

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências de Alimentos.

CAMPINAS - 1988

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO POTENCIAL
DE CORANTES ARTIFICIAIS POR CRIANÇAS
EM IDADE ESCOLAR.

Hônica Sztajn

Química

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Cecilia de Figueiredo Toledo

Parecer
Este exemplar corresponde a redação final da
tese defendida por Hônica Sztajn e aprovada pela
comissão Julgadora em 25.03.88.
Campinas, 25 de março de 1988.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

M. Cecília de F. Toledo

Presidente da Banca

Ao Nelson,

pelo amor e pela inspiração

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo, pela orientação desta tese e pela constante dedicação, disponibilidade e amizade.

Ao Prof. Sidney Ragazzi, professor do Depto. de Estatística - IMECC/UNICAMP, pela dedicação irrestrita durante o trabalho de coleta e avaliação de dados.

Aos Professores Délia Rodriguez-Amaya, Lúcia Maria Valente Soares e Waldemar Ferreira de Almeida, pelas sugestões apresentadas para a redação final da tese.

A minha família, sempre perto do coração, me incentivando e acolhendo sem restrições. A família Carvalho, presente a todo momento, pela amizade e pelo apoio.

A minha irmã, Paola, que sempre iluminou os meus caminhos.

Aos amigos Rosamaria, Karina, Ricardo, Caró e tantos outros, que sempre souberam transformar as situações mais difíceis em momentos doces, de plena convivência.

As "Meninas do Laboratório de Toxicologia", Rosana, Magali, Silvana e Doroti, pela força, amizade e boa convivência. Em especial, à Rosana, pelo apoio durante o trabalho experimental e entrevistas.

Aos colegas da Faculdade de Economia-Unicamp, que participaram das entrevistas junto às famílias de Barão Geraldo.

As Escolas de Barão Geraldo que prontamente aceitaram participar do trabalho através do fornecimento de informações valiosíssimas.

Ao Celso, pelo dedicado trabalho de datilografia.

A Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela boa acolhida e pelas facilidades oferecidas.

A FAPESP, pela concessão de auxílio à pesquisa, que tornou possível a realização deste projeto. Ao CNPq e à FAPESP, pelas bolsas de estudo concedidas.

A ABIA, pela colaboração na impressão da tese.

CONTEÚDO

	Página
Resumo.....	i
Summary.....	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Aditivos Alimentares - Avaliação de sua Segurança.....	4
2.2. Ingestão Diária Aceitável.....	8
2.3. Legislação Brasileira sobre Aditivos para Alimentos.....	9
2.4. Corantes Orgânicos Sintéticos Artificiais.....	12
2.4.1. Introdução.....	12
2.4.2. Regulamentação e Controle do Uso de Corantes.....	14
2.4.3. Corantes Artificiais para Uso em Alimentos no Brasil.....	19
2.4.3.1. Amaranto.....	21
2.4.3.2. Amarelo Crepúsculo.....	24
2.4.3.3. Azul Brilhante.....	25
2.4.3.4. Eritrosina.....	27
2.4.3.5. Indigotina.....	30
2.4.3.6. Ponceau 4R.....	31
2.4.3.7. Tartrazina.....	32

	Página
2.4.3.8. Vermelho 40.....	35
2.4.3.9. Outros.....	37
2.4.4. Métodos para Análise Qualitativa e Quantitativa.....	40
2.4.5. Métodos para Coleta de Dados de Consumo.	56
3. MATERIAIS E METODOS.....	62
3.1. Material.....	62
3.2. Métodos.....	64
3.2.1. Análise Qualitativa.....	64
3.2.1.1. Extração.....	64
3.2.1.2. Identificação.....	66
3.2.2. Análise Quantitativa.....	67
3.2.2.1. Extração.....	68
3.2.2.2. Quantificação.....	69
3.2.3. Coleta de Dados de Consumo dos Alimentos Coloridos Artificialmente.....	73
3.2.3.1. Amostragem da População.....	73
3.2.3.2. Coleta de Dados.....	77
3.2.4. Avaliação Estatística.....	82
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
4.1. Análise Qualitativa.....	83
4.2. Análise Quantitativa.....	89
4.3. Coleta de Dados de Consumo.....	110

4.4. Ingestão de Aditivo Corante. Comparação entre Diferentes Grupos da População-alvo.....	114
4.5. Ingestão de Corantes Individuais.....	118
5. CONCLUSOES.....	139
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	141

INDICE DE TABELAS

1. Distribuição de Alunos por Série e por Escola do Distrito de Barão Geraldo.....	75
2. Distribuição do Número de Alunos Sorteados por Série e por Escola do Distrito de Barão Geraldo....	77
3. Corantes Artificiais Encontrados em 83 Variedades de Produtos Comerciais.....	85
4. Corantes Artificiais Encontrados em 57 Variedades de Balas.....	86
5. Misturas de Corantes Presentes nos Produtos Analisados e Solventes Empregados na Separação por Cromatografia em Papel.....	91

6 a 15. Quantidade de Corante Presente em Pó para

Sobremesa de Gelatina

6. Sabor Morango.....	94
7. Sabor Framboesa.....	94
8. Sabor Cereja.....	95
9. Sabor Tutti-Fruti.....	95
10. Sabor Maçã.....	96
11. Sabor Uva.....	96
12. Sabor Tangerina.....	97
13. Sabor Abacaxi.....	97
14. Sabor Pêssego.....	98
15. Sabor Limão.....	98

16 a 23. Quantidade de Corante Presente em Preparado

Sólido Artificial para Refresco

16. Sabor Morango.....	99
17. Sabor Groselha.....	99
18. Sabor Uva.....	100
19. Sabor Laranja.....	100
20. Sabor Maracujá.....	101
21. Sabor Abacaxi.....	101
22. Sabor Limão.....	102
23. Sabor Guaraná.....	102

24. Quantidade de Corante Presente em Refrigerante,

Sabor Laranja.....	103
--------------------	-----

25. Quantidade de Corante Presente em Refrigerante, Sabor Uva.....	103
26. Quantidade de Corante Presente em Composto Alimentar, Sabor Morango.....	104
27. Quantidade de Corante Presente em Refresco Pronto da Marca "P".....	104
28. Quantidade de Corante Presente em Xarope da Marca "O".....	105
29. Recuperação de Corantes.....	109
30. Ingestão de Aditivo Corante através do Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas). Comparação entre Grupos.....	115
31. Ingestão de Aditivo Corante através do Consumo de Balas. Comparação entre Grupos.....	117
32. Relação entre Ingestão Potencial Semanal (IPS) e Ingestão Semanal Aceitável (ISA). Valores Percentuais.....	134

INDICE DE FIGURAS

1. Sistema para Eluição dos Corantes após Separação por Cromatografia Ascendente em Papel.....	72
---	----

2. Participação na Pesquisa de Consumo de Alimentos	
Coloridos. Número de Indivíduos X Idade.....	113
3. Participação na Pesquisa de Consumo de Balas.	
Número de Indivíduos X Idade.....	113
4. Frequência da Ingestão Potencial Semanal (IPS)	
de Corantes Artificiais através do Consumo de	
Alimentos Coloridos (exceto balas).....	119
5. Frequência da Ingestão Potencial Semanal (IPS)	
de Corantes Artificiais através do Consumo de	
Balas.....	120
6. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante	
Amaranto em Função da Idade.....	122
7. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante	
Amarelo Crepúsculo em Função da Idade.....	123
8. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante	
Indigotina em Função da Idade.....	124
9. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante	
Tartrazina em Função da Idade.....	125
10. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante	
Vermelho Sólido E em Função da Idade.....	126

11. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Amaranto em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.....	128
12. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Amarelo Crepúsculo em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.....	129
13. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Indigotina em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.....	130
14. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Tartrazina em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.....	131
15. Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Vermelho Sólido E em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.....	132

INDICE DE ANEXOS

1. Limites de Tolerância (Normas Reguladoras do Emprego de Aditivos para Alimentos - Decreto nº 55.871 de 26 de Março de 1965).....	157
---	-----

2. Portaria nº 2, de 28 de Janeiro de 1987	
Ministério da Saúde	
Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária/DINAL	
(Transcrição: Diário Oficial da União - 09/02/87)...	158
3. Regras a Serem Adotadas pelos Entrevistadores.....	160
4. Questionário. Pesquisa de Consumo de Alimentos.....	161
5. Lista dos Produtos a Serem Coleccionados.....	167
6. Valores de Rf de Corantes Padrões em Diferentes	
Sistemas de Solventes.....	168
7. Espectros no Infra-vermelho dos Corantes Padrões	
Laranja GGN e Amarelo Crepúsculo e do Corante	
Presente no Refrigerante de Laranja, Marca M.....	169

RESUMO

A ingestão potencial semanal de corantes artificiais por crianças na faixa etária de 3 a 14 anos, residentes no Distrito de Barão Geraldo, Campinas, S. P., foi estimada com base em dados de consumo médio de alimentos e em determinações analíticas dos corantes presentes nos produtos consumidos.

Foi feito um levantamento de todas as crianças, dentro da faixa etária de interesse, que frequentavam as Escolas de maternal, 1º e 2º graus no ano letivo de 1986, procedendo-se em seguida à amostragem proporcional desta população, distinguindo-se grupos de mesma idade, sexo e classe sócio-econômica. Os dados de consumo de alimentos coloridos artificialmente foram obtidos junto a cada família sorteada, através de entrevistas com aplicação de questionários e coleta de embalagens dos produtos coloridos consumidos durante o período de 14 dias.

Os corantes presentes nos alimentos apontados pela pesquisa de consumo foram identificados e quantificados por métodos que incluíram fixação em lâ pura ou em coluna de poliamida, cromatografia ascendente em papel e espectrofotometria.

Os resultados desta análise demonstraram que os corantes artificiais utilizados em 83 produtos comerciais distintos, incluindo pó para sobremesas de gelatinas, preparados sólidos artificiais para refrescos, refrescos prontos, xaropes, refrigerantes e 57 variedades de balas, eram permitidos para

uso no Brasil no ano da pesquisa (1986), estando as suas concentrações dentro dos parâmetros legais. Os corantes encontrados com maior frequência nos produtos e balas analisados foram, em ordem decrescente, Tartrazina (41%), Amarelo Crepúsculo (32%), Amaranço (24%), Indigotina (22%) e Vermelho Sólido E (14%).

Através de análise estatística foram feitas comparações entre Ingestões Potenciais Semanais (IPS) observadas para os diferentes grupos da população, tendo sido evidenciada uma maior exposição aos corantes por crianças mais novas e do sexo masculino, principalmente aquelas provenientes de classe sócio-econômica inferior.

A comparação dos valores estimados de Ingestão Potencial Semanal com os valores toxicologicamente aceitáveis de Ingestão Diária (IDA), mostrou que o consumo dos corantes Amaranço, Amarelo Crepúsculo, Indigotina e Tartrazina representaram, em média, 24%, 3%, 0,05% e 0,4% dos valores de suas IDAs, respectivamente.

Embora o valor de IDA pretenda representar um índice de segurança para o uso de aditivos na dieta, à luz dos conhecimentos toxicológicos atuais, a sua utilização para crianças tem sido sujeita a críticas. Portanto, as ingestões abaixo da IDA detectadas através do presente estudo, não representam necessariamente ausência de risco potencial para crianças devido ao consumo de alimentos coloridos artificialmente.

SUMMARY

The Potential Weekly Intake (PWI) of artificial food colours by 3 - 14 years old children, living in the District of Barão Geraldo, Campinas, S.P., Brazil, was estimated on the basis of average consumption data of artificially coloured food and analytically determined colour concentration in foodstuffs ingested.

A survey was conducted on children belonging to the age class concerned, who attended pre-school, primary and secondary school, in the school year of 1986. A proportional sampling of the population was made and groups of the same age, sex and economical class were distinguished. Coloured food consumption data were obtained, together with the chosen family through recall interviews and collection of the packages and/or labels of the coloured foods consumed during a two weeks period.

The colours found in the individual types of foods detected through the consumption survey were identified and determined by methods that included wool dyeing and polyamide column extractions, ascending paper chromatography and spectrophotometry.

The results showed that all artificial colours used in the composition of 83 commercial products as jellies, juices, soft drinks, sirups and 57 different candies, were permitted for use in Brazil the year the research was conducted (1986), in

amounts below those prescribed by law. The colours more frequently found in the analysed foods were, in descending order: Tartrazine (41%), Sunset Yellow (32%), Amaranth (24%), Indigotine (22%) and Fast Red E (14%).

Statistical analysis performed to compare PWI for different population groups demonstrated that young male children specially from lower social class, were those more exposed to artificial colours.

Comparison of the estimated PWI with toxicologically acceptable daily intakes (ADI) showed that the consumption of Amaranth, Sunset Yellow, Indigotine and Tartrazine represented, approximately, 24%, 3%, 0,05% and 0,4% of the actual ADI values, respectively.

Although the ADI figure is intended to represent an index of safety for chemical additives in the diet, in the light of all toxicological information available, its usefulness when applied to children has been questioned. Therefore, the intake levels determined during the present study, wich are lower than the ADI values, do not necessarily represent a lack of potential risk to children consuming artificially coloured foods.

1. INTRODUÇÃO

Um dos mais polêmicos avanços alcançados pela indústria de alimentos foi o emprego de aditivos químicos, cuja finalidade, entre outras, é modificar as propriedades organolépticas do alimento e prolongar a sua vida de prateleira. Embora, sob o ponto de vista tecnológico, sejam inegáveis os benefícios alcançados com o uso de aditivos em alimentos, existe uma preocupação constante quanto aos riscos toxicológicos potenciais decorrentes da ingestão diária destas substâncias químicas.

Na verdade, o tópico "Aditivos Alimentares" é um assunto que gera bastante controvérsia envolvendo indústrias, governos e consumidores. Entre a classe dos aditivos alimentares, os corantes artificiais, em particular, têm sido objeto de muitas críticas, pelo fato do seu emprego ser desnecessário em uma grande variedade de alimentos, justificando-se seu uso apenas por questão de costume e hábitos alimentares. Em geral, o emprego de corantes em alimentos se apóia na importância da aparência de um produto para a sua aceitabilidade, visando atingir, principalmente, o consumidor infantil que é muito atraído pelas cores.

Infelizmente, o consumidor por si só é incapaz de controlar a própria exposição aos diferentes aditivos presentes em quantidades pequenas nos alimentos e, conseqüentemente, não pode avaliar se o BENEFÍCIO recebido justifica o RISCO a que está exposto.

Reconhece-se que a quantidade de um aditivo que o corpo humano pode tolerar, sem risco à saúde, representa o nível de ingestão admissível, isto é, a Ingestão Diária Aceitável (IDA) definida como "a quantidade de substância que, ingerida por toda a vida pelo homem, parece não oferecer riscos à saúde humana, à luz dos conhecimentos toxicológicos atuais, expressa em mg/kg de peso corpóreo". A IDA é estimada visando garantir uma segurança, principalmente para adultos, sendo ainda discutível a sua utilização nas avaliações de risco de ingestão de substâncias químicas por crianças.

A tolerância, ou a quantidade máxima de um aditivo permitido em um produto alimentício, tem como base o emprego dessa substância de acordo com a boa tecnologia de fabricação, observados os aspectos toxicológicos relacionados com esse aditivo. Um aspecto fundamental é o cálculo de sua contribuição real com relação à dieta total diária do homem. Este valor deverá, portanto, ser comparado com a Ingestão Diária Aceitável.

O Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares recomenda que o governo de cada país verifique periodicamente o consumo total de cada aditivo, com base em estudos da dieta a nível nacional, para se determinar se a ingestão total do aditivo não ultrapassa a IDA.

