



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LUCAS AFONSO LYRA

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR ESPECTROMETRIA
DE ULTRAVIOLETA/VISÍVEL PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DO
CORANTE ALIMENTÍCIO AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS**

Recife
2022

LUCAS AFONSO LYRA

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR ESPECTROMETRIA
DE ULTRAVIOLETA/VISÍVEL PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DO
CORANTE ALIMENTÍCIO AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial à obtenção do
título de Bacharel em Engenharia
Química.

Orientadora: Profa. Dra. Daniella Carla Napoleão

Recife
2022

LUCAS AFONSO LYRA

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR ESPECTROMETRIA
DE ULTRAVIOLETA/VISÍVEL PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DO
CORANTE ALIMENTÍCIO AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial à obtenção do grau
de Bacharel em Engenharia Química.

Aprovado em: 08/11/2022

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
DANIELLA CARLA NAPOLEÃO
Data: 06/02/2024 12:02:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª. Daniella Carla Napoleão (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
MARTA MARIA MENEZES BEZERRA DUARTE
Data: 06/02/2024 12:34:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª. Marta Maria Menezes Bezerra Duarte (Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
FERNANDA ARAÚJO HONORATO
Data: 06/02/2024 14:03:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª. Fernanda Araújo Honorato (Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lyra, Lucas Afonso.

Validação de metodologia analítica por espectrometria de ultravioleta/visível
para determinação do teor do corante alimentício amarelo tartrazina em alimentos
/ Lucas Afonso Lyra. - Recife, 2022.

35 p. : il., tab.

Orientador(a): Daniella Carla Napoleão

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Engenharia Química -
Bacharelado, 2022.

9,5.

1. Gelatina. 2. Suco em pó. 3. UV/Vis. I. Napoleão, Daniella Carla.
(Orientação). II. Título.

660 CDD (22.ed.)

Aos meus pais, a quem devo meu interesse pelas
ciências exatas e naturais, e que me guiaram e
orientaram durante todo o período da graduação.

AGRADECIMENTOS

Ao **Deus**, Pai todo-poderoso, pelo amor verdadeiro. Pela proteção, sabedoria, conforto e amor eterno. Pela saúde, abundância e privilégio da existência. Por me nutrir, orientar e me mostrar, todos os dias, quão boa é a vida e que eu sou capaz. Quero agradecer por todas as graças concedidas ao longo da vida.

À minha mãe **Silvana Maria Bastos Afonso da Silva**, por todas as horas de conselho e acompanhamento, bem como pelo carinho e compreensão. Agradeço as orações que fizesse por mim, pelos auxílios nos momentos ruins e pela sua alegria durante meus melhores momentos.

Ao meu pai, **Paulo Roberto Maciel Lyra**, meu eterno exemplo de profissional, um homem bastante atencioso que aparenta saber todas as minhas angústias e formas de me sentir mais seguro. Porém mais que tudo, ao me mostrar a humanidade que todo trabalhador necessita ter, e ensinar a me expressar e opinar do modo mais verdadeiro.

À minha irmã, **Julia Afonso Lyra**, uma pessoa organizada, destemida e excelente profissional, a quem guardo muito amor e admiração. Que conquiste todas as alturas e exceda expectativas quanto à carreira de jornalista.

À minha família pela torcida. Pela união e companheirismo em vários momentos e pelo apoio em todas as conquistas de minha vida.

À minha orientadora Profa. **Daniella Carla Napoleão** pelos conhecimentos compartilhados ao longo do trabalho e por ser uma presença constante e amorosa durante todas as vindas ao trabalho. Pela generosidade, companheirismo e por ter me ensinado e auxiliado em vários momentos da minha graduação, e possivelmente para outros trabalhos no futuro.

À Profa. **Yeda Medeiros Bastos de Almeida** por ter incentivado meu interesse na área de Engenharia Química e por ter mostrado vários cursos com os quais posso investir meu tempo e aprimorar meu conhecimento. Agradeço pelas discussões que realizou e/ou intermediou comigo e meus pais, contribuindo para meu crescimento pessoal.

Aos colegas do Laboratório de Engenharia Ambiental e da Qualidade pela convivência. Em especial à **Beatriz Ribeiro** e **Rayany Rocha** pelo auxílio nos experimentos conduzidos e no desenvolvimento da pesquisa. Todos os colegas em geral foram bem receptivos e deram suas ajudas no cotidiano do laboratório. Agradeço pela motivação, conversas e contribuições.

RESUMO

Os aditivos alimentares são ingredientes adicionados intencionalmente aos alimentos durante as operações de produção e processamento, que visam desde melhorar qualidades organolépticas até prolongar a vida útil dos produtos. Dentre os aditivos existentes, estão os corantes alimentícios, que possuem a função de conferir cor. Eles são muito utilizados, principalmente para agregar aos produtos características sensoriais mais agradáveis que atraem os consumidores. O amarelo tartrazina é um corante sintético, utilizado em vários alimentos. No entanto, estudos vêm demonstrando a ocorrência de reações adversas devido ao seu consumo. Dentre as mais comuns estão crises alérgicas e hiperatividade em crianças, podendo ser observado efeito de carcinogeneicidade em alguns casos ao longo prazo. Sendo assim, de modo a atender às legislações existentes e manter a quantidade de corantes dentro de limites seguros para consumo, o controle de qualidade por parte das indústrias de alimentos é indispensável. Para isto a utilização de métodos confiáveis, eficientes e rápidos é de fundamental importância. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi quantificar a concentração do corante alimentício amarelo tartrazina (AT) em amostras de produtos industrializados, utilizando a técnica de espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta visível. Para isto, foi desenvolvida e validada uma metodologia para quantificação do AT, cuja curva analítica foi construída no comprimento de onda (λ) característico do corante. Este foi determinado por meio de uma varredura espectral na faixa de 200-700 nm. Após identificar que o $\lambda = 432$ nm apresentou maior intensidade de absorção para o analito em estudo, passou-se a etapa de validação, onde a princípio foram construídas oito curvas analíticas com oito concentrações diferentes, abrangendo uma faixa linear de 0,5-10 mg·L⁻¹. De posse dos dados de absorbância relacionados a cada concentração e obtidos para cada uma das curvas, foram calculados parâmetros estatísticos como média e desvio-padrão, sendo realizado ainda o teste estatístico de Grubbs. Este mostrou não haver a ocorrência de dados discrepantes e, após isso, com base na média das oito replicatas. Em seguida, passou-se a fase de determinação dos parâmetros de validação, constatando que o método apresentou linearidade maior que 99% ($r = 0,9999$), o qual é descrito pela seguinte equação: $y = 0,0432x + 0,0025$. Além disso, após testes de precisão com base no coeficiente de variação ($\leq 4,15\%$) e testes de exatidão através da recuperação (em torno de 100%), o método pôde ser considerado preciso (capaz de gerar resultados reprodutíveis) e exato (dados gerados próximos ao valor verdadeiro), apresentando ainda limites de detecção e quantificação iguais a 0,05 e 0,15 mg·L⁻¹, respectivamente. Através do método validado, o teor do AT foi determinado em amostras de pó para gelatina, sólido para refresco e suco pronto para bebida. Após a análise de três diferentes lotes destes produtos, verificou-se que todas as amostras estavam de acordo com a legislação, ou seja, não ultrapassavam o valor máximo permitido para o corante em estudo.

