



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA**

MARIA EDUARDA BEZERRA COUTINHO

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA SUSTENTÁVEL PARA**  
**QUANTIFICAÇÃO DO CORANTE ARTIFICIAL VERMELHO ALLURA AC EM**  
**BALAS ALIMENTÍCIAS**

RECIFE

2024

MARIA EDUARDA BEZERRA COUTINHO

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA SUSTENTÁVEL PARA  
QUANTIFICAÇÃO DO CORANTE ARTIFICIAL VERMELHO ALLURA AC EM  
BALAS ALIMENTÍCIAS**

Monografia apresentada ao Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Licenciada em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jandyson Machado Santos.

Coorientadora: MSc. Bruna Ramos de Souza Gomes.

RECIFE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

C871d Coutinho, Maria Eduarda Bezerra  
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA SUSTENTÁVEL PARA  
QUANTIFICAÇÃO DO CORANTE ARTIFICIAL VERMELHO ALLURA AC EM BALAS ALIMENTÍCIAS  
/ Maria Eduarda Bezerra  
Coutinho. - 2024.  
48 f.  
  
Orientador: Jandyson Machado Santos.  
Coorientadora: Bruna Ramos de Souza  
Gomes. Inclui referências.  
  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura  
em Química, Recife, 2024.  
  
1. Corante Vermelho allura Ac. 2. balas alimentícias. 3. quantificação. 4. espectrofotometria. 5. Química  
Verde. I. Santos, Jandyson Machado, orient. II. Gomes, Bruna Ramos de Souza. Título

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA SUSTENTÁVEL PARA  
QUANTIFICAÇÃO DO CORANTE ARTIFICIAL VERMELHO ALLURA AC EM  
BALAS ALIMENTÍCIAS**

Monografia apresentada ao Departamento de  
Química da Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, como parte dos requisitos para a  
obtenção do título de Licenciada em Química.

APROVADA EM: 04/03/2024

**Banca Examinadora**

---

Orientador (a) – Prof. Dr. Jandyson Machado Santos  
(DQ/UFRPE)

---

Nome do (a) Primeiro Avaliador (a) – Dra. Lidiane Macedo Alves de Lima  
(DQ/UFRPE)

---

Nome do (a) Segundo Avaliador (a) – Prof. Dr. André Augusto Pimentel Liesen Nascimento  
(DQ/UFRPE)

RECIFE

2024

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por permitir que eu tenha saúde e força para que eu pudesse trilhar o meu caminho, seguindo os seus princípios.

À minha família, minha mãe, Josilene e meu pai Jorge, por todo amor incondicional e apoio diante de tantas batalhas diárias durante esses 5 anos de graduação. Obrigada por sempre acreditarem em mim.

À Lucas, meu namorado, é um privilégio tê-lo em minha vida, obrigada por todo apoio, paciência e companheirismo, amo muito você e toda a construção dos nossos sonhos, com muito amor e parceria.

Um agradecimento especial ao meu orientador, professor Dr. Jandyson, pela oportunidade em integrar o grupo PEM e acreditar sempre no meu potencial, é uma realização pessoal e profissional ser orientada por um educador tão presente e assertivo.

À minha coorientadora M.a. Bruna, por todos os ensinamentos, direcionamentos e contribuições nesses 2 anos e 4 meses que participei da Iniciação Científica, seu apoio foi fundamental para a minha trajetória. Faça chuva ou faça sol, você sempre esteve presente.

À minha universidade, UFRPE, a ruralinda que me fez ser quem sou hoje, é um privilégio ter a oportunidade de estudar nessa instituição, com corpo docente brilhante.

Agradecimento ao CNPq e FACEPE (PROCESSO Nº BIC-1055-1.06/23), pelo apoio de bolsa de Iniciação Científica.

Aos pesquisadores dos laboratórios: LABMAQ e LaMTESA e o Grupo de Pesquisa em Petróleo, Energia e Espectrometria de Massas (PEM), pelos ensinamentos e apoio.

Aos meus amigos da graduação que estiveram comigo, principalmente: Isabelle, Islla, Mirian, Eduarda Andrade, Ana Carolina, Micherlane, Ryan e José, vocês foram essenciais nessa jornada.

As minhas amigas, Juliana e Gabriella, por todo companheirismo em tantos anos de amizade e momentos únicos que vivemos.

Agradeço aos meus amigos Jonas, Almir e Matheus por partilharmos momentos juntos na graduação e a vitória da aprovação no mestrado em Química na UFRPE.

*“Ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção”.*

- Paulo Freire

## RESUMO

No Brasil, estima-se que cerca de 8% das crianças menores de 3 anos possuem alergias alimentares, ocasionadas pela resposta inflamatória após a ingestão de determinados alimentos, especialmente os doces. Esse efeito nocivo pode estar associado a presença de corantes artificiais, como o Vermelho allura Ac (INS-129), que é comumente adicionado em balas alimentícias. Assim, as indústrias devem seguir as normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), uma vez que o excesso da Ingestão Diária Aceitável (IDA) desse corante pode ocasionar potenciais riscos adversos, como reações de hipersensibilidade, semelhantes à alergia, hiperatividade em crianças, assim como o risco de desenvolvimento de doenças inflamatórias no intestino, sendo importante desenvolver métodos para quantificar esse corante em alimentos. Diante dessa problemática, objetiva-se desenvolver uma metodologia analítica sustentável capaz de realizar a determinação e quantificação do corante Vermelho allura Ac em balas alimentícias, por meio de um método simples, de fácil execução e economicamente acessível, utilizando a técnica de Espectrofotometria UV-Vis. Ao realizar as análises experimentais, foram obtidas as curvas analíticas com soluções padrões do corante Vermelho allura Ac, onde foi constatado a relação da intensidade da coloração em decorrência do aumento da concentração do analito, sendo obtido então, correlação linear entre absorvância *versus* concentração, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) nas análises por Espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis. Foi realizado a quantificação de três balas distintas em três protocolos analíticos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz que emprega metanol amoniacal; II) o método proposto utilizando água como solvente; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com adaptações. Foi verificado uma concentração de corante mais elevada quando o método proposto era empregado, com Nível de confiança = 95%. Assim, foi possível realizar a quantificação do corante Vermelho allura Ac em dez balas alimentícias comercializadas no Brasil por meio da Química Verde. O método proposto possui potencial de ser implementado como um método de rotina no controle de qualidade de balas comerciais.

**Palavras-chave:** Corante Vermelho allura Ac; balas alimentícias; quantificação; espectrofotometria; Química Verde.

## ABSTRACT

In Brazil, it is estimated that around 8% of children under 3 years of age have food allergies, caused by the inflammatory response after eating certain foods, especially sweets. This harmful effect may be associated with the presence of artificial colorings, such as Allura Red Ac (INS-129), which is commonly added to food candies. Therefore, industries must follow the standards established by the National Health Surveillance Agency (ANVISA), since excess of the Acceptable Daily Intake (ADI) of this dye can cause potential adverse risks, such as hypersensitivity reactions, similar to allergies, hyperactivity in children, as well as the risk of developing inflammatory diseases in the intestine, making it important to develop methods to quantify this dye in foods. Faced with this problem, the objective is to develop a sustainable analytical methodology capable of carrying out the determination and quantification of the Allura Red Ac dye in food candies, through a simple, easy-to-execute and economically accessible method, using the UV-Vis Spectrophotometry technique. . When carrying out the experimental analyses, analytical curves were obtained with standard solutions of the Allura Red Ac dye, where the relationship between the intensity of the coloring as a result of the increase in the concentration of the analyte was verified, thus obtaining a linear correlation between absorbance versus concentration, with coefficient of determination ( $R^2$ ) in analyzes by UV-Vis molecular absorption spectrophotometry. Quantification of three different bullets was carried out in three analytical protocols: I) the reference method of the Adolfo Lutz Institute that uses ammonia methanol; II) the proposed method using water as a solvent; III) the Adolfo Lutz Institute reference method with adaptations. A higher dye concentration was observed when the proposed method was used, with Confidence Level = 95%. Thus, it was possible to quantify the Red allura Ac dye in ten food candies sold in Brazil through Química Verde. The proposed method has the potential to be implemented as a routine method in the quality control of commercial candies.

**Keywords:** Allura Ac Red Dye; food candy; quantification; spectrophotometry; Green Chemistry.



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Representações da estrutura química do corante Vermelho allura Ac.....	15
<b>Tabela 2.</b> Propriedades, aplicações e potenciais riscos adversos dos principais corantes artificiais encontrados no Brasil.....	19
<b>Tabela 3.</b> Fórmulas químicas dos principais corantes artificiais permitidos no Brasil e seus respectivos comprimento de onda máximo ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) no UV-Vis.....	20
<b>Tabela 4.</b> Princípios da GC, conforme descritos por John Warner e Paul Anastas (1990) e suas principais características.....	25
<b>Tabela 5.</b> Reagentes/soluções utilizados na execução do trabalho. ....	27
<b>Tabela 6.</b> Equipamentos utilizados na execução do trabalho.....	27
<b>Tabela 7.</b> Resultados dos testes experimentais realizados para a filtração utilizando o método proposto com diferentes gramaturas de papéis de filtro, absorbâncias e seus respectivos desvios-padrões com a concentração de $0,07 \text{ mg mL}^{-1}$ (Nível de confiança = 95%).....	34
<b>Tabela 8.</b> Resultados dos testes experimentais de filtrações para os métodos (referência do Instituto Adolfo Lutz, proposto e referência adaptado) a partir da média de suas concentrações e respectivos desvios-padrões na quantificação do Vermelho allura Ac em amostra de bala (Nível de confiança = 95%).....	37
<b>Tabela 9.</b> Concentração e desvio padrão ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) de dez amostras reais de balas alimentícias comercializadas no Brasil com o método proposto (Nível de confiança = 95%). %RSD = desvio padrão relativo. ....	42

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Espectro visível das colorações de acordo com comprimento de onda.....	14
<b>Figura 2.</b> Esquema de um instrumento típico de espectrofotometria no UV-Vis.....	23
<b>Figura 3.</b> Esquema representativo do método de referência (Instituto Adolfo Lutz, 2008).....	28
<b>Figura 4.</b> Esquema representativo do método proposto utilizando água.....	29
<b>Figura 5.</b> Esquema representativo do método de referência adaptado.....	30
<b>Figura 6.</b> Representação da curva analítica do corante Vermelho allura Ac em seis níveis.....	31
<b>Figura 7.</b> Esquema representativo da extração da amostra de bala em três etapas, seguido da extração final de 3,5 g em 50 mL de metanol amoniacal e amostra de coloração branca.....	32
<b>Figura 8.</b> Filtrações com diferentes tipos de papéis de filtro no solvente água.....	33
<b>Figura 9.</b> Fotografia da retenção do corante Vermelho allura Ac com a filtração com papel de filtro no solvente água.....	34
<b>Figura 10.</b> Comparação entre a filtração obtida entre o filtro de seringa (A) e fibra de vidro (B) com o solvente água.....	35
<b>Figura 11.</b> Avaliação dos três sistemas de filtrações (papel de filtro, filtro de seringa e fibra de vidro) para o solvente metanol amoniacal.....	36
<b>Figura 12.</b> Soluções utilizadas para construção da curva analítica com concentrações de $2 \times 10^{-4}$ ; $5 \times 10^{-4}$ ; $1 \times 10^{-3}$ ; $5 \times 10^{-3}$ ; $1 \times 10^{-2}$ e $2 \times 10^{-2}$ mg mL <sup>-1</sup> do padrão do corante Vermelho allura Ac (método de referência).....	38
<b>Figura 13.</b> Gráfico da curva analítica do padrão corante Vermelho allura Ac aplicando o método de referência do Instituto Adolfo Lutz (2008).....	39
<b>Figura 14.</b> Soluções utilizadas para construção da curva analítica com concentrações de $2 \times 10^{-4}$ ; $5 \times 10^{-4}$ ; $1 \times 10^{-3}$ ; $5 \times 10^{-3}$ ; $1 \times 10^{-2}$ e $2 \times 10^{-2}$ mg mL <sup>-1</sup> , respectivamente, do padrão do corante Vermelho allura Ac (método proposto).....	40
<b>Figura 15.</b> Gráfico da curva analítica do padrão corante Vermelho allura Ac aplicando o método proposto.....	40
<b>Figura 16.</b> Comparação entre a média da quantificação (mg mL <sup>-1</sup> ) de três amostras reais de balas alimentícias com os métodos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz; II) o método proposto; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com adaptações.....	41

