

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Programa de Pós-Graduação
em Química



PAULO ROBERTO PAIVA CAMPOS

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO DE
QUANTIFICAÇÃO DE CORANTES EM AMOSTRAS DE SUCO
ARTIFICIAL EM PÓ**

**Natal - RN
2014**

Paulo Roberto Paiva Campos

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO
DE CORANTES EM AMOSTRAS DE SUCO ARTIFICIAL EM PÓ**

Tese a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento das exigências para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria de Fátima
Vitória de Moura

Co-orientadora: Dr^a Klécia Morais dos
Santos

**Natal - RN
2014**

Catálogo da Publicação na Fonte.

Campos, Paulo Roberto Paiva.

Desenvolvimento e validação de um método de quantificação de corantes em amostras de suco artificial em pó / Paulo Roberto Paiva Campos. – Natal, 2014.
168 f. : il.

Orientadora: Maria de Fátima Vitória de Moura

Co-orientadora: Klécia Morais dos Santos

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós Graduação em Química.

1. Corantes – Tese. 2. Aditivo – Tese. 3. Mistura binária – Tese. 4. Corantes Alimentares – Tese. 5. Suco artificial em pó – Tese. I. Moura, Maria de Fátima Vitória de. Dos Santos, Klécia Morais. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

CDU

Paulo Roberto Paiva Campos

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO
DE CORANTES EM AMOSTRAS DE SUCO ARTIFICIAL EM PÓ**

Tese a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento das exigências para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria de Fátima Vitória de Moura

Co-Orientadora: Dr^a Klécia Morais dos Santos

Aprovada em, 05 de maio de 2014.

Dra. Maria de Fátima Vitória de Moura

Dra. Klécia Morais dos Santos

Dra. Nedja Suely Fernandes

Dr. Djalma Ribeiro da Silva

Dra. Graziella Ciaramella Moita

Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva

Natal, RN, 2014

Dedico este trabalho
Ao nosso DEUS onipotente,
Aos meus pais,
Familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Ao senhor Deus de todas as coisas;

Aos meus pais, Alberto e Geni (*in memoriam*), que sonharam juntos comigo este momento;

À Fátima, mulher, amiga e companheira de todas as horas;

Aos meus filhos, André, Luiz Arthur, Paulo Victor e a minha netinha Maria Magnólia;

Ao Instituto de Química e à UFRN, pela oportunidade oferecida;

Ao PPGQ nas pessoas de Sibeles Pergher, Carlos Martinez e Antônio Araújo;

À Maria de Fátima Vitória de Moura, amiga e orientadora;

À Klécia Moraes dos Santos, co-orientadora e grande incentivadora;

À Luciane de Lira Teixeira, amiga e eficiente colaboradora;

À Heloisa Gabriela pelo zelo e dedicação na realização das análises de EAM;

Aos colegas Ângela Maria, Leonardo, Bia, Rayane, Karen, Priscila, Renata e Débora pela inestimável ajuda;

Ao Joadir pela dedicação na obtenção das análises térmicas;

A todos, enfim, que de alguma forma contribuíram para o sucesso ora alcançado.

**“... Quando abrimos as portas do nosso
coração, é sinal de que a luz do bem está perto
de nós; é Deus vendo o lado bom do nosso
pensamento.”**

RESUMO

Foi desenvolvido um método para detectar e quantificar misturas de corantes em sucos artificiais em pó fabricados no Brasil, de diferentes marcas e sabores. Foram estudados 6 corantes artificiais: amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo, vermelho ponceau 4R, vermelho bordeaux S, vermelho 40 e azul brilhante presentes de forma unitária ou em misturas nos sucos com sabores laranja, tangerina, maracujá, abacaxi, limão e uva. A identificação dos corantes nas amostras foi feita através da comparação com os espectros dos padrões, utilizando-se a análise por infravermelho médio e pelos respectivos valores de absorção máxima nos comprimentos de onda relativos aos padrões e valores de referência na literatura. Também foram estudados os perfis de decomposição térmica por termogravimetria, termogravimetria derivada e calorimetria diferencial exploratória dos corantes e dos sucos em pó, sendo determinados os teores de umidade, de matéria orgânica e de cinzas. O teor de umidade encontrado não ultrapassou 4% para todas as amostras de suco analisadas. Com relação ao teor de matéria orgânica obteve-se para 57% dos sucos analisados um teor médio de 51,3% e para 43% das outras amostras obteve-se uma média de 67,2 %. Os resultados obtidos para o teor de cinzas indicaram que 29% das amostras apresentaram um teor de 26,7% para esse parâmetro enquanto 71% das amostras apresentaram um teor de cinzas de 46,4%. Os resultados obtidos por análise térmica mostraram-se adequados considerando-se que para obter os resultados pelo método tradicional há um investimento maior de tempo, de pessoal envolvido e de material, além da proteção ao meio ambiente. Para a análise por espectroscopia de absorção molecular foi proposta uma equação simplificada para a determinação de cada corante na mistura utilizando-se a lei de Beer. Para validação, empregou-se a espectroscopia de absorção molecular no visível, onde foi investigada a influência dos interferentes (TiO_2 e açúcar) presentes nas amostras de sucos, os testes de fotodegradação e a avaliação do efeito do pH. Para quantificação tomou-se como referência 512 amostras sintéticas contendo um e dois corantes ($1,5625$ a $25,000 \text{ mg L}^{-1}$) para obtenção das curvas analíticas que foram aplicadas à análise dos sucos em pó. Os resultados indicaram que o teor máximo do amarelo crepúsculo foi encontrado nos sucos com os sabores laranja, tangerina e manga que correspondeu a 25,6% da ingestão diária aceitável (para ser ultrapassada corresponderia a ingestão de 4 copos). O teor máximo encontrado para o amarelo tartrazina nos sucos foi para o sabor maracujá que correspondeu a 8,5% da ingestão diária aceitável, (para ser alcançado corresponderia a ingestão de 12 copos). O método proposto foi testado e validado com sucesso para amostras de sucos em pó sendo de simples execução e de rapidez na obtenção dos resultados.

Palavras-Chave: Corante alimentício, espectrofotometria, análise térmica, suco em pó.

ABSTRACT

Methodology was developed to detect and quantify mixtures of artificial dyes in powdered juices manufactured in Brazil, different brands and flavors. 6 artificial dyes were studied: yellow tartrazine, sunset yellow, ponceau 4R red, bordeaux red S, 40 red and brilliant blue gifts unitary form or in blends with orange juice flavors, tangerine, passion fruit, pineapple, lemon and grape. The identification of the dyes in the samples was done by comparison with spectra of standards using FTIR analysis and the respective values of the maximum absorption wavelength for the reference standards and values in literature. Profiles of thermal decomposition by TG, DTG and DSC to the dyes and powdered juices were also studied, determined the moisture content, organic matter and ash. The moisture content found did not exceed 4 % for all juice samples analyzed. With respect to organic matter content was obtained for 57 % of juices analyzed an average content of 51.3 % and 43 % of other samples gave an average of 67.2 %. The results obtained for the ash content indicated that 29 % of the samples had a content of 26.7 % for this parameter while 71 % of the samples had an ash content of 46.4%. The results obtained by thermal analysis showed adequate considering that to get the results by the traditional method there is a greater investment of time, staff and equipment involved, in addition to protecting the environment. For the analysis of EAM proposed a simplified equation for the determination of each dye in the mixture using Beer's law. For validation, we used the EAM, which we investigated the influence of interferences (TiO_2 and sugar) present in the juice samples, tests and evaluation of the photodegradation and effect of pH. For quantification was taken as reference 512 synthetic samples containing one and two dyes (1.5625 to 25.000 mg L^{-1}) to obtain the calibration curves that were applied to the analysis of powdered juices. The results indicated that the maximum level of sunset yellow was found in juices with orange flavors, tangerine and mango which corresponded to 25.6 % of IDA (to be exceeded would correspond to intake of 4 cups). The highest level found to tartrazine yellow passion fruit flavor with the juices which corresponded to 8.5 % of IDA (to be achieved would correspond to intake of 12 cups). The proposed method was successfully tested and validated for samples of powdered juices being simple to implement and speed in obtaining results.

Keywords: Dyes, Spectrophotometry, thermal analysis, powdered juice.

LISTA DE ABREVIATURAS

AB	Azul Brilhante
ABIA	Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação
AC	Amarelo Crepúsculo
ACM	Ácido Carmínico
AI	Azul de Indigotina
AINES	Anti-inflamatórios Não Estereoidais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP	Azul Patente
AQ	Amarelo de Quinolina
AT	Amarelo Tartrazina
AZ	Azorrubina
CA	Coefficiente Angular
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i> (número de registro)
CEE	Comunidade Econômica Europeia
CL	Coefficiente Linear
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
CV	Coefficiente de Variação
DP	Desvio-Padrão
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
EAM	Espectroscopia de Absorção Molecular
ECA	Erro de Coeficiente Angular
ECL	Erro de Coeficiente Linear
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
FDL	Faixa Dinâmica Linear
FTIR	Infravermelho Médio com Transformada de Fourier
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IDA	Ingestão Diária Aceitável
INS	Sistema Internacional de Numeração
IV	Infravermelho
LD	Limite de Detecção
LM	Limite Máximo
LQ	Limite de Quantificação
PCR	<i>Principal Component Regression</i>

PLS	<i>Parcial Least Square</i>
RF	Rádio Frequência
RSD	Desvio Padrão Relativo
SPE	Extração em Fase Sólida
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
TG	Termogravimetria
TLC	Cromatografia em Camada Fina
UV	Ultravioleta
V40	Vermelho 40
VB	Vermelho Bordeaux
VP	Vermelho Ponceau
VR	Verde Rápido
A ... P	Planilhas com quantidade fixa do corante amarelo tartrazina
AA ... PP	Planilhas com quantidade fixa do corante amarelo crepúsculo

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Informações gerais dos corantes Amarelo Crepúsculo, Amarelo Tartrazina e Azul Brilhante	33
Tabela 2.2. Informações gerais dos corantes vermelho ponceau, vermelho 40 e vermelho Bordeaux.....	34
Tabela 2.3. Características dos corantes orgânicos sintéticos	41
Tabela 2.4. Principais informações encontradas na literatura para determinação de corantes.....	53
Tabela 3.1. Condições de análises para obtenção dos espectros de infravermelho médio..	60
Tabela 3.2 . Composição das amostras sintéticas com um corante e suas respectivas concentrações.....	65
Tabela 3.3. Composição das amostras sintéticas com dois corantes e suas respectivas concentrações.....	66
Tabela 3.4. Condições experimentais utilizadas nas análises térmicas	68
Tabela 4.1. Principais atribuições no espectro de FTIR para os corantes artificiais	73
Tabela 4.2. Dados de regressão linear obtidos a partir das curvas analíticas	81
Tabela 4.3. Comprimentos de onda máximos e absorvidades molares dos corantes industriais	82
Tabela 4.4. Resultados obtidos para as figuras de mérito dos corantes.....	89
Tabela 4.5. Ensaios de precisão intradia para uma mistura binária de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo	89
Tabela 4.6. Ensaios de precisão interdía para uma mistura binária de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo	90
Tabela 4.7. Ensaios de precisão interanalista para uma mistura binária de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo	91
Tabela 4.8. Determinação das absorvidades médias e dos termos x , y , z e w obtidos a partir das Equações 20 e 21	94
Tabela 4.9. Previsão do consumo de sucos artificiais e sua relação com a IDA	104

Tabela 4.10. Etapas de decomposição do amarelo tartrazina em atmosfera de N ₂ e ar.....	108
Tabela 4.11. Etapas de decomposição do amarelo crepúsculo em atmosfera de N ₂ e ar ..	110
Tabela 4.12. Etapas de decomposição do azul brilhante em atmosfera de N ₂ e ar.....	112
Tabela 4.13. Etapas de decomposição do vermelho 40 em atmosfera de N ₂ e ar	114
Tabela 4.14. Etapas de decomposição do vermelho bordeaux em atmosfera de N ₂ e ar...	116
Tabela 4.15. Etapas de decomposição do vermelho ponceau em atmosfera de N ₂ e ar	118
Tabela 4.16. Teores de umidade, matéria orgânica e cinzas obtidos a partir das curvas TG dos corantes	119
Tabela 4.17. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor laranja em atmosfera de ar.....	122
Tabela 4.18. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor maracujá em atmosfera de ar.....	124
Tabela 4.19. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor uva em atmosfera de ar.....	126
Tabela 4.20. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor tangerina em atmosfera de ar.....	127
Tabela 4.21. Teores de umidade, matéria orgânica e cinzas calculados a partir das curvas TG/DTG das amostras de sucos artificiais em pó	128

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Consumo de produtos alimentícios por crianças de 0 a 10 anos de idade no Hospital Universitário Gafrée Guinle.....	36
Figura 2.2. Frequência quantitativa do consumo de preparado sólido para refresco por crianças de 0 a 10 anos atendidas no Hospital Universitário Gafrée Guinle	37
Figura 3.1. Fluxograma das atividades realizadas.....	69
Figura 4.1. Espectros de infravermelho médio dos padrões dos corantes.....	72
Figura 4.2. Espectros de absorção molecular na região do infravermelho médio dos sucos artificiais em pó com sabor laranja.....	75
Figura 4.3. Espectros de absorção molecular no infravermelho médio dos sucos artificiais em pó com sabor abacaxi	76
Figura 4.4. Espectros de infravermelho médio de corantes em sucos artificiais em pó, sabor maracujá.....	77
Figura 4.5. Espectros de infravermelho médio de corantes em sucos artificiais em pó, sabor tangerina.....	78
Figura 4.6. Espectros de absorção molecular dos corantes na região do visível.....	79
Figura 4.7. Espectros de absorção molecular na região do visível para as soluções dos corantes em diferentes concentrações.....	80
Figura 4.8. Curvas analíticas dos corantes	81
Figura 4.9. Teste de fotodegradação dos corantes.....	83
Figura 4.10. Teste de variação de pH dos corantes em solução.....	84
Figura 4.11 Amostra de suco sabor laranja (a) antes e (b) após centrifugação	85
Figura 4.12. . Influência do teor de TiO_2 nos espectros de absorção da amostra de suco sabor laranja, antes e após centrifugação.....	86
Figura 4.13. Curva analítica do dióxido de titânio	86
Figura 4.14. Teor de TiO_2 nas amostras de sucos artificiais em pó, sabor abacaxi e laranja	87

Figura 4.15. Curva analítica das soluções do corante azul brilhante com e sem açúcar	88
Figura 4.16. Concentração de corante nas amostras sintéticas contendo um corante (comparação entre o valor teórico e o experimental)	93
Figura 4.17. Espectros de absorção das soluções das amostras sintéticas (com dois corantes) em diferentes concentrações	95
Figura 4.18. Concentração dos corantes calculados em dois comprimentos de onda para as amostras sintéticas com dois corantes	95
Figura 4.19. Comparação entre os valores teóricos e experimentais obtidos para as soluções das misturas sintéticas dos corantes AC e AT na proporção 1:1	96
Figura 4.20. Quantificação de AC e AT nas amostras sabor tangerina e sabor limão: (a) concentração no suco; (b) massa por grama de suco em pó e em copo de 300 mL.	98
Figura 4.21. Quantificação dos corantes AC e AT nas amostras de sucos artificiais em pó com dois corantes	100
Figura 4.22. Imagens das amostras de suco artificial em pó nos sabores laranja, tangerina e abacaxi	102
Figura 4.23. Distribuição das massas de sucos artificiais em pó nos pacotes de diferentes sabores e marcas	103
Figura 4.24. Teores de amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina nas amostras de suco artificiais em pó, de acordo com a legislação vigente	105
Figura 4.25. Curvas TG, DTG e DSC do corante amarelo de tartrazina em atmosfera de (a) N ₂ e (b) ar.....	108
Figura 4.26. Curvas TG, DTG e DSC do corante amarelo crepúsculo em N ₂ em atmosfera de (a) N ₂ e (b) ar	110
Figura 4.27. Curvas TG, DTG e DSC do corante amarelo crepúsculo em atmosfera de (a) N ₂ e (b) ar.....	112
Figura 4.28. Curvas TG, DTG e DSC do corante vermelho 40 em atmosfera de (a) N ₂ e (b) ar	114
Figura 4.29. Curvas TG, DTG e DSC do corante vermelho bordeaux em atmosfera de (a) N ₂ e (b) ar.....	116

Figura 4.30. Curvas TG, DTG e DSC do corante vermelho ponceau em atmosfera de (a) N ₂ e (b) ar	118
Figura 4.31. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor laranja, em atmosfera de ar	121
Figura 4.32. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor maracujá, em atmosfera de ar	123
Figura 4.33. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor uva, em atmosfera de ar	125
Figura 4.34 Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor tangerina, em atmosfera de ar	127

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. INTRODUÇÃO.....	22
1.2. OBJETIVOS.....	25
1.2.1. Objetivo geral.....	25
1.2.2. Objetivos específicos.....	25

CAPÍTULO 2

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA.....	27
2.1. CORANTES ALIMENTÍCIOS.....	27
2.1.1. História.....	27
2.1.2. Classificação de corantes.....	28
2.1.2.1. Azul brilhante.....	30
2.1.2.2. Amarelo Crepúsculo.....	30
2.1.2.3. Amarelo Tartrazina.....	31
2.1.2.4. Vermelho Bordeaux.....	31
2.1.2.5. Vermelho 40.....	32
2.1.2.6. Vermelho Ponceau.....	32
2.1.3. Uso de corantes na alimentação.....	35
2.1.4. Toxicidade.....	38
2.1.5. Legislação.....	40
2.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO UV-VIS.....	41
2.2.1. Lei de Lambert-Beer para misturas.....	43
2.2.2. Desenvolvimento de equações matemáticas para misturas de corantes.....	45
2.3. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE DE CORANTES ALIMENTÍCIOS ...	47
2.4. VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO.....	54
2.4.1. Figuras de mérito.....	54

2.4.1.1. Seletividade	54
2.4.1.2. Especificidade.....	54
2.4.1.3. Faixa de trabalho	55
2.4.1.4. Linearidade	55
2.4.1.5. Função de resposta.....	55
2.4.1.6. Sensibilidade.....	56
2.4.1.7. Limites de detecção e quantificação	56
2.4.1.8. Precisão e Exatidão.....	56

CAPÍTULO 3

METODOLOGIA

3. METODOLOGIA.....	58
3.1. MATERIAIS E REAGENTES.....	58
3.1.1. Amostras.....	58
3.1.2. Padrões de corantes	58
3.1.3. Demais reagentes	59
3.1.4. Equipamentos	59
3.1.5. Outros materiais	59
3.2. IDENTIFICAÇÃO DOS CORANTES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO INFRAVERMELHO MÉDIO	59
3.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA APLICAÇÃO DA LEI DE LAMBERT- BEER PARA ANÁLISE DOS CORANTES	60
3.3.1. Obtenção dos espectros de absorção molecular no visível.....	60
3.3.2. Obtenção das curvas analíticas dos corantes artificiais.....	60
3.3.3. Estudo de fotodegradação.....	61
3.3.4. Estudo da influência do pH	61
3.3.5. Avaliação de interferentes.....	61
3.3.5.1. Quantificação do teor de TiO ₂	62
3.3.5.2. Teste da influência do açúcar	62
3.3.6. Cálculo das figuras de mérito	62
3.3.6.1. Limites de detecção e quantificação.....	62
3.3.6.2. Ensaios de robustez intradia, interdía e interanalistas	63

3.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CORANTES NAS AMOSTRAS SINTÉTICAS E AMOSTRAS DE SUCOS ARTIFICIAIS EM PÓ POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO VISÍVEL	63
3.4.1. Preparação das amostras sintéticas dos corantes	64
3.4.1.1. Amostras sintéticas com um corante	64
3.4.1.2. Amostras sintéticas com dois corantes	65
3.4.2. Cálculo das concentrações dos corantes nas amostras sintéticas	66
3.4.3. Preparação das soluções das amostras de sucos artificiais em pó	67
3.5. ANÁLISE TÉRMICA (TERMOGRAVIMETRIA, TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA E CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA).....	68

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
4.1. IDENTIFICAÇÃO DOS CORANTES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO INFRAVERMELHO MÉDIO	71
4.1.1. Identificação dos padrões dos corantes	71
4.1.2. Identificação dos corantes nas amostras de sucos artificiais em pó	74
4.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE APLICAÇÃO DA LEI DE LAMBERT-BEER PARA MISTURAS DE CORANTES	79
4.2.1. Obtenção dos espectros de absorção molecular no visível	79
4.2.2. Obtenção das curvas analíticas dos corantes	80
4.2.3. Estudo de fotodegradação	82
4.2.4. Estudo da influência do pH	83
4.2.5. Avaliação de interferentes	85
4.2.5.1. Quantificação do teor de TiO ₂	85
4.2.5.2. Teste da influência do açúcar	88
4.2.6. Cálculo das figuras de mérito	88
4.2.6.1. Limites de detecção e quantificação	88
4.2.6.2. Ensaios de robustez intradia, interdia e inter-analistas.....	89
4.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CORANTES NAS AMOSTRAS SINTÉTICAS E AMOSTRAS DE SUCOS ARTIFICIAIS EM PÓ	92

4.3.1. Determinação do teor de corantes nas amostras sintéticas.....	92
4.3.1.1. Amostras sintéticas com um corante	92
4.3.1.2. Amostras sintéticas com dois corantes	94
4.3.2. Determinação do teor de corantes nas amostras de sucos artificiais em pó.....	97
4.3.2.1. Amostras de suco artificial em pó com um corante.....	97
4.3.2.2. Amostras de suco artificial em pó com dois corantes	99
4.4. ANÁLISE TÉRMICA	107
4.4.1. Avaliação das curvas de análise térmica (TG, DTG e DSC) dos corantes	107
4.4.1.1. Amarelo Tartrazina.....	107
4.4.1.2. Amarelo Crepúsculo	109
4.4.1.3. Azul Brilhante	111
4.4.1.4. Vermelho 40	113
4.4.1.5. Vermelho Bordeaux.....	115
4.4.1.6. Vermelho Ponceau.....	117
4.4.2. Avaliação das curvas de análise térmica (TG, DTG e DSC) dos sucos artificiais em pó.....	120
4.4.2.1. Suco artificial em pó sabor laranja	120
4.4.2.2. Suco artificial em pó sabor maracujá	122
4.4.2.3. Suco artificial em pó sabor uva	124
4.4.2.4. Suco artificial em pó sabor tangerina	126

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5. CONCLUSÕES	130
---------------------	-----

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

6. REFERÊNCIAS	133
APÊNDICES	141
ANEXOS	163

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. INTRODUÇÃO

A alimentação é um fator importante para o ser humano e está associada à saúde física e mental, ao gasto energético e ao seu desenvolvimento individual, coletivo, social, político e evolutivo. Para um desenvolvimento saudável deve-se considerar os hábitos alimentares desde a gestação e já nos primeiros meses de vida. Estes irão refletir positivamente na qualidade de vida do indivíduo na sua fase adulta.

O desenvolvimento da indústria alimentícia tem assegurado às populações a disponibilidade de alimentos e a obtenção de novos produtos com atrativos diversos em termos de sabores e cores, como também, em função do enriquecimento de nutrientes e do tempo de conservação. A substituição dos alimentos caseiros por alimentos industrializados tem crescido significativamente nos últimos anos e, segundo dados da própria indústria de alimentos, do ano de 2005, quase 90% dos alimentos consumidos provêm dessa fonte. Tais alimentos têm em sua composição os chamados aditivos. Dentre estes figuram os aromatizantes, flavorizantes, antioxidantes, estabilizantes, espessantes, edulcorantes, umectantes, acidulantes e os corantes. O uso de tais aditivos pela indústria é justificado pela estabilidade conferida ao produto, pelas características organolépticas apresentadas e, sobretudo, pelo preço quando comparado ao produto natural.

Os corantes artificiais, hoje, estão presentes em vários alimentos que adquirimos e ingerimos com certa frequência, principalmente aqueles destinados ao público infantil. Dentre estes podem ser citados os sucos artificiais em pó. Para adquirir sabor e aparência assemelhada ao de uma fruta que o identifica, são utilizados corantes, flavorizantes e edulcorantes, com o intuito de fornecer cor, sabor e aroma a uma mistura que, muitas vezes, não apresenta nenhum composto natural contido nas frutas, onde se observa como nutriente apenas o açúcar. A cor, o aroma e o sabor têm a função fundamental de ser um atrativo à ingestão desses produtos.

O uso de aditivos, segundo os especialistas, tem provocado efeitos danosos à saúde dos consumidores. Nesse contexto, as autoridades responsáveis têm desenvolvido legislações específicas para controlar o uso desses produtos pela indústria. No Brasil a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é órgão responsável pela elaboração dessa legislação e fiscalização dos produtos produzidos e comercializados em todo o território nacional. Devido à falta de informação relacionada aos quantitativos desses aditivos nos rótulos dos produtos comercializados, há uma grande dificuldade em se

verificar se estes obedecem à legislação em vigor. Restando apenas a confiança do consumidor na ingestão destes produtos. Mas considerando-se a grande relevância do tema, o governo federal tem buscado ajuda nas universidades e órgãos assemelhados para a pesquisa sobre estas substâncias nos alimentos em termos de sua identificação, quantificação e efeitos advindos do uso indiscriminado desses produtos pela população brasileira (CNPq/ANVISA N° 05/2014). Nesse contexto, este trabalho se insere dentre as necessidades nacionais de demanda por métodos de análise para esses produtos em matrizes complexas como o são os alimentos industrializados.

Atualmente, várias metodologias têm sido desenvolvidas para identificar, extrair e quantificar corantes em diversos tipos de amostras, sejam alimentícias ou não; como por exemplo, em amostras de águas residuais da indústria têxtil, que contaminam rios e lagos, bem como, de alimentos que se utilizam de corantes para melhorar o produto industrializado, tornando-o mais agradável ao consumidor.

Nesse sentido, este trabalho tem por finalidade desenvolver metodologia capaz de detectar, com baixo custo, os corantes amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo, vermelho ponceau 4R, vermelho bordeaux S, vermelho 40 e azul brilhante, utilizados na indústria de alimentos e especialmente para a obtenção de sucos artificiais em pó. Estendendo-se a aplicação desta metodologia à análise de corantes em misturas de dois ou mais corantes nos sucos artificiais em pó utilizados pela indústria; nas disciplinas experimentais dos Cursos de Química. O método desenvolvido utiliza a Lei de Lambert Beer para o desenvolvimento das equações propostas e adapta a metodologia à amostra em questão. O trabalho também visa ressaltar a importância do controle de qualidade desses alimentos que fazem parte do dia a dia de diversos consumidores, principalmente de crianças.

Os corantes sintéticos são adicionados aos alimentos com o intuito de melhorar características referentes à descoloração provocada durante o seu processamento. Entretanto, essas substâncias, algumas mais do que outras, apresentam potencialidade teratogênica e carcinogênica, que já foram alvo de estudos em vários trabalhos científicos (LAU *et al.*, 2006; ELHKIM *et al.*, 2007; AMINA *et al.*, 2010; MPOUNTOUKAS, *et al.*, 2010). Tão importantes quanto os danos que elas podem causar à saúde, são os métodos de análise, descritos na literatura (VIDOTTI *et al.*, 2006; SOROURADIN *et al.*, 2011; GHOREISHI *et al.*, 2012; SHAWISH *et al.*, 2013; SAHRAEI *et al.*, 2013; SCHENONEA *et al.*, 2013; BONAN *et al.*, 2013)

A utilização de aditivos em alimentos suscita uma série de dúvidas, como: se as quantidades utilizadas pelas indústrias são as adequadas, para que o consumo de determinado alimento não ultrapasse o valor da IDA, na medida em que não existe obrigatoriedade legal de declarar as quantidades presentes nos alimentos, mas somente a relação dos aditivos utilizados.

Para os corantes artificiais, não basta simplesmente provar que o produto é colorido artificialmente; cada corante ou suas misturas, devem ser detectados e quantificados individualmente, o que tem sido dificultado, principalmente pelo uso incipiente de metodologias analíticas. Elas podem e devem ser utilizadas em indústrias de alimentos como método de controle de qualidade de alimentos que contenham misturas binárias de corantes.

Outro estudo interessante para os aditivos alimentícios, especialmente os corantes, é o estudo da sua degradação térmica, no qual se evidencia a estabilidade térmica do composto, muito importante no caso dos alimentos, já que a grande maioria destes é submetida a alguma forma de aquecimento.

Assim, o presente trabalho propõe a utilização de uma metodologia, a partir de uma equação desenvolvida da Lei de Lambert-Beer, que leva em consideração a absorção obtida da mistura como a soma das absorbâncias dos corantes envolvidos, ou substâncias que absorvam na região do UV-Vis. Além disso, foram empregadas técnicas de Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Calorimetria Exploratória Diferencial para o estudo da degradação térmica dos corantes; e a aplicação da Termogravimetria para o cálculo do teor de umidade, matéria orgânica e cinzas nas amostras. A espectroscopia na região do Infravermelho foi utilizada para a caracterização das amostras dos corantes industriais e das amostras dos sucos em pó.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo geral

Desenvolver e validar metodologia analítica para determinação de corantes presentes em sucos artificiais em pó.

1.2.2. Objetivos específicos

Aplicar a Lei de Lambert-Beer para o desenvolvimento de um método analítico a partir de medidas de espectroscopia de absorção molecular na região do visível para a determinação de corantes em misturas;

Avaliar a presença dos interferentes, açúcar e dióxido de titânio, nos sucos artificiais em pó;

Estudar a decomposição térmica de corantes artificiais utilizados em sucos artificiais em pó por Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Calorimetria Exploratória diferencial;

Determinar o teor de umidade, matéria orgânica e cinzas em sucos artificiais em pó por Termogravimetria, Termogravimetria Derivada e Calorimetria Exploratória diferencial;

Identificar os corantes presentes em sucos artificiais em pó utilizando espectroscopia de absorção molecular no infravermelho médio.

CAPÍTULO 2
REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

Os aditivos alimentares, de uma forma geral, estão relacionados com a conservação de alimentos; são utilizados no desenvolvimento da tecnologia de fabricação dos alimentos com o intuito de modificar as suas características sensoriais (aroma, textura, coloração, sabor).

Um aditivo alimentar pode ser qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características dos mesmos (ANVISA, 2011). Esses podem ser classificados em edulcorantes, conservantes, antioxidantes, estabilizantes, espessantes, gelificantes, emulsionantes, entre outros (ANVISA, 2011).

2.1. CORANTES ALIMENTÍCIOS

2.1.1. História

As civilizações antigas já tinham o hábito de retirar substâncias da natureza para colorir seus alimentos e, assim, melhorar sua aparência. Egípcios adicionavam extratos naturais e vinhos para melhorar a aparência dos seus produtos (DOWNHAM, 2000). Tais substâncias foram paulatinamente substituídas por outras, sempre com a finalidade de colorir os alimentos.

Na Inglaterra, no início do século XIX, foi relatado o uso do sulfato de cobre para colorir de verde as conservas de picles; de chumbo negro em folhas de chá, para parecerem novas, e do chumbo vermelho em alguns queijos, para realçar a coloração alaranjada (DOWNHAM, 2000).

O primeiro corante sintetizado foi a malva, em 1856, por William Henry Perkin. Antes disso, todos os corantes alimentícios provinham de vegetais comestíveis, de extratos de origem animal ou vegetal normalmente não consumidos, e de resultados da transformação de substâncias naturais.

Nos Estados Unidos, em 1906, foi criada a primeira legislação relativa à sua utilização na indústria alimentícia. Apenas sete corantes foram autorizados a serem usados em alimentos. Mas ao final do século XIX, mais de 90 corantes já eram empregados pela indústria alimentícia, tamanho foi o avanço no uso deste recurso pelas indústrias

(HUNGER, 2003). Os Estados Unidos chegaram a ter no início do século XX mais de setecentas substâncias com poder corante; hoje a quantidade de corantes sintéticos permitidos em alimentos foi reduzida a nove (DOWNHAM, 2000).

Os corantes orgânicos sintéticos artificiais foram progressivamente substituindo os corantes naturais, devido a sua maior estabilidade, poder de coloração, maior faixa de coloração e menor preço, além de garantirem a uniformidade dar cor dos alimentos produzidos em larga escala (SATO *et al.*, 1992).

2.1.2. Classificação de corantes

Corantes são substâncias que fornecem cor, possuem estrutura química variada e podem ter origens diversas, sejam naturais (animais e vegetais) ou sintéticas.

De acordo com a resolução nº 44/77, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), do Ministério da Saúde, os corantes permitidos para uso em alimentos e bebidas são classificados em quatro tipos (HUNGER, 2003):

- **Corante orgânico natural:** obtido a partir de vegetal ou, eventualmente, de animal, cujo princípio tenha sido isolado com o emprego de processo tecnológico adequado;
- **Corante orgânico artificial:** obtido por síntese orgânica, mediante o emprego de processos tecnológicos adequados e não encontrado em produtos naturais;
- **Corante orgânico sintético:** idêntico ao natural, cuja estrutura química é semelhante à do princípio isolado do corante orgânico natural;
- **Corante inorgânico ou pigmento:** obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação, adequados ao seu emprego em alimentos.

Os corantes podem ser classificados de acordo com a estrutura química, usos ou método aplicado. A primeira abordagem é adotada por praticantes da química dos corantes, que usam termos como corantes azo, corantes de antraquinona, e corantes de ftalocianina (HUNGER, 2003). O sistema mais adequado para a classificação dos corantes é o que considera a estrutura química desses compostos, visto que esse modelo de classificação tem muitas vantagens (HUNGER, 2003).

Os corantes também podem ser classificados de acordo com o método de aplicação (corantes reativos, dispersivos, diretos, sulfurosos, catiônicos, ácidos, solventes, entre outros) e pelo uso na indústria (corantes alimentícios, têxteis, entre outros) (HUNGER, 2003).

Os corantes artificiais não possuem valor nutritivo e são introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos ao consumidor. Logo, adiciona-se ao alimento algo que não fornece nutriente e pode causar danos. Então, do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais, em geral, não são recomendados, justificando-se seu uso quase exclusivamente, sob o ponto de vista comercial e tecnológico, mas com o controle de sua adição aos alimentos. Mesmo assim, os corantes são amplamente utilizados nos alimentos e bebidas, devido à sua grande importância no aumento da aceitação dos produtos, visto que a cor torna o alimento mais atrativo, com um aspecto fresco ou natural.

Os corantes orgânicos sintéticos foram progressivamente substituindo os corantes naturais, devido à sua maior estabilidade, poder de coloração, maior faixa de coloração e menor preço, além, de garantirem a uniformidade dos alimentos produzidos em grande escala (SATO *et al.*, 1992).

Tendo em vista essa modificação na aparência do alimento, que leva a uma atração do consumidor pelo produto, esse mecanismo de atração levou ao interesse das indústrias pelo uso dos corantes artificiais, inclusive na tentativa de mascarar alimentos de baixa qualidade, devido ao fato de que os alimentos processados perdem parte do seu valor nutricional, bem como alimentos originalmente coloridos podem sofrer descoloração. Desde então, os corantes sintéticos foram cada vez mais usados, especialmente por apresentarem maior uniformidade, estabilidade e poder tintorial em relação às substâncias naturais (PRADO; GODOY, 2003).

Alguns alimentos passaram a ter como fonte de coloração, praticamente única, os corantes artificiais, como é o caso de refrigerantes, como os de cola (corante caramelo), os de sabor laranja (corante amarelo tartrazina e/ou amarelo crepúsculo), os de sabor uva (corantes vermelhos e azuis), o que pode ser observado nas embalagens desses produtos. Outros alimentos que possuem de forma mais expressiva os corantes artificiais são os sucos artificiais em pó, que em geral são uma mistura de carboidratos ou adoçantes sintéticos mais os corantes, que variam de acordo com o fornecedor. Além disso, tem o

dióxido de titânio que fornece turvação à solução final, e outros componentes que têm a função de conservantes, ver Anexo II.

A classe de corantes azo compreende vários compostos que apresentam um anel naftaleno ligado a um segundo anel benzeno por uma ligação azo (N=N). Esses anéis podem conter um, dois ou três grupos sulfônicos. Esse grupo representa a classe de corantes sintéticos mais importantes e utilizados em alimentos, como os que serão citados a seguir (PRADO; GODOY, 2003).

2.1.2.1. Azul Brillante (AB)

É sintetizado à partir da tinta do alcatrão do carvão e utilizado na produção de balas, laticínios, cereais, queijos, gelatinas, licores e refrescos e pode ser classificado segundo sua estrutura em trifenilmetano.

O grupo dos trifenilmetanos apresenta estrutura básica de três radicais arila, em geral grupos fenólicos, ligados a um átomo de carbono central; apresentam ainda grupos sulfônicos que lhes conferem alta solubilidade em água.

Nos Estados Unidos, o uso do corante azul brilhante não possui restrições. No Canadá, seu limite máximo é de 100 mg L^{-1} e, na Inglaterra pode ser utilizado apenas em alguns alimentos. Na União Europeia, seu uso é liberado, bem como aqui no Brasil (PRADO; GODOY, 2003).

2.1.2.2. Amarelo Crepúsculo (AC)

Sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão e tintas azoicas, o amarelo crepúsculo, é utilizado na fabricação de cereais, balas, caramelos, coberturas, xaropes, laticínios, goma de mascar e sucos artificiais em pó nos sabores morango, abacaxi, tangerina, laranja e maracujá.

O corante amarelo crepúsculo possui boa estabilidade na presença de luz, calor e ácido, apresentando descoloração na presença de ácido ascórbico e SO_2 .

Nos Estados Unidos, Japão e países da União Europeia, permitem-se seu emprego em alimentos. Já o Canadá permite seu emprego em alguns produtos específicos e em concentração máxima de 300 mg L^{-1} (PRADO; GODOY, 2003).

2.1.2.3 . Amarelo Tartrazina (AT)

Sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão, o amarelo tartrazina, é utilizado na fabricação de laticínios, licores, fermentados, produtos de cereais, frutas e iogurtes e sucos artificiais em pó, nos sabores morango, abacaxi, limão, tangerina, laranja e maracujá.

O corante amarelo tartrazina apresenta excelente estabilidade à luz, calor e ácido, descolorindo em presença de ácido ascórbico e SO₂.

A tartrazina está classificada dentro dos corantes azo e tem despertado uma maior atenção dos toxicologistas e alergistas, sendo apontado como o responsável por várias reações adversas, causando desde urticária até asma, e é alvo de vários estudos. Estima-se que em cada 10 mil pessoas, quinhentas apresentam reações a esse corante. Entretanto, é um dos corantes mais empregados em alimentos e é permitido em muitos países, como Canadá, Estados Unidos e na União Europeia (PRADO; GODOY, 2003).

2.1.2.4. Vermelho Bordeaux (VB)

O vermelho Bordeaux é sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão, é usado na fabricação de cereais, balas, laticínios, geleias, gelados, recheios, xaropes, preparados líquidos e refrescos artificiais em pó, nos sabores morango, cereja, uva e framboesa. Apresenta boa estabilidade à luz, calor e ácido, mas descolore em presença de agentes redutores, como o ácido ascórbico e SO₂.

Alguns estudos são contraditórios quanto à inocuidade carcinogênica desse corante, sendo, por medida de segurança, proibido nos Estados Unidos desde 1976. No Canadá é permitido, pois sua estrutura química é bastante semelhante à de outros corantes considerados não carcinogênicos. No Japão foi voluntariamente banido pelas indústrias de alimentos, e na União Europeia seu uso é permitido (PRADO; GODOY, 2003).

2.1.2.5. Vermelho 40 (V40)

Sintetizado quimicamente, o vermelho 40, é usado no preparo de alimentos à base de cereais, balas, laticínios, recheios, sobremesas, xaropes, refrescos, refrigerantes, geleias e sucos artificiais em pó nos sabores goiaba, uva e morango. É também chamado vermelho allura e apresenta boa estabilidade à luz, calor e ácido, além de ser o corante vermelho mais estável em bebidas na presença do ácido ascórbico (um agente redutor). Alguns países da União Europeia permitem seu uso. Estudos metabólicos mostraram que o vermelho 40 é pouco absorvido pelo organismo e em estudos de mutagenicidade não apresentou potencial carcinogênico, sendo, dessa forma, seu uso liberado para alimentos no Canadá e Estados Unidos (PRADO; GODOY, 2003).

2.1.2.6. Vermelho Ponceau (VP)

Sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão, o vermelho ponceau, é usado na produção de frutas em caldas, laticínios, xaropes de bebidas, balas, cereais, refrescos, refrigerantes, sobremesas e sucos artificiais em pó, nos sabores cereja e morango.

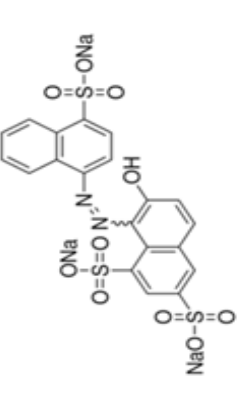
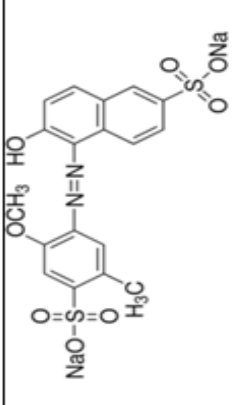
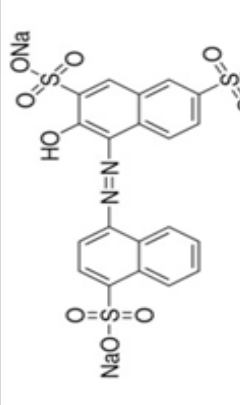
O corante vermelho ponceau ou vermelho ponceau 4R apresenta boa estabilidade ao calor, à luz e ao ácido, descolore parcialmente na presença de alguns agentes redutores, como o ácido ascórbico e SO₂. Não é permitido nos Estados Unidos; na Inglaterra, seu uso é provisório e restrito; nos países da União Europeia e no Japão seu uso é permitido, mas foi voluntariamente banido pelas indústrias japonesas (PRADO; GODOY, 2003). No Brasil, está na lista dos corantes que tem seu uso permitido em alimentos.

As Tabelas 2.1 e 2.2 apresentam as informações gerais e características de cada um destes corantes.

Tabela 2.1. Informações gerais dos corantes Amarelo Crepúsculo, Amarelo de Tatrazina e Azul Brillante.

Nome	Nomenclatura IUPAC	Fórmula Molecular	$\lambda_{\text{máx}}$ / nm	MM / g mol ⁻¹	CAS	Estrutura Molecular
Amarelo Crepúsculo	Disodium 6-hydroxy-5-[(4-sulphonatophenyl)azo]naphthalene-2-sulphonate	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂	480	452,37	2783-94-0	
Amarelo Tatrazina	Trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo)pyrazole-3-carboxylate	C ₁₆ H ₉ N ₄ Na ₃ O ₉ S ₂	426	534,36	1934-21-0	
Azul Brillante	Dihydrogen (ethyl)[4-[4-[ethyl(3-sulphonatobenzyl)amino]-2'-sulphonatobenzhydrylidene]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]3-sulphonatoben	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ Na ₂ O ₉ S ₃	629	792,85	3844-45-9	

Tabela 2.2. Informações gerais dos corantes Vermelho Ponceau, Vermelho 40 e Vermelho Bordeaux.

Nome	Nomenclatura IUPAC	Fórmula Molecular	$\lambda_{\text{máx}}$ / nm	MM / g mol ⁻¹	CAS	Estrutura Molecular
Vermelho Ponceau 4R	Trisodium (8Z)-7-oxo-8-[(4-sulfonato-naphthalen-1-yl)hydrazinylidene]naphthalene-1,3-disulfonate	C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₀ S ₃	505	604,47	2611-82-7	
Vermelho 40	Disodium 6-hydroxy-5-[(2-methoxy-5-methyl-4-sulphophenylazo]-2-naphthalenesulfonate	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂	502	496,42	25956-17-6	
Vermelho Bordeaux S	Trisodium 3-hydroxy-4-(4'-sulphonatonaphthylazo)naphthalene-2,7-disulphonate	C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₀ S ₃	523	604,47	915-67-3	

2.1.3. Uso de corantes na alimentação

Um alimento atrativamente colorido estimula o apetite mais que um descolorido, pois existe uma relação entre a visão e os nervos gustativos. A maioria dos alimentos é colorido para simular níveis altos de componentes nutricionais importantes ou, pior, para mascarar a má qualidade do alimento ou sua deterioração (HUNGER, 2003).

Os fabricantes dos produtos alimentícios que utilizam corantes na sua composição justificam o seu uso com base na necessidade de restaurar a cor do alimento afetada durante seu processamento; na uniformização da cor do alimento tendo em vista as diferentes origens da matéria prima; e para dar cor aos chamados alimentos incolores.

As cores estão intimamente ligadas a vários aspectos da nossa vida e são capazes de influenciar as nossas decisões no dia a dia, principalmente as que envolvem os alimentos. A aparência, a segurança, as características sensoriais e a aceitabilidade dos alimentos são todas afetadas pela cor (CLYDESDALE, 1993; DOWNHAM, 2000)

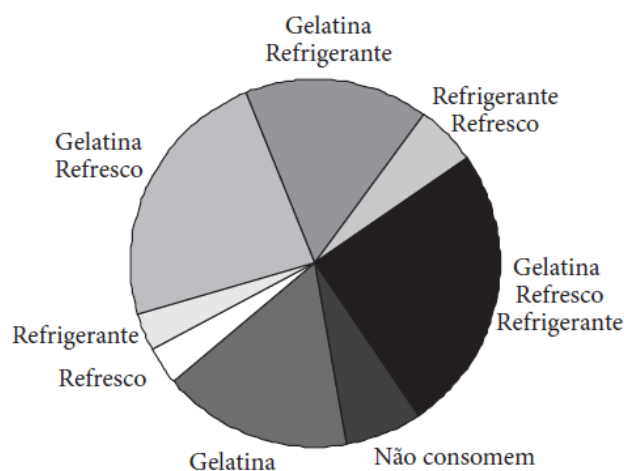
A alimentação é um determinante das condições de saúde na infância e está fortemente condicionada ao poder aquisitivo das famílias, do qual dependem a disponibilidade, a quantidade e a qualidade dos alimentos consumidos (AQUINO; PHILIPPI, 2002). Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA, 1997) e do Instituto de Pesquisa AC Nielsen (1997), a demanda de alimentos industrializados no país aumentou consideravelmente após a abertura econômica (AQUINO; PHILIPPI, 2002). Com o aumento do consumo de alimentos industrializados, também ocorreu o aumento do consumo de corantes, pois a maioria desses alimentos possui corantes em sua composição.