Palavras-chave: Gelatina. Suco em pó. UV/Vis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espectro de absorbância do corante amarelo tartrazina obtido através da técnica de espectrofotometria do UV/Vis	23
Figura 2 - Curva para quantificação do corante amarelo tartrazina em amostras de alimentos	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Corantes avaliados em alimentos industrializados usando técnica de espectrofotometria de absorção no ultravioleta/visível	16
Tabela 2 - Soluções a serem avaliadas no teste de exatidão da curva analítica	21
Tabela 3 - Quantificação do corante amarelo nos diferentes produtos e seus respectivos sabores	22
Tabela 4 - Valores da absorbância obtidos para todas as réplicas da curva analítica	24
Tabela 5 - Resultados das médias das absorbâncias com os seus respectivos desvios-padrão e valores obtidos para $G_{<}$ e $G_{>}$ do teste de Grubbs	25
Tabela 6 - Teste da precisão realizado através do coeficiente de variação para todas as concentrações da curva analítica	26
Tabela 7 - Resultados obtidos para o teste de exatidão expresso através da taxa de recuperação (%)	29
Tabela 8 - Quantidade em mg do corante amarelo tartrazina em 1 g do produto alimentício	28

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AT	Amarelo Tartrazina
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
UV	Ultravioleta
Vis	Visível
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IDA	Ingestão Diária de Aditivos
CNS	Conselho Nacional de Saúde
IV	Infravermelho
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
CV	Coeficiente de Variação

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1	ADITIVOS ALIMENTARES	11
2.2	CORANTES ALIMENTÍCIOS	12
2.2.1	Corante amarelo tartrazina	13
2.3	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DE CORANTES ALIMENTÍCIOS.....	14
2.3.1	Espectrofotometria de ultravioleta visível para determinação de corantes..	14
2.4	VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA	17
3.	METODOLOGIA	20
3.1	ANÁLISE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL	20
3.2	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS	20
3.3	QUANTIFICAÇÃO DE AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS	22
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1	ANÁLISE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL E VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	23
4.2	QUANTIFICAÇÃO DE AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS	27
5.	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

A busca por alimentos mais saudáveis tem despertado o interesse de uma parcela significativa da população. Dentre eles estão os sucos naturais de fruta, que são ricos em micronutrientes, ácidos orgânicos, compostos bioativos e fibras, todos eles benéficos à saúde (RAI; MEHROTRA; SHARMA, 2022). Porém, devido à praticidade e conveniência, tem ocorrido uma substituição de alimentos *in natura* por processados, tornando os sucos de fruta industrializados uma das bebidas mais consumidas. Sua popularidade perante consumidores pode estar relacionada à sua disponibilidade, sendo considerada uma alternativa acessível para as bebidas carbonatadas, como os refrigerantes, que estão associados a problemas tais como a obesidade (KAYA; CETINKAYA; OZHAN, 2021).

Os sucos de frutas podem ser produzidos de modo artesanal sem adição de aditivos e conservantes ou a partir de processamentos tecnológicos. Para atender as preferências dos consumidores, houve um aumento nas variantes de processamento dos sucos. A depender da metodologia de processamento eles podem ser classificados, dentre outras formas, em natural, integral, tropical, néctar, refresco e bebida de fruta (MAIA *et al.* 2019).

A grande representatividade do consumo de alimentos industrializados no país tem merecido um destaque maior no que se refere aos aditivos presentes em sua composição. No caso dos sucos industrializados estão presentes acidulantes, reguladores de acidez, conservantes, estabilizantes, edulcorantes, espessantes, aromatizantes e corantes. Segundo estudos, de todos os aditivos utilizados na indústria alimentícia, os corantes são os mais genotóxicos. Em países mais desenvolvidos, por exemplo, foi observado um crescimento da incidência de câncer intestinal, podendo estar diretamente ligado ao consumo excessivo de alimentos com corantes (PEREIRA *et al.* 2020).

A cor é uma das características sensoriais com grande relevância para o consumidor. Muitos alimentos não têm cor própria e, por isto, a utilização dos corantes alimentícios, em função da sua significativa influência, torna sua adição indispensável na formulação dos alimentos industrializados (CORRÊA *et al.*, 2019).

No Brasil, de acordo com as resoluções de número 382 a 388 de 09 de agosto de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o corante amarelo tartrazina está entre os 11 corantes aceitos para consumo. Ele além de estar presente nos sucos artificiais (seja líquido ou em pó para preparo do sabor), pode ser encontrado

também em gelatinas. É considerado um aditivo bastante usado devido ao seu baixo custo, estabilidade e possibilidade de combinação com produtos similares (LEULESCU *et al.* 2018). Destaca-se que corantes sintéticos normalmente não constituem problemas a saúde, desde que se obedeça aos percentuais máximos de ingestão diária aceitável preconizada por órgãos regulamentadores. No entanto, por se tratar de um corante artificial, algumas reações adversas podem ser observadas. Para o corante amarelo tartrazina, foram relatadas reações como: asma, urticárias, problemas no estômago e/ou bexiga (SOUZA *et al.* 2019).

Diante disso, a comercialização de produtos contendo dados corantes tem exigido avaliações sobre algumas de suas propriedades, como solubilidade, reatividade química e estabilidade, mas principalmente sobre a sua toxicidade. Sabendo dos possíveis males que o corante tartrazina pode oferecer à saúde, é importante analisar o seu teor em produtos industrializados, avaliando sua conformidade com a legislação. A este respeito, o controle de qualidade dos corantes tem sido realizado por técnicas de cromatografia, eletroforese, voltametria e espectrofotometria (NTRALLOU; GIKA; TSOCHATZIS, 2020).

Nas técnicas instrumentais de separação como a cromatografia, características como alto custo de investimento e operação, incluindo geralmente a necessidade de preparação de amostra, dificultam a obtenção de uma análise rápida e barata (DASTKHOON *et al.* 2018). Neste caso, métodos espectrofotométricos são mais simples e acessíveis. A espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta visível (UV/Vis) é uma técnica que pode ser utilizada desde a identificação até a quantificação de substâncias que absorvem radiação em comprimentos de onda específicos. A qual tem se mostrado eficiente para determinação de corantes alimentícios (NTRALLOU; GIKA; TSOCHATZIS, 2020).

O desenvolvimento de metodologias confiáveis para análises quantitativas de compostos similares aos corantes é importante. Após ser elaborada uma metodologia para a análise pretendida, ela deve ser avaliada através de alguns parâmetros de validação, a fim de garantir resultados seguros (RAPOSO; IBELLI-BIANCO, 2020). No Brasil, segundo exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre a validação de métodos analíticos, todo método utilizado na rotina de controle de qualidade de produtos deve ser validado. Isto significa que eles devem apresentar evidências documentadas de que é adequado ao uso a que se destina (RIBANI *et al.* 2004).

De um modo geral, com a validação se procura demonstrar que os resultados analíticos para uma amostra expressem qualidade, confiabilidade, rastreabilidade e comparabilidade. Alguns dos parâmetros fundamentais para validação de um método analítico são: linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (RAPOSO; IBELLI-BIANCO, 2020).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo identificar e quantificar a concentração do corante alimentício amarelo tartrazina em amostras de sucos e gelatinas industrializados. A pesquisa terá ainda como objetivos específicos:

- Determinar o comprimento de onda característico do corante amarelo tartrazina através da técnica de espectrofotometria de ultravioleta/visível;
- Construir curva analítica no comprimento de onda determinado;
- Avaliar a confiabilidade analítica da curva a partir da análise dos parâmetros linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação;
- Quantificar por meio da curva analítica validada a concentração do corante tartrazina presente em sucos prontos para consumo, pó de gelatinas e sólidos para refrescos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O ritmo acelerado do dia a dia tem gerado mudanças nos hábitos alimentares da população e feito com que as pessoas prefiram alimentos prontos ou semiprontos, que são mais práticos de serem consumidos. Esta substituição progressiva dos alimentos *in natura* pelos industrializados faz as indústrias buscarem cada vez mais o aprimoramento de seus produtos com o objetivo de satisfazer o consumidor (SOUZA *et al.* 2019). Empresas alimentícias têm utilizado uma variedade de aditivos, que são ingredientes adicionados intencionalmente aos produtos do gênero com a intenção de modificar suas características físico-químicas, biológicas e sensoriais durante as diferentes etapas de fabricação. Sendo assim, eles podem ser os responsáveis por conservar os alimentos; atribuindo, modificando e realçando aspectos como cor, sabor, aroma e textura (PEREIRA *et al.* 2020).