O presente trabalho teve como objetivo final estimar a ingestão diária/semanal de corantes artificiais, resultante do hábito alimentar de crianças de uma dada região e de

determinada faixa etária. Foi feita uma amostragem da população infantil do Distrito de Barão Geraldo (Campinas, S.P.), 3 a 14 anos, junto a qual foram levantados os dados de consumo de produtos alimentícios coloridos artificialmente, através de entrevistas conduzidas no sentido da lembrança mais acurada quanto ao que havia sido ingerido. Paralelamente, foram realizadas análises qualitativas e quantitativas dos corantes presentes nos produtos consumidos por esta população-alvo.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. Aditivos Alimentares - Avaliação de sua Segurança

Os aditivos alimentares constituem uma classe heterogênea de substâncias que são adicionadas intencionalmente ao alimento seja para conservá-lo ou aumentar o seu tempo de prateleira, para melhorar a sua aceitabilidade perante o consumidor através de modificações em suas características organolépticas, ou simplesmente para aumentar a variedade e disponibilidade de produtos alimentícios no mercado. A indústria de alimentos, que nas últimas três décadas cresceu e diversificou-se, tem empregado em seus produtos um número cada vez maior de aditivos alimentares, originando um novo problema para a saúde pública (TOLEDO, 1987). Considerando este fato, tornou-se necessário avaliar cuidadosa e criteriosamente a segurança destes compostos químicos para uso na alimentação humana, assim como estabelecer os seus limites máximos para emprego nos alimentos específicos, levando em conta as necessidades tecnológicas do aditivo e sua segurança para o Homem. Infelizmente, poucos países no mundo possuem condições de avaliar toxicologicamente os milhares de aditivos alimentares e determinar os níveis ótimos para o seu uso, de acordo com uma "boa prática de fabricação".

Devido à grande variedade de problemas que os diversos países enfrentavam para a aceitação de seus produtos alimentares no

comércio internacional, foi montado o sistema do Codex Alimentarius que se constitui numa compilação de todos os padrões de alimentos, códigos de práticas, diretrizes e recomendações da Comissão FAO/OMS do Codex Alimentarius. O estabelecimento de padrões internacionais para alimentos tem, como objetivo maior, a proteção da saúde do consumidor e a prática honesta no comércio de alimentos, considerando o equilíbrio da relação RISCO X BENEFÍCIO. O trabalho do Codex influenciou enormemente o aperfeiçoamento das legislações nacionais no que diz respeito à informação ao consumidor, à proteção da saúde do consumidor através do estabelecimento de boas práticas de fabricação, ao controle de qualidade do produto e à harmonização dos conceitos e definições necessários ao entendimento das questões envolvidas (NAZARIO, 1987).

A Comissão Mista FAO/OMS do Codex Alimentarius é um organismo subsidiário da FAO e da OMS. O trabalho do Codex é exercido através de Comitês formados por representantes delegados que falam em nome das instituições ou governos dos países a que pertencem (NAZARIO, 1987). Um dos mais importantes Comitês subsidiários do Codex Alimentarius é o Comitê de Aditivos para Alimentos e Contaminantes (CCFA), estabelecido desde 1962, que se reúne periodicamente na Holanda. Este Comitê de Aditivos para Alimentos baseia as suas decisões em dados fornecidos pelos delegados de cada governo, assim como nas recomendações e investigações do JECFA - Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives - organismo assessor do CCFA. O

Comitê de Aditivos para Alimentos tem sob sua responsabilidade o estabelecimento do nível máximo de cada aditivo alimentar permitido em cada produto específico, assim como o nível máximo permitido de contaminantes (inclusive os ambientais); avaliação das listas de aditivos e contaminantes indicando as prioridades para as investigações do JECFA; revisão das especificações do JECFA sobre identidade e pureza dos aditivos e, finalmente, considerações sobre os métodos de análise para as determinações de aditivos e contaminantes em alimentos (FAO/WHO, 1985).

O JECFA, organismo assessor do CCFA, é um grupo de peritos escolhidos da equipe de consultores da FAO e da OMS. Os membros desta equipe de especialistas, que se reuniram pela primeira vez em 1956, servem exclusivamente aos propósitos da Organização sem receber instruções de governos, autoridades ou instituições. Destacam-se entre as atribuições do JECFA:

- a) formular os princípios gerais que governam o uso de aditivos, com base em considerações como inocuidade, pureza, limite de tolerância do aditivo, levando em conta razões sociais, psicológicas e tecnológicas para o seu emprego;
- b) recomendar métodos uniformes para exames físicos, químicos, bioquímicos, farmacológicos e toxicológicos dos aditivos bem como de qualquer produto de degradação formado durante o processamento do alimento;

c) estabelecer critérios de avaliação e interpretação dos resultados de estudos toxicológicos;

d) elaborar monografias das substâncias avaliadas toxicologicamente informando, dentre vários dados, a IDA (Ingestal Diária Aceitável) estabelecida para cada aditivo (FAO/WHO, 1985; NAZARIO, 1987).

O Brasil segue as recomendações do Codex Alimentarius. Alguns técnicos especialistas brasileiros já foram convidados pela Organização Mundial da Saúde para participar das reuniões do JECFA.

Outras duas organizações internacionais com objetivos semelhantes aos do Codex Alimentarius incluem:

- Comitê Científico para Alimentos (SCF) da Comunidade Económica Europeia (CEE). Um dos objetivos deste Comitê é harmonizar os diferentes tipos de práticas comerciais entre os membros da Comunidade Económica Europeia. O Comitê recomenda limites para a ingestão diária aceitável (IDA) e faz revisões periódicas para assegurar a qualidade dos aditivos (BERDICK, 1982).

- Centro Internacional para Pesquisa de Câncer da Organização Mundial de Saúde (IARC): Esta instituição de pesquisa avalia o risco de carcinogenicidade de substâncias químicas para o homem. Após os estudos, são publicadas monografias (BERDICK, 1982).

2.2. Ingestão Diária Aceitável

O potencial tóxico de um aditivo depende de propriedades intrínsecas ao composto químico e a seus metabólitos, e também de sua capacidade de acúmulo no organismo. Aliado a isto, cada espécie viva exposta a um dado xenobiótico apresenta diferentes reações que variam com a dose, idade, sexo, estado nutricional e fatores genéticos.

A avaliação toxicológica de aditivos para alimentos visa determinar o potencial tóxico de um aditivo e a dose que evidencia este potencial. Para o estabelecimento da segurança de um aditivo, os resultados dos ensaios toxicológicos são interpretados, determinando-se um nível sem efeito adverso observável (NOAEL - "no observable adverse effect level"), utilizado no cálculo da ingestão diária aceitável (IDA) para cada aditivo. Os valores de IDA são obtidos dividindo-se os valores da "dose sem efeito adverso" (NOAEL) por um fator de segurança arbitrário que procura considerar, entre outros, a diferença de sensibilidade entre espécies animais e o homem, a heterogeneidade da população humana e a possibilidade de sinergismo entre substâncias químicas (VETTORAZZI, 1980; TOLEDO, 1987).

Os valores de IDA somente são atribuídos àquelas substâncias que apresentam dados sobre investigações toxicológicas de curto ou longo prazo, e/ou àquelas que apresentam informações suficientes sobre a bioquímica e decomposição metabólica do

composto. Dependendo dos dados toxicológicos disponíveis, a IDA atribuída a um aditivo pode ser:

- IDA incondicional: as investigações sobre a substância são consideradas completas;
- IDA não especificada: em face às informações toxicológicas disponíveis sobre o aditivo e ao seu emprego de acordo com a boa prática de fabricação, o estabelecimento de um valor numérico para a IDA é considerado desnecessário;
- IDA temporária: atribuída por um período limitado de tempo, até que se conclua os estudos toxicológicos necessários.

Em alguns casos, os dados toxicológicos disponíveis não são suficientes para se estabelecer a segurança de um aditivo, não sendo possível a atribuição de um valor numérico de IDA (FAO/WHO, 1985).

Os valores de Ingestão Diária Aceitável são utilizados na avaliação de limites de tolerância para os aditivos, de forma a garantir ingestões abaixo da IDA. Estes limites de tolerância são determinados levando-se em conta a necessidade tecnológica e a ingestão diária potencial do aditivo decorrente de todas as fontes .

2.3. Legislação Brasileira sobre Aditivos para Alimentos

No Brasil, a legislação sobre alimentos está sob a responsabilidade do Ministério da Saúde.

A Tabela de Aditivos Tolerados para Alimentos no Brasil foi apresentada em 1961, no documento legal "Normas Reguladoras do Emprego de Aditivos", Decreto Federal nº 50.040/61. Este decreto foi, pouco tempo depois, substituído pelo Decreto nº 55.871/65 (Anexo 1), de 26 de março de 1965, mais atualizado, conservando porém a forma de legislar através de resoluções, emanadas pela então Comissão Permanente de Aditivos para Alimentos (CPAA). A Tabela II deste mesmo decreto, referente a resíduos de pesticidas em alimentos, foi ampliada e reformulada através da Resolução nº 23/66 (1966) com base, principalmente, na legislação norte-americana. Nesta época, nenhum país latino-americano tinha condições de elaborar um documento baseado em dados experimentais próprios (ALNEIDA, 1984).

Em 1969, foi promulgado pelo Ministério da Saúde, em âmbito geral, o 1º Decreto Federal sobre Alimentos, denominado "Normas Básicas sobre Alimentos" (Decreto-lei nº 986/69). Dentro do corpo deste documento foi prevista a criação de uma comissão denominada Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) que aglutinou todo o acervo da antiga CPAA. A CNNPA teve seu campo de ação ampliado legislando sobre todos aspectos relacionados com alimentos.

Em 1977 e em 1978, o Ministério da Saúde baixou as portarias nºs 360/Bsb/77 e 204/Bsb/78 aprovando o regimento interno do Conselho Nacional de Saúde e das Câmaras Técnicas, respectivamente. Assim, a Câmara Técnica de Alimentos (CTA) substituiu e incorporou todo acervo da Comissão Nacional de

Normas e Padrões para Alimentos, publicando suas deliberações através de Resoluções Normativas. Em fins de 1980, a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária desativou as Câmaras Técnicas, sendo as suas atividades interrompidas (ALMEIDA, 1984).

Atualmente, a Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos (DINAL), ligada ao Ministério da Saúde, é o organismo responsável em assegurar a qualidade e a sanidade dos alimentos oferecidos à população. Segundo o seu diretor, Dr. F. L. de Almeida (ALMEIDA, 1987), a DINAL promoveu o envolvimento de órgãos ligados direta ou indiretamente à qualidade dos alimentos, com o intuito de descentralizar as atividades ao nível de estados e municípios, conferindo-lhes maior autonomia em vigilância sanitária e registro de produtos alimentícios, facilitando a fiscalização e o controle dos estabelecimentos alimentares e produtos comercializados. Assim, as Secretarias de Saúde dos Estados e Municípios, Ministérios da Agricultura, Indústria e Comércio e Minas e Energia, Universidades, Laboratórios Credenciados e outros, desenvolverão atividades conjuntas nas áreas de normatização, fiscalização e controle dos produtos alimentícios.

Encontra-se também sob a coordenação da DINAL a criação de uma Comissão de Alimentos e Sub-Comissões Específicas, constituídas por Técnicos Especialistas de várias instituições públicas e privadas, nacionais e internacionais,

para atuarem na normatização de produtos alimentícios à semelhança das antigas Câmaras Técnicas.

2.4. Corantes Orgânicos Sintéticos Artificiais

2.4.1. Introdução

A coloração de alimentos é uma prática estabelecida desde os tempos pré-históricos, sendo utilizados para tal fim produtos de origem mineral, vegetal ou animal. As especiarias e os condimentos já eram empregados com a finalidade de colorir os alimentos desde, aproximadamente, 3.000 anos atrás. Por terem assumido um papel muito importante no desenvolvimento das civilizações mais modernas, os condimentos e especiarias foram gradualmente substituídos por outros produtos com o objetivo específico de dar cor aos alimentos (IFT, 1986).

Nos séculos XVIII e XIX, produtores de alimentos perceberam a influência da cor na aparência dos seus produtos e na sua importância perante o consumidor e exploraram o uso dos corantes no sentido de mascarar os alimentos de baixa qualidade ou mesmo aqueles estragados. Alguns atos praticados em Londres e relatados por Frederik Accum em 1820 (IFT, 1986), foram:

- A cor verde dos pickles era realçada com sulfato de cobre que, sendo um veneno, matou desconhecido número de consumidores;

- Para conferir várias cores e tonalidades aos "docinhos caseiros", eram utilizados sais de chumbo e cobre que são altamente tóxicos.
- Folhas secas e partidas eram coloridas com óxido de cobre, tóxico, e vendidas como chá chinês.
- Folhas de chá usadas eram coloridas com chumbo negro, secas, e vendidas como novas.
- O tom alaranjado de certos queijos era realçado adicionando-se o venenoso "chumbo vermelho".

Doutros materiais, como cromato de chumbo, arsenito de cobre, "vermellion" (HgS) e indigo também foram utilizados para colorir os alimentos.

Infelizmente, a repercussão das denúncias de Mr. Accum foi pequena perante o público inglês, uma vez que, anos mais tarde, ainda era comum a prática de se colorir o leite de amarelo quando este estava mais aguado que o padrão normal (IFT, 1986).

O uso de materiais sintetizados especialmente para colorir alimentos foi iniciado em 1856, após a síntese do corante "mauve", derivado do alcatrão da hulha, por Sir Willian Henry Perkins. A partir de então, os extratos de cores naturais foram progressivamente substituídos por corantes orgânicos sintéticos artificiais. Os corantes sintéticos apresentavam maior uniformidade, estabilidade e poder de tingimento em relação aos corantes obtidos a partir de plantas, minerais ou

animais, sendo seu uso rapidamente absorvido pela indústria, estimulando assim, a descoberta de outros corantes derivados da hulha. Hoje, estes compostos são produzidos a partir de outras fontes, sendo que a hulha não é mais utilizada (IFT, 1986).

A fim de demonstrar o efeito psicológico da cor em um alimento, HALL (1958), realizou uma experiência que consistiu em oferecer a um grupo de provadores, sorvetes incolores de vários sabores solicitando que os mesmos fossem identificados. Quando os vários sorvetes apresentavam cor branca, a maioria dos provadores os identificou erroneamente; quando o sorvete de limão foi colorido de púrpura, apenas 47% o identificaram como sendo de sabor limão. Segundo Hall, estes resultados caracterizaram a importância da cor para a identificação do sabor de um alimento.

Aproximadamente 20 corantes orgânico-sintéticos artificiais são empregados em alimentos nas principais nações desenvolvidas sendo que, em comparação com outros aditivos, a maioria deles foi ou está sendo submetida a estudos de toxicidade.

2.4.2. Regulamentação e Controle do Uso de Corantes

O emprego de corantes derivados da hulha para colorir alimentos foi primeiramente legalizado nos Estados Unidos, em 02 de agosto de 1886, quando o Congresso autorizou o uso do corante artificial na manteiga. O segundo ato, em 06 de junho

de 1896, reconhecia a inclusão de um corante artificial na lista dos constituintes do queijo (ZUCKERMAN, 1964).

No começo do Séc. XX (junho de 1906), o Departamento de Química do Ministério da Agricultura dos Estados Unidos passou a controlar o emprego de novos compostos químicos, cujo uso e quantidades utilizadas estavam aumentando rapidamente. Assim, através do "Federal Food and Drug Act", o uso de corantes em alimentos passou a ser supervisionado pelo Governo. Até então, não havia qualquer controle, uma vez que este aditivo era considerado inofensivo se preparado e utilizado devidamente. O uso indiscriminado de corantes e produtos de qualidade questionável, trazidos ao conhecimento do público através de grande publicidade, foram os grandes responsáveis por estas resoluções do Governo.