## LISTA DE SIGLAS

**ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**CLAE** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

**DP** – Desvio Padrão

**ENANI** – Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil

**FTIR** – Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

**GC** – Química Verde (do inglês, *Green Chemistry*)

**IDA** – Ingestão Diária Aceitável

**INMETRO** – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

**IUPAC** – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

**LMP** – Limite Máximo Permitido

**RSD** – Desvio Padrão Relativo (do inglês, *Relative Standard Deviation*)

**UV-Vis** – Ultravioleta-Visível

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>18</b>
2.1	CORANTES ALIMENTÍCIOS ARTIFICIAIS.....	18
2.2	CORANTE ARTIFICIAL VERMELHO ALLURA AC.....	21
2.3	CONSUMO DE BALAS ALIMENTÍCIAS.....	21
2.4	ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS.....	22
2.5	QUÍMICA VERDE.....	24
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>27</b>
4.1	MATERIAIS E REAGENTES.....	27
4.2	EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES UTILIZADAS.....	25
4.3	PREPARO DE AMOSTRA.....	27
4.3.1	MÉTODO DE REFERÊNCIA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ.....	28
<b>4.3.2</b>	<b>MÉTODO PROPOSTO.....</b>	<b>28</b>
<b>4.3.3</b>	<b>MÉTODO DE REFERÊNCIA ADAPTADO.....</b>	<b>29</b>
4.4	PREPARO DA CURVA ANALÍTICA.....	30
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
4.6	DETERMINAÇÃO EM AMOSTRAS REAIS.....	30
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
5.1	EXTRAÇÃO DA AMOSTRA DE BALA A PARTIR DO MÉTODO DE REFERÊNCIA.....	31
5.2	EXTRAÇÃO DA AMOSTRA DE BALA A PARTIR DO MÉTODO PROPOSTO.....	32
5.3	EXTRAÇÃO DA AMOSTRA DE BALA A PARTIR DO MÉTODO DE REFERÊNCIA ADAPTADO.....	35
5.4	COMPARAÇÃO ENTRE AMBOS OS MÉTODOS COM DIFERENTES SISTEMAS DE FILTRAÇÕES.....	36
5.5	CURVAS ANALÍTICAS DOS MÉTODOS REFERÊNCIA VERSUS PROPOSTO.....	37
5.6	QUANTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS REAIS DE BALAS ALIMENTÍCIAS.....	40
5.7	QUANTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS REAIS DE BALAS ALIMENTÍCIAS (MÉTODO PROPOSTO).....	41

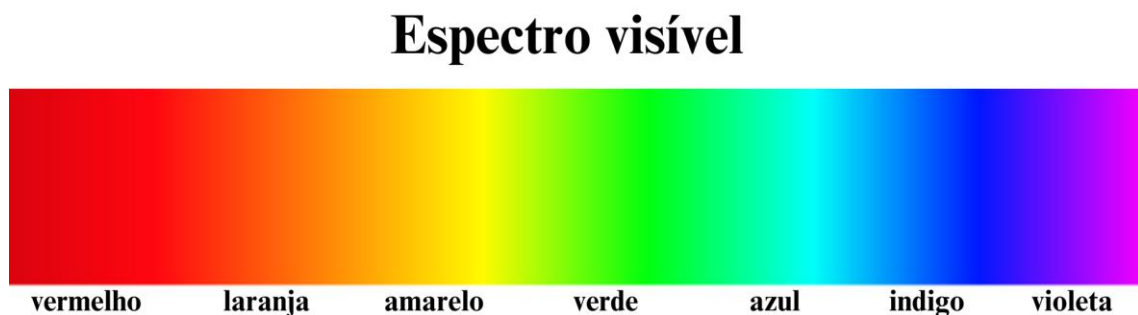
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
	REFERÊNCIAS.....	45

## 1 INTRODUÇÃO

O grande consumo de alimentos ultraprocessados está atrelado ao aumento no uso de aditivos adicionados intencionalmente aos produtos alimentícios, como por exemplo, os flavorizantes, substâncias como álcoois aromáticos, aldeídos e fenóis, que possuem como principal função a intensificação de um aroma específico (Weerawatanakorn *et al.*, 2015). Ainda, tem-se os emulsificantes, formados em sua maioria por ésteres, os quais melhoram os aspectos físico-químicos dos alimentos, como a consistência e textura (Park *et al.*, 2024). Destaca-se como principais aditivos, os corantes alimentícios, que tem como função atribuir coloração ao produto final, tornando-o mais atrativo ao público consumidor de todas as faixas etárias (Louzada *et al.*, 2021).

Nas indústrias alimentícias os corantes podem ser classificados principalmente em naturais ou artificiais. Nos últimos anos, é observado um crescimento no uso de corantes produzidos quimicamente, em comparação com os naturais. Estes, apresentam características mais vantajosas, como estabilidade à luz, temperatura e acidez, como também são economicamente mais acessíveis (Prado; Godoy, 2003). Ainda, possuem maior intensidade de coloração, podendo ser atrelado as cores do espectro visível pelo olho humano (**Figura 1**).

**Figura 1.** Espectro visível das colorações de acordo com comprimento de onda.



**Fonte:** A autora (2024).

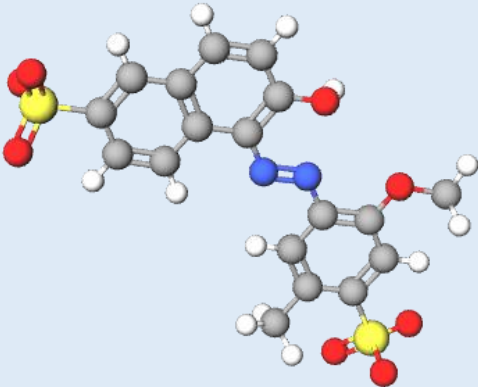
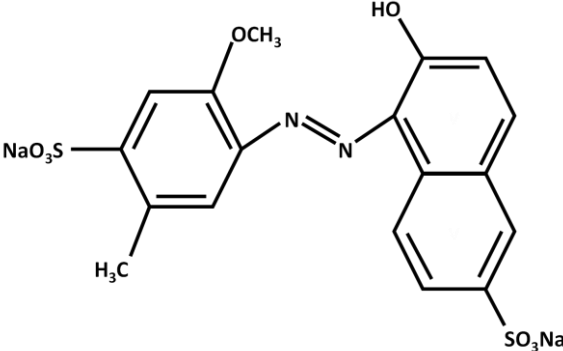
O aumento significativo na ingestão de produtos alimentícios ultraprocessados, que possuem em sua composição aditivos destinados a modificar a coloração, sabor e aspectos físicos dos alimentos, torna-se cada vez mais recorrente (Louzada *et al.*, 2021). Os principais corantes artificiais utilizados em alimentos são: amaranto, vermelho de eritrosina, ponceau 4R, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul brilhante e especialmente, o Vermelho allura Ac. Este último proporciona uma coloração vermelha/rosa intensa e é amplamente utilizado devido

a sua produção de baixo custo, tornando-o economicamente viável para a indústria alimentícia (Oliveira *et al.*, 2009).

No entanto, tais corantes artificiais não apresentam valor nutricional e podem apresentar riscos de toxicidade à saúde humana, a depender da sua concentração ingerida (Kraemer *et al.*, 2022). As estruturas químicas dos principais corantes artificiais apresentam semelhanças entre si, pois são classificados como corantes azóicos (azocorantes), caracterizados por conter uma ou mais ligações entre nitrogênios, ligados a anéis aromáticos (Prado; Godoy, 2007).

A **Tabela 1** apresenta a estrutura química do corante Vermelho allura Ac, de nome oficial IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*) “dissódico;6-hidroxi-5-[(2-metoxi-5-metil-4-sulfonatofenil)diazenil] naftaleno-2-sulfonato” (PubChem, s.d.).

**Tabela 1.** Representações da estrutura química do corante Vermelho allura Ac.

Representação	Corante Vermelho allura Ac (C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub> ).
<p><b>Modelo de representação de bola e bastão</b></p>	
<p><b>Fórmula estrutural plana tipo traço</b></p>	

Fonte: A autora (2024).

Dados inéditos do Estudo Nacional de Alimentação e Nutrição Infantil (ENANI) indicam que, de cada dez crianças brasileiras com até cinco anos, oito consomem alimentos de baixo valor nutritivo, com elevadas quantidades de aditivos/corantes artificiais e substâncias maléficas que são acessíveis e de grande oferta (ENANI, 2019). Esses aditivos são encontrados principalmente em alimentos como balas alimentícias, refrigerantes, embutidos, bebidas e sobremesas (Lehmkuhler *et al.*, 2022).

Atrelado ao grande consumo dos corantes artificiais, emerge uma problemática associada aos impactos ocasionados pela ingestão dos mesmos. A ingestão do corante Vermelho allura Ac tem o potencial de causar diversos danos à saúde humana, como reações de hipersensibilidade, semelhantes à alergia e hiperatividade em crianças (McCann *et al.*, 2007), especialmente quando associado ao benzoato de sódio (Polônio; Peres, 2009).

Devido a esses potenciais riscos adversos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), criou uma regulamentação técnica, definindo o Limite Máximo Permitido (LMP) de  $0,30 \text{ mg mL}^{-1}$  do corante Vermelho allura Ac em balas alimentícias, considerando a Ingestão Diária Aceitável (IDA) de  $7 \text{ mg kg}^{-1}$  conforme a Instrução Normativa 211/2023, nos termos da Resolução de Diretoria Colegiada – RDC Nº 778, de 1º de março de 2023 (ANVISA, 2023).

Ainda, a lei Nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, indica entre outras sanções, que os produtos alimentícios devem seguir as normas de segurança vigentes à legislação sanitária federal, sob risco de infrações sanitárias e/ou multas por meio da reincidência de fraudar, falsificar ou adulterar alimentos/bebidas, fora da regulamentação exigida (Lei Nº 6.437/1977).

Com isso, a literatura científica, traz diversos métodos analíticos visando à identificação e quantificação de corantes artificiais em alimentos e bebidas, de modo a analisar o controle sanitário da produção desses produtos. As principais técnicas são: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Espectrofotometria UV-Vis (Lyrio *et al.*, 2023). No entanto, os métodos de análises descritos estão associados a preparo de amostras que não atendem aos critérios da Química Verde, tendo em vista principalmente a utilização de solventes tóxicos, processos demorados de extração da amostra, além do alto custo energético (Shi *et al.*, 2023).

Como exemplo, temos o método proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) que utiliza metanol amoniacal como solvente de extração de amostras para a quantificação de corantes artificiais em balas alimentícias, em análises por UV-Vis. Nesse método, é necessária uma extração prévia da amostra em um procedimento demorado e com geração de resíduos tóxicos, devido ao uso de metanol, que é uma substância capaz de causar efeitos nocivos à saúde



humana, como intoxicação (Kaewput *et al.*, 2021), além do hidróxido de amônio, que pode causar queimadura severa e dificuldades respiratórias (Moneró; Santos, 2014).

Diante disso, surge uma necessidade em desenvolver metodologias analíticas sustentáveis, caracterizadas pela simplicidade, redução do uso de solventes, menor tempo de análise e minimização na geração de resíduos, buscando atender os princípios da Química Verde (López-Lorente *et al.*, 2022; Pacheco-Fernández; Pino., 2019). Como exemplo, a proposta deste trabalho é a substituição de solventes tóxicos por solvente verde, neste caso a água, no procedimento de preparo de amostras de balas alimentícias. Essa troca não apenas reduz o emprego de solventes prejudiciais, como também resulta em uma diminuição de resíduos, custo econômico e tempo de análise.