2.1 ADITIVOS ALIMENTARES

Existem, atualmente, cerca de 25 mil aditivos autorizados para uso em alimentos. Todos eles foram considerados seguros pelo *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA), que é um comitê estabelecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização das Nações Unidas (ONU) para agricultura e alimentação (BAYRAM; OZTURKCAN, 2022). No Brasil, a aprovação de um aditivo alimentar se baseia em referências internacionalmente reconhecidas, como o *Codex Alimentarius*, a União Europeia e, de forma complementar, a *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) (BRASIL, 2022).

Segundo Bayram e Ozturkcan (2022) e de acordo com o *Codex Alimentarius*, existe um valor de ingestão diária de aditivos em alimentos (IDA), que é uma medição numérica calculada usando um fator de segurança. Ele garante que se o aditivo for consumido diariamente nesse nível pelo resto da vida de uma pessoa, não haverá “risco significativo à saúde”. No entanto, deve-se atentar para o fato do consumo de alimentos processados ter aumentado anualmente, ultrapassando os valores de IDA aceitáveis. Corantes, aromatizantes, espessantes, emulsificantes, adoçantes e antioxidantes estão entre os aditivos comumente incorporados aos alimentos (PEREIRA *et al.* 2020).

2.2 CORANTES ALIMENTÍCIOS

Os corantes são substâncias capazes de conferir cor onde forem adicionados. Os alimentos possuem suas próprias substâncias corantes, no entanto, fatores extrínsecos como luz e temperatura, podem alterar a estabilidade destes compostos durante etapas de processamento ou armazenamento, interferindo na coloração (CORRÊA *et al.*, 2019). Com isso, como uma estratégia para melhorar a aceitação sensorial de seus produtos, os corantes alimentícios estão entre os aditivos de maior interesse para uso industrial, visto que a coloração tem se tornando um dos principais atrativos para o consumidor. Os fabricantes de produtos alimentícios que possuem corantes em sua composição defendem o seu uso baseado na necessidade de restaurar a cor de um alimento que foi afetada durante o processamento. Estas substâncias são também responsáveis por intensificar e uniformizar a cor do alimento tendo em vista as diferentes procedências da sua matéria-prima ou então de conferir cor aos alimentos incolores (JANG *et al.* 2021; SOUZA *et al.* 2019).

De acordo com a sua origem, os corantes utilizados em comidas e bebidas são classificados em naturais e sintéticos. Os naturais são pigmentos isolados de tecidos orgânicos, tanto vegetais como animais, oriundos do metabolismo microbiano ou de fontes minerais. Já os sintéticos são adquiridos por meio de síntese orgânica, através de processos tecnológicos (PEREIRA *et al.* 2020). Estes podem ser divididos em: 1) corantes-sintéticos artificiais, por não apresentarem qualquer semelhança aos naturais; 2) sintéticos artificiais idênticos a estes, que são constituídos por produtos naturais, iguais ao princípio ativo (SOUZA *et al.* 2019).

Os de origem natural são normalmente mais buscados, no entanto, devido ao seu maior custo e instabilidade, a maioria dos produtores opta por corantes alimentares sintéticos. Estes, além de apresentar menor preço e elevada estabilidade, possuem maior poder de coloração e uniformidade da cor. Além disso, eles suportam um maior processamento do alimento sem degradar e possuem um maior conjunto de utilidades (JANG *et al.* 2021).

Os corantes sintéticos podem ser divididos em classes, sendo elas: azo, trifenilmetanos, indigóides e xantenos (DURAZZO *et al.* 2022). Os azo-corantes estão entre os aditivos mais usados em indústrias. São compostos orgânicos e sintéticos caracterizados por um grupo azo (ligação dupla N=N) em sua estrutura química. Seu perfil altamente estável em alta temperatura e o baixo custo de produção desse tipo de

corante aumenta seu uso em uma variedade de produtos alimentícios (DURAZZO *et al.* 2022; KAYA; CETINKAYA; OZHAN, 2021).

2.2.1 Corante amarelo tartrazina

Um exemplo de azo-corante é a tartrazina, um corante sintético solúvel em água, de cor amarela, amplamente utilizado em vários alimentos. O aditivo possui caráter aniônico, contém dois grupamentos sulfônicos, sendo um azo e um carboxílico. É um composto amplamente utilizado, desde produtos alimentícios, como em cosméticos (batom, pó facial, sombra e base) e medicamentos (cápsula, comprimido e gel). Quando empregado em alimentos, faz parte da composição de sorvetes, doces, sucos, refrigerantes, bebidas alcoólicas, salgadinhos de milho, batatas fritas, goma de mascar e geleia (LEULESCU *et al.* 2018; AL-SHABIB *et al.* 2017).

Embora os corantes sintéticos apresentem uma maior estabilidade, um portfólio variado de cores e sejam comercialmente mais atrativos, seu consumo pode conferir efeitos negativos a saúde humana. Dentre eles estão déficit de atenção, hiperatividade, irritabilidade, insônia, alergias e respostas cancerígenas (ALBUQUERQUE *et al.* 2020). O corante amarelo tartrazina, por exemplo, está relacionado com a hipersensibilidade alimentar, ocasionando certas reações alérgicas e redução da imunidade. Além disso, estudos apontam sintomas de hiperatividade, aumento da quantidade de eosinófilos no sangue, inibição da síntese de tromboxano e múltiplas reações clínicas, tais como urticária, rinite, asma, bronquite e angioedema (OKEKE *et al.* 2022; DARABI *et al.* 2021; SOUZA *et al.* 2019).

Conhecendo os riscos que o corante citado pode proporcionar à saúde, a sua quantificação em produtos industrializados é importante, devendo o seu teor estar em conformidade com a Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988, do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (CNS, 1988). Em sucos, refrescos e pós de gelatina, a legislação preconiza que a quantidade máxima do amarelo tartrazina deve ser de 10 mg/g ou 10 mg/mL. Para monitorar e garantir a qualidade e segurança dos produtos alimentícios, autoridades regulatórias e analisadores de alimentos adotam tecnologias analíticas muito sensíveis e seletivas (NTRALLOU; GIKA; TSOCHATZIS, 2020).

2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DE CORANTES ALIMENTÍCIOS

Na literatura pode ser encontrada uma variedade de estudos de detecção e quantificação de corantes alimentícios, que utilizam desde análises cromatográficas até análises espectrofotométricas. Dentre as técnicas analíticas utilizadas pode-se citar: espectrometria derivativa, espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta/visível (UV/Vis), voltametria de adsorção, polarografia de pulso diferencial, eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia de íons (PALIANSKIKH *et al.* 2022; LEHMKUHLER *et al.* 2022; NTRALLOU; GIKA; TSOCHATZIS, 2020).

A maioria destas técnicas requer etapas de preparação de amostras, como pré-concentração, extração com solvente, destruição da matriz orgânica via combustão de oxigênio por plasma e separação de íons metálicos interferentes. Além disso, tem um tempo de execução relativamente demorado, requerem treinamento específico para serem conduzidas e seus custos de análise são elevados devido aos equipamentos (DASTKHOON *et al.* 2018). Assim, o desenvolvimento de um método analítico relativamente barato e mais rápido é algo relevante. A técnica de espectrofotometria de absorção molecular na região do UV/Vis, por exemplo, é mais simples e apropriada para análises de rotina na indústria. Os corantes alimentícios são compostos que absorvem na região do visível, portanto, a espectrofotometria é suficiente e adequada para análise quantitativa (NTRALLOU; GIKA; TSOCHATZIS, 2020).