Os aditivos alimentares, em conjunto com açúcar, adoçantes, gorduras processadas e sódio, estão sendo utilizados para oferecer produtos alimentícios mais saborosos, mais fáceis de serem consumidos, mais coloridos e cheirosos que os alimentos naturais. Atualmente, o consumo *per capita* de aditivos alimentícios está em torno de 5,0 kg por ano nos países em que a alimentação é quase toda processada. Mais de 5 mil compostos químicos são utilizados pela indústria alimentícia para tornar seus produtos cada vez mais atrativos para o rápido consumo (CARREIRO, 2012).

Os produtos químicos estão regularmente presentes em elevada quantidade na nossa alimentação. Em uma única alimentação, é possível existirem de 12 a 60 aditivos químicos (CARREIRO, 2012).

Em um estudo que avaliou o consumo de corantes artificiais por crianças nos estágios de lactantes, pré-lactantes e em idade escolar, pôde-se constatar que a maioria das crianças iniciou o consumo dos três produtos, em estudo, antes dos 2 anos de idade, sendo que o pó para gelatina foi introduzido na alimentação dessas crianças até 1 ano de idade, em 95% dos casos. Esse dado é preocupante, uma vez que a IDA (Ingestão Diária Aceitável) estabelecida não pode ser aplicada para crianças com idade inferior a 12 meses, devido à adaptação do metabolismo e ao fato de que se preconiza a alimentação somente por meio do aleitamento materno (SCHUMANN; PÔLONIO; GONÇALVES, 2008). Entretanto, alimentos coloridos artificialmente são, desde cedo, oferecidos às crianças por meio de alimentos que, muitas vezes, não são recomendados para crianças, mas a indústria direciona o seu consumo para essas, por meio da própria coloração, como também por meio de propaganda televisiva. A referida pesquisa do consumo de corantes artificiais está apresentada no gráfico da Figura 2.1.

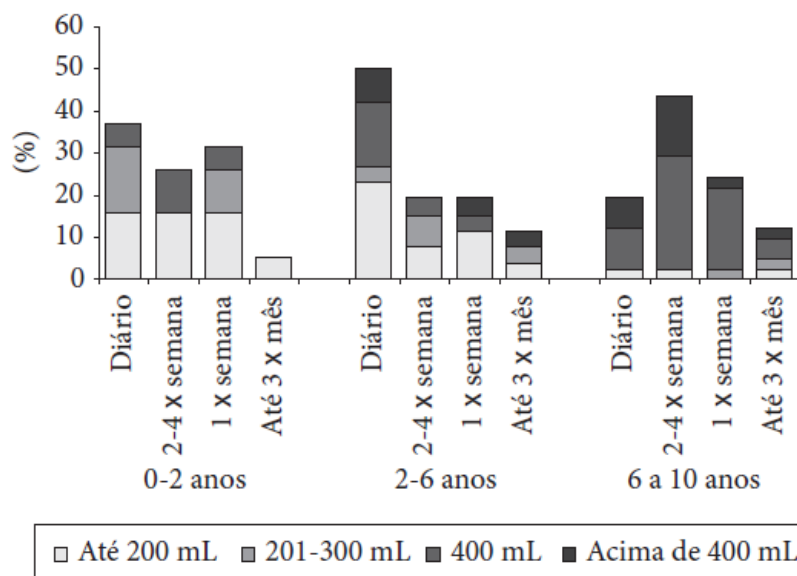
Figura 2.1. Consumo de produtos alimentícios por crianças de 0 a 10 anos de idade no Hospital Universitário Gafrée Guinle.



Fonte: SCHUMANN, PÔLONIO, GONÇALVES, 2008, p.536.

Na Figura 2.1, observa-se que a maioria das crianças, de alguma forma, ingere um ou mais alimentos contendo corantes artificiais, o que, segundo o estudo, corresponde a 93% das crianças participantes; apenas 7% não apresentam o hábito de ingerir os alimentos pesquisados, o que não significa que essas crianças não ingiram corantes de outras fontes. Na Figura 2.2, tem-se o consumo quantitativo de suco artificial em pó por crianças de 0 a 10 anos.

Figura 2.2. Frequência quantitativa do consumo de preparado sólido para refresco por crianças de 0 a 10 anos atendidas no Hospital Universitário Gafrée Guinle.



Fonte: SCHUMANN, PÔLONIO, GONÇALVES, 2008, p.537.

Conforme a Figura 2.2, há um consumo maior de sucos artificiais em pó nas faixas etárias de 2 a 6 anos e de 6 a 10 anos, sendo que, na faixa de 2 a 6 anos, o consumo é feito com maior frequência e, na faixa de 6 a 10 anos, há o consumo de maiores quantidades do produto. Entretanto, deve-se observar também que há ingestão desses produtos (suco artificial em pó) por crianças de 0 a 2 anos, em menores quantidades. Porém, esses indivíduos apresentam uma massa corpórea ainda menor do que as crianças de 2 a 10 anos (SCHUMANN; PÔLONIO; GONÇALVES, 2008). O consumo de alimentos contendo corantes artificiais pode desencadear reações alérgicas, além de outros potenciais danos à saúde das crianças.

Outro fato preocupante é que a criança deixa de ingerir sucos naturais para ingerir um produto que não fornece os mesmos nutrientes, como fibras, açúcares redutores, vitaminas e substâncias não nutritivas, como compostos fenólicos, entre eles os flavonoides, que têm ação benéfica à saúde (NIJVELDT *et al.*, 2001).

No que se refere às reações adversas aos aditivos, de uma forma geral, sabe-se que a população infantil constitui o grupo mais vulnerável a esse tipo de reações, o que ocorre devido à quantidade ingerida ser maior, em relação ao peso corporal, na criança do que no adulto. A IDA é fornecida pelos miligramas do corante em função da massa corpórea do indivíduo que consome o alimento contendo o corante (Anexo II). Logo,

uma criança possui uma massa corpórea bastante inferior à de um adulto. Além disso, as crianças encontram-se em um período de alto metabolismo e desenvolvimento de suas defesas naturais e não apresentam capacidade de autocontrole no consumo de alimentos ricos em aditivos, o que pode levar a um consumo excessivo de corantes artificiais (SCHUMANN; PÔLONIO; GONÇALVES, 2008).

Outra agravante é a existência de metais tóxicos provenientes da contaminação da síntese da matéria-prima ou do processo de manufatura dos mesmos (LINDINO *et al.*, 2008). Entretanto, segundo as fichas técnicas dos corantes industriais alimentícios comercializados no Brasil pela Cotia *Foods* os teores desses metais são bastante reduzidos.

2.1.4. Toxicidade

A hipótese de que os corantes sintéticos são potenciais agentes carcinogênicos é amplamente estudada em todo o mundo. Existem vários estudos que visam testar essa hipótese e que obtiveram resultados interessantes, como pode ser visto a seguir.

Atualmente, os corantes mais investigados são os do grupo azo, sendo eles: amarelo tartrazina, amarelo crepúsculo e vermelho 40 (ANTUNES; ARAUJO, 2000).

Nos estudos de genotoxicidade de Poul *et al.* (2009), verificou-se a ausência de efeito genotóxico dos corantes amaranço, amarelo crepúsculo, tartrazina e seus metabólicos no teste de micronúcleo intestinal em camundongos. Entretanto, em um ensaio rápido de toxicidade, utilizando como cobaias ratos, com o objetivo de avaliar a toxicidade de 39 substâncias, entre elas os corantes que, segundo o estudo, os mais genotóxicos foram: amaranço, vermelho allura ou 40, nova cocina, tartrazina, eritrosina, floxina e rosa bengala, que induziram erros no DNA, na avaliação citogênica, (SASAKI *et al.*, 2002). Isso corrobora com a pesquisa, que utilizou 24 compostos azo, o que contradiz o trabalho realizado por Poul *et al.* (2008).

Testes *in vitro* também foram realizados por Mpountoukas *et al.* (2010), utilizando células humanas obtidas do sangue periférico e os corantes alimentícios eritrosina, amaranço e tartrazina. Nesse estudo concluiu-se que os corantes em questão são potencialmente genotóxicos e que a utilização de linfócitos periféricos para as análises de citotoxicidade *in vitro* é uma ferramenta valiosa, o que também corrobora os trabalhos que demonstram a ação tóxica que pode desencadear a formação de cânceres.

Moutinho *et al.* (2007) analisaram o uso prolongado da tartrazina em ratos do tipo Wistar, que apresentaram aumento significativo do número de linfócitos e eosinófilos na mucosa gástrica, mas sem alterações carcinogênicas para o período de 10 meses de tratamento, com a dose diária de $7,5 \text{ mg kg}^{-1}$ por dia. Os autores não observaram alterações carcinogênicas nas regiões gástricas, mas o resultado obtido pode indicar um processo inflamatório que pode estar relacionado com o consumo do corante. Entretanto, uma análise mais conclusiva dos resultados teria sido possível caso o estudo tivesse utilizado uma espécie de ratos isogênica, na qual se pudesse utilizar um grupo controle com o mesmo perfil genético e caso se tivesse investigado os metabólitos da ingestão desse corante; a não utilização desses parâmetros limita a pesquisa realizada à simples observação tecidual.

Outro estudo também mostra o sinergismo entre os aditivos alimentícios em teste de neurotoxicidade para as substâncias (azul brilhante, ácido L-glutâmico, amarelo de quinolina e aspartame) (LAU *et al.*, 2006), o que mostra uma agravante no consumo desses produtos com corantes associados a adoçantes sintéticos, sendo comum em produtos *light* ou *diet*.

Alguns trabalhos também relatam a reação alérgica devido ao consumo de alimentos contendo aditivos como corantes (AMADO; JACOB, 2007). Entre as reações alérgicas, esses corantes podem causar urticárias, dermatites, entre outras. O corante amarelo tartrazina, por sua vez, é relatado como o causador de rinites, asma e pode também levar à sensibilidade às drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINES) (PESTANA *et al.*, 2010). Segundo Sole *et al.* (2007), os aditivos alimentícios foram responsabilizados por 74,8% das alergias, de acordo com o relato dos participantes. Entretanto, apenas 19,4% deles conheciam o código pelo qual a tartrazina é reconhecida.

Outro efeito danoso à saúde que está relacionado com a ingestão de aditivos alimentícios: é o Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH). A criança que apresenta o transtorno do déficit de atenção e hiperatividade normalmente persiste com os sintomas em grande parte de sua juventude e também na vida adulta. A retirada de aditivos alimentícios da dieta de crianças com déficit de atenção e hiperatividade resultou na melhora no comportamento hiperativo (POLÔNIO; PERES, 2009).

2.1.5. Legislação

O Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965 esclarece as seguintes definições:

Corante: substância que confere ou intensifica a cor dos alimentos; **Flavorizante:** substância que confere ou intensifica o sabor e o aroma dos alimentos; **Aromatizante:** substância que confere e intensifica o aroma dos alimentos; **Conservante:** substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microorganismos ou enzimas; **Antioxidante:** substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa nos alimentos; **Estabilizante:** substância que favorece e mantém as características físicas das emulsões e suspensões; **Espumífero e Antiespumífero:** substância que modifica a tensão superficial dos alimentos líquidos; **Espessante:** substância capaz de aumentar, nos alimentos, a viscosidade de soluções, emulsões e suspensões; **Edulcorante:** substância orgânica artificial, não glicídica, capaz de conferir sabor doce aos alimentos; **Umectante:** substância capaz de evitar a perda da umidade dos alimentos; **Anti-umectante:** substância capaz de reduzir as características higroscópicas dos alimentos; **Acidulante:** substância capaz de comunicar ou intensificar o gosto ácido dos alimentos (BRASIL, 2005).

O mesmo decreto, em seu Artigo 10, preconiza que os corantes tolerados compreendem: corantes naturais, caramelo e corantes artificiais. Sendo considerado um “corante natural” o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal; o “caramelo” é o produto obtido a partir de açúcares, pelo aquecimento e temperatura superior ao seu ponto de fusão e ulterior tratamento indicado pela tecnologia; o “corante artificial” é a substância, de composição química definida, obtida por processo de síntese (BRASIL, 2005).

O mesmo Decreto, em seu Art. 1º, diz que: “É tolerada a adição nos alimentos de, no máximo, 3 corantes”.

Nos Estados Unidos, a tartrazina tem uma ingestão diária aceitável de 5,0 mg kg⁻¹ de peso corporal pela *Food and Drug Administration* (FDA), órgão governamental americano encarregado do controle dos alimentos, medicamentos e cosméticos. O vermelho bordeaux tem o uso proibido nos EUA, tendo em vista que estudos mostraram ação carcinogênica e embriotóxica, mas seu uso é permitido no Brasil. O amarelo crepúsculo tem um consumo máximo estabelecido pela FDA de 3,75 mg kg⁻¹ (BELTRÁN; PEREZ – URQUIZA, 2000).

Pela legislação brasileira vigente é permitido no Brasil o uso de apenas 11 corantes artificiais, sendo eles: vermelho bordeaux S, vermelho de eritrozina, vermelho 40, vermelho ponceau 4R, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul de indigotina, azul brilhante, azorrubina, verde rápido e azul patente V (ANVISA, 2011)

Os corantes, objeto de nosso estudo, e suas principais características são apresentadas na tabela a seguir (ANVISA, 2011).

Tabela 2.3. Características dos corantes orgânicos sintéticos.

Corante	CEE/INS	Cor	IDA / mg kg ⁻¹	LM / mg kg ⁻¹
Vermelho Bordeaux S	E123	Magenta	0,50	50
Azul Brilhante	E133	Azul Turquesa	10,00	100
Amarelo Crepúsculo	E110	Laranja	2,50	100
Amarelo Tartrazina	E102	Amarelo Limão	7,50	100
Vermelho 40	E129	Vermelho Alaranjado	7,00	100
Vermelho Ponceau 4R	E124	Cereja	4,00	50

CEE: Comunidade Econômica Europeia; INS: Sistema Internacional de Numeração, LM: Limite máximo permitido

2.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO UV-VIS

As medidas baseadas na luz ou outras formas de radiação eletromagnética são amplamente empregadas em química analítica. As interações da radiação com a matéria são objeto de estudo da ciência da espectroscopia. Os métodos espectroscópicos de análise são baseados na medida da quantidade de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas ou pelas espécies atômicas de interesse (SKOOG *et al*, 2009).

Os métodos espectroscópicos podem ser classificados de acordo com a região do espectro eletromagnético envolvida na medida. As regiões espectrais que têm sido empregadas incluem os raios γ , os raios X, ultravioleta (UV), visível, infravermelho (IV), microondas e radiofrequência (RF).

Na absorção molecular de energia eletromagnética, as moléculas sofrem três tipos diferentes de transições quantizadas quando excitadas pela radiação ultravioleta, visível e infravermelha. Para a radiação ultravioleta e visível, a excitação envolve a promoção de elétrons presentes em um orbital molecular ou atômico de menor energia para um orbital de maior energia. Além das transições eletrônicas, as moléculas exibem

dois tipos adicionais de transições induzidas por radiação: transições vibracionais e transições rotacionais. As transições vibracionais ocorrem porque a molécula apresenta um número muito grande de níveis energéticos quantizados (ou estados vibracionais) associados com as ligações que mantêm a molécula unida (SKOOG *et al*, 2006).

A absorção de radiação ultravioleta ou visível por uma espécie atômica ou molecular M pode ser considerada um processo de duas etapas. A primeira envolve a excitação eletrônica, como mostrado pela Equação 01:



O produto da absorção do fóton hv pela espécie M é uma espécie eletronicamente excitada, representada por M^* . O tempo de vida da espécie excitada é breve, ocorrendo entre 10^{-8} a 10^{-9} s. Cada um dos diversos processos de relaxação pode levar à desexcitação de M^* . O tipo mais comum de relaxação envolve a conversão da energia de excitação em calor, como mostrado pela Equação 02:



A relaxação pode ocorrer também por um processo fotoquímico, como a decomposição de M^* , para formar novas espécies. Alternativamente, a relaxação pode envolver reemissão por fluorescência. É importante notar que o tempo de vida de M^* é usualmente tão curto, que sua concentração, em qualquer instante, é desprezível. Além disso, a quantidade de energia térmica liberada pela relaxação é muito pequena. Assim, medidas de absorção criam uma perturbação mínima do sistema em estudo, exceto quando ocorre decomposição fotoquímica.

A absorção de radiação ultravioleta ou visível é, geralmente, o resultado da excitação de elétrons de ligação. Devido a isso, os comprimentos de onda das bandas de absorção podem ser correlacionados com os tipos de ligação de espécies químicas. Dessa forma, a espectroscopia de absorção molecular é uma técnica válida para identificar grupos funcionais em moléculas, sendo aplicadas na determinação quantitativa de compostos contendo grupos absorventes (SKOOG *et al*, 2009; VOGEL, 1992).

A absorção da radiação ultravioleta e visível por moléculas ocorre geralmente em uma ou mais bandas de absorção eletrônica, cada uma das quais formadas por linhas

muito próximas, porém discretas. Cada linha resulta da transição de um elétron do estado fundamental para um dos muitos estados de energia vibracional e rotacional, associados a cada estado de energia eletrônica excitada. Como há muitos desses estados vibracionais e rotacionais e suas energias diferem muito pouco, muitas linhas que estão bastante próximas estão contidas em uma banda típica.

Todos os compostos orgânicos são capazes de absorver radiação eletromagnética, pois todos contêm elétrons de valência que podem ser excitados para níveis mais altos de energia. As energias de excitação, associadas a elétrons que formam a maior parte das ligações simples, são suficientemente altas para que a absorção ocorra na região ultravioleta de vácuo ($\lambda < 185$ nm), onde os componentes da atmosfera também absorvem e causam a excitação de elétrons não ligantes n para orbitais σ^* .

O espectro eletrônico de moléculas orgânicas contendo cromóforos geralmente é complexo, porque a sobreposição das transições vibracionais eletrônicas leva a uma intrincada combinação de linhas sobrepostas. O resultado é uma banda larga de absorção, que frequentemente aparece como uma banda contínua.

2.2.1. Lei de Lambert-Beer para misturas

A espectroscopia de absorção molecular é baseada na medição da transmitância, T , ou absorbância A , de soluções contidas em células transparentes com caminho óptico de b cm (VOGEL, 1992; SKOOG *et al.*, 2009). Geralmente, a concentração de um analito que absorve radiação está relacionada linearmente com a absorbância, como mostra a lei de Beer, equação 03:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (03)$$

Onde: T é a transmitância, P_0 é a potência radiante incidente, P é a potência radiante transmitida, A é a absorbância, c é a concentração do absorvente, b é o caminho óptico e ϵ é a absortividade molar.

Um feixe paralelo de radiação monocromática com P_0 incide em um bloco perpendicular à sua superfície, após percorrer uma espessura b do material que contém n átomos, íons ou moléculas absorventes, sua potência decresce para P como resultado da absorção.

Poucas exceções são encontradas para a regra geral que estabelece que a absorvância está relacionada linearmente com o caminho óptico. Por outro lado, frequentemente ocorrem desvios da proporcionalidade direta entre a absorvância medida e a concentração quando b é constante. Alguns desses desvios são conhecidos como desvios reais; são fundamentais e representam limitações reais da lei de Beer. Outros desvios resultam da maneira como as medidas de absorvância são feitas (desvios instrumentais), ou são o resultado de mudanças químicas que ocorrem com variações de concentração (desvios químicos). (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

A lei de Beer descreve o comportamento da absorção de um meio que contenha concentrações relativamente baixas do analito, sendo essa uma limitação da lei. Em altas concentrações, geralmente maior do que $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, a extensão das interações soluto-solvente, soluto-soluto, ou as pontes de hidrogênio podem afetar o ambiente do analito e, assim, a sua absorvância.

A lei de Beer pode também ser aplicada a um meio contendo uma mistura de substâncias absorventes. Se as diferentes espécies não interagem entre si, a absorvância total para o sistema multicomponente é dado pela equação 04:

$$A_{\text{total}} = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n = \epsilon_1 \cdot b \cdot c + \epsilon_2 \cdot b \cdot c + \epsilon_3 \cdot b \cdot c + \dots + \epsilon_n \cdot b \cdot c \quad (04)$$

Os corantes podem ser identificados por espectroscopia na região ultravioleta e visível por meio da comparação dos espectros das amostras com os espectros dos padrões e a identificação do comprimento de onda máximo, ou comprimentos de onda máximos indicados pela literatura, ou ainda por meio da utilização de padrões analíticos dos corantes em estudo (TAKATA et al. 1988; CORNET *et al.*, 2006). E, através do preparo de uma curva analítica dos respectivos padrões, pode-se quantificar o teor de uma amostra de corante. Quando se tem uma mistura de corantes, estes podem ser quantificados, desde que se comportem de forma independente diante da energia eletromagnética que está incidindo sobre a mistura (VOGEL, 1992; SKOOG *et al.*, 2009). Pode-se determinar também o teor de corantes em uma mistura, usando a espectrometria derivativa, uma ferramenta analítica adicional que auxilia na resolução de diversos problemas analíticos (NEVADO *et al.*, 1995; VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2006).

O presente trabalho propõe a utilização de uma equação desenvolvida a partir da lei de Lambert-Beer, que considera a absorção obtida da mistura como a soma das absorvâncias dos corantes envolvidos (NEVADO *et al.*, 1995) ou substâncias que absorvem na região do UV-vis, como é o caso de uma mistura de ácido salicílico e salicílico (SALINAS *et al.*, 1990).

2.2.2. Desenvolvimento de equações matemáticas para mistura de corantes

O método analítico foi desenvolvido para quantificar corantes sintéticos mediante a aplicação das relações matemáticas desenvolvidas com base na Lei de Lambert-Beer. O método empregado usa menor quantidade de reagentes e sem tratamentos químicos prévios das amostras. Os cálculos teóricos foram desenvolvidos para determinar corantes em misturas binárias e ternárias, como pode ser visto a seguir.

Mistura binária (dois corantes sintéticos)

Quando se tem mais de uma substância em uma solução, sem que haja interação entre as substâncias, tem-se que a absorvância total é igual a soma das absorvâncias das substâncias presentes na mistura ($A_{total} = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n$), como foi observado na Equação 04.

Partindo do pressuposto de que, numa mistura de duas substâncias que não interagem entre si a absorvância lida corresponde a soma das absorvâncias individuais, pode-se inferir que:

$$A_{m_1} = A_{11} + A_{12} \quad \text{para o } \lambda_1 \quad (05)$$

e

$$A_{m_2} = A_{21} + A_{22} \quad \text{para o } \lambda_2 \quad (06)$$

Onde: A_{m_1} é a absorvância da mistura das duas substâncias no comprimento de onda 1 e A_{m_2} é a absorvância das duas substâncias no comprimento de onda 2. A_{11} é a absorvância do corante 1 no comprimento de onda 1, A_{12} é a absorvância da substância 2 no comprimento de onda 1, A_{21} é a absorvância da substância 1 no comprimento de onda 2 e A_{22} é a absorvância da substância 2 no comprimento de onda 2.

Considerando-se que as substâncias obedecem a Lei de Beer e que o comprimento do caminho óptico é igual a 1 cm, obtém-se as Equações 07 e 08.

$$A_{m_1} = \varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 \quad (07)$$

e

$$A_{m_2} = \varepsilon_3 c_1 + \varepsilon_4 c_2 \quad (08)$$

Onde: c_1 e c_2 são as concentrações das substâncias 1 e 2, respectivamente; e ε se refere às respectivas absorvidades nos respectivos comprimentos de onda. Isolando-se a concentração da substância 1 nas Equações 07 e 08, obtém-se as equações 09 e 10:

$$c_1 = \frac{A_{m_1} - \varepsilon_2 c_2}{\varepsilon_1} \quad (09)$$

e

$$c_1 = \frac{A_{m_2} - \varepsilon_4 c_2}{\varepsilon_3} \quad (10)$$

Igualando-se a concentração da substância 1 nas Equações 09 e 10, obtém-se a equação 11:

$$\frac{A_{m_1} - \varepsilon_2 c_2}{\varepsilon_1} = \frac{A_{m_2} - \varepsilon_4 c_2}{\varepsilon_3} \quad (11)$$

Rearranjando-se a Equação 11 tem-se as equações 12, 13, 14, 15, e 16:

$$\varepsilon_3 A_{m_1} - \varepsilon_3 \varepsilon_2 c_2 = \varepsilon_1 A_{m_2} - \varepsilon_1 \varepsilon_4 c_2 \quad (12)$$

$$\varepsilon_3 A_{m_1} - \varepsilon_1 A_{m_2} = \varepsilon_3 \varepsilon_2 c_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4 c_2 \quad (13)$$

$$\varepsilon_3 A_{m_1} - \varepsilon_1 A_{m_2} = c_2 (\varepsilon_3 \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4) \quad (14)$$

$$c_2 = \frac{\varepsilon_3 A_{m_1} - \varepsilon_1 A_{m_2}}{\varepsilon_3 \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4} \quad (15)$$

$$c_2 = A_{m_1} \left(\frac{\varepsilon_3}{\varepsilon_3 \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4} \right) - A_{m_2} \left(\frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_3 \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4} \right) \quad (16)$$

Adotando-se o mesmo procedimento para o cálculo para c_1 , obtêm-se a equação 17:

$$c_1 = A_{m_2} \left(\frac{\varepsilon_2}{\varepsilon_3 \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4} \right) - A_{m_1} \left(\frac{\varepsilon_4}{\varepsilon_3 \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \varepsilon_4} \right) \quad (17)$$

Através das Equações 16 e 17, pode-se calcular a concentração das duas substâncias numa mistura.

2.3. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE DE CORANTES ALIMENTÍCIOS

Há na literatura uma variedade relevante de estudos de identificação, separação e quantificação de corantes orgânicos sintéticos, sejam eles corantes alimentícios ou têxteis. Dentre os métodos utilizados para identificação, separação e quantificação, os métodos cromatográficos apresentam-se como os mais utilizados, também outras metodologias, como espectrofotometria na região UV-vis, são igualmente utilizadas para tal finalidade.

López-de-Alba *et al.* (1996) determinaram os teores dos corantes vermelho 40, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, eritrozina, vermelho Bordeaux e azul brilhante em amostras de sucos artificiais em pó. Neste trabalho uma matriz de calibração é proposta para a determinação dos corantes a partir de dados de espectrofotometria no visível obtidos para 23 soluções, sendo que três delas contém somente vermelho 40 e as demais consistem de misturas binárias dos outros corantes. As concentrações variaram na faixa de 2,0 a 22 mg L⁻¹, com exceção para o azul brilhante que variou de 2,0 a 12 mg L⁻¹. A matriz foi aplicada para amostras reais de sucos em pó contendo apenas um corante e para amostras com dois corantes. Os resultados obtidos foram comparados com o método tradicional e as interferências que ocorrem no método tradicional podem ser eliminadas usando PLS.

Ni *et al.* (2009) fizeram a determinação simultânea dos corantes amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, vermelho bordeaux e azul brilhante por espectrofotometria, sem nenhuma separação prévia. Os dados obtidos foram submetidos

a tratamento quimiométrico (PLS e PCR), aplicado a 16 amostras sintéticas e os resultados utilizados na determinação desses corantes em amostras comerciais.

Em 1998, Sayar e Ozdemir propuseram um método espectrofotométrico desenvolvido a partir da primeira derivada para determinação quantitativa dos corantes vermelho ponceau, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina em amostras sintéticas binárias. O método foi aplicado a produtos de confeitaria, obtendo-se recuperações de 93,8 a 101,2% para vermelho ponceau; 92,1 a 107,9% para amarelo crepúsculo e 94,9 a 99,2% para amarelo tartrazina. Os resultados foram comparados com os obtidos por cromatografia em camada fina (TLC). O método proposto apresentou-se mais rápido, ecologicamente viável e preciso.

No ano seguinte, Nevado *et al.* (1999) empregaram ferramentas quimiométricas (PLS e PCR) para quantificação simultânea dos corantes amarelo tartrazina, azul patente e azul de indigotina em amostras de xarope e gelatina. Dezenove misturas sintéticas contendo os 3 corantes foram analisadas por espectrofotometria no visível, obtendo-se recuperações de 93,5 a 103,1 %. O teste *F* foi aplicado a duas séries de nove padrões de cada corante, não apresentando diferenças significativas no nível de confiança de 95%.

Dinc *et al.* (2002) também utilizaram o tratamento quimiométrico por PCR aplicado aos dados de espectrofotometria para desenvolver um método para análise multicomponente de amostras de sucos em pó contendo os corantes amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina e vermelho 40, utilizando soluções em meio de ácido clorídrico a 0,1 mol L⁻¹. Para obter o conjunto de calibração utilizou 18 amostras sintéticas com concentrações de amarelo crepúsculo variando de 0 a 8, de amarelo tartrazina de 0 a 18 e vermelho 40 de 0 a 8 µg mL⁻¹. Comparativamente utilizou as derivadas do espectro no visível para validação usando misturas ternárias sintéticas. Os resultados obtidos indicaram que os métodos foram estatisticamente similares.

Huang *et al.* (2002) desenvolveram um novo método para detecção dos corantes amarelo tartrazina, verde rápido, azul brilhante, vermelho 40, azul de indigotina, amarelo crepúsculo, ácido carmínico e nova coccina a partir da separação por eletroforese capilar em solução tampão com pH 10,0 e β-ciclodextrina, tendo a separação ocorrida em 9 minutos. O método foi aplicado com sucesso em amostras de produtos lácteos utilizando-se uma coluna de poliamida para extração em fase sólida (SPE), a fim de eliminar os efeitos de matriz. A recuperação dos 8 corantes em bebidas lácteas foi maior que 85% e os limites de detecção alcançados foram menores que 0,5 µg mL⁻¹.

Em 2005, Chanlon *et al.* quantificaram os corantes carmosina, vermelho ponceau, vermelho 40 em xaropes e bebidas empregando-se polarografia de pulso diferencial. A influência do pH sobre as intensidades foi estudada na faixa de pH 3 e 11. Em solução tampão de fosfato (pH 9,0), os picos para carmosina, vermelho 40 e vermelho ponceau foram separados, permitindo a identificação e a quantificação dos três corantes. O procedimento foi aplicado em uma amostra teste de xarope apresentando recuperação na faixa de 96-105%. Os limites de quantificação encontrados foram de 42, 43 e 34 mg L⁻¹ para carmosina, vermelho ponceau e vermelho 40, respectivamente. O método foi aplicado com sucesso para amostras comerciais de refrigerantes, e apresentaram concordância com os resultados obtidos por cromatografia líquida.

Zhang *et al.* (2007) utilizaram Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de arranjo de diodos para determinação dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, vermelho Bordeaux e vermelho ponceau. A fase móvel utilizada foi uma solução tampão de acetato de amônio a 40 mM com a separação alcançada em 9 min. Após validação, o método aplicou-se à análise de bebidas alcoólicas chinesas. Foram obtidas recuperações variando de 98,5 a 102,6%.

Lachenmeier e Kessler (2008) também utilizaram cromatografia líquida de alta eficiência para a análise dos corantes amarelo tartrazina, amarelo quinolina, azul patente V e azul brilhante, Fraige e colaboradores (2009) empregaram eletroforese capilar em coluna de sílica fundida para analisar os corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo, verde rápido e vermelho bordeaux. A separação foi realizada utilizando tampão borato com pH 9,0 e limites de detecção de 0,3 a 1,5 mg L⁻¹. O método apresentou linearidade adequada nos intervalos estudados, com coeficientes de correlação superiores a 0,99. O método foi aplicado para a determinação e quantificação desses corantes em sucos de frutas e doces.

Ni *et al.* (2009) descreveram um método espectrofotométrico para a determinação simultânea de vermelho bordeaux, vermelho ponceau, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina e azul brilhante através da cinética das reações entre o íon Fe(III) e os corantes em misturas, empregando-se quimiometria. Os limites de detecção apresentaram valores de 0,04-0,50 mg L⁻¹. Utilizaram-se modelos de calibração multivariada e o método proposto foi aplicado para a determinação dos cinco corantes em amostras de bebidas e geleias. Os resultados foram comparados com os do

método de referência (HPLC). Estes resultados indicaram que o método proposto foi satisfatório para a quantificação dos cinco corantes.

Razmara *et al.*, (2011) utilizaram extração líquido-líquido e determinação espectrofotométrica UV-vis para extração e quantificação dos corantes amarelo crepúsculo e azul de metileno. Foram testados os efeitos do tipo de solvente, razão entre as fases (orgânica-aquosa), pH, tipo e quantidade de sal para otimização das condições experimentais. A faixa linear de trabalho e o limite de detecção foi de 0,2 a 7,0 mg L⁻¹ e 0,06 mg L⁻¹ para azul de metileno e de 0,4 a 15,0 mg L⁻¹ e 0,07 mgL⁻¹ para o amarelo crepúsculo. O procedimento proposto foi testado com sucesso em amostras enriquecidas, com recuperações na faixa de 90,2 a 106%. Os autores propõem que o procedimento seja aplicado para determinação de azul de metileno e amarelo crepúsculo em águas residuárias e em amostras de alimentos.

Unsal *et al.* (2012) desenvolveram um novo método para determinação de amarelo crepúsculo (traços) por extração em fase sólida, que após adsorção é eluído em 3 mL de metanol e determinado espectrofotometricamente a 484 nm. Foram testados a influência do pH, da concentração do corante, vazão do eluente, quantidade de resina, volume de amostra e presença de interferentes (metais alcalinos e de transição). A recuperação do amarelo crepúsculo foi superior a 95%, com desvio padrão de 3,9%; o fator de pré-concentração foi de 150. O procedimento foi aplicado com sucesso na determinação de amarelo crepúsculo em amostras de sucos em pó e produtos de confeitaria.

Gan *et al.*(2012) desenvolveram um método eletroquímico com eletrodo de carbono vítreo, revestido com grafeno e ácido fosfotúngstico, onde o grafeno foi usado como mediador da transferência de elétrons. O método apresentou-se seletivo e sensível para a determinação de corantes alimentícios sintéticos, tais como, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina exibindo picos de oxidação bem definidos por voltametria de pulso diferencial. O limite de detecção foi de 0,5 µg L⁻¹ para o amarelo crepúsculo e de 30,0 µg L⁻¹ para o amarelo tartrazina. Foi estudada também a interferência de alguns aditivos alimentares comumente presentes em refrigerantes como os edulcorantes, o que forneceu evidências de que seria útil o desenvolvimento de sensores portáteis para aplicação na determinação de aditivos alimentícios.

Recentemente, El-Shahawi *et al.* (2013) desenvolveram um método para a determinação espectrofotométrica do corante amarelo crepúsculo a partir da pré-concentração do corante em micelas. Os íons do corante se associam a trioctilamina em

meio HCl-Triton X-100. Nas micelas formadas, as espécies iônicas do corante (aniônicas) interagem com o íon trioctilamônio (catiônicas) gerando espécies hidrofóbicas, cujo coeficiente de distribuição foi de aproximadamente 104. Para validação do método, os resultados foram comparados com os obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência. Obteve-se um limite de detecção de 0,50 ng mL⁻¹ e o método foi aplicado em amostras de refrigerantes, adoçantes e gelatinas.

Harp *et al.* (2013) quantificaram os corantes azul de indigotina, verde rápido, azorrubina, vermelho 40, amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo em produtos alimentícios, empregando-se cromatografia líquida de alta eficiência com arranjo de fotodiodos. O método foi validado a partir da determinação da linearidade, faixa de trabalho, precisão, recuperação em vários tipos de matrizes, limite de detecção, limite de quantificação e desvio padrão relativo para cada um dos corantes. O estudo foi aplicado a 44 amostras, entre estas bebidas, gelatinas, doces, glacês, geleias, molhos e produtos lácteos. As quantidades de corantes encontradas nessas amostras variaram de 1,9 a 1221 mg kg⁻¹.

No trabalho de Shawish *et al.* (2013), o corante amarelo tartrazina foi determinado em amostras de geleias e refrigerantes utilizando-se um sensor eletroquímico constituído por dois eletrodos: eletrodo A (eletrodo de pasta de carbono modificado) e o eletrodo B (constituído por um fio de prata revestido com uma pasta obtida de amarelo de tartrazina e cetil-trimetilbrometo de amônio). Os limites de detecção encontrados foram 3,2 x 10⁻⁷ e 5,5 x 10⁻⁸ mol L⁻¹, com tempo de resposta rápido (5 a 8 s) e faixas de pH de 3,8 a 7,7 e 4,2 a 8,1. Os sensores desenvolvidos exibiram alta seletividade para o amarelo tartrazina.

Schenone *et al.* (2013) desenvolveram um algoritmo para dados espectrofotométricos não lineares medidos a partir de um sistema de análise em fluxo. O tratamento permitiu a quantificação do amarelo de tartrazina na presença do amarelo crepúsculo e azul brilhante como possíveis interferentes. Primeiramente, foram removidos os componentes não presentes no conjunto de calibração e, posteriormente, uma função polinomial foi usada para modelar os dados não lineares obtidos. O uso do algoritmo permitiu a determinação rápida e precisa do amarelo tartrazina em amostras de bebidas, sem preparação prévia. O método proposto foi validado utilizando-se como método de referência a cromatografia líquida. Os valores médios de recuperação ficaram entre 98 e 100% e os erros relativos de previsão entre 4 e 9%, indicando um bom desempenho do método desenvolvido.

Turak e Ozgur (2013) propuseram dois métodos espectrofotométricos simples para determinação de dois corantes (azul de indigotina e azul brilhante) e de dois adoçantes (acessulfame-K e aspartame) em misturas sintéticas de gomas de mascar, sem procedimentos prévios de separação ou purificação. No primeiro método, utilizou-se a primeira derivada do espectro no UV-vis do azul de indigotina, azul brilhante e acessulfame-K e a terceira derivada do aspartame. No segundo método, os dados de primeira e terceira derivadas foram utilizados para resolver a interferência devido à sobreposição espectral. Obteve-se boa linearidade, com coeficientes de regressão maiores que 0,999. Os valores para os limites de detecção e quantificação variaram de 0,05-0,33 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e de 0,06 a 0,47 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os ensaios intradia e interdia produziram valores de RSD% menores que 0,81%; as recuperações variaram de 99,78 a 100,67%.

Vlase *et al.* (2007) estudaram o comportamento térmico de quatro corantes alimentícios (amarelo tartrazina, amarelo crisoina S, azorrubina e vermelho bordeaux), sob condições não isotérmicas, utilizando atmosfera de ar dinâmica e razões de aquecimento de 5, 10, 15 e 20 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Os dados de TG foram correlacionados com os espectros FTIR de cada amostra, antes e depois da decomposição térmica. O estudo da cinética da decomposição térmica desses corantes foi realizado a partir do processamento dos dados de termogravimetria. Nesse caso, o método de estudo da cinética utilizado foi de Flynn-Wall-Ozawa. Neste trabalho também foram utilizados espectros na região do infravermelho para a caracterização desses materiais.

Vuataz *et al.* (2010) determinaram o teor de umidade em pós alimentícios utilizando dados de termogravimetria, a partir da análise simultânea por TG/DTG. O tratamento prévio consistiu da secagem obtendo-se um pó a partir do processo de liofilização ou extrusão em alimentos como leite, café, cereais e ração para animais. O procedimento proposto apresentou-se útil em substituição aos métodos tradicionais.

Resumidamente, a Tabela 2.4 apresenta as principais informações encontradas na literatura para determinação de corantes em amostras de alimentos.

Tabela 2.4. Principais informações encontradas na literatura para determinação de corantes.

Corante	Técnica	FDL / mg L ⁻¹	LD / mg L ⁻¹	Aplicação	Ref.
AC, AT e VP	EAM-vis	<i>ni</i>	<i>ni</i>	Geleia, balas e açúcar colorido	Sayar & Özdemir, 1998
AT, AP e AI	EAM-vis	0,8 – 20; 0,4 – 6,0; 0,8 – 17,6	<i>ni</i>	Xarope e gelatina	Nevado <i>et al.</i> , 1999
AC, AT e V40	EAM-vis I	4,0 – 18; 2,0 – 8,0; 2,0 – 8,0	0,193; 0,543; 0,021	Sucos em pó	Dinc <i>et al.</i> , 2002
AB, VR, AC, AI, V40, AT, VP e ACM	Eletroforese	1,0 – 500	0,05 – 0,40	Bebida láctea	Huang <i>et al.</i> , 2002
AR, V40 e VP	Polarografia	0,02 – 4,0; 0,02 – 4,5; 0,02 – 4,0	<i>ni</i>	Xarope	Chanlon <i>et al.</i> , 2005
AC, AT, VP, AQ e AR	HPLC	1,0 – 100; 1,0 – 100; 3,0 – 100; 4,0 – 100; 2,0 – 100	0,30; 0,30; 1,0; 1,0; 0,60	Suco de fruta	García-Falcón <i>et al.</i> , 2005
AB, AC, AT, VB e VP	HPLC	0,037 – 100; 0,016 – 160; 0,007 – 120; 0,021 – 138; 0,031 – 122	0,011; 0,0048; 0,0021; 0,0062; 0,0093	Bebida alcoólica	Zhang <i>et al.</i> , 2007
AB, AC, VB e VR	Eletroforese	6,0 – 400; 4,0 – 250; 5,0 – 300; 6,0 – 400	0,50; 1,5; 1,2; 0,30	Suco em pó e balas	Fraige <i>et al.</i> , 2009
AC, AT e VB	EAM-vis	0,08 – 4,4; 0,04 – 1,8; 0,01 – 1,8	<i>ni</i>	Bebida isotônica	Llamas <i>et al.</i> , 2009
AB, AC, AT, VB e VP	EAM-vis	0,1 – 2,0; 0,5 – 18; 2,0 – 44; 0,2 – 8,0; 0,5 – 6,0	0,038; 0,14; 0,51; 0,095; 0,17	Refrigerante e geleia	Ni <i>et al.</i> , 2009
AB, AC, AT, V40, AI, AZ e VR	HPLC	~ 0,25 – 13,0	0,041; 0,015; 0,038; 0,014; 0,071; 0,035; 0,0065	Refrigerante, balas, condimento, doce, pão e laticínio	Harp <i>et al.</i> , 2013
AT	Potenciometria	0,0588 – 5343,6	0,0029	-	Shawish <i>et al.</i> , 2013
AB, AC e AT	EAM-vis	2,0 – 20	-	Refrigerante	Schenone <i>et al.</i> , 2013
AB e AI	EAM-vis	2,0 – 10	0,18; 0,33	Goma de mascar	Turak & Ozgur, 2013
AT	EAM-vis	0,02 – 0,452	0,0005	Refrigerante, doce e gelatina	El-Shahawi <i>et al.</i> , 2013
AB, AC, AT, V40, VB e VP	EAM-vis	1,5625 – 9,3750; 1,5625 – 25,000	0,0408; 0,1808; 0,2364; 0,1993; 0,2075; 0,2472	Suco em pó	<i>Este trabalho</i>

ni: não informado

2.4. VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO

2.4.1 Figuras de Mérito

Os parâmetros utilizados para a validação de métodos analíticos envolvem Especificidade/Seletividade, Função da Resposta (gráfico analítico), Intervalo de Trabalho, Linearidade, Sensibilidade, Exatidão, Precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutividade), Limite de Detecção, Limite de Quantificação e Robustez (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.1. Seletividade

A matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição pelo detector selecionado, sem causar um sinal visível no teste de especificidade. Os interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal, e a magnitude do efeito também pode depender da concentração. Para fazer o teste de seletividade, podem ser utilizados diversos testes; depende da disponibilidade do analito, da matriz sem o analito e de amostras de referência nas concentrações de interesse. Podem ser aplicados o teste F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias e o teste t (Student) de comparação de médias (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.2 Especificidade

Os testes de especificidade têm como objetivo determinar os componentes que precisam ser analisados na amostra; logo são determinados os possíveis interferentes presentes na matriz da amostra. A especificidade pode ser determinada pela comparação dos resultados obtidos de amostras contaminadas com quantidades apropriadas de impurezas ou amostras não contaminadas, para demonstrar que o resultado do teste não é afetado por esses materiais, ou que é afetado de forma não significativa, ou com um erro aceitável (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.3. Faixa de trabalho

O intervalo de trabalho ou faixa de trabalho é uma faixa de concentração do analito, na qual o método pode ser aplicado, que existe dentro de um método quantitativo. Os primeiros valores da faixa podem ser dos valores dos limites de detecção e de quantificação, e os últimos dependem do sistema de resposta do equipamento de medição. A faixa linear é definida como a faixa de concentração, na qual a sensibilidade pode ser considerada constante, e são normalmente expressas nas mesmas unidades do resultado obtido pelo método analítico (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.4. Linearidade

A linearidade pode ser descrita como a capacidade de uma metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo pré-determinado. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática (equação de regressão linear) usada para o cálculo da concentração da substância em análise, a ser determinado na amostra real. O coeficiente de correlação linear é frequentemente usado para indicar a correlação entre as variáveis da curva e sua adequação ao modelo matemático inicialmente proposto. Um valor maior que 0,90 é usualmente requerido para que se tenha uma correlação linear satisfatória. Para um valor por volta de 0,99 ocorre uma correlação linear próxima do ideal (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.5. Função de resposta

A função de resposta é dada pelo gráfico analítico que deve ser construído a partir das concentrações estimadas das soluções padrão e deve apresentar a equação da regressão linear ($y = a.x + b$), os dados estatísticos de intersecção (b), o coeficiente de correlação ou de determinação. Logo, faz-se necessário o uso de um número suficiente de soluções-padrão para definir adequadamente a relação entre a concentração e a resposta, o que pode ser, no mínimo, cinco valores de concentração enquadrados no intervalo definido (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.6. Sensibilidade

A sensibilidade é um parâmetro que retrata a variação da resposta em função da concentração do analito e que pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração ou pelo coeficiente angular da reta (a) que é dado pela equação obtida a partir da regressão linear, e é determinada simultaneamente pelos testes de linearidade. A sensibilidade é um parâmetro que depende da natureza do analito, como também da técnica de detecção que esteja sendo utilizada (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006).