Assim, o presente estudo traz o seguinte questionamento: "**É possível desenvolver uma metodologia analítica para a quantificação do corante Vermelho allura Ac em balas alimentícias respeitando os princípios da Química Verde?**". Uma vez definido o problema de pesquisa, a justificativa deste trabalho é fundamentada pela necessidade de validar e estabelecer a metodologia proposta como uma alternativa no controle de qualidade do corante Vermelho allura Ac em amostras de balas alimentícias.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 CORANTES ALIMENTÍCIOS ARTIFICIAIS

Os corantes artificiais são caracterizados como ingredientes que modificam intencionalmente a coloração de alimentos/bebidas. Esses corantes não apresentam valor nutricional e podem apresentar riscos à saúde humana, por isso, se torna necessário a avaliação de toxicidade em produtos alimentícios (Zhang *et al.*, 2020).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina que a utilização desses aditivos é permitida desde que as substâncias em questão sejam consideradas seguras para o consumo humano. Isso implica que a concentração do corante em uso não ultrapasse os Limites Máximos Permitidos (LMP) de 0,30 mg mL<sup>-1</sup>. Além disso, a ingestão diária desse corante deve seguir as orientações da avaliação toxicológica de 7 mg kg<sup>-1</sup> (ANVISA, 2023).

Ainda, a ANVISA publicou um instrumento regulatório, de caráter recomendatório em formato de guia, para avaliação do consumo de aditivos alimentares, evidenciando a necessidade da investigação de segurança desses ingredientes, visando aplicações de controle de qualidade de alimentos (Guia N ° 23/2019 – ANVISA).

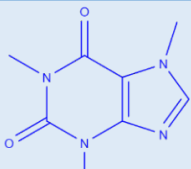
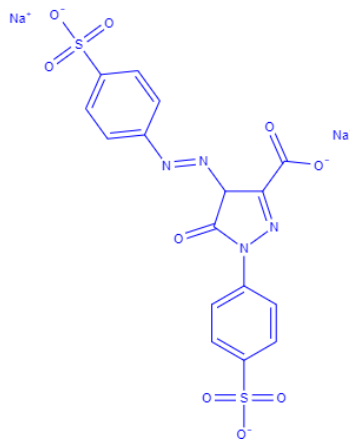
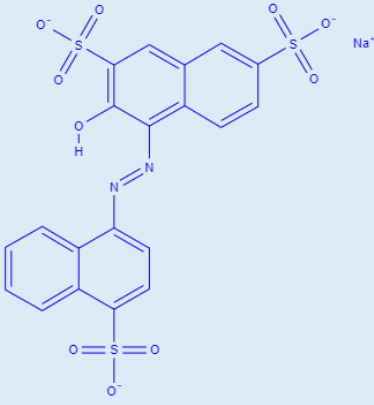
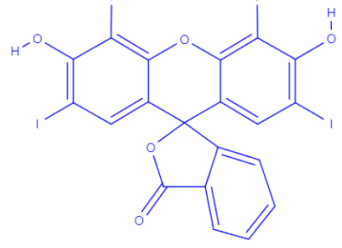
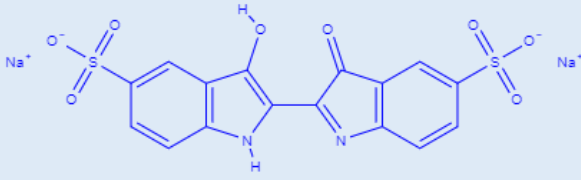
A legislação brasileira permite o uso de onze corantes artificiais em produtos alimentícios, sendo eles: amarelo tartrazina (E-102), amaranço (E-123), amarelo crepúsculo (E-110), verde rápido (E-143), azorrubina (E-122), azul brilhante (E-133), Vermelho allura Ac (E-129), vermelho de eritrosina (E-127), azul indigotina (E-132), azul patente V (E-131) e vermelho ponceau 4R (E-124) (Santo; Costa; Silva, 2023). A **Tabela 2** apresenta as informações acerca de suas principais propriedades, aplicações e potenciais malefícios desses corantes e a **Tabela 3** suas respectivas estruturas e fórmulas químicas e características espectrofotométricas.

**Tabela 2.** Propriedades, aplicações e potenciais riscos adversos dos principais corantes artificiais encontrados no Brasil.

<b>Corantes artificiais</b>	<b>Propriedades químicas</b>	<b>Principais aplicações na indústria</b>	<b>Potenciais riscos adversos</b>
<b>Amarelo crepúsculo</b>	Apresenta estabilidade à luz, calor e alguns ácidos.	Cereais, balas alimentícias e bebidas.	Urticária e problemas gástricos.
<b>Amarelo tartrazina</b>	Apresenta estabilidade à luz, calor e ácido.	Doces, laticínios e bebidas.	Alergias e afecção da flora gastrointestinal.
<b>Amaranto/Vermelho Bordeaux</b>	Classe de azocorante, formado por ácido sulfônico.	Cereais, balas alimentícias, e geleias.	Reações de hipersensibilidade.
<b>Vermelho de eritrosina</b>	Apresenta-se na forma de sal sódico.	Gelatinas, balas alimentícias e laticínios.	Reações de hipersensibilidade
<b>Azul de indigotina</b>	Solúvel em água, insolúvel em álcool etílico.	Doces, iogurte, bebidas e gelatinas.	Náuseas, alergia e problemas respiratórios.
<b>Vermelho allura Ac</b>	Apresenta maior estabilidade ao ácido ascórbico.	Cereais, balas alimentícias e bebidas.	Hiperatividade em crianças e alergias respiratórias

**Fonte:** Adaptado de *Food Ingredients* Brasil (2009).

**Tabela 3.** Fórmulas químicas dos principais corantes artificiais permitidos no Brasil e seus respectivos comprimento de onda máximo ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) no UV-Vis.

Corantes artificiais	Estruturas químicas	Fórmulas químicas	$\lambda_{\text{máx}}$ UV-Vis
Amarelo crepúsculo		$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_7\text{S}_2$	481 nm
Amarelo tartrazina		$\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_4\text{Na}_3\text{O}_9\text{S}_2$	426 nm
Vermelho bordeaux		$\text{C}_{20}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{S}_3$	519 nm
Vermelho de eritrosina		$\text{C}_{20}\text{H}_8\text{I}_4\text{O}_5$	524 nm
Azul de indigotina		$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$	610 nm

Fonte: Adaptado de Valdez *et al.*, (2022); Takahashi *et al.*, (1988).

## 2.2 CORANTE ARTIFICIAL VERMELHO ALLURA AC

O corante Vermelho allura Ac (**Figura 1**), de fórmula molecular  $C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$  é amplamente utilizado em diversos produtos alimentícios. Esse corante pertence ao grupo azoico, possui boa solubilidade ao solvente água e sua produção é economicamente acessível (Oliveira *et al.*, 2009). Além disso, apresenta boa estabilidade a temperatura e aos ácidos, especialmente o ácido ascórbico, sem fornecer mudanças físico-químicas desagradáveis no sabor final dos produtos alimentícios (Boyles; Sobeck, 2000).

Por esta razão, a indústria alimentícia utiliza esse corante em diversos produtos alimentícios, por exemplo, cereais, refrigerantes, recheios, bebidas, pó para sobremesas e especialmente as balas alimentícias de diversos sabores, como morango, iogurte e cereja (Pourreza; Rastegarzadeh; Larki. 2011).

Apesar do seu abrangente uso no Brasil, alguns países, como Estados Unidos (EUA) e alguns da União Européia (UE) proíbem seu comércio, devido aos seus potenciais riscos adversos (Barciela; Perez-Vazquez; Prieto, 2023). Apesar de liberado no Brasil, seu consumo é monitorado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme a Instrução Normativa 211/2023, nos termos da Resolução de Diretoria Colegiada – RDC N° 778, de 1° de março de 2023, visando estabelecer o controle de qualidade com Limite Máximo Permitido de  $0,30 \text{ mg mL}^{-1}$  (ANVISA, 2023).

Além disso, um estudo recente indicou a possibilidade do corante Vermelho allura Ac ocasionar doenças inflamatórias no intestino (Kwon, *et al.*, 2022). Ainda, em pessoas alérgicas a esse corante, os sintomas podem variar de leves a graves, desde coceira em todo o corpo até em casos mais intensos, como choque anafilático, representando riscos mais significativos à saúde do indivíduo (Feketea; Tsabouri, 2017), especialmente as crianças que são as maiores consumidoras de doces em geral, principalmente as balas alimentícias (ENANI, 2019).

## 2.3 CONSUMO DE BALAS ALIMENTÍCIAS

Dentre a composição das balas alimentícias, tem-se principalmente açúcares, aromatizantes e corantes artificiais, na maioria dos casos. A indústria alimentícia utiliza esses corantes para obter a coloração desejada nas balas, como, por exemplo, o uso do corante amarelo tartrazina para conferir a cor amarelada, o azul de indigotina para proporcionar a coloração azul, entre outros. O corante Vermelho allura Ac é frequentemente empregado em

balas de tonalidade vermelha/rosa, encontradas em balas de morango, iogurte e cereja (Oliveira *et al.*, 2009).

Vale destacar que as indústrias alimentícias devem seguir as normas sanitárias vigentes da ANVISA, seguindo o Decreto-Lei Nº 986 de 21 de outubro de 1969, o qual indica que alimentos/bebidas que possuem corantes artificiais devem ser declarados em seus respectivos rótulos nas embalagens (Lei Nº 986/1969). No entanto, há duas problemáticas que merecem destaque: comumente os rótulos não apresentam o nome do corante alimentar utilizado, especificando apenas o código “INS/E-number”, numa tentativa de desviar a atenção do consumidor. Ainda, os rótulos das balas frequentemente omitem os teores específicos dos corantes utilizados, evidenciando a necessidade de um monitoramento mais efetivo desses produtos alimentícios.

Algumas técnicas analíticas são utilizadas para realizar a quantificação de corantes artificiais em balas alimentícias, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Palme; Johnson; Wyllie, 2024). A técnica amperométrica de pulsos múltiplos (MPA) descrita por Deroco *et al.* (2018). Destacando-se o método oficial brasileiro para determinação de corantes artificiais em alimentos, baseados em espectrofotometria de absorção molecular no UV-Vis (Instituto Adolfo Lutz, 2008). Essas técnicas frequentemente são associadas a preparo de amostras que não seguem o princípio da Química Verde.

## 2.4 ANÁLISES POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

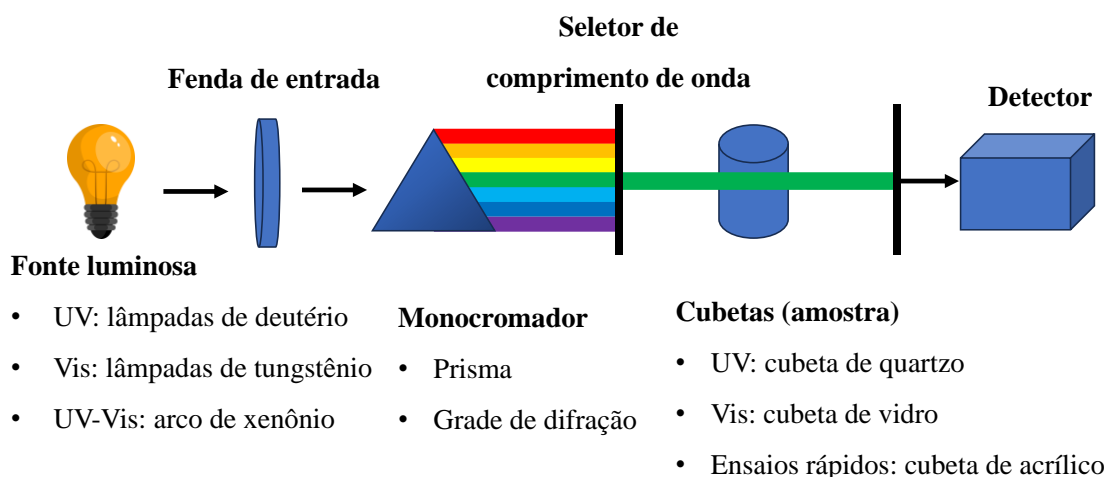
A espectrofotometria é uma técnica analítica que se fundamenta na interação entre espécies químicas e as suas interações com a radiação eletromagnética, em comprimentos de ondas na região do ultravioleta-visível. Nessa abordagem, ocorre o fenômeno da absorção molecular, que envolve transições eletrônicas entre níveis de energia (Rocha; Teixeira, 2004).