Sob a filosofia de que o uso de corantes artificiais poderia vir a ser um problema a afetar a saúde de toda a nação, o Congresso Americano autorizou o Departamento de Química a incluir em seu orçamento uma verba que habilitava a Secretaria de Agricultura a investigar e determinar a relação dos corantes, dentre outros aditivos alimentares, com a digestão e a saúde da população, assim como autorizava o estabelecimento dos princípios que regiam o seu uso. Foram feitos estudos toxicológicos utilizando-se 16 corantes artificiais sobre os quais não havia opiniões desfavoráveis, sendo somente 7 recomendados para uso em alimentos. Esta lista de 7 nomes, obtida a partir da "Food Inspection Decision nº 76", em 13 de julho de 1907, foi a primeira

relação de "CERTIFIED COLOURS" que incluía os corantes Ponceau 3R, Amarantho, Eritrosina, Laranja I, Naftol Yellow S, Verde nº 2 e Indigotina (ZUCKERMAN, 1964). Esta lista era provisória, uma vez que os testes toxicológicos apresentavam dados que permitiam a retirada de alguns corantes e a inclusão de outros. Mais tarde, foram realizadas provas laboratoriais de resposta fisiológica a curto prazo em coelhos, cães e seres humanos. Dos 7 corantes recomendados anteriormente, somente dois ainda são permitidos nos Estados Unidos (Eritrosina e Indigotina), (IFT, 1980).

De 1907 a 1914 não foram poupados esforços para manter as resoluções relativas à pureza e à qualidade dos corantes produzidos, também incluídas no Ato de 1907. Foram autorizadas importações de matérias-primas, intermediários e, até mesmo, do próprio corante, para se seguir o padrão determinado. Com o início da 1ª Guerra Mundial, em 1914, as importações foram canceladas e a indústria americana se viu forçada a produzir os corantes permitidos com pureza tal que obedecesse aos padrões impostos pela Secretaria de Agricultura (ZUCKERMAN, 1964).

No início da década de 50, quando se pensava que todos os problemas relativos à legislação de corantes estavam resolvidos, surgiram casos de alergia e de intoxicação em crianças que haviam ingerido alimentos contendo excesso de corantes (IFT, 1980). Na mesma época, com o aperfeiçoamento das provas toxicológicas realizados durante períodos mais longos, verificou-se a necessidade de se submeter os

corantes, considerando inofensivos até aquela data, a novas avaliações, permitindo, portanto, maiores conhecimentos sobre eles. Podemos citar o caso dos azo corantes cuja analogia estrutural de alguns deles com carcinógenos conhecidos, como o aminoazobenzeno, tem sido uma das principais preocupações toxicológicas dos últimos anos. Nesse sentido, o uso de azo corantes em alimentos já teve sérias consequências no passado, quando foi observado o desenvolvimento de carcinogênese hepática pelo uso do corante Amarelo Manteiga ("butter yellow"). Atualmente, o emprego deste corante é proibido em alimentos.

A partir de 1938, a Administração de Drogas e Alimentos dos Estados Unidos (FDA) passou a testar a segurança dos corantes (ZUCKERMAN, 1964). Hoje, neste país, a declaração do corante no rótulo é obrigatória; caso o corante utilizado tenha sido a Tartrazina, é obrigatório especificar-se no rótulo que este aditivo pode causar alergia em pessoas sensíveis.

Em 1960 o "U. S. Department of Health, Education and Welfare" definiu, em forma de lei, "ADITIVO CORANTE" como sendo "qualquer tintura, pigmento ou outra substância feita ou obtida a partir de vegetal, animal, mineral ou outra fonte, capaz de colorir um alimento, medicamento ou cosmético, ou qualquer parte do corpo humano". Esta lei incluiu a "Delaney Clause" especificando que nenhum aditivo poderia ser utilizado em alimentos se houvesse suspeitas de indução de câncer em animais ou humanos (IFT, 1986).

Atualmente, 7 corantes sintéticos são permitidos para colorir alimentos nos Estados Unidos (Amarelo Crepúsculo, Azul Brilhante, Eritrosina, Indigotina, Tartrazina, Verde Sólido e Vermelho 40), não havendo limite máximo de tolerância (BERDICK, 1982).

A lei que controla a pureza de alimentos na Inglaterra data de 1860 e não faz qualquer referência específica ao uso de corantes. O "Food and Drug Act" deste país, datado de 1875, foi modernizado em 1955, sendo o capítulo sobre corantes editado somente em 1973. Os japoneses controlam o uso de corantes em alimentos através da "Food Sanitation Law", de 1947. A Alemanha ocidental baseou seu "Farbstoffverordnung", de 1959, nos trabalhos de uma Comissão para Corantes, mas também possui uma lei para Alimentos, datada de 1974. O Canadá opera sob o "Food and Drugs Act and Regulations" (Health Protection Branch - HPB, 1979). A Índia possui uma lei quanto à Prevenção de Adulteração de Alimentos, datada de 1954 e revisada em 1971. Na Itália, a legislação para alimentos foi atualizada em 1962; na Dinamarca, em 1973 e na Bélgica, em 1974. Os franceses têm atuado sob uma Lei para Alimentos, datada de 1905, recorrendo a repetidas emendas até os dias de hoje (BERDICK, 1982).

Alguns países, como a Noruega e Suécia, já proibiram o uso de corantes artificiais em alimentos, sendo que na Noruega 18 corantes naturais são permitidos e, destes 18, 6 têm seu uso muito restrito. O Japão permite uma lista de 11 corantes sintéticos, tendo sido 3 deles abandonados voluntariamente

pelos fabricantes dos produtos alimentícios. A Inglaterra permite 20 corantes sintéticos, dos quais 18 são realmente utilizados e 6 têm a sua aplicação restrita a determinados produtos (BERDICK, 1982). Os países da Comunidade Econômica Européia e também a Austria obrigam que os rótulos dos produtos informem os consumidores a respeito dos corantes presentes.

2.4.3. Corantes Artificiais para Uso em Alimentos no Brasil

Os corantes atualmente permitidos pela Legislação Brasileira para uso em alimentos e bebidas são, de acordo com o anexo II da Resolução nº 44/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde, classificados da seguinte forma:

- C.I: CORANTE ORGANICO NATURAL: Aquele obtido a partir de vegetal ou, eventualmente, de animal, cujo princípio corante tenha sido isolado com o emprego de processo tecnológico adequado.
- C.II: CORANTE ORGANICO SINTETICO ARTIFICIAL: Aquele obtido por síntese orgânica, mediante o emprego de processo tecnológico adequado e não encontrado em produtos naturais.
- C.III: CORANTE ORGANICO SINTETICO IDENTICO AO NATURAL: É o corante cuja estrutura química é semelhante à do princípio isolado do corante orgânico natural.

- C.IV: CORANTE INORGANICO (PIGMENTOS): Aquele obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação adequados a seu emprego em alimentos (ABIA, 1978).

Os alimentos coloridos com corantes artificiais devem ser rotulados de "COLORIDO ARTIFICIALMENTE" e ter relacionado na lista de aditivos e ingredientes, o código de rotulagem C.II.

O Decreto 55.871, de 26 de março de 1965, estabeleceu limites de tolerância para os dez corantes artificiais então permitidos para uso no Brasil, a saber: Amarelo Sólido, Tartrazina, Amarelo Crepúsculo, Amaranto, Eritrosina, Escarlata GN, Laranja GGN, Vermelho Sólido E, Azul de Indigotina e Azul de Indantreno, assim como os alimentos que poderiam contê-los (Anexo 1). Posteriormente, os corantes Azul Brilhante, Ponceau 4R e Vermelho 40 foram anexados ao Decreto de 1965 através das Resoluções nºs 9/69, 16/71 e 19/72, respectivamente.

O limite máximo de corantes permitido em alimentos é de 0,01%, reservadas as disposições específicas dos padrões de identidade e qualidade dos alimentos. Azul Brilhante somente é permitido em refrigerantes, desde que associado a outro(s) corante(s) incluído(s) na legislação, no limite máximo de 40 mg/l (0,004%).

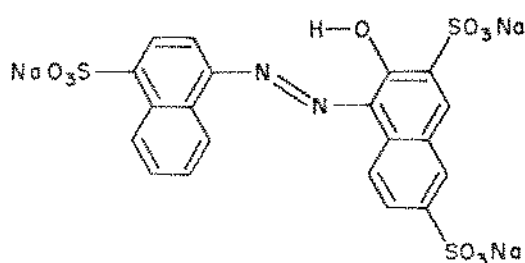
A legislação brasileira que rege sobre o uso de corantes artificiais em alimentos ficou praticamente estacionada desde 1978. Somente em fevereiro de 1987 o Governo revisou esta Lei

e excluiu 5 nomes da tabela de corantes permitidos no Brasil, a saber: Escarlata GN, Amarelo Sólido, Laranja GGN, Azul de Indantreno e Vermelho Sólido E. Esta decisão se fez exercer através da Portaria nº 2, de 28 de janeiro de 1987, publicada no Diário Oficial da União (D.O.U.) em 09 de fevereiro de 1987 (Anexo 2). Esta Portaria foi justificada pela insuficiência de informações toxicológicas disponíveis sobre os aditivos especificados, não possibilitando uma avaliação do grau de risco toxicológico pelo JECFA que, conseqüentemente, não atribuiu valores de IDA a estes corantes.

Atualmente, são oito os corantes que constam das tabelas anexas do Decreto 55.871/65 e que são permitidos para uso em alimentos no Brasil. São eles:

2.4.3.1. Amarantho

Amarantho (C.I. - Color Index - 16.185) é um corante vermelho, com tonalidade "uva", da classe monoazo, também conhecido pelos nomes de Bordeaux S, C.I. Food Red S, FD&C Red nº 2 e C.I. Acid Red 27. Quimicamente, é o sal trissódico do ácido 1-(4-sulfo-1-naftilazo)-2 naftol - 3,6 dissulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Este corante pertencia à lista original dos 7 corantes permitidos para uso nos E.U.A., 1907 (ZUCKERMAN, 1964).

Muitos estudos foram realizados em vários Institutos de Pesquisa e, em 1965, o JECFA classificou o Amaranth com IDA incondicional de 0-1,5 mg/kg p.c.. Em 1969, o FDA ("Food and Drug Administration" - Administração de Drogas e Alimentos dos E.U.A.), baseado em todos os dados disponíveis, inclusive em suas próprias investigações, atribuiu IDA de 0-5 mg/kg p.c. a este corante.

Em 1970, dois estudos russos alegaram que Amaranth era carcinogênico e tóxico ao embrião de ratos (BERDICK, 1982). Desde então e até 1972, um Comitê especial apontado pela Academia Nacional de Ciências dos E.U.A. (NAS) revisou todas as informações disponíveis sobre o Amaranth e recomendou um estudo teratogênico dirigido pelo FDA, pela indústria norte-americana e pelo Centro Nacional de Pesquisa Toxicológica. Os resultados contradisseram os estudos russos. Em 1972, o FDA também conduziu seus próprios estudos, concluindo que o Amaranth era embriotóxico para ratos. O limite de uso deste corante não foi alterado e os estudos continuaram através de

colaboradores, no que diz respeito a teratologia, e de um grupo inter-indústrias, no que diz respeito a reprodução.

Devido a estes conflitos, em 1972 o JECFA reduziu a IDA do Amaranto de 0-1,5 para 0-0,75 mg/kg p.c. e tornou-a temporária. Em 1976, o uso deste corante foi proibido nos E.U.A. com a alegação de que os estudos realizados eram insuficientes para mostrar que o corante era seguro (IFT, 1986). Nessa época, o Departamento de Proteção à Saúde Canadense determinou que os efeitos do Amaranto não eram órgão-específicos (propriedade comum a substâncias realmente carcinogênicas), e que a sua estrutura química era bastante similar à de corantes não carcinogênicos, permitindo assim o seu uso.

Em 1978, a IDA temporária de 0-0,75 mg/kg p.c. foi prorrogada pelo JECFA até 1982, data de solicitação dos estudos a longo prazo. Nesta época, os resultados ainda não estavam disponíveis, sendo então examinados alguns estudos sobre metabolismo e sobre mutagenicidade, que não revelaram nenhuma toxidez potencial. Em 1984, a avaliação do Amaranto foi considerada completa pelo JECFA, uma vez que vários estudos de alimentação com camundongos, juntamente com o estudo a longo prazo para ratos, foram levados em consideração. Nesta data foi determinada, para o Amaranto, a IDA incondicional de 0-0,5 mg/kg p.c..

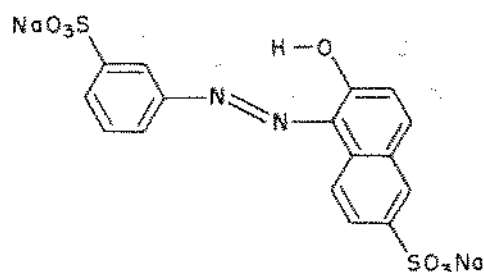
Na Inglaterra, Amaranto é permitido em caráter provisório em alguns alimentos, enquanto estudos a longo prazo com ratos e

estudos metabólicos com várias espécies são aguardados.

No Japão, Amarantho é legalmente permitido para uso em alimentos, mas foi voluntariamente banido pelas indústrias desde 1976. Este corante também é permitido em todos os países da C.E.E. (BERDICK, 1982; IFT, 1986).

2.4.3.2. Amarelo Crepúsculo

Amarelo Crepúsculo (C.I. 15.985) é um corante de cor laranja, da classe monoazo, também conhecido pelos nomes C.I. Food Yellow 3, FD&C Yellow nº 6 e Sunset Yellow FCF. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido 1-(4-sulfofenilazo)-2-naftol-6-sulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Amarelo Crepúsculo é utilizado para colorir alimentos, bebidas e medicamentos desde 1929 nos E.U.A. (IFT, 1986). Estudos crônicos de alimentação em ratos, camundongos e cachorros foram realizados pelos laboratórios do FDA no período de 1954-1963 (BERDICK, 1982). Em 1964, o JECFA atribuiu a este corante IDA temporária de 0-5 mg/kg p.c., advertindo da necessidade de novas investigações (FAO/WHO, 1985).

A controvérsia a respeito da segurança deste corante resulta de dados obtidos através de um estudo conduzido pelo FDA, que expôs um grupo de ratos, durante toda a vida, a este aditivo. Um grande número de fêmeas apresentou lesões renais. Estes dados foram submetidos ao NTP (National Toxicology Program), em 1985, que só evidenciou algum efeito adverso quando a concentração do corante na dieta de ratos era de 5%. Amarelo Crepúsculo foi considerado não-carcinogênico (IFT, 1986).

No Canadá este corante é permitido para uso em alguns produtos alimentícios específicos, numa concentração máxima de 300 ppm, separadamente ou combinado com outros determinados corantes (BERDICK, 1982).

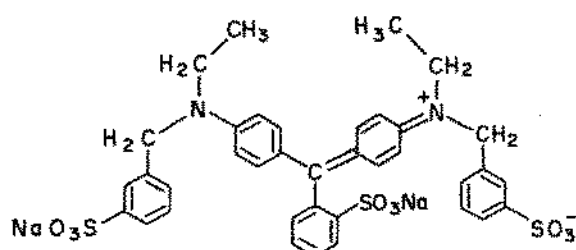
Na Inglaterra, Amarelo Crepúsculo é permitido em uma grande variedade de alimentos, assim como no Japão. Neste último país, os alimentos proibidos de conter este corante são claramente definidos. Na C.E.E., os países coloreem seus alimentos com Amarelo Crepúsculo, respeitando a IDA de 0-2,5 mg/kg p.c., segundo o SCF (Comité Científico para Alimentos).

Em 1982, o JECFA considerou todos os estudos disponíveis, novos e antigos, sobre Amarelo Crepúsculo e modificou sua IDA para 0-2,5 mg/kg p.c., tornando-a incondicional (FAO/WHO, 1985).

2.4.3.3. Azul Brilhante

Azul Brilhante (C.I. 42.090) é um corante azul claro, da classe triarilmetano, também conhecido pelos nomes C.I. Food

Blue 2, FD&C Blue nº 1 e Brilliant Blue FCF. Quimicamente, é o sal dissódico do 4-[4-(N-etil-p-sulfobenzilamino)-fenil] - (2-sulfôniofenil)-metileno [1-(N-etil-N-p-sulfobenzil)-delta 2,5-ciclohexadieniminal], que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Em 1966, o JECFA avaliou o Azul Brilhante, elaborou uma monografia, mas não lhe atribuiu valor para IDA. Em 1969, foi estabelecida, para este corante, IDA incondicional de 0-12,5 mg/kg p.c. (BERDICK, 1982).