2.4.1.7. Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada sob as condições experimentais estabelecidas (BRITO *et al.*, 2003; SILVA; ALVES, 2006). Já o limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. (BRITO *et al.*, 2003).

2.4.1.8. Precisão e Exatidão

A precisão de um método é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra, em que as duas formas mais comuns de expressá-la são por meio de repetição e reprodutividade expressa pelo desvio padrão (BRITO *et al.*, 2003). A exatidão expressa o quão próximo do valor esperado a média das medidas se situa.

CAPÍTULO 3
METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1. MATERIAIS E REAGENTES

3.1.1. Amostras

Sucos artificiais em pó

Neste trabalho foram utilizadas 70 amostras de sucos artificiais em pó de 11 fabricantes diferentes: 8 amostras sabor abacaxi, 4 amostras sabor goiaba, 4 amostras sabor graviola, 10 amostras sabor laranja, 6 amostras sabor limão, 4 amostras sabor manga, 9 amostras sabor maracujá, 8 amostras sabor morango, 10 amostras sabor uva e 8 amostras sabor tangerina. As amostras foram adquiridas no comércio de Natal-RN.

As amostras foram codificadas de acordo com o sabor e a marca do fabricante, conforme mostrado na Tabela no Anexo I. Em que as letras se referem ao sabor (AB – abacaxi, GO – goiaba, GR – graviola, LA – laranja, LI – limão, MG – manga, MA – maracujá, MO – morango, TA – tangerina e UV – uva) e os números referem-se ao fabricante. Assim, a amostra LA-01, por exemplo, refere-se ao suco com sabor laranja do fabricante 01, e assim para os demais sucos estudados.

Corantes industriais

Os corantes industriais amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul brilhante, vermelho Bordeaux S, vermelho ponceau 4R, vermelho 40 e dióxido de titânio foram adquiridos da empresa Cotia *Foods S/A*, situada no município de Cotia, no estado de São Paulo. Estes corantes são fornecidos as industriais para fabricação de sucos artificiais em pó.

3.1.2. Padrões de corantes

Foram adquiridos 6 padrões de corantes da marca Sigma-Aldrich: Amarelo Crepúsculo (pureza de 90%), Amarelo Tartrazina (85%), Azul de Brilhante (>99%), Vermelho Bordeaux S (85%), Vermelho Ponceau 4R (99%) e Vermelho 40 (80%). O padrão de dióxido de titânio (99%) foi adquirido da Sigma-Aldrich.

3.1.3. Demais reagentes

Hidróxido de amônio (Vetec), hidróxido de sódio (Vetec), ácido acético glacial (Vetec), ácido clorídrico (Proquímios), acetato de amônio (Vetec) e citrato de sódio (Vetec).

3.1.4. Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos: espectrofotômetro de absorção molecular no UV-vis, Shimadzu, modelo UV-1650 PC; espectrofotômetro de absorção molecular no infravermelho com transformada de Fourier, Shimadzu, modelo IR Affinity-1; analisador térmico, TA Instruments, modelo SDTQ600; pHmetro, Hanna Instruments, modelo pH 21; centrífuga refrigerada Fanem, modelo 280R; centrífuga Jouan, modelo BB; balança Tecnal, modelo B-Tec-210A e balança Analítica Marte, modelo AY220.

3.1.5. Outros materiais

Gás nitrogênio (White Martins), ar sintético (White Martins), cadinho de alumina com diâmetro de 5 mm, cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico, água destilada, vidrarias de laboratório e açúcar refinado tipo confeitiro (glaçúcar) da marca União.

3.2. IDENTIFICAÇÃO DOS CORANTES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO INFRAVERMELHO MÉDIO

Os espectros de absorção molecular na região do infravermelho foram obtidos no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} equivalente à região do infravermelho médio. Na caracterização de cada corante foram utilizadas as tabelas de identificação de Silverstein para identificar cada uma das funções orgânicas presentes na molécula de cada corante e, assim comparar os espectros obtidos nas amostras de sucos artificiais em pó com os espectros dos padrões.

As amostras foram pulverizadas em gral e pistilo de ágata, com a finalidade de homogeneizar o conteúdo. Em seguida, foram armazenadas em frascos de polietileno do tipo *ependorf* e, mantidas em dessecador a 20°C e umidade relativa do ar de 20%, até o momento da análise.

As condições do equipamento para obtenção dos espectros são apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Condições de análises para obtenção dos espectros de infravermelho médio.

Parâmetros	Valores
Faixa	4000 a 400 cm^{-1}
Nº de varreduras	32
Resolução	4,1 cm^{-1}
Módulo de aquisição	ATR
<i>Software</i>	IRsolution versão 1.60

3.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA APLICAÇÃO DA LEI DE LAMBERT-BEER PARA ANÁLISE DOS CORANTES

3.3.1. Obtenção dos espectros de absorção molecular no visível

Preparou-se soluções dos padrões dos corantes com concentração de 4 mg L^{-1} . Estas soluções foram utilizadas para obtenção dos espectros de cada corante e seleção dos respectivos comprimentos de onda com absorbância máxima ($\lambda_{\text{máx}}$). Além do mais, a escolha da concentração levou em consideração a faixa linear de trabalho dos 6 corantes estudados.

3.3.2. Obtenção das curvas analíticas dos corantes artificiais

Foram preparadas 5 soluções padrão de cada corante (AC, AT, V40, VB e VP) na faixa de concentrações de 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 a 12,0 mg L^{-1} . Para o corante AB a faixa de concentração selecionada foi de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 8,0 mg L^{-1} , devido ao elevado valor da absorvidade deste corante. A partir dos espectros, foram obtidos os dados de absorbância e, com as respectivas concentrações das soluções padrão, foram construídas as curvas analíticas para cada corante artificial.

3.3.3. Estudo de fotodegradação

O teste de fotodegradação foi realizado para mensurar a estabilidade dos corantes à luz branca (KARPÍNSKA *et al.*, 2008). Foram preparadas 3 soluções de cada um dos seguintes corantes: AC, AT, AB, V40, VB e VP, em solução de acetato de amônio pH 5,6, todas com concentrações de $4,0 \text{ mg L}^{-1}$, já que esta concentração apresentava-se comum a todos os padrões preparados. As soluções foram expostas à luz branca durante 24 horas. Para o experimento foi montado um aparato consistindo de uma caixa de papelão de dimensões $0,80 \times 0,80 \times 0,80 \text{ m}$ (h x c x p); foi feito um orifício na parte superior, onde foi introduzida uma lâmpada incandescente de 60 W e, as soluções colocadas no assoalho da caixa. Após decorrido o tempo previsto, foram efetuadas as leituras das soluções de todos os corantes na faixa de 400 a 700 nm em espectrofotômetro, obtendo-se os respectivos espectros no visível. Para os cálculos das concentrações, utilizaram-se as respectivas curvas analíticas nas absorbâncias máximas.

3.3.4. Estudo da influência do pH

Foram preparadas soluções-padrão dos corantes estudados nas seguintes concentrações: $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ para o corante AB e, $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ para os demais corantes, utilizando-se água destilada. As soluções foram preparadas em diferentes valores de pHs na faixa de 0,30 a 13,2 e ajustadas com soluções de HCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Os testes foram realizados com o intuito de verificar a influência desse parâmetro sobre a estabilidade das soluções dos corantes.

3.3.5. Avaliação de interferentes

Os rótulos das amostras dos sucos artificiais em pó indicavam, em sua composição, a presença de dióxido de titânio, que é um material insolúvel no meio em que foram realizadas as análises. Assim, procedeu-se ao estudo da influência desta substância sobre as medidas espectrofotométricas na análise dos corantes.

3.3.5.1. Quantificação do teor de TiO₂

A influência do dióxido de titânio foi estudada por Turbidimetria para quantificar a presença desta substância, conforme procedimento descrito para determinação de sulfato, por Jeffery, (1992).

Foram preparadas 6 suspensões do dióxido de titânio numa faixa de concentração de 10 a 60 mg L⁻¹, com incremento de 10 mg L⁻¹, a fim de ser construída a curva analítica. Foram preparadas também soluções padrões dos corantes nas mesmas concentrações da curva analítica e, adicionadas a estas soluções, a mesma quantidade do TiO₂, para estudar a influência deste nas medidas de absorvância. Depois foram feitos testes de centrifugação nas misturas utilizando centrífuga a 3000 rpm, com tempos de centrifugação variando de 20 a 60 minutos, com a finalidade de acelerar o processo de deposição do TiO₂. Adotou-se o mesmo procedimento para as demais soluções dos sucos artificiais em pó.

3.3.5.2. Teste da influência do açúcar

Foram preparados dois conjuntos de soluções-padrão do corante AB, com concentrações iguais às das curvas analíticas. Em um dos conjuntos adicionou-se uma quantidade equivalente de açúcar refinado (de confeitiro), tomando como referência a maior quantidade desse produto no suco artificial em pó, informada pelo fabricante, nos rótulos das amostras.

3.3.6. Cálculo das figuras de mérito

3.3.6.1. Limites de detecção e quantificação

Para o cálculo dos limites de detecção e quantificação foram utilizadas as Equações 18 e 19.

$$LD = \frac{3S_b}{m} \quad (18)$$

$$LQ = \frac{10S_b}{m} \quad (19)$$

Onde: S_b é o desvio padrão das medidas do branco, m é a inclinação da curva analítica, que indica a sensibilidade do método e LD é o limite de detecção e LQ é o limite de quantificação.

O desvio padrão do branco foi obtido a partir da média de 10 soluções do branco, que foram preparadas pesando-se 10 g de açúcar de confeitiro e dissolvendo em água destilada em balão volumétrico de 100 mL.

3.3.6.2. Ensaios de robustez intradia, interdia e interanalistas

As análises de precisão intradia, interdia e interanalistas foram realizadas para avaliar a precisão do método. Nas análises intradia foram preparadas 6 soluções dos corantes AC e AT nas seguintes concentrações: 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 8,0 e 12 mg L⁻¹. As soluções foram preparadas em acetato de amônio 0,020 mol L⁻¹ em pH 5,6 (BRASIL, 2005). As leituras de absorvância foram feitas, com as mesmas soluções, no mesmo dia com intervalo de 6 horas entre as medidas.

Nos ensaios de robustez interdia e interanalistas foram preparadas duas soluções dos corantes AC e AT, ambas com concentração de 4,0 mg L⁻¹. As leituras foram feitas em 3 dias diferentes, no intervalo de 48 horas. Nos ensaios de precisão interanalistas, dois analistas prepararam 3 soluções dos corantes AC e AT nas concentrações desejadas e procederam às suas leituras com a finalidade de comparar os resultados obtidos por cada um deles.

3.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CORANTES NAS AMOSTRAS SINTÉTICAS E AMOSTRAS DE SUCOS ARTIFICIAIS EM PÓ POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO VISÍVEL

As amostras sintéticas e as de sucos artificiais em pó foram analisadas por espectroscopia de absorção molecular no visível.

Para validação do método de quantificação proposto foram escolhidos apenas dois corantes: AC e AT, tendo em vista que estes dois corantes estão presentes na maioria dos sucos artificiais em pó, tais como: abacaxi, laranja, tangerina, manga e maracujá.

3.4.1. Preparação das amostras sintéticas dos corantes

Para obtenção das soluções dos corantes foram preparadas, inicialmente, misturas sólidas do corante industrial e açúcar de confeitiro em proporções definidas. Foram preparadas dois tipos de amostras sintéticas a partir dos corantes industriais: tipo 1 (um corante mais açúcar) e tipo 2 (dois corantes mais açúcar).

3.4.1.1. Amostras sintéticas com um corante

Etapa I: Preparação das misturas sintéticas

Foram preparadas 16 amostras sintéticas (corante mais açúcar de confeitiro) de modo que a massa total dos componentes pesasse 10,0 g. A massa do corante na preparação das 16 amostras variou de 0,0125 até 0,2000 g, com incremento de 0,0125 g (Tabela 3.2) Todas as amostras sintéticas foram homogeneizadas, acondicionadas em frascos de polietileno e mantidas em ambiente com temperatura em torno de 20 °C e umidade relativa do ar em torno de 20%, medido com um termohigrômetro marca Sundo.

Etapa II: Preparação das soluções a partir das misturas sintéticas

Para obtenção das soluções das amostras sintéticas, foram pesadas 3 alíquotas de exatamente 0,1250 g de cada amostra sintética que foram dissolvidas em água destilada e o volume completado para 100 mL em balão volumétrico. A diferença entre as duas concentrações mais próximas foi sempre de 1,5625 mg L⁻¹; isto é, as soluções foram todas obtidas com o incremento desse valor.

A Tabela 3.2 apresenta a composição das amostras sintéticas contendo um corante e suas respectivas concentrações.

Tabela 3.2. Composição das amostras sintéticas com um corante e suas respectivas concentrações.

Amostra	m_c / g	m_a / g	C / mg L ⁻¹
1	0,0125	9,9875	1,5625
2	0,0250	9,9750	3,1250
3	0,0375	9,9625	4,6875
4	0,0500	9,9500	6,2500
5	0,0625	9,9375	7,8125
6	0,0750	9,9250	9,3750
7	0,0875	9,9125	10,937
8	0,1000	9,9000	12,500
9	0,1125	9,8875	14,062
10	0,1250	9,8750	15,625
11	0,1375	9,8625	17,187
12	0,1500	9,8500	18,750
13	0,1625	9,8375	20,312
14	0,1750	9,8250	21,875
15	0,1875	9,8125	23,437
16	0,2000	9,8000	25,000

m_c : massa do corante; m_a : massa de açúcar; C: concentração do corante

3.4.1.2. Amostras sintéticas com dois corantes

Etapa I: Preparação das misturas sintéticas

Foram preparadas 256 amostras sintéticas contendo dois corantes, sendo 16 séries, cada uma contendo 16 misturas sintéticas. Para cada série foi fixada a massa do primeiro corante (AT) e variando-se a massa do segundo corante (AC) de 0,0125 a 0,2000 g, com incremento de 0,0125 g. Para todas as amostras sintéticas foi adicionado açúcar até obter-se uma massa total de 10,0000 g (Apêndice I).

Outras 16 séries contendo cada uma 16 misturas sintéticas foram preparadas, desta feita, fixando-se a massa do AC e variando-se a massa do AT (tabela inversa). Também para estas amostras foi adicionado açúcar até obter-se uma massa total de 10,0000 g.

As 32 séries totalizaram 512 amostras sintéticas, que foram homogeneizadas, acondicionadas em frascos de polietileno e mantidas em ambiente com temperatura em torno de 20 °C e umidade relativa do ar de 20%.

Etapa II: Preparação das soluções a partir das misturas sintéticas

Para obtenção das soluções das amostras sintéticas, pesou-se exatamente 0,1250 g de cada amostra, as quais foram dissolvidas em água destilada e o volume completado para 100 mL em balão volumétrico. A diferença entre as duas concentrações mais próximas foi sempre de 1,5625 mg L⁻¹; isto é, todas soluções foram obtidas com o incremento desse valor. As soluções foram preparadas em triplicata.

As concentrações de todas as soluções obtidas a partir das amostras sintéticas e os valores das respectivas massas utilizadas estão contidas na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Composição das amostras sintéticas com dois corantes e suas respectivas concentrações.

Amostra	C ₁ / mg L ⁻¹	m ₁ / g	C ₂ / mg L ⁻¹	m ₂ / g	m _a / g
1 – 16	1,5625	0,0125	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9750 a 9,7875
17 – 32	3,1250	0,0250	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9625 a 9,7750
33 – 48	4,6875	0,0375	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9500 a 9,7625
43 – 64	6,2500	0,0500	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9375 a 9,7500
65 – 80	7,8125	0,0625	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9250 a 9,7375
81 – 96	9,3750	0,0750	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9125 a 9,7250
97 – 112	10,937	0,0875	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,9000 a 9,7125
113 – 128	12,500	0,1000	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8875 a 9,7000
129 – 144	14,062	0,1125	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8750 a 9,6875
145 – 160	15,625	0,1250	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8625 a 9,6750
161 – 176	17,187	0,1375	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8500 a 9,6625
176 – 192	18,750	0,1500	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8375 a 9,6500
193 – 208	20,312	0,1625	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8250 a 9,6375
209 – 224	21,875	0,1750	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8125 a 9,6250
224 – 240	23,437	0,1875	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,8000 a 9,6125
241 – 256	25,000	0,2000	1,5625 a 25,000	0,0125 a 0,2000	9,7875 a 9,6000

m₁: massa do corante 1; m₂: massa do corante 2; m_a: massa de açúcar; C₁: concentração do corante 1; C₂: concentração do corante 2.

3.4.2. Cálculo das concentrações dos corantes nas amostras sintéticas

Para o cálculo das concentrações dos corantes nas amostras sintéticas contendo dois corantes foram aplicadas as Equações 16 e 17, os termos constantes foram calculados e estão representados nas Equações 20 e 21. Os dados obtidos estão contidos no capítulo 4, Tabela 4.7.

$$c_2 = A_{m_1}w - A_{m_2}z \quad (20)$$

$$c_1 = A_{m_2}x - A_{m_1}y \quad (21)$$

Os termos A_{m_1} e A_{m_2} referem-se às absorvâncias lidas nos comprimentos de onda para cada corante nas amostras sintéticas e w , z , x e y referem-se aos termos constantes nas equações 16 e 17.

Para o cálculo das concentrações, procedeu-se a determinação dos coeficientes de absorvidades para cada corante, utilizando-se a Lei de Lambert-Beer. Determinou-se também o coeficiente de absorvidade médio e, a aplicação destes, no cálculo das concentrações de cada corante nas soluções utilizadas para leitura.

3.4.3. Preparação das soluções das amostras de sucos artificiais em pó

As soluções das amostras de sucos artificiais em pó foram preparadas por meio de dois procedimentos diferentes:

Procedimento I:

Foram pesadas três massas da mesma amostra de suco artificial em pó sabor laranja, variando de 0,10 a 0,50 g, sendo dissolvidas em água destilada e completando-se o volume em balão volumétrico de 100 mL. Tal procedimento foi realizado para os demais sabores das diversas marcas que foram objeto deste estudo.

Procedimento II:

O segundo procedimento foi obtido utilizando-se a massa total contida na embalagem do suco artificial em pó e dissolvendo-a em água destilada no volume proposto pelo fabricante. Por exemplo, para a amostra de suco AB-03 (Anexo I) preparou-se uma solução dissolvendo-se 20 g do sólido em água destilada, completando-se o volume para 2 L, até completa solubilização. Todas as amostras foram centrifugadas antes de serem realizadas as leituras espectrofotométricas.

Uma vez preparadas as soluções, foram feitos os cálculos a fim de serem obtidas as concentrações dos corantes em cada amostra de suco, utilizando-se as Equações 20 e 21.

3.5. ANÁLISE TÉRMICA (TERMOGRAVIMETRIA, TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA E CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA)

Foram obtidas as curvas TG (Termogravimetria), DTG (Termogravimetria Derivativa) para as amostras de sucos artificiais em pó e para os padrões dos corantes. Para isto, as amostras foram pulverizadas em gral e pistilo de ágata, para manter a homogeneidade do conteúdo, armazenadas em frasco de polietileno do tipo *ependorf* e mantidas em dessecador até o momento da análise.

As curvas de Análise Térmica foram obtidas no equipamento SDT da TA Instruments, modelo SDTQ600, no qual se obtém simultaneamente os resultados para Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivativa (DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). As condições em que estas curvas foram obtidas são apresentadas na Tabela 3.4.

Tabela 3.4. Condições experimentais utilizadas nas análises térmicas.

Parâmetros	Valores
Massa	~ 4 mg
Faixa de temperatura	ambiente até 1300 °C
Porta amostra	cadinho de alumina
Razão de aquecimento	20 °C min ⁻¹
Atmosfera	ar sintético e nitrogênio
Vazão da atmosfera	50 mL min ⁻¹

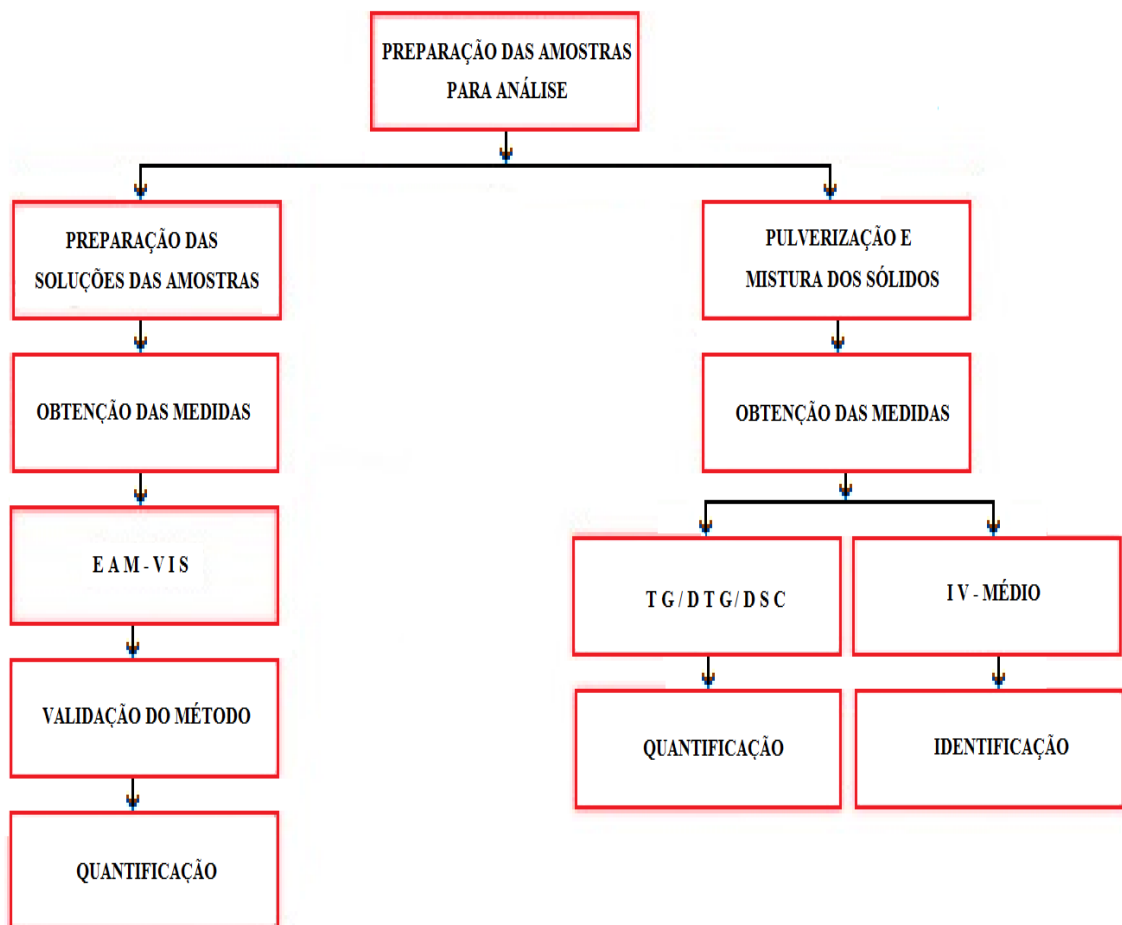
O estudo dos perfis de decomposição térmica foi realizado para cada corante utilizando estas três técnicas, assim como, o estudo de estabilidade. Tais resultados também foram utilizados para o cálculo do teor de umidade, matéria orgânica e cinzas nos corantes puros e nas amostras de suco artificial em pó. O tratamento e cálculos com os dados obtidos foram realizados utilizando-se o *software* TA Instruments Universal Analysis 2000 versão 4.5A.

Para a determinação do teor de umidade procedeu-se ao cálculo nas curvas termogravimétricas e da primeira derivada da curva termogravimétrica da massa volatizada na temperatura de 105°C. Para o cálculo do teor de cinzas procedeu-se a determinação do resíduo, na temperatura de 550°C.

A determinação da matéria orgânica foi obtida por diferença da massa nas temperaturas utilizadas para a determinação de umidade e cinzas. As temperaturas utilizadas nesses procedimentos foram escolhidas considerando-se o método oficial (BRASIL, 2005).

A Figura 3.1 apresenta o resumo das rotinas de análise efetuadas nas amostras de sucos artificiais em pó, nas amostras sintéticas e nos padrões de corantes.

Figura 3.1. Fluxograma das atividades realizadas.



CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. IDENTIFICAÇÃO DOS CORANTES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO INFRAVERMELHO MÉDIO

As análises por espectrometria na região do infravermelho médio foram realizadas para identificação dos padrões dos corantes, e também para identificar a presença desses corantes nas amostras de sucos artificiais em pó.

4.1.1. Identificação dos padrões dos corantes

A Figura 4.1 apresenta os espectros obtidos por espectroscopia de absorção molecular na região do infravermelho médio para as amostras dos corantes industriais que foram utilizados neste trabalho na obtenção das amostras sintéticas. Todos os espectros apresentaram bandas de absorção compatíveis com as estruturas dos corantes analisados.

A Tabela 4.1 apresenta as principais atribuições encontradas nos espectros de FTIR para as amostras dos corantes industriais AB, AC, AT, V40, VB, VP e TiO₂ analisadas neste trabalho. Observa-se que os grupos funcionais encontrados para os corantes industriais são compatíveis com os grupos encontrados nos padrões dos corantes, conforme biblioteca de espectros de infravermelho da Sigma-Aldrich.

Vlase *et al.* (2007) também utilizaram o espectro de absorção molecular na região do infravermelho para a caracterização dos corantes amarelo tartrazina, amarelo crisoina S, azorrubina e vermelho Bordeaux em seu trabalho, obtiveram resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Figura 4.1. Espectros de absorção molecular na região do infravermelho médio para as amostras dos corantes industriais.

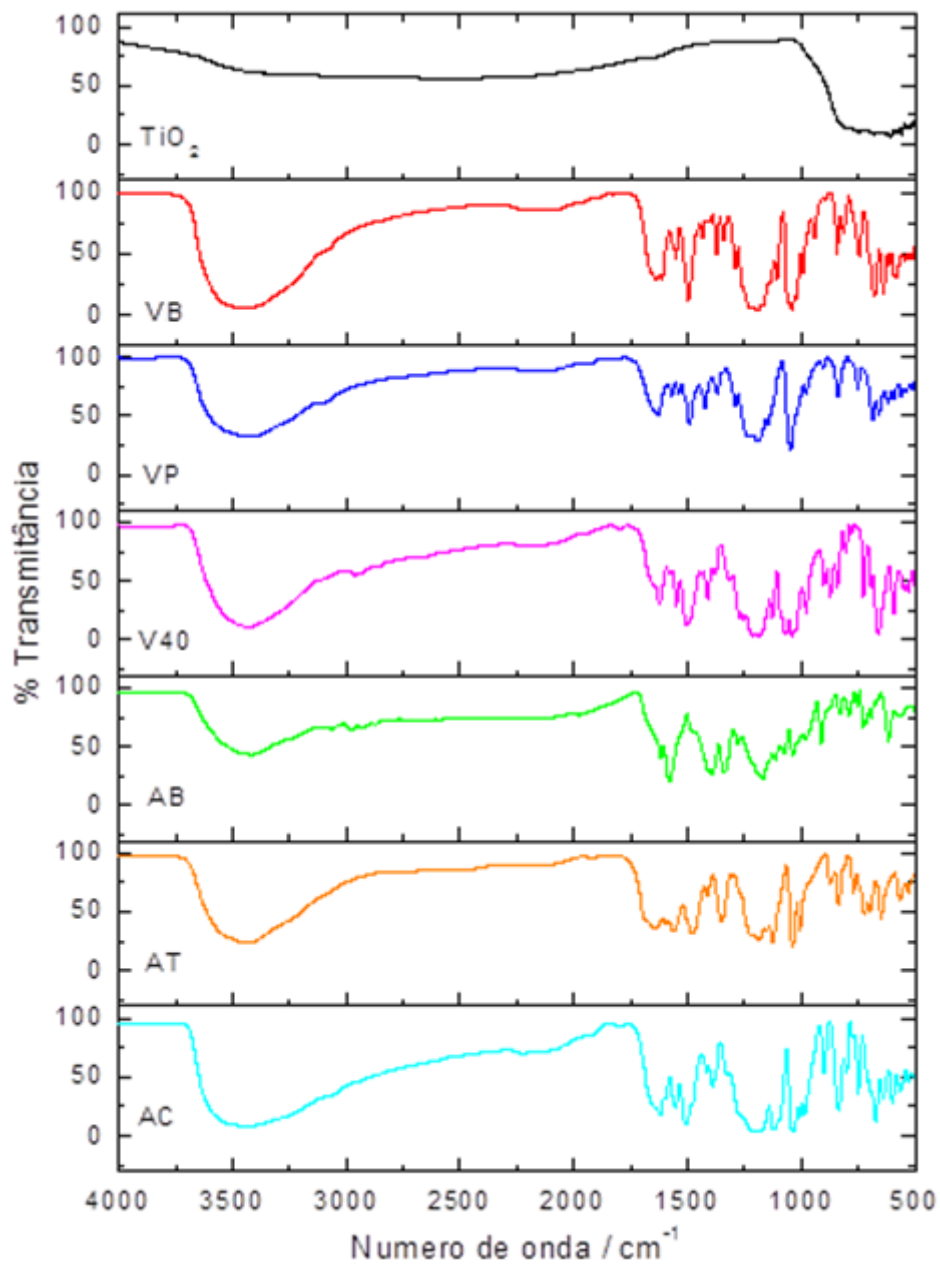


Tabela 4.1. Principais atribuições no espectro de FTIR para os corantes industriais.

Corante	Número de onda / cm^{-1}	Grupo funcional
AB	3400	Estiramento das ligações OH da água
	2941 e 3053	C – H presente nos grupos etila
	1582	Ligações duplas dos anéis aromáticos e C – N
	1069 a 1163	Ligações S=O ou O=S=O
AC	1200 a 1400	Ligações S=O ou O=S=O
	1007	Grupo azo OH ligado a carbono terciário
AT	3475	Estiramento das ligações OH da água
	1620	O=C-O ⁻
	1300	Amina terciária aromática
	1100 a 1200 e 1350 a 1450	O=S=O
	1008	OH ligado ao carbono terciário
	1558 a 1696	Núcleos aromáticos
V40	3437	Estiramento das ligações OH da água
	2847 a 3111	Grupo metil
	2229	Estiramento assimétrico das ligações C=O
	1549 a 1626	Núcleos aromáticos
	1066 a 1384	Ligações duplas entre S e O
	1220	Grupo C-O-C
	1037	Grupo OH
	665	Grupos aromáticos
VB	3500	Estiramento das ligações OH da água
	2092 a 2256	Estiramento assimétrico das ligações C=O
	1542 a 1643	Núcleos aromáticos
	1108 a 1370	Ligações duplas entre S e O
	1045	Ligação do grupo OH ligado a C terciário
VP	3415	Estiramento das ligações OH da água
	1490 a 1600	Ligações duplas de grupos aromáticos
	1046 a 1427	S=O e O=S=O
	982	Ligação do grupo OH ligado a C terciário
TiO ₂	600	Estiramento das ligações Ti–O
	3600	OH da água

FONTE: SILVERSTEIN, 2006.

4.1.2. Identificação dos corantes nas amostras de sucos artificiais em pó

Para a identificação dos corantes nos sucos em pó, foram utilizados os espectros de absorção molecular na região do infravermelho, que é uma das técnicas analíticas mais úteis para este procedimento, já que indica a presença dos grupos funcionais presentes nas moléculas, conforme as absorções em comprimentos de onda específicos e característicos de cada grupo funcional. (SILVERSTEIN, 2006)

Foram obtidos espectros de absorção molecular na região do infravermelho médio para as amostras de sucos artificiais em pó das diferentes marcas. Os espectros foram agrupados pelo critério de sabor referente a cada amostra. As amostras analisadas foram as dos sabores laranja, abacaxi, maracujá e tangerina, que contem os corantes AC, AT, conforme as Figuras 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5, respectivamente.

As amostras de sucos artificiais em pó do sabor laranja, abacaxi, tangerina e maracujá apresentaram as bandas características do amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo. As amostras, de uma maneira geral, apresentaram uma banda alargada por volta de 3400 cm^{-1} que é representativa das ligações O–H da molécula da água, o que era esperado, já que as análises por termogravimetria indicaram a perda de água, conforme pode ser observado nas Tabelas 4.17, 4.18, 4.19 e 4.20, respectivamente. De 1136 a 1052 cm^{-1} apareceram bandas referentes ao grupo S=O; de 1413 a 1200 cm^{-1} os grupos O=S=O; em 992 cm^{-1} os grupos hidroxila ligados ao carbono terciário. Os espectros apresentaram também bandas referentes às ligações duplas de grupos aromáticos presentes na molécula de 1490 a 1600 cm^{-1} .

Figura 4.2. Espectros de absorção molecular na região do infravermelho médio dos sucos artificiais em pó com sabor laranja.

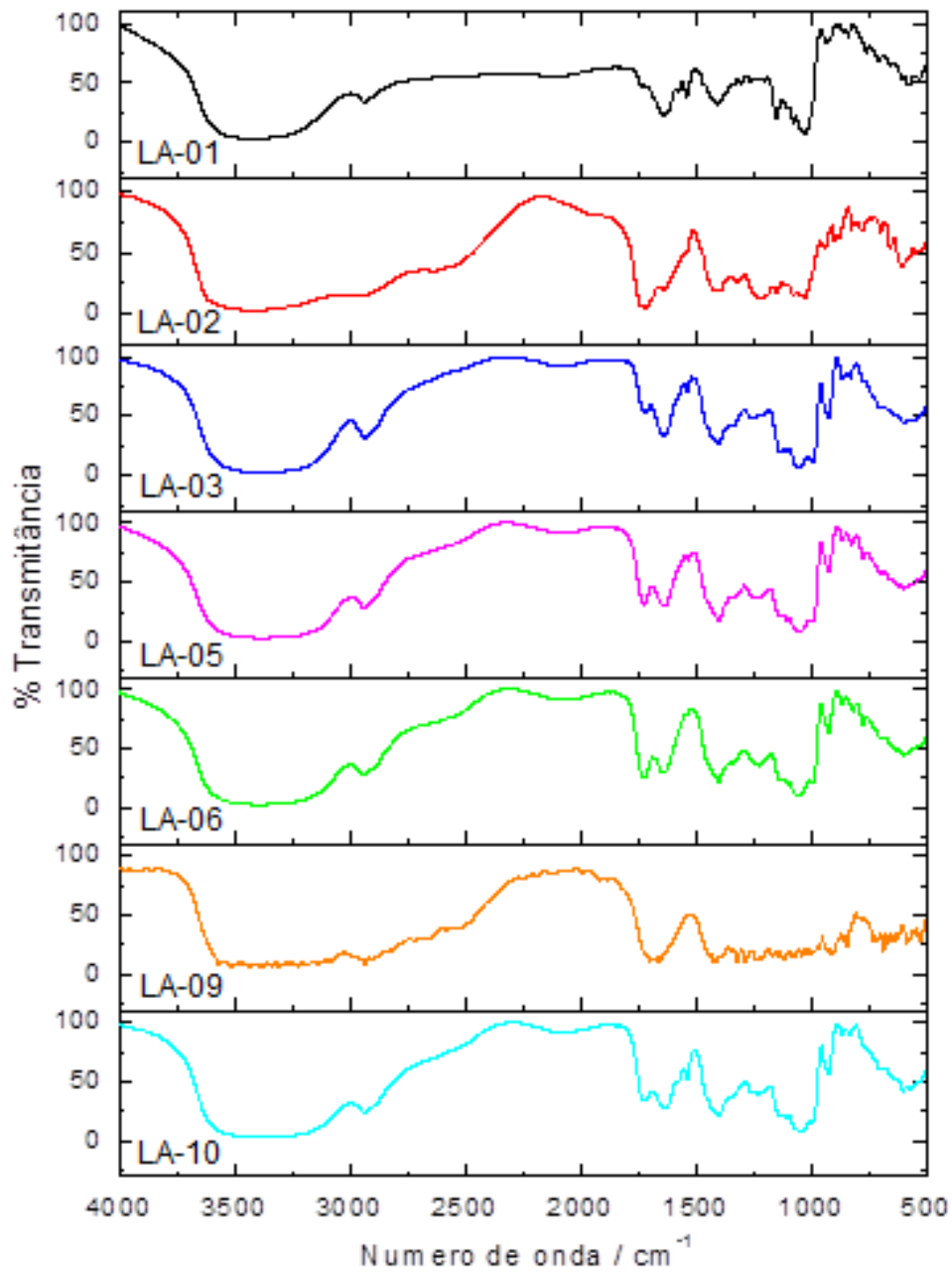


Figura 4.3. Espectros de absorção molecular no infravermelho médio dos sucos artificiais em pó com sabor abacaxi.

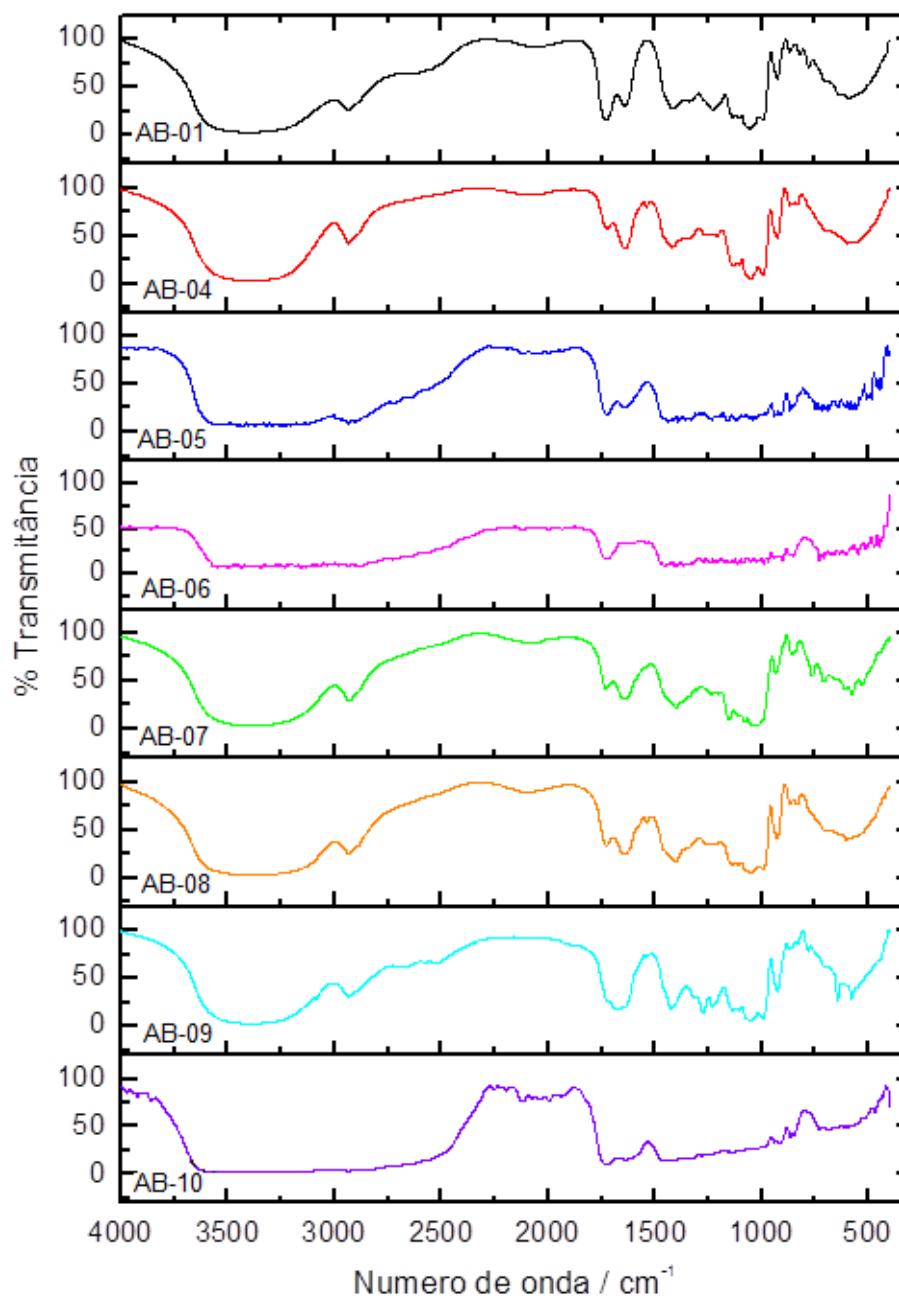


Figura 4.4. Espectros de infravermelho médio de corantes em sucos artificiais em pó, sabor maracujá.

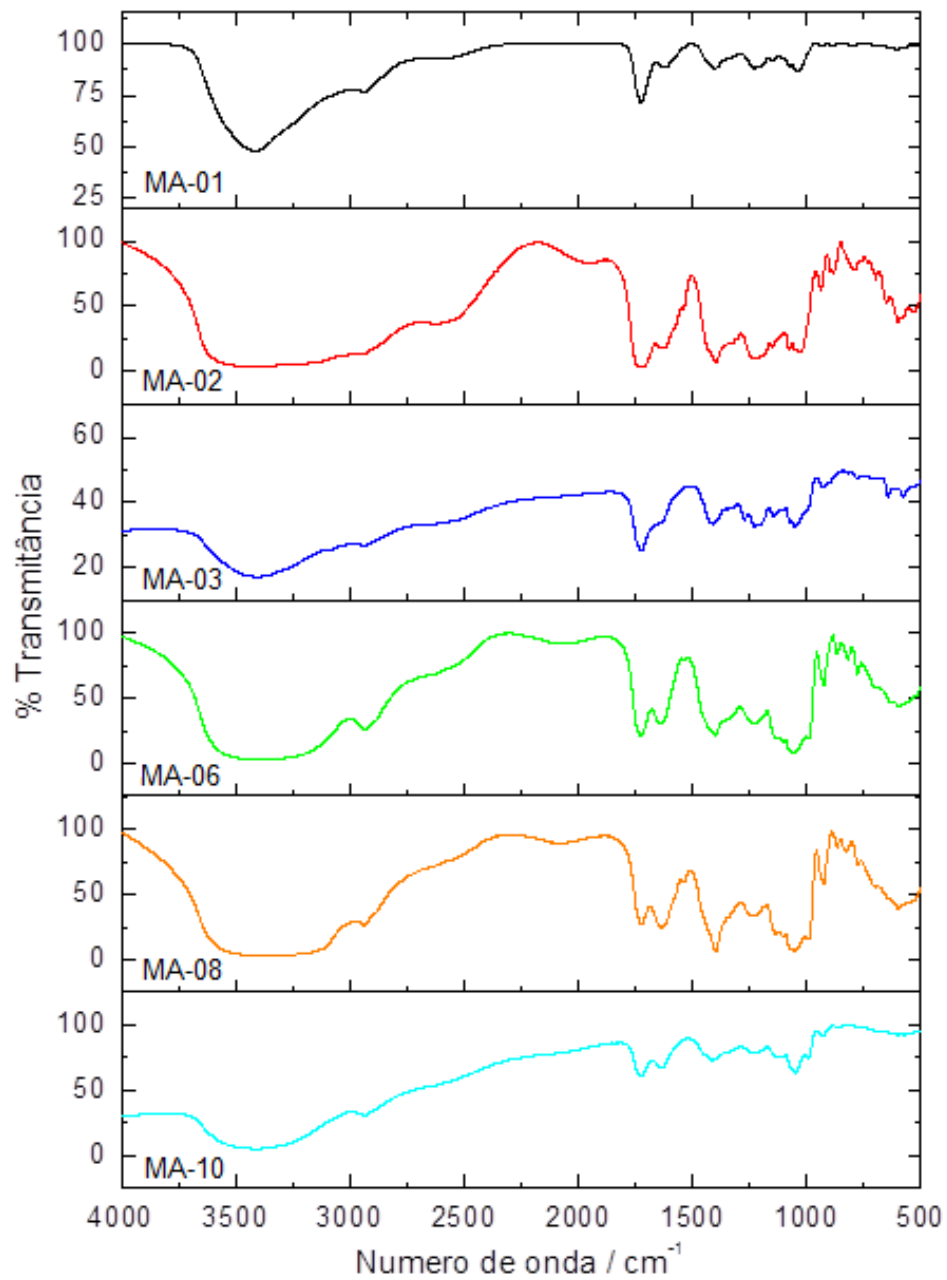
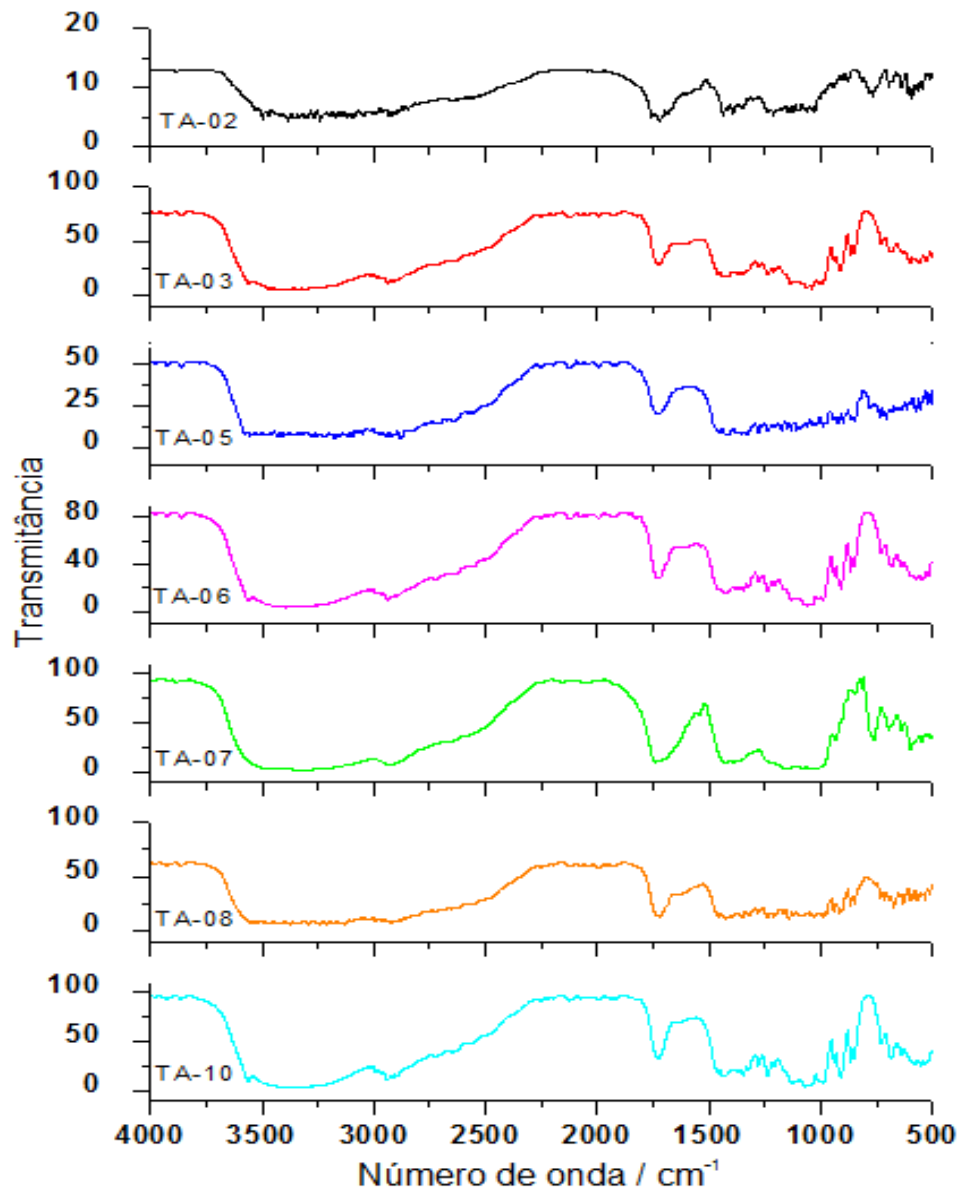


Figura 4.5. Espectros de infravermelho médio de corantes em sucos artificiais em pó, sabor tangerina.