2.3.1 Espectrofotometria de ultravioleta visível para determinação de corantes

Existe uma variedade de trabalhos que utilizam diversas técnicas analíticas para detectar e quantificar corantes sintéticos, como é o caso das análises cromatográficas e de espectrofotometria. Esta última quando empregada na região do ultravioleta/visível é tida como a técnica mais utilizada (KHANDARE; GOVINDWAR, 2015).

A espectrofotometria se fundamenta nas interações entre a luz e a matéria. Os métodos envolvendo esta técnica se baseiam na quantidade de radiação produzida, refletida e/ou absorvida por espécies de interesse, sendo classificados de acordo com a região do espectro envolvida na medida: raios X, raios γ , ultravioleta, visível, infravermelho (IV), micro-ondas e radiofrequência (RF) (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

O processo de absorção molecular de energia eletromagnética se dá através da radiação UV e visível, resultante da excitação de elétrons de ligação. Uma vez conhecidos os comprimentos de onda (λ) das bandas de absorção, é possível identificar grupos funcionais (PAIVA *et al.* 2013). Deste modo, a espectrofotometria de absorção se baseia na medida da transmitância (T) ou absorbância (A) de soluções em células transparentes de comprimento b (caminho óptico), conforme Equação 1.

$$A = -\log(T) \quad (1)$$

A concentração do analito presente em dada amostra influencia na quantidade de luz absorvida, pode-se dizer desse modo, que ela está relacionada de forma linear com a absorbância. A Lei de Lambert-Beer representa esta questão, conforme verificação nas Equações 2 e 3 (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

$$A = \log\left(\frac{P_0}{P}\right) \quad (2)$$

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (3)$$

Em que, P_0 é a potência radiante incidente, P é a potência radiante transmitida, ε é a absortividade molar (constante), b é o caminho óptico e ' c ' é a concentração da espécie absorvente.

Para realizar uma análise em equipamento de UV/Vis, um feixe paralelo de luz monocromática, ou seja, atuante sobre um único λ com energia P_0 , incide em um bloco disposto perpendicularmente sobre a superfície. Após percorrer a espessura b deste bloco (geralmente uma cubeta, ou recipiente semelhante), a potência decresce para P . Assim é obtida a medida da transmitância, informando qual a parcela da luz original que consegue transpassar o bloco (PAIVA *et al.* 2013).

A Lei de Lambert-Beer pode ser aplicada a uma mistura de compostos absorventes, conforme visto em substâncias como os corantes (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Caso não exista interação entre as espécies, a absorbância total do sistema pode ser representada pelas Equações 4 e 5.

$$A_{total} = \sum_{i=1}^n A_i \quad (4)$$

$$A_{total} = \sum_{i=1}^n (\varepsilon \cdot b \cdot c)_i \quad (5)$$

Compostos como os corantes, cuja estrutura apresenta vários grupos funcionais, podem ser identificados através desta técnica analítica considerando seus λ característicos ou seu λ de máxima absorbância (GUSMÃO, 2014). É possível verificar o emprego da técnica em diversos trabalhos, como os apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Corantes avaliados em alimentos industrializados usando técnica de espectrofotometria de absorção no ultravioleta/visível

Nome do corante	Matriz alimentar	Comprimento de onda analisado	Referência
Azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina	Gelatinas em pó (sabores pêssego e limão) e suco em pó de frutas cítricas.	400-700 nm (análise de varredura)	Vidotti <i>et al.</i> (2010)
Amarelo de metanila	Pó de açafrão.	420 nm	Arabkhani <i>et al.</i> (2022)
Vermelho 40	Bebida vitaminada sabor morango 'Lifeline'.	510 nm	Smirnova <i>et al.</i> (2021)
Curcumina	Suco de damasco em pó, balas, margarinas, gelatinas, batatas chips, cereais de milho e macarrão.	425 nm	Unsal, Tuzen e Soylak (2019)
Amarelo crepúsculo, vermelho allura e azul brilhante	Geleia, confeito de chocolate e balas.	420, 520 e 635 nm	Heidarizadi e Tabaraki (2016)

Fonte: o autor (2022).

O desenvolvimento de metodologias confiáveis para analisar quantitativamente o teor de corantes em amostras de alimentos é algo importante que precisa ser considerado. Após elaborada, ela precisa ser avaliada por meio de parâmetros de validação, a fim de assegurar os resultados obtidos (RAPOSO; IBELLI-BIANCO, 2020).

2.4 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

O objetivo da validação de um método analítico é garantir que os procedimentos analíticos que serão usados rotineiramente sejam adequados ao propósito pretendido. Em uma validação é necessário demonstrar a qualidade do método analisado, buscando avaliar sua eficiência para determinar a amostra, bem como a confiabilidade dos resultados. Ao validar é investigado se o objetivo do método foi alcançado com um nível de incerteza aceitável (RAPOSO; IBELLI-BIANCO, 2020).

Em caso de validações para métodos não normalizados, o próprio laboratório pode avaliar o método desenvolvido. Ocorrências similares são válidas para métodos utilizados fora do escopo no qual foram concebidos, ou em casos de ampliação e/ou modificação do processo original (INMETRO, 2016). Vale ressaltar que validações se dividem entre àquelas de laboratório (*in house*) e validações completas (*full*). Em ambos os tipos, a análise precisa ser adequada de modo que obtenha a informação desejada no processo (RIBANI *et al.* 2004).

Existem vários documentos, órgãos e normas que tratam da validação de métodos analíticos. No âmbito internacional, as duas organizações principais para avaliação são a *International Conference on Harmonization* (ICH), que define parâmetros e requisitos para cada metodologia, e a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), que organizou um documento técnico utilizado como guia para validar metodologias. De acordo com a *International Organization for Standardization* (ISO), também pode ser observada a norma ISO/IEC 17025, para dados específicos do ensaio e calibração em laboratório, bem como a *United Food and Drug Administration* (US-FDA), que apresenta outro guia para validações. No Brasil, os principais órgãos reguladores são a ANVISA, junto com o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Agências credenciadoras que verificam a qualidade de ensaios de laboratório em conjunção com procedimentos para validar métodos analíticos (RIBANI *et al.* 2004).

Para qualificar métodos de ensaio, são atribuídos parâmetros de desempenho no processo validativo, cada qual seguindo critérios de avaliação com base em qualidades funcionais. Tais parâmetros possuem definições distintas de acordo com a ANVISA e o INMETRO, variando a nomenclatura exigida de acordo com o órgão avaliador. Esse trabalho realiza a validação de acordo com 5 parâmetros definidos pela ANVISA, a

linearidade, precisão, exatidão (nomeado pelo INMETRO como tendência ou recuperação) e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ).

Linearidade é a capacidade do processo analítico, em uma determinada faixa, obter resultados que são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra. Ela pode ser observada por meio de resultados contidos em um gráfico dos ensaios em função das concentrações do analito. Sua verificação ocorre pela regressão linear associada ao método dos mínimos quadrados. A demonstração desse parâmetro pode ser realizada pelo coeficiente de correlação da curva analítica, o qual não pode ser diferente de '1', de acordo com o 'teste t' de *Student*, observando também que a inclinação da reta precisa ser diferente de zero. Ou seja, para demonstrar a linearidade é necessário que o coeficiente de correlação seja estatisticamente igual a um, e que o coeficiente angular seja diferente de zero (HARRIS, 2017; HAGE; CARR, 2012).

A precisão avalia a proximidade entre os resultados obtidos utilizando ensaios preparados com o método analítico proposto. Pode ser expressa a partir da repetibilidade (ou repetitividade), precisão intermediária ou reprodutibilidade (SKOOG *et al.* 2014). Tanto em normas da ANVISA quanto do INMETRO, a precisão é determinada pela razão entre o desvio padrão e a concentração média obtida (desvio padrão relativo) (BRASIL, 2017; INMETRO, 2020).