Nos E.U.A. este corante é permitido incondicionalmente desde 1969, com uma IDA de 0-5 mg/kg p.c. recomendada pelo FDA. Apesar do caráter incondicional da IDA, alguns estudos de alimentação crônica com ratos e camundongos, e estudos de teratologia e reprodução ainda se seguiram até 1981, não sendo detectado qualquer efeito adverso.

O HPB Canadense (Health Protection Branch) investigou os mesmos estudos disponíveis ao FDA, concluindo pela não carcinogenicidade do Azul Brilhante. Este corante é permitido para alimentos no Canadá, podendo estar presente numa concentração máxima de 100 ppm, separadamente ou combinado com o FD&C Green nº 3 (BERDICK, 1982).

O IARC (Centro Internacional para Pesquisa de Câncer) publicou uma monografia em 1978, julgando inadequados os estudos sobre os quais se basearam o FDA e o HPB para elaborarem suas recomendações quanto ao uso de Azul Brilhante nos E.U.A. e Canadá, respectivamente (BERDICK, 1982).

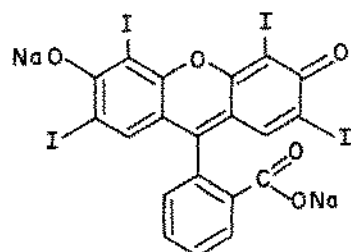
Na Inglaterra este corante é permitido em limitado grupo de produtos alimentícios e não apresenta especificação. No Japão, o Azul Brilhante também é permitido, sendo evidenciados aqueles produtos proibidos em contê-lo. O SCF permitiu o emprego de Azul Brilhante nos países da C.E.E. a partir de 1975, estabelecendo IDA temporária de 0-2,5 mg/kg p.c.. Em 1979, este valor foi reavaliado e aumentado para 0-12,5 mg/kg p.c..

Este corante foi permitido para uso no Brasil em 1970, através da Resolução nº 9/69, publicada no D.O.U. Seção I, Parte I, em 16 de Setembro de 1970, que o incluiu na Tabela I do Decreto 55.871/65. Além das especificações, a Resolução indica que o Azul Brilhante só poderá ser utilizado no fabrico de refrigerantes artificiais, desde que associado a outro corante, igualmente incluído na Tabela I do Decreto 55.871/65, até o limite de 0,004%, calculado sobre o produto final.

2.4.3.4. Eritrosina

Eritrosina (C.I. 45.430) é um corante róseo, da classe xanteno, também conhecido pelos nomes C.I. Food Red 14 e FD&C

Red n° 3. Quimicamente, é o sal dissódico ou dipotássico do 2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Eritrosina foi avaliada pelo JECFA em 1964, 1969, 1974, 1984 e 1986. Monografias toxicológicas foram preparadas em 1969 e 1974, sendo afixado valor de IDA incondicional de 0-2,5 mg/kg p.c.. No encontro de 1984, o Comitê avaliou informações obtidas desde 1974 que incluíram, entre outras, dados sobre mutagenicidade, reprodução e estudos a longo prazo que demonstraram efeitos na função da tireóide. Os resultados dos testes de mutagenicidade foram negativos. Os dados disponíveis não foram considerados suficientes para se avaliar a dose sem efeito do corante, sendo então reduzida a IDA para 0-1,25 mg/kg p.c. e tornada temporária (FAO/WHO, 1985). Em 1986, vários tópicos relacionando ingestão de Eritrosina e funções da tireóide foram reexaminados, sendo a IDA temporária novamente reduzida para 0-0,6 mg/kg p.c.. Eritrosina será reavaliada pelo JECFA em 1988.

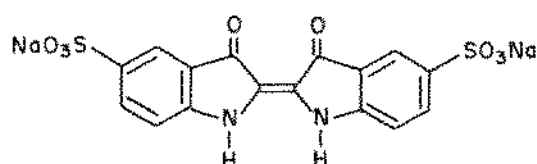
Nos E.U.A. este corante tem seu uso permitido desde 1907 e, desde então, muitos estudos sobre seu metabolismo e possíveis efeitos relacionados à tireóide foram realizados. Em 1968, o FDA comunicou que "Eritrosina não sofre deiodização ou qualquer degradação "in vivo" e não interfere nas funções da tireóide", estabelecendo assim IDA incondicional de 0-2,5 mg/kg p.c. (IFT, 1986).

Nenhum estudo disponível apontou qualquer efeito carcinogênico ou genotóxico devido ao uso de Eritrosina, exceto um estudo realizado em 1982 (IRDC - Corporação Internacional de Pesquisa e Desenvolvimento), através do qual se observou a incidência de tumor na tireóide de ratos machos que receberam alta dose do corante durante toda a vida (IFT, 1986). Também tem sido investigada pelos estudiosos, desde os anos 70, uma possível relação entre a ingestão de Eritrosina e efeitos no comportamento de animais (neuro-toxicologia), não havendo ainda qualquer resultado conclusivo.

No Canadá, o uso de Eritrosina é permitido em vários produtos alimentícios numa concentração máxima de 300 ppm, separadamente ou combinado com outros corantes específicos. Na Inglaterra e no Japão, o uso do corante também é permitido, ocorrendo neste último país um voluntário abandono do seu emprego. Na C.E.E. a SCF permitiu o uso de Eritrosina (1975), atribuindo-lhe IDA de 0-2,5 mg/kg p.c. (BERDICK, 1982).

2.4.3.5. Indigotina

Indigotina (C.I. 73.015) é um corante azul escuro, da classe indigóide, também conhecido pelos nomes C.I. Food Blue 1, FD&C Blue nº 2 e Indigo-Carmine. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido indigotina - 5',5'-dissulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Este corante foi avaliado pelo JECFA em 1964, 1969 e 1974, sendo incluídos na última revisão estudos bioquímicos, estudos de mutagenicidade e teratogenicidade e estudos toxicológicos a longo prazo com ratos e camundongos, dentre outros. A IDA atribuída foi de caráter incondicional e o seu valor numérico igual a 0-5 mg/kg p.c.. Esta recomendação é seguida pelos países da C.E.E. (BERDICK, 1982).

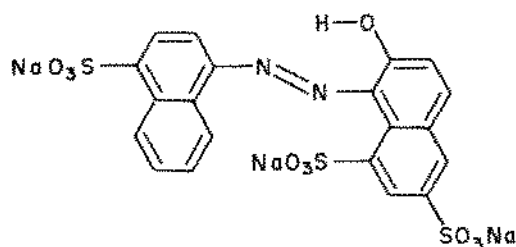
Nos E.U.A., o uso de Indigotina é permitido em alimentos, sendo o valor da IDA, recomendado pelo FDA em 1968, igual a 0-0,63 mg/kg p.c.. Em 1974, um estudo de reprodução foi conduzido internamente pelo FDA, que atribuiu a este corante uma dose sem efeito em ratos de 250 mg/kg p.c./dia (BERDICK, 1982).

Em 1979, no Canadá, cientistas do HPB reavaliaram os estudos disponíveis sobre este corante, não encontrando qualquer motivo para interferir no seu uso. A concentração máxima permitida é de 300 ppm, separadamente ou combinado com outros corantes específicos.

Na Inglaterra, Indigotina pode ser empregada em vasto número de produtos alimentícios sem qualquer especificação. No Japão, este corante é permitido para uso em alimentos, sendo proibido em alguns produtos.

2.4.3.6. Ponceau 4R

Ponceau 4R (C.I. 16.255) é um corante vermelho vivo, da classe monoazo, também conhecido pelos nomes de Cochineal Red A ou Vermelho Cochonilha A, New Coccine ou Nova Coccina, C.I. Food Red 17 e C.I. Acid Red 18. Quimicamente, é o sal triessódico do ácido 1-(4-sulfo-1-naftilazo)-2-naftol-6,8-dissulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Em 1965, o corante Ponceau 4R foi pauta das reuniões do JECFA, sendo preparadas, para o ano de 1966, as suas especificações e uma avaliação toxicológica. Em 1970, um

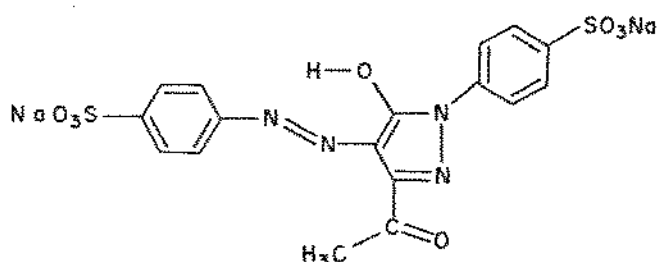
valor de IDA temporária de 0-0,75 mg/kg p.c. foi alocado. Em 1974, com a disponibilidade dos resultados de um estudo de longa duração com ratos, nova IDA temporária de 0-0,125 mg/kg p.c. foi estabelecida. Em 1978, este mesmo valor de IDA foi mantido, uma vez que os estudos de metabolismo, a longo prazo e de reprodução, anteriormente questionados, estavam em andamento (BERDICK, 1982). Em 1981, mais uma vez a IDA temporária de 0-0,125 mg/kg p.c. foi prorrogada, aguardando-se a análise dos dados dos estudos já concluídos. Em 1983, com todos os resultados disponíveis e, com fundamento no valor da dose sem efeito, o Comitê atribuiu ao Ponceau 4R IDA incondicional de 0-4 mg/kg p.c. (FAO/WHO, 1985).

Ponceau 4R não é permitido para uso nos E.U.A. e tem o seu uso provisório e restrito na Inglaterra. Na Alemanha Ocidental este corante é permitido desde 1959, sendo também permitido nos países da C.E.E. com IDA de 0-0,15 mg/kg p.c.. No Japão, Ponceau 4R pertence à lista dos corantes permitidos, embora o seu uso tenha sido banido voluntariamente (BERDICK, 1982).

Este corante não estava presente na Tabela do Decreto nº 55.871/65 sobre aditivos permitidos para uso em alimentos no Brasil. Foi através da Resolução nº 16/71, publicada no D.O.U., Seção I, Parte I, em 10 de setembro de 1971, que Ponceau 4R foi incorporado às Tabelas do Decreto de 1965, sendo então permitido o seu uso em determinados produtos alimentícios brasileiros.

2.4.3.7. Tartrazina

Tartrazina (C.I. 19.140) é um corante amarelo, da classe monoazo, também conhecido pelos nomes C.I. Food Yellow 4 e FD&C Yellow nº 5. Quimicamente, é o sal trissódico do ácido 5-hidroxi-1-p-sulfofenil-4-(p-sulfofenilazo)-pirazol-3 carboxílico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Tartrazina foi avaliada pelo JECFA em 1964 que, com base nos estudos toxicológicos realizados até então, estabeleceu IDA de 0-7,5 mg/kg p.c.. Esta IDA se mantém, com o título "incondicional", até os dias de hoje (FAO/WHO, 1985).

Em 1965, após revisão dos estudos disponíveis, o FDA demonstrou a segurança do emprego de Tartrazina em alimentos, conferindo-lhe um valor de IDA de 0-5 mg/kg p.c. e permitindo o seu uso nos E.U.A.. Em 1974, com a constante revisão de trabalhos feitos sobre o corante, o FDA levantou a questão sobre alguns consumidores que apresentavam sintomas alérgicos após a ingestão de Tartrazina. Este problema foi resolvido em 1979, através de uma lei que obriga a especificação nítida no rótulo, quando este corante está presente (BERDICK, 1982).

No início dos anos 60, já se questionava a relação entre o consumo de azo-corantes (Tartrazina, principalmente) e certas reações no homem, envolvendo o sistema imunológico (IFT, 1986). Embora Tartrazina não cause nenhum tipo de efeito adverso à maioria dos consumidores, pode provocar em indivíduos mais sensíveis efeitos como urticária, asma aguda, choque anafilático, rinites... A maior sensibilidade apresentada por certos indivíduos parece estar relacionada a casos de asma, alergias em geral e intolerância a aspirina. O mecanismo através do qual se dão estas reações ainda não foi elucidado. Muitos estudos tem sido realizados, principalmente os testes de sensibilidade cruzada com outros corantes azóicos (Ponceau 4R, Amarelo Crepúsculo) e com benzoatos empregados como conservantes. Provavelmente, entre 8 e 20% dos consumidores sensíveis à aspirina, são também sensíveis à Tartrazina (LOBLAY e SWAIN, 1985).

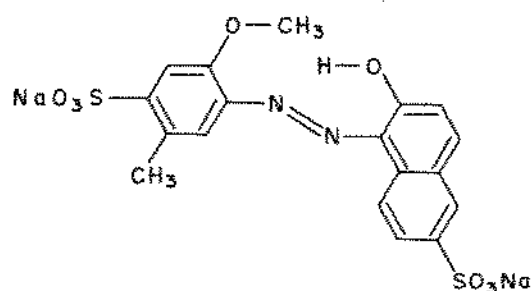
No Canadá, os laboratórios do governo conduziram vários estudos toxicológicos e, juntamente com as revisões publicadas pelo FDA, concluíram que Tartrazina não é carcinogênica. Este corante é permitido em vários tipos de alimentos, em concentrações de até 300 ppm, separadamente ou combinado com outros corantes. Em 1979, foi sugerido por cientistas que o nome deste corante devesse constar explicitamente dos rótulos dos alimentos quando presente (BERDICK, 1982).

Na Inglaterra, este aditivo é permitido para colorir grande variedade de alimentos, sem qualquer especificação. Também no

Japão este corante é permitido, sendo claramente definidos os produtos alimentícios proibidos de contê-lo. Os países da C.E.E. permitem o uso de Tartrazina, seguindo as recomendações do JECFA (BERDICK, 1982).

2.4.3.8. Vermelho 40

Vermelho 40 (C.I. 16.035) é um corante vermelho amarelado, da classe monoazo, também conhecido pelos nomes Allura Red AC, C.I. Food Red 17 e FD&C Red nº 40. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido 5-(2-metoxi-5-metil-4-sulfofenilazo)-6-hidroxi-2-naftaleno sulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Vermelho 40 foi desenvolvido em laboratório norte-americano durante os anos 60 (IFT, 1986). Em 1970, quatro anos de estudos toxicológicos haviam sido conduzidas pelo FDA, que assegurou o seu uso em alimentos e drogas, sem estabelecimento de um limite máximo (BERDICK, 1982). Sua IDA foi estimada em 0-7 mg/kg p.c..

Em 1974, especialistas canadenses e ingleses levantaram uma suspeita quanto ao estudo a longo prazo realizado pelo FDA, que foi encerrado prematuramente devido a uma pneumonia

que se abateu sobre o grupo de ratos estudados. Neste mesmo ano, durante o encontro do JECFA, nenhuma norma ou mesmo a IDA foram estabelecidas, sendo aguardado pelo Comitê um novo estudo a longo prazo e, principalmente, estudos de metabolismo (BERDICK, 1982).

Em 1979, a Inglaterra investigou resultados disponíveis de estudos de metabolismo e estudos a longo prazo com duas espécies. Nenhuma atitude foi tomada quanto à aprovação de Vermelho 40, que ainda é proibido para uso em alimentos na Inglaterra, Suíça, Suécia e países da C.E.E.. O Canadá aprovou o seu uso para alimentos (IFT, 1986).

Em 1980, o JECFA recomendou a IDA temporária de 0-7 mg/kg p.c., uma vez que ainda aguardava os resultados da análise estatística dos estudos a longo prazo com ratos. Em 1981, com estes resultados disponíveis, o Comitê de peritos reconsiderou este mesmo valor de IDA, atribuindo-lhe o caráter incondicional (BERDICK, 1982).

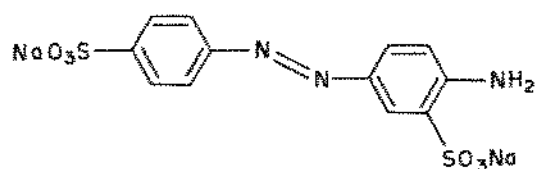
Vermelho 40 não estava presente na Tabela do Decreto 55.871/65 sobre aditivos permitidos para uso em alimentos no Brasil. Em 1972, através da Resolução 19/72, publicada no D.O.U., Seção I, Parte I, em 18 de agosto de 1972 e retificada no D.O.U., Seção I, Parte I, em 28 de agosto de 1972, Vermelho 40, assim como as suas especificações, foram incorporadas às tabelas anexas do Decreto de 1965, sendo então permitido o seu uso para colorir alimentos no Brasil.