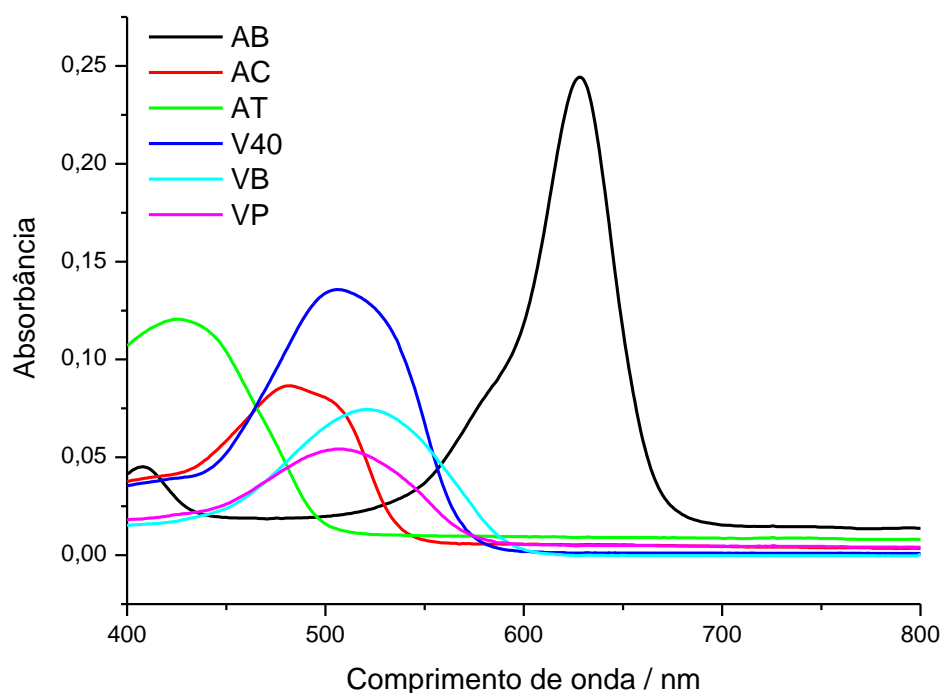


4.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE APLICAÇÃO DA LEI DE LAMBERT-BEER PARA MISTURAS DE CORANTES

4.2.1. Obtenção dos espectros de absorção molecular no visível

A primeira etapa consistiu da obtenção dos espectros de absorção no visível para a solução de cada um dos padrões dos corantes, os quais estão apresentados na Figura 4.6. A partir do perfil destas figuras, obtiveram-se os respectivos comprimentos de onda máximos a serem utilizados para a determinação quantitativa de cada um dos corantes.

Figura 4.6. Espectros de absorção molecular dos corantes na região do visível.



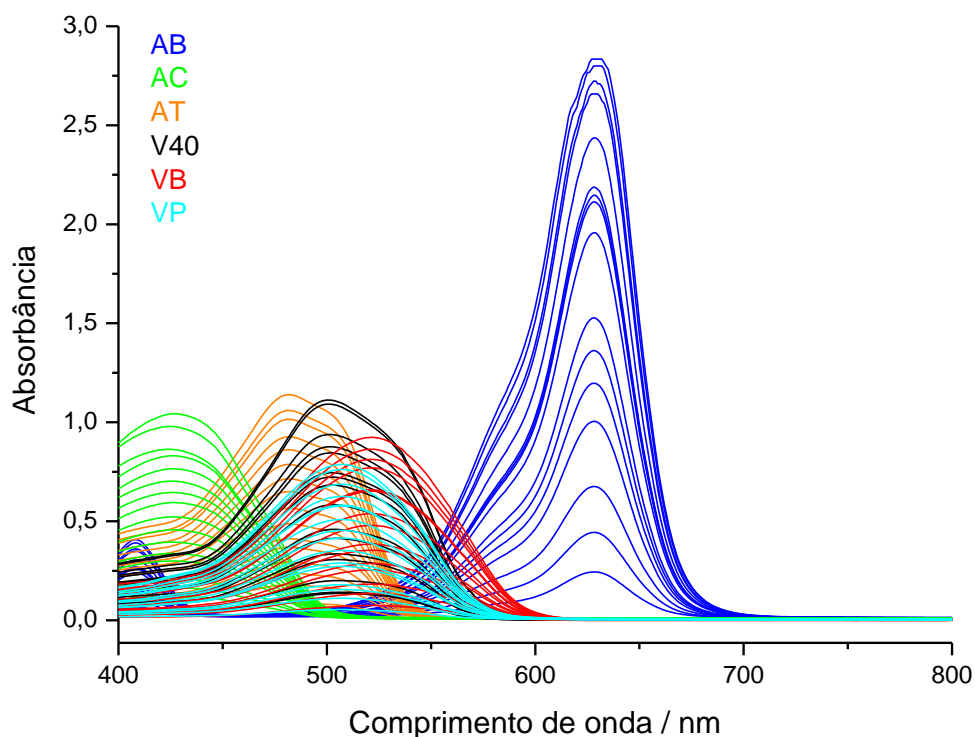
Os comprimentos de onda máximos obtidos foram 628 nm para o AB, 482 nm para o AC, 426 nm para o AT, 506 nm para o V40, 521 nm para o VB e 508 nm para o VP.

4.2.2. Obtenção das curvas analíticas dos corantes

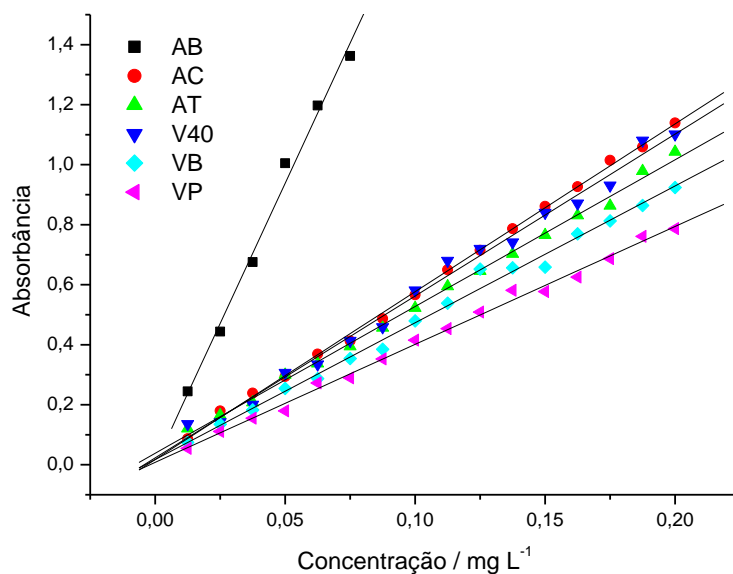
Para obtenção das curvas analíticas referentes a cada um dos corantes, procedeu-se a obtenção dos espectros das 16 soluções, conforme mostrado na Tabela 3.2, de onde se extraiu as absorbâncias relativas às soluções dos corantes industriais nos comprimentos de onda máximos.

A Figura 4.7 mostra os espectros das 16 soluções de cada um dos corantes, utilizadas para obtenção das respectivas curvas analíticas.

Figura 4.7. Espectros de absorção molecular na região do visível para as soluções dos corantes em diferentes concentrações.



A partir dos valores de comprimentos de onda máximos obtidos para as soluções de cada corante foram construídas as respectivas curvas analíticas que estão apresentadas na Figura 4.8, onde pode ser observado um comportamento diferente para a curva analítica do corante AB, em relação aos demais corantes, conforme encontrado por López-de-Alba *et al.* (1996).

Figura 4.8. Curvas analíticas dos corantes.

Na Tabela 4.2 são apresentados os resultados da regressão linear para cada uma dessas curvas. Desses valores, foram obtidas as equações das curvas analíticas, que foram aplicadas para a determinação dos teores dos corantes nas amostras.

Tabela 4.2. Dados de regressão linear obtidos a partir das curvas analíticas.

Corante	CA	ECA	CL	ECL	R ²	DP	N
AB	0,14961	0,00708	0,00321	0,04311	0,99555	0,04631	06
AC	0,04475	0,00043	0,01731	0,00655	0,99934	0,01249	16
AT	0,03914	0,00056	0,03808	0,00842	0,99858	0,01605	16
V40	0,04316	0,00108	0,02289	0,01631	0,99565	0,03111	16
VB	0,03648	0,00082	0,01719	0,01241	0,99647	0,02367	16
VP	0,03144	0,00058	0,00805	0,00869	0,99767	0,01657	16

CA = coeficiente angular; ECA = erro do coeficiente angular; CL = coeficiente linear; ECL = erro do coeficiente linear; R² = coeficiente de determinação; DP = desvio-padrão; N = número de pontos.

Da Tabela 4.2, observa-se que para o corante AB só foram utilizadas apenas seis concentrações, isto ocorreu devido a maior inclinação da curva obtida para esse corante, que apresentou uma grande absorvância, como pode ser visto na Tabela 4.3.

Os valores dos coeficientes de correlação indicam que as soluções na faixa trabalhada apresentam uma relação linear com a absorvância; e os valores dos coeficientes lineares na proximidade do zero mostram que as soluções dos corantes obedecem à Lei de Lambert-Beer.

A Tabela 4.3 mostra os valores dos comprimentos de onda máximos para cada corante e suas respectivas absorvidades médias em cada uma das 16 soluções.

Tabela 4.3. Comprimentos de onda máximos e absorvidades molares dos corantes industriais.

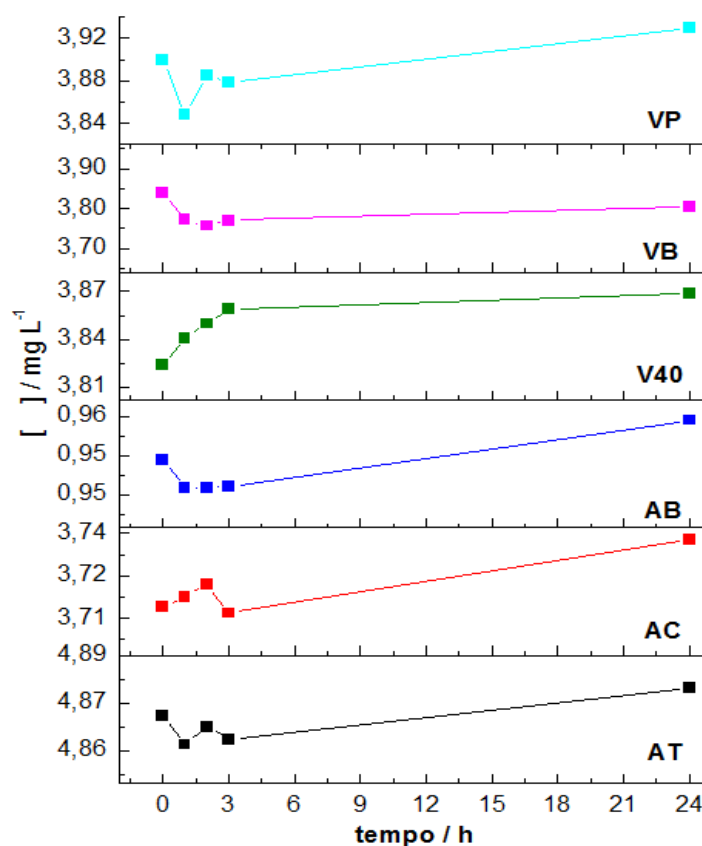
Corante	$\lambda_{\text{máx.}} / \text{nm}$	$\epsilon / \text{cm}^{-1} \text{mol}^{-1} \text{L}$		$a / \text{cm}^{-1} \text{g}^{-1} \text{L}$	
		Média	DP	Média	DP
AB	628	119,20	5,486	$1,50 \times 10^{-4}$	$6,92 \times 10^{-6}$
AC	482	20,856	0,714	$4,61 \times 10^{-5}$	$1,58 \times 10^{-6}$
AT	426	22,519	1,031	$4,21 \times 10^{-5}$	$1,92 \times 10^{-6}$
V40	506	22,170	1,074	$4,47 \times 10^{-5}$	$2,16 \times 10^{-6}$
VB	521	22,879	1,057	$3,79 \times 10^{-5}$	$1,75 \times 10^{-6}$
VP	508	19,365	0,891	$3,20 \times 10^{-5}$	$1,47 \times 10^{-6}$

Observa-se que a maioria dos corantes apresentou valores próximos de absorvidade, isto é, apresentou sensibilidade semelhante, com exceção do azul brilhante que foi cerca de 6 vezes mais sensível que os demais corantes.

4.2.3. Estudo de fotodegradação

A Figura 4.9 apresenta o resultado do teste de fotodegradação dos corantes, onde é observado o comportamento da concentração de cada corante em função do tempo de exposição à luz branca. Nesse caso, utilizaram-se triplicatas das soluções e os dados no gráfico representa a média desses valores.

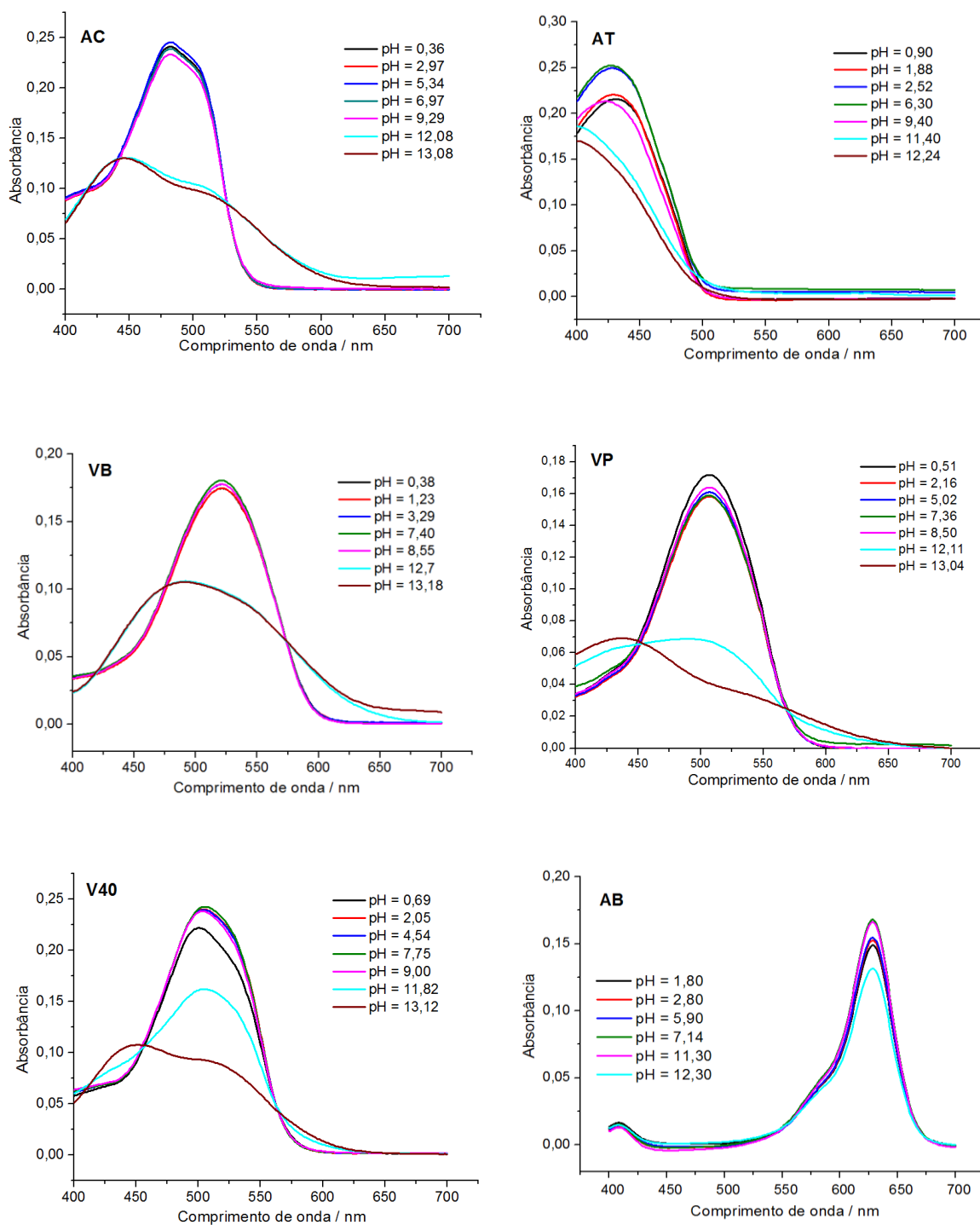
Com os dados amostrais de cada corante, procedeu-se à análise de variância (ANOVA) em relação aos dados obtidos para cada solução. Com o resultado do Teste de Tukey Q, obteve-se $p < 0,05$, o que demonstra que as variações não foram significativas dentro do intervalo de tempo investigado. Logo, conclui-se que os corantes em solução possuem boa estabilidade à luz.

Figura 4.9. Teste de fotodegradação dos corantes.

4.2.4. Estudo da influência do pH

A Figura 4.10 apresenta os resultados dos testes da influência do pH sobre estabilidade das soluções dos corantes. Com base nos espectros de absorção molecular no visível, pode-se observar que as soluções do corante AC mantiveram-se estáveis até pH 9,3, descolorindo em pH $\geq 12,0$. As soluções do corante AT, mantiveram-se constante entre os pHs de 2,5 e 6,3, porém em valores do pH inferiores a 2,5 e pHs alcalinos houve descoloração da solução. A coloração das soluções do corante AB mantiveram-se constantes até pH 12,30, descolorindo para um pH 13,3. A coloração das soluções do corante VB permaneceram constantes até pH 8,5 e clarearam em pHs acima de 12,7. A coloração das soluções do corante VP, mantiveram-se constantes para valores de pH entre 2,1 e 8,5; em pH 0,51 aumentou discretamente o valor da absorbância; para pHs superiores a 12,1 as soluções iniciaram o processo de descoloração. A coloração das soluções do corante V40, mantiveram-se constantes para pHs entre 2,0 e 7,8, mas clarearam em pH 0,7 e em pHs acima de 11,8.

Figura 4.10. Teste de variação de pH dos corantes em solução.

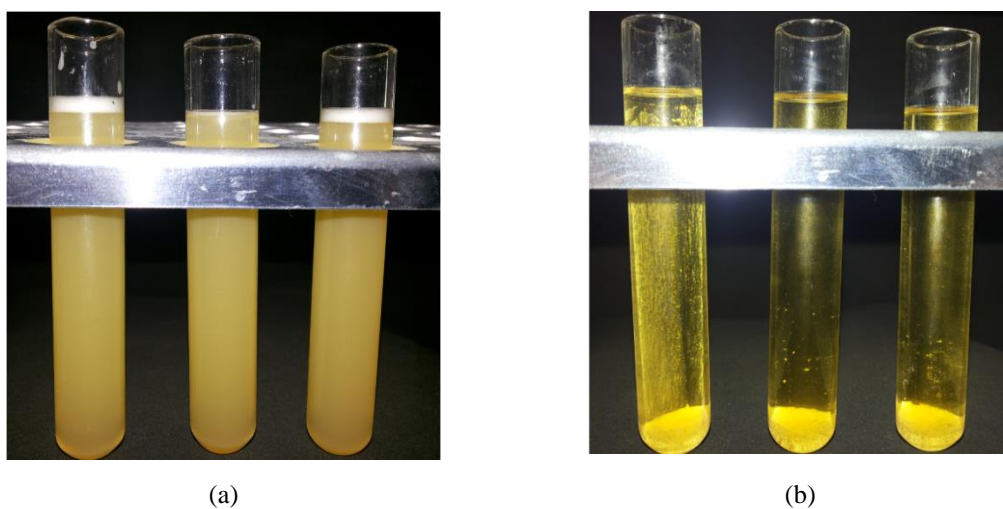


4.2.5. Avaliação de interferentes

4.2.5.1. Quantificação do teor de TiO_2

A Figura 4.11 apresenta uma amostra sabor laranja, código LA-06, dissolvida em água destilada, de acordo com as especificações do fabricante e, em seguida, dividida em 3 tubos. As Figuras 4.11.a e 4.11.b ilustram a amostra antes e após centrifugação, respectivamente. Observa-se que ocorre uma deposição do TiO_2 , demonstrando a eficácia do processo de separação.

Figura 4.11. Amostra de suco sabor laranja (LA-06) (a) antes e (b) após centrifugação.



Na Figura 4.12 estão os espectros de absorção molecular no visível das amostras contendo o dióxido de titânio, antes e após centrifugação. Verifica-se uma considerável diminuição na absorção de luz para a amostra centrifugada, demonstrando que a presença do dióxido de titânio atua como interferente na amostra.

Os resultados apresentados na separação do TiO_2 , recomendam que seja adotado igual procedimento para as soluções dos sucos artificiais em pó.

Para quantificação do dióxido de titânio foi construída uma curva analítica utilizando-se a técnica turbidimétrica, a partir das medidas de transmitâncias obtidas com um espectrofotômetro, cujos resultados são mostrados na Figura 4.13.

Figura 4.12. Influência do teor de TiO_2 nos espectros de absorção da amostra de suco sabor laranja, antes e após centrifugação.

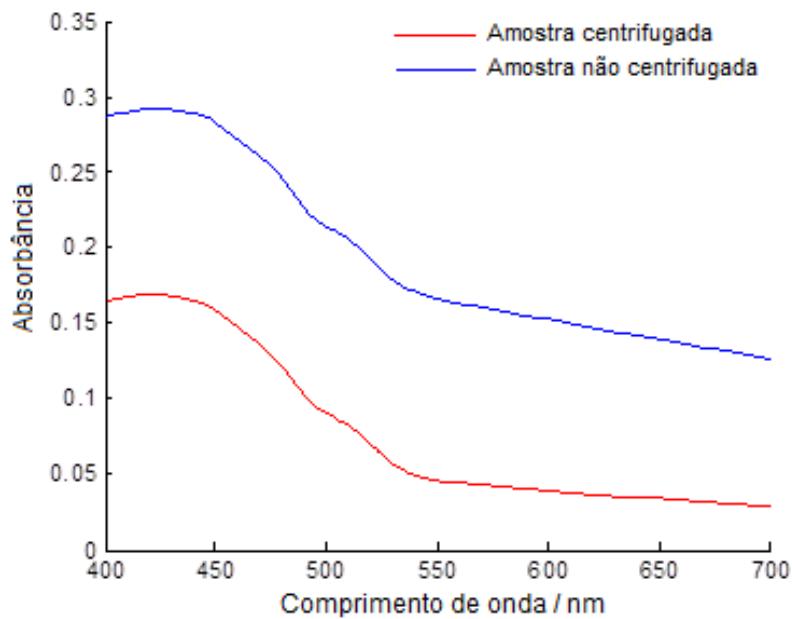
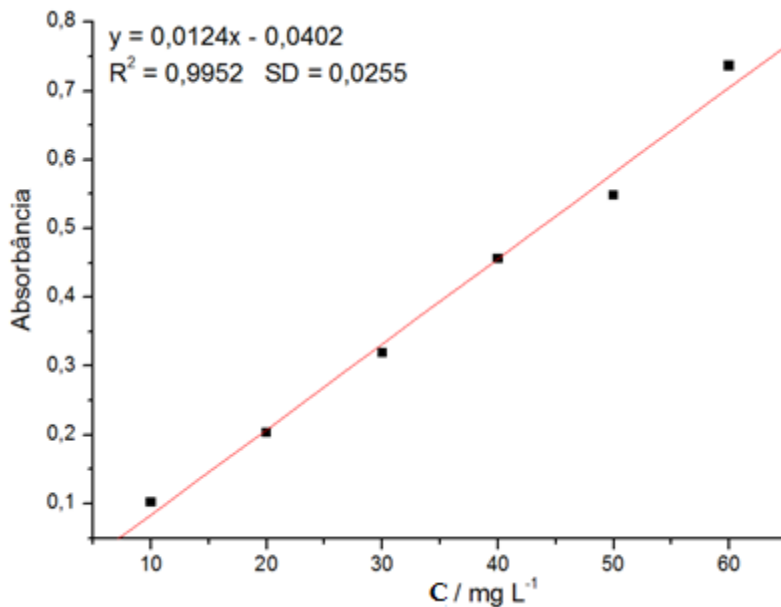


Figura 4.13. Curva analítica do dióxido de titânio.

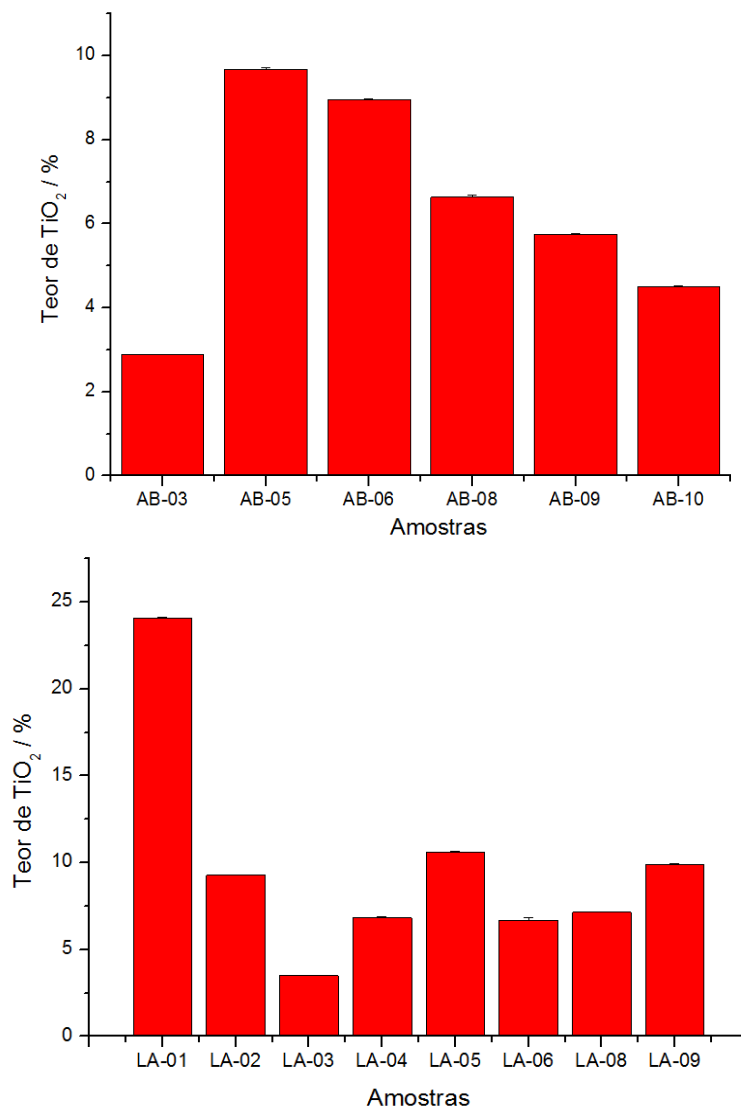


Com a finalidade de eliminar a influência do dióxido de titânio sobre as medidas de absorbâncias, na determinação dos corantes, todas as amostras foram submetidas a centrifugação durante 20 minutos, que foi o tempo considerado satisfatório para deposição completa do sólido.

A Figura 4.14 mostra os resultados obtidos para o dióxido de titânio removido de cada solução das amostras dos sabores abacaxi e laranja, após centrifugação. Com base nesta figura, pode-se concluir que a amostra AB-05 contém o maior teor de TiO_2 (~10%), enquanto que a amostra AB-03 é a de menor teor (~ 3%). A amostra LA-01 apresenta o maior percentual (~ 24%) e a LA-03 possui o menor teor de TiO_2 (~ 4%).

O elevado teor observado para a amostra LA-01 pode ser justificado, provavelmente, pela ausência do açúcar na composição do suco em pó e, esta ausência compensada pelo aumento da quantidade do dióxido de titânio na formulação, já que o rótulo indicava a presença de adoçante artificial.

Figura 4.14. Teor de TiO_2 nas amostras de sucos artificiais em pó, sabor abacaxi e laranja.

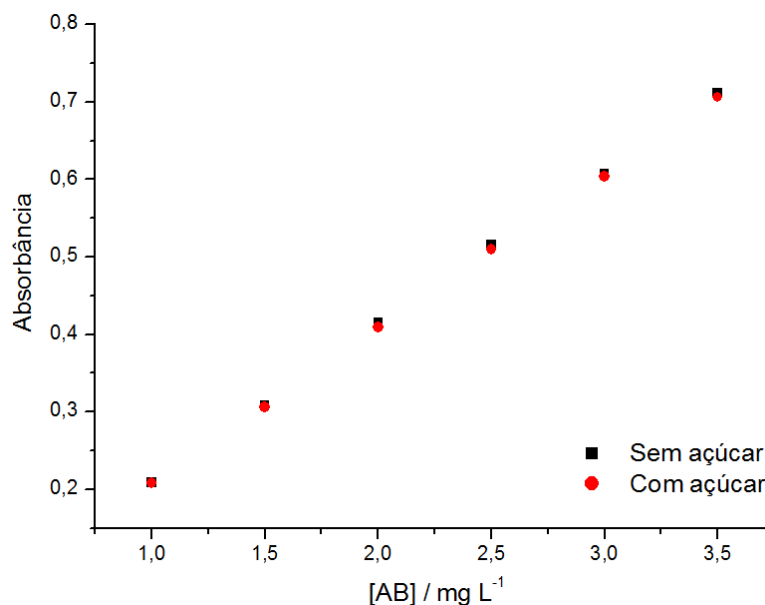


4.2.5.2. Teste da influência do açúcar

A Figura 4.15 apresenta os resultados do teste da influência do açúcar em soluções do corante AB, com e sem adição de açúcar. Conforme pode ser visualizado, o açúcar não exerce uma influência significativa nas medidas de absorvâncias das soluções do corante AB, tendo em vista que ocorre uma sobreposição dos pontos nas soluções das amostras com e sem açúcar.

A escolha do corante AB justifica-se pelo fato de que as amostras que apresentavam o maior conteúdo de açúcar, segundo informação nutricional do fabricante, eram as mesmas que continham o corante AB na sua composição.

Figura 4.15. Curva analítica das soluções do corante azul brilhante com e sem açúcar.



4.2.6. Cálculo das figuras de mérito

4.2.6.1. Limites de detecção e quantificação

A Tabela 4.4 apresenta os valores obtidos para os limites de detecção e quantificação utilizados nas determinações dos corantes AB, AC, AT, V40, VB e VP.

Tabela 4.4. Resultados obtidos para as figuras de mérito dos corantes.

Corante	Equação linear	FLT / mg L ⁻¹	LD / mg L ⁻¹	LQ / mg L ⁻¹
AB	$y = 0,14961 x + 0,0321$	1,5625 – 9,3750	0,0408	0,1360
AC	$y = 0,04475 x + 0,0173$	1,5625 – 25,000	0,1808	0,6028
AT	$y = 0,03914 x + 0,0381$	1,5625 – 25,000	0,2364	0,7879
V40	$y = 0,04316 x + 0,0229$	1,5625 – 25,000	0,1993	0,5978
VB	$y = 0,03648 x + 0,0172$	1,5625 – 25,000	0,2075	0,6915
VP	$y = 0,03144 x + 0,0081$	1,5625 – 25,000	0,2472	0,8239

FLT: faixa linear de trabalho; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação.

4.2.6.2. Ensaios de robustez intradia, interdia e inter-analistas

Com o intuito de avaliar a robustez e exatidão do método aplicado nas análises das soluções dos corantes, foram realizados os ensaios intradia, interdia e interanalistas das soluções contendo a mistura dos corantes AC e AT.

Ensaios de precisão intradia

Na Tabela 4.5, são apresentados os desvios-padrão das médias das concentrações das soluções dos corantes AT e AC. A partir do cálculo do coeficiente de variação, verifica-se que os valores do desvio-padrão são inferiores a 2,0 % do valor da média. O maior coeficiente de variação obtido foi da concentração 1,0 mg L⁻¹ dos dois corantes, para as demais concentrações os CV's foram inferiores a 1,0%.

Tabela 4.5. Ensaios de precisão intradia para uma mistura binária de AT e AC.

C _T / mg L ⁻¹	AT / mg L ⁻¹			AC / mg L ⁻¹		
	C _{Exp}	DP	%CV	C _{Exp}	DP	%CV
1,0	0,977	0,015	1,543	0,999	0,015	1,511
2,0	2,057	0,012	0,601	2,043	0,020	0,964
3,0	3,076	0,028	0,926	3,077	0,010	0,324
4,0	4,065	0,036	0,881	4,107	0,023	0,559
8,0	7,979	0,002	0,024	8,117	0,055	0,674
12,0	12,097	0,025	0,206	11,931	0,046	0,385

C_T: concentração teórica; C_{Exp}: concentração experimental; $n = 3$.

O método, segundo os resultados, demonstrou ser preciso no ensaio intradia e, dentro dos parâmetros estabelecidos para a realização dos procedimentos analíticos, tanto para o cálculo do corante AT, quanto para o corante AC.

Ensaio de robustez interdia

Na Tabela 4.6, encontram-se os resultados obtidos para as médias das concentrações do AT e AC a 4 mg L^{-1} , que foram realizadas em 3 dias distintos.

Os dados dispostos para o AT foram submetidos à análise de variância (ANOVA), aplicando o teste “t”, a partir do qual foram obtidas as médias com os seguintes resultados: para o 1º e 2º dias, “t” igual a 7,4461 e $p < 0,001$; relacionando o 1º e 3º dias, obteve-se “t” igual a 2,9837 e $p < 0,0245$; na relação entre o 2º e 3º dias de análise, observou-se “t” igual a 4,4623 e $p < 0,0043$. Estes resultados indicam um erro inferior a 5%. Com relação aos desvios-padrão, a partir deles, foi obtido um coeficiente de variação inferior a 2%, o que caracteriza os resultados como aceitáveis.

Os dados obtidos para o AC foram submetidos a análise de variância (ANOVA), chegando-se aos seguintes resultados: entre as médias do 1º e 2º dias, obteve-se “t” igual a 5,1207 e $p < 0,0069$, que significa um erro inferior a 1%; em relação 1º e 3º dias, houve uma variação significativa. De acordo com os CV's, apenas no 3º dia observa-se um percentual de erro superior a 5%, indicando que, nesse dia, não houve precisão entre as medidas de absorbância obtidas.

Tabela 4.6. Ensaio de precisão interdia para uma mistura binária de AT e AC.

	[AT] / mg L^{-1}			[AC] / mg L^{-1}		
	1º dia	2º dia	3º dia	1º dia	2º dia	3º dia
Média	4,065	3,691	3,915	4,107	4,019	3,697
DP	0,036	0,047	0,064	0,023	0,008	0,319
CV	0,881	1,265	1,638	0,559	0,206	8,629

$n = 3$

Ensaio de precisão inter-analistas

Na Tabela 4.7, estão expressas as médias das concentrações obtidas para os corantes AT e AC, presentes nas misturas binárias preparadas e analisadas pelos Analista 1 e Analista 2.

Tabela 4.7. Ensaio de precisão inter-analista para uma mistura binária de AT e AC.

	[AT] / mg L ⁻¹		[AC] / mg L ⁻¹	
	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
Média	4,065	4,351	4,107	4,802
DP	0,036	0,016	0,023	0,011
CV	0,881	0,358	0,559	0,219

n = 3

Os dados obtidos pelo Analista 1 foram submetidos a análise de variância (ANOVA), obtendo-se um “t” igual a 10,3275, e $p < 0,001$, sendo um percentual pequeno de erro. Considerando-se a análise de dados obtidos pelo Analista 2, pode-se perceber um CV de 0,358, levando a conclusão de que não houve uma variação relevante entre as medidas de concentração obtidas pelo analista 2.

Para os dados das duas colunas foram aplicadas a análise de variância, (ANOVA), obtendo-se um “t” igual a 39,0333, e $p < 0,001$, que é considerado um percentual pequeno de erro. Entretanto, é perceptível a obtenção de concentrações maiores que o esperado (4,0 mg L⁻¹) obtidas pelo analista 2.

4.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CORANTES NAS AMOSTRAS SINTÉTICAS E AMOSTRAS DE SUCOS ARTIFICIAIS EM PÓ

A quantificação do teor de corante nas amostras sintéticas e amostras de sucos artificiais em pó foi feita em duas etapas. Na primeira etapa foram utilizadas as amostras sintéticas com a finalidade de aplicar o método de quantificação proposto e, na segunda etapa, uma vez confirmada a aplicabilidade do método, foram utilizadas as amostras reais.

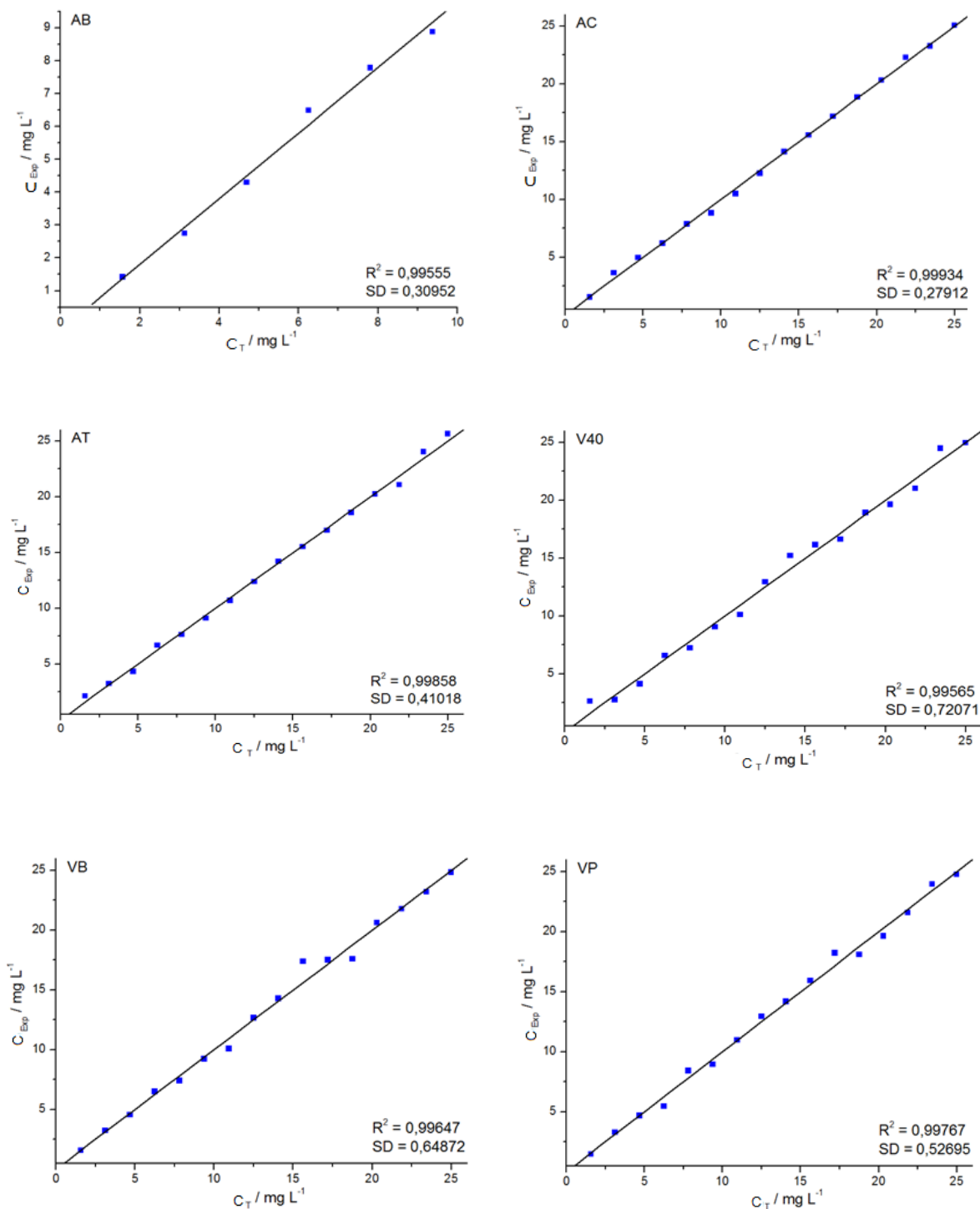
4.3.1. Determinação do teor de corantes nas amostras sintéticas

4.3.1.1. Amostras sintéticas com um corante

Para a determinação dos corantes nas amostras sintéticas contendo um corante e açúcar, procedeu-se a preparação das soluções a partir das misturas indicadas na Tabela 3.2. Estas soluções foram analisadas no espectrofotômetro e os resultados obtidos, a partir das curvas analíticas, foram utilizados para a validação do método proposto.

A Figura 4.16 apresenta a comparação entre os valores experimentais obtidos e os respectivos valores teóricos das concentrações de cada corante nas amostras sintéticas. Observa-se que existe uma boa correlação entre os valores teóricos e experimentais para os corantes analisados, visto que o coeficiente de correlação foi superior a 0,99, demonstrando a eficácia do método proposto.

Figura 4.16. Concentração de corante nas amostras sintéticas contendo um corante (comparação entre o valor teórico e o experimental).



4.3.1.2. Amostras sintéticas com dois corantes

Para a determinação dos corantes nas amostras sintéticas contendo dois corantes e açúcar, procedeu-se a preparação das soluções a partir das misturas indicadas na Tabela 3.3. Estas soluções foram analisadas no espectrofotômetro e os resultados obtidos, a partir da curva analítica, foram utilizados para a validação do método proposto.

As concentrações dos corantes foram obtidas empregando-se as Equações 20 e 21. Inicialmente, foram determinados os valores médios das absortividades para, posteriormente, serem calculados os valores de x , y , z e w que são os termos constantes destas equações (Apêndice III). Para os cálculos destes termos, foram utilizadas as absorbâncias medidas a partir das concentrações das soluções preparadas conforme a Tabela 3.3, cujos resultados estão apresentados na Tabela 4.8.

Os valores de x , y , z e w foram usados para os cálculos nos testes com as soluções do padrão e também nos cálculos dos teores de corantes nas amostras sintéticas e nas amostras reais.

Tabela 4.8. Determinação das absortividades médias e dos termos x , y , z e w obtidos a partir das Equações 20 e 21.

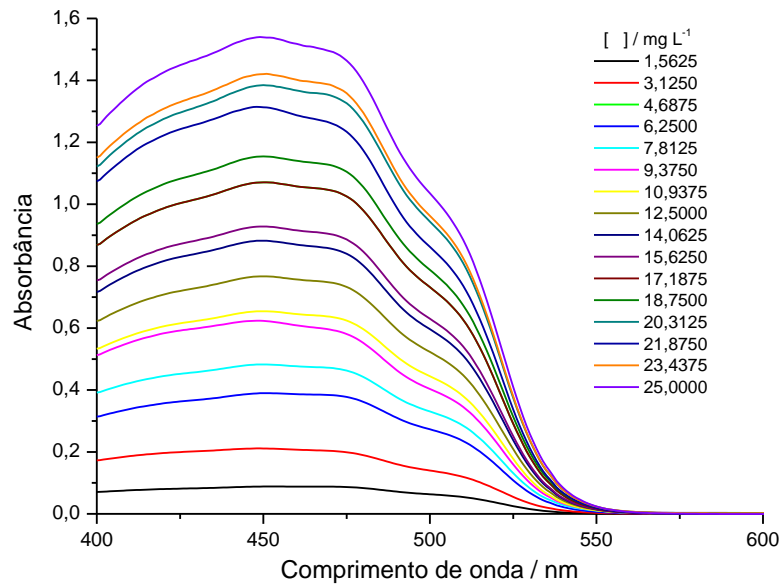
Termos	Valor médio / $\text{cm}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{L}$	DP
a_1	0,0474	0,0037
a_2	0,0130	0,0008
a_3	0,0212	0,0023
a_4	0,0421	0,0019
x	-7,531	0,1980
y	-24,48	0,7367
z	24,48	0,7367
w	7,531	0,1980

a_1 , a_2 , a_3 e a_4 são as absortividades

x , y , z e w são as constantes obtidas pela aplicação das equações 20 e 21

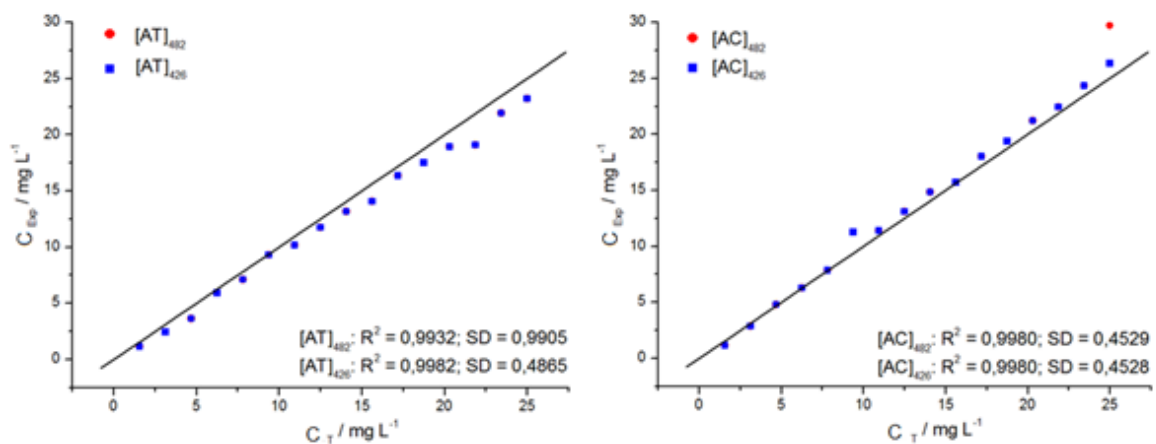
A Figura 4.17 apresenta os espectros de 16 misturas dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo nas concentrações previstas na Tabela 3.3.

