação ao camarão-rosa *Penaeus brasiliensis*, Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12) relataram concentrações entre 0,9 e 1,1g/100g.

No entanto, os resultados do presente trabalho se mostraram inferiores aos obtidos por Takada *et al.* (13), provavelmente motivados por fatores bioecológicos. A análise de 18 espécies indicaram teores lipídicos entre 1,1 e 4,2 g/100g. Dentre as espécies estudadas, o *P. paulensis* apresentou uma concentração de 3,4g/100g e o *P. brasiliensis* 4,2g/100g.

Composição de ácidos graxos

O camarão apresenta uma menor proporção de ácidos graxos polinsaturados em relação a outros crustáceos, como o caranguejo, e alguns moluscos, como o mexilhão, ostra, marisco e lula. As quantidades de ácido eicosapentanoico - EPA e ácido docosaexaenóico - DHA variam muito entre estas espécies, sendo que os crustáceos apresentam maior concentração de EPA, enquanto os moluscos maiores níveis de DHA (10).

EPA (20:5w3) e o DHA (22:6w3) corresponderam a 28,5% do total dos ácidos graxos, ou a 70% dos ácidos graxos polinsaturados (Tabela 1). Evidentemente, sendo baixa a concentração lipídica do camarão-rosa, o aporte de EPA e DHA, por conseqüência, também é baixo.

Nos estudos disponíveis na literatura consultada, em que a composição dos ácidos graxos de camarão foi determinada, é difícil comparar os valores obtidos individualmente, uma vez que não são quantificados o mesmo número de ácidos graxos em todos os trabalhos. Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12) quantificaram 87 ácidos graxos e Takada *et al.* (13) apenas 13, em *Penaeus brasiliensis*. Krzeczowski (14) e King *et al.* (10) quantificaram 29 e 27 ácidos graxos, respectivamente na espécie *P. borealis*.

A literatura revela variações individuais na proporção dos ácidos graxos de camarão, até mesmo dentro de uma mesma espécie (10,12-14). Na Tabela 1 foram comparados os resultados do *Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*, obtidos no presente trabalho, com os correspondentes ao *P. brasiliensis* estudado por Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12) e ao *P. paulensis* analisado por Takada *et al.* (13). Apesar das diferenças entre os estudos, seja na quantidade ou na

proporção de ácidos graxos, alguns deles se mostraram predominantes: C16:0, C18:0, C16:1w7, C18:1w7, C18:1w9, C20:4w6, C20:5w3 (EPA) e o C22:6w3 (DHA). Em nosso trabalho e no de Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12), a soma destes ácidos graxos perfizeram 82 e 79% do total, respectivamente.

Concentração de colesterol

O colesterol é encontrado no organismo animal e nos alimentos nas formas livre e esterificada. Para sua quantificação total em alimentos, torna-se necessária a conversão do colesterol éster em colesterol livre, sendo a saponificação o método mais freqüentemente utilizado neste sentido. Em nosso estudo, a metodologia empregada é específica para a dosagem de colesterol livre, uma vez que suprime a etapa de saponificação.

O extrato lipídico do camarão é composto em sua maior parte por fosfolípidos, 62,1%, seguido pelos lípidos neutros, 36%, e glicolípidos, 1,9% (9). Dentre os esteróis, componentes da fração lipídica neutra, o colesterol é o mais proeminente, correspondendo a valores entre 94% e 99% do total (11,15).

A concentração média de colesterol livre observada (Tabela 2) foi similar à correspondente ao colesterol total obtida por Takada *et al.* (13), 121 mg/100g, e por Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12), 127 mg/100g, ambas referentes ao *Penaeus brasiliensis*. O valor médio de colesterol livre observado para *Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis* foi superior ao colesterol total médio encontrado por Krishnamorthy *et al.* (16), em *Penaeus setiferus*, 96 mg/100g. No entanto, foi inferior aos relatados por Krzynowek & Panunzio (11), nas espécies descritas anteriormente, 152 mg/100g; por Kritchevsky *et al.* (17), para uma espécie não identificada, 200mg/100g, e por King *et al.* (10), 147 mg/100g, para os camarões *Pandalus borealis* e *P. jordani*.

A variabilidade observada nos diversos estudos em relação ao colesterol total, tem sido atribuída à espécie de camarão analisada, às variações sazonais, tipo de alimentação, local de origem e também, às diferentes metodologias utilizadas na quantificação (12,15,17,18).

Os métodos colorimétricos são muito criticados devido à sua inespecificidade. Nos estudos de Krishnamorthy *et al.*, (16) e Kritchevsky *et al.*, (17) foi utilizado um método colorimétrico, Krzynowek & Panunzio (11) empregaram a cromatografia gasosa e Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (12) a cromatografia líquida (HPLC).