2.4.3.9. Outros

Dentre os corantes permitidos para uso em alimentos no Brasil até Fevereiro de 1987, 5 tiveram o seu uso proibido através da Portaria nº 2, de 28 de janeiro de 1987, publicada no D.O.U., Seção 1, em 9 de fevereiro de 1987, (Anexo 2), sendo eles os seguintes:

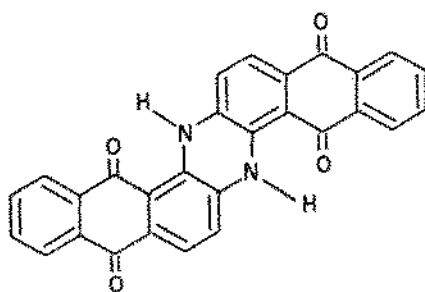
a) Amarelo Acido ou Amarelo Sólido

Amarelo Acido (C.I. 13.015) é um corante amarelo claro, da classe monoazo, também conhecido pelos nomes Fast Yellow AB, C.I. Food Yellow 2. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido 5-(4-sulfofenilazo)-2-aminobenzeno-sulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



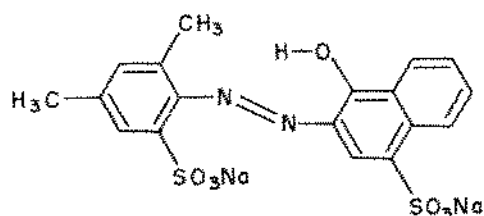
b) Azul de Alizarina ou Azul de Indantreno

Azul de Indantreno (C.I. 69.800) é um corante azul claro, da classe antraquinona, também conhecido pelo nome de C.I. Food Blue 4. Quimicamente, é o N,N'-dihidro-1,2,1',2'-antraquinona, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



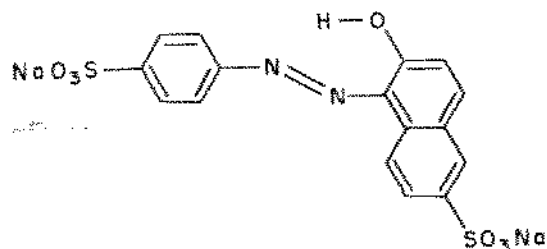
c) Escarlata GN

Escarlate GN (C.I. 14.815) é um corante vermelho alaranjado, da classe monoazo, também conhecido pelo nome de C.I. Food Red 2. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido 2-(6-sulfo-2,4-xiliazo)-1-naftol-5-sulfônico que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



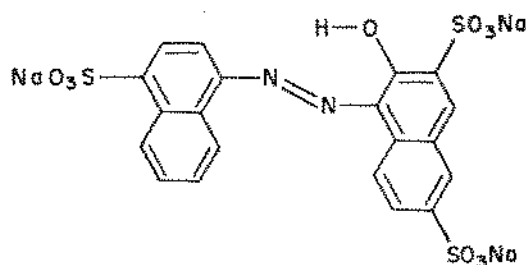
d) Laranja GGN

Laranja GGN (C.I. 15.980) é um corante de cor laranja, da classe monoazo, também conhecido pelo nome de C.I. Food Orange 2. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido 1-(3-sulfofenilazo)-2-naftol-6-sulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



e) Vermelho Sólido E

Vermelho Sólido E (C.I. 16.045) é um corante vermelho, da classe monoazo, também conhecido pelos nomes de Fast Red E, C.I. Food Red 4 e Naphtol Red. Quimicamente, é o sal dissódico do ácido 1-(4-sulfo-1-naftilazo)-2-naftol-6-sulfônico, que apresenta a seguinte estrutura (COULSON, 1980):



Destes cinco corantes, somente ao Azul de Indantreno já foi atribuído valor de IDA, com caráter temporário e igual a 0-1 mg/kg p.c.. Esta atribuição foi suspensa pelo JECFA, em 1974, por não considerar suficientes os dados toxicológicos disponíveis.

Em 1977, os outros quatro corantes, a saber: Amarelo Sólido, Escarlate GN, Laranja GGN e Vermelho Sólido E, foram avaliados pelo JECFA que, por falta de dados toxicológicos, não lhes atribuiu valor de IDA (FAO/WHO, 1985).

2.4.4. Métodos para Análise Qualitativa e Quantitativa

Ainda existem diferentes opiniões quanto à inocuidade dos diversos corantes artificiais empregados como aditivos alimentares. Consequentemente, diferentes países ou regiões permitem o uso de diferentes corantes para colorir seus produtos alimentícios e drogas. Tendo em vista que estes produtos são importados e exportados e visando, principalmente, o controle do uso deste aditivo dentro da cada país, a análise de alimentos e drogas coloridos artificialmente requer métodos rápidos e eficientes para detecção, identificação e quantificação dos corantes orgânicos sintéticos em qualquer meio. Não basta provar que um dado produto é colorido artificialmente; cada corante, ou mistura de corantes, que foi adicionado deve ser detectado e quantificado para cada caso individualmente.

A análise dos corantes artificiais em alimentos se inicia através da sua extração do meio em que se encontra. A extração é acompanhada de uma purificação, etapa que tem como objetivo eliminar qualquer material indesejável, como açúcares, ácidos... evitando interferências nas análises subsequentes que normalmente envolvem cromatografia em papel ou cromatografia em camada delgada e espectrofotometria.

Tendo sido obtido o extrato puro e concentrado do corante ou mistura de corantes presente num dado produto alimentício, é então seguida a análise de identificação e quantificação do aditivo em questão.

Na revisão dos trabalhos publicados a respeito da técnica de análise dos corantes orgânicos sintéticos utilizados para colorir alimentos, a primeira referência quanto à extração do corante se baseia num trabalho desenvolvido por Arata, citado por CORRADI e MICHELI (1979), LEHMANN et alii (1970), dentre outros, a respeito do tingimento de lã pura. Este método (PEARSON, 1976), bastante empregado até hoje, envolve inicialmente a obtenção de uma solução aquosa do produto a ser analisado, que é tornada levemente ácida através da adição de algumas gotas de ácido acético diluído. Fios de lã, pura e branca, previamente tratados com hidróxido de amônio 2%, são imersos na solução que é aquecida em banho-maria. Descorada a solução e tingidos os fios de lã, é feita uma lavagem destes com água fria tendo como objetivo a eliminação dos interferentes. O corante, ou mistura de corantes, é recuperado em solução amoniacal a quente. Muitos autores, porém, como DOLINSKY e STEIN (1962), GILHOOLEY et alii (1972), LEHMANN et alii (1970), YANUKA et alii (1963) e tantos outros apontam algumas desvantagens neste método de extração. São citados fatores como adsorção lenta e incompleta de alguns corantes diluídos em meio ácido e quente pelos fios de lã, alterações irreversíveis das estruturas de alguns corantes durante a dessorção da lã para uma solução de hidróxido de amônio e, finalmente, o longo período de tempo necessário para se obter o extrato purificado em volume mínimo. Em 1972, YAMAMOTO et alii publicaram um procedimento para melhorar a dessorção dos corantes adsorvidos pelos fios de lã, que consistiu na quebra da estrutura da queratina que

compõe os fios, através do aquecimento deste em uma solução de uréia. Outros problemas encontrados foram, primeiramente, a eventual presença de açúcar e amido na solução aquosa do alimento dificultando a adsorção ou extração dos corantes pela lã e, posteriormente, a dificuldade em se trabalhar com alimentos que apresentam elevado teor protéico. As proteínas em meio ácido formam coágulos que adsorvem preferencialmente e mais fortemente os corantes artificiais, não sendo possível o tingimento da lã (CORRADI e MICHELI, 1979; LEHMANN et alii, 1970).

Em 1955, NOTTIER e POTTERAT descreveram um novo método para extração, separação e identificação de corantes artificiais utilizados para colorir alimentos. A proposta se baseia na extração do aditivo por solvente orgânico a partir da experiência com substâncias como metilciclohexanona, álcool benzílico, éter e, sobretudo, álcool iso-amilico. O uso destes solventes não apresentou resultados quantitativos, sendo então recomendado pelos mesmos autores o uso de quinoeína para a extração dos corantes orgânicos artificiais hidrossolúveis a partir de uma solução ou suspensão aquosa do alimento colorido, em meio tamponado. Quarenta e três corantes foram então examinados apresentando extrações completas, com exceção de Tartrazina que exigiu uma repetição da extração para se chegar a um resultado quantitativo. A identificação dos corantes foi feita por cromatografia em camada delgada, utilizando-se como fase estacionária a alumina, e comparando-se o comportamento da amostra com

corantes padrão sob mesmo tratamento. Eventualmente, foi necessário se recorrer à confirmação por fluorescência com luz ultra-violeta. Segundo os autores, o método proposto une as vantagens da cromatografia em papel, trabalho com pequenas quantidades e facilidade para comparação, com as vantagens da cromatografia com alumina, que apresenta forte poder de separação para as estruturas de interesse. Posteriormente, em 1975, CHO, CHO e YANG voltaram a utilizar o álcool isoamilico, dentre outros solventes, para a extração dos corantes (A) Amarantho, (B) Tartrazina e (C) Amarelo Crepúsculo presentes em salsichas e presuntos na Coreia. As recuperações dos corantes foram:

(A) 96% ; (B) 96,3% ; (C) 98,3%

(A) + (B) : (A) 98,3% ; (B) 94%

(A) + (C) : (A) 96,5% ; (C) 94%

(A) + (B) + (C) : (A) 64% ; (B) 76,5% ; (C) 79%

DOLINSKY e STEIN (1962), introduziram o uso de um reagente relativamente novo para a época, uma resina líquida trocadora de ânions, o Amberlite LA-2, para a extração de corantes artificiais de alimentos. Ao se ligar a grupos sulfônicos ou ácidos, o Amberlite forma sais mais solúveis em solventes orgânicos do que em água, propriedade esta que ofereceu a vantagem da remoção de corantes de muitos tipos de produtos, principalmente daqueles que os apresentavam fortemente ligados a substratos proteicos ou celulósicos insolúveis, como por exemplo bolos ou biscoitos. Fazendo-se uma mistura

da amostra com a fase estacionária aquosa (-solução butanólica-) e celite, e empacotando em coluna cromatográfica, o corante ou mistura de corantes é facilmente eluído por uma fase orgânica, através do processo de partição. Se somente um corante estiver presente, a quantificação por espectrofotometria pode ser seguida imediatamente. Posteriormente este método foi mais profundamente avaliado por GRAICHEN e HOLITOR (1963). Foram determinados a aplicabilidade do método para a extração dos corantes artificiais de diferentes produtos alimentícios, o comportamento dos corantes naturais nas diferentes soluções da resina de Amberlite LA-2, as vantagens e desvantagens do uso de outros solventes além de butanol, a estabilidade do complexo resina-corante e, finalmente, a remoção quantitativa dos corantes da resina no caso de ser necessária uma determinação espectrofotométrica. A recuperação de todos corantes, exceto Indigotina, ultrapassou a faixa de 90%.

GRAICHEN (1975), realizou novo estudo com a colaboração de diversos laboratórios, sendo o objetivo principal a descoberta de falhas e a adequação do método de extração de corantes, com o uso da resina Amberlite LA-2, para uma grande variedade de alimentos. De acordo com o autor, os resultados obtidos não foram satisfatórios, impossibilitando que se chegasse a um método definitivo.

Ainda em 1963, YANUKA et alii apresentaram a aplicação da cromatografia em coluna para isolar e separar doze diferentes corantes permitidos para uso em Israel. Utilizando como

adsorventes a sílica-gel e a alumina ajustada para diferentes valores de pH e, como solventes, água, butanol e metanol, os autores extraíram e separaram os corantes estudados, pelos processos de partição, adsorção ou troca-iônica, dependendo das condições escolhidas. A identificação dos corantes foi feita através de cromatografia em papel. Segundo os autores, o emprego de cromatografia em coluna para extração de corantes possibilitou a obtenção dos mesmos quimicamente puros e isolados, podendo ser facilmente identificados.

GRIFFITHS (1966) sistematizou a identificação de corantes para alimentos, através da técnica de cromatografia em papel. Os corantes foram divididos em três grupos, a saber: a) vermelhos, b) amarelos e laranjas e c) azuis, verdes e pretos. O princípio básico utilizado foi a técnica da co-cromatografia que, segundo o autor, elimina vários fatores que podem influir sobre os valores do R_f , incluindo variações que se dão a cada experimento, como temperatura, umidade, saturação da câmara, presença de impureza, composição do papel... e que são de muito difícil controle. Para cada grupo de cores (a, b ou c), era escolhido um determinado controle-padrão que pertencia a este mesmo grupo. A co-cromatografia foi realizada com cada um dos diferentes componentes do grupo, fazendo-se comparação do comportamento das manchas (posição acima, abaixo ou igual ao controle no cromatograma) em diversos sistemas de solventes. Algumas vezes foi necessária a escolha de outro controle-padrão dentro do mesmo grupo, para possibilitar a identificação de todos os

componentes. Se mais de um corante estiver presente, o autor sugere que se recorra à co-cromatografia bi-dimensional. Esta mesma metodologia de esquematização da identificação de corantes artificiais por cromatografia em papel foi utilizada por LEES (1971), com a introdução de algumas modificações.

Com o objetivo de diminuir o tempo de análise, principalmente quando era necessário recuperar os corantes para quantificação por espectrofotometria, PERRY e WOOLEY (1969) apresentaram uma técnica de identificação e separação de corantes artificiais utilizando a cromatografia em camada delgada, com celulose microgranular como fase estacionária. Os solventes utilizados foram aqueles sugeridos por "The Association of Public Analysts" (A.P.A., 1960) para cromatografia em papel de corantes artificiais. Os valores de R_f dos corantes presentes nas amostras analisadas foram calculados em relação aos valores de R_f -tartrazina. A identificação dos corantes foi feita por comparação da cor das manchas sob efeito da luz do dia e luz ultra-violeta, por comparação dos valores de R_f -corante/ R_f -tartrazina nos diversos sistemas de solventes e por comparação das curvas espectrais, na região do ultra-violeta, de soluções ácidas e alcalinas das várias amostras e padrões. Algumas separações de misturas de corantes são mencionadas como possíveis através da metodologia desenvolvida.

No mesmo ano, CHIANG (1969) detalhou a cromatografia ascendente em camada delgada para onze corantes vermelhos

permitidos para uso como aditivos alimentares e mais outros dois corantes vermelhos nocivos à saúde (Rhodamina B e Coralina). As placas foram preparadas com mistura de poliamida e sílica-gel G, sendo utilizados cinco diferentes sistemas de solventes. Verificou-se que a adição de pequenas quantidades de sal aos sistemas de solvente acarretava em manchas menores e melhores definidas. O limite de detecção para este método foi de aproximadamente 2 g para cada composto, sendo os cromatogramas bem resolvidos e encontrando-se boa reprodutibilidade dos resultados. A camada com mistura de poliamida e sílica-gel G não quebrou ou descascou, tendo também apresentado um bom comportamento quando guardada para uso posterior.

O mesmo autor, Chiang, juntamente com Lin, propôs neste mesmo ano (CHIANG e LIN, 1969), uma mistura de poliamida e kieselguhr como fase estacionária para cromatografia de camada delgada, desta vez separando cinco corantes amarelos utilizados em alimentos e três outros também amarelos, porém danosos à saúde (Auramina, "Metanil Yellow" e Ácido Picrído). Foi feita a comparação da placa com mistura de fases estacionárias com as placas de poliamida e kieselguhr separadamente. O uso da mistura de fases possibilitou uma melhor separação dos corantes, manchas mais definidas, além de um menor tempo para desenvolvimento do cromatograma.

Segundo os autores, a adição de pequena quantidade de sal e de etilenodiamina aos sistemas de solvente foi essencial para quebrar as pontes de hidrogênio entre amostra e poliamida

que, neste caso, funcionou como aglutinadora da fase estacionária.