Figura 4.17. Espectros de absorção das soluções das amostras sintéticas (com dois corantes) em diferentes concentrações.



A Figura 4.18 apresenta um exemplo da aplicação das Equações 20 e 21 para o cálculo das concentrações de dois corantes (AC e AT) nas misturas. Esta Figura compara os valores experimentais obtidos pela aplicação dessas equações e os valores previstos para as concentrações dessas soluções.

Figura 4.18. Concentração dos corantes calculados em dois comprimentos de onda para as amostras sintéticas com dois corantes.



Na Figura 4.18 são apresentados os gráficos obtidos para o cálculo de cada corante em dois comprimentos de onda máximos; ou seja, determinou-se a concentração do amarelo crepúsculo nos comprimentos de onda de 426 nm ($\lambda_{\text{máx}}$ do AC) e 482 nm ($\lambda_{\text{máx}}$ do AT). Da mesma maneira, procedeu-se com o amarelo tartrazina, onde se determinou sua concentração em 426 nm e em 482 nm.

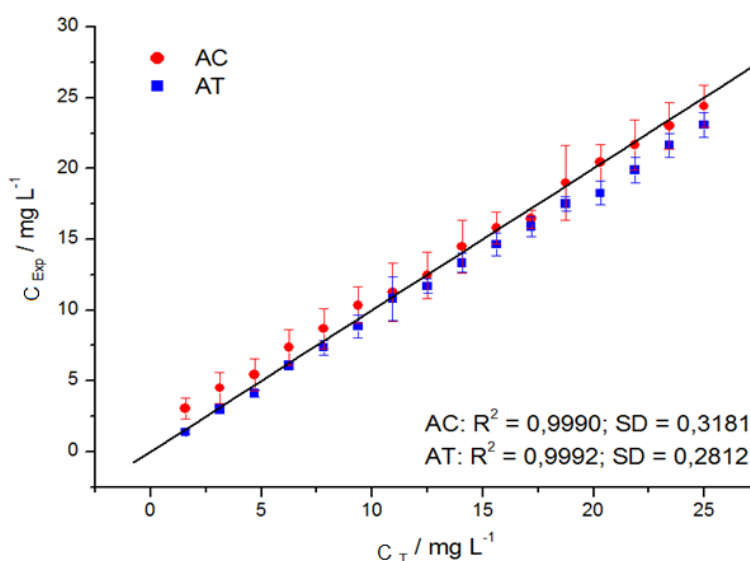
Observa-se que não houve diferença significativa entre as medidas obtidas nos dois comprimentos de onda, demonstrando que a equação utilizada foi aplicada de forma satisfatória em ambos os casos.

Os resultados indicam que todos os coeficientes possuem informação fidedigna das duas substâncias relativas aos dois comprimentos de onda, independentemente; isto é, os coeficientes são fieis às informações relativas às absorvidades individuais.

No Apêndice IV são apresentados os demais gráficos relativos às outras misturas nas proporções previstas pela Tabela 3.3.

Para que as relações previstas se tornassem mais claras, construiu-se o gráfico mostrado na Figura 4.19 que contém os resultados obtidos para duas soluções, realizadas em duplicata, para as 16 concentrações dos corantes AC e AT na razão 1:1. Observa-se que os desvios-padrão apresentados em cada ponto, para as 16 soluções, são relativamente pequenos, obtendo-se coeficientes de correlação linear satisfatórios ($R^2 \approx 1$). A linha preta, nestas figuras, representa a correlação linear para as concentrações teóricas.

Figura 4.19. Comparação entre os valores teóricos e experimentais obtidos para as soluções das misturas sintéticas dos corantes AC e AT na proporção 1:1.



4.3.2. Determinação do teor de corantes nas amostras de sucos artificiais em pó

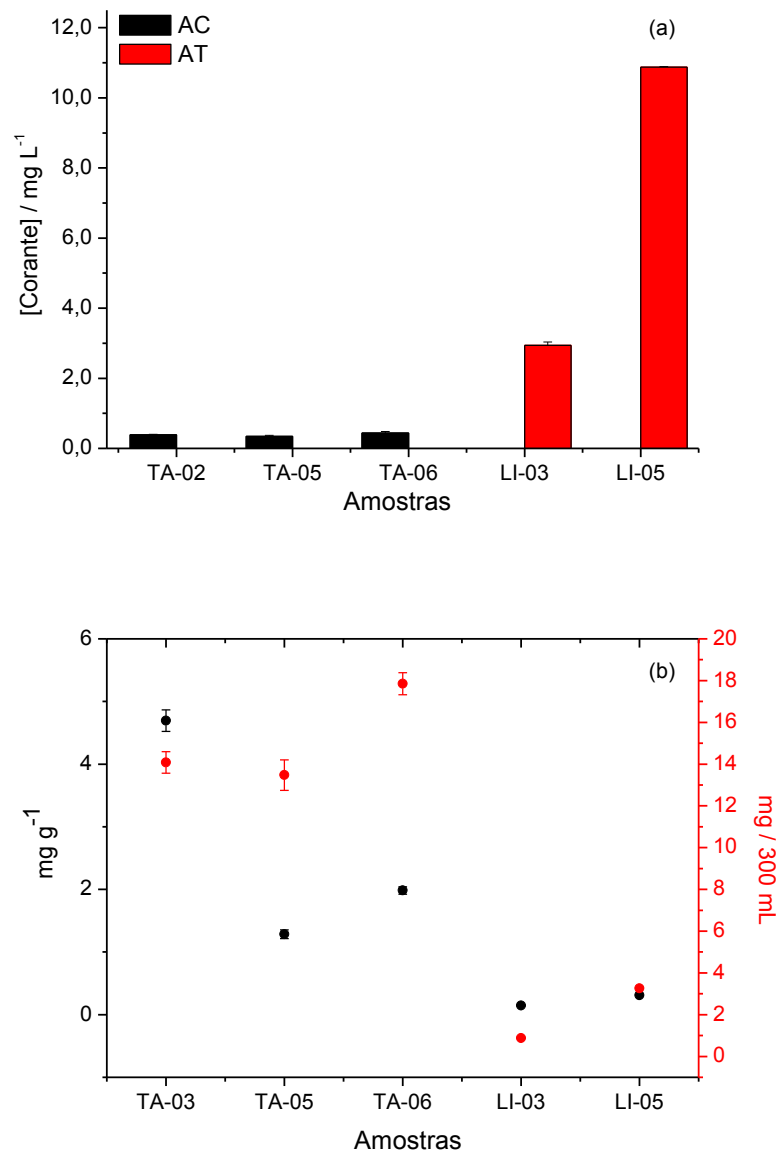
4.3.2.1. Amostras de suco artificial em pó com um corante

Os teores dos corantes AC e AT foram determinados nas amostras de suco em pó sabor tangerina e limão, respectivamente, através da aplicação direta das equações de regressão linear mostradas na Tabela 4.4.

A escolha das amostras foi feita utilizando-se apenas aquelas que continham um corante em sua composição, conforme indicado no rótulo das embalagens.

A Figura 4.20 apresenta dois tipos de gráficos: o gráfico de barras mostra os teores dos corantes nas amostras, preparadas conforme indicado pelo fabricante; o gráfico de pontos ilustra a quantidade de corante conforme previsto pela legislação, ou seja, expressa em miligrama de corante por grama de amostra e em miligrama de corante por copo de suco (300 mL).

Figura 4.20. Quantificação de AC e AT nas amostras sabor tangerina e sabor limão: (a) concentração no suco; (b) massa por grama de suco em pó e em copo de 300 mL.



Considerando-se os resultados acima e tomando-se como base o fato de que uma criança de 5 anos possa ingerir dois copos de suco no sabor limão da marca LI-05, pode-se afirmar que ela estaria consumindo uma quantidade do corante AT de aproximadamente 6 mg, o que corresponde a 4,1 % do valor máximo permitido pela IDA (Anexo III). Todavia, se esta criança ingerir a mesma quantidade do suco sabor tangerina da marca TA-06, ela estaria consumindo uma quantidade do corante amarelo crepúsculo correspondente a um total de 36 mg, isto corresponde a 76,9 % do valor máximo permitido pela IDA (Anexo II).

É importante salientar que para o caso de uma criança consumir 3 copos de suco sabor tangerina (TA-06) por dia (lanche da manhã, almoço e lanche da tarde), a quantidade de corante contido nos 3 copos excede o valor máximo da IDA.

4.3.2.2. Amostras de suco artificial em pó com dois corantes

Nesta etapa, foram analisadas as amostras de sucos artificiais em pó contendo apenas dois corantes, de acordo com o especificado no rótulo das embalagens. Desse modo, foram analisadas 7 amostras sabor abacaxi, 8 amostras sabor laranja, 4 amostras sabor manga, 7 amostras sabor maracujá e 4 amostras sabor tangerina.

Para o cálculo das concentrações dos dois corantes, procedeu-se a aplicação do método validado descrito anteriormente e empregado para as amostras sintéticas.

A Figura 4.21 apresenta as quantidades de corantes obtidas em que se apresentam: do lado esquerdo, as concentrações referentes ao procedimento I; e do lado direito as concentrações do procedimento II (item 3.4.3).

Comparando-se os resultados, observa-se que há uma discrepância entre os teores dos corantes encontrados nas amostras dos procedimentos I e II, que podem ser evidenciados pelos elevados desvios-padrão obtidos no primeiro procedimento. Os desvios encontrados podem ser justificados pela heterogeneidade das amostras, isto é, pela diferença de granulometria do açúcar e pela má distribuição dos corantes por toda amostra, como pode ser visualizado na Figura 4.22.

Como as amostras foram pesadas sem nenhum procedimento prévio, esta heterogeneidade se refletiu nas medidas obtidas. Por isso, procedeu-se a análise também dos sucos preparados conforme indicado, pelos fabricantes, nas embalagens, a fim de se obter uma concentração coerente com os padrões utilizados para obtenção da curva analítica. De fato, as amostras preparadas de acordo com o fabricante apresentaram baixos valores de desvio-padrão, sugerindo que o tratamento prévio da amostra é uma etapa importante no processo de quantificação dos corantes analisados.

Figura 4.21. Quantificação dos corantes AC e AT nas amostras de sucos artificiais em pó com dois corantes.

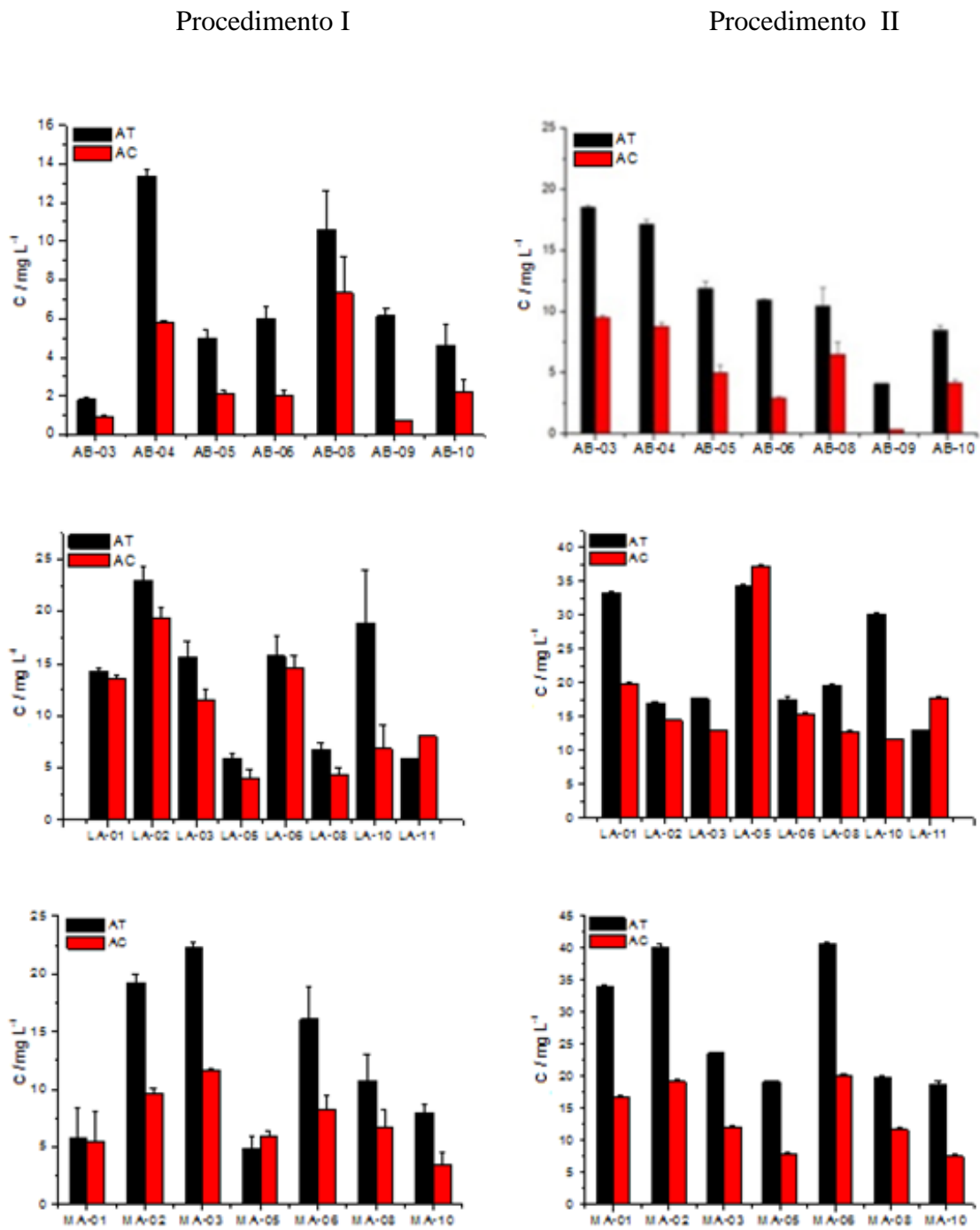


Figura 4.21. Quantificação dos corantes AC e AT nas amostras de sucos artificiais em pó com dois corantes (continuação).

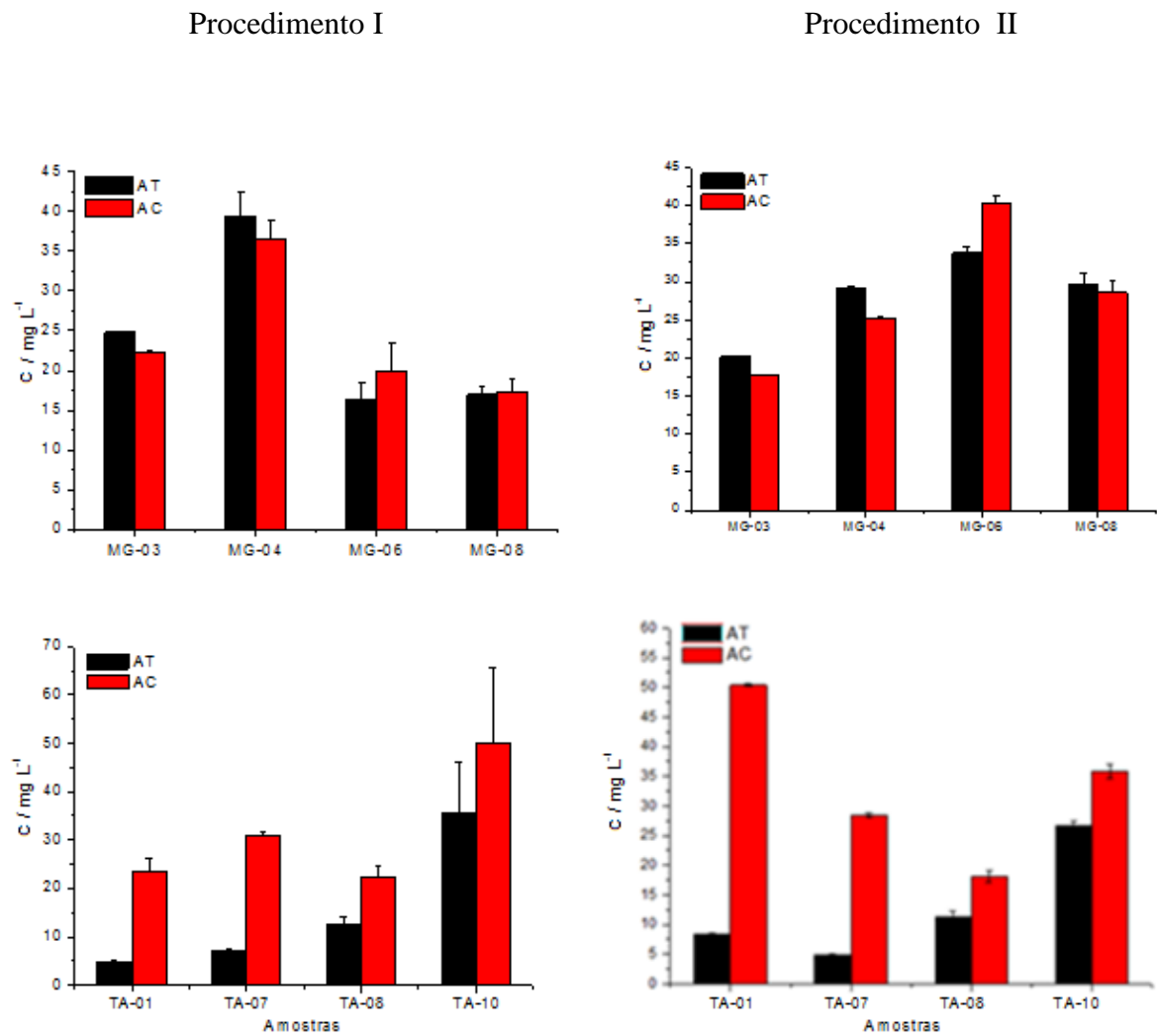
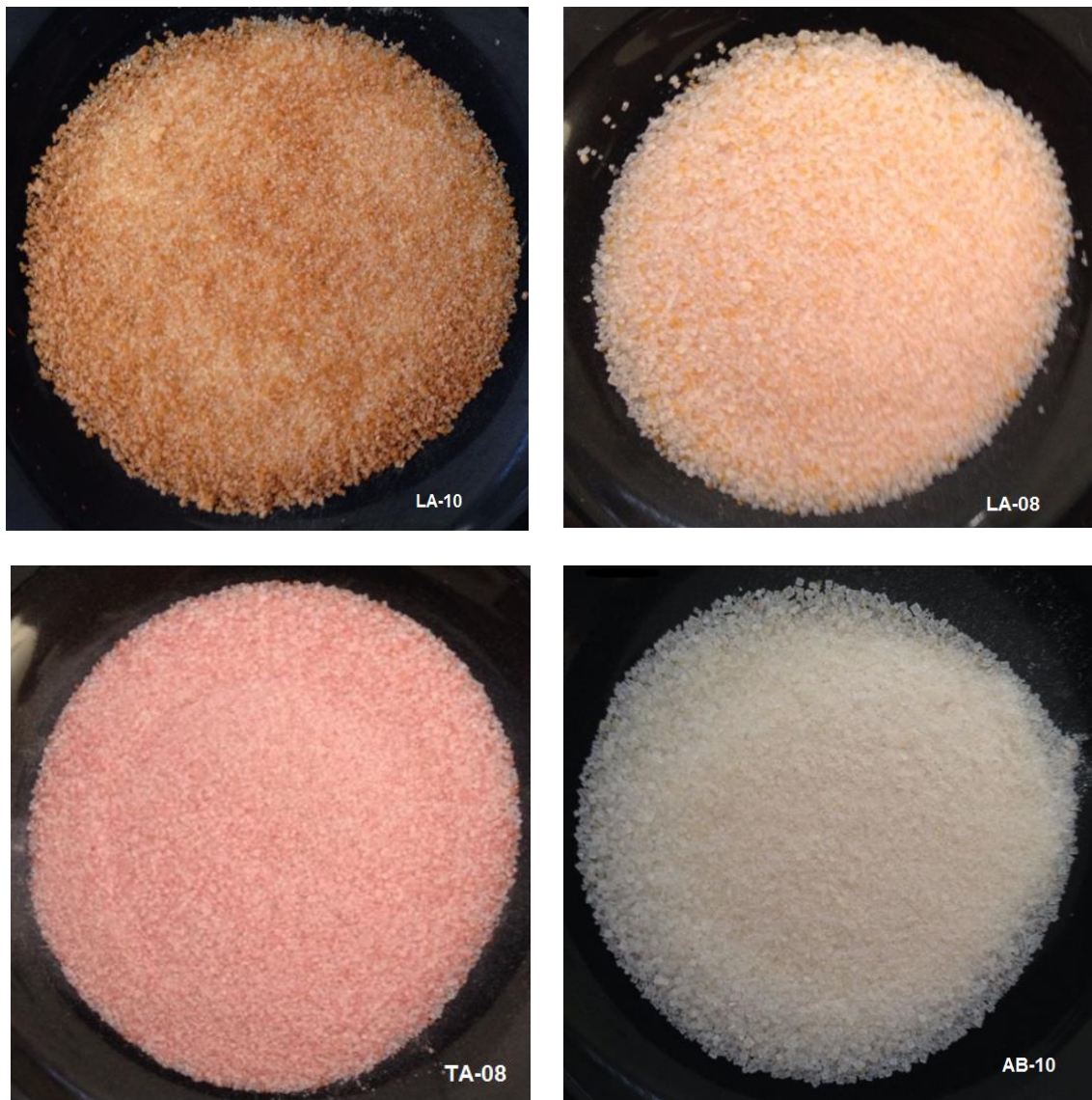
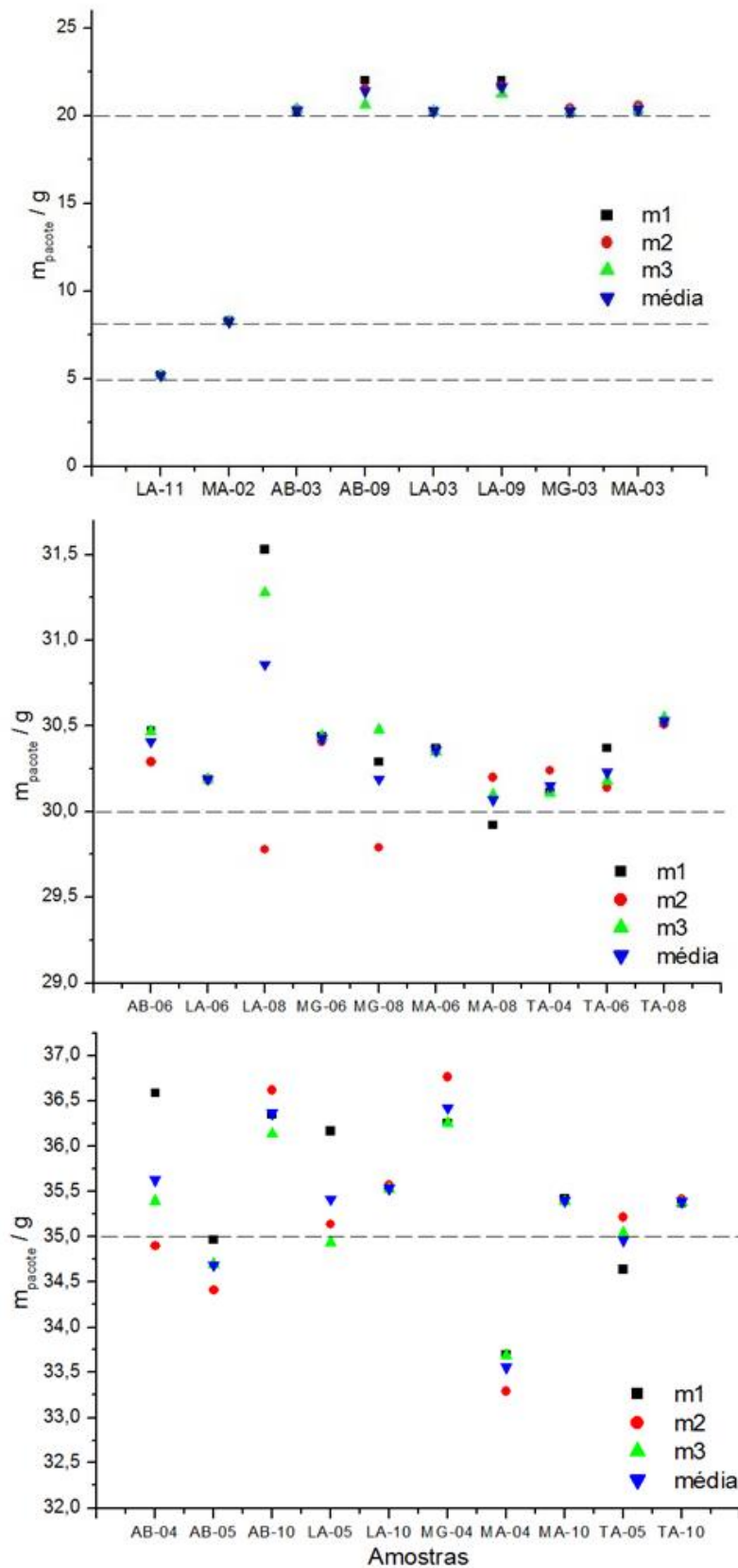


Figura 4.22. Imagens das amostras de suco artificial em pó nos sabores laranja, tangerina e abacaxi.



A Figura 4.23 mostra a distribuição das massas obtidas a partir de 3 pacotes de cada amostra de suco, onde a linha tracejada refere-se ao peso indicado na embalagem de suco (valor de referência). A massa de cada amostra foi utilizada no cálculo das concentrações dos corantes nas soluções preparadas de acordo com o fabricante (procedimento II). Verifica-se que, para algumas amostras, houve uma variação significativa nas massas pesadas, decorrente do processo industrial. Logo, conclui-se que a massa total contida em cada embalagem é um parâmetro que deve ser considerado na determinação dos teores dos corantes.

Figura 4.23. Distribuição das massas de sucos artificiais em pó nos pacotes de diferentes sabores e marcas.



Na Figura 4.24 são apresentados os gráficos de pontos para as amostras de suco contendo os corantes AC e AT. Observam-se resultados conforme previsto pela legislação; isto é, em miligrama de corante por grama de amostra e em miligrama de corante por copo do suco (300 mL).

A Tabela 4.9 apresenta a previsão de ingestão dos sucos contendo dois corantes consumido por uma criança de 5 anos.

Tabela 4.9. Previsão do consumo de sucos artificiais e sua relação com a IDA.

Amostra	AC		AT	
	IDA / %	Número de copos	IDA / %	Número de copos
LA-01	-	-	6,8	15
LA-05	24,6	4	6,8	15
MA-02	-	-	8,5	12
MA-06	13,9	7	8,5	12
AB-03	6,4	15,5	3,7	26,5
TA-10	25,6	4	5,8	17
MG-06	25,6	4	7,2	14

Nesta tabela, na primeira coluna, foram calculados os percentuais para a ingestão de um copo de suco; na outra coluna, calculou-se o número de copos necessários para atingir o limite máximo da IDA. Os resultados mais preocupantes foram obtidos para os sucos que continham o corante AC, uma vez que o número de copos necessários para ultrapassar a IDA é inferior ao do corante AT. As marcas que continham os maiores teores de corantes foram: LA-05, TA-10 e MG-06.

É importante salientar que os limites da IDA variam conforme a massa corpórea (Anexo III).

Figura 4.24. Teores de amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina nas amostras de suco artificiais em pó, de acordo com a legislação vigente.

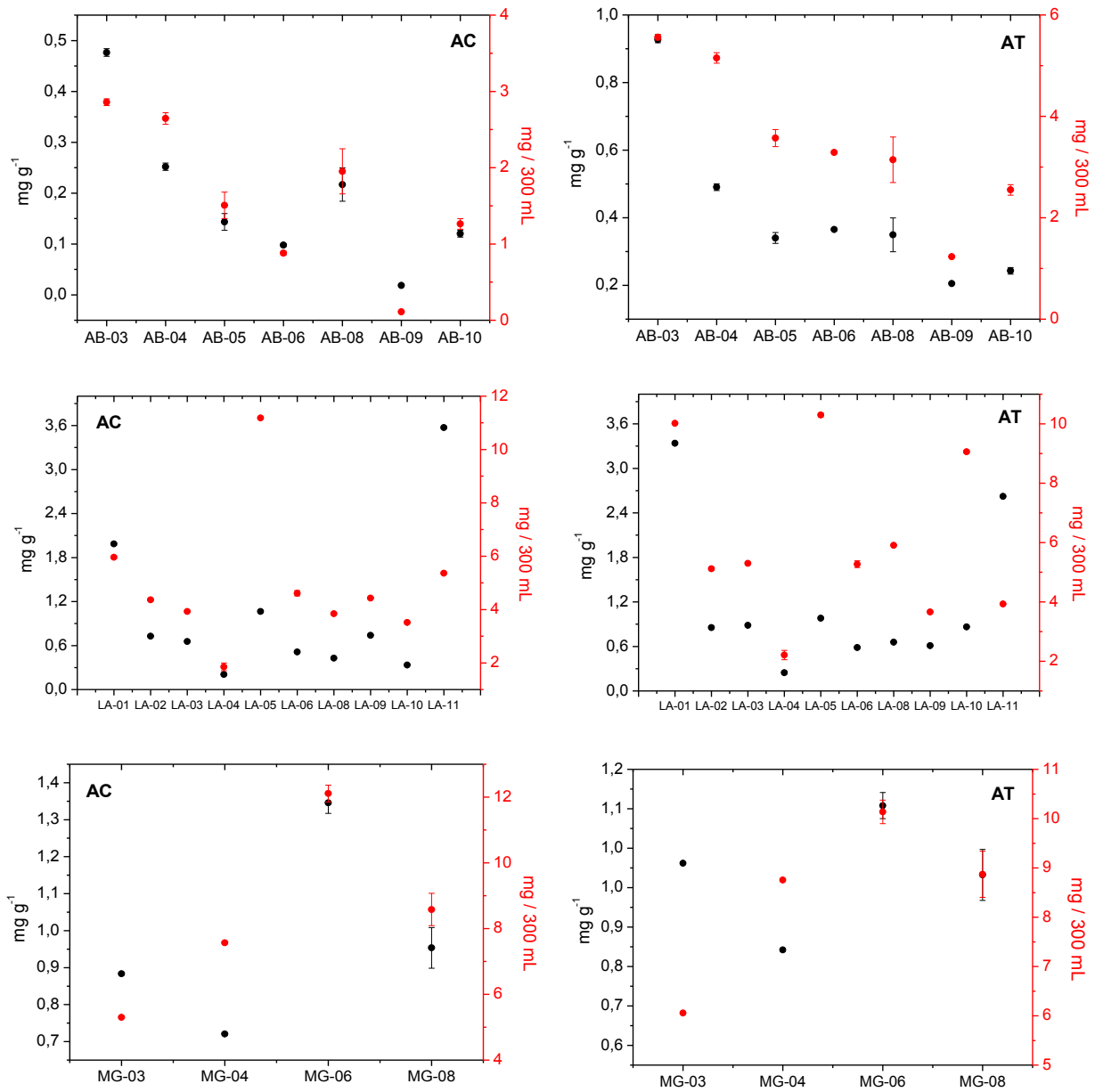
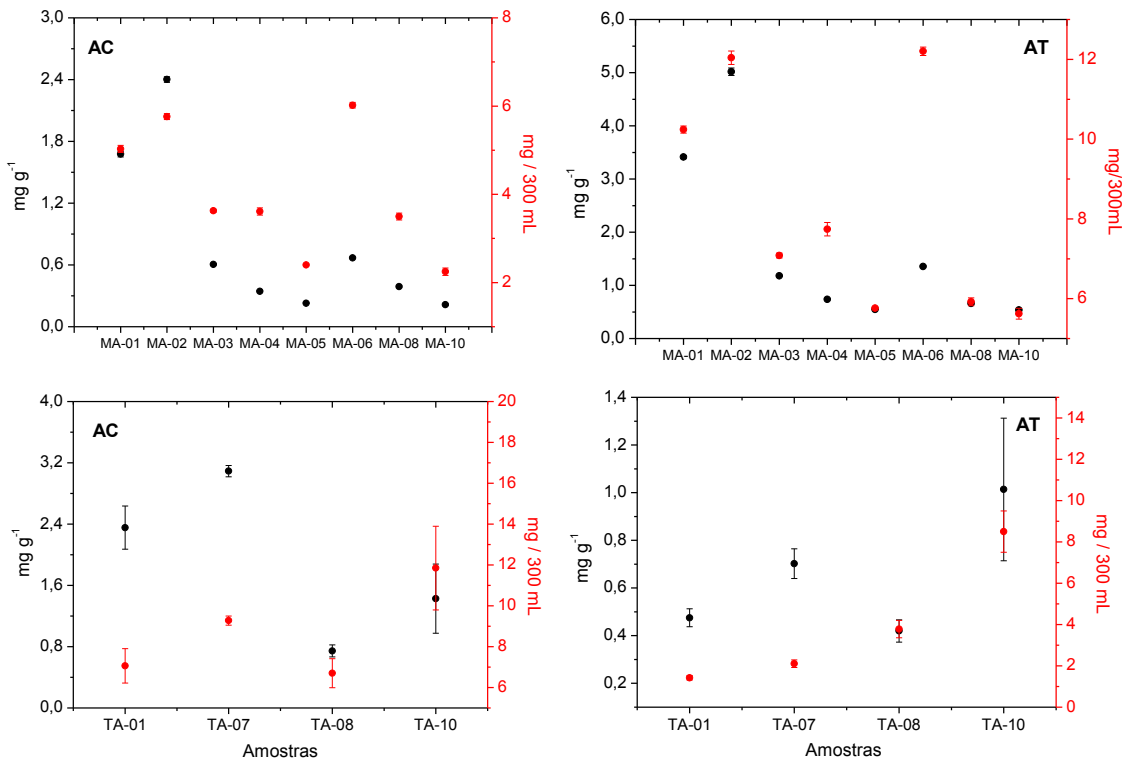


Figura 4.24. Teores de amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina nas amostras de suco artificiais em pó, de acordo com a legislação vigente (continuação).



4.4. ANÁLISE TÉRMICA

4.4.1. Avaliação das curvas de análise térmica (TG/DTG e DSC) dos corantes

4.4.1.1. Amarelo Tartrazina

A Figura 4.25 apresenta as curvas de TG, DTG e DSC do corante amarelo tartrazina em atmosfera de nitrogênio e ar. A partir da curva termogravimétrica, podem-se identificar as etapas de perdas de massa, que são apresentadas na Tabela 4.10. A partir desses valores foram calculados os teores de umidade, de matéria orgânica e de cinzas, resultantes das etapas de decomposição, cujos resultados estão contidos na Tabela 4.16.

As curvas foram utilizadas para se obter o sinal termodinâmico da quantidade de calor usado para cada etapa de decomposição, cujos resultados são mostrados nas Tabelas 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14 e 4.15.

Considerando-se os resultados obtidos para o amarelo tartrazina em atmosfera inerte (N_2) e em atmosfera oxidante (ar), observam-se perfis diversos para as curvas de análise térmica. Em nitrogênio foram observadas 5 etapas de decomposição, enquanto que para a atmosfera de ar foram identificados 7 eventos. O perfil de decomposição em ar foi o de mais fácil definição das etapas, já que as curvas foram melhor definidas, sendo, deste modo, a 4^a etapa o evento mais diferenciado. Para esta etapa que, em nitrogênio, a perda de massa foi de 16,92%, enquanto que em ar a perda foi de 21,28%. Em nitrogênio, o calor absorvido foi de $12,42 \text{ J g}^{-1}$, enquanto que em ar o calor liberado foi de 4442 J g^{-1} .

Estes resultados foram utilizados para o cálculo do teor de umidade, teor de matéria orgânica e teor de cinzas que são apresentados na Tabela 4.16.

Figura 4.25. Curvas TG, DTG e DSC do corante amarelo de tartrazina em atmosfera de (a) N₂ e (b) ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

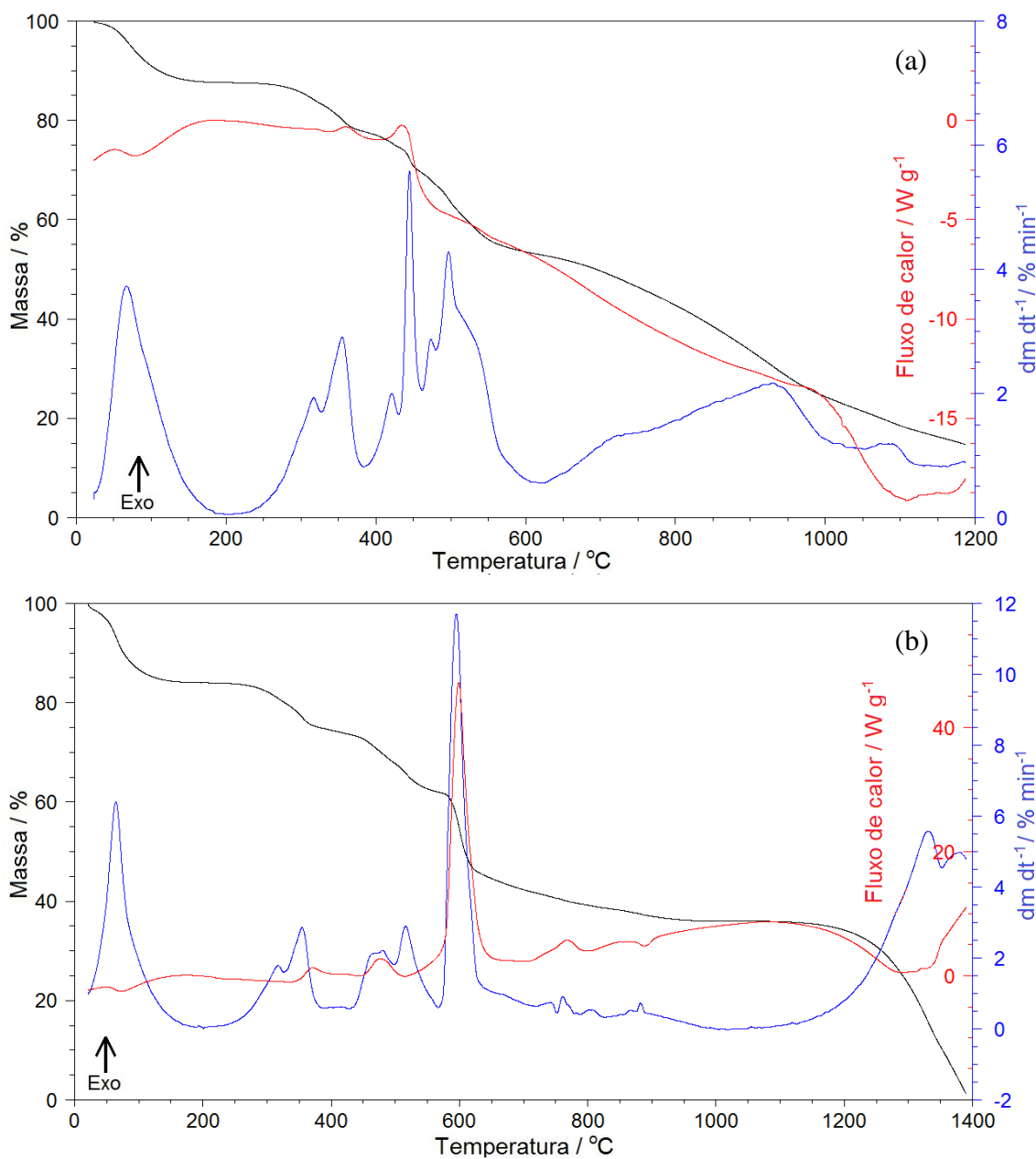


Tabela 4.10. Etapas de decomposição do amarelo tartrazina em atmosfera de N₂ e ar.

Etapa	Atmosfera de N ₂					Atmosfera de ar				
	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹
1	46,55	137,3	67,51	12,33	+ 100,6	46,20	119,4	64,35	15,62	+ 179,6
2	281,0	364,9	354,5	9,220	- 26,87	282,1	365,9	353,0	9,318	- 218,1
3	408,7	449,2	444,8	7,720	- 147,9	449,9	548,5	516,0	12,70	- 278,0
4	470,6	555,5	496,7	16,92	- 12,42	582,6	595,3	595,3	21,28	- 4442
5	659,8	1200	930,9	39,04	- 285,5	758,5	776,6	760,9	5,516	- 269,5
6						871,8	944,7	882,3	2,612	+ 75,90
7						1213	1400	1332	34,75	+ 1311

4.4.1.2. Amarelo Crepúsculo

As curvas de análise térmica do corante AC em atmosfera de N₂ são apresentadas na Figura 4.26.a. Observam-se cinco etapas de perda massa, sendo a primeira relativa à decomposição do corante. As demais etapas apresentam-se sobrepostas, de maneira que para fins do cálculo da perda de massa, levou-se em consideração a 1ª derivada da curva termogravimétrica.

Quanto à estabilidade térmica, verifica-se que o composto é estável até aproximadamente 370 °C. Os dados obtidos para curvas de análise térmica desse corante são mostrados na Tabela 4.11.

As curvas obtidas em atmosfera oxidante (ar) são apresentadas na Figura 4.26.b. A curva TG apresentou 6 etapas de perdas de massa bem definidas. A primeira etapa refere-se à perda de umidade, a segunda e terceira etapas são referentes à decomposição da matéria orgânica e as demais às reações decorrentes do conteúdo mineral obtido pela decomposição da matéria orgânica.

A Tabela 4.11 apresentam os resultados obtidos das curvas de análise térmica para o corante amarelo crepúsculo nas atmosferas de N₂ e de ar.

Figura 4.26. Curvas TG, DTG e DSC do corante amarelo crepúsculo em N₂ em atmosfera de (a) N₂ e (b) ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

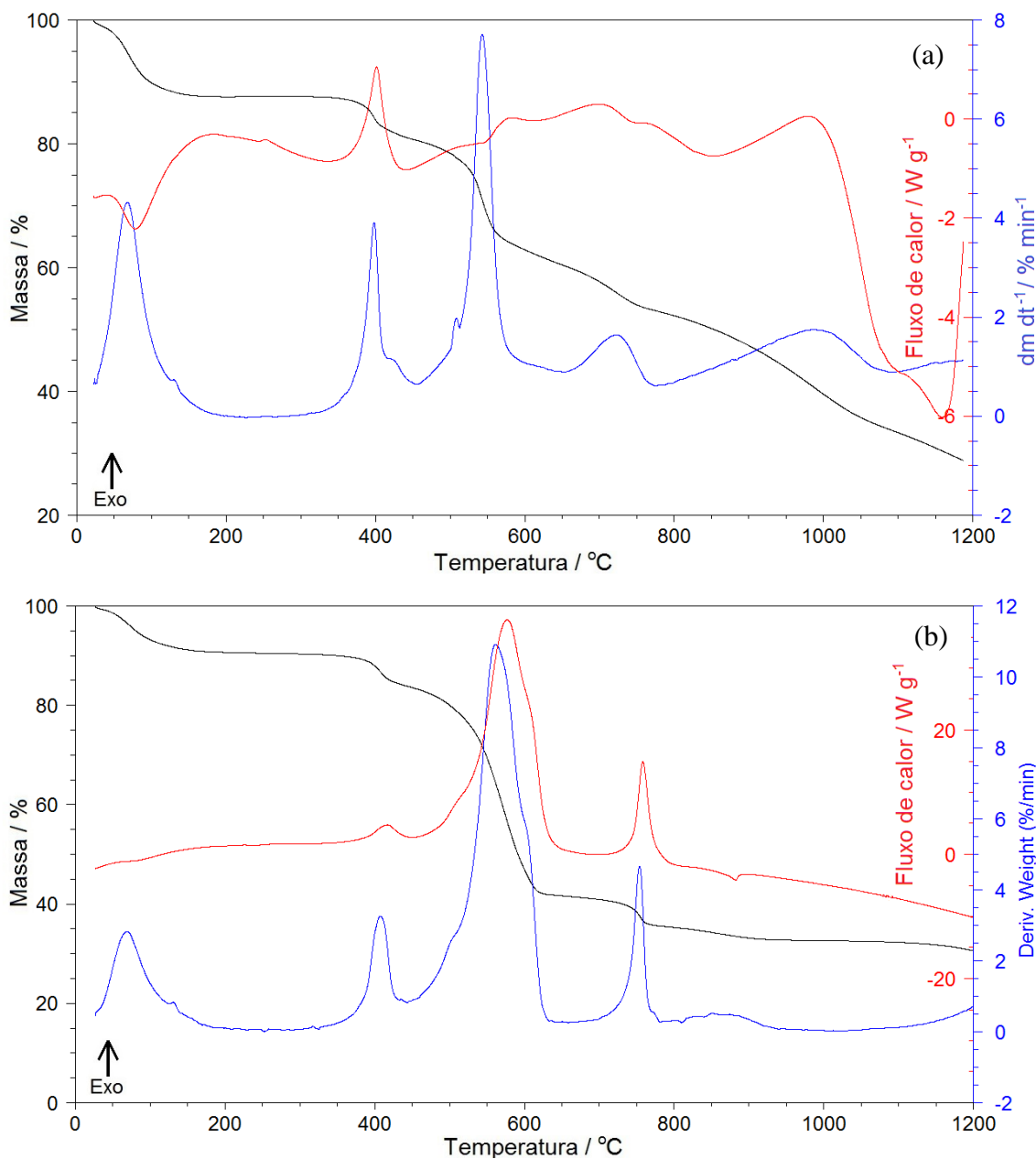


Tabela 4.11. Etapas de decomposição do amarelo crepúsculo em atmosfera de N₂ e ar.

