

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**Determinação Espectrofotométrica de Misturas de  
Corantes em Preparados Sólidos de Refrescos**

**Rossana Macedo Muniz**

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE ALIMENTOS**

**DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE MISTURAS DE  
CORANTES EM PREPARADOS SÓLIDOS EM REFRESCOS**

**ROSSANA MACEDO MUNIZ**

*Sob a orientação do professor*

**Dr. Sc. André von Randow Assis**

*E Co-Orientação da Professora*

**Dra. Sc. Natilene Mesquita Brito**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos

Seropédica, RJ  
Agosto de 2012

664.062

M966d

T

Muniz, Rossana Macedo, 1967-

Determinação espectrofotométrica de misturas de corantes em preparados sólidos em refrescos / Rossana Macedo Muniz – 2012.

59 f. : il.

Orientador: André von Randow Assis.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Bibliografia: f. 43-48.

1. Corantes em alimentos – Teses. 2. Suco de frutas - Indústria – Teses. 3. Corantes – Análise – Teses. 4. Espectrofotometria – Teses. I. Assis, André von Randow, 1976-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

ROSSANA MACEDO MUNIZ

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 10/09/2012.



---

**Prof. Dr. André von Randow Assis**  
Orientador



---

**Prof. Dra., Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa**  
Membro



---

**Dr. Cleber Bomfim Barreto Junior**  
Membro

Agradeço em especial, aos meus queridos e amados pais Lourival Muniz (*in memorian*) e Neuza Editha de Macedo Muniz.

A minha irmã Regina Muniz, por ser luz na minha vida e trazer paz e ânimo para os meus caminhos, com amor, dedico.

## AGRADECIMENTOS

Esse trabalho só foi possível graças a colaboração direta ou indireta de várias pessoas. Manifestamos nossa gratidão a todas elas, e de forma particular:

A Deus, por estar presente em todos os momentos e pela força poderosa de sua presença.

A Santíssima Trindade, por ser força e presença amiga, presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais Lourival Muniz (in memoriam) e Neusa Editha de Macedo Muniz, meus maiores amigos, companheiros, força nos momentos difíceis, meu porto seguro em toda trajetória da minha vida.

Aos meus irmãos Marcos Antônio Muniz, Regina Muniz, Marcelino Pacelli Muniz, Rosângela Muniz, Rogéria Muniz, Rosália Muniz e Benedita Mendes, pela força, preocupação e ajuda em todos os momentos difíceis.

A minha irmã, Rogéria Muniz, por sua amizade constante em minha vida, transmitindo paz e tranquilidade.

Aos meus queridos sobrinhos, em especial a Martha Muniz, Thales Muniz, Israel Muniz, pela presença, força e alegria, otimizando as horas difíceis.

Aos meus filhos do coração, Cláudio Henrique Mendes Muniz e Ana Carolina Mendes Muniz, por serem meus maiores presentes nessa vida.

Aos meus cunhados, em especial Conceição Muniz lobato, Cláudio Mendes Sobrinho, Marcos Soares por sempre estarem prontos e disponíveis, em momentos tão difíceis dessa jornada.

A minha amiga Tânia Duarte, pela ajuda no meu projeto de mestrado, pela disponibilidade, estando presente em tantas noites mal dormidas, pela força, compreensão, pelo amor e paciência, em tantas horas de conflitos.

Aos meus colegas de mestrado, em especial, Ana Maria Fonseca, Júnior Brandão, Dêinise Lima Bonfim pela colaboração em tantos momentos nas disciplinas feitas neste mestrado.

A todos os colegas que conheci na UFRRJ, em especial, Camila Nascimento, Dílson Fagundes, Jair Melo, pelo carinho da receptividade, presença no laboratório e ajuda em alguns momentos.

Aos amigos, do mestrado da UFRRJ, Nídia Barros, pela amizade de tantos momentos juntos ao longo desses meses.

Ao meu amigo, Marcus Vinícius da Silva da UFRRJ, pelo amor e apoio recebido, durante os meses no Rio de Janeiro.

A todos os meus alunos do Instituto Federal de Educação e Tecnologia do Campus Buriticupu, pela compreensão e generosidade nas minhas ausências no campus.

Ao diretor e amigo do campus Buriticupu, Ronald Corrêa, por ter permitido a fazer esse mestrado.

Ao coordenador, Arlan Freitas pela força amiga, apoio, dedicação durante a trajetória deste mestrado.

Ao meu orientador, Doutor André von Randow de Assis, por ser força presente nessa caminhada de mestrado, pela paciência e incentivo durante a realização desse trabalho.

A minha coorientadora Dra. Natilene Mesquita Brito, que sempre esteve pronta para tirar as dúvidas e aliviar as angústias ao longo desta jornada.

Ao Doutor Cleber Bonfim Barreto da UFRJ, por participar dessa banca.

A professora e Doutora, Tatiana Saldanha, por participar dessa banca.

A toda a equipe da UFRRJ, por fazer essa parceria entre Instituto Federal de Educação,

Ciência e Tecnologia do Maranhão, fazendo esse Minter ser uma realidade.

Ao Instituto federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, por entender a importância desse Minter, proporcionando essa parceria.

A Capes, pela concessão das bolsas a todos os alunos do Minter.

## RESUMO

MUNIZ, Rossana Macedo. **Determinação Espectrofotométrica de Misturas de Corantes em Preparados Sólidos de Refrescos.** 2012. 59p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2012.

A indústria de alimentos vem utilizando com bastante amplitude aditivos em seus produtos, entre esses pode-se destacar os corantes com a finalidade de conferir, restaurar ou intensificar a cor dos alimentos. Por outro lado, o uso incorreto desses produtos pode ter efeito tóxico, trazendo prejuízos à saúde do consumidor. Dessa forma, torna-se necessário alertar os consumidores para o uso consciente desses produtos, além de constante fiscalização para verificar se o produto utilizado está dentro das normas vigentes. Existem métodos eficientes e rápidos para a detecção, identificação e quantificação desses aditivos. Um desses métodos é a espectrofotometria que apresenta uma nova forma, mais barata e de alta qualidade em termos de eficiência. O presente trabalho tem como objetivo quantificar uma mistura de corantes através da metodologia derivativa e compará-la com a metodologia de análise de mistura de cromóforos. Foram realizadas as seguintes análises: Determinação do espectro de absorção, determinação da absorvidade específica, determinação da mistura de cromóforos pelo método clássico; determinação da curva de calibração através do método derivativo; determinação de Amarelo Tartrazina (AT) e Amarelo Crepúsculo (AC) em preparados sólidos pelo método clássico e derivativo. Os resultados mostraram que os comprimentos de onda de máxima de absorção dos corantes AT e AC foram de 407nm e 463nm. A recuperação média de corante AT foi de 98,6%, enquanto que o corante AC foi de 99,2%, sendo satisfatório, a técnica derivada pelo método mostrou boa consistência nos resultados, as concentrações de corantes em preparações sólidas pelo método clássico e derivados, são consistentes com os recomendados pela legislação e rotulagem dos produtos também. Foram observados nos rótulos dos produtos só o corante AT e AC.

**Palavras-chave:** corantes artificiais, espectrofotometria, preparados sólidos, refrescos.



## ABSTRACT

MUNIZ, RossanaMacedo. **Spectrophotometric Determination of Mixtures of Dyes in Solid preparations of refreshments**. 2012. 59p. Dissertation (M.Sc. Food Science and Technology) Institute of Technology, Federal Rural University of Rio de Janeiro.Seropédica, RJ, 2012.

The food industry has been using with great breadth additives in their products, among these we can highlight the dyes in order to provide, restore or enhance the color of food. On the other hand, the misuse of these products can have toxic effects, causing losses to consumer health. Thus, it is necessary to alert consumers to the conscious use of these products, and constant monitoring to check if the product is within the standards. There are fast and efficient methods for the detection, identification and quantification of these additives. One such method is spectrophotometry which presents a new, cheaper and high quality in terms of efficiency. The present work aims to quantify a mixture of dyes through the derivative method and compare it with the methodology of mixture analysis of chromophores. The following tests were carried out: Determination of the absorption spectrum, determining the specific absorptivity, determined by the mixture of chromophores classic method, determination of the curve using the method Yellow; concentrations of dyes in solid preparations, the calibration methods consistency and classical derivative, meet with some values above those recommended by the legislation.and Tartrazine Yellow Twilight solids prepared by classical methods determinin derivative the concentration of a mixture of chromophores and determining the method of derivative; g and derivative. The results show that the absorption spectra of the tartrazine yellow dye and Twilight correspond to maximum intensity of absorption; the calibration curves (R<sup>2</sup>), the dyes for the TA and CA wavelengths 407nm and 463nm. The average recovery of AT dye was 98.6%, whereas the dye BC was 99.2%, being satisfactory, the technique derived by the method showed good consistency in the results, the concentrations of dyes in solid preparations by the classical method and derivatives, are consistent with those recommended by the legislation and labeling of products as well. Were observed on product labels only the dye AT and AC.

**Key-words:** artificial colors, spectroscopy, solid preparations, soft drinks.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Provável porção cancerígena dos corantes azóicos.....	4
Figura 2	Classificação dos corantes para uso em alimentos.....	5
Figura 3	Estruturas químicas dos corantes pertencentes à classe Azo.....	6
Figura 4	Estruturas químicas dos corantes pertencentes à classe trifenilmetanos.....	7
Figura 5	Estrutura química do corante índigo carmim, pertencente à classe do corante indigóide.	7
Figura 6	Estrutura química do corante eritrosina, pertencente à classe dos corantes xantenos.....	8
Figura 7	Radiação absorvente e a cor complementar.....	16
Figura 8	Os intervalos de comprimentos de onda ( $\lambda$ ), radiações absorvidas e cores complementares.....	16
Figura 9	Potência da radiação emergente ( $P_0$ ) e transmitida (P) após passar por uma cubeta contendo uma solução absorvente	17
Figura 10	Espectro de absorção UV-VIS do corante orgânico-sintético vermelho nº 40...	18
Figura 11	Espectro de absorção .....	20
Figura 12	Espectro de absorção do corante amarelo tartrazina.....	27
Figura 13	Espectro de absorção do corante amarelo crepúsculo.. ..	28
Figura 14	Curva de calibração do corante amarelo tartrazina a 407 nm.....	28
Figura 15	Curva de calibração do corante Amarelo Tartrazina a 463 nm.....	29
Figura 16	Curva de calibração do corante amarelo crepúsculo a 463 nm.....	
Figura 17	Curva de calibração do corante amarelo crepúsculo a 407 nm.....	27
Figura 18	Espectros de absorção do corante amarelo tartrazina em diferentes Concentração.....	34
Figura 19	Espectros de absorção do corante amarelo crepúsculo em diferentes concentração.....	35
Figura 20	Espectro da derivada de primeira ordem do corante amarelo crepúsculo em Diferentes concentrações.....	35
Figura 21	Espectro da derivada de primeira ordem do corante amarelo tartrazina em diferentes concentrações.....	36
Figura 22	Espectro da derivada de primeira ordem do corante amarelo crepúsculo em diferentes concentrações.....	37
Figura 23	Curva de calibração do corante amarelo crepúsculo. ....	37
Figura 24	Curva de calibração do corante amarelo tartrazina.....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Corantes artificiais.....	11
Tabela 2	Diluições do corante Amarelo Tartazina utilizado.....	23
Tabela 3	Diluições do corante Amarelo Crepúsculo.....	23
Tabela 4	Soluções de mistura dos corantes.....	24
Tabela 5	Absortividades específicas do corante Amarelo Tartrazina.....	29
Tabela 6	Absortividades específicas do corante Amarelo Crepúsculo.....	30
Tabela 7	Percentual de recuperação da mistura de corantes.....	34
Tabela 8	Percentual de recuperação da mistura de corantes.....	39
Tabela 9	Concentração de corantes nas amostras de preparados sólidos.....	40

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Geral</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1.3</b>	<b>Específicos</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1</b>	<b>Corantes Artificiais</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2</b>	<b>Classificação dos corantes utilizados na indústria alimentícia</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Corantes azo</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Corante trifenilmetanos</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Corantes indigóides</b> .....	<b>7</b>
<b>2.2.4</b>	<b>Corantes xantenos</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3</b>	<b>Legislação</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Segurança alimentar</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Rotulagem</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3.2.1</b>	<b>Lote</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3.2.2</b>	<b>Rotulagem Nutricional</b> .....	<b>11</b>
<b>2.4</b>	<b>Preparados sólidos para refresco</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Classificação</b> .....	<b>13</b>
<b>2.5</b>	<b>Características dos corantes alimentícios: Amarelo Tartrazina e Amarelo</b>	<b>13</b>
<b>2.5.1</b>	<b>Amarelo Tartrazina</b> .....	<b>14</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Amarelo crepúsculo</b> .....	<b>14</b>
<b>2.6</b>	<b>Método de análise para corantes artificiais</b> .....	<b>15</b>
<b>2.6.1</b>	<b>Cromatografia em camada delgada</b> .....	<b>15</b>
<b>2.6.2</b>	<b>Método por espectrofotometria</b> .....	<b>16</b>
<b>2.6.2.1</b>	<b>Espectrometria UV-VIS</b> .....	<b>17</b>
<b>2.6.2.2</b>	<b>Lei de Lambert-Beer</b> .....	<b>18</b>
<b>2.6.2.3</b>	<b>Espectrofotometria derivativa</b> .....	
<b>2.6.2.4</b>	<b>Análise de mistura de cromóforos</b> .....	<b>18</b>
<b>2.7</b>	<b>Método por CLAE (Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência)</b> .....	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
<b>3.1</b>	<b>Matéria Prima</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Padrões de Corante Artificiais</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Determinação do Espectro de Absorção</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Amarelo tartrazina</b> .....	<b>22</b>

3.3.2	Amarelo crepúsculo.....	22
3.4	Determinação da Absortividade Específica.....	22
3.4.1	Amarelo tartrazina.....	22
3.4.2	Amarelo crepúsculo.....	23
3.5	Determinação da Mistura de Cromóforos pelo Método Clássico.....	23
3.6	Determinação da Curva de Calibração Através do Método Derivativo.....	23
3.7	Determinação da Concentração de uma Mistura de Cromóforos Pelo Método Derivativo.....	24
3.8	Determinação da concentração de Amarelo Tartrazina e Amarelo Crepúsculo em preparados sólidos.....	24
3.8.1	Método clássico.....	24
3.8.2	Método derivativo.....	25
3.9	Verificação da rotulagem.....	25
4	<b>RESULTADOS DE DISCUSSÃO.....</b>	27
4.1	Determinação do Espectro de Absorção.....	27
4.2	Determinação da Absortividade Específica.....	28
4.2.1	Amarelo tartrazina.....	28
4.2.2	Amarelo crepúsculo.....	29
4.3	Determinação da Mistura de Cromóforos pelo Método Clássico.....	31
4.4	Determinação da Curva de Calibração Através do Método Derivativo.....	34
4.5	Determinação da Concentração de uma Mistura de Cromóforos pelo Método Derivativo.....	38
4.6	Determinação da Concentração de Amarelo Tartrazina e Amarelo Crepúsculo em Preparados Sólidos.....	39
4.7	Verificação da rotulagem dos preparados sólidos para refresco à Legislação Vigente.....	41
4.8	Levantamento dos tipos dos corantes presentes nas amostras estudadas.....	41
5	<b>CONCLUSÕES.....</b>	42
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	43

# 1 INTRODUÇÃO

Os corantes são substâncias que levam para os alimentos cores novas ou melhoram as que já existem, com o propósito de renovar o seu aspecto. São utilizados normalmente em produtos industrializados lhes conferindo uma nova aparência, similar aos produtos naturais, tornando-os mais agradáveis aos consumidores. Como sabemos, a cor e a aparência são de extrema importância na aceitação dos produtos sendo fundamental na qualidade do produto.

Os corantes são assim classificados: **corante orgânico natural** – aquele obtido a partir de vegetal, ou eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com emprego de processo tecnológico adequado; **corante artificial** – é o corante orgânico sintético não encontrado em produtos naturais; **corante orgânico sintético** é o **corante** cuja estrutura química é semelhante à do princípio ativo isolado de corante orgânico natural; **corante inorgânico** – aquele obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação adequados a seu emprego em alimento.

A manutenção da cor natural do alimento é fundamental para a comercialização do produto. Muitos trabalhos enfatizam os riscos que os corantes podem causar à saúde, entretanto não pode-se esquecer que os aditivos são inofensivos à saúde desde que obedeçam os percentuais máximos estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e/ou pelo Códex alimentares onde é estabelecida para cada aditivo uma ingestão diária (IDA).

Todos os corantes já possuem valor definido pela IDA, aqueles que são permitidos pela legislação brasileira, mesmo sabendo que continuamente podem ser mudados, pois dependem dos resultados de estudos toxicológicos. O comitê conjunto FAO/OMS da JECFAC (“Joint Expert Committee ou FoodAdditives”) recomenda que cada país verifique o consumo total de cada aditivo, com base em estudos de dietas, para que a ingestão diária não ultrapasse a IDA.