GRAHAM e NYA (1969), empregaram a técnica de cromatografia em camada delgada sobre lâminas cobertas com policarbonato na separação de corantes artificiais permitidos para uso na Inglaterra, utilizando solventes sugeridos pela literatura e outros elaborados pelos próprios autores. Este procedimento eliminou o grande espaço de tempo necessário para a ativação das placas de sílica-gel até então utilizadas para a identificação e separação dos corantes artificiais hidrossolúveis permitidos para uso na Inglaterra. Embora não apresente uma boa reprodutibilidade dos valores de R_f , este método se faz muito útil para rápidos ensaios qualitativos de corantes artificiais.

Em 1970, LEHMANN et alii propuseram uma nova técnica de extração dos corantes sintéticos hidrossolúveis, levando em conta as dificuldades até então encontradas para esta etapa. Cromatografia em coluna utilizando a poliamida como fase estacionária foi empregada para a extração dos corantes, sendo a purificação dos mesmos feita através de sucessivas lavagens com água e acetona. De cada produto alimentício deve ser feita uma solução aquosa na qual está presente o corante. Esta solução é acidificada, misturada com poliamida (0,5 - 1,0g) e transferida para microcoluna. Depois do líquido drenado e todo corante adsorvido ao pó, lava-se a coluna com água quente e, posteriormente, com acetona. A lavagem com água retira os açúcares, ácidos, flavorizantes, enquanto que

a acetona retira os corantes básicos (TAKESHITA, 1971), carotenóides aquo-solúveis e algumas antocianinas, cujas determinações podem ser feitas a partir desta solução de acetona. Para a dessorção dos corantes da poliamida utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio metanólico, ocorrendo esta etapa de maneira rápida, à temperatura ambiente e sem perda ou decomposição do material que se quer estudar. De acordo com LEHMANN et alii (1968), a poliamida, com sua grande capacidade de adsorção, adsorve preferencialmente os corantes sintéticos através de pontes de hidrogênio com ácidos e com hidroxilas fenólicas, sendo mínima a presença de contaminantes.

Em 1972, GILHOOLEY et alii sugeriram modificações para o método de Lehmann tendo como objetivo a obtenção de um extrato puríssimo e concentrado, tornando possível a sua imediata aplicação à identificação por camada delgada ou a uma determinação quantitativa. Na quantificação de corantes em produtos de panificação, os autores obtiveram valores de recuperação de 70%, 69%, 80%, 79% e 61% para os corantes Amaranto, Azul Brilhante, Ponceau 4R, Amarelo Crepúsculo e Tartrazina, respectivamente, que foram adicionados à farinha antes da fornada. Segundo os autores, não foram obtidos dados de recuperação para Indigotina devido a sua grande instabilidade no meio alcalino utilizado durante a etapa de extração.

PEARSON (1976), em seu livro "The Chemical Analysis of Foods" esquematizou a extração de corantes utilizando a coluna de

poliamida, assim como apresentou esquemas para separação e identificação do aditivo por cromatografia em papel ou camada delgada. Sete anos após a comunicação de Lehmann, PALLOTI et alii (1977), referiram-se à poliamida como sendo o melhor adsorvente seletivo para a determinação de corantes sintéticos hidrossolúveis. Foi também na Itália, em 1980, que BRANCA e SPAGNOLINI publicaram resultados de controle do uso de corantes artificiais em trinta amostras coletadas no mercado, utilizando como técnica de extração a coluna de poliamida, com posterior identificação e separação das misturas por cromatografia em camada delgada de sílica-gel ou celulose. A análise espectrofotométrica se deu para cada corante individualmente, sendo a menor recuperação atribuída à Indigotina (70%). Para os corantes Tartrazina, Amarelo Crepúsculo e Ponceau 4R, as recuperações foram de 100%, 105% e 96%, respectivamente.

HOODLESS et alii (1971), com o mesmo raciocínio de GRIFFITHS (1966), esquematizaram a identificação de 49 corantes sintéticos para alimentos, desta vez utilizando a cromatografia em camada delgada. Foram empregadas placas de celulose e sílica-gel, separadamente, correspondendo a cada placa um grupo de sistemas de solventes ideais. Um esquema para a rápida identificação dos corantes foi proposto, sendo dispensadas as medidas dos valores de R_f . Cada corante foi submetido a quatro cromatografias em celulose, em diferentes solventes, juntamente com dois padrões. Cada corante recebeu um código de letras dependendo da sua posição em relação à

posição dos padrões utilizados, após desenvolvimento da placa. Os autores também apresentaram uma tabela para se fazer a decodificação, sendo ainda necessária uma nova cromatografia em caráter de confirmação. O trabalho também apresentou um método de medição potenciométrica de valores de Rf.

Em 1972, NAZARIO e ZENEON, apresentaram um estudo do comportamento polarográfico dos corantes permitidos para uso alimentar no Brasil. A redução polarográfica foi realizada em meios tamponados com diferentes valores de pH. Para os corantes azóicos foram obtidas ondas polarográficas definidas com uma só inflexão, exceto para o Amarelo de Tartrazina que apresentou duas inflexões, sendo uma devido ao azo-grupo e outra devido ao grupo pirazólico. Os corantes Azul de Indigotina, Azul de Indantreno e Eritrosina não apresentaram onda polarográfica. Para cada corante foi determinado o valor de meia-onda pelo processo geométrico comum sendo observado um aumento, em valor negativo, do potencial de meia-onda com o aumento de pH.

Foi no Japão, em 1973, que KENHOCHI et alii, separaram e identificaram uma mistura de 17 corantes ácidos sintéticos hidrossolúveis por cromatografia em coluna. Uma coluna com diâmetro interno de 1 cm e 40 cm de comprimento foi preenchida até a altura de 30 cm com uma mistura de amino-etil celulose e celite (2:1). Após a lavagem com ácido acético 1% e aplicação da mistura contendo 0,1 mg de cada um dos 17 corantes, a coluna foi submetida a um gradiente de pH.

Decorridas três horas, a coluna apresentou todos os corantes separados tendo cada qual o seu lugar fixo para a identificação. Neste mesmo trabalho também foi estudada a análise quantitativa dos corantes na presença de sacarose, ácido acético e cloreto de sódio.

No final do mesmo ano, PEARSON (1973), levou a público suas experiências com doze solventes capazes de separar corantes, e misturas de corantes, permitidos para uso nos países do Mercado Comum Europeu. A técnica empregada foi cromatografia em papel sendo apresentada uma tabela com os valores de R_f para cada corantes em cada um dos solventes. Foram estudados também o comportamento de cada um dos corantes em meio ácido e alcalino, assim como suas curvas de absorção nas faixas ultra-violeta e visível, em soluções neutras, ácidas e alcalinas. Em seu livro "Laboratory Techniques in Food Analysis", PEARSON (1973), apresenta, detalhadamente, a identificação dos corantes hidrossolúveis por cromatografia em papel e ainda propõe outros métodos de identificação que incluem espectrofotometria e cromatografia em camada delgada com Kiesel G.

Uma alternativa valiosa para a separação dos corantes hidrossolúveis por cromatografia em camada de sílica-gel foi proposta por CLERQ e MASSART (1974). Observando que os corantes, nestas condições, só eram separados por solventes polares, os autores decidiram ajustar uma polaridade ideal, através da incorporação do dimetil-sulfóxido (DMSO) ao solvente. Com a presença do ácido acético para garantir que

os corantes estivessem presentes nas suas formas ácidas, não-dissociadas, foi determinado como ótimo aquele solvente cujo cromatograma correspondente apresentasse manchas mais compactas e amostras melhor separadas. Excelentes resultados também foram obtidos para a separação de derivados dos corantes artificiais sob a forma de complexos de cobre, uma vez que as manchas obtidas no cromatograma de sílica-gel foram 100% compactas. Para esta alternativa, o solvente empregado foi a solução 1% sulfato cáprico em DMSO: iso-propanol (70:30).

PALLOTI et alii (1977), sugeriram a não necessidade da separação dos corantes para análise quantitativa. Segundo os autores, uma vez extraída a mistura colorida do produto alimentício, a determinação poderia ser feita através de leituras espectrofotométricas nos comprimentos de onda de máxima absorção de cada constituinte da mistura, considerando a contribuição de cada um dos corantes para a absorbância final. A aplicação deste método só é adequada para misturas de dois corantes cuja diferença entre seus comprimentos de onda de máxima absorção seja maior que 50 nm. A concentração de cada corante é obtida por uma análise matemática binária, (isto é, um sistema com duas incógnitas). O mesmo raciocínio foi seguido por NOIRFALISE et alii (1980), na Bélgica, onde foi feito um controle rigoroso dos corantes artificiais presentes em 377 produtos de sua confeitaria.

O estudo aprofundado de todas as impurezas presentes nos corantes, sejam elas veiculadas ou formadas durante os

processos de síntese, tem recebido uma atenção crescente por parte dos pesquisadores (BIBEAU e CLYDESDALE, 1978). Neste sentido, o uso da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) tem se mostrado eficiente, graças a seu alto poder de separação de espécies químicas semelhantes e a sua capacidade de detectar limites muito baixos de uma dada espécie (1 a 5 ppm) com valores de recuperação da ordem de 95% (GOLDBERG e CALVEY, 1982; MARTIN et alii, 1978; SINGH, 1977). Muitos estudos utilizando esta técnica foram realizados para os vários corantes permitidos para alimentos, visando a determinação dos intermediários, dos produtos de degradação e de reações colaterais (CALVEY et alii, 1981; COX e REED, 1981; GOLDBERG e CALVEY, 1982; SINGH, 1977). O tempo necessário para se atingir todas as separações foi equivalente a aproximadamente um quarto do tempo requerido pelas técnicas tradicionais (MARMION, 1975; SINGH, 1977). O uso da CLAE também tem se caracterizado por sua aplicação no estudo mais detalhado dos corantes artificiais individualmente ou das separações de corantes muito difíceis de serem atingidas normalmente (MACRAE, 1981; PUTTERHANS et alii, 1981; SINGH, 1982). Apesar de apresentar todas as vantagens, os problemas em relação a CLAE surgem inerentes ao próprio aparelho que exige bastante tempo e dedicação no momento do seu condicionamento (BAILEY e COX, 1975). Uma análise estatística dos resultados obtidos através do uso da CLAE foi publicada por BAILEY et alii (1978).

Ainda na última década, novos procedimentos para a análise de corantes artificiais hidrossolúveis em alimentos foram sugeridos. Em 1978, LEPRI et alii estudaram a separação e identificação de 18 corantes hidrossolúveis por cromatografia em camada delgada utilizando como fases estacionárias trocadores aniônicos ou catiônicos e sílica-gel silanizada impregnada com detergentes catiônicos ou aniônicos. TAKASHI et alii (1979), sugeriram o emprego da Amberlite XAD-2 para extração e identificação dos corantes ácidos hidrossolúveis. O copolímero poroso de poliestireno-divinilbenzeno, insolúvel, Amberlite XAD-2, que adsorve compostos orgânicos hidrossolúveis, pode ser disposto em coluna ou camada delgada conforme o objetivo da análise.

Outros estudos realizados visando a quantificação dos corantes sintéticos empregaram a determinação voltamétrica em "Eletrodo Estacionário de Carbono Vitrificado", uma vez que a maioria dos corantes fornece, em pH=2, um pico voltamétrico bem definido (FOGG e BHANOT, 1980). TAKASHI et alii (1985), mencionaram a utilização do extrator Soxhlet com bons resultados, em substituição à coluna de poliamida, para extração de corantes de alimentos com alto teor de açúcar e espessante. No caso de alimentos com alto teor de açúcar e sem espessante, a extração do corante por etanol foi considerada quantitativa.

Foi, porém, em 1984, através do emprego dos princípios de cromatografia líquida, que surgiu a simplificação da metodologia para isolar, purificar, concentrar e separar uma

mistura do aditivo corante em produtos alimentícios (YOUNG, 1984). O emprego de cartuchos de C18-Sep-Pak, através do princípio da cromatografia em fase reversa, possibilitou a obtenção dos corantes puros em intervalos de tempo que variaram de 15 minutos a uma hora de duração. As soluções aquosas das amostras são acidificadas, filtradas e injetadas no cartucho que já foi devidamente condicionado. A dessorção seletiva é feita por diversas soluções de diferentes concentrações de iso-propanol. Uma aplicação deste método foi feita por LOVE (1984), para extrair e separar os corantes artificiais permitidos e alguns proibidos para uso na Nova Zelândia.

2.4.5. Métodos para Coleta de Dados de Consumo

Não existe, segundo a literatura, um método específico para avaliar a ingestão de alimentos por indivíduos ou grupos de indivíduos. O contexto da pesquisa, assim como seus objetivos, são os valores mais importantes a serem considerados (HARR, 1971; PEKKARINEN, 1970).

PEKKARINEN (1970) mencionou a importância de se coletar dados sobre consumo de alimentos, caracterizando estas pesquisas como "essenciais" para obtenção de informações médicas, econômicas e nutricionais em âmbito nacional ou internacional. Quanto à escolha do método, o autor cita a influência de vários fatores como tamanho da amostra, número disponível de investigadores qualificados, condições locais

de educação, hábitos e outros, assinalando, no entanto, a maior importância para o objetivo da pesquisa. Vários métodos são mencionados, incluindo: relatório sobre balanço de alimentos, diários detalhados sobre o consumo de alimentos, pesagem de todo alimento consumido, entrevistas e questionários. Segundo o autor, não há método perfeito, sendo sempre necessária uma adaptação às condições da pesquisa.

Reafirmando a idéia de que não há um método padrão para se medir a ingestão de alimentos por indivíduos, HARR (1971) apresentou uma análise sobre dois procedimentos gerais utilizados para a coleta destes dados. Primeiramente, a anotação detalhada dos alimentos ingeridos (por peso ou por medidas caseiras ou simplesmente o cardápio da refeição), cuja limitação é o tempo máximo de duas semanas que a pesquisa pode durar. O segundo procedimento se baseia na lembrança de que foi consumido, podendo o relatório versar sobre os alimentos realmente ingeridos durante um certo período de tempo ou versar sobre a lembrança do que é habitualmente consumido. A aplicação de cada um dos métodos e suas múltiplas variações dependem do tamanho e tipo da amostra de indivíduos, dos custos, tempo e pessoal treinado para esta aplicação e, principalmente, do objetivo da pesquisa.

Em 1979, GUNNER E KIRKPATRICK mencionaram a importância de se avaliar o consumo de substâncias químicas ingeridas através dos alimentos, transformando esta informação em dados

toxicológicos. Os autores sugeriram três procedimentos viáveis para esta pesquisa, sendo eles:

- Exame analítico da dieta total: análise química dos alimentos que são representativos da dieta de toda uma população;
- Técnica de avaliação da dieta: obtêm-se os dados sobre a dieta de determinada população através de entrevistas cuidadosamente conduzidas; e
- Técnicas com base em parâmetros fisiológicos: através de muitas simplificações, busca-se detectar o nível máximo potencial de um aditivo ingerido pelo homem, relacionando sua ingesta calórica com a concentração máxima do aditivo encontrado nos alimentos.

Quando o objetivo da pesquisa sobre consumo de alimentos é a verificação da ingestão potencial de aditivos, algumas dificuldades são apontadas por FILER Jr. (1976). Dentre elas, destacam-se o grande número de aditivos para uso em processamento de alimentos cuja aplicação nem sempre é explicitamente mencionada; a grande variedade existente de alimentos processados; incertezas sobre a perda ou modificação dos aditivos durante processamento e estocagem; dietas muito diversificadas incluindo refeições fora de casa e incerteza quanto à porção consumida. Algumas sugestões sobre os métodos usuais foram feitas pelo autor.

A Organização Mundial da Saúde publicou, em 1985 (OMS, 1985), um manual contendo as orientações para um estudo de ingestão de aditivos e contaminantes, através do consumo de alimentos.