Etapa	Atmosfera de N ₂					Atmosfera de ar				
	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹
1	54,18	115,4	67,38	12,38	+ 116,4	49,37	153,7	68,53	9,408	+ 25,13
2	371,6	408,9	398,6	6,760	- 173,9	373,6	419,1	406,3	6,194	- 236,5
3	500,4	558,4	542,3	17,84	+ 21,62	489,0	617,0	560,9	42,59	- 7964
4	618,4	748,0	724,0	9,90	- 75,42	727,2	760,8	753,9	5,983	- 1053
5	836,3	1200	986,4	24,28	+ 257,9	772,4	914,7	851,7	3,160	+ 71,47
6						1174	1300	-	9,062	-

4.4.1.3. Azul Brilhante

Para as curvas de análise térmica do corante AB, Figura 4.27.a, obtida em atmosfera de N₂ e em atmosfera de ar, Figura 4.27.b, observam-se 5 etapas de perda de massa. A primeira etapa não sofre influência da atmosfera, mas as etapas seguintes apresentam perfis diferentes, sendo bastante influenciadas.

Alguns eventos são melhor visualizados na curva em atmosfera de nitrogênio, como o evento endotérmico a 463°C. O referido evento não é visualizado na curva em atmosfera de ar, porque o evento ocorre em 746°C, sendo fortemente exotérmico. Isto ocorre, provavelmente, em decorrência da oxidação da matéria carbonácea da decomposição da matéria orgânica. Em compensação, eventos que ocorrem na atmosfera de ar não são visualizados, mas quando a atmosfera é nitrogênio observou-se um evento endotérmico a 894°C.

A Tabela 4.12 apresenta os resultados das análises da decomposição do corante azul brilhante em atmosfera de N₂ e ar. A Tabela 4.16 contém as informações referentes aos teores de umidade, de matéria orgânica e de cinzas.

Figura 4.27. Curvas TG, DTG e DSC do corante azul brilhante em atmosfera de (a) N₂ e (b) ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

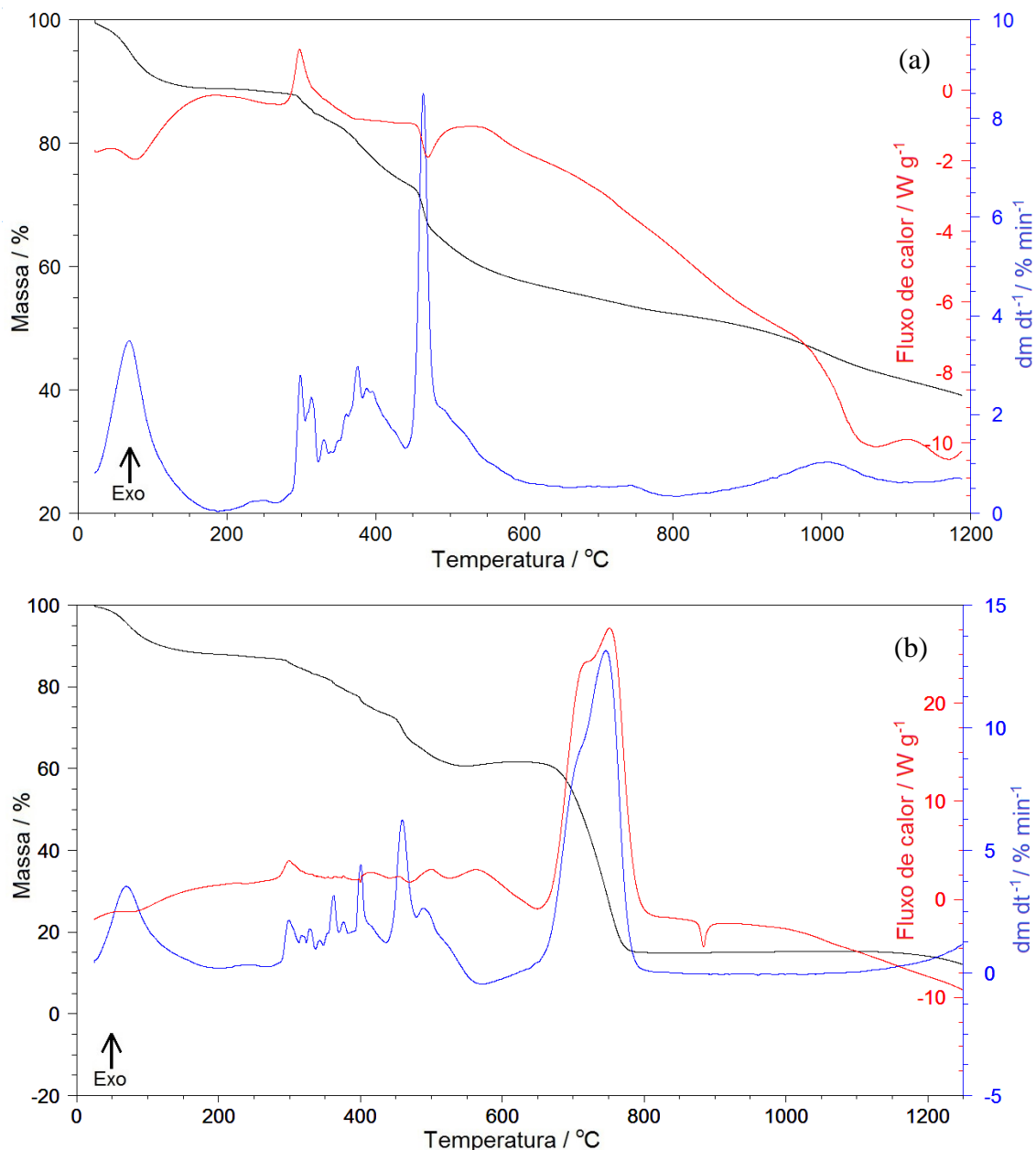


Tabela 4.12. Etapas de decomposição do azul brilhante em atmosfera de N₂ e ar.

Etapa	Atmosfera de N ₂					Atmosfera de ar				
	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹
1	50,01	128,7	64,11	11,11	+ 76,85	49,65	142,6	69,86	12,08	+ 80,24
2	293,7	314,8	301,2	4,990	- 145,1	291,3	530,2	458,9	26,28	- 179,6
3	352,4	421,5	393,1	10,34	-	677,4	773,9	746,1	46,73	- 6997
4	457,2	542,1	463,4	15,96	+ 65,37	875,5	894,1	-	-	+ 77,52
5	698,8	1200	1010	18,42	+ 269,8	1228	1300	-	6,278	-

4.4.1.4. Vermelho 40

As curvas de análise térmica para o corante V40, de acordo com as Figuras 4.28.a e 4.28.b, apresentam perfis em atmosfera de N₂ e ar, respectivamente.

Para este corante, foram observadas 4 etapas de perdas de massa, que foram melhores definidas para o experimento obtido em atmosfera oxidante (ar). A primeira etapa é referente à perda de umidade, a segunda etapa à decomposição da matéria orgânica e, as duas últimas etapas referem-se as reações do componente mineral resultante da decomposição da matéria orgânica.

A Tabela 4.13 apresenta os resultados das análises da decomposição do corante vermelho 40 em atmosfera de N₂ e ar e a Tabela 4.16 contém as informações referentes aos teores de umidade, de matéria orgânica e de cinzas.

Figura 4.28. Curvas TG, DTG e DSC do corante vermelho 40 em atmosfera de (a) N₂ e (b) ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

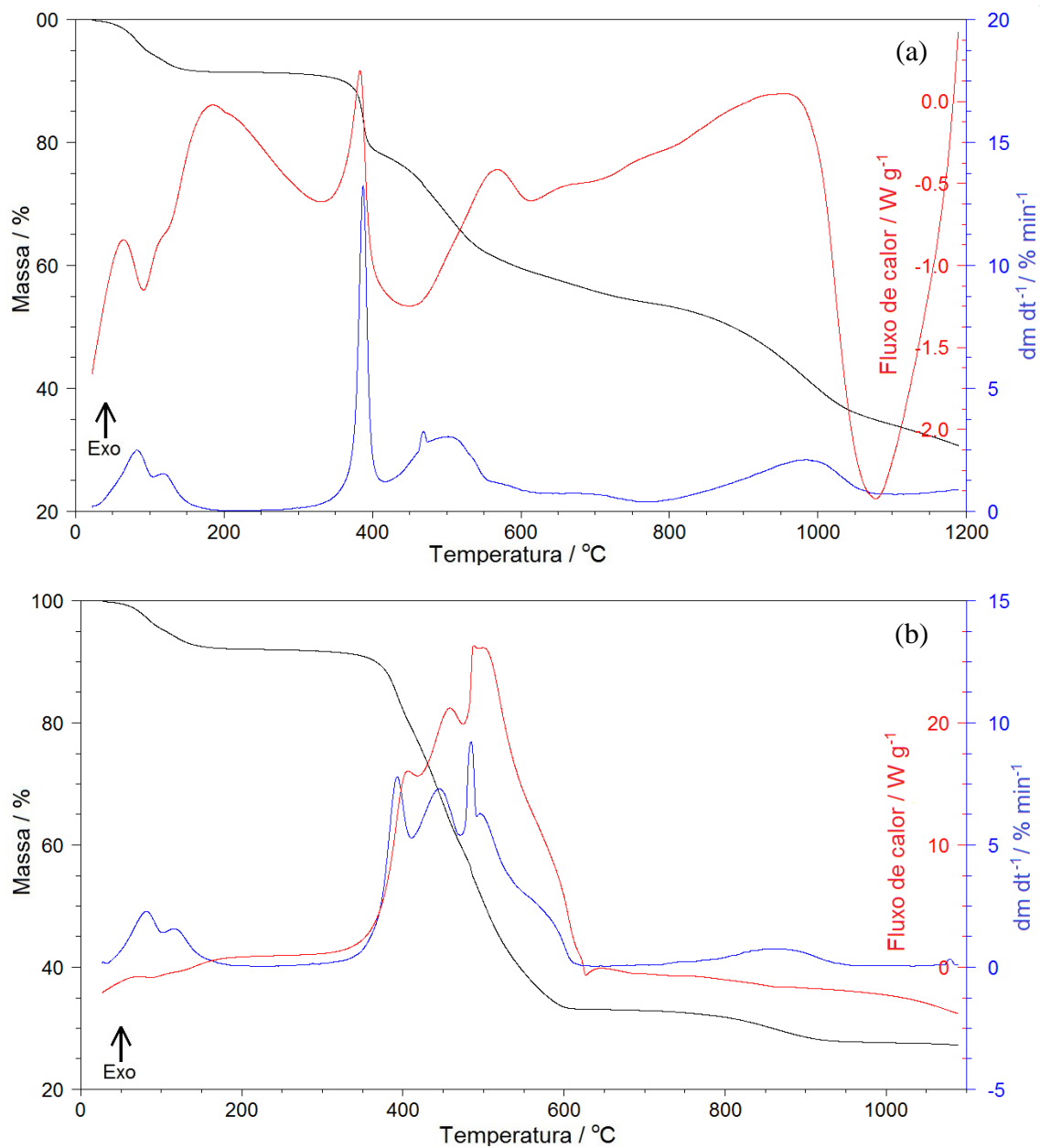


Tabela 4.13. Etapas de decomposição do vermelho 40 em atmosfera de N₂ e ar.

Etapa	Atmosfera de N ₂					Atmosfera de ar				
	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹
1	56,77	140,9	83,93	8,570	+ 25,03	60,26	146,1	81,00	7,772	+ 63,90
2	371,8	393,8	387,3	12,69	- 84,97	371,4	593,8	484,6	58,97	- 11,327
3	446,2	722,4	502,0	23,78	- 90,12	758,9	921,6	835,2	5,442	+ 48,21
4	854,3	1200	985,4	24,23	+ 920,6	1076	1100	-	0,523	

4.4.1.5. Vermelho Bordeaux

O corante VB apresentou um perfil de decomposição térmica bastante complexo em atmosfera de N₂. Na Figura 4.29.a, observa-se uma perda de umidade na primeira etapa e, também que o corante é estável até a temperatura de 358 °C. A curva obtida para atmosfera de ar apresentou um perfil com etapas mais bem definidas do que em N₂, como mostra Figura 4.29.b. Nesta figura, observam-se 6 etapas de perdas de massa, sendo a primeira relativa à perda de umidade, a segunda e a terceira relativas à decomposição da matéria orgânica e, as demais, referentes às reações decorrentes do aquecimento da matéria mineral, produto da decomposição da matéria orgânica.

A Tabela 4.14 apresenta os resultados das análises da decomposição do corante vermelho bordeaux em atmosfera de N₂ e ar. A Tabela 4.16 mostra os teores de umidade, de matéria orgânica e de cinzas.

Figura 4.29. Curvas TG, DTG e DSC do corante vermelho bordeaux em atmosfera de (a) N₂ e (b) ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

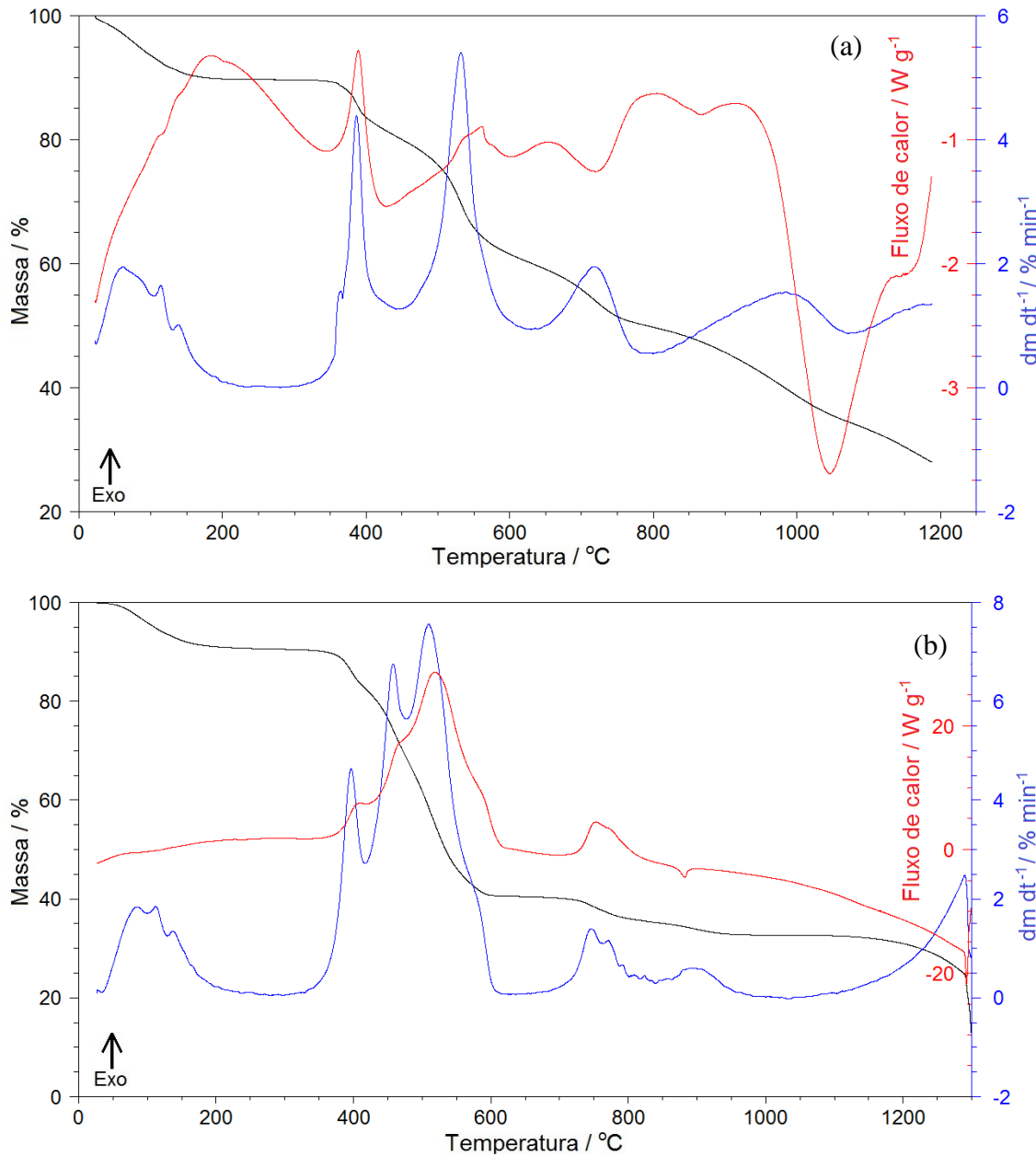


Tabela 4.14. Etapas de decomposição do vermelho bordeaux em atmosfera de N₂ e ar.

Etapa	Atmosfera de N ₂					Atmosfera de ar				
	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹	T _i /°C	T _f /°C	T _p /°C	Δm/%	ΔH/J g ⁻¹
1	23,01	161,3	59,38	10,27	+ 2,797	62,52	180,1	114,0	9,233	+ 19,74
2	358,4	399,1	386,6	6,711	- 80,70	372,7	405,3	397,0	6,828	- 9476
3	494,9	562,8	531,7	19,66	- 38,24	435,3	590,4	509,7	43,09	- 903,5
4	680,8	750,1	718,7	12,74	+ 80,55	726,2	786,2	744,5	4,662	+ 114,3
5	867,5	1200	985,5	22,56	+ 579,7	807,3	945,7	887,2	3,255	-
6						1186	1300	-	8,782	

4.4.1.6. Vermelho Ponceau

As curvas de análise térmica para o corante VP são apresentadas nas Figuras 4.30.a e 4.30.b. Para este corante, a curva em ar apresentou um perfil melhor definido para as 5 etapas de decomposição térmica. A primeira etapa refere-se à perda de umidade, a segunda e terceira à decomposição da matéria orgânica e as demais ao aquecimento da matéria mineral obtida a partir da decomposição da matéria orgânica.

A Tabela 4.15 apresenta os resultados calculados a partir destes perfis das curvas de análise térmica. Os teores de umidade, matéria orgânica e cinzas deste corante estão contidos na Tabela 4.16.

Figura 4.30. Curvas TG, DTG e DSC do corante vermelho ponceau em atmosfera de (a) N_2 e (b) ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

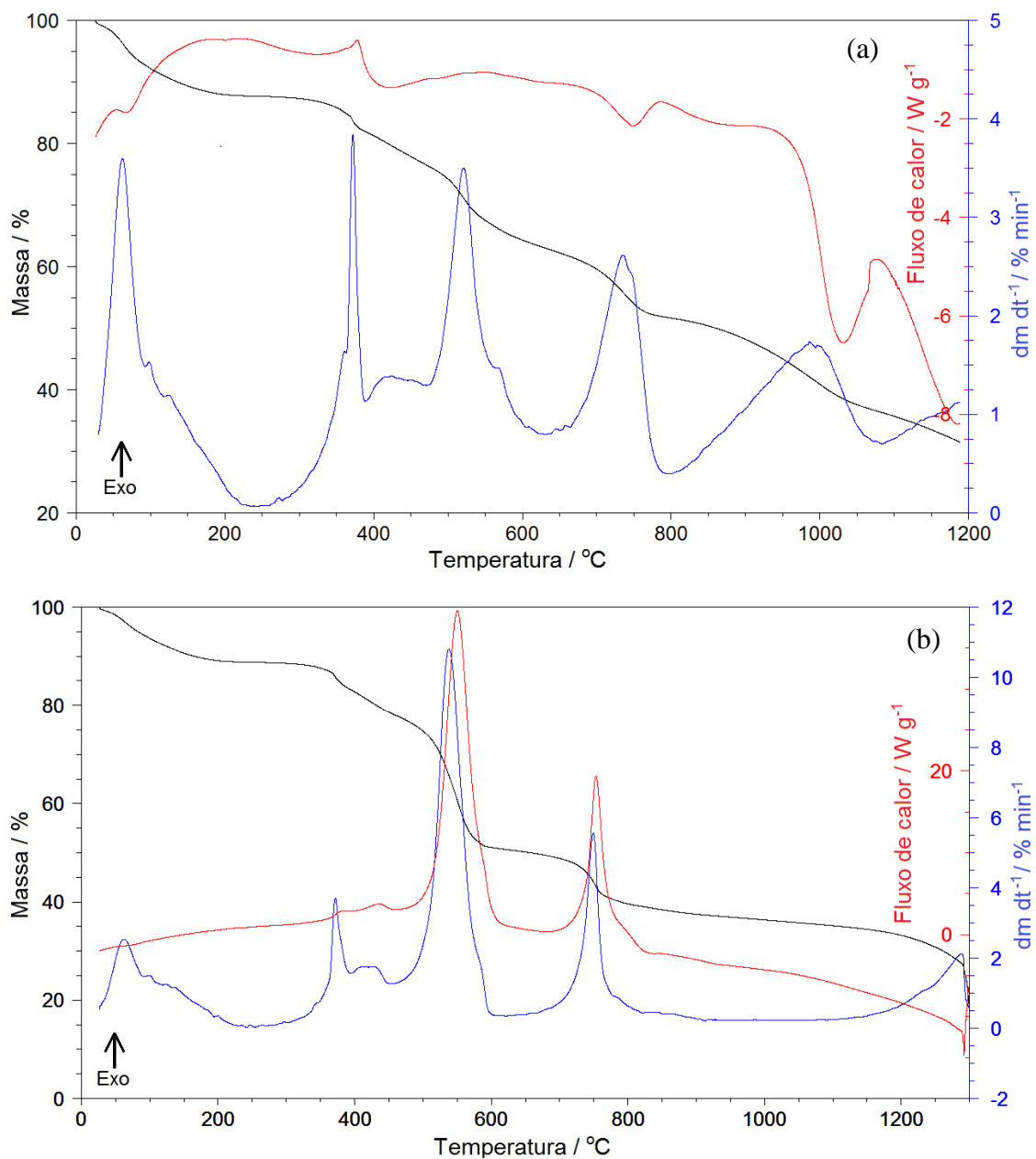


Tabela 4.15. Etapas de decomposição do vermelho ponceau em atmosfera de N_2 e ar.

Etapa	Atmosfera de N_2					Atmosfera de ar				
	$T_i/^\circ C$	$T_f/^\circ C$	$T_p/^\circ C$	$\Delta m/\%$	$\Delta H/J g^{-1}$	$T_i/^\circ C$	$T_f/^\circ C$	$T_p/^\circ C$	$\Delta m/\%$	$\Delta H/J g^{-1}$
1	47,96	181,5	61,95	12,20	+ 18,44	52,90	188,7	61,77	11,12	+ 8,149
2	327,0	379,2	371,6	8,646	- 63,71	362,0	432,7	370,6	9,804	- 187,1
3	502,4	557,8	520,7	15,24	- 97,41	503,6	581,5	537,3	28,11	- 5100
4	681,6	760,3	735,7	11,60	+ 82,46	714,7	761,0	749,2	10,37	- 1962
5	880,2	1200	988,6	20,71	+ 450,5	1243	1300	-	13,70	-

A Tabela 4.16 apresenta os resultados referentes aos cálculos dos teores de umidade, matéria orgânica e cinzas, calculados a partir das curvas termogravimétricas em atmosfera de N₂ e de ar, para os corantes estudados. O cálculo para o teor de umidade foi realizado à temperatura de 105 °C, O cálculo para o teor de cinzas foi realizado à temperatura de 550 °C. Para o cálculo do teor de matéria orgânica utilizou-se a diferença entre os valores obtidos para o cálculo de umidade e o cálculo do teor de cinzas. Observa-se que as curvas obtidas em N₂ apresentaram resultados elevados para os teores de cinzas em relação àqueles obtidos nas curvas em ar. Isto decorre de uma oxidação mais efetiva, fazendo diminuir bastante a presença de material carbonáceo, oriundo da queima incompleta da matéria orgânica, o que é a causa principal de erro para essa determinação. Este fato contribui para dificultar a definição das etapas de decomposição nas curvas obtidas em atmosfera de N₂.

Ressalte-se, no entanto, que o uso de tal método dispensa um tempo bem menor para a obtenção dos resultados do que o método gravimétrico tradicional.

Tabela 4.16. Teores de umidade, matéria orgânica e cinzas obtidos a partir das curvas TG dos corantes.

Corante	Atmosfera de ar / %			Atmosfera de N ₂ / %		
	T _U	T _{MO}	T _C	T _U	T _{MO}	T _C
AT	15,62	39,49	44,89	12,33	33,86	53,81
AC	9,408	49,78	41,81	12,38	24,60	63,02
AB	12,08	26,28	61,64	11,11	31,29	57,60
V40	7,772	58,97	33,25	8,570	36,37	55,06
VB	9,233	49,92	40,84	10,27	26,37	63,36
VP	11,12	37,91	50,97	12,20	23,88	63,92

T_U: teor de umidade; T_{MO}: teor de matéria orgânica; T_C: teor de cinzas

4.4.2. Avaliação das curvas de análise térmica (TG, DTG e DSC) dos sucos artificiais em pó

A decomposição térmica das amostras dos sucos artificiais em pó foi analisada empregando-se apenas atmosfera de ar, pois a presença do açúcar na sua composição torna complexa a análise do suco em atmosfera de N₂.

4.4.2.1. Suco artificial em pó sabor laranja

A Figura 4.31 apresenta os perfis das curvas de análise térmica para as amostras LA-01 e LA-02 e a Tabela 4.17 mostra os resultados da decomposição térmica destas amostras representada pelos intervalos de temperatura, pelas perdas de massa e pelos calores absorvidos ou produzidos em cada etapa.

Nas curvas de análise térmica da amostra LA-01 foram identificadas 6 etapas, em que se pode definir a primeira etapa como sendo decorrente da perda de umidade da amostra. O segundo evento foi detectado nas curvas DSC, mas não foi verificada nenhuma variação de massa na curva TG, o que pode decorrer de uma transição cristalina de dois componentes da amostra, como o que ocorre em uma transição cristalina na sacarose (RAEMY & SCHWEIZER, 1983). A terceira, quarta e quinta etapas ocorreram acompanhadas de variação de massa. A sexta etapa ocorreu devido à presença, no resíduo final, de um composto que resulta das cinzas de decomposição da amostra.

Nas curvas de análise térmica para a amostra LA-02 foram identificados 7 eventos, sendo o primeiro e o último endotérmico, e os demais exotérmicos. Verifica-se estabilidade até 173 °C, a partir desta temperatura o material se decompõe, sendo este evento endotérmico, seguem-se quatro eventos exotérmicos e a 875 °C observa-se um evento endotérmico, decorrente da matéria mineral obtida.

Os teores de umidade, matéria orgânica e cinzas, para as duas amostras, foram calculados considerando-se todos estes eventos, que estão contidos na Tabela 4.21.

Figura 4.31. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor laranja, em atmosfera de ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

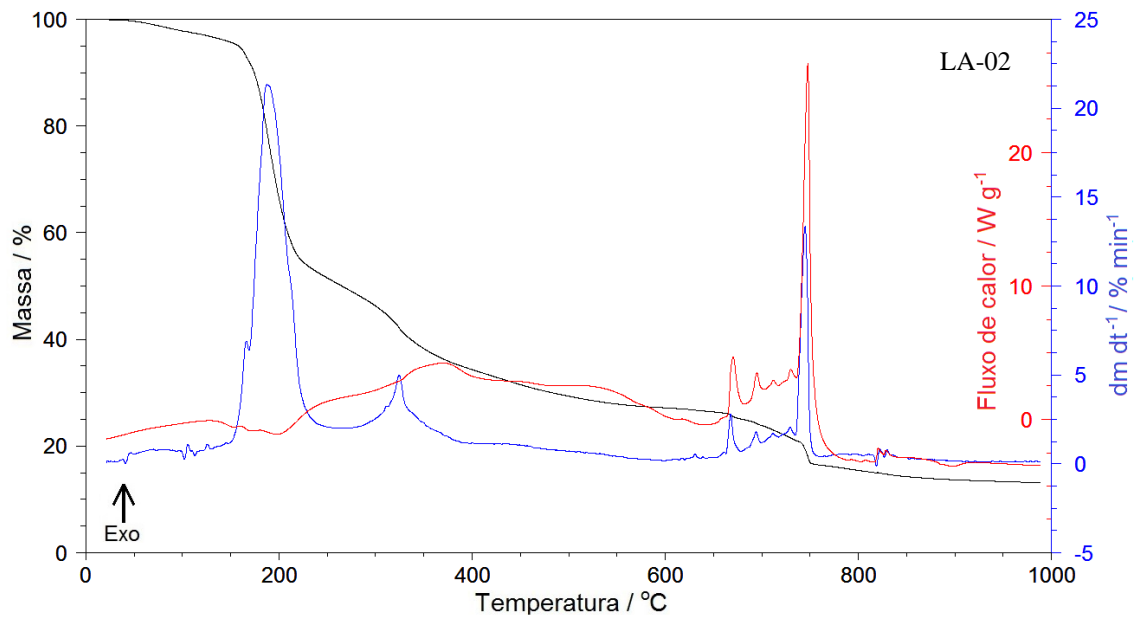
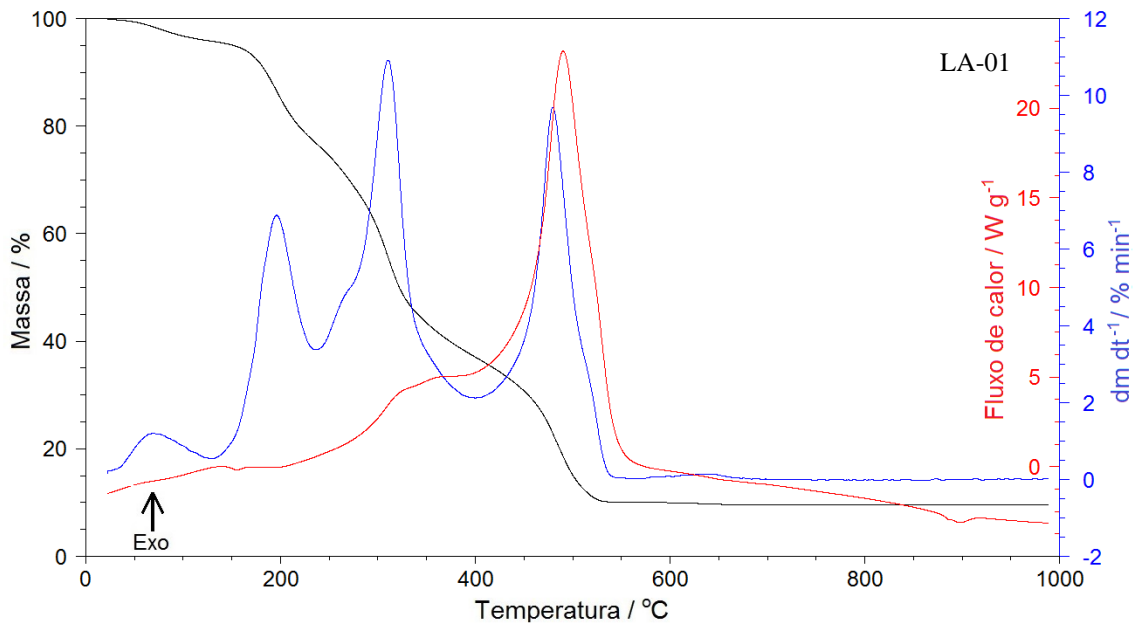


Tabela 4.17. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor laranja em atmosfera de ar.

Amostra	Etapa	T _i / °C	T _f / °C	Δm / %	ΔH / J g ⁻¹
LA-01	1	36,94	66,30	2,028	+ 6,113
	2	146,3	155,3	-	+ 5,965
	3	168,9	192,8	9,566	+ 145,8
	4	278,7	310,7	18,14	- 75,41
	5	456,6	479,9	18,16	- 3591
	6	876,9	895,3		+ 28,38
LA-02	1	53,33	102,6	2,932	-
	2	172,9	187,1	46,30	+ 360,9
	3	310,8	324,5	23,40	- 532,0
	4	660,3	668,1	10,73	- 166,9
	5	853,0	745,1	11,24	- 1798
	6	736,6	818,7	11,24	- 27,41
	7	875,3	895,0	-	+ 36,29

4.4.2.2. Suco artificial em pó sabor maracujá

A Figura 4.32 apresenta os perfis das curvas de análise térmica das amostras MA-01 e MA-02 e a Tabela 4.18 mostra os resultados de suas decomposições térmicas.

Nas curvas de análise térmica da amostra MA-01 foram identificados 6 eventos em que se pode definir a primeira etapa, à 37°C, como sendo decorrente da perda de umidade da amostra. O segundo, terceiro, quarto e quinto eventos ocorreram acompanhados de variação de massa. O sexto evento ocorre devido à presença, no resíduo final, de um composto constituído a partir das cinzas de decomposição da amostra.

Nas curvas de decomposição térmica da amostra MA-02 verifica-se, inicialmente, uma perda de 1,425 % relativa à umidade, sendo estável até 138°C, onde se inicia sua decomposição térmica. No total, é possível se observar 7 eventos térmicos, sendo dois endotérmicos e os demais exotérmicos. A partir dos 700°C começam a ocorrer os eventos relativos à matéria mineral obtida na etapa de decomposição da matéria orgânica, com dois eventos, sendo o primeiro exotérmico e o último endotérmico (Tabela 4.18).

Os teores de umidade, matéria orgânica e cinzas, considerando-se todos estes eventos, são apresentados na Tabela 4.21.

Figura 4.32. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor maracujá, em atmosfera de ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

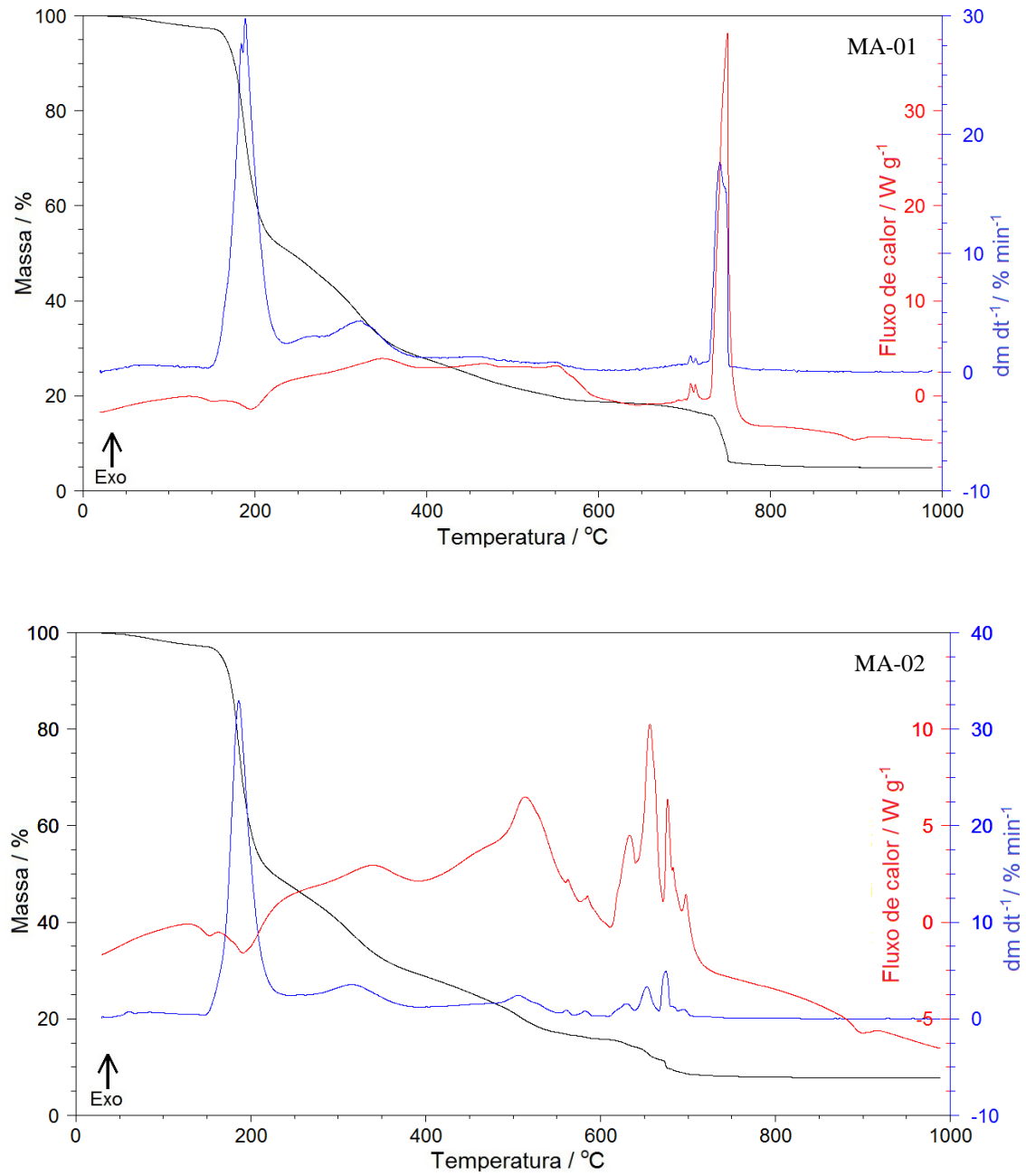


Tabela 4.18. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor maracujá em atmosfera de ar.

Amostra	Etapa	T _i / °C	T _f / °C	Δm / %	ΔH/J g ⁻¹
MA-01	1	43,13	59,05	1,229	+ 9,237
	2	172,8	188,9	40,23	+ 153,3
	3	274,2	324,1	7,936	- 283,5
	4	509,6	551,6	1,978	- 887,9
	5	729,9	741,3	11,67	- 2163
	6	874,6	894,7	-	+ 40,47
MA-02	1	52,70	60,72	1,425	-
	2	138,3	150,5	-	+ 13,56
	3	168,5	185,4	42,04	- 212,1
	4	275,5	318,2	4,685	- 200,3
	5	474,9	506,4	5,582	- 1381
	6	668,8	674,6	6,414	- 1396
	7	880,5	897,0	-	+ 32,14

4.4.2.3. Suco artificial em pó sabor uva

A Figura 4.33 apresenta os perfis das curvas de análise térmica das amostras UV-01 e UV-02 e a Tabela 4.19 mostra os resultados de suas decomposições térmicas.

Nas curvas de análise térmica da amostra UV-01 foram identificados 7 eventos, onde a primeira etapa é decorrente da perda de umidade da amostra. O segundo evento foi detectado nas curvas DSC e DTG, mas não foi verificada nenhuma variação de massa na curva TG, o que pode decorrer de uma transição cristalina dos componentes da amostra, tal como ocorre na transição cristalina da sacarose. O terceiro, quarto, quinto e sexto eventos ocorreram acompanhados de variação e massa. O sétimo evento ocorreu devido à presença, no resíduo final, de um composto proveniente das cinzas na decomposição da amostra.

As curvas de análise térmica da amostra UV-02 contém 7 etapas de perda de massa, sendo a primeira relativa à perda de umidade. O material é estável até cerca de 160 °C, quando começa a se decompor. A decomposição desse material envolve três etapas de perda de massa, sendo a primeira endotérmica e as demais exotérmicas.

A Tabela 4.21 apresenta os resultados dos teores de umidade, matéria orgânica e cinzas, calculados a partir das curvas TG.

Figura 4.33. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor uva, em atmosfera de ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

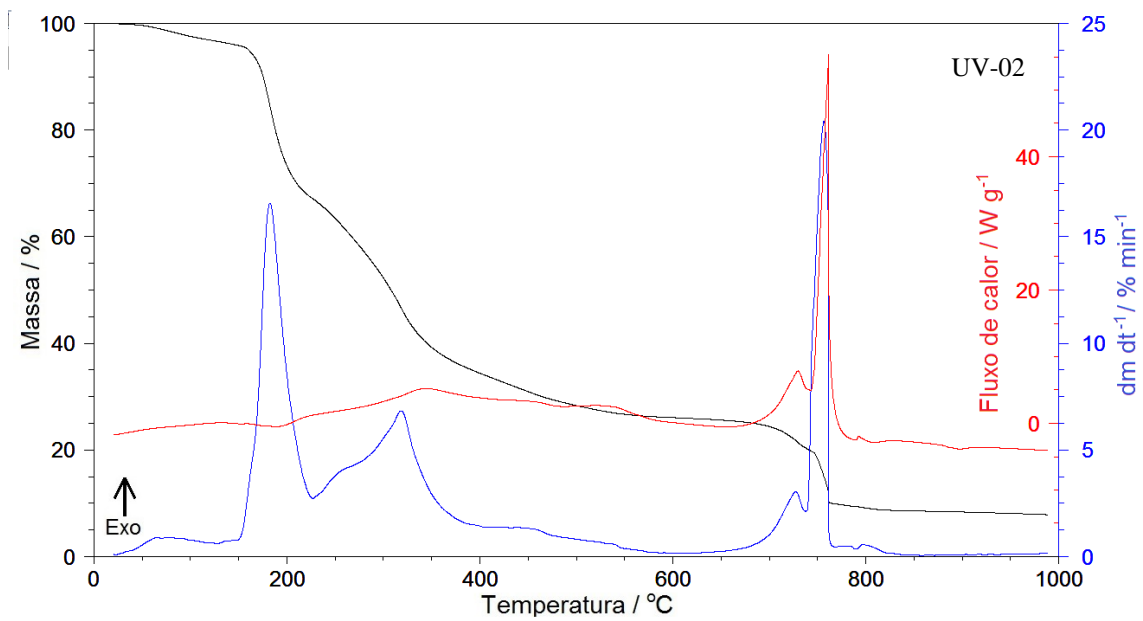
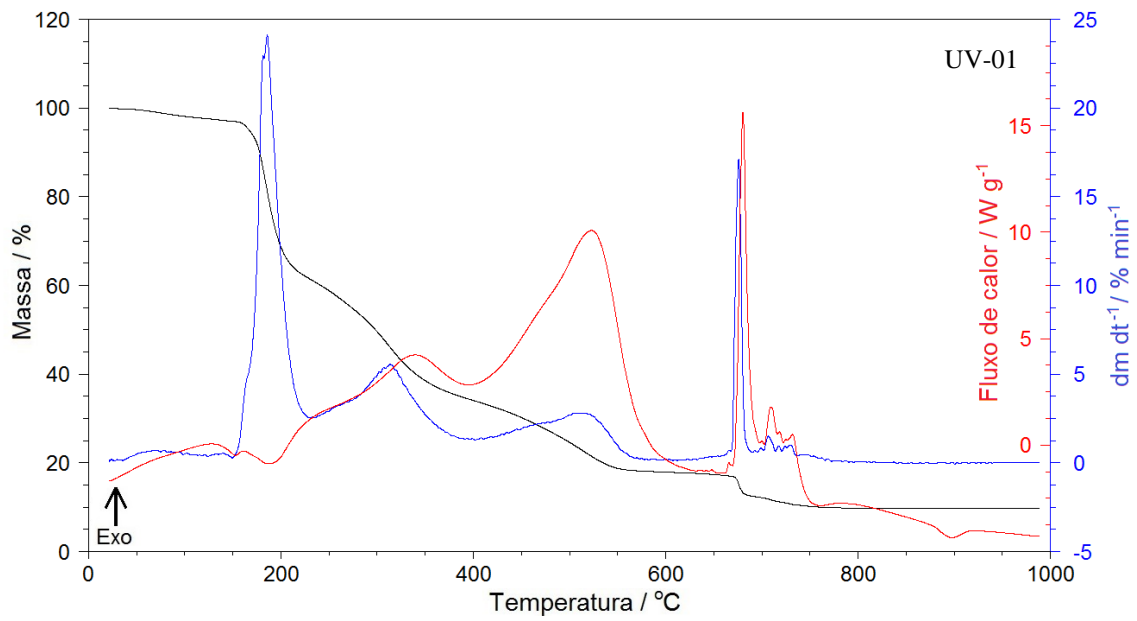


Tabela 4.19. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor uva em atmosfera de ar.

Amostra	Etapa	T _i / °C	T _f / °C	Δm / %	ΔH / J g ⁻¹
UV-01	1	36,49	71,67	1,607	-
	2	139,4	151,4	-	+ 12,61
	3	171,5	185,6	29,54	+ 142,6
	4	265,8	313,6	10,93	- 422,2
	5	448,6	520,3	8,197	- 2526
	6	669,7	675,8	6,692	- 1037
	7	895,0	877,5	-	+ 32,95
UV-02	1	52,51	138,2	3,902	-
	2	161,0	203,1	28,68	+ 232,3
	3	241,6	340,7	30,08	- 540,1
	4	399,4	550,2	11,35	- 48,08
	5	707,0	735,1	5,966	- 224,4
	6	747,9	762,0	9,931	- 1730
	7	876,0	896,1	2,147	+ 45,53

T_i: temperatura inicial; T_f: temperatura final; Δm: variação de massa.

4.4.2.4. Suco artificial em pó sabor tangerina

Na Figura 4.34 são apresentadas as curvas de análise térmica para a amostra TA-02. Observam-se 7 etapas de perda de massa, sendo a primeira referente à perda de umidade. O material começa a se decompor em cerca de 136 °C, com quatro etapas de decomposição, sendo uma endotérmica e as demais exotérmicas. Duas etapas são verificadas após os 700 °C que são relativas ao matéria mineral obtido, sendo a primeira exotérmica e a outra endotérmica. Na Tabela 4.20 são apresentados os cálculos para todas as etapas envolvidas e a Tabela 4.21 mostra os resultados obtidos para os teores de umidade, matéria orgânica e cinzas calculados a partir dos dados da curva TG.

Figura 4.34. Curvas TG, DTG e DSC das amostras de suco artificial em pó sabor tangerina, em atmosfera de ar (TG: linha preta, DTG: linha azul e DSC: linha vermelha).