Existe um controle do uso dos corantes sintéticos, que varia de acordo com a origem dos mesmos e precisam ser analisados com métodos de alta eficiência e rapidez em sua detecção, identificação e quantificação.

Diversos métodos analíticos podem ser empregados na análise de corantes, entretanto buscam-se métodos que apresentem alta sensibilidade, baixo custo e simplicidade operacional.

Com o uso do método espectrofotométrico em mistura de corantes torna-se possível determinar a concentração de cada corante, sem que seja preciso separá-los anteriormente, tornando o processo mais rápido, prático e com menos despesas. A espectrofotometria um método mais barato quando comparada com outras metodologias disponíveis como a cromatografia líquida de alta eficiência. Dessa forma pode-se fazer a determinação de misturas de corantes em alimentos e bebidas utilizando-se uma técnica barata e simples.

O método da espectrofotometria derivativa tem sido bastante satisfatório quando se trata da análise simultânea de mistura de componentes com dois ou mais cromóforos, apresentando resultados satisfatórios na mistura de corantes em alimentos.

A espectrofotometria derivativa é atualmente uma ferramenta analítica adicional que auxilia na resolução de diversos problemas analíticos mais sobrepostos e elimina “background” causado pela presença de outras espécies na amostra. Portanto, torna-se desnecessária uma etapa preliminar de separação das espécies, simplificando o procedimento analítico e aumentando a velocidade analítica (VIDOTTI et al., 2006).

Atualmente é necessário o desenvolvimento de novas técnicas analíticas que atendam ao controle de qualidade dos corantes e que possam responder não só a grande demanda de análises, mas também com rapidez e confiabilidade. Sendo assim, este trabalho surge justamente para demonstrar que o método espectrofotométrico por derivadas é uma alternativa eficiente na análise de corantes.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.2 Geral**

Quantificar uma mistura de corantes amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina em soluções, através da metodologia clássica de extração por espectrofotometria de análise de mistura de cromóforos derivativa e compará-la com a metodologia tradicional de análise de misturas de cromóforos.

### **1.1.3 Específicos**

- Obter o espectro de absorção dos corantes amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina e determinar seus máximos de absorção;
- Determinar as absorvidades específicas dos corantes amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina;
- Determinar a concentração dos corantes amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina em uma mistura de cromóforos, utilizando a metodologia derivativa e comparando com a metodologia clássica.
- Verificar a adequação da rotulagem nos preparados sólidos para refrescos à legislação vigente.
- Fazer um levantamento dos tipos de corantes presentes nas amostras estudadas.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Corantes artificiais

Os corantes artificiais são uma classe de aditivos sem valor nutritivo introduzido nos alimentos e bebidas, com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos (BRASIL,1997). Quando se trata do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais não são recomendados, só sendo justificado do ponto de vista comercial e tecnológico (RIEDEL, 1987). Com tudo isso, os corantes são usados grandemente nos alimentos e bebidas pelo seu grau de importância quando se fala da aceitação dos produtos, pois sabemos que apreciamos alimentos coloridos e atraentes, aumentando o prazer de quem consome (PRADO; GODOY, 2003).

De acordo com a Resolução da CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) N°. 44, de 1977, corante é a substância ou mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração do alimento (e bebida) (BRASIL, 1977).

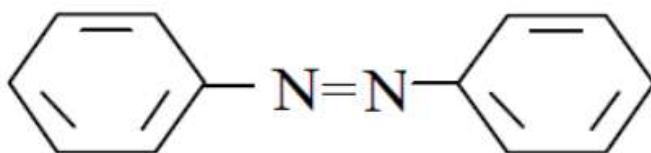
A cor pode interferir no sabor e embora esses efeitos sejam associações inerentes às características psicológicas, estando diretamente ligada a escolha dos produtos. Entretanto, a relação causa-efeito nos novos produtos formulados em alimentos e bebidas não pode ser deixada para um plano inferior ou mesmo ignorados, pois precisam atender as necessidades dos consumidores (CLYDESDALE, 1996).

Os corantes usados como aditivos alimentícios têm sido altamente explorados em alimentos tais como sucos, refrigerantes, gelatinas e balas; com isso aumentam os riscos toxicológicos e metabólicos desses produtos no organismo. Por essa razão, o controle de qualidade desses compostos é de fundamental importância (KAPOR et al., 2001).

Os corantes artificiais pertencem a classes de aditivos alimentares e têm sido objeto de muitas críticas, já que seu uso em muitos alimentos justifica-se apenas por questões de hábitos alimentares (PRADO; GODOY, 2003).

Seu uso pode causar desde uma simples urticária, levando a uma asma ou várias reações no sistema imunológico, podendo levar até ao câncer em animais de laboratório (RING et al., 2001).

Analisando a parte química dos corantes azóicos, visualiza-se que a parte ativa da molécula, possa ser causadora de tumores, podendo ser por causa da sua degradação. Há mais de um século que se constata que moléculas que tem origem dos corantes azóicos, apresentam ação cancerígena, ainda mais pela formação do amino-azo benzeno (LEDERER, 1990), de acordo com a Figura 1:



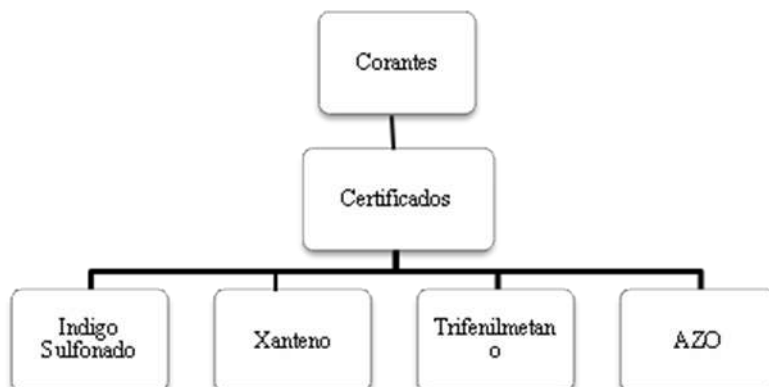
**Amino-azobenzeno**

**Figura 1.** Provável porção cancerígena dos corantes azóicos.

Observa-se que o grupo N=N quando reduzido, houve transformações de corantes azóicos e formação de amino-compostos tóxicos, o amarantho segundo autores, se torna cancerígeno (LEDERER, 1990). Muitos países permitem serem usados esses corantes de formas diferentes, dependendo das quantidades que os mesmos são colocados na dieta da população, onde os corantes são adicionados.

## 2.2 Classificação dos corantes utilizados na indústria alimentícia

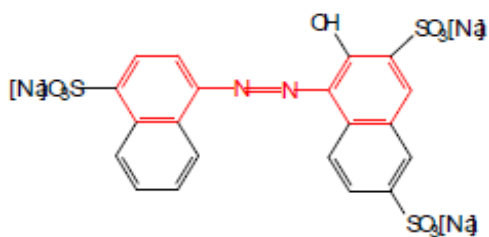
Os corantes utilizados pela indústria alimentícia (permitidos pela Legislação Brasileira) podem ser divididos de acordo com a Figura 2:



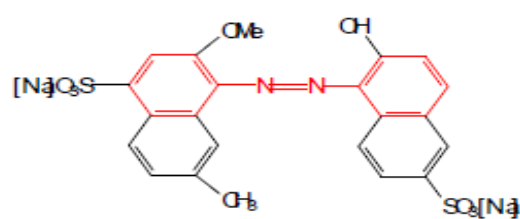
**Figura 2.** Classificação dos corantes para uso em alimentos (GHORPHADE et al., 1995).

### 2.2.1 Corantes azo

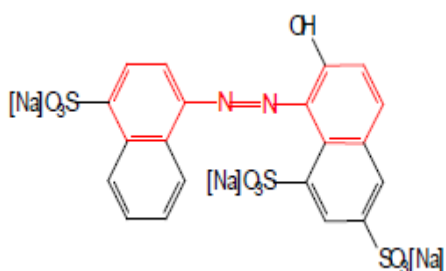
Compreende a classe de compostos que apresentam a ligação N=N- (grupo azo). Os azo-compostos tem grande importância na indústria de corantes artificiais, devido a coloração intensa, à estabilidade e à possibilidade de síntese a partir de substâncias de baixo custo. Os derivados de azo-benzeno mais simples apresentam normalmente uma coloração amarela ou amarelo-alaranjado em virtude da conjugação na ligação formada pelo grupo azo e anéis aromáticos. Possuem pelo menos um grupo sulfonado ( $\text{SO}_3$ ) para aumentar a solubilidade em água (TAKASHIMA et al; 1988). Essa classe representa os corantes sintéticos mais utilizados em alimentos, contendo aproximadamente 50% dos corantes utilizados mundialmente. Pertencem a esse grupo os corantes Amarantho, Ponceau 4R, Vermelho 40, Azorrubina, Tartrazina, Amarelo Crepúsculo (PAVANELLI, 2010), apresentados na Figura 3:



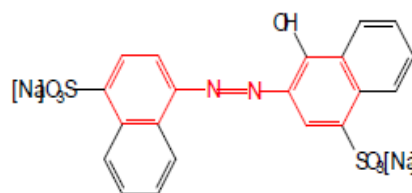
Amaranto



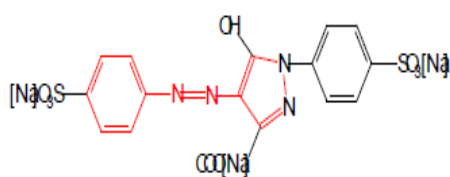
Ponceau 4R



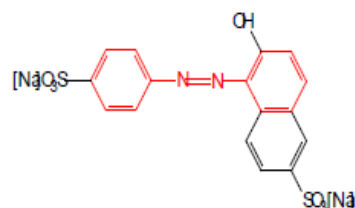
Vermelho 40



Azorrubina



Tartrazina

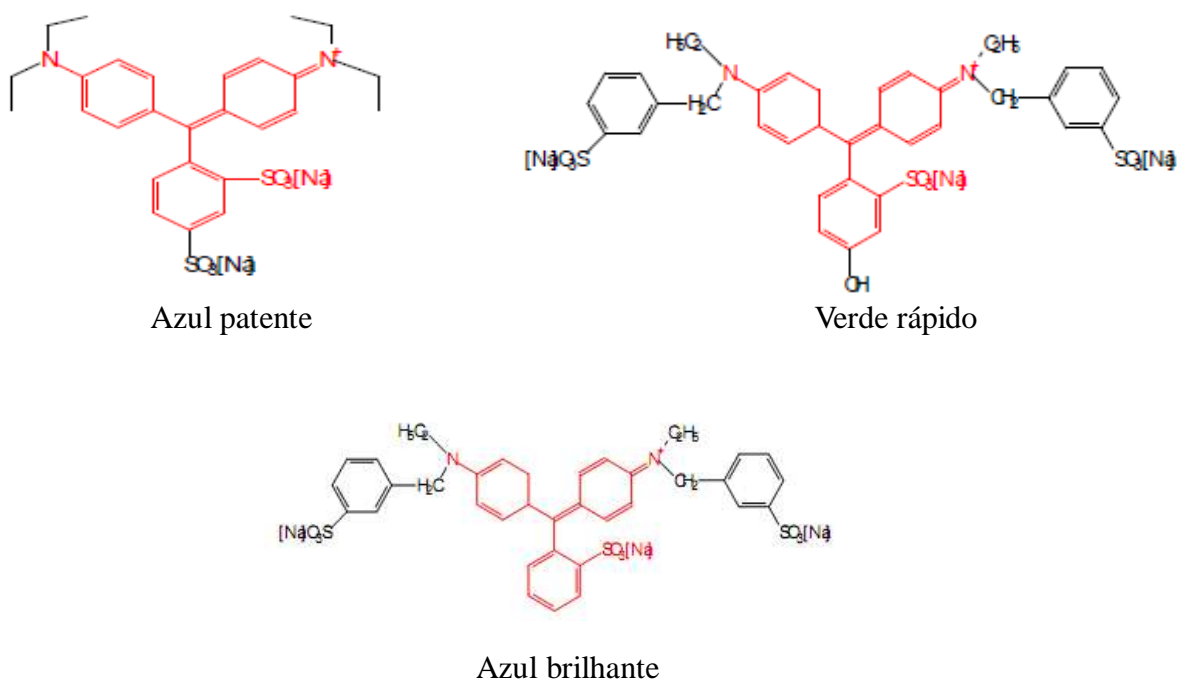


Amarelo Crepúsculo

**Figura 3.** Estruturas químicas dos corantes pertencentes à classe Azo.

### 2.2.2 Corante trifenilmetanos

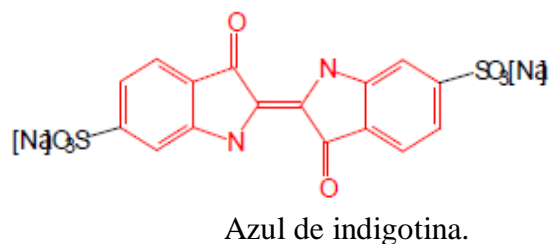
Esta classe apresenta estrutura básica de três radicais arila, ligados a um átomo de carbono central. Apresentam, ainda, grupos sulfônicos que lhes conferem alta solubilidade em água. Pertencem a essa classe os corantes, Azul patente, Verde rápido, Azul brilhante (PAVANELI, 2010), cujas estruturas químicas estão apresentadas na Figura 4:



**Figura 4.** Estruturas químicas dos corantes pertencentes à classe trifenilmetanos

### 2.2.3 Corantes indigóides.

Os corantes indigóides são os de maior uso na indústria têxtil, com aplicações também na indústria de papel e celulose e indústria alimentícia. Possuem uma estrutura molecular complexa, o que o torna mais estável quimicamente mais resistente aos processos de biodegradação e de remoção mais comumente utilizados para tratamento de efluentes (CHAVES et al., 2008). O corante índigo carmim é o único desta classe permitido no Brasil.

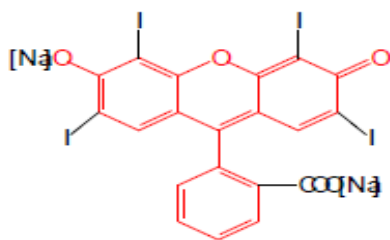


**Figura 5.** Estrutura química do corante índigo carmim, pertencente à classe do corante indigóide.

### 2.2.4 Corantes xantenos

A eritrosina é o único corante dessa classe permitido no Brasil. Existem estudos de uma possível associação com tumores da tireoide pela provável liberação do

iodo no organismo já que o mesmo contém 577 mg de iodo por grama de produto (PAVANELI, 2010), cuja estrutura química mostrada na Figura 5:



Eritrosina

**Figura 6.** Estrutura química do corante eritrosina, pertencente à classe dos corantes xantenos.

## 2.3 Legislação

### 2.3.1 Segurança alimentar

Segundo a ANVISA a segurança alimentar é prioritária no que se refere aos alimentos e é o principal atributo da Legislação. Para os aditivos, inclusive corantes, este órgão segue as recomendações do JECFA (Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives – Comitê Conjunto FAO/OMS de peritos em aditivos alimentares), um organismo acessor técnico do *Codex Alimentarius* (ONU). Este comitê é formado por cientistas independentes selecionados pela competência e experiência, não remunerados de diversas regiões do mundo, que atuam em caráter individual e não como representantes de seus países, e se reúnem anualmente desde 1955 (PRADO, 2003).

O JECFA avalia dados técnicos disponíveis (por indústrias, via de regra), com a finalidade de avaliar riscos e perigos potencialmente associados a qualquer aditivo.

Com base nesta avaliação, são definidas categorias de alimentos onde os aditivos podem ou não ser usados e estabelecidos os limites de uso (IDA – Ingestão Diária Aceitável) (MACKINSKI, 1998; REYES; PRADO, 2001).

A IDA é a estimativa do JECFA da quantidade do aditivo, é expressa em mg/kg de peso que pode ser ingerida diariamente por toda vida sem risco apreciável à saúde. O peso do homem padrão é considerado 60 kg e a idade só é levada em conta indiretamente (associada ao peso do indivíduo). O estabelecimento da IDA permite determinar o potencial tóxico da substância a partir de ensaios toxicológicos, identificar efeitos adversos e garantir a segurança de exposição humana, com base em evidências científicas na época da avaliação. Portanto, a IDA pode mudar, dados os avanços tanto em toxicologia quanto em ciência correlatas (REYES; PRADO, 2001).

Outra atribuição é a especificação de identidade e pureza: todos os aditivos contemplado pela norma devem ter grau alimentício e atender às especificações (físico-químicas) da comissão do Codex ou na ausência destas às especificações de organismos nacionais ou internacionais responsáveis. Como exemplo temos o FCC (Food Chemical Codex) mantido pela FDA norte-americana (RODRIGUES, 2008).

Para avaliação toxicológica, não existe um modelo único, mas sim recomendações gerais de procedimentos. Os fatores que afetam são: toxicidade esperada (pela estrutura química, níveis esperados de exposição para escolha das doses apropriadas de teste), ocorrência natural e uso em grupos de risco (grávidas, idosos e

crianças), o que pode exigir avaliações periódicas em grupos diferenciados (RODRIGUES,2008).