A exatidão analisa a conformidade da quantidade de analito estimada pelo método com o valor real na amostra. Comumente expressa em forma de tendência, pode ser verificada por diversos métodos como: comparação com material de referência certificado, utilizando ensaios de recuperação e/ou estudo colaborativo (analista-laboratório). São analisadas replicatas do material de referência, comparando-as com os resultados do método a ser validado. É esperado que a diferença entre valores obtidos seja a mínima possível, estabelecendo um nível de confiança para resultados 'oscilantes', a depender do intervalo da curva analítica. O estudo colaborativo, pela sua definição, se trata de um acordo mútuo entre laboratórios e analistas em desenvolver determinado método. É necessário um mínimo absoluto de oito laboratórios ou cinco participantes para conduzir o estudo seguindo normas da validação (HARRIS, 2017; HAGE; CARR, 2012).

O ensaio de recuperação analisa a quantidade do analito recuperada no processo em relação à medição real presente na amostra. A exatidão pode ser expressa como um erro sistêmico, inerente ao processo, presente na diferença entre valores reais e obtidos. Ocorre no ensaio o processo de 'fortificação da amostra', em que soluções com

diferentes concentrações do analito são adicionadas de forma que a concentração da soma seja obtida em seguida (INMETRO, 2020). Sendo assim, determina-se a quantidade percentual recuperada pela Equação 6.

$$R(\%) = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (6)$$

O LD é um parâmetro que representa a menor quantidade do analito que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada no experimento. Este parâmetro pode ser analisado por métodos distintos, como: relação sinal-ruído e parâmetros da curva analítica. No método sinal-ruído, são comparadas as medições de sinais de amostras com baixas concentrações do composto e um branco (matriz sem dado analito). No caso em que se utiliza os parâmetros da curva, o LD pode ser calculado através da Equação 7 (HARRIS, 2017; HAGE; CARR, 2012).

$$LD = 3,3 \left(\frac{s}{S} \right) \quad (7)$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão para a equação da linha de regressão, enquanto S é a inclinação da curva analítica.

O limite de quantificação representa a menor concentração do analito que pode ser quantificada seguindo parâmetros aceitáveis de um procedimento experimental. Os mesmos critérios utilizados no LD podem avaliar o LQ, embora com restrições e quantidades maiores. Ou seja, são comparadas concentrações de amostras com o analito em questão, bem como os sinais destes com amostras em branco, utilizando uma relação de até 10 vezes entre sinais da amostra e do branco. Por fim, também se realiza a validação relacionando a estimativa do desvio padrão (s) com a inclinação da curva (S), seguindo a Equação 8. Os valores devem ser próximos, porém maiores que aqueles do LQ, de modo a validar esse método (HARRIS, 2017; HAGE; CARR, 2012).

$$LQ = 10 \left(\frac{s}{S} \right) \quad (8)$$

3. METODOLOGIA

Neste item está descrita a metodologia empregada para quantificação do corante alimentício amarelo tartrazina. A pesquisa foi segmentada em etapas que envolveram desde a determinação do comprimento de onda característico do corante a ser utilizado para a construção da curva analítica, incluindo a validação proposta da metodologia até a quantificação propriamente dita do aditivo em amostras comerciais de sucos e preparo para gelatinas.

3.1 ANÁLISE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL

Foi preparada uma solução estoque do corante alimentício amarelo tartrazina com concentração de $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Para determinação do λ característico do composto, a solução foi submetida a uma varredura espectral, abrangendo a faixa de 200 a 700 nm. Isto se realizou através da técnica de espectrofotometria de UV/Vis, utilizando um equipamento da *Thermo Scientific*, modelo Genesys.

Em seguida, após identificar o λ , através de diluições da solução estoque foram construídas curvas analíticas com faixa linear de 0,5 até $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Para a validação destas curvas foram determinados os parâmetros linearidade, precisão, exatidão e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), conforme a ANVISA (BRASIL, 2017) e o INMETRO (2020).

3.2 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

A linearidade foi avaliada por meio de oito replicatas das curvas analíticas descritas. De posse dos valores de absorbância obtidos, foram plotados os gráficos das médias *versus* a concentração teórica dos pontos das curvas. O cálculo foi dado com base na equação da regressão linear, obtida a partir do método dos mínimos quadrados. Precedente a esta análise, a inexistência de valores anômalos (*outliers*) para as absorbâncias observadas precisou ser garantida. Isto foi realizado por meio de uma análise estatística dos dados utilizando o teste de Grubbs (GRUBBS; BECK, 1972).

A precisão se expressou por meio da repetibilidade, calculando-se o desvio padrão relativo, denominado também como coeficiente de variação (CV). Dez replicatas independentes sob as mesmas condições de instrumentação, analista e operação foram conduzidas para todas as concentrações das curvas analíticas. O CV foi estimado

através da razão percentual entre o desvio padrão absoluto (σ) das réplicas de cada ponto das curvas e as médias das absorbâncias (A) para todos os pontos (Equação 9).

$$CV(\%) = \frac{\sigma}{A} \times 100 \quad (9)$$

Para a avaliação da exatidão utilizou-se o método da adição padrão, em que foram analisadas soluções do corante com diferentes concentrações. Neste caso, a exatidão foi verificada a partir de nove determinações independentes, que contemplaram diferentes regiões da faixa linear das curvas analíticas. Para isto, a partir de soluções diluídas da mesma solução estoque (1, 2, 5 e 8 mg·L⁻¹), foram preparadas três diferentes soluções (A, B e C mg·L⁻¹), com três replicatas em cada nível, tal como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Soluções a serem avaliadas no teste de exatidão da curva analítica

Soluções	Concentração teórica (mg·L⁻¹)	Concentração experimental (mg·L⁻¹)
A	1 + 2	Cx ₁
	1 + 2	Cy ₁
	1 + 2	Cz ₁
B	1 + 5	Cx ₂
	1 + 5	Cy ₂
	1 + 5	Cz ₂
C	1 + 8	Cx ₃
	1 + 8	Cy ₃
	1 + 8	Cz ₃

* Cx e Cy = concentrações obtidas após a quantificação

Fonte: o autor (2022).

A exatidão das curvas foi expressa com base na relação percentual de recuperação do corante de concentração conhecida que foi adicionada à amostra, dada pela Equação 6 descrita no item 2.4. Os valores de LD e LQ foram estimados a partir de parâmetros da curva analítica construída anteriormente. Os cálculos foram realizados por meio das Equações 7 e 8 (item 2.4), baseando-se no desvio padrão (σ) das absorbâncias obtidas em dez leituras do menor ponto da curva e a sua respectiva inclinação (coeficiente angular da reta) observada na avaliação da linearidade.

3.3 QUANTIFICAÇÃO DE AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS

Foi realizada uma análise quantitativa para determinar o teor do corante amarelo tartrazina presente em pó para gelatina, sólido para refresco e suco pronto para beber. Inicialmente, a seleção desses produtos foi realizada com base na sua formulação, onde o referido corante constava como aditivo em seu rótulo. Uma marca de cada produto e três diferentes sabores foram considerados para o estudo (Tabela 3). Para todas as amostras foram analisados três lotes distintos, adquiridos em supermercados da cidade de Recife/PE.

Tabela 3 - Quantificação do corante amarelo nos diferentes produtos e seus respectivos sabores

Produto	Marca	Sabor
Pó para gelatina	X	Maracujá
		Abacaxi
		Limão
Sólido para refresco	Y	Maracujá
		Abacaxi
		Laranja
Suco pronto para beber	Z	Caju
		Laranja
		Cítrico

Fonte: o autor (2022).

Antes da quantificação, as amostras descritas na Tabela 3 foram preparadas para análise. 4 g de pó para gelatina foram dissolvidos em 100 mL de água destilada e, em seguida, a solução foi diluída na razão 1:10, de modo a obedecer ao limite de linearidade da curva. Da mesma forma, 2,5 g dos sólidos para refresco foram também dissolvidos em água destilada e a solução foi então diluída (1:10). Para o suco pronto para beber, foi realizada a diluição das amostras, de 1:100 para o sabor cítrico e 1:10 para os sabores caju e laranja.