O equipamento consiste em uma fonte de luz, que pode ser em lâmpadas de deutério (UV) e tungstênio (Vis), ou, para abranger toda a região do UV-Vis, pode-se empregar lâmpadas de arco de xenônio (**Figura 2**). A parte óptica desse equipamento pode ser de duplo feixe ou feixe simples, ambos apresentam respostas analíticas concordantes, sendo que o feixe duplo possibilita um maior direcionamento da luz incidente pela amostra, com a possibilidade de se realizar um *background* com o branco analítico (Pavia; Lampman; Kris, 2009).

O monocromador é responsável por filtrar o comprimento de onda de interesse da análise. A cubeta em quartzo é utilizada como compartimento de amostra para a região do ultravioleta, a depender do comprimento de onda de interesse, em contraste, se utiliza uma

cubeta de vidro apenas para a região do visível. Por fim, são usados transdutores de radiação para a detecção da radiação transmitida, assim, gerando o espectro de absorção com um gráfico de absorvância x comprimento de onda ( $\lambda$ ) (Skoog *et al.*, 2005).

**Figura 2.** Esquema de um instrumento típico de espectrofotometria no UV-Vis.



**Fonte:** A autora (2024).

A espectrofotometria é uma das técnicas analíticas mais utilizadas para quantificação de espécies químicas em amostras de diversas matrizes, em decorrência de seus benefícios, como a velocidade de aquisição de espectros e análise, ausência ou baixos ruídos, boa sensibilidade, além da facilidade de sua operação (Pietta, 2000). Associado a esta técnica, é aplicado a Lei de Lambert-Beer (**Equação 1**), considerando a radiação incidente para uma ou mais espécies absorventes, desde que não ocorra interação entre elas, essa lei é utilizada para determinar a concentração de uma determinada substância que está em solução (Lima, 2013).

### **Equação 1.** Lei de Lambert-Beer

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Onde:

- A é a absorvância de um composto
- $\epsilon$  é a absorvidade molar de um composto ( $L \text{ cm}^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ )
- b é o caminho óptico da cubeta (cm)
- c é a concentração da espécie ( $\text{mol L}^{-1}$ )

As principais aplicações da espectrofotometria no UV-Vis abrangem diversas áreas, como em estudos de química forense em documentoscopia descrito por Zieba-Palus *et al.* (2020), em analítica ambiental em estudos de detecção de ferro em amostras de matriz complexante descrito por Cheng *et al.* (2022). Pesquisadores como EL-Gindy e Hadad (2012) propuseram uma revisão bibliográfica considerando métodos quimiométricos com o uso da espectrofotometria no UV-Vis para análises farmacêuticas. Ainda, Li e Wang (2020) realizaram análises em amostras de combustíveis e Chen *et al.* (2021) em produtos alimentícios.

Apesar da extensa aplicabilidade e vantagens, essa técnica frequentemente está associada entre outros fatores, a preparo de amostras demorados, pois a solução para ser analisada no UV-Vis não pode apresentar turbidez, com partículas em suspensão, corroborando para a interferência na análise (Abadi *et al.*, 2012). Este processo frequentemente envolve o uso de solventes tóxicos em quantidades significativas, altas temperaturas e longos períodos, resultando em um consumo energético considerável (Rocha *et al.*, 2013). Portanto, é importante ressaltar que esse procedimento prévio à análise, comumente requerido para utilização dessa técnica, está em desacordo com os princípios da Química Verde.

## 2.5 QUÍMICA VERDE

Paul Anastas e John Warner (1998) foram os pioneiros na introdução da Química Verde de modo global, esses pesquisadores desenvolveram alternativas para contornar a problemática da falta de sustentabilidade, frequentemente empregadas em processos químicos. Com isso, postularam doze princípios, mencionados na **Tabela 4**, que consistem a partir do desenvolvimento de parâmetros analíticos críticos, como a reprodutibilidade, custo energético, tempo de amostragem e a redução de solventes tóxicos.



**Tabela 4.** Princípios da GC, conforme descritos por John Warner e Paul Anastas (1990) e suas principais características.

<b>Princípios da Química Verde</b>	<b>Principais características</b>
<b>Prevenção de resíduos</b>	Técnicas analíticas diretas devem ser aplicadas para evitar o tratamento da amostra.
<b>Economia analítica</b>	Tamanho mínimo de amostra e número mínimo de amostras são objetivos.
<b>Síntese segura</b>	<i>Medições in situ</i> devem ser realizadas.
<b>Produtos seguros</b>	A integração de processos e operações analíticas economiza energia e reduz o uso de reagentes.
<b>Solventes e auxiliares seguros</b>	Métodos automatizados e miniaturizados devem ser selecionados.
<b>Eficiência energética</b>	A derivatização deve ser evitada.
<b>Fontes renováveis de matéria-prima</b>	A geração de um grande volume de resíduos analíticos deve ser evitada.
<b>Evitar a formação de derivados</b>	Métodos multianalitos ou multiparâmetros são preferidos em vez de métodos que usam um analito de cada vez.
<b>Catálise</b>	O uso de energia deve ser minimizado.
<b>Produtos degradáveis</b>	Os reagentes obtidos de fontes renováveis devem ser utilizados.
<b>Análise <i>in situ</i></b>	Os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos.
<b>Prevenção de acidentes</b>	A segurança do operador deve ser aumentada.

**Fonte:** Adaptado de Nowak *et al.*, (2021); Lenardão *et al.*, (2003).

Nos últimos anos, com o incentivo ao desenvolvimento sustentável, pesquisadores reforçaram a importância da proteção ao meio ambiente sob a perspectiva de redução do uso de reagentes tóxicos, tempo de análise e preparo de amostra que consomem alta energia (Nowak

*et al.*, 2021). Armenta *et al.* (2008) conduziram uma pesquisa bibliográfica considerando as principais bases de dados do mundo, como *Chemical Abstracts Service (CAS)*, e *Science Citation Index (SCI)*, evidenciando que cada vez mais, o desenvolvimento de metodologias analíticas exige a necessidade de controlar os resíduos químicos provenientes de análises químicas (Gama *et al.*, 2019).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver uma metodologia analítica sustentável para a determinação e quantificação do corante artificial Vermelho allura Ac (INS-129) em balas alimentícias, por meio de um método simples, de fácil execução e economicamente acessível, via Espectrofotometria UV-Vis.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Aplicar o método de referência de determinação quantitativa de corantes artificiais em alimentos, do Instituto Adolfo Lutz, para a quantificação do corante artificial Vermelho allura Ac em balas alimentícias;
- Desenvolver uma metodologia analítica sustentável de determinação quantitativa do corante Vermelho allura Ac em amostras de balas alimentícias adquiridas no Brasil;
- Adaptar o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com a utilização de diferentes sistemas de filtração, de modo a avaliar a melhor resposta analítica para a quantificação do corante artificial Vermelho allura Ac em balas alimentícias;
- Analisar a similaridade entre o método de referência do Instituto Adolfo Lutz, método proposto e o método de referência adaptado com diferentes sistemas de filtrações, por meio de testes estatísticos, a fim de estabelecer comparações e determinar a significância estatística entre eles;
- Monitorar os Limites Máximos Permitidos (LMP) estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), visando aplicações de controle de qualidade de amostras de balas alimentícias comerciais.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Os reagentes/soluções utilizados no estudo estão descritos na **Tabela 5**.

**Tabela 5.** Reagentes/soluções utilizados na execução do trabalho.

Reagentes
Água destilada (H <sub>2</sub> O)
Corante Vermelho allura Ac (C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> S <sub>2</sub> ) 80% - Sigma-Aldrich Brasil Ltda – SP Brasil
Metanol (CH <sub>3</sub> OH) P.A. – J.T. Baker
Hidróxido de Amônio (NH <sub>4</sub> OH) P.A. – Química Moderna Indústria e Comércio – SP Brasil

**Fonte:** A autora (2024).

### 4.2 EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES UTILIZADAS

Os equipamentos/condições utilizadas no estudo estão descritos na **Tabela 6**.

**Tabela 6.** Equipamentos utilizados na execução do trabalho.

Equipamentos
Balança Analítica – Shimadzu®
Chapa de aquecimento 60 Hz 230 V – Fisatom®
UV-Visível Espectrofotômetro (UV-1280) Shimadzu® – Faixa espectral 190 a 1100 nm
Centrífuga analógica para tubos (220V) – QUIMIS Q222T2

**Fonte:** A autora (2024).

### 4.3 PREPARO DE AMOSTRA

Os métodos conduzidos nesse estudo foram divididos em três protocolos analíticos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008); II) o método

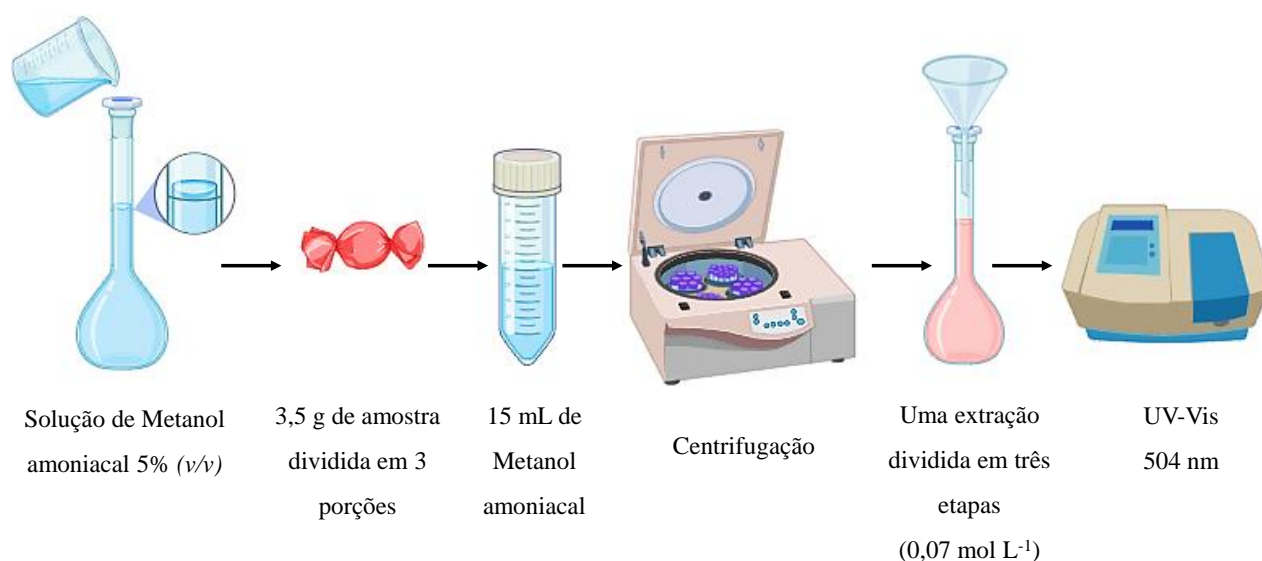
proposto utilizando água como solvente; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com adaptações, avaliando a adição de etapas de filtração com diferentes sistemas. As seções abaixo descrevem as informações de metodologia dos três protocolos.

#### 4.3.1 MÉTODO DE REFERÊNCIA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Primeiramente, foi preparado uma solução de metanol amoniacal 5% (*v/v*) mediante a adição de 5 mL de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) a 95 mL de metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), no balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, foi realizado uma solução de  $0,07 \text{ mol L}^{-1}$  da amostra de bala alimentícia em metanol amoniacal previamente preparado. Quando necessário, a solução foi centrifugada para garantir a extração total do corante presente na amostra.