Segundo a Organização, existem dois procedimentos gerais para se obter informações a respeito do hábito alimentar de uma população ou de indivíduos. O primeiro procedimento se baseia no levantamento de dados sobre "movimento" e "desaparecimento" de produtos alimentícios em uma dada região. O segundo procedimento envolve a coleta de dados pessoais sobre as quantidades realmente consumidas pelos indivíduos.

Para avaliações individuais ou de uma população, podem ser utilizados os métodos "Diário de Alimentação e Pesos Ingeridos", "Lembrança da Dieta" e "Frequência dos Alimentos". Além destes, para avaliação individual, é também empregado o método "Duplicação de Ração" e em avaliações de população, o método "Consumo de Alimentos em um Lugar ou um País". Uma breve descrição dos métodos citados é apresentada a seguir.

Diário de Alimentação e Pesos Ingeridos: Este método requer que o indivíduo escreva em um diário o tipo e quantidade dos alimentos consumidos ao longo de um determinado período de tempo, que pode variar entre 4 e 10 dias. Durante a avaliação dos resultados, um equilíbrio entre exatidão dos dados e grau de cooperação dos indivíduos participantes, deve ser levado em consideração pelo investigador.

Duplicação de Rações: Este procedimento para a determinação do consumo de alimentos consiste em organizar a preparação do dobro das rações habitualmente consumidas por uma pessoa ou

em uma instituição. Uma metade é ingerida, enquanto a outra deve ser reservada para análises.

Lembrança da Dieta: Para este procedimento, o participante é levado a lembrar o que ingeriu durante um espaço de tempo anterior à pesquisa. Geralmente, são aplicadas entrevistas individuais onde o entrevistador ajuda a recordar detalhadamente o que foi consumido, que produtos e em que quantidades. Este método se aplica ao dia anterior ao da entrevista, podendo versar até sobre a semana antecedente.

Frequência dos Alimentos: Este método tem como objetivo traçar o consumo habitual de determinados tipos de alimentos. O procedimento utiliza questionários que listam alguns produtos sobre os quais o entrevistado deve indicar o número de vezes por dia, semana ou mês que os consome. O questionário sobre a porção consumida não é normalmente incluído, podendo estes dados ser obtidos através de outras fontes. Caso estes não sejam disponíveis, a adaptação do método poderá ser feita, havendo a necessidade de preparação prévia dos entrevistadores.

Consumo de Alimentos:

- Em um Lugar: Para se avaliar o consumo de alimentos por um grupo de pessoas (família, instituição, hospitais...), divide-se a quantidade total de alimento que "desapareceu" de uma cozinha, em um determinado período de tempo (geralmente uma semana), pelo número de pessoas que vivem neste lugar. O responsável pelo fornecimento dos dados deve

ter uma lista de todos os alimentos presentes na cozinha no início da pesquisa, assinalar as eventuais compras e, ao final do prazo, realizar uma nova lista completa dos alimentos presentes. Os cálculos são efetuados podendo ser estimado o consumo individual diário. Existem correções estatísticas para estimativas precisas.

- Em um País: Quando não existem recursos suficientes para se realizar uma pesquisa sobre o consumo nacional de um dado alimento, calcula-se o saldo deste produto no país, para então se obter a quantidade consumida individualmente, dividindo-se pelo número de habitantes. O saldo de alimentos de um país é a soma dos alimentos produzidos, importados e retirados das reservas, descontando-se os alimentos exportados, colocados nas reservas, perdidos durante distribuição e transporte e alimentos utilizados para rações animais.

A escolha de um ou outro método dependerá de muitos fatores, tais como idade, escolaridade e interesse da população, assim como custos e objetivos da pesquisa.

Ainda segundo a OMS, 1985, a seleção de uma amostra da população para estudo de consumo de alimentos deverá se basear em dados demográficos disponíveis sobre a população, região ou país alvo.

3. MATERIAL E METODOS

3.1. Material

Os produtos coloridos analisados foram alimentos industrializados adquiridos em supermercados locais. Estes produtos estão relacionados a seguir, evidenciando-se os sabores para diferentes marcas, que foram identificadas por letras de "A" a "Q".

De cada produto colorido analisado, foram adquiridas duas embalagens, cada qual em um dos supermercados locais. Para se fazer as análises, sempre em duplicata, os conteúdos das embalagens foram homogeneizados, e então retiradas as amostras. Em caso de não repetibilidade dos resultados, foi feita nova amostragem e análise do produto.

a) PÓ PARA SOBREMESA DE GELATINA

- MARCA "A": abacaxi, cereja, framboesa, limão, morango, pêssego, tangerina, tuti-fruti e uva;
- MARCA "B": abacaxi, cereja, framboesa, limão, maçã, morango, pêssego, tangerina e uva;
- MARCA "C": abacaxi, cereja, framboesa, guaraná, limão, morango, pêssego, tuti-fruti e uva;
- MARCA "D": abacaxi, cereja, framboesa, limão, morango, pêssego e uva;

- MARCA "E": abacaxi, framboesa, morango e uva.

b) PREPARADO SÓLIDO ARTIFICIAL PARA REFRESCO

- MARCA "A": abacaxi, guaraná, laranja, limão, maracujá-
laranja, morango e uva;

- MARCA "B": abacaxi, laranja, limão e uva;

- MARCA "F": groselha, laranja, limão, morango e uva;

- MARCA "G": abacaxi, guaraná, laranja, morango e uva;

- MARCA "H": abacaxi, laranja, limão, maracujá e uva;

- MARCA "I": abacaxi, laranja e maracujá;

- MARCA "J": laranja, limão, morango e tangerina.

c) REFRIGERANTES

- MARCA "L": laranja e uva;

- MARCA "M": laranja;

- MARCA "N": laranja.

d) XAROPE CONCENTRADO PARA REFRESCO

- MARCA "O": abacaxi, groselha, maracujá e morango.

e) REFRESCO PRONTO

- MARCA "P": laranja, morango e uva.

f) COMPOSTO ALIMENTAR

- MARCA "Q": morango.

g) BALAS

- Foram analisados qualitativamente os corantes presentes em 57 balas diferentes, as quais foram escolhidas conforme o levantamento do consumo deste item.

Para tratamento e análise das amostras foram utilizados equipamentos e aparelhos comuns de laboratório e reagentes em grau de pureza exigido pelas especificações dos métodos analíticos.

3.2. Métodos

3.2.1. Análise Qualitativa

3.2.1.1. Extração

A extração do corante, ou mistura de corantes, para análise qualitativa foi feita através de sua fixação em lã pura, com base em trabalho desenvolvido por ARATA (1889) e citado por vários autores.

A primeira etapa da extração envolveu a preparação da lã. Fios de lã, pura e branca, medindo aproximadamente 15 cm, foram fervidos em solução amoniacal (NH_4OH 2%) durante 15 minutos e, em seguida, em água. Os fios foram colocados em

placas de vidro para que secassem à temperatura ambiente, estando assim prontos para o uso.

Os produtos analisados também necessitaram de uma preparação prévia. Os produtos sólidos como balas, pó para sobremesa de gelatina, preparado sólido artificial para refresco e composto alimentar foram previamente homogeneizados em moedor de café Braun, sendo retiradas amostras que eram transferidas para um bequer, ao qual se adicionaram cerca de 30 ml de água destilada. Após a dissolução completa do pó, a solução foi ligeiramente acidificada ao tornassol, adicionando-se gotas de ácido acético 10%. As amostras líquidas como xaropes e refrigerantes, quando não eram ácidas por sua própria natureza, foram igualmente acidificadas ao tornassol, após homogeneização por agitação manual e separação de uma alíquota para um bequer.

A cada bequer, contendo as soluções ácidas dos produtos, foi adicionado um ou mais fios de lã previamente tratada, procedendo-se a um aquecimento em banho-maria até o descoramento completo da solução. Os fios de lã coloridos foram lavados em água corrente e transferidos para pequenos béqueres contendo solução de hidróxido de amônio 2%. Após novo aquecimento em banho-maria, grande parte do corante foi desissorvido pela solução alcalina e aquele ainda adsorvido ao fio foi retirado com solução quente de amônia 2%, gota a gota, até que a lã descorasse. A solução colorida foi neutralizada com ácido acético 10% e o seu volume reduzido

por evaporação em banho-maria, para posterior identificação do corante, ou mistura de corantes.

3.2.1.2. Identificação

A técnica empregada na identificação dos corantes orgânicos sintéticos artificiais foi a cromatografia ascendente em papel, de acordo com PEARSON (1976).

Previamente, foi feito um estudo para se observar o comportamento de vários padrões dos corantes em diferentes sistemas de solventes sugeridos pela literatura (GRIFFITHS, 1966; HOODLESS et alii, 1971; PEARSON, 1973; PERRY e WOOLEY, 1969). Uma vez identificados os sistemas de solventes apropriados para a separação de diferentes corantes, procedeu-se a análise qualitativa, conforme descrito a seguir.

Um retângulo de papel de filtro do tipo 10 (INLAB) foi recortado no tamanho 14 X 24 cm, e, com um lápis, foi traçada uma linha a 2 cm da extremidade do lado maior do papel e, sobre esta, pequenos pontos foram marcados distando 2 cm entre si. Sobre um dos pontos e com auxílio de um capilar de vidro, foi feita a aplicação do corante extraído da amostra conforme o item 3.2.1.1., até obtenção de uma marca de coloração intensa e bem concentrada. Sobre os outros pontos da linha-base foram aplicadas, também com auxílio de capilar de vidro, as soluções aquosas concentradas de corantes conhecidos. O papel foi seco com auxílio de um secador-de-

cabelo doméstico e então enrolado em forma de cilindro e colocado no centro de um bequer de 1 litro, previamente saturado com o solvente escolhido, que funcionou como cuba cromatográfica. O tempo de saturação foi de 1 hora, à temperatura ambiente.

Após o desenvolvimento do cromatograma, isto é, com a frente do solvente aproximadamente a 12 cm acima da linha-base, o papel foi removido, a frente do solvente marcada com lápis e o cromatograma seco em capela ventilada.

A identificação foi feita por comparação visual das cores e tonalidades das manchas e por comparação dos valores de R_f dos padrões e da amostra. No caso de dúvida, foi utilizada a co-cromatografia.

3.2.2. Análise Quantitativa

A espectrofotometria no visível foi a técnica empregada na quantificação dos corantes presentes nas amostras.

De cada corante permitido pela Legislação Brasileira foram feitas soluções ácidas (ácido clorídrico 0,1N), alcalinas (hidróxido de sódio 0,1 N) e neutras (acetato de amônio 0,02%) (PEARSON, 1973), obtendo-se para cada caso, um espectro de absorção no visível (Espectrofotômetro Perkin-Elmer; varredura de 350 a 700 nm). As soluções neutras dos corantes foram as que apresentaram picos mais intensos e melhor definidos nesta região, sendo então o meio neutro empregado na determinação do comprimento de onda de máxima

absorção (λ max) no visível de cada corante padrão, utilizado posteriormente nas leituras espectrofotométricas.

Foram feitas, previamente, curvas padrão de cada corante, relacionando absorbância (A) e concentração (C) sendo calculadas em cada caso, por regressão linear, equações de reta correlacionando os dois parâmetros. O cálculo da concentração dos corantes nas soluções neutras (acetato de amônio 0,02%) foi feito levando-se em conta a pureza do corante-padrão.

3.2.2.1. Extração

Para a análise quantitativa, a extração dos corantes ácidos orgânicos sintéticos artificiais foi feita em coluna de poliamida, de acordo com LEHMANN (1970), e como descrito a seguir:

Uma micro-coluna de vidro de dimensões 10 X 150 mm, com ponta afilada e selada com lã de vidro, foi empacotada com aproximadamente 0,5 g de Poliamida CCG para Coluna Cromatográfica (ϕ < 0,07 mm).

Uma quantidade conhecida de amostra já homogeneizada (em duplicata), foi transferida para um bequer de 50 ml e, em seguida, foram adicionados aproximadamente 30 ml de água quente.

A solução do produto alimentício, levemente acidificada com gotas de ácido acético 10%, foi drenada através da coluna de

poliamida, umidificada anteriormente com água quente, segundo GILHOOLEY et alii (1972). Após a adsorção do corante ácido à poliamida, a coluna foi lavada com porções de 10 ml de água quente e, logo após, com duas porções de 5 ml de acetona. Durante a lavagem, a poliamida foi, eventualmente, agitada com bastão de vidro. O tempo de drenagem do líquido através da coluna, durante as etapas de adsorção e lavagem, foi otimizado com o auxílio de um leve vácuo produzido por trompa-d'água.

Numa etapa seguinte, sem o emprego de vácuo, o corante foi eluído da coluna com solução metanólica de hidróxido de sódio (0,1 g NaOH em metanol 70%) sendo, em seguida, ajustado o pH da solução colorida para 5,5 - 6,0 utilizando-se uma solução 10% de ácido acético. A solução neutralizada foi evaporada em evaporador rotatório a vácuo até um volume mínimo, após o que se procedeu à análise quantitativa.

3.2.2.2. Quantificação

- Amostras contendo apenas um corante:

A solução concentrada do corante, obtida conforme o item 3.2.2.1., foi transferida quantitativamente do balão de evaporação para um balão volumétrico, completando-se o volume com uma solução de acetato de amônio 0,02%. A capacidade do balão volumétrico variou de acordo com a quantidade de corante extraído, de forma que a concentração final da

solução colorida, para leitura em espectrofotômetro, estivesse dentro da faixa linear da Lei de Beer.

O cálculo da concentração do corante em cada amostra foi feito utilizando-se as equações calculadas para o corante padrão, levando-se em conta as diluições feitas.

- Amostras Contendo Dois ou Três Corantes

Na análise quantitativa de amostras contendo 2 ou 3 corantes, a etapa que sucedeu à extração foi a separação da mistura de corantes através de cromatografia ascendente em papel.

Um retângulo em papel de filtro do tipo 10 (INLAB), foi recortado com dimensões de 14 X 24 cm e uma linha foi traçada a lápis, distando 2 cm da extremidade maior. Com auxílio de micropipeta o extrato concentrado de corantes, obtido conforme o item 3.2.2.1., foi aplicado de forma contínua, sobre a linha desenhada. O papel já aplicado, após ser seco com o auxílio de secador de cabelo, foi transferido para um bequer de 1 litro contendo o solvente adequado para separação dos corantes presentes, conforme descrito no item 3.2.1.2..

No caso de estar presente a mistura dos corantes Amarantho e Indigotina, muito encontrada nos produtos de sabor "uva", duas corridas cromatográficas, com solventes diferentes e em sentidos opostos, foram necessárias para se obter uma boa separação. Determinadas misturas de três corantes também exigiram duas corridas cromatográficas para se atingir a

separação. Neste caso, o primeiro solvente empregado separou apenas um dos corantes da mistura. Para os outros dois corantes que foram eluídos juntos do papel, um sistema de solvente adequado para separá-los foi escolhido e, após nova aplicação, o procedimento seguiu conforme já descrito. Os cromatogramas foram secos em capela com ventilação.

As faixas coloridas do cromatograma, correspondentes a cada corante isolado, foram recortadas em forma de tiras, e o corante eluído no sentido descendente. O procedimento para esta eluição, descrito a seguir, foi desenvolvido durante a realização do presente trabalho.

Em um dessecador grande ($\phi = 250$ mm) foram dispostos em círculo no máximo oito bêqueres de 50 ml, apoiados na placa de porcelana. No centro da placa foi colocado um bequer de 250 ml com a boca para baixo e, sobre o fundo deste, foi apoiada uma placa de Petri grande, sobre a qual foram dispostos bêqueres de 50 ml contendo solução de acetato de amônio 0,02%. Uma das extremidades de cada tira colorida foi mergulhada na solução de acetato de amônio, sendo então o corante eluído por capilaridade no sentido descendente. O corante concentrado, em solução neutra, foi recebido em um dos bêqueres dispostos no plano inferior. O dessecador permaneceu tampado durante a eluição que durou, aproximadamente, 10 a 12 horas, dependendo da temperatura ambiente. O sistema desenvolvido para eluição dos corantes encontra-se ilustrado na Figura 1.