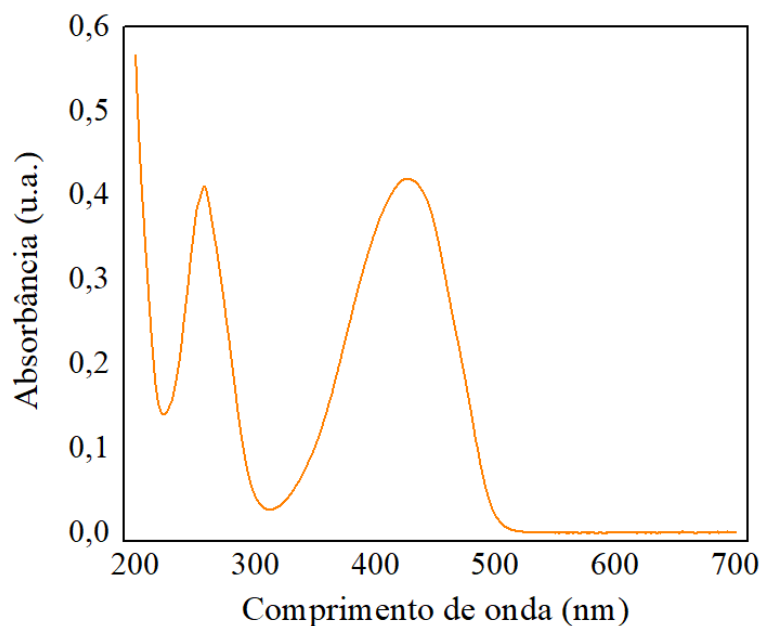
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item estão apresentados os dados experimentais obtidos ao longo da pesquisa. Primeiramente, estão dispostos os resultados da metodologia, que foi capaz de quantificar o corante amarelo tartrazina, cuja validação também foi realizada. Na segunda etapa, determinou-se o teor do aditivo presente em diferentes amostras de alimentos.

4.1 ANÁLISE POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL E VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

Para identificação e seleção do comprimento de onda característico do corante amarelo tartrazina (AT) em solução aquosa, foi realizada uma varredura espectral. O espectro obtido por meio da análise pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 - Espectro de absorbância do corante amarelo tartrazina obtido através da técnica de espectrofotometria do UV/Vis



Fonte: o autor (2022).

De acordo com a Figura 1, verifica-se que o AT absorveu com maior intensidade no λ de 432 nm. Este comprimento é próximo ao valor médio de 428 nm informado na literatura, que é característico da coloração amarela (MELLO *et al.* 2022; PAN *et al.* 2021; POPADIĆ *et al.* 2021; BARIZÃO *et al.* 2020).

Posteriormente, de posse do λ do AT, procurou-se desenvolver uma metodologia confiável para quantificação do corante em diferentes amostras de alimentos. Para isto, na primeira etapa de validação do método, foram preparadas e analisadas oito réplicas de cada ponto da curva analítica, obtendo-se como resposta a absorbância relacionada a cada concentração (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores da absorbância obtidos para todas as réplicas da curva analítica

Conc. (mg·L ⁻¹)	Absorbância							
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5	Curva 6	Curva 7	Curva 8
0,5	0,023	0,023	0,024	0,022	0,023	0,021	0,022	0,022
1	0,049	0,048	0,049	0,044	0,046	0,045	0,046	0,045
2	0,092	0,091	0,091	0,086	0,087	0,091	0,089	0,091
3	0,137	0,136	0,135	0,129	0,125	0,133	0,137	0,129
5	0,226	0,225	0,222	0,212	0,214	0,217	0,222	0,222
7	0,298	0,304	0,304	0,3	0,302	0,303	0,305	0,304
8	0,334	0,347	0,358	0,346	0,336	0,349	0,351	0,358
10	0,427	0,439	0,441	0,43	0,433	0,438	0,439	0,439

* Conc. = Concentração

Fonte: o autor (2022).

A partir dos dados expostos na Tabela 4, foram calculados a média e o desvio padrão das absorbâncias. Em seguida avaliou-se estatisticamente a distribuição dos dados, de modo a detectar e, se necessário, desconsiderar valores discrepantes (*outliers*). Isto foi realizado por meio do teste de Grubbs, conforme as equações 10 e 11.

$$G_{<} = \left(\frac{X_m - X_{i<}}{s} \right) \quad (10)$$

$$G_{>} = \left(\frac{X_m - X_{i>}}{s} \right) \quad (11)$$

Em que, $G_{<}$ e $G_{>}$ correspondem ao teste de Grubbs para o menor e o maior valor medido, respectivamente. X_m é o valor médio, s é a estimativa do desvio padrão, enquanto $X_{i<}$ e $X_{i>}$ dizem respeito ao menor e ao maior valor de absorbância, medidos nesta ordem.

Sendo assim, na Tabela 5 estão apresentados os resultados das médias e o desvio padrão das absorbâncias obtidas para cada concentração das oito réplicas. Além disso, estão ainda expostos os dados da análise do teste de Grubbs.

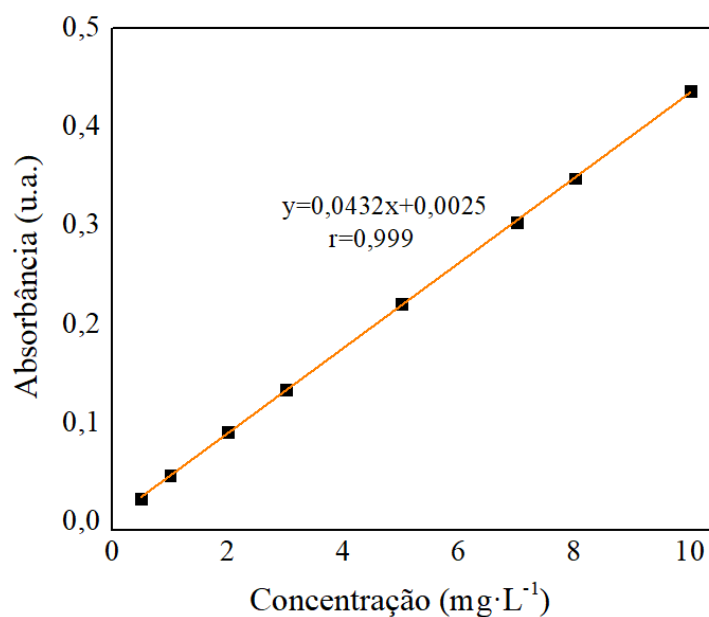
Tabela 5 - Resultados das médias das absorbâncias com os seus respectivos desvios-padrão e valores obtidos para $G_{<}$ e $G_{>}$ do teste de Grubbs

Concentração (mg·L ⁻¹)	Média	Desvio	$G_{<}$	$G_{>}$
0,5	0,023	0,001	0,540	1,620
1	0,047	0,002	1,297	1,297
2	0,090	0,002	1,714	1,029
3	0,133	0,004	1,706	0,979
5	0,220	0,005	1,569	1,177
7	0,303	0,002	1,882	1,046
8	0,347	0,009	1,506	1,197
10	0,436	0,005	1,718	1,031

Fonte: o autor (2022).

Analisando a Tabela 5, verificou-se que os valores calculados de $G_{<}$ e $G_{>}$ são menores que o valor tabelado de 2,032; obtido para oito medições a um nível de 95 % de confiança, tal como preconizado por Grubbs. Sendo assim, construiu-se uma única curva analítica para a quantificação do AT, que pode ser observada através do gráfico de concentração em mg·L⁻¹ *versus* absorbância gerado e apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Curva para quantificação do corante amarelo tartrazina em amostras de alimentos



Fonte: o autor (2022).