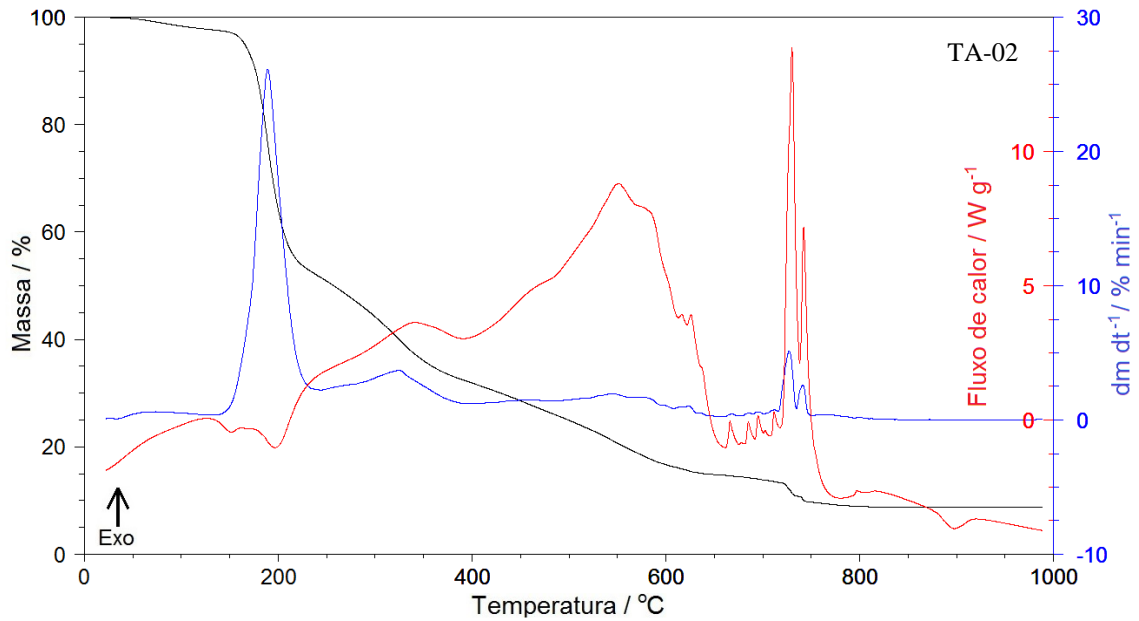


Tabela 4.20. Etapas de decomposição da amostra de suco artificial sabor tangerina em atmosfera de ar.

Amostra	Etapa	$T_i / ^\circ\text{C}$	$T_f / ^\circ\text{C}$	$\Delta m / \%$	$\Delta H / \text{J g}^{-1}$
TA-02	1	46,79	60,98	0,882	-
	2	135,8	149,4	-	+ 12,67
	3	167,4	188,8	39,11	+ 131,2
	4	269,7	325,5	6,200	- 262,5
	5	497,8	546,4	6,488	- 2959
	6	717,4	726,8	4,899	- 906,9
	7	881,0	895,4	4,899	+ 37,55

A Tabela 4.21 apresenta os resultados para teor de umidade, teor de matéria orgânica e teor de cinzas para as amostras de sucos. O cálculo para o teor de umidade foi realizado conforme descrito para os corantes individuais (página 119).

A amostra de suco que apresentou maior teor de umidade foi o UV-02 e a que apresentou o menor foi TA-02. O maior e o menor teor de matéria orgânica foram obtidos para as amostras UV-02 e LA-01, respectivamente. A amostra TA-02 apresentou o maior teor de cinzas e UV-02 apresentou o menor teor.

De modo geral, verifica-se uma variação dos teores obtidos entre as amostras, tanto em relação ao sabor quanto em relação à marca dos sucos artificiais em pó.

Tabela 4.21. Teores de umidade, matéria orgânica e cinzas calculados à partir das curvas TG/DTG das amostras de sucos artificiais em pó.

Amostra	T _U / %	T _{MO} / %	T _C / %
LA-01	2,028	45,87	52,11
LA-02	2,932	69,70	27,37
MA-01	1,229	61,81	36,96
MA-02	1,425	52,31	46,27
UV-01	1,607	55,36	43,03
UV-02	3,902	70,11	25,99
TA-02	0,8819	51,80	52,68

T_U: teor de umidade; T_{MO}: teor de matéria orgânica; T_C: teor de cinzas

Vuataz *et al* (2010) determinaram o teor de umidade em pós alimentícios após a secagem de alimentos tais como leite desnatado, café, cereais e rações para animais, utilizando dados da termogravimetria.

O teor de matéria orgânica refere-se à decomposição do açúcar, corantes e outros aditivos. O teor de cinzas reflete a quantidade de matéria mineral presente nas amostras. Os resultados de cinzas se apresentaram com menor valor nas amostras do que nos corantes individuais, porque as amostras contém, principalmente, açúcar que não contribui, após sua decomposição, para o teor de cinzas. Nas cinzas estão inclusas a contribuição do dióxido de titânio, além do sódio e enxofre presentes nas moléculas dos corantes.

CAPÍTULO 5
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O método proposto foi desenvolvido, testado e validado apresentando resultados interessantes na determinação de corantes em sucos artificiais em pó.

Consiste de aplicação de uma equação desenvolvida a partir da lei de Lambert-Beer, pela qual podem ser obtidas as concentrações de dois corantes presentes nas amostras.

Para a consecução de tal objetivo foram usadas amostras de corantes industriais que foram identificadas a partir dos espectros de IV-M e de EAM-vis, considerando-se os valores de comprimento de absorção máxima, de acordo com os registros da literatura.

A Termogravimetria foi uma ferramenta útil para determinar a estabilidade térmica dos corantes estudados e, para quantificação dos teores de umidade, matéria orgânica e cinzas nas amostras analisadas.

A estabilidade térmica e a definição dos perfis de decomposição térmica dos corantes utilizados nesse trabalho foram obtidas por meio da TG e DSC.

Com os resultados obtidos a partir das curvas termogravimétricas, foi possível estabelecer uma ordem de estabilidade térmica para os corantes: 280°C (AT), 290°C (AB), 360°C (VP), 370°C (AC), 370°C (V40) e 370°C (VB). Trata-se de um resultado relevante considerando-se que grande parte dos alimentos é submetida a algum tipo de aquecimento na sua preparação.

Na validação do método proposto foram feitos os ensaios de fotodegradação que mostraram que os corantes são bastante estáveis; o estudo da influencia do pH mostrou que somente em valores de pH fortemente alcalinos é que os corantes começam a degradar; o teste da influencia do açúcar mostrou que não houve interferência nos resultados, devido a presença de tal componente. Por outro lado, a presença de dióxido de titânio causou interferências nas medidas de absorbância, necessitando a centrifugação das amostras antes da análise.

Foram usadas no procedimento de validação do método, amostras sintéticas contendo um e dois corantes, obtendo-se resultados satisfatórios, haja vista, os valores dos coeficientes de correlação obtidos. Assim, independentemente do comprimento de onda utilizado, a quantidade calculada de corante foi a mesma nas amostras sintéticas. As absorvidades calculadas para cada um desses corantes são específicas da natureza absorvitiva de cada espécie, que não foram influenciadas entre si. Isto é, se

comportaram de modo independente, sendo obtidos os mesmos resultados, tanto no primeiro comprimento de onda, quanto no segundo (λ_1 e λ_2).

O uso de corantes sintéticos inspira cuidados, devido a sua potencialidade como carcinogênicos e teratogênicos, sendo necessário um rigoroso controle dos produtos que utilizem esses aditivos, o que torna imperativo que se apresente métodos de detecção e quantificação de fácil execução, rápidos e baratos.

Neste contexto, a espectrofotometria se apresenta como método que se adequa perfeitamente a essas necessidades, principalmente, porque o espectrofotômetro, que opera na região do visível, é um instrumento de fácil aquisição.

Neste trabalho foi proposto, testado e validado um método para análise de corantes em sucos artificiais em pó, contendo dois corantes, utilizando um rearranjo da equação para cálculo da absorbância.

O método desenvolvido apresentou características interessantes para a determinação de corantes alimentícios em sucos artificiais em pó, visto que a aplicação da Lei de Lambert-Beer mostrou-se satisfatória. Além do mais, consiste de um método de execução simples, barato e com baixa produção de resíduos.

Como perspectivas futuras, propõe-se o desenvolvimento do método para a análise de amostras de sucos artificiais em pó contendo três corantes.

Classificar e quantificar o teor de corantes em amostras de sucos em pó, utilizando análise multivariada, a partir de dados da Espectroscopia de Absorção Molecular na região do Infravermelho Médio e a partir de Espectroscopia de Absorção Molecular na região do Infravermelho Próximo e medidas de Voltametria, comparando esses resultados com os resultados obtidos pelo método proposto.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, referência bibliográfica de documentos disponíveis em <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 06 de novembro de 2011.

AMADO, A.; JACOB, S.E. Dermatitis de contacto por alimentos. **Actas Dermo-Sifiliográficas** v. 98, p. 452-458, 2007.

AMINA, K.A.; HAMEID, H. A.; ELSTTAR, A. H. A. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. **Food and Chemical Toxicology** v.48, p.2994-2999, 2010.

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

ANVISA. (2011). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Compêndio da Legislação 346 Brasileira de Aditivos Alimentares, Brasília (pp. 163).

AQUINO, R.C.; PHILIPPI, S.T. Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo. **Revista Saúde Pública**, v.36, n.6, p. 655-60, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO [ABIA]. **Consumo de alimentos em novo patamar**. São Paulo; 1997.

BELTRÁN, J.L.; PEREZ-URQUIZA, M. Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v.898, p.271-275, 2000.

BONAN, S.; FEDRIZZI, G.; MENOTTA, S.; ELISABETTA, C. Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. **Dyes and Pigments**, v.99, p.36-40, 2013.

BRASIL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2005. p.83-160.

BRITO, N.M.; AMARANTE JR., O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.13, jan./dez. 2003.

BROWN, M.E. **Introduction to thermal analysis: techniques and applications**. London: Chapman and Hall, 1988.

CARREIRO, D.M. **Alimentação e distúrbios de comportamento**. 1.ed. São Paulo: Editora Denise Carreiro, 2012.

Chamada CNPq/ANVISA N° 05/2014 – Pesquisa em Vigilância Sanitária. www.cnpq.br, acesso em 22 de março de 2014.

CHANLON, S.; JOLY-POTTUZ, L.; CHATELUT, M.; VOTTORI, O.; CRETIER, J.L. Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by Differential Pulse Polarography. **Journal of Food Composition and Analysis** v.18, p.503–515, 2005.

CLYDESDALE, F.M. Color a factor in food choice. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** v.33, n.1, p.83-101, 1993.

CORNET, V.; GOVAERT, Y.; MOENS, G.; LOCO, J.V.; DEGROODT, J-M. Development of a fast analytical method for the determination of sudan dyes in chilli and curry-containing foodstuffs by high – performance liquid chromatography – photodiode array detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.639-644, 2006.

DINC, E.; BAYDAN, E.; KANBUR, M.; ONUR, F. Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods. **Talanta** v.58, p.579-594, 2002.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. COLOURINGOUR food in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology**, v 35, p 5-22. 2000.

ELHKIM, M.O.; HÉRAUD. F.; BEMRAH, N.; GAUCHARD, F.; LORINO, T.; LAMBRÉ, C.; FRÉMY, J.M.; POUL, J-M. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine q An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. **Regulatory Toxicology and Pharmacology** v.47, p.308-316, 2007.

EL-SHAHAWI, M.S.; HAMZA, A.; AL-SIBAALI, A.A.; BASHAMMAKH, A.S.; AL-SAIDI, H.M. A new method for analysis of sunset yellow in food samples based on cloud point extraction prior to spectrophotometric determination. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry** v.19, p.529-535, 2013.

FRAIGE, K.; ASSUNÇÃO, N.A.; PINTO, R.S.; CARRILHO, E. Analytical Assessment of a Home Made Capillary Electrophoresis Equipment with Linear Charge Coupled Device for Visible Light Absorption Detection in the Determination of Food Dyes. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies** v.32, p.1862-1878, 2009.

GAN, T.; SUN, J.; CAO, S.; GAO, F.; ZHANG, Y.; YANG, Y. One-step electrochemical approach for the preparation of grapheme wrapped-phosphotungstic acid hybrid and its application for simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine. **Electrochimica Acta** v.74, p.151-157, 2012.

GARCÍA-FALCÓN, M.S.; SIMAL-GÁNDARA, J. Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up. **Food Control** v.16, p.293-297, 2005.

GHOREISHI, S.M.; BEHPOUR, M.; GOLESTANEH, M. Simultaneous determination of Sunset yellow and Tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode. **Food Chemistry** v.132, p.637-641, 2012.

GIOLITO, I. Desenvolvimento, classificação e aplicações dos métodos termoanalíticos. **Revista Química Industrial** n.663, p.12-20, 1988.

HARP, B.P.; MIRANDA-BERMUDEZ, E.; BARROWS, J.N. Determination of Seven Certified Color Additives in Food Products Using Liquid Chromatography. **Journal of Agriculture Food Chemistry** v.61, p.3726-3736, 2013.

HOLLER, F.J; SKOOG, D.A; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6.ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HUANG, H-Y.; SHIH, Y-C.; CHEN, Y-C. Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A** v.959, p.317-325, 2002..

HUNGER, K. **Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Application**. 1.ed. Alemanha, Frankfurt: Wiley-VCH, p. 01-112, 2003.

JEFFERY, G. H.; BASSET, J.; MENDHAN, J.; DENNEY, R. C. **VOGEL: Análise química qualitativa**. 5ª Edição, LTC Editora, Rio de Janeiro, 585-588, 1992.

KARPÍNSKA, J.; SOKÓŁ, A.; SKOCZYLAS, M. An application of UV-derivative spectrophotometry and bivariate calibration algorithm for study of photostability of levomepromazine hydrochloride. **Spectrochimica Acta Part A** v.71, p.1562-1564, 2008.

LACHENMEIER, D.W.; KESSLER, W. Multivariate Curve Resolution of Spectrophotometric Data for the Determination of Artificial Food Colors. **Journal Agriculture Food Chemistry** v.56, p.5463-5468, 2008.

LAU, K.; MCLEAN, W.G.; WILLIAMS, D.P.; HOWARD, C.V. Synergistic interactions between commonly used food additives in a developmental neurotoxicity test. **Toxicological Sciences**, v.90, n.1, p.178-187, 2006.

LINDINO, C.A.; Gonçalves Jr., A.F.; Schreiner, G.G.O.; Schreiner, J.S.; Farina, L.O. Determinação de metais em corantes alimentícios artificiais. **Acta Science Technology** v.30, n.1, p.93-98, 2008.

LLAMAS, N.E.; GARRIDO, M.; DI NEZIO, M.S.; BAND, B.S.F. Second order advantage in the determination of amaranth, sunset yellow FCF and tartrazine by UV-vis and multivariate curve resolution-alternating least squares. **Analytica Chimica Acta** v.655, p.38-42, 2009.

LÓPEZ-DE-ALBA, P.L.; WRÓBEL-KACZMARCZYK, K.; WRÓBEL, K.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, L.; HERNÁNDEZ, J.A. Spectrophotometric determination of Allura Red (R40) in soft drink powders using the universal calibration matrix for partial least squares multivariate method. **Analytica Chimica Acta** v.330, p.19-29, 1996.

MOUTINHO, I.L.D.; BERTGES, L.C.; ASSIS, R.V.C. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow n°5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. **Brazilian Journal Biology**, v.67, p.141-145, 2007.

MPOUNTOUKAS, P.; PANTAZAKI, A.; KOSTARELI, E.; CHRISTODOULOU, P.; KARELI, D.; POLILIOUA, S.; MOURELATOS, C.; LAMBROPOULOU, V.; LIALIARIS, T. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. **Food and Chemical Toxicology** v.48, p. 2934-2944, 2010.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**. Fourth Edition - Wiley Interscience (1986).

NEVADO, J.J.B.; CABANILLAS, C.G.; SALCEDO, A.M.C. Simultaneous spectrophotometric determination of three food dyes by using the first derivative ratio spectra. **Talanta**, v.42, p.2043-2051, 1995.

NEVADO, J.J.B.; FLORES, J.R.; LLERENA, M.J.V.; FARIÑAS, N.R. Spectrophotometric determination of tartrazine, patent blue V, and indigo carmine in commercial products by partial least squares and principal component regression methods. **Talanta** v.48, p.895-903, 1999.

NI, Y.; WANG, Y.; KOKOT, S. Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics. **Talanta** v.78, p.432-441, 2009.

NIJVELDT, R.J. *et al.*, Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications, **American Journal Clinical Nutrition.**, v. 74, p. 418-26, 2001.

PESTANA, S.; MOREIRA, M.; OLEJ, B. Safety of ingestion of yellow tartrazina by double-blind placebo controlled challenge in 26 atopic adults. **Allergol Immunopathol (Madr)**,v.38, n.3, p.142-146, 2010.

POLÔNIO, M.L.T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.8, p.1653-1666, 2009.

POUL, M.; JARRY, G.; ELHKIM, M. O.; POUL, J.-M. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. **Food and Chemical Toxicology** v.49, p.443-448, 2009.

PRADO, M.A.; GODOY, H.T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.14, n.2, p.237-250, 2003.

PRADO, M.A.; GODOY, H. T. Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova** v.30, n.2, p.268-273, 2007.

RAEMY, A.; SCHWEIZER, T. F. Thermal behavior of carbohydrates studied by heat flow calorimetry. **Journal of Thermal Analysis**. v.28, p.95-108, 1983.

RAZMARA, R.S.; DANESHFAR, A.; SAHRAI, R. Determination of methylene blue and sunset yellow in wastewater and food samples using salting-out assisted liquid-liquid extraction. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry** v.17, p.533-536, 2011.

SAHRAEI, R.; FARMANY, A.; MORTAZAVI, S.S. A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of tartrazine in food samples. **Food Chemistry** v.138, p.1239-1242, 2013.

SALINAS, F.; NEVADO, J.J.; MANSILLA, A.E. A new spectrophotometric method for quantitative multicomponent analysis resolution of mixtures of salicylic and salicylic acids. **Talanta** v.37, n.3, p.347-351, 1990.

SASAKI, Y.F.; KAWAGUCHI, S.; KAMAYA, A.; OHSHITA, M.; KABASAWA, K.; IWAMA, K.; TANIGUCHI, K.; TSUDA, S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research** v.519, p.103-119, 2002.

SATO, G.S.; CHABARIBERY, D.; MAIA, M.L.; CARVALHO, F.C.; NETO, A.N.; MARQUES, S.A. Agricultura em São Paulo, 39, 1992. Suplemento.

SAYAR, S.; OZDEMIR, Y. First-derivative spectrophotometric determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in confectionery products. **Food Chemistry** v.61, n.3, p.367-372, 1998.

SCHENONE, A. V.; CULZONI, M. J.; MARSILI, N. R.; GOICOECHEA, H. C. Determination of tartrazine in beverage samples by stopped-flow analysis and three-way multivariate calibration of non-linear kinetic-spectrophotometric data. **Food Chemistry** v.138, p. 1928-1935, 2013.

SCHUMANN, S.P.A.; POLÔNIO, M.L.T.; GONÇALVES, C.B. A. Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** Campinas, v.28, n.3, p.534-539, jul.-set. 2008.

SHAWISH, H.M.A.; GHALWA, N.A.; SAADEH, S.M.; EL HARAZEEN, H. Development of novel potentiometric sensors for determination of tartrazine dye concentration in foodstuff products. **Food Chemistry** v.138, p.126-132, 2013.

SILVA, A.P.; ALVES, M.C.C. Como iniciar a validação de métodos analíticos. **ENQUALAB-2006 - Congresso e Feira da Qualidade em Metrologia**, Rede Metrológica do Estado de São Paulo – REMESP. 30 de maio a 01 de junho de 2006, São Paulo, Brasil.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed., LTC Editora, Rio de Janeiro, 2006.

SKOOG, D.A; HOLLER, F.J; CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.

SOLE, D.; JACOB, C.M.A.; PASTORINO, A.P.; NETO, A.P.; BURNS, D.A.; SARINHO, E.S.; PRADO, E.A.; SOARES, F.J.; RIZZO, M.C.V.; SILVA, M.G.N.; RUBINI, N.P. O conhecimento de pediatras sobre alergia alimentar: estudo piloto. **Revista Paulista de Pediatria**, v.25, n.4, p.311-316, 2007.

SOROURADIN, M-H.; ROSTAMI, A.; SAADATI, M. A simple and portable multi-colour light emitting diode based photocolourimeter for the analysis of mixtures of five common food dyes. **Food Chemistry** v.127, p.308-313, 2011.

TAKATA, N.H.; NAKAMURA, N.M.; TAKASHIMA, K. Separação e identificação de corantes para fins alimentícios. Semina. **Ciências Exatas e tecnológicas**, Londrina, v.9 n.4, p.171-174, 1988.

TURAK, F.; OZGUR, M.U. Validated Spectrophotometric Methods for Simultaneous Determination of Food Colorants and Sweeteners. **Journal of Chemistry** p.1-9, 2013.

UNSAI, Y.E.; SOYLAK, M.; TUZEN, M. Column solid-phase extraction of sunset yellow and spectrophotometric determination of its use in powdered beverage and confectionery products. **International Journal of Food Science and Technology** v.47, p.1253-1258, 2012.

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.428, p.516-521, 2006.

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M.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.

VLASE, T.; VLASE, G.; MODRA, D.; DOCA, N. Thermal behaviour of some industrial and food dyes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry** v.88, n.2, p.389-393, 2007.

VOGEL, A.I. Análise química qualitativa. 5.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

VUATAZ, G.; MEUNIER, V.; ANDRIEUX, J. C. TG–DTA approach for designing reference methods for moisture content determination in food powders. **Food Chemistry** v.122, p. 436-442, 2010.

WENDLANDT, W.W. **Thermal analysis**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons, 1986.

ZHANG, J.; GAO, N.; ZHANG, Y. Method Development and Validation for the Determination of Five Synthetic Food Colorants in Alcoholic Beverages by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography Coupled with Diode-Array Detector. **Analytical Letters** v.40, p.3080-3094, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE I

Amostras sintéticas com um corante.

Amostra	m_c / g	m_a / g	$[\] / mg L^{-1}$	A_{AB}	A_{AC}	A_{AT}	A_{V40}	A_{VB}	A_{VP}
1	0,0125	9,9875	1,5625	0,2443	0,0866	0,1206	0,1357	0,0745	0,0542
2	0,0250	9,9750	3,1250	0,4436	0,1794	0,1650	0,1417	0,1349	0,1111
3	0,0375	9,9625	4,6875	0,6757	0,2388	0,2073	0,2006	0,1827	0,1549
4	0,0500	9,9500	6,2500	1,0049	0,2942	0,2994	0,3068	0,2543	0,1794
5	0,0625	9,9375	7,8125	1,1974	0,3688	0,3373	0,3348	0,2872	0,2723
6	0,0750	9,9250	9,3750	1,3625	0,4122	0,3943	0,4136	0,3539	0,2893
7	0,0875	9,9125	10,9375	1,5276	0,4871	0,4563	0,4586	0,3848	0,3524
8	0,1000	9,9000	12,5000	1,9568	0,5662	0,5225	0,5812	0,4794	0,4153
9	0,1125	9,8875	14,0625	2,1140	0,6499	0,5945	0,6801	0,5385	0,4537
10	0,1250	9,8750	15,6250	2,1460	0,7146	0,6455	0,7110	0,6519	0,5090
11	0,1375	9,8625	17,1875	2,1887	0,7869	0,7026	0,7413	0,6564	0,5813
12	0,1500	9,8500	18,7500	2,4362	0,8611	0,7651	0,8400	0,6587	0,5773
13	0,1625	9,8375	20,3125	2,6587	0,9266	0,8308	0,8709	0,7697	0,6255
14	0,1750	9,8250	21,8750	2,7231	1,0146	0,8632	0,9310	0,8126	0,6868
15	0,1875	9,8125	23,4375	2,7992	1,0593	0,9788	1,0808	0,8640	0,7612
16	0,2000	9,8000	25,0000	2,8341	1,1394	1,0427	1,1012	0,9240	0,7869

APÊNDICE II

Amostras sintéticas com dois corantes.

A	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	$[AC] / mg L^{-1}$	$[AT] / mg L^{-1}$	A_{426}	A_{482}
1	0,0125	0,0125	9,9750	1,5625	1,5625	0,1256	0,1041
2	0,0250	0,0125	9,9625	3,1250	1,5625	0,1583	0,1976
3	0,0375	0,0125	9,9500	4,6875	1,5625	0,1674	0,2437
4	0,0500	0,0125	9,9375	6,2500	1,5625	0,2228	0,3323
5	0,0625	0,0125	9,9250	7,8125	1,5625	0,2225	0,3640
6	0,0750	0,0125	9,9125	9,3750	1,5625	0,2830	0,4799
7	0,0875	0,0125	9,9000	10,938	1,5625	0,2677	0,4844
8	0,1000	0,0125	9,8875	12,500	1,5625	0,3358	0,6057
9	0,1125	0,0125	9,8750	14,063	1,5625	0,3517	0,6650
10	0,1250	0,0125	9,8625	15,625	1,5625	0,3541	0,6628
11	0,1375	0,0125	9,8500	17,188	1,5625	0,5408	0,9800
12	0,1500	0,0125	9,8375	18,750	1,5625	0,4010	0,8114
13	0,1625	0,0125	9,8250	20,313	1,5625	0,4736	0,9286
14	0,1750	0,0125	9,8125	21,875	1,5625	0,5205	1,0173
15	0,1875	0,0125	9,8000	23,438	1,5625	0,4945	0,9866
16	0,2000	0,0125	9,7875	25,000	1,5625	0,5775	1,1547

AA	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	$[AC]/mg L^{-1}$	$[AT]/mg L^{-1}$	A_{426}	A_{482}
1	0,0125	0,0125	9,9750	1,5625	1,5625	0,0817	0,0814
2	0,0125	0,0250	9,9625	1,5625	3,1250	0,1647	0,1128
3	0,0125	0,0375	9,9500	1,5625	4,6875	0,2185	0,1273
4	0,0125	0,0500	9,9375	1,5625	6,2500	0,2987	0,1511
5	0,0125	0,0625	9,9250	1,5625	7,8125	0,3439	0,1620
6	0,0125	0,0750	9,9125	1,5625	9,3750	0,3904	0,1738
7	0,0125	0,0875	9,9000	1,5625	10,9375	0,4573	0,1958
8	0,0125	0,1000	9,8875	1,5625	12,5000	0,5393	0,2235
9	0,0125	0,1125	9,8750	1,5625	14,0625	0,6276	0,2449
10	0,0125	0,1250	9,8625	1,5625	15,6250	0,6602	0,2566
11	0,0125	0,1375	9,8500	1,5625	17,1875	0,6805	0,2749
12	0,0125	0,1500	9,8375	1,5625	18,7500	0,7573	0,2805
13	0,0125	0,1625	9,8250	1,5625	20,3125	0,8815	0,3220
14	0,0125	0,1750	9,8125	1,5625	21,8750	0,8781	0,3208
15	0,0125	0,1875	9,8000	1,5625	23,4375	0,8425	0,3085
16	0,0125	0,2000	9,7875	1,5625	25,0000	1,0576	0,3696

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

B	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,0250	9,9625	1,5625	3,1250	0,0479	0,1121
2	0,0250	0,0250	9,9500	3,1250	3,1250	0,2089	0,1885
3	0,0375	0,0250	9,9375	4,6875	3,1250	0,2446	0,2877
4	0,0500	0,0250	9,9250	6,2500	3,1250	0,2815	0,3743
5	0,0625	0,0250	9,9125	7,8125	3,1250	0,2977	0,4379
6	0,0750	0,0250	9,9000	9,3750	3,1250	0,3352	0,5022
7	0,0875	0,0250	9,8875	10,938	3,1250	0,2196	0,5016
8	0,1000	0,0250	9,8750	12,500	3,1250	0,3995	0,6484
9	0,1125	0,0250	9,8625	14,063	3,1250	0,4297	0,6589
10	0,1250	0,0250	9,8500	15,625	3,1250	0,3947	0,6741
11	0,1375	0,0250	9,8375	17,188	3,1250	0,4541	0,7980
12	0,1500	0,0250	9,8250	18,750	3,1250	0,5027	0,8932
13	0,1625	0,0250	9,8125	20,313	3,1250	0,5237	0,9403
14	0,1750	0,0250	9,8000	21,875	3,1250	0,5746	1,0348
15	0,1875	0,0250	9,7875	23,438	3,1250	0,9153	1,0582
16	0,2000	0,0250	9,7750	25,000	3,1250	0,6108	1,1498

BB	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0250	0,0125	9,9625	3,1250	1,5625	0,1390	0,1736
2	0,0250	0,0250	9,9500	3,1250	3,1250	0,2002	0,1846
3	0,0250	0,0375	9,9375	3,1250	4,6875	0,2175	0,1862
4	0,0250	0,0500	9,9250	3,1250	6,2500	0,3304	0,2256
5	0,0250	0,0625	9,9125	3,1250	7,8125	0,4170	0,2504
6	0,0250	0,0750	9,9000	3,1250	9,3750	0,4276	0,2640
7	0,0250	0,0875	9,8875	3,1250	10,938	0,5236	0,2700
8	0,0250	0,1000	9,8750	3,1250	12,500	0,7677	0,3854
9	0,0250	0,1125	9,8625	3,1250	14,063	1,2094	0,5042
10	0,0250	0,1250	9,8500	3,1250	15,625	0,7470	0,3381
11	0,0250	0,1375	9,8375	3,1250	17,188	0,7711	0,3391
12	0,0250	0,1500	9,8250	3,1250	18,750	0,8297	0,3698
13	0,0250	0,1625	9,8125	3,1250	20,313	0,8743	0,3865
14	0,0250	0,1750	9,8000	3,1250	21,875	0,9014	0,3901
15	0,0250	0,1875	9,7875	3,1250	23,438	0,9273	0,3883
16	0,0250	0,2000	9,7750	3,1250	25,000	1,0437	0,4260

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

C	m _{AC} /g	m _{AT} /g	m _A /g	[AC]/mg L ⁻¹	[AT]/mg L ⁻¹	A ₄₂₆	A ₄₈₂
1	0,0125	0,0375	9,9500	1,5625	4,6875	0,2128	0,1189
2	0,0250	0,0375	9,9375	3,1250	4,6875	0,2256	0,1730
3	0,0375	0,0375	9,9250	4,6875	4,6875	0,2684	0,2546
4	0,0500	0,0375	9,9125	6,2500	4,6875	0,5468	0,8569
5	0,0625	0,0375	9,9000	7,8125	4,6875	0,2969	0,3584
6	0,0750	0,0375	9,8875	9,3750	4,6875	0,3757	0,4873
7	0,0875	0,0375	9,8750	10,938	4,6875	0,3221	0,4204
8	0,1000	0,0375	9,8625	12,500	4,6875	0,4222	0,5933
9	0,1125	0,0375	9,8500	14,063	4,6875	0,4460	0,6633
10	0,1250	0,0375	9,8375	15,625	4,6875	0,4852	0,7502
11	0,1375	0,0375	9,8250	17,188	4,6875	0,4989	0,7841
12	0,1500	0,0375	9,8125	18,750	4,6875	0,5137	0,8364
13	0,1625	0,0375	9,8000	20,313	4,6875	0,5201	0,8521
14	0,1750	0,0375	9,7875	21,875	4,6875	0,5615	0,9498
15	0,1875	0,0375	9,7750	23,438	4,6875	0,6350	1,0844
16	0,2000	0,0375	9,7625	25,000	4,6875	0,6417	1,1226

CC	m _{AC} /g	m _{AT} /g	m _A /g	[AT]/mg L ⁻¹	[AC]/mg L ⁻¹	A ₄₂₆	A ₄₈₂
1	0,0375	0,0125	9,9500	4,6875	1,5625	0,1455	0,2048
2	0,0375	0,0250	9,9375	4,6875	3,1250	1,2446	0,5273
3	0,0375	0,0375	9,9250	4,6875	4,6875	0,2568	0,2350
4	0,0375	0,0500	9,9125	4,6875	6,2500	0,3279	0,2637
5	0,0375	0,0625	9,9000	4,6875	7,8125	0,4135	0,2947
6	0,0375	0,0750	9,8875	4,6875	9,3750	0,4263	0,2850
7	0,0375	0,0875	9,8750	4,6875	10,938	0,4907	0,3036
8	0,0375	0,1000	9,8625	4,6875	12,500	0,5851	0,3356
9	0,0375	0,1125	9,8500	4,6875	14,063	0,6823	0,3851
10	0,0375	0,1250	9,8375	4,6875	15,625	0,6881	0,3785
11	0,0375	0,1375	9,8250	4,6875	17,188	0,7350	0,3785
12	0,0375	0,1500	9,8125	4,6875	18,750	0,8477	0,4348
13	0,0375	0,1625	9,8000	4,6875	20,313	0,9410	0,4611
14	0,0375	0,1750	9,7875	4,6875	21,875	0,9348	0,4601
15	0,0375	0,1875	9,7750	4,6875	23,438	1,0450	0,4862
16	0,0375	0,2000	9,7625	4,6875	25,000	1,1187	0,4956

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

D	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,0500	9,9375	1,5625	6,2500	0,2903	0,1483
2	0,0250	0,0500	9,9250	3,1250	6,2500	0,3223	0,2238
3	0,0375	0,0500	9,9125	4,6875	6,2500	0,3361	0,2770
4	0,0500	0,0500	9,9000	6,2500	6,2500	0,3639	0,3529
5	0,0625	0,0500	9,8875	7,8125	6,2500	0,4273	0,4508
6	0,0750	0,0500	9,8750	9,3750	6,2500	0,4421	0,4805
7	0,0875	0,0500	9,8625	10,938	6,2500	0,4664	0,5411
8	0,1000	0,0500	9,8500	12,500	6,2500	0,4808	0,6003
9	0,1125	0,0500	9,8375	14,063	6,2500	0,4996	0,6574
10	0,1250	0,0500	9,8250	15,625	6,2500	0,5877	0,7969
11	0,1375	0,0500	9,8125	17,188	6,2500	0,5931	0,8643
12	0,1500	0,0500	9,8000	18,750	6,2500	0,6066	0,8853
13	0,1625	0,0500	9,7875	20,313	6,2500	0,6552	0,9984
14	0,1750	0,0500	9,7750	21,875	6,2500	0,6521	1,0017
15	0,1875	0,0500	9,7625	23,438	6,2500	0,6963	1,0968
16	0,2000	0,0500	9,7500	25,000	6,2500	0,7365	1,1762

DD	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0500	0,0125	9,9375	6,2500	1,5625	0,1613	0,2808
2	0,0500	0,0250	9,9250	6,2500	3,1250	0,2155	0,2655
3	0,0500	0,0375	9,9125	6,2500	4,6875	0,3407	0,3975
4	0,0500	0,0500	9,9000	6,2500	6,2500	0,3778	0,3447
5	0,0500	0,0625	9,8875	6,2500	7,8125	0,4169	0,3450
6	0,0500	0,0750	9,8750	6,2500	9,3750	0,5164	0,3914
7	0,0500	0,0875	9,8625	6,2500	10,938	0,5425	0,3961
8	0,0500	0,1000	9,8500	6,2500	12,500	0,6278	0,4268
9	0,0500	0,1125	9,8375	6,2500	14,063	0,7534	0,5214
10	0,0500	0,1250	9,8250	6,2500	15,625	0,7199	0,4504
11	0,0500	0,1375	9,8125	6,2500	17,188	0,8447	0,5073
12	0,0500	0,1500	9,8000	6,2500	18,750	0,8571	0,4816
13	0,0500	0,1625	9,7875	6,2500	20,313	0,9968	0,5902
14	0,0500	0,1750	9,7750	6,2500	21,875	0,9315	0,5099
15	0,0500	0,1875	9,7625	6,2500	23,438	1,0389	0,5503
16	0,0500	0,2000	9,7500	6,2500	25,000	1,0707	0,5532

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

E	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,0625	9,9250	1,5625	7,8125	0,3711	0,1580
2	0,0250	0,0625	9,9125	3,1250	7,8125	0,3894	0,2260
3	0,0375	0,0625	9,9000	4,6875	7,8125	0,3971	0,2890
4	0,0500	0,0625	9,8875	6,2500	7,8125	0,4327	0,3699
5	0,0625	0,0625	9,8750	7,8125	7,8125	0,4533	0,4304
6	0,0750	0,0625	9,8625	9,3750	7,8125	0,6483	0,8530
7	0,0875	0,0625	9,8500	10,938	7,8125	0,5731	0,7260
8	0,1000	0,0625	9,8375	12,500	7,8125	0,6032	0,7692
9	0,1125	0,0625	9,8250	14,063	7,8125	0,9633	1,5897
10	0,1250	0,0625	9,8125	15,625	7,8125	0,6467	0,8669
11	0,1375	0,0625	9,8000	17,188	7,8125	0,5846	0,7698
12	0,1500	0,0625	9,7875	18,750	7,8125	0,8069	1,1343
13	0,1625	0,0625	9,7750	20,313	7,8125	0,6419	0,8445
14	0,1750	0,0625	9,7625	21,875	7,8125	0,8143	1,2195
15	0,1875	0,0625	9,7500	23,438	7,8125	0,6987	1,0071
16	0,2000	0,0625	9,7375	25,000	7,8125	0,7340	1,0870

EE	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0625	0,0125	9,9250	7,8125	1,5625	0,2158	0,3348
2	0,0625	0,0250	9,9125	7,8125	3,1250	0,2661	0,3831
3	0,0625	0,0375	9,9000	7,8125	4,6875	0,3712	0,4053
4	0,0625	0,0500	9,8875	7,8125	6,2500	0,3862	0,3982
5	0,0625	0,0625	9,8750	7,8125	7,8125	0,4642	0,4242
6	0,0625	0,0750	9,8625	7,8125	9,3750	0,4933	0,4319
7	0,0625	0,0875	9,8500	7,8125	10,938	0,5972	0,4763
8	0,0625	0,1000	9,8375	7,8125	12,500	0,6586	0,4902
9	0,0625	0,1125	9,8250	7,8125	14,063	0,7167	0,4957
10	0,0625	0,1250	9,8125	7,8125	15,625	0,7991	0,5486
11	0,0625	0,1375	9,8000	7,8125	17,188	0,9503	0,5992
12	0,0625	0,1500	9,7875	7,8125	18,750	1,0017	0,6405
13	0,0625	0,1625	9,7750	7,8125	20,313	0,9948	0,6066
14	0,0625	0,1750	9,7625	7,8125	21,875	0,9974	0,5667
15	0,0625	0,1875	9,7500	7,8125	23,438	1,1279	0,6238
16	0,0625	0,2000	9,7375	7,8125	25,000	1,0922	0,6371

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

F	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,0750	9,9125	1,5625	9,3750	0,4332	0,1968
2	0,0250	0,0750	9,9000	3,1250	9,3750	0,4517	0,2767
3	0,0375	0,0750	9,8875	4,6875	9,3750	0,4701	0,3187
4	0,0500	0,0750	9,8750	6,2500	9,3750	0,5564	0,4788
5	0,0625	0,0750	9,8625	7,8125	9,3750	0,5260	0,4525
6	0,0750	0,0750	9,8500	9,3750	9,3750	0,5936	0,5363
7	0,0875	0,0750	9,8375	10,938	9,3750	0,6240	0,6273
8	0,1000	0,0750	9,8250	12,500	9,3750	0,6113	0,6566
9	0,1125	0,0750	9,8125	14,063	9,3750	0,6381	0,7135
10	0,1250	0,0750	9,8000	15,625	9,3750	0,6571	0,7695
11	0,1375	0,0750	9,7875	17,188	9,3750	0,6997	0,8303
12	0,1500	0,0750	9,7750	18,750	9,3750	0,7416	0,9099
13	0,1625	0,0750	9,7625	20,313	9,3750	0,7399	0,9624
14	0,1750	0,0750	9,7500	21,875	9,3750	0,7190	0,9551
15	0,1875	0,0750	9,7375	23,438	9,3750	0,7600	1,0640
16	0,2000	0,0750	9,7250	25,000	9,3750	0,8108	1,1333

FF	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0750	0,0125	9,9125	9,3750	1,5625	0,2393	0,4248
2	0,0750	0,0250	9,9000	9,3750	3,1250	0,2865	0,4169
3	0,0750	0,0375	9,8875	9,3750	4,6875	0,2889	0,4386
4	0,0750	0,0500	9,8750	9,3750	6,2500	0,3897	0,4341
5	0,0750	0,0625	9,8625	9,3750	7,8125	0,4835	0,4862
6	0,0750	0,0750	9,8500	9,3750	9,3750	0,5927	0,5399
7	0,0750	0,0875	9,8375	9,3750	10,938	0,6830	0,6340
8	0,0750	0,1000	9,8250	9,3750	12,500	0,7037	0,5774
9	0,0750	0,1125	9,8125	9,3750	14,063	0,7174	0,5544
10	0,0750	0,1250	9,8000	9,3750	15,625	0,7910	0,5757
11	0,0750	0,1375	9,7875	9,3750	17,188	0,8599	0,6357
12	0,0750	0,1500	9,7750	9,3750	18,750	0,8732	0,6163
13	0,0750	0,1625	9,7625	9,3750	20,313	0,9523	0,6058
14	0,0750	0,1750	9,7500	9,3750	21,875	1,0419	0,6671
15	0,0750	0,1875	9,7375	9,3750	23,438	1,1296	0,6939
16	0,0750	0,2000	9,7250	9,3750	25,000	1,1939	0,7264

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

G	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,0875	9,9000	1,5625	10,9375	0,5155	0,2152
2	0,0250	0,0875	9,8875	3,1250	10,9375	0,4554	0,2662
3	0,0375	0,0875	9,8750	4,6875	10,9375	0,5630	0,3571
4	0,0500	0,0875	9,8625	6,2500	10,9375	0,4429	0,3980
5	0,0625	0,0875	9,8500	7,8125	10,9375	0,5858	0,4727
6	0,0750	0,0875	9,8375	9,3750	10,9375	0,5289	0,4651
7	0,0875	0,0875	9,8250	10,938	10,9375	0,6847	0,6415
8	0,1000	0,0875	9,8125	12,500	10,9375	0,6910	0,6094
9	0,1125	0,0875	9,8000	14,063	10,9375	0,7720	0,6450
10	0,1250	0,0875	9,7875	15,625	10,9375	0,8084	0,8866
11	0,1375	0,0875	9,7750	17,188	10,9375	0,8003	0,9375
12	0,1500	0,0875	9,7625	18,750	10,9375	0,8344	0,9988
13	0,1625	0,0875	9,7500	20,313	10,9375	0,8388	1,0546
14	0,1750	0,0875	9,7375	21,875	10,9375	0,9082	1,1699
15	0,1875	0,0875	9,7250	23,438	10,9375	0,9408	1,2306
16	0,2000	0,0875	9,7125	25,000	10,9375	0,8735	1,1434

GG	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0875	0,0125	9,9000	10,938	1,5625	0,2568	0,4769
2	0,0875	0,0250	9,8875	10,938	3,1250	0,3185	0,4908
3	0,0875	0,0375	9,8750	10,938	4,6875	0,4015	0,5397
4	0,0875	0,0500	9,8625	10,938	6,2500	0,5282	0,6106
5	0,0875	0,0625	9,8500	10,938	7,8125	0,5007	0,5295
6	0,0875	0,0750	9,8375	10,938	9,3750	0,6151	0,6193
7	0,0875	0,0875	9,8250	10,938	10,938	0,6428	0,6126
8	0,0875	0,1000	9,8125	10,938	12,500	0,6910	0,6094
9	0,0875	0,1125	9,8000	10,938	14,063	0,7720	0,6450
10	0,0875	0,1250	9,7875	10,938	15,625	0,8234	0,6482
11	0,0875	0,1375	9,7750	10,938	17,188	0,9078	0,6890
12	0,0875	0,1500	9,7625	10,938	18,750	0,8503	0,9823
13	0,0875	0,1625	9,7500	10,938	20,313	1,0009	0,6796
14	0,0875	0,1750	9,7375	10,938	21,875	0,2191	0,4716
15	0,0875	0,1875	9,7250	10,938	23,438	1,1676	0,7747
16	0,0875	0,2000	9,7125	10,938	25,000	1,1965	0,7642

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

H	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1000	9,8875	1,5625	12,500	0,5042	0,2050
2	0,0250	0,1000	9,8750	3,1250	12,500	0,4968	0,2656
3	0,0375	0,1000	9,8625	4,6875	12,500	0,5684	0,3395
4	0,0500	0,1000	9,8500	6,2500	12,500	0,6154	0,4122
5	0,0625	0,1000	9,8375	7,8125	12,500	0,6477	0,4885
6	0,0750	0,1000	9,8250	9,3750	12,500	0,6484	0,5370
7	0,0875	0,1000	9,8125	10,938	12,500	0,6742	0,5931
8	0,1000	0,1000	9,8000	12,500	12,500	0,6964	0,6491
9	0,1125	0,1000	9,7875	14,063	12,500	0,7360	0,7316
10	0,1250	0,1000	9,7750	15,625	12,500	0,7554	0,7935
11	0,1375	0,1000	9,7625	17,188	12,500	0,7562	0,8220
12	0,1500	0,1000	9,7500	18,750	12,500	0,8217	0,9242
13	0,1625	0,1000	9,7375	20,313	12,500	0,8731	1,0117
14	0,1750	0,1000	9,7250	21,875	12,500	0,8927	1,0773
15	0,1875	0,1000	9,7125	23,438	12,500	0,8713	1,0709
16	0,2000	0,1000	9,7000	25,000	12,500	0,9133	1,1631