Para determinação da IDA utiliza-se a seguinte equação:

Onde:

$$IDA = NOAEL / FATOR$$

**NOAEL:** nível de dose sem qualquer efeito adverso (mg/peso dia). É a maior concentração de uma agente encontrada pelo estudo que não provoca qualquer alteração detectável de: morfologia, capacidade funcional, crescimento, desenvolvimento, vida média, etc.

**FATOR:** Normalmente, o JECFA adota Fator = 100 vezes mais sensível que o animal atestado e que existe uma diferença máxima de sensibilidade entre as populações humanas de cerca de 100 vezes.

A partir da IDA a ANVISA pode estimar a tolerância – este é o número que consta na Legislação propriamente dita. A tolerância é calculada por:

$$Tolerância = (IDA \times Peso) / (Fator \text{ alimento} \times 1,5 \text{ Kg})$$

**Peso:** peso médio do consumidor (60 k para o JECFA, 70 kg para FDA).

**Fator alimento:** % da dieta média diária representada pelos alimentos em questão (todos aqueles que poderiam levar o aditivo).

**1,5 kg:** quantidade média de alimentos consumidos em um dia. Os corantes artificiais tem limites bem restritos, entre 0,005 e 0,30 mg/kg de produto final para o consumo, dependendo do tipo e aplicação. Dentre os corantes artificiais o amarelo tartrazina tem sido alvo de reavaliações técnicas, sem, contudo ter sido banido: Amarelo de tartrazina (INS 102): A ANVISA recomenda que o rótulo especifique a frase “este produto contém o corante amarelo de tartrazina” a fim de chamar atenção dos consumidores para este produto que pode causar reações alérgicas como: asma brônquica e urticária em indivíduos sensíveis.

### 2.3.2 Rotulagem

Normalmente quem é sensível à tartrazina também é sensível ao ácido acetil salicílico (AAS) (RODRIGUES, 2008; BRASIL, 2002).

Segundo o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, dispunha de normas técnicas que regulamentam os aditivos químicos em alimentos, que foi modificado pelo Decreto nº 691 de 13 de março de 1962. Novamente a Legislação sofreu alteração por conta do Decreto nº 55.871, de março de 1965. Anos depois, em 1977, a Resolução CNNPA, nº 44 determinou condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade em corantes empregados na produção de alimentos e bebidas (BRASIL, 1977).

Para ter uma boa harmonia entre os países membros do MERCOSUL foi criado a Portaria GMC 50/98, que trata dos critérios para determinar os aditivos, suas funções e os limites máximos, para qualquer categoria de alimentos (PRADO; GODOY, 2003). Deve constar também no rotulo a tolerância de apenas três corantes na adição dos alimentos (BRASIL, 1969).

A resolução vigente **nº 389 de 09 de agosto de 1999** da ANVISA, são permitidos no Brasil o uso para alimentos e bebidas apenas 11 (onze) corantes artificiais (ASBIA, 2001; BRASIL, 1999).

De acordo com o **Decreto Lei n. 986/69**, no capítulo III da rotulagem, através do **Artigo 13** que diz respeito a alimentos com corantes artificiais, informa que deve constar no rotulo a frase: “colorido artificialmente”.

**Nos Artigos 14, 15, 16** que diz respeito a Alimentos com aromas, deve constar as seguintes informações: Aromas naturais / idênticos aos naturais / artificiais. Quanto à finalidade de uso no alimento das substâncias é obrigatório: definir, reforçar e conferir aroma não específico.

**Nos Artigos 17 e 18**, definem rotulagem de aditivos (uso doméstico ou industrial) mesmas exigências da resolução RDC nº. 259/02.

**No Artigo 21** deve declarar: denominações, designações, nomes geográficos, símbolos, figuras, desenhos ou indicações que possibilitem interpretações e falsa, erro ou confusão quanto a origem, procedência, natureza, composição ou qualidade do alimento, ou que lhe atribuam qualidades ou características nutritivas superiores àquelas que realmente possuem.

É especificado no **Artigo 22** que não serão permitidas na rotulagem quaisquer indicações relativas à qualquer indicações relativas à qualidade do alimento que não sejam as estabelecidas pela legislação em vigor.

**Resolução RDC nº. 259/2002** a Legislação harmonizada no MERCOSUL declara que todo alimento que destaca a presença ou ausência de componentes que sejam próprios de alimentos de igual natureza. Nos rótulos devem conter: denominação do produto, lista de ingredientes, conteúdo líquido, identificação da origem, instruções de preparo, quando necessário, prazo de validade, lote.

No painel principal deve consta: A denominação de venda, qualidade, pureza ou mistura, quando regulamenta, conteúdo, já o uso da marca é opcional. Informações obrigatórias: Lista de ingredientes, precedida da expressão “ingredientes”: ou “ingr”. Os ingredientes devem constar em ordem decrescente de preparação.

Quanto ao uso de Aditivos: deve ser declarada a função principal e nome completo ou número INS, ou ambos. Listar os aditivos após os ingredientes, declarar a função tecnológica, agrupar por função e ordem decrescente de proporção. Listar primeiro os ingredientes e colocar por ordem decrescente de proporção.

Identificação da origem. Indicar o nome (razão social) do fabricante ou produtor ou fracionar ou titular da marca, endereço completo, país de origem e município e n. registro. Deve ser utilizada uma das expressões. “Fabricado em...” ou “Produto...” ou “Indústria...” Instruções de preparo.

Quando for dia e mês o prazo de validade é de até 3 meses;

Quando for mês e ano o prazo de validade é superior a 3 meses. Quando o vencimento for em Dezembro, basta indicar o ano, com a expressão “fim de...(ano)”.

**Lei n. 10.674, de 16/05/2003** sobre Produtos alimentícios devem conter nos rótulos e materiais de divulgação a advertência, conforme o caso: “contém glúten, “Não contém glúten”

**Resolução RDC nº. 340/2002.** Os alimentos que contenha o corante tartrazina (INS 102) na sua composição deve declarar na lista de ingredientes o nome desse corante por extenso: “Tartrazina”.

### 2.3.2.1 Lote

**Resolução RDC nº. 259/2002.** Identificação do lote: Código chave precedido da letra “L” ou data de fabricação, embalagem ou de prazo de validade, sempre que indique, pelo menos o dia que indique, pelo menos, o dia e o mês ou o mês e a ano ( nesta ordem).

### 2.3.2.2 Rotulagem nutricional

Informações adicionais - podem ser exigidas em RT específicos

- **Resoluções RDC nº. 360 e 359/2003, Legislação harmonizada no Mercosul.**

Toda descrição destinada a informar ao consumidor sobre as propriedades nutricionais de um alimento. Compreende: Declaração de valor energético/nutrientes Nutrientes de declaração obrigatória: Valor energético (Kcal e KJ), Proteínas (g); Gorduras totais (g); Gorduras saturadas (g); Gorduras trans (g); Fibras (g); Sódio (mg).

Nutrientes de declaração optativa: Vitaminas e minerais ( $\geq 5\%$  da IDR por porção); outros nutrientes.

Apresentação da Rotulagem Nutricional: Deve seguir os modelos estabelecidos, a informação nutricional deve ser expressa por porção (ml/mg/l/g), medida caseira e o percentual de calor diário (% VD). Adicionalmente, pode ser expressa por 100g/ml.

A Tabela 1 especifica os corantes que são permitidos pela legislação.

**Tabela 1.** Corantes artificiais.

NOME	CEE	COR	PREPARADO * SÓLIDO PARA REFRESCO	IDA ( mg/kg produto)
Amaranto	E123	Magenta	0,005	0,50
Vermelho de eritrosina	E127	Pink	0,001	0,10
Vermelho 40	E129	Vermelho alaranjado	0,01	7,00
Ponceau 4R	E124	Cereja	0,005	4,00
Amarelo crepúsculo	E110	Laranja	0,001	2,50
Amarelo tartrazina	E102	Amarelo limão	0,001	7,50
Azul indigotina	E132	Azul Royal	0,001	5,00
Azul brilhante	E133	Azul turquesa	0,001	10,0
Azorrubina	E122	Vermelho	0,005	4,00
Verde rápido	E143	Verde mar	0,005	10,0
Azul patente V	E131	Azul	0,005	15,0

Fonte: (BRASIL, 1999).

\* Resolução CNS/MS nº 4, de 24 de novembro de 1988.



Esses corantes têm uso permitido como resultado da harmonização da legislação realizada entre os países membros do Mercosul. A resolução GMC 52/98 trata dos critérios e seus limites para seu consumo em alimentos. (BRASIL, 1998).

## **2.4 Preparados sólidos para refresco**

Os preparados sólidos artificiais para refrescos, chamados popularmente como pó para refresco, estão integrados no meio da população no seu dia-a-dia, por sua fácil forma de preparação, também ao rendimento que este proporciona e ainda ao seu preço no mercado, muito inferior, se comparado às bebidas prontas para o consumo como os refrigerantes, por exemplo, deixando os mesmos mais acessíveis economicamente, ainda mais para a população de renda mais baixa (PONTES, 2003).

Sabe-se que as crianças é o principal alvo deste produto, como podemos verificar nos comerciais da televisão, usando temas e personagens infantis para fazer o produto ser conhecido.

De acordo com a Legislação Brasileira, portaria nº 544, de novembro de 1998, preparado sólido para refresco é o produto à base de suco ou extrato vegetal de sua origem e açúcares, podendo ser adicionado de edulcorantes hipocalóricos e não calóricos, destinado à elaboração de bebidas para o consumo imediato pela adição de água potável. Ao refresco, preparado sólido ou líquido para refrescos artificiais é vedado o uso da denominação “bebida de fruta e extrato vegetal”, em substituição a denominação “refresco”. A bebida que contiver corante e aromatizante artificial em conjunto ou separadamente, será considerada colorida ou aromatizada artificialmente (BRASIL, 1998).

Na formulação de preparados sólidos para refresco, encontram-se as matérias primas: açúcar cristal, vitamina C, acidulante, polpa de fruta desidratada 1%, aromatizante, regulador de acidez, antiuementante, corante inorgânico, corante artificial e estabilizante (SOUZA, 2007).

A produção de preparados sólidos é feita da seguinte forma: matérias primas são guardadas de forma separadas em grandes recipientes, que através de dutos são levadas separadamente ao misturador. Os dutos através de um programa de informática adicionam a quantidade certa de cada matéria prima no misturador. O pó sai pronto do misturador e cai diretamente na máquina de envase de embalagens primárias. A máquina corta a folha de embalagem em pequenos “sticks”, ensaca e solda as embalagens (FABRI et al., 2004).

Os preparados em pó para refresco apareceram em 1960, as embalagens eram pequenas (6 g) para comercialização e o produto não era adoçado. No fim da década de 70, para facilitar o preparo os refrescos começaram a ser pré-adoçados, com isso o aumento dos pacotes (120 g). No início da década de 80 passaram a ter a formulação mista de açúcar e adoçante, permitindo uma redução no volume do produto (45 g) (CALEGUER, 2005).

No fim da década de 90, com o sabor artificial bem notório, os refrescos em pó passaram a perder mercado para os refrigerantes precisando de inovações. Em 1999, foram ganhando o mercado, com adição de polpa e/ou suco de fruta estampadas nas embalagens dos principais fabricantes, melhorando o conceito do consumidor para esse produto. Nos últimos anos ganharam melhor aparência e passaram a ser oferecidos em ponto de vendas sofisticados em lugar dos sucos naturais (CALEGUER, 2005).

### 2.4.1 Classificação

De acordo com a portaria nº 544, de 16 de novembro de 1998 o Ministério da Agricultura e Abastecimento, os preparados sólidos para refresco são classificados como:

1. Preparado sólido para refresco ou bebida de (nome da fruta ou do vegetal), o que contiver por base suco ou polpa da fruta desidratados, extrato vegetal ou suco desidratado da parte do vegetal de sua origem;
2. Preparado sólido para refresco ou bebida de (nome da fruta ou do vegetal), sabor (nome da fruta ou do vegetal), o que contiver por base suco ou polpa de fruta ou extrato vegetal ou suco desidratado de parte dos vegetais e aroma, tendo predominância o sabor do aroma;
3. Preparado sólido para refresco misto ou bebida mista de (nome da (s)); ou do (s) vegetal (es), sabor de (nome da fruta ou do vegetal de origem), o que contiver por base dois ou mais sucos ou polpa de frutas desidratados, ou extratos vegetais ou as suas misturas e do aroma, tendo predominância do sabor do aromatizante.
4. Preparado sólido para refresco ou bebida de laranja ou laranjada, que tiver suco ou polpa de laranja desidratada;
5. Preparado sólido para refresco ou bebida de limão ou limonada, o que contiver por base suco ou polpa de limão desidratado;
6. Preparado sólido para refresco ou bebida de guaraná, o que contiver por base suco ou semente de guaraná ou extrato de guaraná;
7. Preparado sólido para refresco ou bebida de cola, o que contiver por base de nós de cola ou extrato de nós de cola;
8. Preparado sólido para refresco artificial terá sua denominação seguida da palavra “artificial”, e da expressão “sabor de...” acrescida do nome da matéria prima substituída.

De acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária – MAPA o Brasil tem cerca de sete estabelecimentos registrados, sendo que há 94 tipos de produtos registrados como Preparado sólido para refresco (BRASIL, 1998).

Como os preços são baixos e esse produtos mais baratos que as bebidas não alcoólicas são mais usadas. Também são mais fáceis de serem transportados pela sua praticidade, sendo as mulheres que mais compram os refrescos em pó, levando o produto para o consumo da família durante as principais refeições nos horários dos lanches (CALEGUER, 2005).

Apresenta também uma melhor padronização do produto final, ficando disponível o ano inteiro, o que não pode acontecer com a fruta *in natura*. A adição de polpa de fruta ao preparado sólido não é suficiente para conferir o sabor forte, apenas dar um direcionamento ao sabor que vem com a adição de aromas (SOUSA, 2007).

### 2.5 Características dos corantes alimentícios: amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo.

Os corantes sintéticos podem ser classificados de acordo com sua estrutura química, podendo ser do tipo azo, triarilmetano, finilmetano, xantana, quinolina, antraquinona ou fenol. Dentre eles, um dos grupos mais importantes, e extensivamente usado na indústria alimentícia são os corantes que apresentam o grupo azo, ou seja, ligações do tipo  $-N=N-$  (ANTUNES; ARAÚJO, 2000).

Fisicamente, os corantes são compostos químicos que absorvem na região UV/VIS. Esta característica é decorrente das suas estruturas químicas conterem grupos cromóforos que são tipicamente representados por estruturas aromáticas ou quinônicas unidos a grupos carbonílicos por ligações duplas, grupos azo ou grupos nitro, grupos hidroxílicos ou grupos amino que podem aumentar a intensidade de absorção específica para um determinado corante (GIOVINE; BOCCA, 2003).

### 2.5.1 Amarelo tartrazina

A estrutura química do corante amarelo tartrazina trata-se de um corante azo constituído essencialmente por 5-hidroxi-1-(4-sulfonatofenil)-4-(4-sulfonatofenila 30)-H-pirazolo-3-carboxilato-trissódico ( $MM=534, 37 \text{ g mol}^{-1}$ ), no qual são autorizados também os sais de cálcio e potássio. Como principais componentes não corados é possível encontrar cloreto de sódio e/ou sulfato de sódio na sua composição, no entanto o teor de materiais corantes totais não deve ser inferior a 85% (DIRETIVA 95/45/CE, 1995).

O corante AT apresenta alta solubilidade em meio aquoso, podendo ser identificado e quantificado por espectrofotometria UV-VIS, cujo máximo de absorção localiza-se no comprimento de onda máximo a 426nm (soluções aquosas em pH 7) (DIRETIVA 95/45/CE, 1995).

A sua estabilidade é excelente à luz, calor e ácido, descolore em presença de ácido ascórbico e  $\text{SO}_2$ . Dentre os corantes azo, a tartrazina tem despertado a maior atenção dos toxologistas e alergistas (DOWNHAM; COLLINS, 2000), sendo responsável por várias reações adversas, causando desde urticária até asma.

Estima-se que a cada 10 mil pessoas, uma apresenta reações a esse corante (BERDICK, 1982). Provavelmente, de 8 a 20% dos consumidores sensíveis à aspirina, são também sensíveis à tartrazina. Porém, é um dos corantes mais empregado em alimentos e é permitido em muitos países, como Canadá, Estados Unidos e União Europeia (BERDICK, 1982).

### 2.5.2 Amarelo crepúsculo

O corante amarelo crepúsculo é também é um corante do tipo azo constituído basicamente por 2-hidroxi-1-(4-sulfonatofenilazo) naftaleno-6-sulfonato de sódico ( $MM=452,37 \text{ g mol}^{-1}$ ), no qual são autorizados os sais de cálcio e potássio. Como principais componentes não corados é possível encontrar cloreto de sódio ou sulfato de sódio na sua composição, no entanto, o teor de matérias corantes totais não deve ser inferior a 85% (DIRETIVA 95/45/CE, 1995). O corante AC apresenta alta solubilidade em meio aquoso podendo ser identificado e quantificado por espectrofotometria UV-VIS, cujo o máximo de absorção localiza-se no comprimento de onda próximo a 485 nm (soluções aquosas pH 7) (DIRETIVA 95/45/CE, 1995).