A concentração de colesterol livre em camarão-rosa também foi estabelecida em função de seu teor lipídico. Os resultados foram expressos em percentagem e o colesterol variou de 7,7% a 11,9% de todo o conteúdo lipídico. Esta parcela é bastante expressiva, principalmente quando comparada aos demais músculos, como no frango, onde o

colesterol total oscila entre 1% e 4% em relação ao total de lípidos, dependendo do músculo, chegando ao valor máximo de 6,4% (19, 20).

Ocorrência de 7-cetocolesterol

Os dados existentes na literatura referentes aos músculos frescos demonstram que originalmente não deveriam conter óxidos de colesterol (21). Mas, nem sempre é isso que se observa. Os poucos estudos que quantificaram óxidos de colesterol em produtos frescos, apresentaram resultados bastante variáveis.

Enquanto Zubillaga & Maerker (22) observaram concentrações de 7-cetocolesterol total de 0,22 µg/g em carne de vitela, 0,06 µg/g em carne suína, e 0,83µg/g em carne bovina, Pie *et al.*, (23) relataram para estes mesmos produtos, concentrações de 0,71, 0,92 e 1,12µg/g, respectivamente, ou seja, 3, 15 e 1,3 vezes maiores. Csallany *et al.*, (7) só observaram a formação de 7-cetocolesterol livre em carne suína, depois de estocada por 10 dias sob refrigeração. Park & Addis (24) não detectaram óxido de colesterol em cérebro, fígado e carne bovina, o mesmo ocorrendo na sardinha e na lula estudadas por Osada *et al.*, (25). Por outro lado, Shozen *et al.*, (26) encontraram níveis de 7-cetocolesterol total de 9,8 e 7,9 µg/g, em base seca, para o bacalhau e a lula, respectivamente. Estes valores, calculados para o músculo contendo 80% de umidade, seriam de 1,96 e 1,58µg de 7-cetocolesterol total/g, respectivamente.

Rodriguez-Estrada *et al.*, (27) utilizaram o 7-cetocolesterol como indicador da oxidação do colesterol em hambúrguer e verificaram que a amostra fresca apresentava nível bastante elevado deste óxido, 25,2 µg/g de lípide. Os autores associaram este fato ao tempo e às condições de estocagem da carne no supermercado, onde a exposição à luz e ao oxigênio e a ampla superfície de contato da carne moída, poderiam ser os fatores responsáveis pela oxidação.

A presença de 7-cetocolesterol em camarão-rosa e também em hambúrguer no estudo de Rodriguez-Estrada *et al.*, (27) na verdade, estaria indicando a possível ocorrência de outros óxidos, também produzidos na oxidação do colesterol. Desta forma, a quantidade total de produtos da oxidação do colesterol, pode ser ainda maior. Além do 7-cetocolesterol, o 7 α e 7 β - hidroxicoolesterol, 5 α e 5 β - epóxicoolesterol e o 25-hidroxicoolesterol são os óxidos mais frequentemente encontrados em alimentos.

Na literatura consultada não foi relatado nenhum estudo envolvendo a dosagem de óxidos de colesterol em camarão fresco. Dois trabalhos analisaram óxidos de colesterol em camarão processado; Ohshima *et al.*, (28) encontraram 4,0 µg/g de 7-cetocolesterol total (matéria seca) na espécie *Sergestes lucens* cozida e desidratada, e Lee *et al.*, (29) 16,57µg/g de lípidos em camarão desidratado (espécie não identificada), comercializado na Korea. Este último, mesmo

em se tratando de um produto processado, apresentou concentrações de 7-cetocolesterol inferiores às observadas no presente estudo em camarão fresco; 20,6 µg/g de lípide.

CONCLUSÕES

A análise da fração lipídica do camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* e *Penaeus paulensis*) demonstrou uma elevada concentração de colesterol e baixa quantidade de lípidos com predominância de ácidos graxos insaturados, principalmente os polinsaturados EPA e DHA. A análise lipídica revelou ainda a presença de 7-cetocolesterol, um produto da oxidação do colesterol, indicativo da ocorrência de processos oxidativos no produto comercialmente fresco.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FAPESP, pelo suporte financeiro, e à CAPES pela bolsa de estudo concedida à autora. Agradecemos ainda ao Professor Motonaga Iwai pela caracterização zoológica das espécies de camarão-rosa.

