

Determinação de Colesterol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Espectrometria de Massas Triplo Quadrupolo

Marcus Vinicius B. Sousa^{1*} (TC), Tânia M. Monteiro¹ (PQ), Raquel D. C. C. Bandeira¹ (PQ), Janaina M. R. Caixeiro¹ (PQ), Vanderléa de Souza¹ (PQ) mvsousa @inmetro.gov.br

1 - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - Inmetro
Av. Nossa Senhora das Graças 50 - Prédio 4 - Xerém - Duque de Caxias - RJ - Brasil - CEP 25250-020

Palavras Chave: Colesterol, APCI, CLAE – EM/EM.

Introdução

O colesterol é uma substância essencial à célula animal e fluido corporal, sintetizado principalmente pelo fígado e córtex da supra renal, cujo excesso contribui para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma das principais causas de morte entre homens e mulheres no mundo. O aumento desta substância no organismo humano está diretamente relacionado aos hábitos alimentares, sedentarismo e metabolismo do indivíduo. A quantificação deste analito requer um alto nível de exatidão, sendo necessário para isto a validação do método analítico e a rastreabilidade ao mol através de materiais de referência certificados (MRC's). Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia analítica para a determinação do colesterol através da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas triplo quadrupolo (CLAE-EM/EM), a fim de fornecer confiabilidade e rastreabilidade nas medições de colesterol no Brasil.

Resultados e Discussão

No desenvolvimento da metodologia analítica, inicialmente, otimizou-se as condições de ionização do colesterol, empregando a técnica de ionização química a pressão atmosférica (APCI), devido a baixa polaridade da molécula. A ionização do colesterol foi realizada no modo positivo onde a molécula é protonada $(M+1)^+$ ocorrendo a liberação de uma molécula de água, gerando o íon m/z 369,7, que após fragmentação leva a formação do íon m/z 161,0 (Figura 1). Em seguida, foram ajustadas as condições cromatográficas para a análise do colesterol em solução empregando os modos isocrático e *fastgradient*. De acordo com os cromatogramas obtidos observou-se que o *fastgradient* apresentou uma melhor resolução no menor tempo de análise. Após as otimizações, foi preparada uma curva de calibração na faixa de concentração de 1000 a 4000 $\mu\text{g/g}$, a fim de determinar a linearidade do método obtendo-se um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,99523, acima do valor de referência (0,90) estabelecido pelo documento do Inmetro-DOQ-CGRE 008 (Figura 2).

O limite de detecção do método foi de 0,333 $\mu\text{g/g}$ (razão S/R > 3).

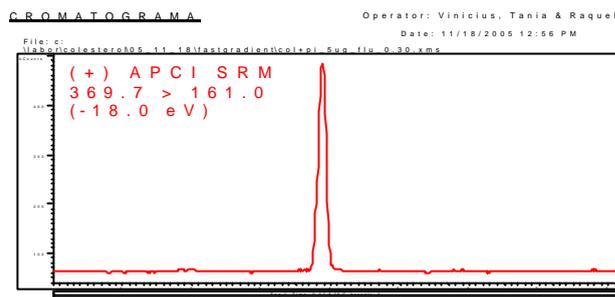
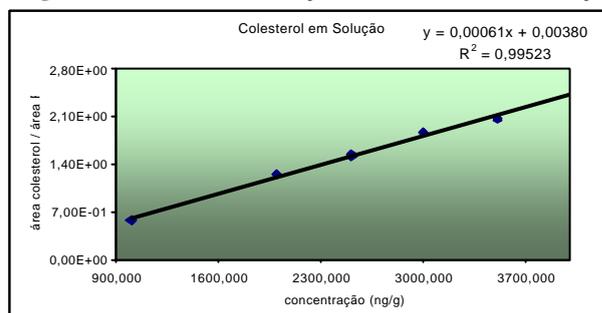


Figura 1. Cromatograma do colesterol em solução na concentração de 2500 $\mu\text{g/g}$. Íon 369,7 > 161,0. Condições de análise: Coluna C-8 Polaris (50x2,0)mm 3 μ , fase móvel MeOH:H₂O - AF. 0,05%, *fastgradient*, fluxo 0,3ml/min.

Figura 2. Curva de calibração do colesterol em solução



(1000-4000 $\mu\text{g/g}$).

Conclusões

O presente trabalho possibilitou o desenvolvimento de uma metodologia analítica para a análise de colesterol empregando a técnica de CLAE - APCI - EM/EM. Este método será empregado para a quantificação deste analito em matrizes como soro humano e carne animal, utilizando a diluição isotópica por espectrometria de massas, em pesquisas futuras na Divisão de Metrologia Química (DQUIM) do Inmetro, com o intuito de disseminar a cultura metrológica no País.

Agradecimentos

Ao apoio financeiro concedido pelo CNPq e pela Finep.

¹ DOQ-CGRE-008, Revisão: 01 – outubro de 2006.

² Takatsu, A.; Nishi, S. Anal. Chem. **1988**, 60, 2237.