HH	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1000	0,0125	9,8875	12,500	1,5625	0,3040	0,5554
2	0,1000	0,0250	9,8750	12,500	3,1250	0,3590	0,5762
3	0,1000	0,0375	9,8625	12,500	4,6875	0,4098	0,5847
4	0,1000	0,0500	9,8500	12,500	6,2500	0,4683	0,6046
5	0,1000	0,0625	9,8375	12,500	7,8125	0,5509	0,6338
6	0,1000	0,0750	9,8250	12,500	9,3750	0,5591	0,6017
7	0,1000	0,0875	9,8125	12,500	10,938	0,6502	0,6543
8	0,1000	0,1000	9,8000	12,500	12,500	0,6683	0,6262
9	0,1000	0,1125	9,7875	12,500	14,063	0,8389	0,7460
10	0,1000	0,1250	9,7750	12,500	15,625	0,8643	0,7317
11	0,1000	0,1375	9,7625	12,500	17,188	0,9115	0,7407
12	0,1000	0,1500	9,7500	12,500	18,750	0,9984	0,7700
13	0,1000	0,1625	9,7375	12,500	20,313	1,1757	0,8746
14	0,1000	0,1750	9,7250	12,500	21,875	1,0543	0,7669
15	0,1000	0,1875	9,7125	12,500	23,438	1,1498	0,8026
16	0,1000	0,2000	9,7000	12,500	25,000	1,2396	0,8466

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

I	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1125	9,8750	1,5625	14,063	0,6702	0,2776
2	0,0250	0,1125	9,8625	3,1250	14,063	0,6273	0,3114
3	0,0375	0,1125	9,8500	4,6875	14,063	0,6442	0,3737
4	0,0500	0,1125	9,8375	6,2500	14,063	0,7030	0,4800
5	0,0625	0,1125	9,8250	7,8125	14,063	0,7637	0,5780
6	0,0750	0,1125	9,8125	9,3750	14,063	0,7919	0,6265
7	0,0875	0,1125	9,8000	10,938	14,063	0,8596	0,7033
8	0,1000	0,1125	9,7875	12,500	14,063	0,8301	0,7584
9	0,1125	0,1125	9,7750	14,063	14,063	0,8433	0,7926
10	0,1250	0,1125	9,7625	15,625	14,063	0,8306	0,8558
11	0,1375	0,1125	9,7500	17,188	14,063	0,9750	1,0078
12	0,1500	0,1125	9,7375	18,750	14,063	0,9856	1,0604
13	0,1625	0,1125	9,7250	20,313	14,063	1,0612	1,1620
14	0,1750	0,1125	9,7125	21,875	14,063	0,5746	1,0348
15	0,1875	0,1125	9,7000	23,438	14,063	1,0779	1,2775
16	0,2000	0,1125	9,6850	25,000	14,063	1,0773	1,2998

II	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1125	0,0125	9,8750	14,063	1,5625	0,3391	0,4253
2	0,1125	0,0250	9,8625	14,063	3,1250	0,6373	0,8032
3	0,1125	0,0375	9,8500	14,063	4,6875	1,1577	0,8142
4	0,1125	0,0500	9,8375	14,063	6,2500	0,4468	0,6603
5	0,1125	0,0625	9,8250	14,063	7,8125	1,2054	0,9745
6	0,1125	0,0750	9,8125	14,063	9,3750	0,3661	0,7007
7	0,1125	0,0875	9,8000	14,063	10,938	0,6431	0,7393
8	0,1125	0,1000	9,7875	14,063	12,500	0,4080	0,6690
9	0,1125	0,1125	9,7750	14,063	14,063	0,7141	0,7545
10	0,1125	0,1250	9,7625	14,063	15,625	0,8134	0,7271
11	0,1125	0,1375	9,7500	14,063	17,188	0,8539	0,7247
12	0,1125	0,1500	9,7375	14,063	18,750	0,7798	0,7690
13	0,1125	0,1625	9,7250	14,063	20,313	0,9927	0,7859
14	0,1125	0,1750	9,7125	14,063	21,875	0,8962	0,8574
15	0,1125	0,1875	9,7000	14,063	23,438	1,1801	0,8528
16	0,1125	0,2000	9,6850	14,063	25,000	1,2976	0,9309

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

J	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1250	9,8625	1,5625	15,625	0,6423	0,2428
2	0,0250	0,1250	9,8500	3,1250	15,625	0,6169	0,2929
3	0,0375	0,1250	9,8375	4,6875	15,625	0,7128	0,3848
4	0,0500	0,1250	9,8250	6,2500	15,625	0,6935	0,4269
5	0,0625	0,1250	9,8125	7,8125	15,625	0,6929	0,4785
6	0,0750	0,1250	9,8000	9,3750	15,625	0,7451	0,5388
7	0,0875	0,1250	9,7875	10,938	15,625	0,7406	0,5877
8	0,1000	0,1250	9,7750	12,500	15,625	0,8151	0,6945
9	0,1125	0,1250	9,7625	14,063	15,625	0,8751	0,7843
10	0,1250	0,1250	9,7500	15,625	15,625	0,8855	0,8306
11	0,1375	0,1250	9,7375	17,188	15,625	0,9336	0,9159
12	0,1500	0,1250	9,7250	18,750	15,625	1,0548	1,0725
13	0,1625	0,1250	9,7125	20,313	15,625	1,0201	1,0741
14	0,1750	0,1250	9,7000	21,875	15,625	1,0498	1,1494
15	0,1875	0,1250	9,8750	23,438	15,625	0,9565	1,0785
16	0,2000	0,1250	9,6750	25,000	15,625	1,0721	1,2560

JJ	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1250	0,0125	9,8625	15,625	1,5625	0,3889	0,7755
2	0,1250	0,0250	9,8500	15,625	3,1250	0,3964	0,6635
3	0,1250	0,0375	9,8375	15,625	4,6875	0,4782	0,7261
4	0,1250	0,0500	9,8250	15,625	6,2500	0,5720	0,7926
5	0,1250	0,0625	9,8125	15,625	7,8125	0,5277	0,6776
6	0,1250	0,0750	9,8000	15,625	9,3750	0,6451	0,7504
7	0,1250	0,0875	9,7875	15,625	10,938	0,6759	0,7523
8	0,1250	0,1000	9,7750	15,625	12,500	0,7683	0,8087
9	0,1250	0,1125	9,7625	15,625	14,063	0,8160	0,8091
10	0,1250	0,1250	9,7500	15,625	15,625	0,910	0,8502
11	0,1250	0,1375	9,7375	15,625	17,188	1,0183	0,9045
12	0,1250	0,1500	9,7250	15,625	18,750	1,2400	1,0675
13	0,1250	0,1625	9,7125	15,625	20,313	1,0621	0,8800
14	0,1250	0,1750	9,7000	15,625	21,875	0,7007	0,5604
15	0,1250	0,1875	9,8750	15,625	23,438	1,1738	0,9026
16	0,1250	0,2000	9,6750	15,625	25,000	1,3250	0,9933

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

K	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1375	9,8500	1,5625	17,188	0,7203	0,2666
2	0,0250	0,1375	9,8375	3,1250	17,188	0,7380	0,3370
3	0,0375	0,1375	9,8250	4,6875	17,188	0,7803	0,4089
4	0,0500	0,1375	9,8125	6,2500	17,188	0,7872	0,4606
5	0,0625	0,1375	9,8000	7,8125	17,188	0,8163	0,5502
6	0,0750	0,1375	9,7875	9,3750	17,188	0,8668	0,6168
7	0,0875	0,1375	9,7750	10,938	17,188	0,8772	0,6646
8	0,1000	0,1375	9,7625	12,500	17,188	0,9358	0,7570
9	0,1125	0,1375	9,7500	14,063	17,188	0,9419	0,8019
10	0,1250	0,1375	9,7375	15,625	17,188	0,9934	0,9054
11	0,1375	0,1375	9,7250	17,188	17,188	1,0205	0,9595
12	0,1500	0,1375	9,7125	18,750	17,188	1,0548	0,9511
13	0,1625	0,1375	9,7000	20,313	17,188	1,0136	1,0221
14	0,1750	0,1375	9,8750	21,875	17,188	1,0280	1,0710
15	0,1875	0,1375	9,6750	23,438	17,188	1,1207	1,2001
16	0,2000	0,1375	9,6625	25,000	17,188	1,1946	1,3256

KK	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1375	0,0125	9,8500	17,188	1,5625	0,3657	0,7239
2	0,1375	0,0250	9,8375	17,188	3,1250	0,4251	0,7423
3	0,1375	0,0375	9,8250	17,188	4,6875	0,4922	0,7683
4	0,1375	0,0500	9,8125	17,188	6,2500	0,5997	0,8463
5	0,1375	0,0625	9,8000	17,188	7,8125	0,6124	0,8041
6	0,1375	0,0750	9,7875	17,188	9,3750	0,6423	0,7828
7	0,1375	0,0875	9,7750	17,188	10,938	0,7145	0,8235
8	0,1375	0,1000	9,7625	17,188	12,500	0,8652	0,9627
9	0,1375	0,1125	9,7500	17,188	14,063	0,8650	0,8843
10	0,1375	0,1250	9,7375	17,188	15,625	0,9858	0,9569
11	0,1375	0,1375	9,7250	17,188	17,188	0,9900	0,9293
12	0,1375	0,1500	9,7125	17,188	18,750	1,0533	0,9480
13	0,1375	0,1625	9,7000	17,188	20,313	1,0992	0,9512
14	0,1375	0,1750	9,8750	17,188	21,875	1,0863	0,9110
15	0,1375	0,1875	9,6750	17,188	23,438	1,2269	0,9994
16	0,1375	0,2000	9,6625	17,188	25,000	1,2555	0,9866

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

L	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1500	9,8375	1,5625	18,750	0,8883	0,3370
2	0,0250	0,1500	9,8250	3,1250	18,750	0,9148	0,5590
3	0,0375	0,1500	9,8125	4,6875	18,750	0,8578	0,3672
4	0,0500	0,1500	9,8000	6,2500	18,750	0,9480	0,5280
5	0,0625	0,1500	9,7875	7,8125	18,750	0,8827	0,5498
6	0,0750	0,1500	9,7750	9,3750	18,750	0,9326	0,6232
7	0,0875	0,1500	9,7625	10,938	18,750	0,6847	0,6415
8	0,1000	0,1500	9,7500	12,500	18,750	0,9890	0,7673
9	0,1125	0,1500	9,7375	14,063	18,750	1,0177	0,8179
10	0,1250	0,1500	9,7250	15,625	18,750	0,9841	0,8106
11	0,1375	0,1500	9,7125	17,188	18,750	1,3848	1,5950
12	0,1500	0,1500	9,7000	18,750	18,750	1,3035	1,2504
13	0,1625	0,1500	9,8750	20,313	18,750	1,1637	1,0429
14	0,1750	0,1500	9,6750	21,875	18,750	1,1558	1,1318
15	0,1875	0,1500	9,6625	23,438	18,750	1,2092	1,2961
16	0,2000	0,1500	9,6500	25,000	18,750	1,0929	1,0802

LL	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1500	0,0125	9,8375	18,750	1,5625	0,4050	0,8152
2	0,1500	0,0250	9,8250	18,750	3,1250	0,4855	0,8528
3	0,1500	0,0375	9,8125	18,750	4,6875	0,5381	0,8478
4	0,1500	0,0500	9,8000	18,750	6,2500	0,6143	0,8763
5	0,1500	0,0625	9,7875	18,750	7,8125	0,6821	0,9176
6	0,1500	0,0750	9,7750	18,750	9,3750	0,7269	0,9227
7	0,1500	0,0875	9,7625	18,750	10,938	0,7566	0,9041
8	0,1500	0,1000	9,7500	18,750	12,500	0,8481	0,9219
9	0,1500	0,1125	9,7375	18,750	14,063	0,9066	0,9629
10	0,1500	0,1250	9,7250	18,750	15,625	1,1442	1,0999
11	0,1500	0,1375	9,7125	18,750	17,188	1,0175	1,0317
12	0,1500	0,1500	9,7000	18,750	18,750	1,1254	1,0562
13	0,1500	0,1625	9,8750	18,750	20,313	1,1513	1,0396
14	0,1500	0,1750	9,6750	18,750	21,875	1,1337	0,9935
15	0,1500	0,1875	9,6625	18,750	23,438	1,2186	1,0396
16	0,1500	0,2000	9,6500	18,750	25,000	1,4176	1,1312

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

M	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC] / mg L⁻¹	[AT] / mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1625	9,8250	1,5625	20,313	0,8455	0,3143
2	0,0250	0,1625	9,8125	3,1250	20,313	0,8881	0,3800
3	0,0375	0,1625	9,8000	4,6875	20,313	0,8712	0,3943
4	0,0500	0,1625	9,7875	6,2500	20,313	0,9370	0,5197
5	0,0625	0,1625	9,7750	7,8125	20,313	0,9618	0,5856
6	0,0750	0,1625	9,7625	9,3750	20,313	0,9845	0,6283
7	0,0875	0,1625	9,7500	10,938	20,313	1,0049	0,6774
8	0,1000	0,1625	9,7375	12,500	20,313	1,0402	0,7854
9	0,1125	0,1625	9,7250	14,063	20,313	1,0822	0,8574
10	0,1250	0,1625	9,7125	15,625	20,313	1,1052	0,9091
11	0,1375	0,1625	9,7000	17,188	20,313	1,1453	0,9647
12	0,1500	0,1625	9,6875	18,750	20,313	1,1603	1,0510
13	0,1625	0,1625	9,6750	20,313	20,313	1,2997	1,2333
14	0,1750	0,1625	9,6625	21,875	20,313	1,2278	1,1786
15	0,1875	0,1625	9,6500	23,438	20,313	1,1513	1,1715
16	0,2000	0,1625	9,6375	25,000	20,313	1,2866	1,3330

MM	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1625	0,0125	9,8250	20,313	1,5625	0,4420	0,8846
2	0,1625	0,0250	9,8125	20,313	3,1250	0,5302	0,9379
3	0,1625	0,0375	9,8000	20,313	4,6875	0,5835	0,9530
4	0,1625	0,0500	9,7875	20,313	6,2500	0,5769	0,8846
5	0,1625	0,0625	9,7750	20,313	7,8125	0,6419	0,8445
6	0,1625	0,0750	9,7625	20,313	9,3750	0,7380	0,9627
7	0,1625	0,0875	9,7500	20,313	10,938	0,7527	0,9525
8	0,1625	0,1000	9,7375	20,313	12,500	0,8796	0,9929
9	0,1625	0,1125	9,7250	20,313	14,063	0,9141	1,0232
10	0,1625	0,1250	9,7125	20,313	15,625	0,9625	1,0193
11	0,1625	0,1375	9,7000	20,313	17,188	1,0425	1,0703
12	0,1625	0,1500	9,6875	20,313	18,750	1,0804	1,0617
13	0,1625	0,1625	9,6750	20,313	20,313	1,2017	1,1088
14	0,1625	0,1750	9,6625	20,313	21,875	1,2517	1,1262
15	0,1625	0,1875	9,6500	20,313	23,438	1,2446	1,0963
16	0,1625	0,2000	9,6375	20,313	25,000	1,3608	1,1301

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

N	m _{AC} /g	m _{AT} /g	m _A /g	[AC] / mg L ⁻¹	[AT] / mg L ⁻¹	A ₄₂₆	A ₄₈₂
1	0,0125	0,1750	9,8125	1,5625	21,875	1,3079	1,2205
2	0,0250	0,1750	9,8000	3,1250	21,875	0,9043	0,3814
3	0,0375	0,1750	9,7875	4,6875	21,875	0,9264	0,4454
4	0,0500	0,1750	9,7750	6,2500	21,875	0,9833	0,5343
5	0,0625	0,1750	9,7625	7,8125	21,875	1,1561	0,9517
6	0,0750	0,1750	9,7500	9,3750	21,875	1,0707	0,6769
7	0,0875	0,1750	9,7375	10,938	21,875	1,0372	0,7146
8	0,1000	0,1750	9,7250	12,500	21,875	1,1046	0,8073
9	0,1125	0,1750	9,7125	14,063	21,875	1,1211	0,8605
10	0,1250	0,1750	9,7000	15,625	21,875	1,1592	0,9041
11	0,1375	0,1750	9,6875	17,188	21,875	1,1860	1,0015
12	0,1500	0,1750	9,6750	18,750	21,875	1,2033	1,0894
13	0,1625	0,1750	9,6625	20,313	21,875	1,2531	1,1040
14	0,1750	0,1750	9,6500	21,875	21,875	1,2456	1,1414
15	0,1875	0,1750	9,6375	23,438	21,875	1,2531	1,2014
16	0,2000	0,1750	9,6250	25,000	21,875	1,2944	1,2720

NN	m _{AC} /g	m _{AT} /g	m _A /g	[AT]/mg L ⁻¹	[AC]/mg L ⁻¹	A ₄₂₆	A ₄₈₂
1	0,1750	0,0125	9,8125	21,875	1,5625	0,4627	0,9454
2	0,1750	0,0250	9,8000	21,875	3,1250	0,6892	1,0783
3	0,1750	0,0375	9,7875	21,875	4,6875	0,5273	0,8825
4	0,1750	0,0500	9,7750	21,875	6,2500	0,6090	0,9423
5	0,1750	0,0625	9,7625	21,875	7,8125	0,6919	0,9895
6	0,1750	0,0750	9,7500	21,875	9,3750	0,7310	0,9800
7	0,1750	0,0875	9,7375	21,875	10,938	0,8317	1,0490
8	0,1750	0,1000	9,7250	21,875	12,500	0,8436	1,0209
9	0,1750	0,1125	9,7125	21,875	14,063	0,9365	1,0690
10	0,1750	0,1250	9,7000	21,875	15,625	0,9906	1,0798
11	0,1750	0,1375	9,6875	21,875	17,188	1,0253	1,0651
12	0,1750	0,1500	9,6750	21,875	18,750	1,0873	1,1054
13	0,1750	0,1625	9,6625	21,875	20,313	1,0786	1,0352
14	0,1750	0,1750	9,6500	21,875	21,875	1,2391	1,1521
15	0,1750	0,1875	9,6375	21,875	23,438	1,3110	1,2556
16	0,1750	0,2000	9,6250	21,875	25,000	1,4553	1,2821

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

O	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,1875	9,8000	1,5625	23,438	0,8275	0,3055
2	0,0250	0,1875	9,7875	3,1250	23,438	0,9932	0,4128
3	0,0375	0,1875	9,7750	4,6875	23,438	1,0454	0,5029
4	0,0500	0,1875	9,7625	6,2500	23,438	1,0665	0,5772
5	0,0625	0,1875	9,7500	7,8125	23,438	1,1124	0,9368
6	0,0750	0,1875	9,7375	9,3750	23,438	1,1229	0,7131
7	0,0875	0,1875	9,7250	10,938	23,438	1,0922	0,6942
8	0,1000	0,1875	9,7125	12,500	23,438	1,1565	0,7944
9	0,1125	0,1875	9,7000	14,063	23,438	1,1950	0,8757
10	0,1250	0,1875	9,6875	15,625	23,438	1,2982	1,0635
11	0,1375	0,1875	9,6750	17,188	23,438	1,1746	0,9314
12	0,1500	0,1875	9,6625	18,750	23,438	1,1005	0,6312
13	0,1625	0,1875	9,6500	20,313	23,438	1,3206	1,1751
14	0,1750	0,1875	9,6375	21,875	23,438	1,3383	1,2771
15	0,1875	0,1875	9,6250	23,438	23,438	1,3341	1,2604
16	0,2000	0,1875	9,6125	25,000	23,438	1,4463	1,3953

OO	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,1875	0,0125	9,8000	23,438	1,5625	0,9744	0,4761
2	0,1875	0,0250	9,7875	23,438	3,1250	1,0906	0,5819
3	0,1875	0,0375	9,7750	23,438	4,6875	1,0513	0,6151
4	0,1875	0,0500	9,7625	23,438	6,2500	1,0564	0,6777
5	0,1875	0,0625	9,7500	23,438	7,8125	1,0958	0,7734
6	0,1875	0,0750	9,7375	23,438	9,3750	1,0715	0,7902
7	0,1875	0,0875	9,7250	23,438	10,938	1,1445	0,8948
8	0,1875	0,1000	9,7125	23,438	12,500	1,1790	0,9587
9	0,1875	0,1125	9,7000	23,438	14,063	1,1565	1,0139
10	0,1875	0,1250	9,6875	23,438	15,625	1,1802	1,0181
11	0,1875	0,1375	9,6750	23,438	17,188	1,2279	1,1379
12	0,1875	0,1500	9,6625	23,438	18,750	1,2188	1,1954
13	0,1875	0,1625	9,6500	23,438	20,313	1,1898	1,2423
14	0,1875	0,1750	9,6375	23,438	21,875	1,2184	1,2705
15	0,1875	0,1875	9,6250	23,438	23,438	1,3401	1,3959
16	0,1875	0,2000	9,6125	23,438	25,000	1,2499	1,3827

APÊNDICE II (cont.)

Amostras sintéticas com dois corantes.

P	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AC]/mg L⁻¹	[AT]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,0125	0,2000	9,7875	1,5625	25,000	1,0194	0,3551
2	0,0250	0,2000	9,7750	3,1250	25,000	1,0343	0,4165
3	0,0375	0,2000	9,7625	4,6875	25,000	1,1390	0,5354
4	0,0500	0,2000	9,7500	6,2500	25,000	1,0585	0,5443
5	0,0625	0,2000	9,7375	7,8125	25,000	1,1333	0,6171
6	0,0750	0,2000	9,7250	9,3750	25,000	1,0433	0,6263
7	0,0875	0,2000	9,7125	10,938	25,000	1,1205	0,7177
8	0,1000	0,2000	9,7000	12,500	25,000	1,2396	0,8400
9	0,1125	0,2000	9,6875	14,063	25,000	1,2711	0,9113
10	0,1250	0,2000	9,6750	15,625	25,000	1,3077	0,9645
11	0,1375	0,2000	9,6625	17,188	25,000	1,2711	0,9661
12	0,1500	0,2000	9,6500	18,750	25,000	1,3160	1,0990
13	0,1625	0,2000	9,6375	20,313	25,000	1,4135	1,2068
14	0,1750	0,2000	9,6250	21,875	25,000	1,3887	1,1942
15	0,1875	0,2000	9,6150	23,438	25,000	1,3676	1,2280
16	0,2000	0,2000	9,6000	25,000	25,000	1,4530	1,3585

PP	m_{AC}/g	m_{AT}/g	m_A/g	[AT]/mg L⁻¹	[AC]/mg L⁻¹	A₄₂₆	A₄₈₂
1	0,2000	0,0125	9,7875	25,000	1,5625	0,5645	1,0898
2	0,2000	0,0250	9,7750	25,000	3,1250	0,6251	1,1610
3	0,2000	0,0375	9,7625	25,000	4,6875	0,5822	1,0431
4	0,2000	0,0500	9,7500	25,000	6,2500	0,7365	1,1762
5	0,2000	0,0625	9,7375	25,000	7,8125	0,7340	1,0869
6	0,2000	0,0750	9,7250	25,000	9,3750	0,8440	1,1841
7	0,2000	0,0875	9,7125	25,000	10,938	0,9059	1,1834
8	0,2000	0,1000	9,7000	25,000	12,500	0,9376	1,2148
9	0,2000	0,1125	9,6875	25,000	14,063	1,0598	1,2786
10	0,2000	0,1250	9,6750	25,000	15,625	1,0978	1,2532
11	0,2000	0,1375	9,6625	25,000	17,188	1,1207	1,2315
12	0,2000	0,1500	9,6500	25,000	18,750	1,1934	1,2877
13	0,2000	0,1625	9,6375	25,000	20,313	1,2296	1,2550
14	0,2000	0,1750	9,6250	25,000	21,875	1,2944	1,2720
15	0,2000	0,1875	9,6150	25,000	23,438	1,3651	1,3257
16	0,2000	0,2000	9,6000	25,000	25,000	1,4816	1,3947

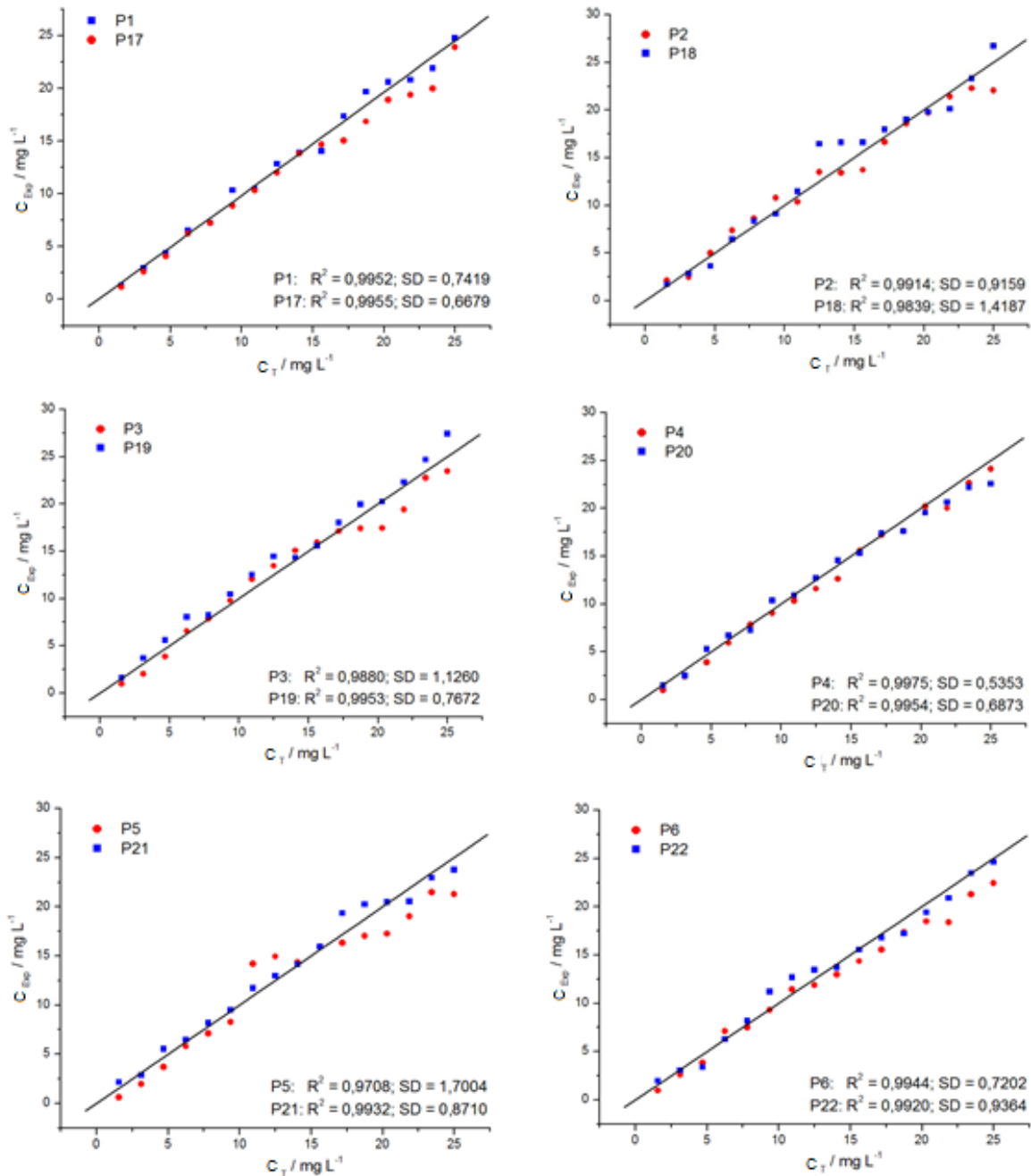
APÊNDICE III

Valores z , w , x , e y utilizados para o cálculo das concentrações dos corantes nas soluções das amostras sintéticas na proporção 1:1 dos corantes AC (C_1) e AT (C_2) e absorvâncias nos respectivos comprimentos de onda máximos.

z	w	A_{482}	A_{426}	[AC]	x	y	[AT]
21,761	7,6644	0,0814	0,0817	1,14582	-7,6644	-21,761	1,1532
20,674	6,9423	0,1846	0,2002	2,42596	-6,9423	-20,674	2,8576
23,021	7,4567	0,2521	0,2896	3,64395	-7,4567	-23,021	4,7862
24,832	7,8450	0,3529	0,3639	5,90873	-7,8450	-24,832	6,2675
24,638	7,7046	0,4304	0,4533	7,11276	-7,7046	-24,638	7,8512
26,368	8,1795	0,5363	0,5936	9,28431	-8,1795	-26,368	11,2666
26,023	8,0407	0,5814	0,6172	10,1677	-8,0407	-26,023	11,3861
25,567	7,8492	0,6815	0,7219	11,7577	-7,8492	-25,567	13,1077
25,054	7,7066	0,7808	0,8320	13,1492	-7,7066	-25,054	14,8288
25,263	7,7298	0,8247	0,8743	14,0766	-7,7298	-25,263	15,7117
25,192	7,6546	0,9547	1,0060	16,3503	-7,6546	-25,192	18,0343
25,114	7,6448	1,0280	1,0852	17,5198	-7,6448	-25,114	19,3956
25,252	7,6357	1,1055	1,1746	18,9465	-7,6357	-25,252	21,2194
24,804	7,3909	1,1414	1,2456	19,1038	-7,3909	-24,804	22,4601
25,469	7,6329	1,2604	1,3341	21,9174	-7,6329	-25,469	24,3580
25,316	7,6967	1,3585	1,4530	23,2084	-7,6967	-27,663	29,7379

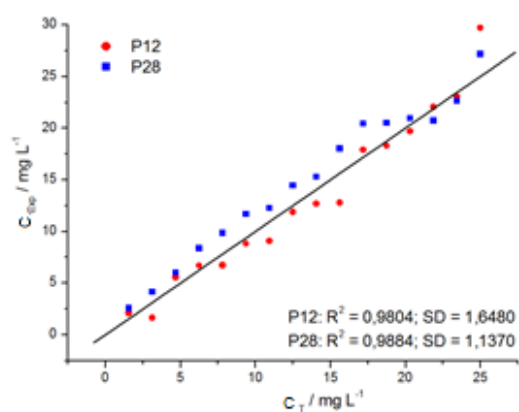
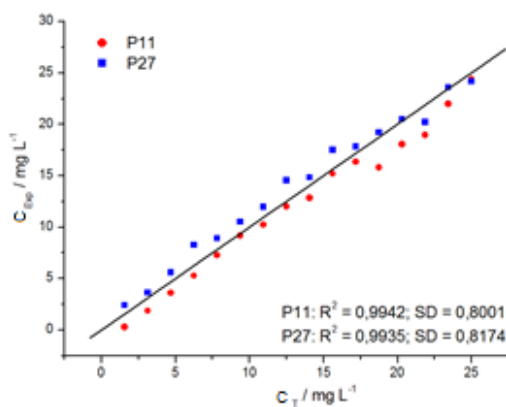
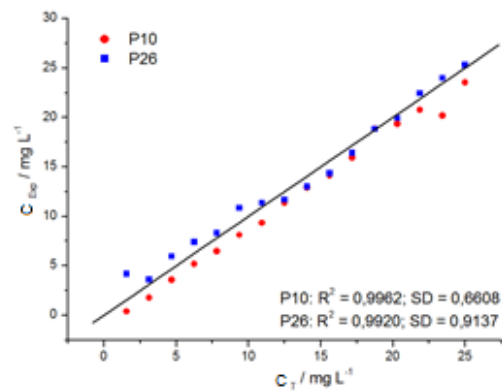
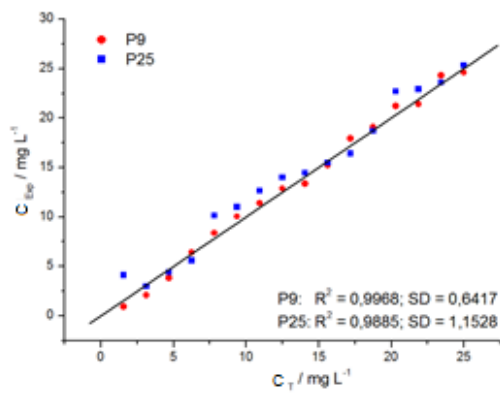
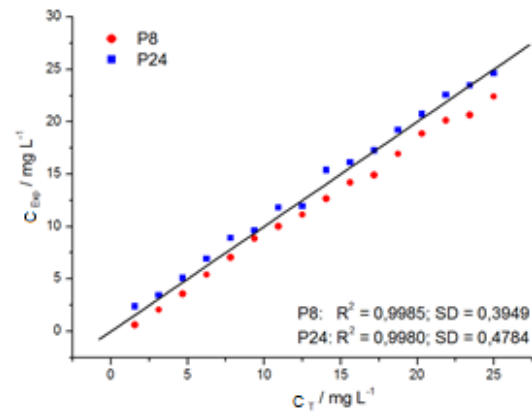
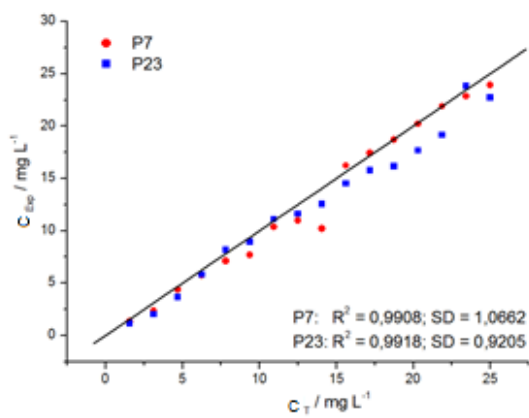
APÊNDICE IV

Comparação entre os valores teóricos e experimentais obtidos pela aplicação das Equações 20 e 21 para a determinação dos corantes AC e AT nas misturas sintéticas.



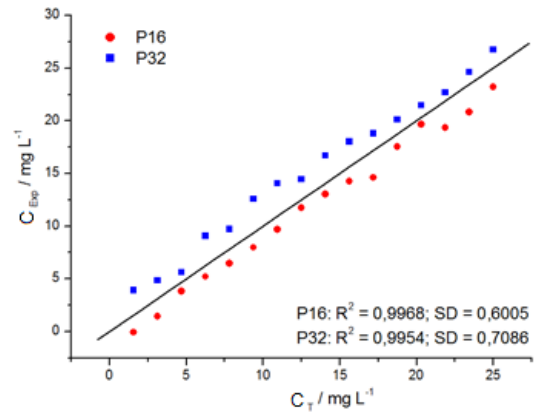
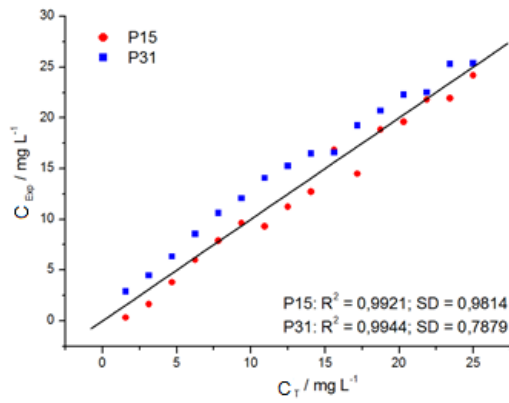
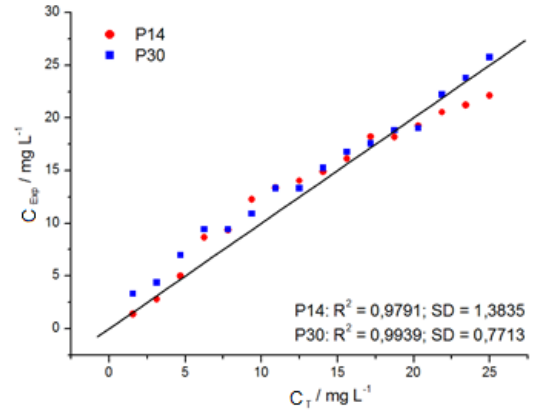
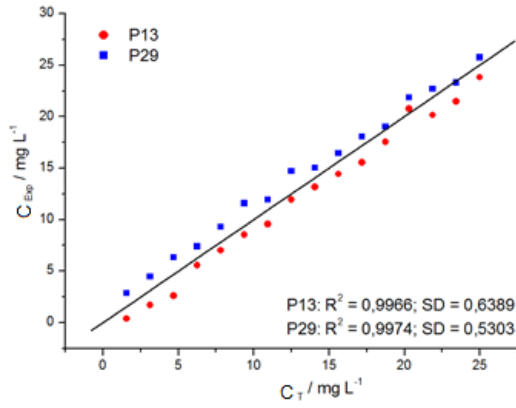
APÊNDICE IV (cont.)

Comparação entre os valores teóricos e experimentais obtidos pela aplicação das Equações 20 e 21 para a determinação dos corantes AC e AT nas misturas sintéticas.



APÊNDICE IV (cont.)

Comparação entre os valores teóricos e experimentais obtidos pela aplicação das Equações 20 e 21 para a determinação dos corantes AC e AT nas misturas sintéticas.



ANEXOS

ANEXO I

Informações contidas nas embalagens dos sucos artificiais em pó.

SABOR	AMOSTRA	LOTE	CORANTES	PESO/g	REND/L	
ABACAXI	AB-03	L01122 B1 1 F1	AC e AT	20	2	
	AB-04	L035	AC e AT	35	1	
	AB-05	L0111	AC e AT	35	1	
	AB-06	L024089	AC e AT	30	1	
	AB-07	L460	AC e AT	10	1	
	AB-08	L00712J83F1	AC e AT	30	1	
	AB-09	L28	AC e AT	20	2	
	AB-10	R9LHOIM	AC e AT	35	1	
	GOIABA	GO-05	L0510	AT, V40 e CIV	35	1
		GO-06	L0233015A	V40 e CIV	30	1
GO-08		L01103J52F1	V40 e CIV	30	1	
GO-10		R3LHOKI	AT, VB e CIV	35	1	
GRAVIOLA	GR-04	L12	AT e CIV	35	1	
	GR-05	L0111	AC e CIV	35	1	
	GR-06	L024010	AT e CIV	30	1	
	GR-08	L00813J62F1	AC, AT e CIV	30	1	
LARANJA	LA-01	L10226J32	AC e AT	10	1	
	LA-02	L023169	AC e AT	10	1	
	LA-03	L10126 B3 3 F1	AC e AT	20	2	
	LA-04	L07	AC e AT	35	1	
	LA-05	L0111	AC e AT	35	1	
	LA-06	L024075 E	AC e AT	30	1	
	LA-08	L00715J53F1	AC, AT e CIV	30	1	
	LA-09	L08	AC e AT	20	2	
	LA-10	L300112HR1LH1B4	AC	35	1	
	LA-11	NI	AC, AT e VB	5	2	
	LIMÃO	LI-03	L00816 B13	AT	20	2
LI-05		L0110	AT	35	1	
LI-06		L024006E	AB e AT	30	1	
LI-08		L10326J42F1	AB e AT	30	1	
LI-09		L06	AT	20	2	
LI-10		R9LH018	AB e AT	35	1	
MANGA	MG-03	L00628J43F1	AC e AT	20	2	
	MG-04	L13	AC e AT	35	1	
	MG-06	L023300E	AC e AT	30	1	
	MG-08	L00719J62F1	AC, AT e CIV	30	1	
MARACUJÁ	MA-01	L10406J33	AC e AT	10	1	
	MA-02	L023148 C	AC e AT	8	1	
	MA-03	L10122J33F1	AC e AT	20	2	
	MA-04	L38	AC e AT	35	1	
	MA-05	L0111	AC e AT	35	1	
	MA-06	L024025	AC e AT	30	1	
	MA-08	L00808J71F1	AC, AT e CIV	30	1	
	MA-10	R9LHOFS	AC e AT	35	1	
	MA-11	NI	AC e AT	5	2	

ANEXO I (cont.)

Informações contidas nas embalagens dos sucos artificiais em pó.

SABOR	AMOSTRA	LOTE	CORANTES	PESO/g	REND/L
MORANGO	MO-03	L00917 B3 1	VB, AT e CIV	20	2
	MO-05	L0111	V40,VB e CIV	35	1
	MO-06	L024011 B	V40 e CIV	30	1
	MO-07	L860	V40, VB e CIV	10	1
	MO-08	L01026J43F1	V40 e CIV	30	1
	MO-09	L03	VB e VP	20	2
	MO-10	R3LHOHR	VP e CIV	35	1
	MO-11	NI	AC e VB	5	2
TANGERINA	TA-01	L01003J31	AC e VB	10	1
	TA-02	L023245 C	AC	10	1
	TA-04	L05	AC e VB	30	1
	TA-05	L0111	AC	35	1
	TA-06	L024092	AC	30	1
	TA-07	L760	AC e VB	10	1
	TA-08	L00808J73F1	AC, AT e VB	30	1
	TA-10	R3LHOG8	AC e AT	35	1
UVA	UV-01	L10206J32	V40, AI e AB	10	1
	UV-02	L023302 C	V40, IN e AB	10	1
	UV-03	L01015 B4 2	V40, VB, IG e AB	20	2
	UV-04	L07	AT, AB, IN e VB	35	1
	UV-05	L0510	VB e AB	35	1
	UV-07	L560	V40 e AB	10	1
	UV-08	L00810J63F1	V40, VB e AB	30	1
	UV-09	L015	VP e IN	20	2
	UV-10	R4LHOF	VP, VB e AB	35	1
	UV-11	NI	AC, V40 e AI	5	2

ANEXO II

Informações contidas nas embalagens dos sucos artificiais em pó (continuação).

AMOSTRA	açúcar	ferro	citrato de sódio	citrato de potássio	fosfato tricálcico	SiO ₂	TiO ₂	ciclâmato de sódio	acesulfame de potássio	sacarina sódica	aspartame
AB-03	X		X		X		X				
AB-04			X		X		X	X	X	X	X
AB-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
AB-06	X		X		X		X	X	X	X	X
AB-07			X		X		X	X	X	X	X
AB-08	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
AB-09	X		X		X		X	X	X	X	X
AB-10		X	X		X		X	X	X		X
GO-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
GO-06			X		X		X		X		X
GO-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
GO-10		X	X		X		X	X	X		X
GR-04		X	X		X		X		X		X
GR-05	X		X		X		X	X	X	X	X
GR-06			X		X		X		X		X
GR-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
LA-01				X	X		X	X	X	X	X
LA-02			X		X		X		X		X
LA-03	X		X		X		X		X		X
LA-04	X	X		X			X		X	X	X
LA-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
LA-06	X		X		X		X		X		X
LA-08		X		X	X		X	X	X	X	X
LA-09	X		X		X		X				
LA-10	X	X	X		X		X		X	X	X
LA-11	X				X						
LI-03	X		X		X		X				
LI-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
LI-06			X		X		X		X	X	X
LI-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
LI-09	X		X		X		X				
LI-10		X	X		X		X	X	X		X

ANEXO II

Informações contidas nas embalagens dos sucos artificiais em pó (continuação).

⊕

AMOSTRA	AÇÚCAR	FERRO	CITRATO DE SÓDIO	CITRATO DE POTÁSSIO	FOSFATO TRICÁLCICO	SiO ₂	THO ₂	CICLAMATO DE SÓDIO	ACESULFAME DE POTÁSSIO	SACARINA SÓDICA	ASPARTAME
MG-03	X				X		X				
MG-04		X	X		X		X	X	X	X	X
MG-06			X		X		X		X		X
MG-08	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
MA-01			X		X		X	X	X	X	X
MA-02			X		X		X		X		X
MA-03	X		X		X		X		X		X
MA-04		X	X		X		X	X	X	X	X
MA-05	X	X	X		X		X		X	X	X
MA-06			X		X		X		X		X
MA-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
MA-10	X	X	X		X		X	X	X	X	X
MA-11	X				X						
MO-03	X				X		X				
MO-04		X	X		X		X	X	X	X	X
MO-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
MO-06			X		X		X		X		X
MO-07			X		X		X	X	X	X	X
MO-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
MO-09	X						X				
MO-10		X	X		X		X	X	X	X	X
MO-11	X				X						
UV-01			X		X		X	X	X	X	X
UV-02	X		X		X		X	X	X		
UV-03	X				X		X				
UV-04		X	X		X		X	X	X	X	X
UV-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
UV-07			X		X		X	X	X	X	X
UV-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
UV-09	X		X		X		X	X	X	X	X
UV-10		X	X		X		X	X	X		X
UV-11	X				X		X	X	X		X

ANEXO II

Informações contidas nas embalagens dos sucos artificiais em pó (continuação).

AMOSTRA	AÇÚCAR	FERRO	CITRATO DE SÓDIO	CITRATO DE POTÁSSIO	FOSFATO TRICALCÍCO	SiO ₂	TiO ₂	CICLAMATO DE SÓDIO	ACESULFAME DE POTÁSSIO	SACARINA SÓDICA	ASPARTAME
TA-01	X		X		X		X	X	X	X	X
TA-02			X		X		X		X		X
TA-04		X	X		X		X	X	X	X	X
TA-05	X	X	X		X		X	X	X	X	X
TA-06			X		X		X		X		X
TA-07			X		X		X	X	X	X	X
TA-08		X	X		X	X	X	X	X	X	X
TA-10	X	X	X		X		X	X	X	X	X

ANEXO III

Quantidade de corante correspondente ao IDA em relação ao peso corpóreo e idade (ANVISA, 2011)

Idade / anos	Peso / Kg	IDA / mg					
		AT	AC	VB	VP	V40	AB
1	10,2	76,5	25,5	5,1	40,8	71,4	102,0
2	12,3	92,3	30,8	6,2	49,2	86,1	123,0
3	14,6	109,5	36,5	7,3	58,4	102,2	146,0
4	16,7	125,3	41,8	8,4	66,8	116,9	167,0
5	18,7	140,3	46,8	9,4	74,8	130,9	187,0
6	20,7	155,3	51,8	10,4	82,8	144,9	207,0
7	22,9	171,8	57,3	11,5	91,6	160,3	229,0
8	25,3	189,8	63,3	12,7	101,2	177,1	253,0
9	28,1	210,8	70,3	14,1	112,4	196,7	281,0
10	31,4	235,5	78,5	15,7	125,6	219,8	314,0
11	35,3	264,8	88,3	17,7	141,2	247,1	353,0
12	39,8	298,5	99,5	19,9	159,2	278,6	398,0
13	45,0	337,5	112,5	22,5	180,0	315,0	450,0
14	50,8	381,0	127,0	25,4	203,2	355,6	508,0
15	56,7	425,3	141,8	28,4	226,8	396,9	567,0
16	62,1	465,8	155,3	31,1	248,4	434,7	621,0
17	66,3	497,3	165,8	33,2	265,2	464,1	663,0
18	68,9	516,8	172,3	34,5	275,6	482,3	689,0

IDA: Ingestão Diária Aceitável