REFERÊNCIAS

1. Candela M, Astiasaran I, Bello J. Effects of frying and warmholding on fatty acids and cholesterol of sole (*Solea solea*), codfish (*Gadus morrhua*) and hake (*Merluccius merluccius*). *Food Chem.* 1997;58(3):227-1.
2. National Fisheries Institute. The Shrimp council. [on line]. Available: <http://www.nfi.org/Shrimp%20Council/SRO80797.htm>[20/08/1998].
3. Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares. [on line]. Available: <http://www.sidra.ibge.gov.br/cgi-bin/prtbl> [29/01/2000].
4. Association Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC: AOAC, 1995.
5. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959;37(8):911-7.
6. Hartman L, Lago RCA. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. *Lab Pract.* 1973;22:475-6.
7. Csallany AS, Kindom SE, Addis PB, Lee J. HPLC method for quantitation of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. *Lipids* 1989;24(7):645-1.
8. Long GL, Winefordner JD. Limit of detection: A closer look at the IUPAC definition. *Anal Chem.* 1983;55(7):712A-24A.
9. Johnston JJ, Ghanbari HA, Wheeler WB, Kirk JR. Characterization of shrimp lipids. *J Food Sci.* 1983;48:33-5.
10. King I, Childs M, Dorset C, Ostrander JG, Monsen ER. Shellfish: proximate composition, minerals, fatty acids and sterols. *J Am Diet Assoc.* 1990;90(5):677-85.
11. Krzynowek J, Panunzio LJ. Cholesterol and fatty acids in several species of shrimp. *J Food Sci.* 1989;54(2):237-239.
12. Bragagnolo N, Rodriguez-Amaya DB. Otimização da determinação de colesterol por CLAE e teores de colesterol, lípidos totais e ácidos graxos em camarão rosa (*Penaeus*

- brasiliensis*). Ciênc Tecnol Aliment. 1997;17(3):275-80.
13. Takada K, Takako A, Kunisaki N. Proximate composition, free amino acid, fatty acid, mineral and cholesterol contents in imported frozen shrimps. Nippon Suisan Gakkaishi 1988;54(12):2173-9.
 14. Krzeczowski RA. Fatty acids in raw and processed alaska pink shrimp. J Am Oil Chem Soc. 1970;47:451-2
 15. Gordon DT. Sterols in mollusks and crustacea of the Pacific Northwest. J Am Oil Chem. Soc. 1982;59(2):536-5.
 16. Krishnamoorthy RV, Venkataramiah G, Lakshmi GJ, Biesiot P. Effects of cooking and of frozen storage on the cholesterol content of selected shellfish. J Food Sci. 1979;44(1):314-5.
 17. Kritchevsky D, Tepper SA, Ditullo NW, Holmes W. The sterols in seafoods. J. Food Sci. 1967;32:64-6.
 18. Krzynowek J. Sterols and fatty acids in seafood. Food Technol. 1985:61-68.
 19. Marion JE, Woodroof JG. Lipid fractions of chicken broiler tissues and their fatty acid composition. J Food Sci.
 20. Pikul J, Leszczynski DE, Kummerow FA. Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. J Agric Food Chem. 1983;31:1338-2.
 21. Paniangvait P, King AJ, Jones AD, German BG. Cholesterol oxides in foods of animal origin. A critical review. J Food Sci. 1995;60(6):1159-74.
 22. Zubillaga MP, Maerker G. Quantification of three cholesterol oxidation products in raw meat and chicken. J Food Sci. 1991;56(5):1194-7.
 23. Pie J E, Spahis K, Seillan C. Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. J Agric. Food Chem. 1991;39:250-4.
 24. Park S, Addis PB. HPLC determination of C-7 oxidized cholesterol derivatives in foods. J Food Sci. 1985;50:1437-1.
 25. Osada K, Kodama T, Cui L, Yamada K, Sugano M. Levels and formation of oxidized cholesterols in processed marine foods. J Agric Food Chem. 1993b;41:1893-8.
 26. Shozen K, Ohshima T, Ushio H, Koizumi C. Formation of cholesterol oxides in marine fish products induced by grilling. Fisheries Sci. 1995;61(5):817-1.
 27. Rodriguez-Estrada MT, Penazzi G, Caboni MF, Bertacco G, Lercker G. Effect of different cooking methods on some lipid and protein components of hamburgers. Meat Sci. 1997;45(3):365-5.
 28. Ohshima T, Li N, Koizumi C. Oxidative decomposition of cholesterol in fish products. J Am Oil Chem. Soc. 1993;70(6):595-9.
 29. Lee M, Su N, Yang M, Wang M, Choong Y. A rapid method for direct determination of free cholesterol in lipids. J Chin Agric Chem Soc. 1998;36(2):123-3.

Recibido: 06-04-2001

Aceptado: 19-02-2002