Por fim, as soluções foram filtradas em papel de filtro qualitativo 80 g e analisadas no espectrofotômetro UV-Vis (modelo UV-1280, Shimadzu®), no comprimento de onda de 504 nm, referente a absorbância máxima do corante Vermelho allura Ac. A **Figura 3**, mostra o esquema representativo do procedimento de extração da amostra da bala alimentícia realizada com o preparo de amostra do método de referência do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

**Figura 3.** Esquema representativo do método de referência (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

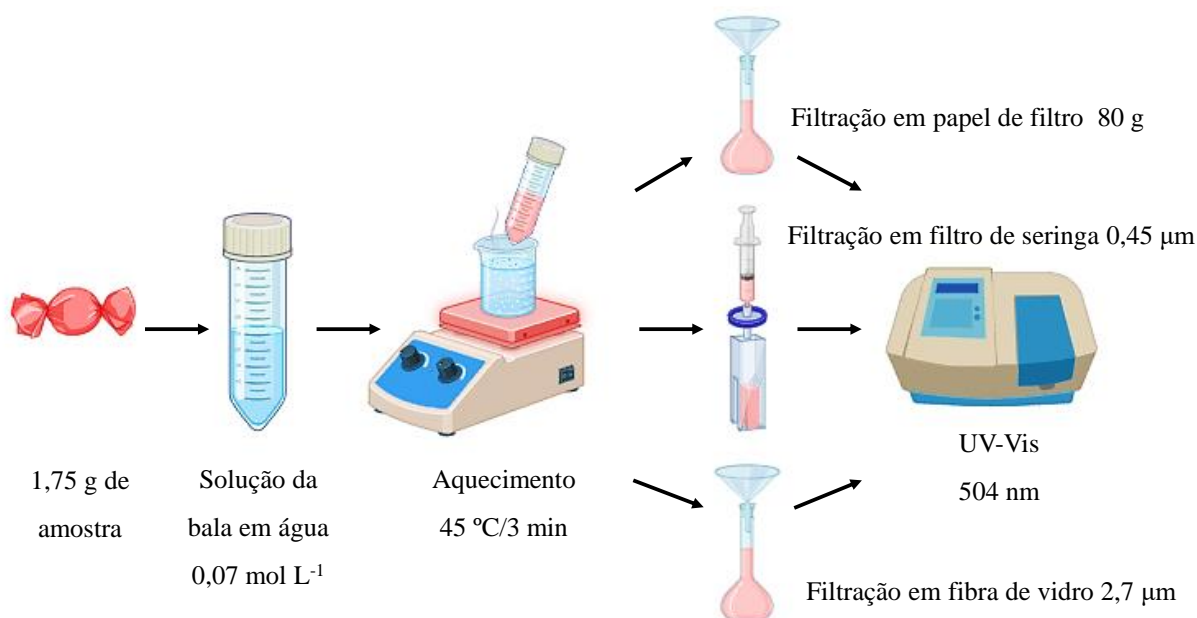


**Fonte:** A autora (2024).

#### 4.3.2 MÉTODO PROPOSTO

A fim de tornar o método mais sustentável, foi realizada a substituição do solvente metanol amoniacal por água. Assim, foi realizada uma solução de  $0,07 \text{ mol L}^{-1}$  da amostra de bala alimentícia em água, sob aquecimento de  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 3 min, para a dissolução total da amostra. Em seguida, as soluções foram filtradas, avaliando três sistemas de filtrações: papel de filtro qualitativo 80 g, filtro de seringa de  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  e fibra de vidro de  $2,7 \text{ }\mu\text{m}$ . Por fim, as soluções das amostras foram analisadas no espectrofotômetro UV-Vis (modelo UV-1280, Shimadzu®), no comprimento de onda de  $504 \text{ nm}$ , referente a absorbância máxima do corante Vermelho allura Ac (**Figura 4**).

**Figura 4.** Esquema representativo do método proposto utilizando água.



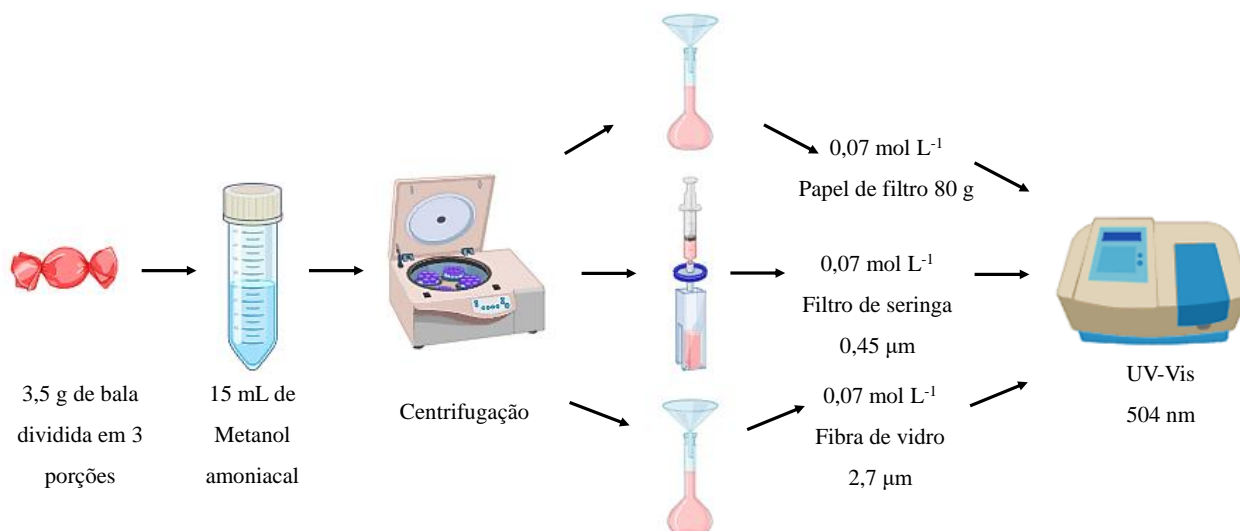
Fonte: A autora (2024).

### 4.3.3 MÉTODO DE REFERÊNCIA ADAPTADO

O preparo de amostra do método de referência adaptado seguiu o mesmo procedimento descrito na seção 4.3.1. Entretanto, foi adicionada uma etapa para avaliação do efeito da filtração nas soluções, empregando filtro de seringa de  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  e fibra de vidro  $2,7 \text{ }\mu\text{m}$ , tendo em vista a necessidade em utilizar os mesmos parâmetros utilizados no método proposto e realizar a comparação com papel de filtro. As soluções foram então, posteriormente analisadas

no espectrofotômetro UV-Vis (modelo UV-1280, Shimadzu®), no comprimento de onda de 504 nm, referente a absorvância máxima do corante Vermelho allura Ac (**Figura 5**).

**Figura 5.** Esquema representativo do método de referência adaptado.

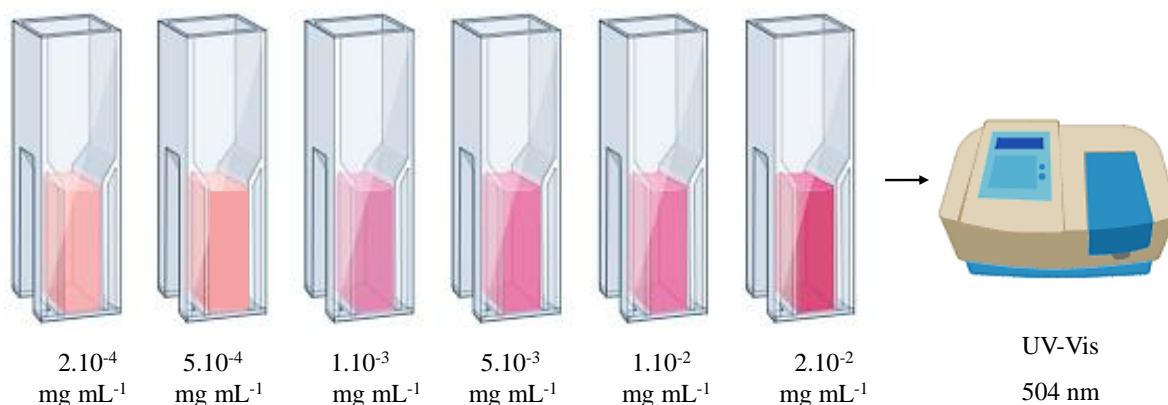


**Fonte:** A autora (2024).

#### 4.4 PREPARO DA CURVA ANALÍTICA

Soluções de concentrações de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  do corante artificial Vermelho allura Ac foram preparadas em balão volumétrico de 50 mL. Dois tipos de solventes foram utilizados para essa finalidade: metanol amoniacal, conforme definido pelo método de referência por UV-Vis do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 2008) ou água destilada (método proposto). Foram feitas diluições para obter concentrações na faixa de  $2 \times 10^{-4}$  a  $2 \times 10^{-2} \text{ mg mL}^{-1}$ , em balões volumétricos de 25 mL, totalizando uma curva analítica com seis níveis (**Figura 6**).

**Figura 6.** Representação da curva analítica do corante Vermelho allura Ac em seis níveis.



**Fonte:** A autora (2024).

#### 4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para investigar a melhor otimização do método proposto, foi realizado um planejamento experimental 2<sup>3</sup> utilizando o software Design Expert-7, no qual os parâmetros operacionais foram avaliados em duplicata, com cinco pontos centrais, considerando fatores como massa da bala alimentícia (g), volume do solvente (mL), assim como a temperatura (°C) do aquecimento.

#### 4.6 DETERMINAÇÃO EM AMOSTRAS REAIS

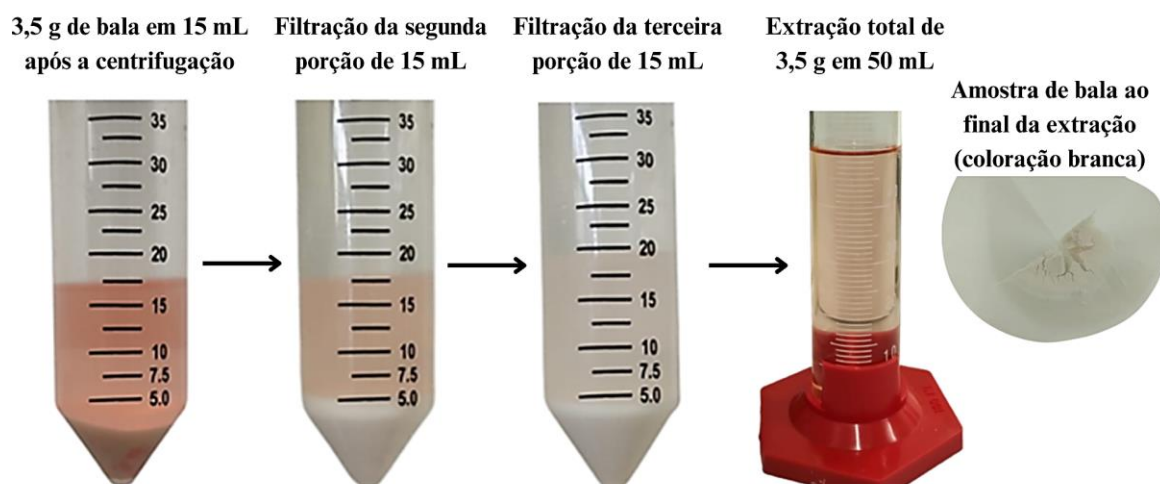
Foi realizado inicialmente a quantificação de três amostras reais de balas alimentícias frente aos três protocolos analíticos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz que emprega metanol amoniacal e papel de filtro; II) o método proposto utilizando água e filtro de seringa; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com filtro de seringa, a partir da concentração de 0,07 mg mL<sup>-1</sup> da solução da bala alimentícia em ambos os solventes (metanol amoniacal e água). Foi quantificado posteriormente dez amostras reais de balas alimentícias a partir do método proposto.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 EXTRAÇÃO DA AMOSTRA DE BALAS A PARTIR DO MÉTODO DE REFERÊNCIA

Os resultados referentes a extração da amostra de bala alimentícia a partir do método de referência (Instituto Adolfo Lutz, 2008), utilizando metanol amoniacal como solvente, estão apresentados na **Figura 7**. Devido a inviabilidade de extração em apenas uma etapa, foi necessário realizar uma extração dividida em três etapas com metanol amoniacal. Esse procedimento resultou na completa extração do corante Vermelho allura Ac presente na amostra de bala alimentícia, observada pela coloração branca da bala ao final de todo processo de extração.