Em um estudo realizado por Del Giovine e Bocca (2003), o corante amarelo crepúsculo foi determinado via eletroforese capilar em amostras de sorvete. Este corante está presente em amostras de refrigerantes e sucos concentrados de limão e laranja (DOMINGUES et al., 1990). Com relação a seus efeitos na saúde humana, estudos indicam que ele pode causar reações alérgicas, urticária, vômitos e até broncoconstrição quando associado ao corante amaranto (QUEIJA et al., 2001).

Ele apresenta boa estabilidade na presença de luz, calor e ácido, mas descolore-se quando em presença de ácido ascórbico e  $\text{SO}_2$ . Estados Unidos, Japão, países da União Europeia permitem seu emprego em alguns produtos específicos e numa

concentração de 300 ppm (partes por milhão). Na Inglaterra seu uso é restrito por tempo determinado, nos países da EU (União Européia) e no Japão seu uso é permitido, mas foi voluntariamente retirado pelas indústrias japonesas. Isso acontece, porque são poucos os estudos relevantes à sua toxicidade (PRADO; GODOY, 2003).

## **2.6 Métodos de análise para corantes artificiais**

O controle de qualidade e/ou toxicológico dos corantes tem sido usualmente realizados pelos métodos cromatográficos ou espectrométrico (KAPOR et al., 2001), mas existem outros métodos menos usuais que podem ser utilizados como: métodos cromatográficos, eletroforese capilar e várias combinações de técnicas, métodos, elétrons analíticos (Voltametria e Polarografia) e métodos espectrofotométricos (VIDOTT et al., 2006).

Em relação aos métodos cromatográficos, caracteriza-se com alto custo e envolvimento de varias etapas de extração dificultando a obtenção de uma análise rápida. Já o método espectrofotométrico é mais acessível, pois são de baixo custo sendo de técnica simples, mesmo apresentando limitada seletividade (SANTOS; NAGATA, 2004).

A deficiência de seletividade do método espectrofotométrico decorrente das interferências espectrais que resultam em faixas de absorção amplamente sobrepostas (PERALTA et al., 1998), pode ser contornada com a utilização de métodos de calibração multivariada através da obtenção de um modelo matemático (BEEBE; KOWALSKI, 1987). Com esse modelo descreve-se a relação entre as respostas (absorbâncias) e todas as concentrações dos componentes das amostras (corantes) minimizando custo e tempo da análise (SANTOS; NAGATA, 2004; SANTOS, 2005).

Não é possível fazer a identificação direta dos corantes contidos nos gêneros alimentícios, por isso devem ser extraídos, purificados e concentrados antes da identificação, existindo inúmeros métodos para extração desses corantes (TAKAHASHI et al., 1988).

### **2.6.1 Cromatografia em camada delgada**

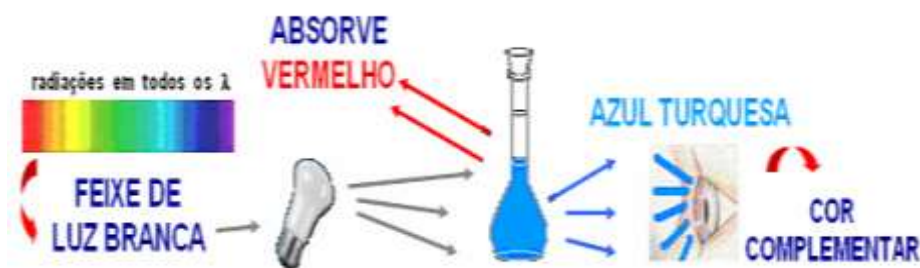
Há outros métodos que se baseiam na extração dos corantes por solventes orgânicos, como álcool iso-amílico, éter de petróleo, álcool benzílico, a metil ciclo hexanona e a quinoleína (CHO et al., 1995), seguida de separação de mistura de corantes utilizando a cromatografia de camada delgada (CCD) com fase estacionária de alumina. Entretanto, o uso desse solventes como extratores não apresentou resultados muitos satisfatórios, embora a alumina permitisse uma boa separação das estruturas de interesse (BIZZOZERO, MICHELLI, 1996). Métodos empregando a CCD (cromatografia de camada delgada) para a quantificação de corantes artificiais em bebidas alcoólicas não alcoólicas apresentaram bons resultados em termos quantitativos (CSERHÁTI, 1998).

A cromatografia em camada delgada é uma técnica de adsorção líquido-sólido. A separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária. Sendo um método simples, rápido, visual e econômico a CCD é a técnica predominantemente escolhida para o acompanhamento de reações orgânicas utilizada também para a purificação de substâncias e para identificação de frações coletadas em cromatografia líquida clássica (COLLINS et al., 1999).

## 2.6.2 Método por espectrofotometria

### 2.6.2.1 Espectrometria UV-VIS

Um feixe de luz branca, quando incide sobre uma superfície contendo uma espécie molecular que absorve luz, a radiação resultante emergente será detectável pelos olhos, como uma cor complementar da radiação absorvida (SKOOG, 2002). De acordo com a ilustração na Figura 7.



**Figura 7.** Radiação absorvente e a cor complementar (FREITAS, 2006).

As cores e seus complementos e respectivos intervalos de comprimento de onda, encontram-se na Figura 8.

INTERVALO APROXIMADO DE $\lambda$ (nm)	COR ABSORVIDA	COR COMPLEMENTAR
400 – 465	Violeta	Verde-amarelado
465 – 482	Azul	Amarelo
482 – 487	Azul-esverdeado	Alaranjado
487 – 493	Azul turquesa	Vermelho-alaranjado
493 – 498	Verde-azulado	Vermelho
498 – 530	Verde	Vermelho-púrpura
530 – 559	Verde-amarelado	Púrpura-avermelhado
559 – 571	amarelo-verde	Púrpura
571 – 576	Amarelo-esverdeado	Violeta
576 – 580	Amarelo	Azul
580 – 587	Laranja-amarelado	Azul
587 – 597	Alaranjado	Azul-esverdeado
597 – 617	Laranja-avermelhado	Azul-turquesa
617 – 780	vermelho	Azul-turquesa

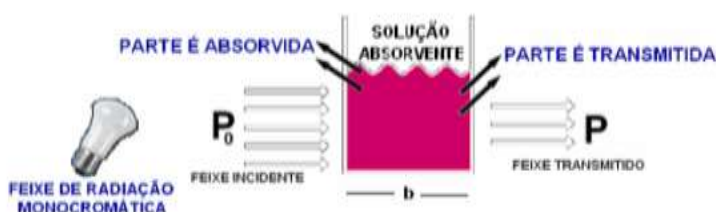
**Figura 8.** Os intervalos de comprimentos de onda ( $\lambda$ ), radiações absorvidas e cores complementares (FREITAS, 2006).

A espectrometria molecular na região ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica analítica que vem sendo empregada há mais de 50 anos para a identificação e determinação quantitativa de muitas espécies moleculares inorgânicas, orgânicas e bioquímicas em diferentes tipos de materiais (SKOOK, 2006).

Esta técnica é baseada no fenômeno produzido pelas medidas de absorção moleculares em solução que sofrem transições eletrônicas por ocasião de absorção de energia quantizada na região UV-Vis. Uma relação quantitativa entre o fenômeno de absorção e o número de espécies moleculares que sofre absorção é dada pela lei de Lambert-Beer (HARRIS, 2005).

### 2.6.2.2 Lei de Lambert-Beer

Quando um feixe de radiação monocromática atravessa uma solução que contém uma espécie absorvente, uma parte da energia radiante é absorvida e a outra é transmitida (SKOOG, 2005). A razão da potência radiante (energia do feixe/segundo) do feixe transmitido,  $P$ , pela potência radiante do feixe incidente,  $P_0$ , é conhecida como Transmitância ( $T$ ), descrito na Figura 9.



**Figura 9.** Potência da radiação emergente ( $P_0$ ) e transmitida ( $P$ ) após passar por uma cubeta contendo uma solução absorvente (FREITAS, 2006).

Assim a transmitância é dada pela Equação 1;

$$T = P/P_0 \quad (1)$$

O logaritmo decimal do inverso da transmitância é denominado de absorbância e é determinada pela Equação 2;

$$A = \log 1/T = -\log T = \log P_0/P \quad (2)$$

A lei que estabelece uma relação entre a absorbância ou transmitância com a concentração de uma espécie absorvente quando um feixe de radiação monocromática atravessa um recipiente (não absorvente) contendo a espécie absorvente é conhecida como Lei de Lambert-Beer ou simplesmente Lei de Beer (LYKOS, 1992), cuja equação matemática dessa lei é dada pela Equação 3;

$$A = -\log T = \log P_0/P = abc \quad (3)$$

Onde  $a$  é uma constante denominada de absortividade (quando a concentração é expressa em gramas por litro) e  $b$  é o comprimento do caminho óptico que a radiação monocromática atravessa a solução contendo a espécie absorvente (Figura 10).

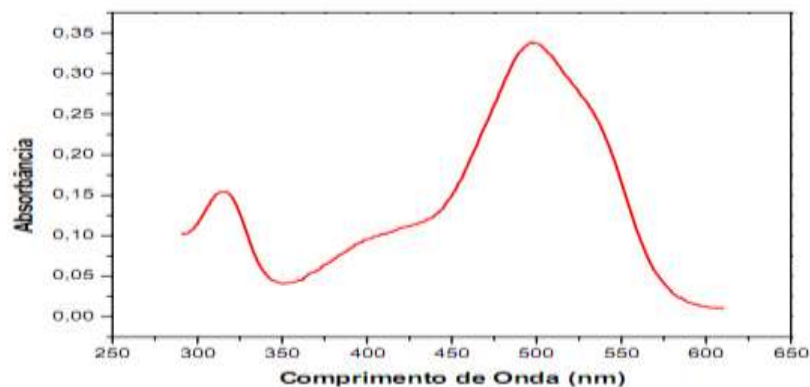
Quando a concentração da espécie absorvente é expressa em moles por litro, a absortividade é chamada de absortividade molar,  $\epsilon$ , e a Lei de Beer pode ser escrita pela Equação 4;

$$A = \epsilon bc \quad (4)$$

A absortividade é expressa em unidades  $\text{litro mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , é uma constante característica de uma espécie absorvente em um meio, a um determinado  $\lambda$ . A

sensibilidade de um método espectrométrico é governada pela absorvidade molar da espécie absorvente (FREITAS, 2006).

Espectro de absorção, em geral, é denominado, a curva obtida quando a absorvância de uma espécie absorvente é traçada em função do comprimento de onda da espécie absorvente como mostra a Figura 10.



**Figura 10.** Espectro de absorção UV-VIS do corante orgânico-sintético vermelho nº 40 (FREITAS, 2006).

Este método representa a razão da variação da observância com o comprimento de onda. A diferenciação da Lei de Lambert-Beer  $\left(\frac{d^n A}{d^n \lambda} \lambda = eb \left(\frac{d^n x}{d^n \lambda}\right)\right)$  demonstra que os derivados são sempre proporcionais às do analítico, sendo as aplicáveis analíticas baseadas nesta relação (VIDOTTI et al., 2006).

Sabe-se que os métodos cromatográficos caracteriza-se pelo alto custo e envolve várias etapas de extração dificultando a obtenção de uma análise rápida, porém os métodos espectrofotométricos, embora mais acessíveis apresentam uma seletividade limitada (SANTOS; NAGATA, 2004).

Quando houver uma dependência das propriedades que descrevem cada matriz usa-se a base de calibração multivariada, estabelecendo uma relação entre duas matrizes ou blocos de dados químicos.

A espectrometria de absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta/visível (UV-Vis) é utilizada para a determinação quantitativa de substâncias orgânicas. Esta se baseia na medida de transmitância ou absorvância de soluções contidas em células transparentes e a concentração do analito está relacionada linearmente com a absorvância, de acordo com a lei de Beer (HOLLER et al., 2009).

O espectro eletromagnético do UV/VIS é o intervalo que contém todas as radiações eletromagnéticas com frequências e comprimentos de onda que variam desde o infravermelho, passando pela radiação visível até a região ultravioleta. A radiação infravermelha compreende comprimentos de onda superiores a 770 nm. O comprimento de onda da radiação ultravioleta e visível está compreendida entre 200–900 nm (HOLLER et al., 2009).

### 2.6.2.3 Espectrofotometria derivativa

Os métodos espectrofotométricos são comumente utilizados pela simplicidade do procedimento, rapidez, economia das análises e maior disponibilidade da

instrumentação quando comparadas a métodos como cromatografia e eletroforese (ROJAS; OJEDA, 2009).

O tratamento dos dados espectrofotométricos tem como objetivo extrair o máximo de informações do espectro. A melhor técnica para esse fim é a derivação da curva espectrofotométrica de absorbâncias versus comprimento de onda. Esses gráficos mostram detalhes espectrais que não são vistos em um espectro normal (ROJAS; OJEDA, 2009). A espectrofotometria derivativa tem sido aplicada nas análises de vários produtos (MARKOVIK et al., 2010).

Os métodos baseados no uso da espectrofotometria derivativa tem apresentado resultados satisfatórios na determinação de misturas de corantes em alimentos (ROJAS; OJEDA, 2009).

A espectrofotometria derivativa é, atualmente, uma ferramenta analítica adicional que auxilia na redução de diversos problemas analíticos. A derivatização dos espectros permite separar sinais sobrepostos e eliminar “background” causado pela presença de outras espécies na amostra (BENAMOR, AGUERSSIF, 2008). Portanto, torna-se desnecessária uma etapa preliminar de separação das espécies a serem determinadas, simplificando o procedimento analítico e aumentando a velocidade analítica (ROCHA, 2007; VIDOTTI; ROLEMBERG, 2006).

Existe um problema analítico clássico, é a determinação simultânea de dois ou mais componentes na mesma amostra, não ocorrendo separação prévia. A espectrofotometria derivativa na região UV-VIS, é uma técnica que visa eliminar interferentes de forma bastante eficiente para uma determinação simultânea, melhorando a resolução dos espectros com sinais sobrepostos eliminando interferências de outros componentes presentes na amostra (MARKOVIK et al., 2010; BENAMOR, AGUERSSIF, 2008; RANGNO et al., 2006).

A espectrofotometria derivativa tem sido amplamente aplicada na análise de vários produtos, inclusive os corantes artificiais (MARKOVIK et al., 2010; DINÇ, 2007; KAPOOR, KHANDAVILLI, PANCHAGNULA, 2006; GARCIA et al.; 2005; LASTRA et al., 2003).

Trabalhos mais recentes utilizam a espectrofotometria derivada para determinação de corantes artificiais e de fármacos, eliminando interferência de outros corantes e fármacos presentes, produtos de degradação e excipientes das formulações (DINÇ et al., 2007; RANGNO et al.; 2006; KAPOOR, KHANDAVILLI, PANCHAGNULA, 2006).

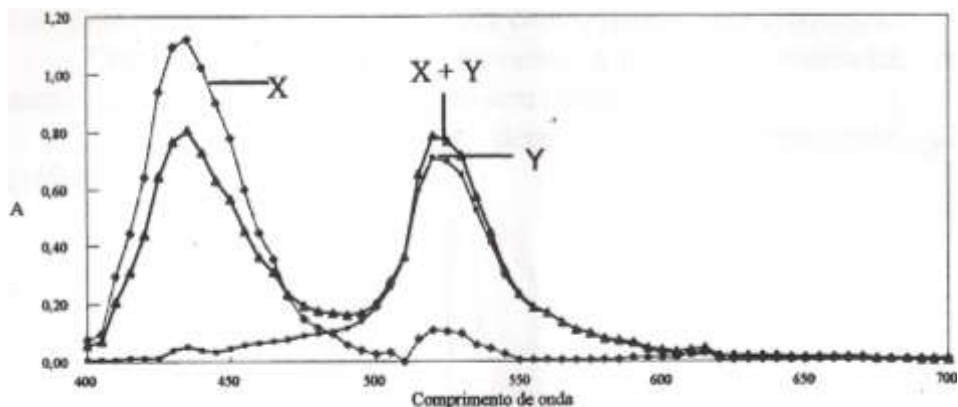
#### **2.6.2.4 Análise de mistura de cromóforos**

Cada cromóforo tem um espectro de absorção característico. Se na solução da amostra existe mais que um cromóforo, e sabendo-se que os espectros de absorção desses cromóforos vão sobrepor-se numa dada extensão de comprimento, então, a análise dessa amostra, em apenas um comprimento de onda, quando se escolhe um  $\lambda_{\text{máx}}$ , vai corresponder a um dos cromóforos e os outros provavelmente não estarão região da absorbância máxima. Isso vai levar a uma imprecisão na medida, já que absorbância nesse comprimento de onda corresponde ao cromóforo em questão mais a absorbância dos outros em solução (SKOOG, 1995).

Por isso, normalmente, os  $\lambda_{\text{máx}}$  dos cromóforos da mistura são os escolhidos para se efetuar as medidas (CHRISTIAN, 1994).