Com base na Figura 2, a linearidade da curva foi avaliada através do coeficiente de correlação de Pearson (r). O seu valor atendeu aos padrões recomendados pelos órgãos regulamentadores, encontrando-se superior a 0,90 conforme ordenado pelo INMETRO (INMETRO, 2003) e maior que o valor de 0,99 requerido pela ANVISA (BRASIL, 2003). Diante disso, constatou-se a linearidade do método a ser utilizado para quantificação do AT, atestando que serão gerados resultados linearmente proporcionais à concentração do analito. Em seguida, passou-se à etapa de verificação da precisão.

O parâmetro precisão foi avaliado através do percentual do CV, cujos valores foram determinados com base nos dados de absorbância obtidos para todas as concentrações empregadas das oito replicatas da curva analítica. Os resultados obtidos estão exibidos na Tabela 6.

Tabela 6 - Teste da precisão realizado através do coeficiente de variação para todas as concentrações da curva analítica

Concentração (mg·L⁻¹)	CV (%)	Concentração (mg·L⁻¹)	CV (%)
0,5	4,115	5	2,318
1	4,145	7	0,79
2	2,437	8	2,556
3	3,371	10	1,169

Fonte: o autor (2022).

Por meio da Tabela 6, verifica-se que para todas as concentrações analisadas, o CV(%) foi de no máximo 4,1%. Em todos os casos, os valores estão em concordância com os critérios de aceitação para repetibilidade estabelecidos pelo INMETRO (2020). Este órgão permite percentuais de CV de até 7,3% para concentrações de 10 mg·L⁻¹, podendo inclusive chegar a 11% na concentração de 1 mg·L⁻¹. Portanto, uma vez que os resultados alcançados se encontram bem abaixo dos valores percentuais mencionados, afirma-se que o método empregado é preciso, sendo capaz de gerar resultados reprodutíveis.

Na sequência, a exatidão foi avaliada pela comparação entre os valores de concentração experimentais, com os valores teóricos previstos pelo estudo da adição padrão. O percentual de recuperação e o CV correspondentes às triplicatas das três diferentes determinações realizadas dentro da faixa linear estão presentes na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados obtidos para o teste de exatidão expresso através da taxa de recuperação (%)

Concentração teórica (mg·L ⁻¹)	Recuperação (mg·L ⁻¹)	Recuperação (%)	Recuperação média (%)	CV (%)
1+2	1,52	101,08	99,54	1,55
	1,47	97,99		
	1,49	99,54		
1+5	3,11	103,78	100,95	3,09
	2,93	97,61		
	3,04	101,47		
1+8	4,66	103,65	100,91	2,57
	4,43	98,51		
	4,53	100,57		

Fonte: o autor (2022).

Através da análise da Tabela 7, observa-se que os percentuais de recuperação obtidos para o corante AT variaram entre 97,61 e 103,78%; apresentando um CV de até 3,09%, que foi determinado a partir das triplicatas realizadas. Sendo assim, afirma-se que o método está de acordo com o INMETRO (2020), que estabelece percentuais de recuperação entre 80 e 110%, para concentrações de analito entre 0,5 e 10 mg·L⁻¹. Logo, o método analítico pôde ser considerado exato e, portanto, os dados gerados serão confiáveis e próximos ao valor verdadeiro.

Por fim, foram calculados os limites de detecção e quantificação, que apresentaram valores de 0,05 e 0,15 mg·L⁻¹, respectivamente. Estes resultados indicam que através da curva analítica é possível detectar concentrações do AT acima de 0,05 mg·L⁻¹, no entanto, apenas concentrações iguais ou superiores a 0,15 mg·L⁻¹ podem ser medidas com exatidão.

4.2 QUANTIFICAÇÃO DE AMARELO TARTRAZINA EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS

De posse do método validado, foi avaliada a presença do corante AT em amostras de alimentos e determinada sua concentração. Estas foram previamente preparadas para análise, tal como descrito no item 3.3. As concentrações do corante presente em diferentes lotes de pó para gelatina, sólido para refresco e suco pronto para beber está exposta na Tabela 8.

Tabela 8 - Quantidade em mg do corante amarelo tartrazina em 1 g do produto alimentício

Produto	Sabor	Quant. 1 (mg·g⁻¹)	Quant. 2 (mg·g⁻¹)	Quant. 3 (mg·g⁻¹)
Pó para gelatina	Maracujá	0,33	0,29	0,27
	Abacaxi	0,85	0,32	0,32
	Limão	1,04	1,09	1,12
Sólido para refresco	Maracujá	0,99	1,01	1,67
	Abacaxi	0,55	0,69	0,50
	Laranja	1,39	2,22	1,99
Suco pronto para beber	Caju	0,02	0,03	0,03
	Laranja	0,03	0,03	0,03
	Cítrico	0,09	0,14	0,09

* Quant. = Quantidade

Fonte: o autor (2022).

A partir da Tabela 8, observa-se que em todas as amostras analisadas a quantidade do corante amarelo tartrazina estava de acordo com a legislação brasileira vigente, a qual estipula um valor máximo de 10 mg do aditivo a cada grama ou mL de alimento (CNS, 1988). Dentre os produtos avaliados, no geral, os sólidos para refresco apresentaram um maior teor de corante, chegando a 22,18% do valor máximo permitido (sabor laranja). Ainda com base nos dados expostos na Tabela 8, constata-se em alguns casos uma não uniformidade no uso do corante entre os lotes dos produtos, cuja variação chegou a mais de 60% para o pó de gelatina sabor abacaxi.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu o desenvolvimento de uma metodologia capaz de quantificar o corante amarelo tartrazina em alimentos. O comprimento de onda utilizado para a construção de curva analítica foi determinado por meio de varredura espectral e estava condizente com a faixa de valores informada na literatura. A validação da metodologia foi conduzida com sucesso, onde os parâmetros de validação analisados (linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão) apresentaram resultados em conformidade com as exigências dos órgãos competentes ANVISA e INMETRO. A partir disso, concluiu-se que através do método proposto é possível obter resultados confiáveis, exatos e proporcionais. As análises realizadas com as amostras comerciais de alimentos mostraram que nas categorias, sabores e lotes avaliados o corante amarelo tartrazina estava presente em quantidade inferior ao limite máximo permitido, indicando que as empresas estavam seguindo as normativas estabelecidas.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, B. R.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Could fruits be a reliable source of food colorants? Pros and cons of these natural additives. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 5, p. 1-31, 2020.
- AL-SHABIB, N. A.; KHAN, J. M.; KHAN, M. S.; ALI, M. S., AL-SENAIDY, A. M.; ALSENAIDY, M. A.; HUSAIN F. M.; AL-LOHEDAN, H. A. Synthetic food additive dye “Tartrazine” triggers amorphous aggregation in cationic myoglobin. **International journal of biological macromolecules**, v. 98, p. 277-286, 2017.
- ARABKHANI, S.; POURMOSLEMI, S.; HARCHEGANI, A. L. Rapid determination of metanil yellow in turmeric using a molecularly imprinted polymer dispersive solid-phase extraction and visible light spectrophotometry. **Food Chemistry**, v. 380, p. 132120, 2022.
- BARIZÃO, A. C. L.; SILVA, M. F.; ANDRADE, M.; BRITO, F. C.; GOMES, R. G.; BERGAMASCO, R. Green synthesis of iron oxide nanoparticles for tartrazine and bordeaux red dye removal. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 1, p. 103618, 2020.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 166, de 24 de julho de 2017. **Critérios para a validação de métodos analíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 25 de julho de 2017.
- BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Resolução nº 04, de 24 de novembro de 1988. Diário Oficial da União, Brasília, 19 de dezembro de 1988.
- BAYRAM, H. M.; OZTURKCAN, A. Intake and risk assessment of nine priority food additives in Turkish adults. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 114, p. 104710, 2022.
- COELHO, T. M.; VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C.; MEDINA, A. N.; BAESSO, M. L.; CELLA, N.; BENTO, A. C. Photoacoustic spectroscopy as a tool for determination of food dyes: comparison with first derivative spectrophotometry. **Talanta**, v. 81, n. 1-2, p. 202-207, 2010.
- CORRÊA, R. C. G.; GARCIA, J. A. A.; CORREA, V. G.; VIEIRA, T. F.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. Pigments and vitamins from plants as functional ingredients: Current trends and perspectives. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 90, p. 259-303, 2019.
- DARABI, R.; SHABANI-NOOSHABADI, M. NiFe₂O₄-rGO/ionic liquid modified carbon paste electrode: An amplified electrochemical sensitive sensor for determination of Sunset Yellow in the presence of Tartrazine and Allura Red. **Food Chemistry**, v. 339, p. 127841, 2021.