**Figura 7.** Esquema representativo da extração da amostra de bala em três etapas, seguido da extração final de 3,5 g em 50 mL de metanol amoniacal e amostra de coloração branca.



**Fonte:** A autora (2024).

## 5.2 EXTRAÇÃO DA AMOSTRA DE BALAS A PARTIR DO MÉTODO PROPOSTO

Ao substituir o solvente metanol amoniacal por água, na tentativa de tornar o método mais sustentável, foi notado que ao utilizar papel de filtro, assim como no método de referência, as soluções resultantes ficaram turvas (**Figura 8**). Diante disso, foram realizados testes com sete tipos diferentes de papéis de filtros, buscando uma filtração mais efetiva (**Tabela 7**). Entretanto, apesar de apresentarem resposta analítica (absorbância) nas análises, nenhum papel de filtro conseguiu filtrar a bala dissolvida em água sem que resultasse em soluções turvas ou perda do analito retido nos papéis, o que culminou na falta de repetibilidade das análises realizadas em triplicata, descritos na **Tabela 7**.



**Figura 8.** Filtrações com diferentes tipos de papéis de filtro no solvente água.



**Fonte:** A autora (2024).

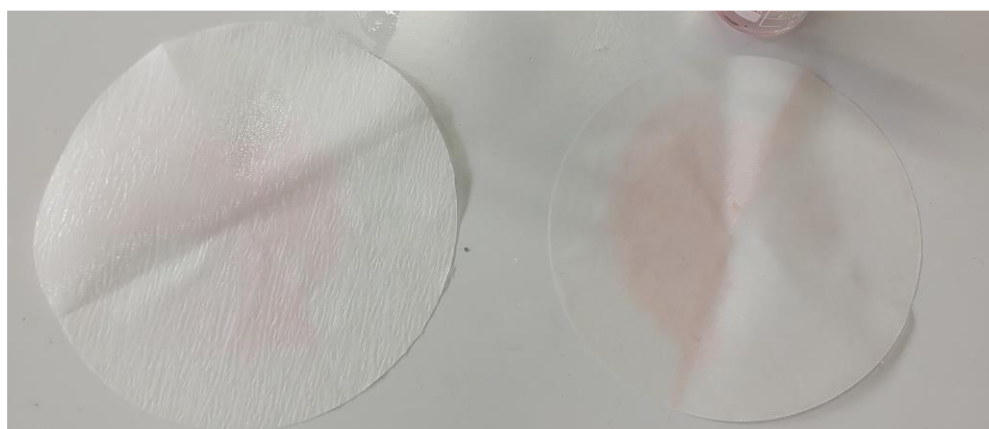
**Tabela 7.** Resultados dos testes experimentais realizados para a filtração utilizando o método proposto com diferentes gramaturas de papéis de filtro, absorbâncias e seus respectivos desvios-padrões com a concentração de  $0,07 \text{ mg mL}^{-1}$  (Nível de confiança = 95%).

<b>Papéis de filtro</b>	<b>Absorbância <math>\pm</math> DP (N = 3)</b>
<b>Papel de filtro qualitativo 80 g</b>	$1,6 \pm 3,1 \times 10^{-2}$
<b>Papel de filtro 80 g</b>	$1,1 \pm 1,1 \times 10^{-2}$
<b>Papel de filtro 87 g</b>	$1,2 \pm 1,0 \times 10^{-2}$
<b>Papel de filtro – 80 g filtração lenta</b>	$1,6 \pm 1,2 \times 10^{-2}$
<b>Papel de filtro quantitativo faixa azul – 80 g</b>	$0,7 \pm 1,0 \times 10^{-2}$
<b>Papel de filtro quantitativo faixa preta – 80 g</b>	$1,4 \pm 1,0 \times 10^{-2}$
<b>Papel de filtro qualitativo 80 g</b>	$0,6 \pm 5,0 \times 10^{-3}$

**Fonte:** A autora (2024).

Com isso, foi observado que as análises em triplicata não apresentaram repetibilidade, em decorrência da ineficiência do papel de filtro em realizar a filtração da solução com água, além da turbidez das amostras obtidas a partir do método proposto com papel de filtro, as fibras dos papéis ficaram retidas junto à coloração do corante Vermelho allura Ac (**Figura 9**).

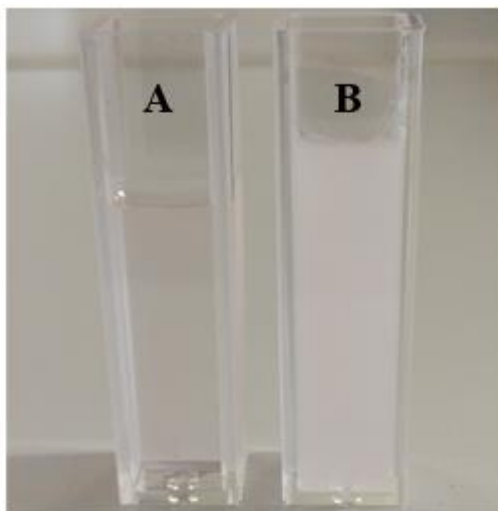
**Figura 9.** Fotografia da retenção do corante Vermelho allura Ac com a filtração com papel de filtro no solvente água.



**Fonte:** A autora (2024).

Dessa forma, foi necessário buscar outros meios de filtrações. Então, foi testada a utilização de filtro de seringa de 0,45  $\mu\text{m}$  e fibra de vidro de 2,7  $\mu\text{m}$ , como mostra a **Figura 10**. Primeiramente, foi possível observar que há uma grande diferença entre as soluções filtradas presentes nas cubetas. A cubeta (A) apresenta uma solução mais límpida, obtida após a filtração com filtro seringa de 0,45  $\mu\text{m}$ . Em contrapartida, a solução da cubeta (B), obtida após filtração com fibra de vidro 2,7  $\mu\text{m}$ , apresentando partículas em suspensão, o que interfere na análise por UV-Vis, devido a interferência na passagem do feixe de luz e o direcionamento da luz pela amostra.

**Figura 10.** Comparação entre a filtração obtida entre o filtro de seringa (A) e fibra de vidro (B) com o solvente água.

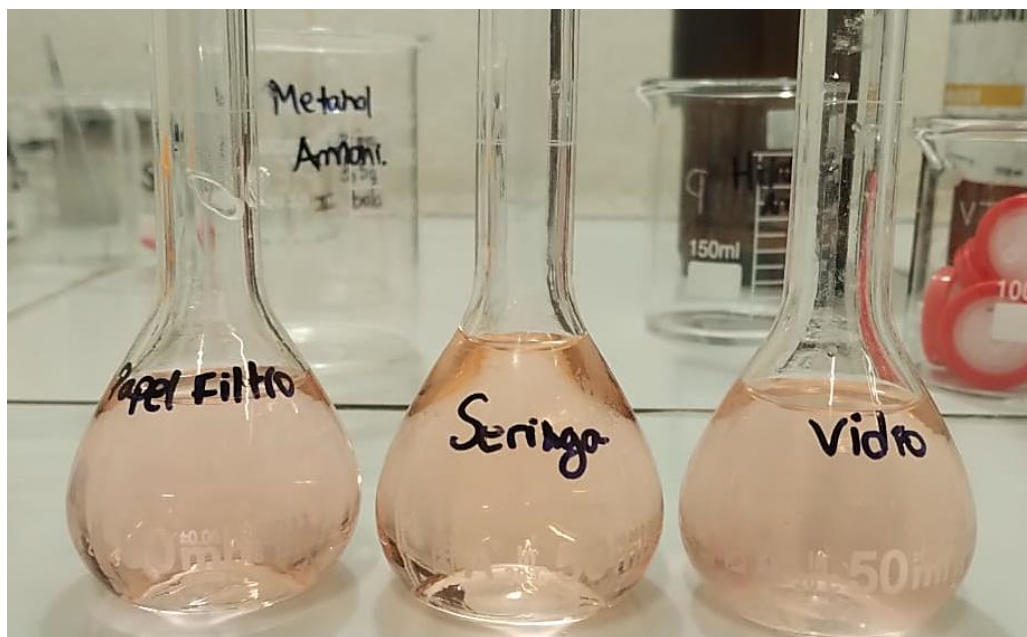


**Fonte:** A autora (2024).

### 5.3 EXTRAÇÃO DA AMOSTRA DE BALA A PARTIR DO MÉTODO DE REFERÊNCIA ADAPTADO

Considerando a necessidade de avaliar alternativas de filtrações para o método proposto, foi necessário observar o comportamento do método de referência ao empregar os outros sistemas de filtrações (filtro de seringa de  $0,45\ \mu\text{m}$  e a fibra de vidro de  $2,7\ \mu\text{m}$ ), com o intuito de efetuar comparações. É possível observar na **Figura 11** as soluções resultantes do método de referência quando foi utilizado os distintos sistemas de filtração. O filtro seringa de  $0,45\ \mu\text{m}$ , além de não reter o corante, resultou em uma solução com maior intensidade da coloração, maior volume de amostra e menor tempo, confirmando a sua eficácia na adaptação desse método. O papel de filtro 80 g e a fibra de vidro de  $2,7\ \mu\text{m}$  estiveram em maior exposição do solvente volátil, metanol amoniacal, em contato com o ar, o que ocasionou perdas na concentração do solvente em decorrência de processos demorados de extração.

**Figura 11.** Avaliação dos três sistemas de filtrações (papel de filtro, filtro de seringa e fibra de vidro) para o solvente metanol amoniacal.



Fonte: A autora (2024).

#### 5.4 COMPARAÇÃO ENTRE AMBOS OS MÉTODOS COM DIFERENTES SISTEMAS DE FILTRAÇÕES

A **Tabela 8** apresenta os resultados provenientes dos testes utilizando os diferentes sistemas de filtrações para ambos os métodos nas soluções de  $0,07 \text{ mg mL}^{-1}$ . É possível verificar uma maior concentração do analito (corante Vermelho allura Ac) quando foi utilizado o método proposto com filtro de seringa de  $0,45 \mu\text{m}$  e solvente de extração água, com a redução do tempo de extração. O método oficial brasileiro teve seu preparo de amostra com a duração de até oito horas seguidas para extrair todo o corante presente na bala alimentícia e o método proposto utilizou apenas cinco minutos para realizar a homogeneização e posterior análise no UV-Vis. Além disso, como a bala é totalmente dissolvida no método proposto com o solvente água, não houve perdas do analito durante o processo de extração.

**Tabela 8.** Resultados dos testes experimentais de filtrações para os métodos (referência do Instituto Adolfo Lutz, proposto e referência adaptado) a partir da média de suas concentrações e respectivos desvios-padrões na quantificação do Vermelho allura Ac em amostra de bala (Nível de confiança = 95%).

<b>Métodos experimentais</b>	<b>Concentração (mg mL<sup>-1</sup>) ± DP</b>
<b>Método de referência (papel de filtro)</b>	$1,3 \times 10^{-3} \pm 5,0 \times 10^{-4}$
<b>Método proposto (filtro de seringa)</b>	$3,3 \times 10^{-3} \pm 4,0 \times 10^{-3}$
<b>Método proposto (papel de filtro)</b>	-
<b>Método proposto (fibra de vidro)</b>	$1,2 \times 10^{-2} \pm 2,1 \times 10^{-2}$
<b>Método de referência adaptado (filtro de seringa)</b>	$1,6 \times 10^{-3} \pm 5,0 \times 10^{-4}$
<b>Método de referência adaptado (fibra de vidro)</b>	$1,9 \times 10^{-3} \pm 1,1 \times 10^{-2}$

**Fonte:** A autora (2024).

-: Não foi possível realizar a quantificação devido a turbidez da solução.

Ainda analisando a **Tabela 8**, é possível verificar que a concentração do corante na bala por meio do método de referência, ao utilizar o filtro seringa, foi superior que o método utilizando o papel de filtro. A solução filtrada em fibra de vidro apresentou leve turbidez, o que explicou a sua maior intensidade na absorbância no método de referência adaptado, pois apresentou partículas em suspensão, interferindo na análise por UV-Vis. Além disso, o método proposto ao utilizar filtro seringa apresentou uma concentração do corante Vermelho allura Ac o dobro do valor obtido no método de referência utilizando o mesmo tipo de filtração, no entanto, todas as amostras analisadas tiveram seus valores de concentrações inferiores a 0,30 mg mL<sup>-1</sup>, exigidas pela ANVISA.