Tomando-se como exemplo uma mistura de cromóforos, tem-se a Figura a seguir que apresenta os  $\lambda_{\text{máx}}$  (símbolo) de dois cromóforos denominados X e Y.





**Figura 11.** Espectro de absorção (CHRISTIAN, 1994).

Temos, então, que a absorbância total medida no  $\lambda_{mx}$  do cromóforo x é igual à soma das absorbâncias de x e y nesse comprimento de onda, assim como, a absorbância total medida no  $\lambda_{máx}$ , do cromóforo (SKOOG, 1995).

Denominando-se o  $\lambda_{máx}$ , de  $\lambda_1$  e  $\lambda_2$ , onde:

$$A_t(\lambda_1) = A_x(\lambda_1) + A_y(\lambda_1)$$

$$A_t(\lambda_2) = A_x(\lambda_2) + A_y(\lambda_2)$$

Aplicando-se a Lei de Beer ( $A = \epsilon bc$ ), nas equações anteriores tem-se que:

$$A_x = \epsilon_x \cdot b \cdot c_x \quad A_y = \epsilon_y \cdot b \cdot c_y$$

Então, substituindo-se  $A_x$  e  $A_y$ :

$$A_t(\lambda_1) = \epsilon_x(\lambda_1) \cdot b \cdot c_x + \epsilon_y(\lambda_1) \cdot b \cdot c_y$$

$$A_t(\lambda_2) = \epsilon_x(\lambda_2) \cdot b \cdot c_x + \epsilon_y(\lambda_2) \cdot b \cdot c_y$$

As duas equações acima constituem um sistema de duas equações com duas incógnitas que, uma vez sendo resolvidas, permitem que se saiba as concentrações dos componentes x e y na solução analisada.

## 2.7 Método por CLAE (Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência)

O uso desse método se faz necessário quando não é possível ou não se obtém separações por cromatografia em papel e por camada delgada (PUTTERMANS et al., 1982; SINGH, 1982), ou para compará-lo com outros métodos e até mesmo obter resultados mais criteriosos (BEAUDOUNG, 1995). O uso da CLAE tem apresentado resultados bastantes satisfatórios, graças a seu alto poder de separação e também por detectar limites muito baixos (1 a 5 ppm) sendo recuperáveis na ordem de 95% (GOLDBER, 1982). O tempo de análise é bem mais curto em relação aos observados em outras técnicas tradicionais tem aumentado a aplicação para separar e identificar os corantes artificiais (MARMION, 1991).

Prado e Godoy (2007), determinaram simultaneamente corantes permitidos no Brasil em vários tipos de alimentos, através de uma metodologia utilizando a CLAE. Os autores escolheram guloseimas e cereais matinais coloridos para as análises por serem produtos consumidos especialmente pela população infantil e por apresentarem corantes artificiais em sua composição.

Topuz et al., (2005) realizaram a determinação simultânea de quatro tipos de pesticidas em sucos de frutas utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês: High Performance Liquid Chromatography – HPLC) com detecção espectrofométrica por arranjos de fiodiodos na região ultravioleta de 220 a 260 nm. As curvas de calibração obtidas apresentaram uma boa linearidade com coeficiente de correlação de cerca de 0,9988. Os limites de detecção para o pesticidas ficaram na faixa de 0,5 a 1,0 µg/kg. Os resultados mostraram que as amostras de sucos analisadas não continham nenhum resíduo de pesticida detectado.

Prado e Godoy (2004) determinaram corantes em pós para gelatina utilizando a CLAE. A escolha desse alimento para as análises deve-se ao fato de ser um produto amplo e habitualmente consumido, principalmente pela população infantil e por ser um produto onde os corantes artificiais são tradicionalmente empregados em sua composição.

Prado et al., (2003), realizaram uma triagem com cromatografia em papel e depois utilizaram uma nova metodologia desenvolvida por Prado e Godoy (1998), empregando a CLAE para determinação qualitativa e quantitativa de possíveis corantes artificiais presentes em chás aromatizados.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Matéria prima

Foram utilizados para o experimento preparados sólidos para refresco, com 1% de polpa de fruta desidratada, nos sabores abacaxi, acerola, cajá, caju, manga, laranja e graviola, de 6 marcas comerciais distintas, sendo doze amostras de mesmo lote. As amostras foram adquiridas em supermercados localizados em São Luís-MA e armazenados sob temperatura ambiente.

### 3.2 Padrões de corante artificiais

Os padrões utilizados neste estudo foram o corante Amarelo Tartrazina e Amarelo Crepúsculo, ambos fornecidos pelo Laboratório de alimentos do Instituto Federal de Educação do Maranhão, Campus Monte Castelo.

### 3.3 Determinação do espectro de absorção

#### 3.3.1 Amarelo tartrazina

Preparou-se uma solução com concentração de 8,08 µg/ml de amarelo tartrazina. A partir desta solução determinou-se o espectro de absorção, utilizando-se um espectrofotômetro (2000 UV, Nova Instrumentos), com cubeta de vidro de 1 cm de aresta. A faixa de leitura foi de 350 a 500 nm, com resolução de 2nm. Através do espectro foi possível determinar o comprimento de onda de máxima absorção do corante.

#### 3.3.2 Amarelo crepúsculo

Preparou-se uma solução com concentração de 7,94 µg/ml de amarelo crepúsculo. A partir desta solução determinou-se o espectro de absorção, utilizando-se um espectrofotômetro (2000 UV, Nova Instrumentos), com cubeta de vidro de 1 cm de aresta. A faixa de leitura foi de 260 a 544 nm, com resolução de 2 nm. Através do espectro foi possível determinar o comprimento de onda de máxima absorção do corante.

### 3.4 Determinação da absortividade específica

#### 3.4.1 Amarelo tartrazina

Pesou-se 0,2020 g do corante amarelo tartrazina (padrão) e avolumou-se em 500 ml de água destilada. A partir desta solução foram feitas diluições sucessivas. As concentrações obtidas encontram-se na **Tabela 2**. Essas concentrações foram selecionadas, depois de vários testes feito em laboratório, de acordo com os trabalhos de Mastroeni, Gern (2008), Zeraik, Yarinake (2008).

Realizou-se a leitura das absorbâncias de cada uma das diluições preparadas nos comprimentos de ondas máximo do corante amarelo tartrazina bem como do amarelo crepúsculo. A partir desses dados foram construídas as curvas de calibração para o corante amarelo tartrazina, em ambos os comprimentos de ondas lidos, a fim de determinar as absortividades específicas correspondentes.

**Tabela 2** - Diluições do corante Amarelo Tartrazina utilizado.

Diluições	Concentração ( $\mu\text{g/ml}$ )
C1	2,02
C2	4,04
C3	8,08
C4	10,1
C5	16,16
C6	20,2
C7	40,4

### 3.4.2 Amarelo crepúsculo

Pesou-se 0,0397g do corante amarelo crepúsculo (padrão) e avolumou-se em 250 ml de água destilada. A partir desta solução foram feitas diluições sucessivas. As concentrações obtidas encontram-se na **Tabela 3**.

Realizou-se a leitura das absorvâncias de cada uma das diluições preparadas nos comprimentos de ondas máximo do corante amarelo crepúsculo bem como do amarelo tartrazina. A partir desses dados foram construídas as curvas de calibração para o corante amarelo crepúsculo, em ambos os comprimentos de ondas lidos, a fim de determinar as absorvidades específicas correspondentes.

**Tabela 3.** Diluições do corante Amarelo Crepúsculo.

Diluições	Concentração ( $\mu\text{g/ml}$ )
C1	1,588
C2	2,382
C3	4,764
C4	6,352
C5	7,94
C6	9,528
C7	15,88

### 3.5 Determinação da mistura de cromóforos pelo método clássico

Pesou-se 0,05g do corante amarelo tartrazina, avolumou-se em 250ml de água destilada chegando a uma concentração de 202  $\mu\text{g/ml}$ .

Pesou-se 0,04g do corante amarelo crepúsculo, avolumou-se em 250ml de água destilada chegando a uma concentração de 202  $\mu\text{g/ml}$ .

A partir destas soluções foram preparadas diluições das misturas desses corantes de acordo com a **Tabela 4**. Essas concentrações foram encontradas tomando por base os

trabalhos de acordo com os trabalhos de Mastroeni;Gern (2008), Zeraik,;Arinake (2008).

**Tabela 4.** Soluções de mistura dos corantes.

Diluições	Concentração de amarelo crepúsculo ( $\mu\text{g/ml}$ )	Concentração de amarelo tartrazina ( $\mu\text{g/ml}$ )
C1	1,6	2,02
C2	8	2,02
C3	16	2,02
C4	1,6	6,06
C5	8	6,06
C6	16	6,06
C7	1,6	20,2
C8	8	20,2
C9	16	20,2

Realizou-se a leitura das absorvâncias de cada uma das soluções preparadas nos comprimentos de ondas máximo do corante amarelo crepúsculo bem como do corante amarelo tartrazina a fim de se verificar a precisão da técnica de mistura de cromóforos.

### 3.6 Determinação da curva de calibração através do método derivativo

Com as soluções preparadas no item 3.5 **Tabela 4** foram obtidas os espectros de absorção para cada uma das diluições, tanto para o corante amarelo crepúsculo quanto para o corante amarelo tartazina. A resolução da leitura foi de 2nm.

Com os dados obtidos foi determinado o espectro derivativo de primeira ordem das soluções padrões dos corantes. Foi utilizado uma variação ( $\Delta\lambda$ ) de 10 nm. Para a obtenção da função derivativa foi determinada a variação da absorvância entre dois valores adjacentes de absorvância e dividido pela variação do comprimento de onda de leitura de cada valor de absorvância.

### 3.7 Determinação da concentração de uma mistura de cromóforos pelo método derivativo.

Foram utilizadas as soluções que foram preparadas no item 3.5, **Tabela 4**, contendo mistura dos corantes amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina, com concentrações conhecidas. Determinou-se os espectros de absorção para cada uma das diluições. A resolução da leitura foi de 2 nm. Com os dados obtidos foi determinado o espectro derivativo de primeira ordem das soluções padrões dos corantes. Foi utilizado uma variação ( $\Delta\lambda$ ) de 10 nm. Para a obtenção da função derivativa foi determinada a variação da absorvância entre dois valores adjacentes de absorvância e dividido pela variação do comprimento de onda de leitura de cada valor de absorvância.

### 3.8 Determinação da concentração de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo em preparados sólidos.

### 3.8.1 Método clássico

Pesou-se 1,50 g de amostras de preparado sólido de sucos e diluiu-se para um balão de 250 ml. Foram analisadas amostras de 6 marcas diferentes de acordo com o Quadro 1.

Realizou-se a leitura das absorbâncias de cada uma das soluções preparadas nos comprimentos de ondas máximo do corante amarelo crepúsculo bem como do corante amarelo tartrazina a fim de se determinar a concentração desses corantes nas amostras.

**Quadro 1.** Amostras de preparados sólidos analisadas.

SABOR	MARCA
Abacaxi Cajá Caju Laranja	<b>A</b>
Cajá Laranja Manga	<b>B</b>
Laranja	<b>C</b>
Abacaxi	<b>D</b>
Acerola Cajá	<b>E</b>
Graviola	<b>F</b>

### 3.8.2 Método derivativo

Pesou-se 1,50g de amostras de preparado sólido de sucos e diluiu-se para um balão de 250ml. Foram analisadas amostras de 6 marcas diferentes de acordo com o Quadro 1.

Determinou-se os espectros de absorção para cada uma das soluções com as amostras preparadas. A resolução da leitura foi de 2nm. Com os dados obtidos foi determinado o espectro derivativo de primeira ordem das soluções padrões dos corantes. Foi utilizado uma variação ( $\Delta\lambda$ ) de 10nm. Para a obtenção da função derivativa foi determinada a variação da absorbância entre dois valores adjacentes de absorbância e dividido pela variação do comprimento de onda de leitura de cada valor de absorbância.

A partir das curvas de calibração determinadas no item **3.6**, determinou-se a concentração dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo nas amostras.

### 3.8.3 Cálculo da recuperação

Os resultados da recuperação, de acordo com a tabela 8, dos corantes frente às soluções padrão preparada na divisão  $C_1$ , apresentou a maior diferença entre a solução determinada e da solução preparada, isso se deve ao fato da solução  $C_1$  ser a mais diluída entre todas as outras.

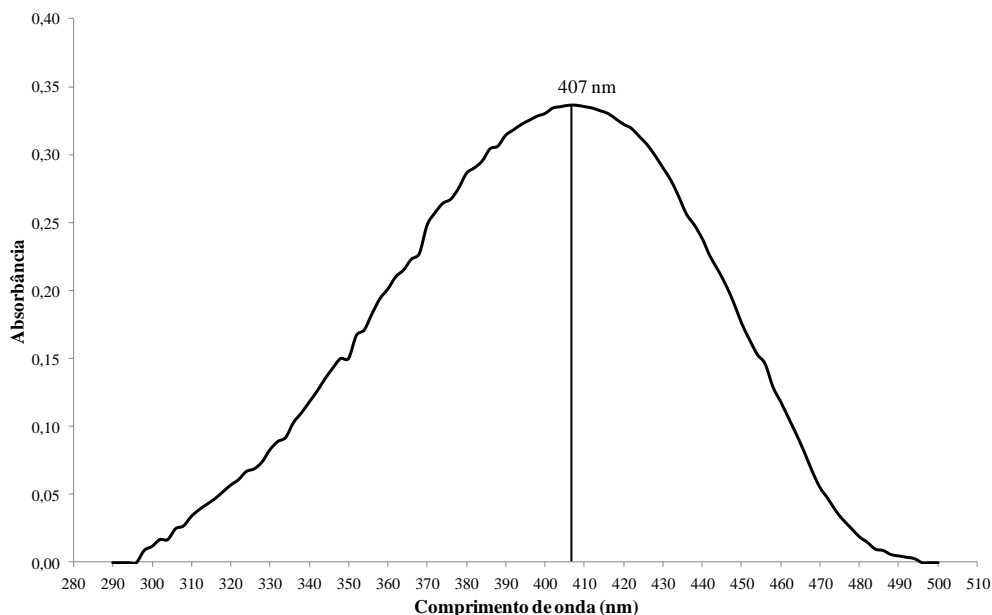
### **3.9 Verificação da rotulagem**

Foi feita a verificação das informações contidas nos rótulos das embalagens dos produtos analisados, que estão descritos no Quadro 1, a fim de comparar com as legislações vigentes, sendo estas: Decreto Lei nº 986/69, cap.III, Art. 13 a 18, 21 e 22; RDC nº 259/2002; Lei nº 10.674, 16/05/2003; RDC 340/2002 e RCD 360/2003 e RDC 359/2003 , se os mesmos encontram-se dentro dos parâmetros de normalidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Determinação do espectro de absorção

A Figura 12 apresenta o espectro de absorção do corante amarelo tartrazina. Pode-se observar que o comprimento de onda de 407nm corresponde à intensidade máxima de absorção dessa substância. Santos et al., (2010) encontraram um valor de absorção máxima de 402 nm, próximo ao observado nesse trabalho.

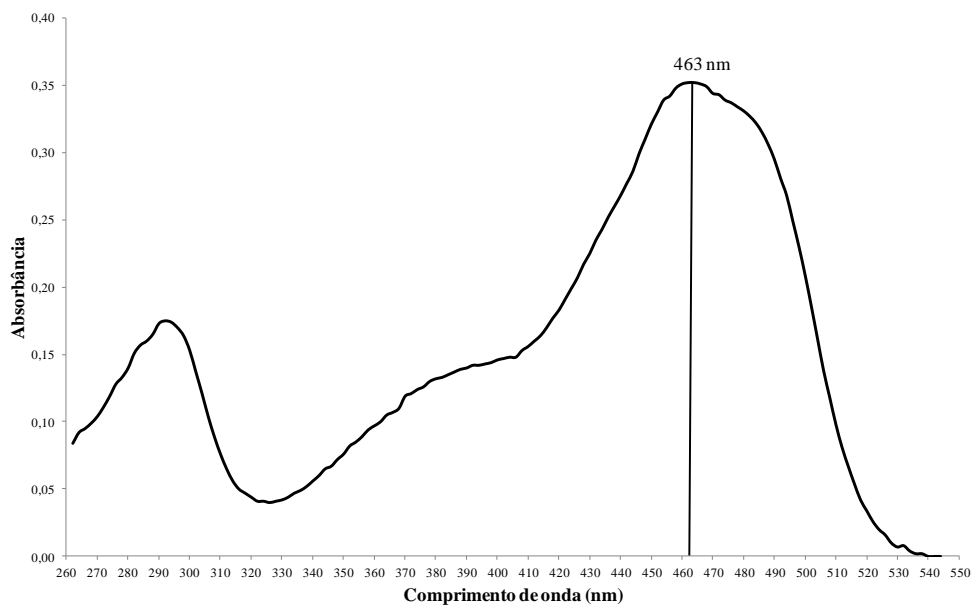


**Figura 12.** Espectro de absorção do corante amarelo tartrazina.

Na Figura 13 observa-se o espectro de absorção do corante amarelo crepúsculo. O comprimento de onda encontrado que corresponde à intensidade máxima de absorção dessa substância foi 463 nm. Santos et al., (2010) encontraram um valor de absorção máxima de 460 nm, próximo ao observado nesse trabalho.