DASTKHOON, M.; GHAEDI, M.; ASFARAM, A.; JANNESAR, R.; SADEGHFAR, F. Magnetic based nanocomposite sorbent combination with ultrasound assisted for solid-phase microextraction of Azure II in water samples prior to its determination spectrophotometric. **Journal of colloid and interface science**, v. 513, p. 240-250, 2018.

DURAZZO, A.; CAROCHO, M.; HELENO, S.; BARROS, L.; SOUTO, E. B.; SANTINI, A.; LUCARINI, M. Food dyes and health: literature quantitative research analysis. **Measurement: Food**, v. 7, p. 100050, 2022.

GRUBBS, F. E.; BECK, G. Extension of sample sizes and percentage points for significance tests of outlying observations. **Technometrics**, v. 14, n. 4, p. 847-854, 1972.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 9a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2017.

HAGE, D. S.; CARR, J. D. **Química analítica e análise quantitativa**. 1a ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2012.

HEIDARIZADI, E.; TABARAKI, R. Simultaneous spectrophotometric determination of synthetic dyes in food samples after cloud point extraction using multiple response optimizations. **Talanta**, v. 148, p. 237-246, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA – (INMETRO). **DOC-CGCRE-008** Orientação sobre validação de métodos analíticos. 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA – (INMETRO). **DOC-CGCRE-008** Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 05, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA – (INMETRO). **DOC-CGCRE-008** Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 09, 2020.

JANG, G. W.; CHOI, S. I.; CHOI, S. H.; HAN, X.; MEN, X.; KWON, H. Y.; CHOI, Y. E.; LEE, O. H. Method validation of 12 kinds of food dye in chewing gums and soft drinks, and evaluation of measurement uncertainty for soft drinks. **Food Chemistry**, v. 356, p. 129705, 2021.

KAYA, S. I.; CETINKAYA, A.; OZKAN, S. A. Latest advances on the nanomaterial-based electrochemical analysis of azo toxic dyes Sunset Yellow and Tartrazine in food samples. **Food and Chemical Toxicology**, v. 156, p. 112524, 2021.

KHANDARE, R. V.; GOVINDWAR, S. P. Phytoremediation of textile dyes and effluents: Current scenario and future prospects. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 8, p. 1697-1714, 2015.

LEHMKUHLER, A.; MILLER, M. D.; BRADMAN, A.; CASTORINA, R.; CHEN, M. A.; XIE, T.; MITCHELL, A. E. Levels of FD&C Certified Food Dyes in Foods Commonly Consumed by Children. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 112, p. 104649, 2022.

LEULESCU, M.; ROTARU, A.; PĂLĂRIE, I.; MOANȚĂ, A.; CIOATERĂ, N.; POPESCU, M.; MORINTALE, E.; BUBULICA, M. V.; FLORIAN, G.; HARABOR, A.; ROTARU, P. Tartrazine: Physical, thermal and biophysical properties of the most widely employed synthetic yellow food-coloring azo dye. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, n. 1, p. 209-231, 2018.

MAIA, G. A.; SILVA, L. M. R.; PRADO, G. M.; FONSECA, A. V. V.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W. Development of mixed beverages based on tropical fruits. **Non-alcoholic Beverages**, v. 6, p. 129-162, 2019.

MELLO, J. R.; MACHADO, T. S.; CRESTANI, L.; ALESSANDRETTI, I.; MARCHEZI, G.; MELARA, F.; MIGNONI, M. L.; PICCIN, J. S. Synthesis, characterization and application of new adsorbent composites based on sol-gel/chitosan for the removal of soluble substance in water. **Heliyon**, v. 8, n. 5, e09444, 2022.

NTRALLOU, K.; GIKA, H.; TSOCHATZIS, E. Analytical and sample preparation techniques for the determination of food colorants in food matrices. **Foods**, v. 9, n. 1, p. 58, 2020.

OKEKE, E. S.; EZEORBA, T. P. C.; OKOYE, C. O.; CHEN, Y.; MAO, G.; FENG, W.; WU, X. Analytical detection methods for azo dyes: A focus on comparative limitations and prospects of bio-sensing and electrochemical nano-detection. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 114, p. 104778, 2022.

PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. 4a ed. São Paulo: Cengage Learning, 2013.

PALIANSKIKH, A. I.; SYCHIK, S. I.; LESCHEV, S. M.; PLIASHAK, Y. M.; FIODARAVA, T. A.; BELYSHAVA, L. L. Development and validation of the HPLC-DAD method for the quantification of 16 synthetic dyes in various foods and the use of liquid anion exchange extraction for qualitative expression determination. **Food Chemistry**, v. 369, p. 130947, 2022.

PAN, Y.; DONG, Z.; PAN, Y.; ZHANG, Y. Nitrilotriacetic acid enhanced UV/Fe⁰/H₂O₂ process for salty wastewater treatment at neutral pH. **Water Cycle**, v. 2, p. 91-100, 2021.

PEREIRA, J. M. G.; FORMIGONI, M.; VIELL, F. L. G.; PANTE, G. C.; BONA, E.; VIEIRA, A. M. S. **Aditivos alimentares naturais emergentes: Uma revisão**. In: Realidades e Perspectivas em Ciência dos Alimentos, Nogueira, W. V. Pantanal Editora: Nova Xavantina, Brazil, p. 46-84, 2020.

POPADIĆ, M. G.; MARINOVIĆ, S. R.; MUDRINIĆ, T. M.; MILUTINOVIĆ-NIKOLIĆ, A. D.; BANKOVIĆ, P. T.; ĐORĐEVIĆ, I. S.; JANJIĆ, G. V. A novel approach in revealing mechanisms and particular step predictors of pH dependent

tartrazine catalytic degradation in presence of Oxone. **Chemosphere**, v. 281, p. 130806, 2021.

RAI, P.; MEHROTRA, S.; SHARMA, S. K. Challenges in assessing the quality of fruit juices: Intervening role of biosensors. **Food Chemistry**, p. 132825, 2022.

RAPOSO, F.; IBELLI-BIANCO, C. Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 129, p. 115913, 2020.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

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

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de química analítica**. 9a ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

SMIRNOVA, S. V.; LYSKOVTSEVA, K. A.; PLETNEV, I. V. Extraction and determination of synthetic food dyes using tetraalkylammonium based liquid-liquid extraction. **Microchemical Journal**, v. 162, p. 105833, 2021.

SOUZA, B. A.; PIAS, K. K. S.; BRAZ, N. G.; BEZERRA, A. S. Aditivos Alimentares: Aspectos Tecnológicos e Impactos na Saúde Humana. **Revista Contexto & Saúde**, v. 19, n. 36, p. 5-13, 2019.

UNSAL, Y. E.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Ultrasound-assisted ionic liquid-dispersive liquid-liquid of curcumin in food samples microextraction and its spectrophotometric determination. **Journal of AOAC International**, v. 102, n. 1, p. 217-221, 2019.