## 5.5 CURVAS ANALÍTICAS DOS MÉTODOS REFERÊNCIA *VERSUS* PROPOSTO

Assim, definida a filtração adequada para o preparo de amostra, foram analisadas as soluções padrões das curvas analíticas, tanto para o método de referência quanto para o método proposto, utilizando filtração com filtro de seringa para ambos. Ao observar as soluções dos seis níveis das curvas analíticas, foi notado um aumento na intensidade da coloração

vermelha/rosa à medida que se aumentava a concentração do corante Vermelho allura Ac (**Figuras 12 e 14**). Essa tendência sugere uma relação proporcional entre a concentração e a linearidade.

As absorvâncias referentes as soluções da curva analítica para o método de referência, utilizando metanol amoniacal (**Figura 12**) foram plotadas, gerando uma curva com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9997 (**Figura 13**), confirmando que o método apresenta linearidade adequada.

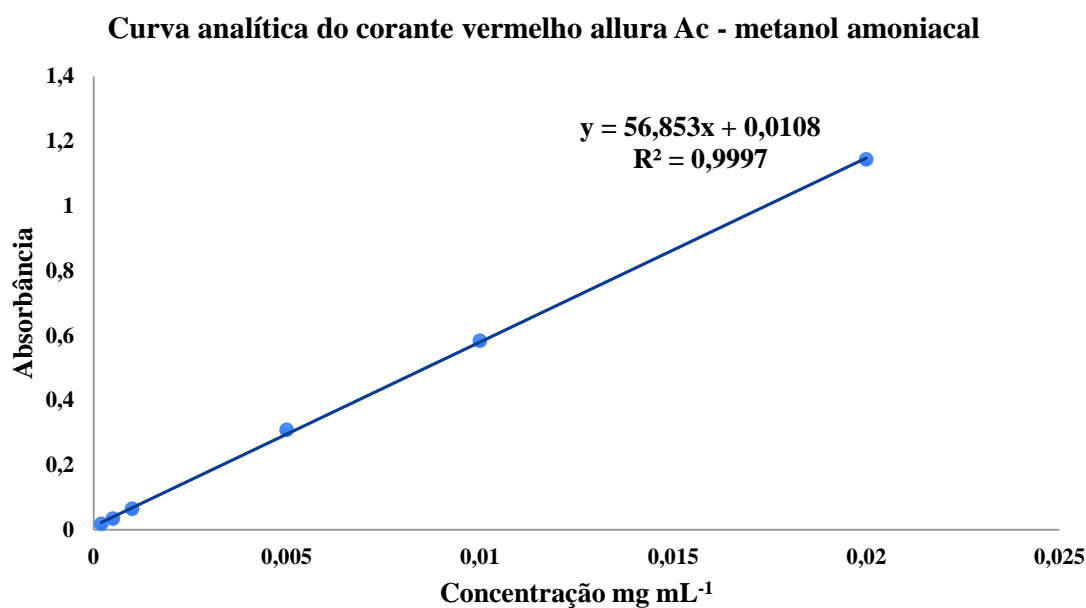
É válido ressaltar que o método de referência adaptado seguiu o mesmo procedimento descrito pelo método de referência, acrescentando apenas uma etapa para avaliação do efeito da filtração nas soluções, visto isso, foi utilizado a mesma curva analítica para ambos os protocolos analíticos.

**Figura 12.** Soluções utilizadas para construção da curva analítica com concentrações de  $2 \times 10^{-4}$ ;  $5 \times 10^{-4}$ ;  $1 \times 10^{-3}$ ;  $5 \times 10^{-3}$ ;  $1 \times 10^{-2}$  e  $2 \times 10^{-2}$  mg mL<sup>-1</sup> do padrão do corante Vermelho allura Ac (método de referência).



**Fonte:** A autora (2024).

**Figura 13.** Gráfico da curva analítica do padrão corante Vermelho allura Ac aplicando o método de referência do Instituto Adolfo Lutz (2008).



**Fonte:** A autora (2024).

As absorbâncias referentes as soluções dos seis níveis de concentrações da curva analítica para o método proposto com água (**Figura 14**) também foram plotadas, onde foi obtido o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9999 (**Figura 15**). Foi observado que ambas as curvas analíticas apresentaram coeficientes de determinação e eixos de absorbância/concentração estatisticamente semelhantes.

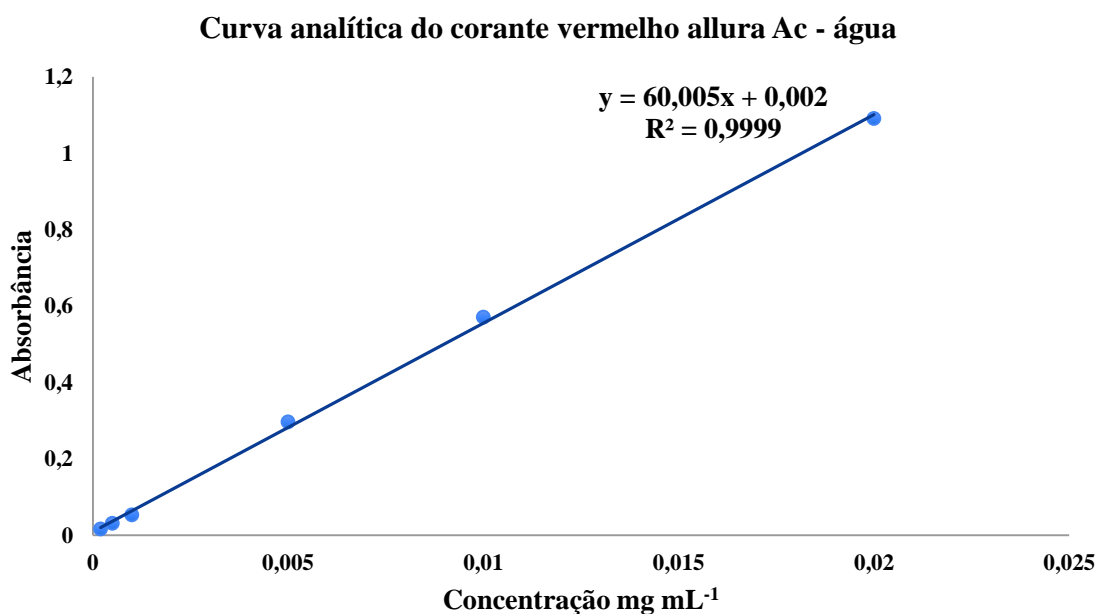
Sendo assim, esses resultados nos mostram a efetividade em substituir o solvente metanol amoniacal por água, assim como a substituição da extração do corante pela dissolução seguida de filtração em filtro seringa no preparo da amostra, contribuindo para os princípios da Química Verde.

**Figura 14.** Soluções utilizadas para construção da curva analítica com concentrações de  $2 \times 10^{-4}$ ;  $5 \times 10^{-4}$ ;  $1 \times 10^{-3}$ ;  $5 \times 10^{-3}$ ;  $1 \times 10^{-2}$  e  $2 \times 10^{-2}$  mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, do padrão do corante Vermelho allura Ac (método proposto).



Fonte: A autora (2024).

**Figura 15.** Gráfico da curva analítica do padrão corante Vermelho allura Ac aplicando o método proposto.



Fonte: A autora (2024).

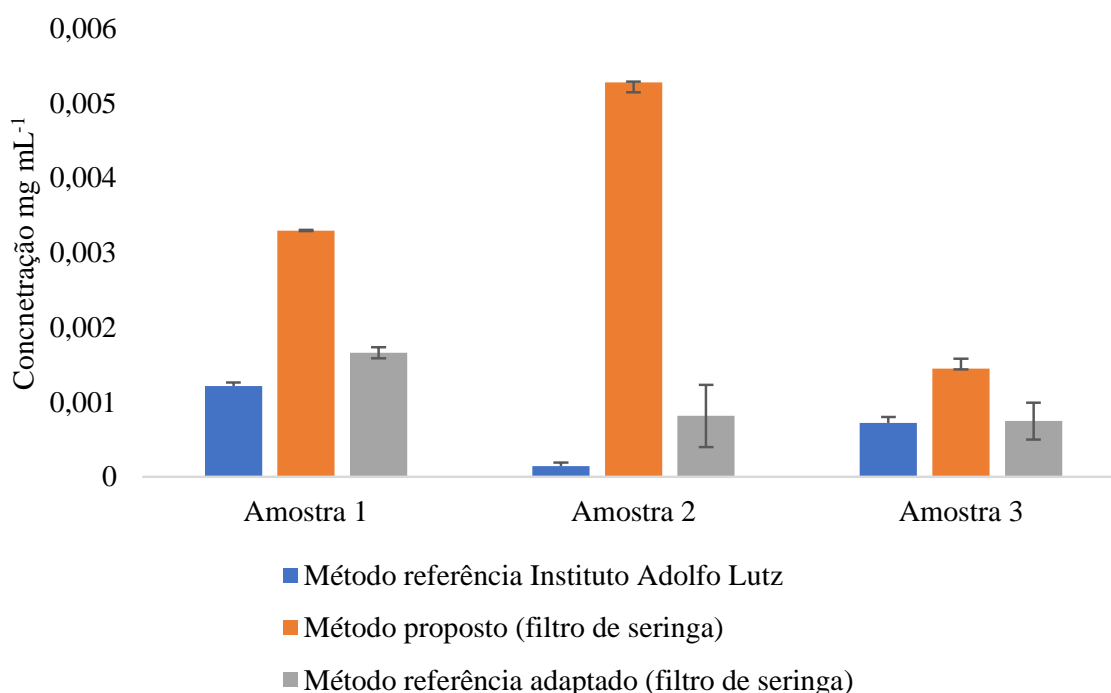
## 5.6 QUANTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS REAIS DE BALAS ALIMENTÍCIAS



Buscando avaliar a efetividade do método proposto frente aos três protocolos analíticos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz que emprega metanol amoniacal e papel de filtro; II) o método proposto utilizando água e filtro de seringa; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com filtro de seringa, foi realizado a quantificação de três amostras comerciais de balas e os resultados estão sumarizados na **Figura 16**.

Ao analisar os resultados, ficou evidente que as três balas apresentaram uma concentração de corante superior quando o método proposto, utilizando água e filtro de seringa, foi empregado. Esses resultados estão de acordo com os testes citados anteriormente, sugerindo que a metodologia analítica sustentável proposta é capaz de realizar a quantificação do corante Vermelho allura Ac em balas alimentícias de modo mais eficaz.

**Figura 16.** Comparação entre a média da quantificação ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) de três amostras reais de balas alimentícias com os métodos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz; II) o método proposto; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com adaptações.



**Fonte:** A autora (2024).

## 5.7 QUANTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS REAIS DE BALAS ALIMENTÍCIAS (MÉTODO PROPOSTO)

Uma vez confirmada a eficácia do método proposto, foi realizado a quantificação de dez amostras reais de balas comercializadas no Brasil, com a média e desvio padrão das triplicatas sumarizadas na **Tabela 9**.

**Tabela 9.** Concentração e desvio padrão ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) de dez amostras reais de balas alimentícias comercializadas no Brasil com o método proposto (Nível de confiança = 95%). %RSD = desvio padrão relativo.