Os comprimentos de ondas de intensidade máxima encontrada ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) serão utilizados nas análises quantitativas posteriores. A utilização desses valores garantirá a melhor sensibilidade dos resultados, de forma a se distinguir entre duas concentrações próximas, dando melhor resposta às amostras muito diluídas.





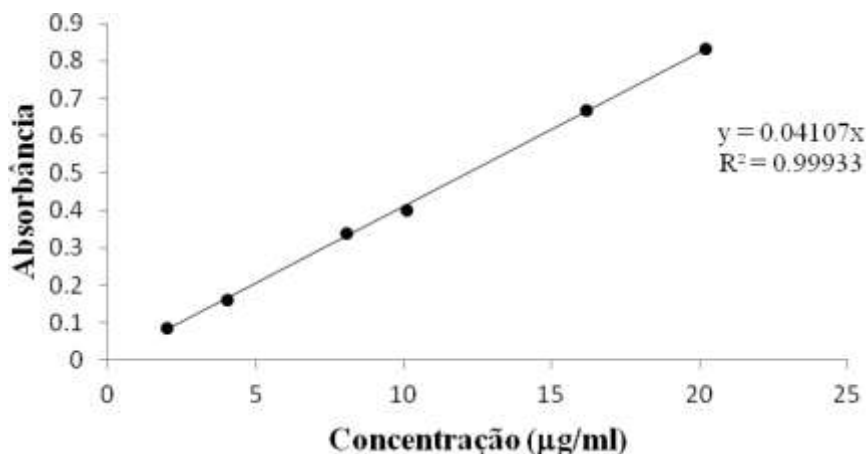
**Figura 13.** Espectro de absorção do corante amarelo crepúsculo.

## 4.2 Determinação da absorvidade específica

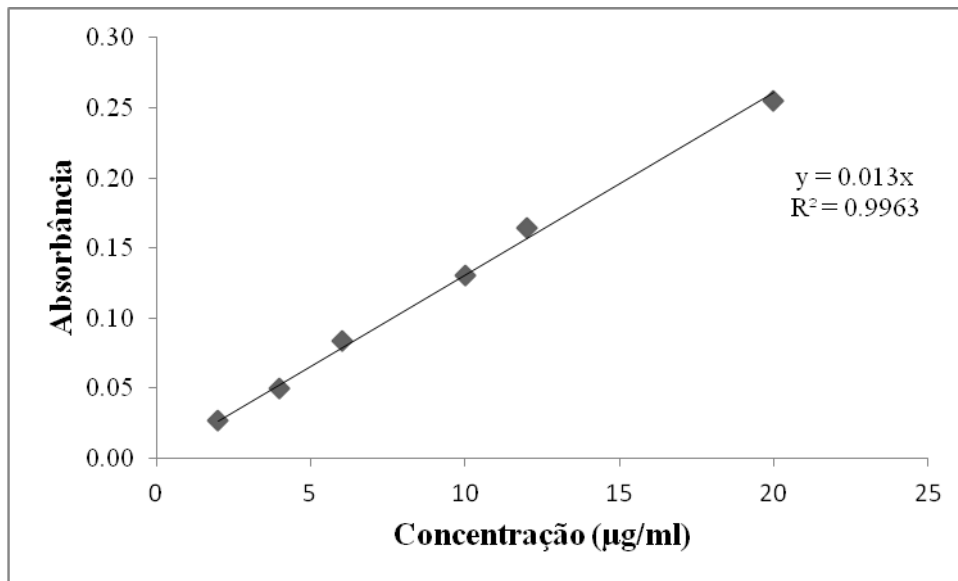
As absorvidades específicas encontradas ( $\epsilon$ ) serão utilizadas nas análises quantitativas posteriores.

### 4.2.1 Amarelo tartrazina

Através das leituras das absorbâncias das soluções apresentadas na **Tabela 2** determinou a curva de calibração do corante tartrazina para os comprimentos de onda 407 nm e 463 nm, Figuras 14 e 15, respectivamente.



**Figura 14.** Curva de calibração do corante amarelo tartrazina a 407 nm.



**Figura 15.** Curva de calibração do corante Amarelo Tartrazina a 463 nm.

Os coeficientes angulares das curvas de calibração representam as absorptividades específicas do corante amarelo tartrazina, uma vez que o caminho ótico representado pelo diâmetro da cubeta é de 1 cm. Na **Tabela 5** têm-se os valores obtidos para os coeficientes de absorptividade nos comprimentos de onda de 407 nm e 463 nm.

**Tabela 5.** Absorptividades específicas do corante amarelo tartrazina.

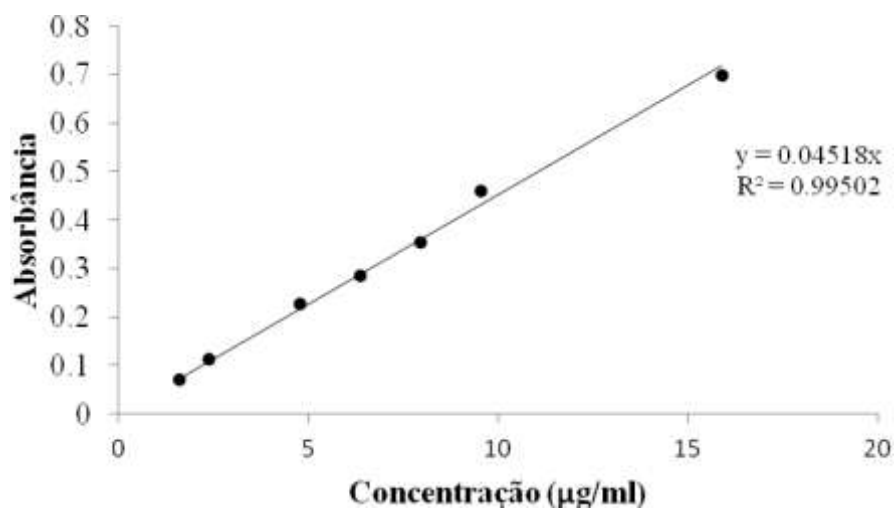
$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ (ml/ $\mu$ g.cm)	$R^2$
407	0,04107	0,9993
463	0,01304	0,9963

As correlações das curvas de calibração ( $R^2$ ) demonstram que os valores experimentais obtidos apresentaram linearidade.

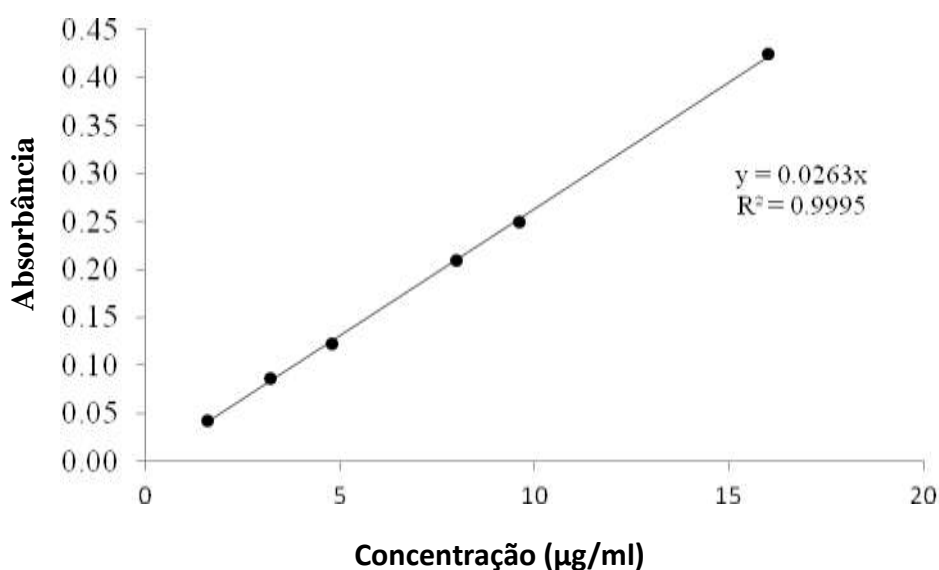
#### 4.2.2 Amarelo crepúsculo

Através das leituras das absorptividades das soluções apresentadas na Tabela 4 determinou a curva de calibração do corante amarelo crepúsculo para os comprimentos de onda de 463 nm e 407 nm, Figuras 16 e 17, respectivamente.

Determinaram-se as absorptividades específicas do corante através dos coeficientes angulares obtidos nas curvas de calibração. Na **Tabela 6**, apresenta os valores obtidos para os coeficientes de absorptividade nos comprimentos de onda de 407 nm e 463 nm.



**Figura 16.** Curva de calibração do corante amarelo crepúsculo a 463 nm.



**Figura 17.** Curva de calibração do corante amarelo crepúsculo a 407 nm.

**Tabela 6.** Absortividades específicas do corante amarelo crepúsculo.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ (ml/ $\mu$ g.cm)	$R^2$
407	0,0263	0,9995
463	0,04518	0,9950

As correlações das curvas de calibração ( $R^2$ ) demonstram que os valores experimentais obtidos apresentaram linearidade.

### 4.3 Determinação da mistura de cromóforos pelo método clássico

Para a determinação das concentrações das misturas de corantes apresentados na **Tabela 4** foram lidas as absorvâncias nos  $\lambda_{\text{máx}}$  dos corantes amarelo crepúsculo (463nm) e amarelo tartrazina (407nm). As concentrações foram obtidas de acordo com a Equação 5.

$$\begin{aligned} Abs_1 &= \varepsilon_1 C_T + \varepsilon_2 C_A(407 \text{ nm}) \\ Abs_2 &= \varepsilon_3 C_T + \varepsilon_4 C_A(463 \text{ nm}) \end{aligned} \quad (5)$$

Onde:

$Abs_1$ : absorvância da mistura lida à 407 nm	$\varepsilon_3$ : absorvidade específica do corante amarelo tartrazina a 463nm
$Abs_2$ : absorvância da mistura lida à 463 nm	$\varepsilon_4$ : absorvidade específica do corante amarelo crepúsculo a 407 nm
$\varepsilon_1$ : absorvidade específica do corante amarelo tartrazina a 407 nm	$C_T$ : concentração do corante amarelo tartrazina ( $\mu\text{g/ml}$ )
$\varepsilon_2$ : absorvidade específica do corante amarelo crepúsculo a 407 nm	$C_A$ : concentração do corante amarelo crepúsculo ( $\mu\text{g/ml}$ )

A **Tabela 7**, apresenta os resultados da recuperação dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo frente soluções padrão preparada. Observa-se que a diluição C1 apresentou a maior diferença entre a concentração experimental determinada e a concentração da solução preparada. Este fato pode estar relacionado com fato de que a solução C1 é a mais diluída entre todas as soluções preparadas. O melhor resultado apresentou-se com a diluição C5 que apresenta um valor intermediário de diluição, com concentração próxima entre as concentrações dos dois corantes.

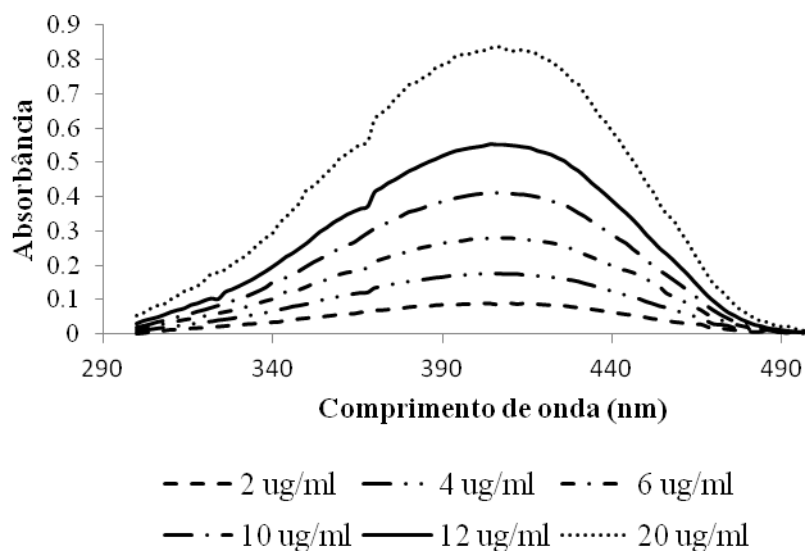
A média de recuperação do corante amarelo tartrazina foi de 98,6% enquanto que do corante amarelo crepúsculo foi ligeiramente melhor com valor de 99,2%, sendo ambas as médias satisfatórias. Entretanto, em relação ao desvio padrão calculado para ambos os corantes pode-se dizer que os valores obtidos variaram bastante em relação a média (10%) o que significa que de forma geral os valores calculados possuem uma grande incerteza em relação a concentração original.

**Tabela 7.** Percentual de recuperação da mistura de corantes.

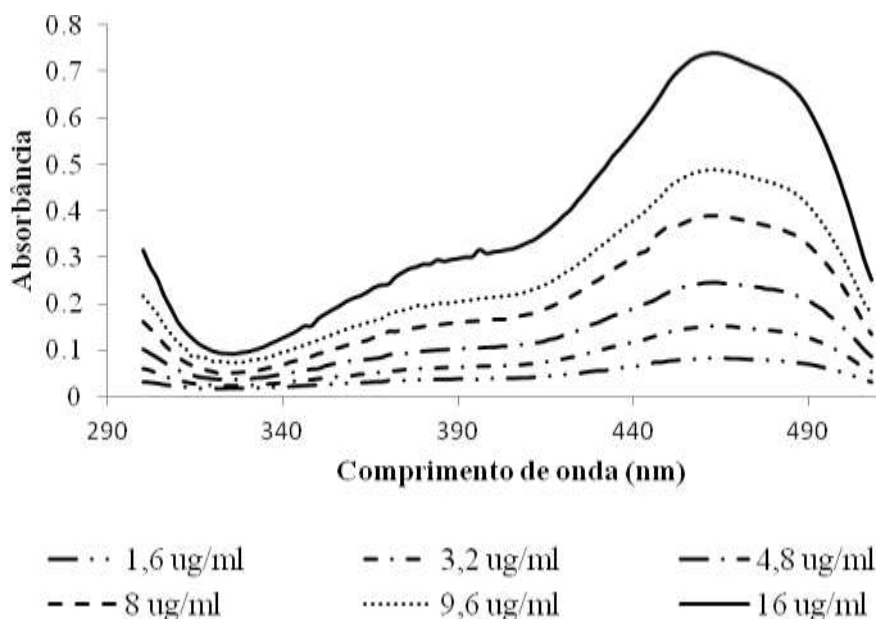
Diluições	Amarelo Tartrazina			Amarelo Crepúsculo		
	Conc. Encontrada (µg/ml)	Conc. real (µg/ml)	% recuperação	Conc. Encontrada (µg/ml)	Conc. real (µg/ml)	% recuperação
C1	2,30	2,02	114,2	1,9	1,6	121,6
C2	1,89	2,02	93,6	7,7	8	97,5
C3	1,99	2,02	98,9	15,6	16	97,8
C4	4,97	6,06	82,0	1,6	1,6	104,0
C5	5,99	6,06	99,0	8,0	8	100,9
C6	5,19	6,06	85,7	15,9	16	99,6
C7	21,1	20,2	104,5	1,3	1,6	82,7
C8	21,3	20,2	105,9	7,3	8	92,1
C9	20,8	20,2	103,4	15,4	16	96,4
			Média = 98,6			Média = 99,2
			Desv. Padrão = 10,1			Desv. Padrão = 10,4

#### 4.4 Determinação da curva de calibração através do método derivativo

Os espectros de absorção para os corantes amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina das soluções padrões (Tabelas 2 e 3) estão apresentados nas Figuras 18 e 19, respectivamente.



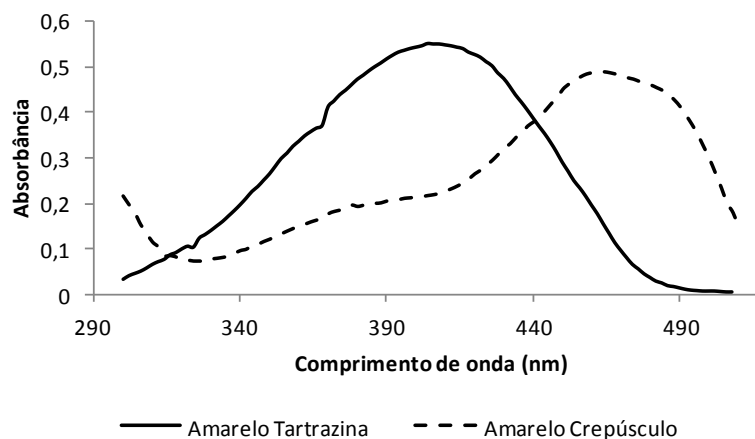
**Figura 18.** Espectros de absorção do corante amarelo tartrazina em diferentes concentrações.