Amostras	Concentração ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	%RSD
A1	$3,2 \times 10^{-3} \pm 1,0 \times 10^{-4}$	3,1
A2	$5,2 \times 10^{-3} \pm 4,0 \times 10^{-4}$	8,0
A3	$1,4 \times 10^{-3} \pm 2,0 \times 10^{-4}$	16,0
A4	$2,4 \times 10^{-3} \pm 1,0 \times 10^{-5}$	1,2
A5	$1,5 \times 10^{-3} \pm 2,0 \times 10^{-4}$	14,0
A6	$7,4 \times 10^{-3} \pm 1,0 \times 10^{-5}$	0,4
A7	$1,2 \times 10^{-3} \pm 1,0 \times 10^{-4}$	4,1
A8	$1,0 \times 10^{-3} \pm 1,0 \times 10^{-4}$	5,0
A9	$4,5 \times 10^{-3} \pm 3,0 \times 10^{-4}$	6,8
A10	$2,5 \times 10^{-3} \pm 1,0 \times 10^{-4}$	4,0

**Fonte:** A autora (2024).

As amostras A2, A6 e A9 apresentaram as maiores concentrações do analito (corante Vermelho allura Ac) com valores de  $5,2 \times 10^{-3} \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $7,4 \times 10^{-3} \text{ mg mL}^{-1}$  e  $4,5 \times 10^{-3} \text{ mg mL}^{-1}$ , respectivamente. Os desvios-padrões relativos (%RSD) referentes a quantificação das dez amostras comerciais avaliaram a precisão dos dados, fornecendo um coeficiente da variabilidade em relação à média das concentrações do corante Vermelho allura Ac ( $\text{mg mL}^{-1}$ ). Assim, os resultados obtidos indicam uma confiabilidade do método proposto, com baixos desvios-padrões (INMETRO 2006).

Com isso, foi possível monitorar os Limites Máximos Permitidos (LMP) estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Todas as amostras de balas analisadas estavam em conformidade com a legislação vigente da ANVISA, pois tiveram seus

valores de concentrações inferiores a  $0,30 \text{ mg mL}^{-1}$ , a partir de sua Ingestão Diária Aceitável (IDA) de  $7 \text{ mg kg}^{-1}$  de peso corpóreo.

## 6 CONCLUSÃO

Inicialmente surgiu uma necessidade em desenvolver metodologias analíticas visando o princípio da Química Verde, neste trabalho foi proposto o desenvolvimento de um método de preparo de amostras mais sustentável, utilizando água como solvente para determinar e quantificar o corante Vermelho allura Ac em balas alimentícias, esse método foi caracterizado pela redução do uso de solventes, menor tempo de análise e minimização na geração de resíduos frente o método de referência do Instituto Adolf Lutz que emprega metanol amoniacal.

Quando foi comparado a quantificação de balas dos três protocolos analíticos: I) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz que emprega metanol amoniacal; II) o método proposto utilizando água como solvente; III) o método de referência do Instituto Adolfo Lutz com adaptações, o método proposto demonstrou ser uma alternativa mais viável e em consonância com os princípios da Química Verde, substituindo o metanol amoniacal no processo de preparo de amostra por água.

Foi possível observar na aplicação dos diferentes métodos de preparo de amostras que a intensidade da cor da solução do corante era diretamente proporcional à concentração do analito, o que se mostrou fundamental para a determinação e quantificação do corante Vermelho allura Ac em amostras reais de balas alimentícias, a partir do uso de curvas analíticas, seguindo uma relação linear, de acordo com os valores estabelecidos pela ANVISA.

Assim, o método sustentável desenvolvido, possui elevado potencial de eficácia conforme evidenciado para quantificação desse corante em balas comercializadas no Brasil, atendendo aos princípios da Química Verde. Esses resultados evidenciam a importância dessa nova metodologia como alternativa para o controle de qualidade do corante artificial Vermelho allura Ac em balas alimentícias.

## REFERÊNCIAS

- Abadi, M. *et al.* An overview of liquid phase microextraction approaches combined with UV–Vis spectrophotometry. **Talanta**, v. 99, p. 1–12, set. 2012.
- ANVISA. Resolução RDC Nº 778, de 1º de março de 2023. Ministério da Saúde – MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Acesso em: jan./2024.
- Armenta S, Garrigues S and de la Guardia M. Green Analytical Chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 497–511, jun. 2008.
- Barciela, P.; Perez-Vazquez, A.; Prieto, M. A. Azo dyes in the food industry: Features, classification, toxicity, alternatives, and regulation. **Food and Chemical Toxicology**, v. 178, p. 113935, 1 ago. 2023.
- Boyles, C.; Sobek, S. J. S. Photostability of organic red food dyes. **Food Chemistry**, v. 315, p. 126249, jun. 2020.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes. Brasília, v.1, n. 23, p. 1–51, 2019.
- Brasil. **Lei Nº 6.437**, de 20 de agosto de 1977. Dispõe sobre infrações à legislação sanitária federal. Brasília, DF. Congresso Nacional, 1977. Acesso em: jan./2024.
- Brasil. **Lei Nº 986** de 21 de outubro de 1969. Dispõe sobre declarações dos corantes artificiais em seus respectivos rótulos. Congresso Nacional, 1969. Acesso em: jan./2024.
- Chen, J. *et al.* Application of UV-Vis and Infrared Spectroscopy on Wild Edible Boletus Mushrooms Discrimination and Evaluation: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 852–868, 2023.
- Cheng, F. *et al.* A direct and rapid method for determination of total iron in environmental samples and hydrometallurgy using UV–Vis spectrophotometry. **Microchemical Journal**, v. 179, p. 107478, ago. 2022.
- Deroco, P. B. *et al.* Selective and simultaneous determination of indigo carmine and allura red in candy samples at the nano-concentration range by flow injection analysis with multiple pulse amperometric detection. **Food Chemistry**, v. 247, p. 66–72, 1 maio 2018.
- EL-Gindy, A.; Hadad, G. M. Chemometrics in Pharmaceutical Analysis: An Introduction, Review, and Future Perspectives. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v. 95, n. 3, p. 609–623, 1 maio 2012.
- Enani. Estudo nacional de alimentação e nutrição infantil. Federal University of Rio de Janeiro. Prevalence of feeding indicators for children under 5 years of age. **Brazilian National Survey on Child Nutrition** (Enani-2019).
- Feketea, G.; Tsabouri, S. Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? **Food Chemistry**, v. 230, p. 578–588, set. 2017.

Gama, M. R. *et al.* An overview of the Brazilian contributions to Green Analytical Chemistry. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, 18 abr. 2019.

INMETRO. Norma brasileira ISO/IEC 17.025. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaios e calibrações. 2006.

Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análises de Alimentos. 1ed. Online. São Paulo: IAL, 2008.

Kaewput, W. *et al.* Inpatient Burden and Mortality of Methanol Intoxication in the United States. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 361, n. 1, p. 69–74, 1 jan. 2021.

Kraemer MVS, Fernandes AC, Chaddad MCC, Uggioni PL, Rodrigues VM, Bernardo GL, *et al.* Aditivos alimentares na infância: uma revisão sobre consumo e consequências à saúde. **Revista Saúde Pública**. 2022;56:32.

Kwon, Y. H. *et al.* Chronic exposure to synthetic food colorant Allura Red AC promotes susceptibility to experimental colitis via intestinal serotonin in mice. **Nature Communications**, v. 13, no. 1, p. 7617, 20 Dec. 2022.

Lehmkuhler, A. *et al.* Levels of FD&C certified food dyes in foods commonly consumed by children. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 112, p. 104649, 1 set. 2022.

Lenardão, E. J. *et al.* “Green chemistry”: os 12 princípios da química analítica verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, p. 123–129, 1 jan. 2003.

Li, J.; Wang, W.; LI, F. Analysis of the biodiesel blend ratio of blended fuel oils based on ultraviolet spectrophotometry. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, And Environmental Effects*, p. 1–14, 7 set. 2020.

Lima, L. S. Lei de Lambert–Beer. **Revista de Ciência Elementar**, v. 1, n. 1, 30 dez. 2013.

López-Lorente, Á. I. *et al.* The ten principles of green sample preparation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 148, p. 116530, mar. 2022.

Louzada *et al.* Impact of the consumption of ultra-processed foods on children, adolescents, and adults' health: scope review. **Reports in Public Health**, v. 37, n. 47, 2021.

Lyrio. V. V. M, *et al.* Comparando a eficiência analítica das técnicas FTIR, UV-VIS, CLAE-DAD E ESI(+)*MS* no estudo de corantes alimentares. **Química Nova**, v. 46, n. 5, p. 435-449, 2023.

Moneró, T. O; Santos, C. E. M. Aspectos Toxicológicos da Exposição ao Hidróxido de Amônio. *RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, v. 7, n. 1, p. 62-84, fev. 2014.

Nowak, P. M.; Wietecha-posluszny, R.; Pawliszyn, J. White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 138, p. 116223, maio 2021.

Oliveira, A. P. S. *et al.* Consumo de corantes artificiais em balas e chicletes por crianças de seis a nove anos. **Revista Analytica**, Rio de Janeiro, n.44, 2009.

Pacheco-fernández, I.; Pino, V. Green solvents in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 18, p. 42–50, 1 ago. 2019.

Palme, S. F.; Johnson, A. H.; G. R. Wyllie. Color, Candy, and Chromatography: A Combined TLC and HPLC Activity for the General Chemistry Laboratory. **Journal of Chemical Education**, 20 dez. 2023.

Park, J.-Y. *et al.* Recent advances on erythorbyl fatty acid esters as multi-functional food emulsifiers. **Food Chemistry**, v. 432, p. 137242, 30 jan. 2024.

Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kris, G. S. Introduction to Spectroscopy: a guide for students os organic chemistry. 4.ed. **Thomson Learning**, 2009.

Pietta, P.-G. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035–1042, jul. 2000.

Polônio, M. L. T.; Peres, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 8, p. 1653–1666, ago. 2009.

Pourreza, N.; Rastegarzadeh, S.; Larki, A. Determination of Allura red in food samples after cloud point extraction using mixed micelles. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1465–1469, jun. 2011.

Prado, M. A.; Godoy, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alim. Nutr.**, 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, abr. 2007.

PubChem. **Allura Red AC**. Disponível em:  
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Allura-Red-AC>>. Acesso em: jan./2024.

Rocha DL, Batista AD, Rocha FRP, Donati DL e Nóbrega JA. 2013. Greening preparação de amostras em análise inorgânica. **TrAC Trends in Analytical Chemistry** 45: 79-92.

Rocha, F. R. P.; Teixeira, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, out. 2004.

Santo, T. S.; Costa, L. DE M.; Silva, A. R. C. S. Prevalência de aditivos alimentares em produtos industrializados e a tendência clean label. Unicamp. Segurança Alimentar e Nutricional, v. 30, 18 out. 2023.

Shi, M. *et al.* Overview of sixteen green analytical chemistry metrics for evaluation of the greenness of analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 166, p. 117211, 1 set. 2023.

Skoog D. A., West D. M., Holler F. J., Crunch S. R. Introdução aos Métodos Espectroquímicos. In: SKOOG, Douglas A. Fundamentos de Química Analítica: tradução da 8ª edição norte-americana. 8. ed. [S.I.]: Cengage Learning, 2005. Cap. 24. p. 674-685.

Takahashi, M.Y.; Yabiku, H.Y; Marsiglia, D.A.P. Determinação quantitativa de corantes artificiais em alimentos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 48(112):7-15, 1988.

Thanasoulas, N. C. *et al.* Application of multivariate chemometrics in forensic soil discrimination based on the UV-Vis spectrum of the acid fraction of humus. **Forensic Science International**, v. 130, n. 2-3, p. 73–82, dez. 2002.

Thani, M. Z. A simple Spectrophotometric Evaluation Method Of Allura Red (E129) in The several Samples Using Cloud Point Extraction. **Al-Mustansiriyah Journal of Science**, v. 28, n. 3, p. 134, 3 jul. 2018.

Valdez, A. *et al.* Degradation Study of Artificial Food Dyes by Singlet Oxygen ( $^1O_2$ ) using a Spectral Simulator with an RGB LED Lamp. **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 4, p. 729–736, 2022.

Weerawatanakorn, M. *et al.* Reactivity and stability of selected flavor compounds. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 2, p. 176–190, jun. 2015.

Zieba-Palus, J. *et al.* The sequence of changes observed during degradation process of paper by the use of UV/VIS and FTIR spectrometry with application of the PCA and 2D correlation method for forensic purposes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1205, p. 127651, abr. 2020.

Zhang, S. *et al.* Determination of the food dye indigotine in cream by near-infrared spectroscopy technology combined with random forest model. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 227, p. 117551, fev. 2020.