**Figura 19** Espectros de absorção do corante amarelo crepúsculo em diferentes concentrações.

Como pode ser observado nas Figuras 19 e 20, o aumento da concentração das soluções padrões dos corantes acarreta na elevação do valor lido de absorbância, como já era esperado de acordo com a lei de Lambert-Beer, demonstrando uma dependência da concentração com a absorbância. Observa-se também, que a característica dos espectros de absorção não se altera com a elevação da concentração, o que demonstra que o comportamento das substâncias não se modifica com o aumento da concentração.

Na Figura 20 pode-se comparar os espectros de absorção dos corantes analisados em que apresentam comportamento característico para cada substância, onde seus máximos de absorção ocorrem em comprimentos de onda distintos.

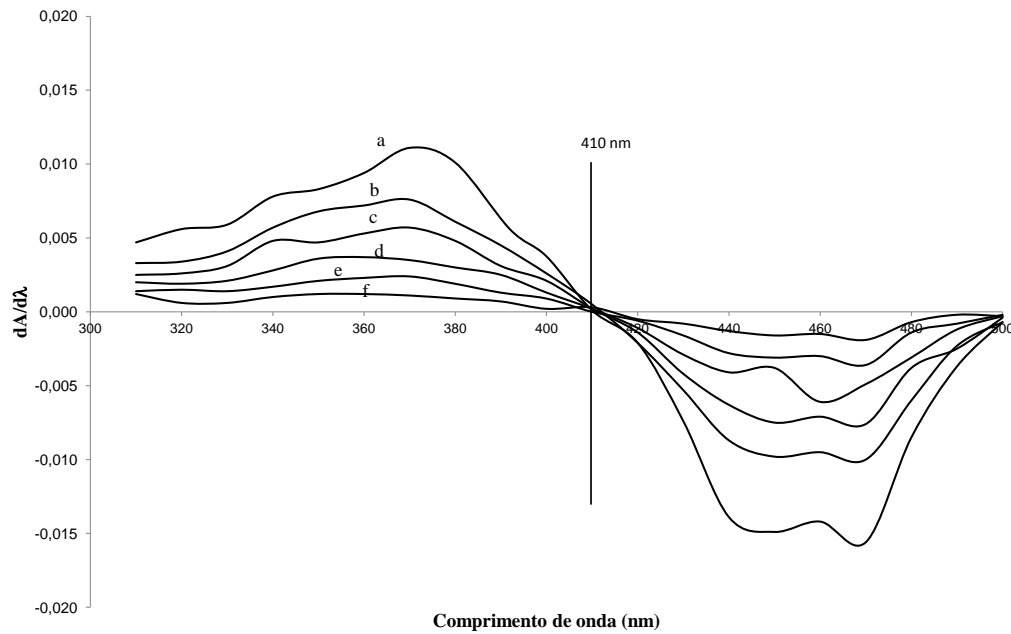


**Figura 20.** Espectros de absorção do corante amarelo crepúsculo em diferentes concentrações.

A Figura 21 ilustra o espectro da derivada de primeira ordem do corante amarelo

tartrazina em diferentes concentrações. As curvas mostram que no comprimento de onda de 410 nm é onde ocorre o sinal zero, isto é, não há leitura da derivada neste comprimento de onda, sendo então ideal para análise de misturas de cromóforos, pois eliminaria a interferência deste corante.

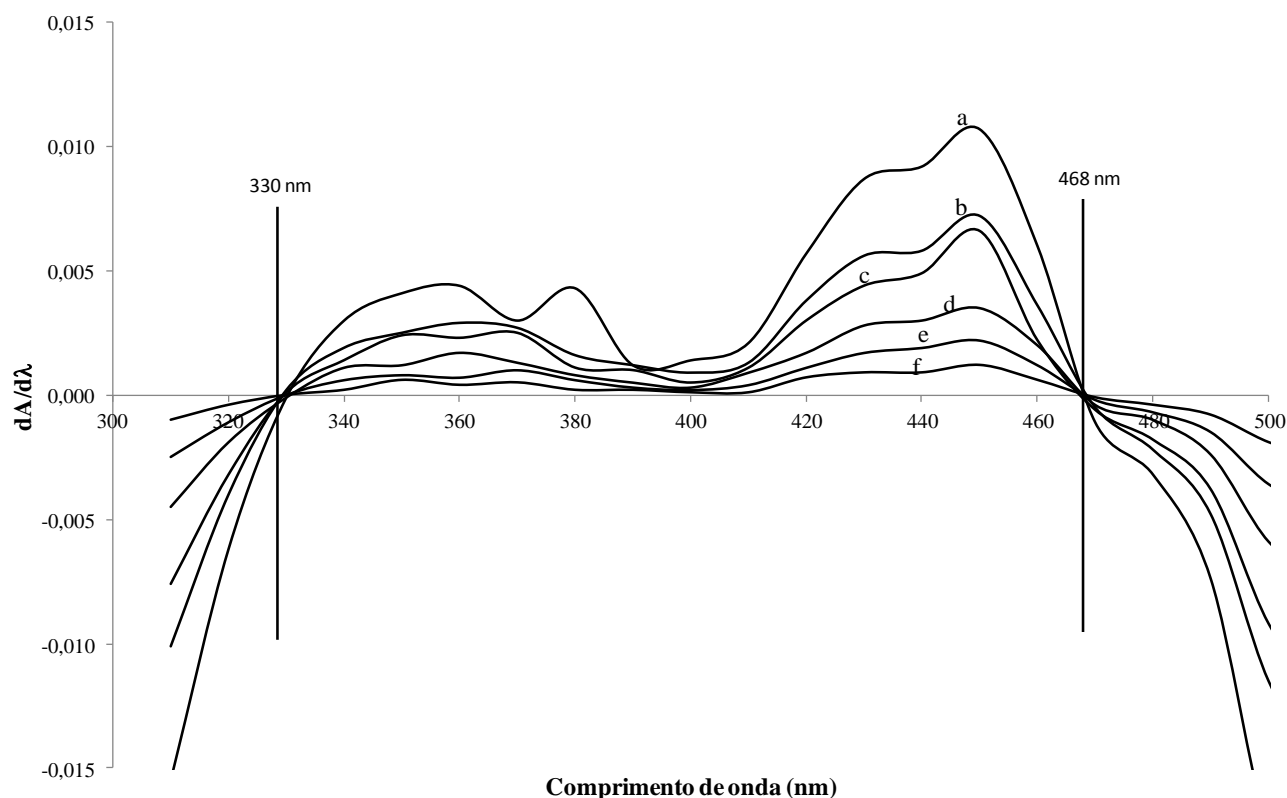
A mesma análise foi realizada para o corante amarelo crepúsculo (Figura 22). Para este corante foram encontrados 2 sinais zeros distintos, em 330 nm e 468 nm o que possibilita utilizar dois comprimentos de ondas na análise da misturas de cromóforos.



**Figura 21.** Espectro da derivada de primeira ordem do corante amarelo tartrazina em diferentes concentrações

Onde:

- a** = 2  $\mu\text{g/ml}$
- b** = 4  $\mu\text{g/ml}$
- c** = 6  $\mu\text{g/ml}$
- d** = 10  $\mu\text{g/ml}$
- e** = 12  $\mu\text{g/ml}$
- f** = 20  $\mu\text{g/ml}$



**Figura 22.** Espectro da derivada de primeira ordem do corante amarelo crepúsculo em diferentes concentrações.

Onde:

**a** = 1,6 $\mu$ g/ml

**b** = 3,2 $\mu$ g/ml

**c** = 4,8 $\mu$ g/ml

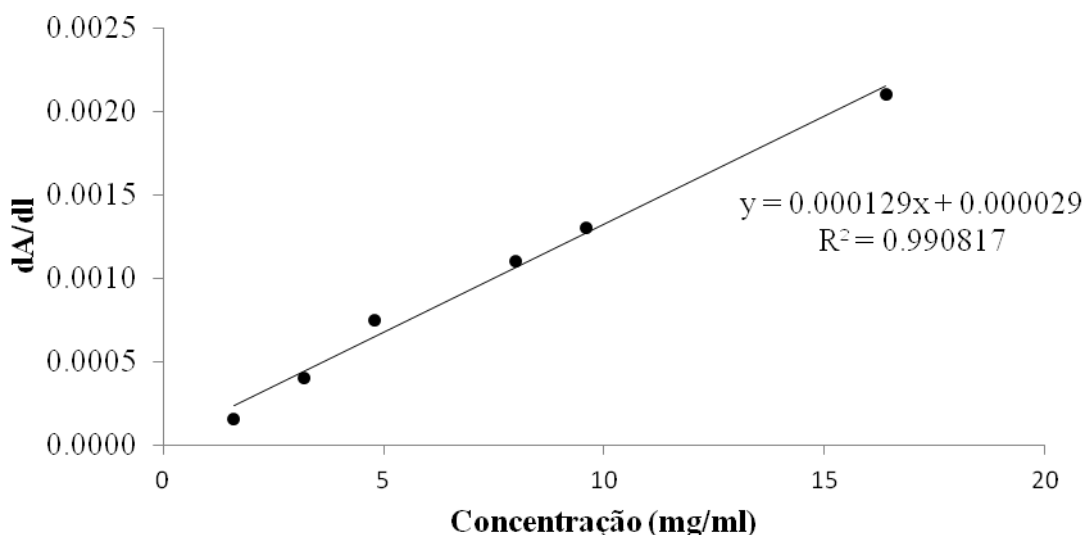
**d** = 8 $\mu$ g/ml

**e** = 9,6 $\mu$ g/ml

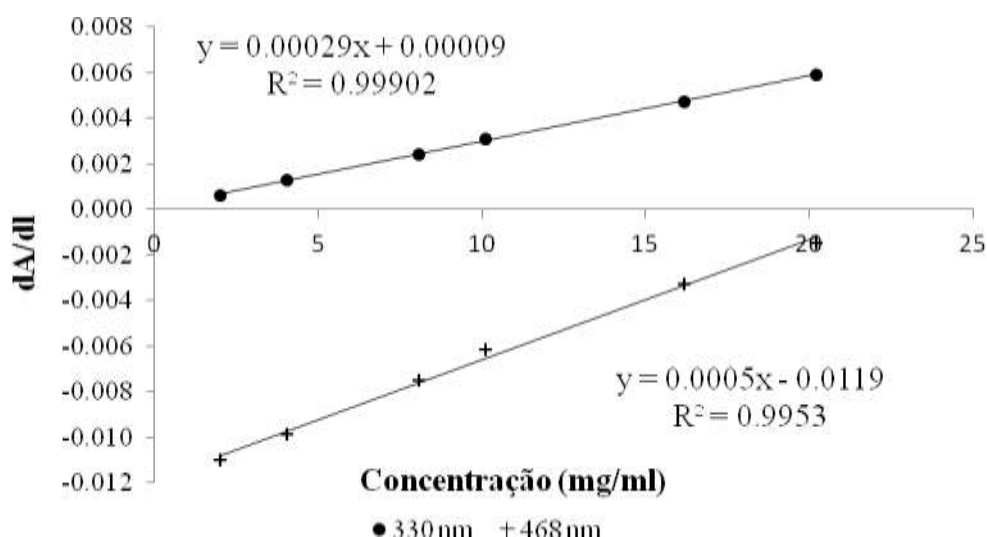
**f** = 16 $\mu$ g/ml

Com a determinação dos zeros dos espectros derivados pode-se obter as curvas de calibração para o método derivativo. Para obtenção da curva de calibração do corante amarelo crepúsculo foi lido os valores das derivadas ( $dA/d\lambda$ ) em cada uma das concentrações disponíveis no comprimento de onda de 410nm (Figura 23). A curva de calibração do corante amarelo tartrazina foi obtida através da leitura dos valores das derivadas ( $dA/d\lambda$ ) em cada uma das concentrações disponíveis nos comprimentos de onda de 330 nm e 468 (Figura 24).





**Figura 23.** Curva de calibração do corante amarelo crepúsculo.



**Figura 24.** Curva de calibração do corante amarelo tartrazina.

#### 4.5 Determinação da concentração de uma mistura de cromóforos pelo método derivativo

Realizou-se a varredura das soluções com a mistura de corantes com concentrações conhecidas, para obtenção dos espectros de absorção e após determinou-se o espectro da derivada de primeira ordem. Obteve-se então os valores de  $dA/d\lambda$  das curvas referentes aos comprimentos de onda de 330 nm, 410 nm e 468 nm, onde ocorrem os sinais zero das derivadas dos padrões de cromóforos. Desses valores determinou-se a concentração dos corantes estudados (**Tabela**).

**Tabela 8.** Percentual de recuperação da mistura de corantes.

Diluições	Amarelo Tartrazina ( $\mu\text{g/ml}$ )				Amarelo Crepúsculo ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	Conc. Encontrada a 330nm	Conc. Encontrada a 468nm	Conc. Real	% Recuperação	Conc. Encontrada a 410nm	Conc. Real	% Recuperação	
C1	1,99	2,03	2,02	98,5	100,5	1,69	1,6	105,6
C2	2,01	2,04	2,02	99,5	101,0	7,89	8	98,6
C3	2,00	2,03	2,02	99,0	100,5	15,77	16	98,6
C4	6,01	6,11	6,06	99,2	100,8	1,65	1,6	103,1
C5	5,97	6,12	6,06	98,5	101,0	8,05	8	100,6
C6	6,03	6,09	6,06	99,5	100,5	16,21	16	101,3
C7	20,12	20,78	20,2	99,6	102,9	1,57	1,6	98,1
C8	19,99	20,66	20,2	99,0	102,3	8,13	8	101,6
C9	19,94	20,81	20,2	98,7	103,0	16,57	16	103,6
			Média =	99,1	101,4			101,2
			Desv.Pad=	0,4	1,0			2,6

A **Tabela 8** apresenta os resultados da recuperação dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo frente soluções padrão preparada. A média de recuperação do corante amarelo tartrazina foi de 99,1% para a leitura a 330 nm e 101,4% na leitura a 468 nm, enquanto que a recuperação do corante amarelo crepúsculo foi de 101,2%. Observando-se os desvios padrões calculados, pode-se dizer que não houve muito desvio entre os valores calculados, mostrando que essa técnica apresentou boa consistência nos resultados.

#### 4.6 Determinação da concentração de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo em preparados sólidos

A **Tabela 9** apresenta as concentrações dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo obtidas nos preparados sólidos analisados.

**Tabela 9.** Concentração de corantes nas amostras de preparado sólido.

SABOR MARCA		CONCENTRAÇÃO (mg/100g)			
		Método Clássico		Método Derivativo	
		Tartrazina	Amarelo Crep.	Tartrazina	Amarelo Crep.
Abacaxi		0,24	0,05	0,20	0,04
Cajá	A	0,94	0,67	0,91	0,63
Caju		0,20	0,045	0,17	0,04
Laranja		1,28	1,10	1,30	1,12
Cajá		1,81	1,28	1,85	1,34
Laranja	B	1,33	1,21	1,39	1,27
Manga		2,51	2,28	2,56	2,36
Laranja	C	1,02	0,93	1,04	0,92
Abacaxi	D	0,44	0,10	0,41	0,09
Acerola	E	0,72	0,65	0,70	0,61
Cajá		0,50	0,36	0,49	0,33
Graviola	F	0,84	0,59	0,81	0,56

A Resolução GMC nº 52/98 trata dos critérios para determinação das funções dos aditivos e seus limites máximos para todas as categorias de alimentos.

De acordo a legislação, o valor recomendado tanto para Amarelo Tartrazina e Amarelo crepúsculo é de 0,01mg/100 g. Observando a Tabela 10, verifica-se que todos os valores, tanto do método clássico quanto do método derivativo, estão dentro dos especificados pela Legislação. Comparando os valores do método derivativo representados na tabela 10, com os valores com método clássico, observa-se que estão aproximados, trazendo segurança em relação ao método proposto.

De acordo com o trabalho de Martins et al., (2010), realizado pelo método clássico, em 21 amostras de preparado sólidos para refrescos ("sucos em pó") nos sabores laranja, manga, maracujá e tangerina, todas as amostras estavam dentro do limite permitido pela legislação (até 100 mg/L).

No trabalho de Prado e Godoy (2007), foram analisados guloseimas, com balas de mascar e confeites de chocolate coloridos artificialmente e marcas de cereais matinais, sendo que nos produtos de goma de mascar, 9 das 27 amostras analisadas, foram encontrados valores maiores que os autorizados pela legislação. No sabor limão do fabricante A, foi encontrado cinco vezes mais corante que o permitido para AC e AT.

De acordo com o trabalho de Vidotti e Rollemberg (2006), o método derivativo proposto foi aplicado a amostras de pós para gelatina e pós para suco, aplicado com sucesso e os valores encontrados dentro do limite autorizado pela legislação.

#### **4.7 Verificação da rotulagem dos preparados sólidos para refresco à Legislação Vigente**

Foi observado que os produtos das marcas A, B, C, D, E e F, de sobores: abacaxi, cajá, caju e laranja; cajá, laranja e manga; laranja; abacaxi; acerola e cajá; graviola, respectivamente, encontram-se dentro dos parâmetros de normalidade, segundo as legislações: Decreto Lei nº 986/69, cap.III, Art. 13 a 18, 21 e 22; RDC nº 259/2002; Lei nº 10.674, 16/05/2003; RDC 340/2002 e RCD 360/2003 e RDC 359/2003. Estando estes apropriados para o consumo humano.

#### **4.8 Levantamento dos tipos dos corantes presentes nas amostras estudadas**

Verificou-se nos rótulos de todas as amostras estudadas apenas a presença de dois corantes: amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo.

Este resultado confirma que os produtos analisados atendem as especificações descritas no Decreto-Lei nº 986/69, onde descreve que só é permitido a adição de apenas três corantes em preparados sólidos.

## 5 CONCLUSÕES

A metodologia proposta neste trabalho configura-se, assim, em alternativa vantajosa e viável para a solução de problemas espectrais de sobreposição de mais de um componente.

A grande vantagem da utilização da espectrofotometria de derivadas está relacionada com a possibilidade de se minimizar os problemas com interferentes, sem complicados procedimentos de separação ou extração, além da grande possibilidade de validação do método no doseamento simultâneo, aliado ao baixo preço.

As curvas de calibração do corante Amarelo Tartrazina e Amarelo Crepúsculo para os comprimentos de onda 407nm e 463nm, demonstram que os valores experimentais obtidos apresentam linearidade.

Observa-se que os resultados da recuperação dos corantes frente às soluções padrão preparada na diluição C1, apresentou a maior diferença entre a solução determinada e da solução preparada, sendo que o acontecido se deve ao fato da solução C1 ser a mais diluída entre todas as outras. O melhor resultado apresentou-se com a diluição C5, por apresentar um valor intermediário de diluição, com concentrações próximas entre as concentrações dos dois corantes, devido a interferentes na amostra.

A média de recuperação do corante Amarelo Tartrazina foi de 98,6%, enquanto que do corante Amarelo Crepúsculo foi ligeiramente melhor que o valor de 99,2%, sendo ambas satisfatórias.

Em relação ao desvio padrão calculado ambos os corantes tiveram valores obtidos muito variados em relação a média (10%), significando que de forma geral os valores calculados possuem uma grande incerteza em relação a concentração original.

De acordo com a determinação da curva de calibração através do método derivativo, observou-se que a mesma encontra-se de acordo com a Lei de Lambert-Beer, demonstrando dependência da concentração com a absorbância e que os comportamentos das substâncias não se modificam com o aumento da concentração.

As técnicas de determinação da concentração de uma mistura de cromóforo pelos métodos clássico e derivativo apresentam boa consistência nos resultados.

As concentrações de corantes nas amostras de preparados sólidos pelo método clássico e derivativo encontram-se com valores recomendados pela legislação.

A rotulagem dos produtos estão dentro das normas da Legislação e foram verificadas a presença unicamente dos corantes AT e AC nas amostra escolhidas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, L.M.G; ARAUJO, M.C.P. **Mutagenicidade e autimutagenicidade dos principais corantes para alimentos.** Revista de Nutrição, v.13,n.2,p.81-88, maio/ago., 2000.

ASBIA – Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação – **Compêndio da Legislação de Alimentos:** consolidação das normas e padrões de alimentos. 8 ed. São Paulo: ABIA, v. 1, 2001.

BEAUDOUNG, E. et al. **Food anaphylaxis following ingestion of carmine** *Ann Allergy Asthma Immunol.*, v. 74, p. 427-430, 1995.

BEEBE, K. R.; KOWALSKI, B.R.**An Introduction for Multivariate Calibration and Analysis.** *Analytical Chemistry*, v. 59, n. 17, p. 1007-1017, 1987.

BENAMOR, M.; AGUERSSIF, N. **Simultaneous determination of calcium and magnesium by derivative spectrometry in pharmaceutical products.** *Spectrochimica acta Part A*, v. 69, p. 676-681, 2008.

BERDICK, M. **Safety of foods colors** In: HANTHCOCK, J.N. (Ed) **Nutritional toxicology.** New York: Academic. Press. v. 1, p. 383-434, 1982.

BIZZOZERO, N.; MICHELI, G. **Desorch and indentification of natural and bysthetic coloring agents in sample of grochi.** *Ind. Alim.*; v. 35,. p. 1300-1303, 1996.

BRASIL. Decreto Lei Nº 986 de 21 d outubro de 1969. Instrui normas básicas sobre alimentos. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 21. 10. P. 9737, 1969.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 544, 16 nov. 1998. Aprova os padrões de identidade e qualidade, para refresco, refrigerante preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo. **Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 nov., p. 23-30, 1998.

\_\_\_\_\_.Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Portaria no 544 de 16 de novembro de 1998. Regulamento técnico para fixação dos produtos de identidade e qualidade para preparado sólido para refresco. **Diário Oficial da União,[da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, **Seção I, 17/11/1998, pag 90.** Disponível em: <[http://www.in.gov.br/legisl/resol/544\\_98.htm](http://www.in.gov.br/legisl/resol/544_98.htm). Acessado em 22 de ab. 2011.

\_\_\_\_\_. Resolução CNNPA nº 44 de 25 de novembro de 1977. Resolveu estabelecer as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes. **Diário Oficial da União,[da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, Seção I, 01/02/78 e 24/04/78.** Disponível em: <[http://www.in.gov.br/legisl/resol/44\\_77.htm](http://www.in.gov.br/legisl/resol/44_77.htm). Acessado e: 22 de ab. 2011.

\_\_\_\_\_. Resolução CNS/MS nº 04 de 24 de novembro de 1988. Critérios e seus limites para o consumo de alimentos. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 19.12.1988. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/389\\_88.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/389_88.htm)>. Acessado em: 24 de agosto de 2012.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 389 de 05 de agosto de 1999. Regulamento que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 16: bebidas – subcategoria 16. 2.2 – Bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF 9 de agosto 1999. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/389\\_99.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/389_99.htm)>. Acessado em: 24 de agosto de 2012.

\_\_\_\_\_. Resolução nº. 259 de 20 de setembro de 2002. Mercosul relacionados à rotulagem de alimentos embalados. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/259\\_02.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/259_02.htm)>. Acessado em: 02 de maio de 2012.

\_\_\_\_\_. Resolução nº. 340, de 13 de dezembro de 2002. Art. 1º, as empresas fabricantes de alimentos que contenham na sua composição o corante tartrazina (INS 102) devem obrigatoriamente declarar na rotulagem, na lista de ingredientes, o nome do corante tartrazina por extenso. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/340\\_02.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/340_02.htm)>. Acessado em: 02 de maio de 2012.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/359\\_03.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/359_03.htm)>. Acessado em: 22 de agosto de 2012.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/360\\_03.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resolucao/360_03.htm)>. Acessado em: 22 de agosto de 2012.

\_\_\_\_\_. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Conceito de corantes artificiais. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portaria/540\\_97.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portaria/540_97.htm)>. Acessado em: 24 de agosto de 2012.

CALEGUER, V.F. Busca de informação. **Avaliação sensorial de preparados sólidos para refresco sabor laranja: análise descritiva, aceitabilidade e impactos da embalagem na intenção de compra**. Londrina: 2005, p. 159. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina.

CHAVES et al. **Absorção de índigo carmim em biomassas mortas de aspergillus Níger**. Eng. Sanit. Ambiente., 13 (4), p. 351-355, 2008

CLYDESDALE, F. M. Color as a factor in food choice, **Crit. J. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33. n 1, p. 83-101. 1996.

CHISTIAM, G. D. **Analytical Chemistry**, John Wiley E Sons, Inc., 5 ed. 1994.

CSERHÁTI, T. et al. Use of multistep gradient elution to model gradient separation in HPLC. **J. Planar Chromatogr**, v.11, p. 34-37, 1998.

DIRETIVA 95/45/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 26 de julho de 1995. **Diário Oficial das comunidades Europeias**, p. 1, L226 de 22.9.1995.

DINÇE.; KAYA, S.; DOGANAY, T.; BALEANN, D. Continuous wavelet and derivative transforms for the simultaneous qualitative analyses and dissolution test of levodopa – ben serazide tablet's. **Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n.44, p.991-995, 2007.

DEL GIOVINE, L.; BOCCA, A.P. **Determination of synthetic dyes in ice-cream by capillary electrophoresis**. Food Control, v.14, p. 131-135, 2003.

DOMINGUEZ, T.B.; DIEGO, F.G.; MENDEZ, J.P.H. Determination of sunset yellow and tartrazine by differential pulse polarography. **Talanta**, v. 37, n.6, p.655-658, 1990.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our food in the last and next millennium. **Int. J. Food. Sei. Technol**, v.35, p.5-22, 2000.

FABRI, et al. FAST – **Fabricação de preparado sólido para refresco**. Trabalho de conclusão de curso em Gestão Empresarial, Fundação Getúlio Vargas, Programa FGV management. Abril, 2004.

FREITAS, S. K. B. **Uma metodologia para screening analysis de sucos cítricos utilizando um analisador automático em fluxo-batelada**, espectrometria Uv-Vis e técnicas quimiométricas, João Pessoa, 2006.

GARCIA, P.L; SANTORO, M. I.R.M, Kedor – HACKMAN, E.R.M, SINGH, A.K. Development and Validation of a HPLC and a UV derivative spectrophotometric methods for determination of nystatin in gel and cream preparations. **Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 39, p.764-768, 2005.

GHORPHADE, V. M.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Food Colors In: **Food additive toxicology**. Manga, J.A, Tu, A.T (Eds) Marcel Dekker, Inc., New York, 1995.

GOLDBER, A. L.; CALVEY, R. J. Automated HPLC determination of intermediates and Sid reaction products in FDC. red, n° 3, J. Ass. Off. **Anal. Chem.** V. 65, n1, p. 103-107, 1982.

HARRIS, D. C., BONAPACE, J. A. P., BARCIA, O. E. **Análise Química Quantitativa**, 6 ed., editora LTC, 2005.

HOLLER, F. J; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Principios de análise instrumental**. 6 ed. Editora Bookman: 2009.



KAPOR, M. A., et al. Eletroanálise de corantes alimentícios: Determinação de índigo carmin e tartrazina **Revista Eclética. Quím**, vol.26: São Paulo, 2001.

KAPOR,.; KHANDAVILLI, S.; PACHAENULA, R. Simultaneous determination of lamivudine and stavidine in antiretroviral fixed dose combinations by first derivative spectrophotometry and high performance liquid chromatograph. **Journal of pharmaceutical and biomedical Analysis**, n.41, p. 761-765, 2006.

LASTRA, O.C., et al. Development and validation of and UV derivative spectrophotometric determination of lasartan potassium in tablets. **Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n.33, p.175-180, 2003.

LEDERER, J. **Alimentação e câncer**. São Paulo: Manole Dois, p. 279, 1990.

LYKOS, P. The Beer – Lambert Law revisited a development without calculus. **J.Chem Educ**, v.69, p.730-732, 1992.

MACHINSKI, M. JR. **Food Addit Contam**, n.15, p.481, 1998.

MARKOUIK, B., et al. An application of second – order UV – derivative spectrophotometry for study of solvolysis of a novel flucinolone acetone ester. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, n.75, p. 930-935, 2010.

MARMION, D. M. **Handbook of U.S. colorants: foods, drugs, cosmetics, and medical devices**, 3 ed. John / Wiley & Song. USA. p. 375. 1991.

MARKOVIK ,B ., et al. An application of second-order uv-derivative spectrophotometry for study of solvolysis of a novel fluocindoneacetone ester. *Spectrochimica Acta Part A. Molecular and Biomelecular Spectroscopy*, v.75, p.930- 935, 2010.

MARTINS, C. G; OLIVEIRA, A. L. A.; KAWASHINAS, L. M. **Determinação de corante Tartrazina em Bebidas Nacionais não alcoólicas**. 2010.

MASTROENI, M.; GERN, R. Bioquímica – Práticas adaptadas. **Atheneu**, cap.2, 2008.

PAVANELLI, S.P. **Degradação de corantes da indústria alimentícia por processos oxidativos e redutivos**: monitoramento por espectrofotometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS) Belo Horizonte: FMG, 2010, 101p. (Dissertação de Mestrado em Química Analítica).

PERALTA, Z. P., et al. Spectrophotometric **determination of organic dye mixtures by using multivariate calibration**, *Talanta*, v. 47, p.77-84, 1998.

PONTES, Leonardo Vieira. **Avaliação sensorial instrumental da cor de misturas em pó para refresco, bebida isotônica e gelatina utilizando corantes naturais**. Viçosa: UFC, 2003, 84 p. (Dissertação Mestrado em Ciências dos alimentos).

PRADO, M.A. **Desenvolvimento e comparação de técnicos analíticos, cromatografia a líquido de alta eficiência e eletroforese capilar na determinação de corantes artificiais.** Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas: SP, 2003.

PRADO, M.; ABUJAMARA, F.; GODOY, H. **Análise de corantes em chás aromatizados.** Revista Analytica, nº 5: Unicamp, 2003.

PRADO, M. A.; GODOY, H..T. Synthetic dyes in foods. **Alim. Nutr. Araraquara**, v. 14, p. 237-250, 2003.

\_\_\_\_\_. Determinação de corantes artificiais por Cromatografia líquida por Alta Eficiência (CLAE) em pó para gelatina. **Quím. Nova**, vol. 27, nº 1, 22-26, 2004.

\_\_\_\_\_. **Metodologia para determinação de corantes artificiais em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência.** Dissertação de Mestrado em Ciências de Alimentos, FEA, UNICAMP, Campinas, 1998.

\_\_\_\_\_. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química nova**, vol. 30, nº 2, 268-273, 2007.

PUTTERMANS, M.L.; DRYON, L.; MASSART, D.L. Isolation, identification and determination of food dyes following ion-pair extraction. **J. Ass. Off Anal. Chem.**, v. 65, p. 737-744, 1982.

QUEIJA, C. da.; QUEIROZ, M.A.; RODRIGUES, L.M. A Cor dos alimentos. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 80, p. 6-11, 2001.

RANGNO, G.; JOELE, G. da.; LUCA, M.; GAROFALO, A. ;GRANDE, F. ; RISOLI A. **A critical study on the application of the zero – crossing derivative spectrophotometry to the photo degradation monitoring of lacidipine.** Journal of Pharma central and Biomedical Analysis: n. 42 , p.39 – 45, 2006.

REYES,F,G.R.; PRADO,M.A. **Notícias ILSI**, n.9, v. 4, 2001.

RIEDEL, G. **Controle Sanitário dos alimentos.** São Paulo: Loyola, p.445,1987.

ROCHA,F,R,P.; TEIXEIRA, L.S.G. **Quim.Nova.** p.27, 807. 2004,

RODRIGUES, M.A. **Corantes artificiais, caramelos inorgânicos.** Arinos Química Ltda, 2008.

ROJAS, F.S.; OJEDA, C.B. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004-2008. **Analytica Química Acta**, v.635, p. 22-44, 2009.

SANTOS, M. E.; NAGATA, N. **Determinação espectrofotométrica simultânea de corante amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo via regressão por componentes principais.** UEPECI. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng., Ponta Grossa, 11 (1): 51-60, abr. 2004.

SANTOS, M. E.; DEMIATE, I. M.; NAGATA, N. **Determinação simultânea de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculos em alimentos via espectrofotometria UV-VIS e métodos de calibração multivariada.** Campinas: 2010.

SANTOS, M. E. **Análise simultânea dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo por espectrofotometria, Uv vis, empregando se métodos de calibração multivariada.** Ponta Grossa, 2005.

SKOOG, D.A., HOLLER, F.J., Nieman,T.A. **Princípios de Análise Instrumental.** 5 ed., editora Bookman, 2002.

SKOOG. D. A., et al. **Fundamentos de química Analítica.**8 ed. Editora: Thomsom Learning,2005

SKOOG, D. A., WEST, D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentals of Analytical Shemistry, Saunders College Publishing.** 7 ed. 1995.

SOUZA, A. Q. **Comportamento hidrocópico e avaliação física, fisicoquímica e mineral do preparado sólido para refresco nos sabores manga, laranja, maracujá e abacaxi.** Fortaleza: UFC, 2007, 103 p. (Dissertação Mestrado em Ciências dos Alimentos).

TAKAHASHI, M. Y.; YABIKU, H. Y.; MARSIGLIA, D. A. P. Determinação quantitativa de corantes artificiais em alimentos. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 48, p. 7-15, São Paulo: 1988.

TAKASHIMA, K; TAKATA, N.H; NAKAMURA, W.M. **Separação e identificação de corantes sintéticos para fins alimentícios solúveis em água.** Semira 9 (4), p.171-174, 1988.

TOPUZ, S.; OZAHAN, G.; ALPERTUNGA, B. Simultaneous determination of various pesticides' in fruit juices by HPLC- DAD. **Food Control**, n.16, p.87-92, 2005.

VIDOTTI,E.C.; ROLLEMBERG, M. do.C.E. **Espectrofotometria derivativa:** uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 230-233, 2006.

VIDOTTI,E.C.; COSTA,W.F.; OLIVEIRA,C.C. Development of a Green chromatographic method for determination of colorants in food samples. **Talanta**, v.68,n.3,p.516-521,2006.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J.H.; Prática Espectrofotometria de absorção no UV-VIS Determinação de  $\beta$  – carotivo em amostras em alimentos. **Química nova** 31 (5), 1259 – 1262, 2008.