FIGURA 1 - Sistema para Eluição dos Corantes após Separação por Cromatografia Ascendente em Papel.



Os corantes eluídos foram transferidos para balões volumétricos procedendo-se às leituras espectrofotométricas e cálculo das concentrações dos corantes conforme descrito para as amostras contendo apenas um corante (item 3.2.2.2.).

3.2.3. Coleta de Dados de Consumo dos Alimentos Coloridos Artificialmente

Para se obter os valores da quantidade total de cada corante artificial ingerido diariamente pela população-alvo, foi necessária uma pesquisa de campo para se saber o consumo individual de produtos coloridos artificialmente.

A população-alvo do presente trabalho foram crianças compreendidas na faixa etária de 3 a 14 anos, residentes em Barão Geraldo. Barão Geraldo é um distrito da Cidade de Campinas, onde se localiza a Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Este distrito tem uma população de aproximadamente 50.000 habitantes, distribuídos principalmente entre as classes média, média-baixa e baixa.

A avaliação da ingestão potencial diária de cada corante foi feita distinguindo-se grupos de crianças de mesma idade e grupos de crianças de mesma classe sócio-econômica, de forma a retratar mais fielmente a realidade encontrada.

Tanto a amostragem da população como o tratamento estatístico dos dados obtidos foram feitos com o auxílio do Laboratório de Estatística da Unicamp.

3.2.3.1. Amostragem da População

Para se fazer um levantamento de toda a população infantil de Barão Geraldo foi necessária a cooperação de todas as escolas locais. Admitindo-se que praticamente todas as crianças da

região frequentam uma ou outra escola do distrito, o primeiro passo foi dado no sentido de se obter as listagens de alunos para o ano letivo de 1986.

Levando-se em conta que as escolas são divididas nas categorias "Pública" e "Particular", foi possível uma classificação sócio-econômica das crianças entrevistadas.

As Escolas Públicas somaram um total de 5, acolhendo 2.832 alunos distribuídos da seguinte forma:

- E.M.E.I. Agostinho Páttaro: 475 alunos divididos nas séries maternal, infantil e pré-primário;
- E.E.P.G. José Pedro de Oliveira: 573 alunos distribuídos de 1º a 8º séries;
- E.E.P.G. Hilton Federici: 830 alunos distribuídos de 1º a 8º séries;
- E.E.P.S.G. Barão Geraldo de Resende: 655 alunos distribuídos de 1º a 8º séries;
- E.M.P.G. Profa. Dulce Bento Nascimento: 299 alunos distribuídos de 1º a 7º séries.

As Escolas Particulares somaram um total de 3, acolhendo 2.075 alunos distribuídos da seguinte forma:

- Escola do Sítio: 300 alunos distribuídos desde o maternal até a 5ª série;
- Pré-Escola do Guarã e Infantil: 44 alunos no pré-primário;

- Escola Rio Branco: 1.731 alunos distribuídos desde o maternal até a 8ª série.

Uma melhor visão da distribuição de alunos/escola/séries pode ser obtida observando-se a Tabela 1 que se encontra a seguir:

TABELA 1 - Distribuição de Alunos por Série e por Escola do Distrito de Barão Geraldo.

ESCOLA	SÉRIE													TOTAL
	MAT.	JARD.I	JARD.II	INF.	PRE	1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	8a	
E.M.E.I. Agostinho Páttaro	87			185	203									475
Escola do Sítio	50	36	27		50	47	24	27	25	14				300
E.E.P.G. José Pedro de Oliveira						115	94	80	89	89	53	32	21	573
E.E.P.G. Hilton Federici						99	145	114	108	123	102	71	68	830
E.E.P.S.G. Barão Geraldo de Resende						94	64	69	60	98	95	94	81	655
Escola Rio Branco	46	98	143		210	174	210	185	147	157	144	115	102	1731
E.M.P.G. Dulce Bento Nascimento						65	46	50	57	38	21	22		299
Pré-Escola do Guará e Infantil					44									
TOTAL POR SÉRIE	193	135	170	185	507	594	583	525	486	519	415	334	272	4907

Para se tomar uma amostra representativa da população que mais fielmente retratasse a realidade, foram escolhidas 200 crianças. O plano amostral foi de Amostragem Estratificada Proporcional. O Universo completo (N) contou com 4.907

indivíduos sendo 2.982 alunos de Escolas Públicas (NPU) e 2.075 alunos de Escolas Particulares (NPA).

$$N = 4.907$$

$$NPU = 2.832$$

$$NPA = 2.075$$

$$\frac{NPU}{N} = 0,577$$

$$\frac{NPA}{N} = 0,423$$

Logo, para se obter 200 indivíduos:

$$nPU = 200 \times 0,577 = 115$$

$$nPA = 200 \times 0,423 = 85$$

onde:

nPU = nº de crianças sorteadas das Escolas Públicas

nPA = nº de crianças sorteadas das Escolas Particulares

Com posse de todas as listas de chamada de todas as turmas e de todas as escolas, mais uma vez foi feita a distribuição de quantos alunos seriam sorteados dentro de cada série e escola para que fosse seguida a proporcionalidade idêntica à real.

Para cada escola, a escolha se seguia de série em série, sorteando-se primeiramente a turma. Este sorteio foi feito com pequenos pedaços de papel marcados por A, B, C... escolhidos aleatoriamente. Uma vez sorteada uma turma de uma dada série e escola, era então verificado quantos alunos seriam sorteados neste caso. De posse de uma tabela de números aleatórios, tantos números quanto necessários eram escolhidos. O número de cada criança era aquele já atribuído na própria lista de chamada. A Tabela 2 apresenta o número de crianças sorteadas em cada série e de cada escola.

TABELA 2 - Distribuição do Número de Alunos Sorteados por
Série e por Escola do Distrito de Barão Geraldo.

ESCOLA	SERIE														TOTAL
	MAT.	JARD.I	JARD.II	INF.	PRE	1a	2a	3a	4a	5a	6a	7a	8a		
E.M.E.I. Agostinho Pattaro	4			8	9									21	
Escola do Sitio	2	1	1		2	2	2	2	2	2				16	
E.E.P.G. Jose Pedro de Oliveira						4	3	3	3	3	3	2	2	23	
E.E.P.G. Hilton Federici						4	5	4	4	5	4	3	2	31	
E.E.P.S.G. Barao Geraldo de Resende						4	3	3	3	3	3	2	3	24	
Escola Rio Branco	2	4	7		10	7	7	7	5	5	6	4	4	68	
E.M.P.G. Profa. Dulce Bento Nascimento						4	3	3	3	3	2	2		20	
Pre-Escola do Guara e Infantil					3									3	
TOTAL POR SERIE	8	5	8	8	24	25	23	22	20	21	18	13	11	206	

Para uma melhor distribuição foram sorteados, ao todo, 206 indivíduos.

3.2.3.2. Coleta de dados

Mais uma vez, com auxílio das escolas supra-mencionadas, foi organizada uma lista onde constava apenas o nome das crianças sorteadas, endereço, telefone e nome da mãe ou responsável. Este arquivo foi todo guardado em disquete de computador,

sendo escolhido o DBase II como pacote de manutenção de dados. Uma listagem ordenada por bairros foi solicitada para facilitar a organização das visitas às casas das crianças sorteadas.

Alguns alunos da Faculdade de Economia da Unicamp foram voluntários para participar da coleta de dados que se iniciava por uma entrevista com a mãe ou responsável de cada criança sorteada. Na primeira entrevista, caso a pessoa não fosse encontrada em casa por duas vezes, deveria ser seguida a regra conforme o Anexo 3.

Nesta etapa, tanto o questionário definitivo (Anexo 4) como a tática da entrevista já estavam elaborados.

Na primeira visita, a mãe ou responsável foi informado sobre o trabalho que estava sendo realizado, com o cuidado de se evitar que o mesmo desconfiasse de que o objetivo final seria a coleta de dados sobre o consumo de produtos alimentícios coloridos artificialmente, evitando assim comportamentos tendenciosos. Tendo a família concordado em participar da pesquisa, foi fornecida uma lista dos produtos (Anexo 5) cujas embalagens deveriam ser colecionadas, caso fossem consumidos no período de duas semanas.

Na segunda visita, o entrevistador, munido do questionário, voltou à mesma casa para avaliar, junto ao responsável, o consumo dos alimentos coloridos artificialmente pelas crianças da casa. Todos os dados sobre a criança sorteada foram anotados no item 1 do questionário e o restante dos

dados sobre a família anotados no item 2. Era importante saber o número de pessoas da casa, pois, uma vez que todos consumiam o alimento em questão, a porção atribuída a cada criança seria igual à porção total consumida pela família dividida pelo número de integrantes da mesma. Todas as crianças da casa pertencentes à faixa etária de interesse foram incluídas na pesquisa, o que aumentou o número de indivíduos participantes.

Nos itens subsequentes (3 a 9) foi detalhado o consumo dos alimentos coloridos. A cada tipo de produto, isto é, a cada item diferente, foi indagado se algum integrante da família não o consumia. Este dado foi importante para se saber quantas pessoas repartiram a porção total consumida pela família. Durante a entrevista foram preenchidas somente as colunas "QUANTIDADE" e "MARCA". Na linha equivalente a cada sabor foram preenchidas, com auxílio do material colecionado, a quantidade e a marca do produto consumido durante o período de tempo da coleta de embalagens. Após a entrevista, na coluna "P/SEMANA", foi então feita a correção para número de embalagens consumidas pela família em uma semana. Na coluna "CODIGO" assinalou-se, finalmente, a quantidade do produto comercial consumida por cada criança no período de uma semana. No item 10 foram anotadas informações complementares sobre a ingestão de produtos não industrializados, sorvetes e chicletes.

Um primeiro arquivo foi registrado em computador, totalizando a participação efetiva de 242 crianças. Este arquivo é

composto pelo nome completo de cada indivíduo, endereço, bairro, telefone, nome da mãe ou responsável, escola, série, peso, idade, sexo e também a quantidade de cada produto comercial (cada qual identificado por um código numérico) consumido durante o intervalo de uma semana. A unidade padrão do arquivo foi: pacote/pessoa/semana.

Foi também elaborado um outro arquivo contendo o código numérico de cada produto comercial, o(s) corante(s) presente(s) e a(s) quantidade(s) encontrada(s) em uma embalagem.

De posse dos dois arquivos completos, foram desenvolvidos, pelo Laboratório de Estatística da Unicamp, programas de computador que tornaram possível a obtenção dos dados quanto à quantidade de corante artificial consumida por cada participante da pesquisa, devido à ingestão de produtos alimentícios coloridos artificialmente, durante o intervalo de uma semana. Outros programas foram também desenvolvidos visando relacionar o consumo de corante artificial com os parâmetros idade, sexo e classe sócio-econômica.

A coleta de dados relativos ao consumo de balas e pirulitos foi realizada à parte dos demais produtos.

Mais uma vez as escolas ajudaram no sentido de permitir primeiramente a visita explicativa a algumas turmas que foram previamente sorteadas e, posteriormente, a visita para se recolher os resultados. As escolas públicas e particulares que apresentaram maior número de crianças distribuídas nas

várias séries foram aquelas escolhidas para terem suas turmas sorteadas. Foi sorteada uma turma de cada série para a categoria particular e uma turma de cada série para a categoria pública. Este sorteio se deu pela escolha aleatória de pequenos pedaços de papel marcados por A, B, C...

Para cada aluno das turmas sorteadas foi fornecida uma ficha numerada a ser completada na primeira visita do entrevistador. Nesta ficha deveriam ser fornecidos o nome, endereço, telefone, idade, peso, nome da escola e série de cada indivíduo. Foi também deixado com cada aluno, um pequeno saco plástico com numeração equivalente à da ficha preenchida, onde deveriam ser colocados todos os papéis das balas e pirulitos consumidos no intervalo de uma semana. Todas as explicações foram dadas no sentido de se obter uma grande participação, evitando, ao mesmo tempo, qualquer estímulo que levasse a criança a colecionar papéis de balas que não fossem efetivamente consumidas por elas próprias.

As marcas e sabores das balas e pirulitos correspondentes aos papéis contidos em cada saco plástico devolvido foram devidamente anotados. Juntamente com os dados de cada ficha, foi feito um novo cadastro em computador contendo o nome e número de balas consumidas por cada criança durante o período de uma semana, assim como os corantes ingeridos devido a este consumo.

3.2.4. Avaliação Estatística

Para comparar a Ingestão Potencial Semanal de corantes (IPS) entre distintos grupos da população, foi aplicado o Teste F. Este teste estatístico, proveniente de uma análise de variância, avalia possíveis diferenças entre os grupos estudados a um nível de significância especificado. Com base no Teste F, foram tomadas as decisões quanto à existência ou não de diferença significativa de ingestão de corantes entre os grupos "Feminino" e "Masculino" e entre os grupos que frequentam "Escola Pública" e "Escola Particular".

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise Qualitativa

Para a análise qualitativa de corantes artificiais procurou-se um método de extração que fosse simples, pouco dispendioso e que permitisse a obtenção de resultados em tempo curto. Entre os métodos disponíveis, o método de tingimento de lã pura foi o mais adequado a esta etapa do trabalho, obedecendo a todos os requisitos e ainda permitindo a análise simultânea de várias amostras. Este método, na forma original ou com modificações introduzidas por vários autores (GILHOOLEY et alii, 1972; PEARSON, 1973; PERRY e WOOLEY, 1969; YANUKA et alii, 1963), ainda é bastante utilizado na extração de corantes de alimentos, para fins de identificação.

Para a identificação dos corantes foram testados, com o emprego de padrões, inúmeros sistemas de solventes citados na literatura, tanto para uso em cromatografia de camada delgada como para cromatografia em papel. Dentre eles, aqueles que foram mais eficientes, possibilitando a separação do maior número de combinações de corantes encontradas nos produtos comerciais pesquisados foram:

- a) Solvente 11: 2% citrato tri-sódico em NH_4OH 5%.
- b) Solvente 3: 2% NaCl em etanol 50% (Anexo 6).

Nenhum dos solventes testados foi capaz de separar Amarelo Crepúsculo de Laranja GGN, o que dificultou a identificação dos corantes de cor laranja presentes nas amostras

analisadas. Os corantes Amarelo Crepúsculo e Laranja GGN, com mesma tonalidade de cor laranja, diferem entre si devido apenas à posição de um grupo sulfonila (isômeros). Consequentemente, estes corantes apresentaram valores de R_f muito próximos em todos os solventes, assim como curvas espectrofotométricas bastante similares nas faixas do visível e ultra-violeta. A diferença entre eles foi observada em termos de absortividade, que é maior para o Amarelo Crepúsculo, e quanto ao seu comportamento no infra-vermelho (Anexo 7). Esta última característica, aliada às informações de que o corante Laranja GGN não é importado e tampouco fabricado no Brasil (comunicação pessoal), possibilitou a confirmação da identidade dos corantes laranja presentes nas amostras analisadas como sendo A. Crepúsculo.

No caso dos corantes Vermelho 40 e Vermelho Sólido E, embora os mesmos apresentassem valores de R_f muito próximos nos solventes estudados (Anexo 6), a identificação foi possível devido às suas diferentes tonalidades de cor vermelha.

Os resultados da análise qualitativa de corantes em 140 produtos comerciais, adquiridos aleatoriamente em supermercados, estão apresentados nas Tabelas 3 e 4, que evidenciam as frequências com que os corantes, individualmente ou em misturas, foram encontrados nos produtos em geral e nas balas. Os resultados da análise qualitativa de produtos específicos encontram-se nas Tabelas 6 a 28, juntamente com os resultados da análise quantitativa.

TABELA 3 - Corantes Artificiais Encontrados em 83 Variedades
Produtos Comerciais*.

CORANTE	FREQUENCIA (%)
Tartrazina + A. Crepúsculo	25,0
Amaranto + A. Crepúsculo	11,0
A. Crepúsculo	9,6
V. Sólido E**	7,0
Amaranto	7,0
Tartrazina	6,0
Tartrazina + Indigotina	5,0
V. Sólido E** + Indigotina	3,6
Amaranto + Indigotina	3,6
Tartrazina + Amaranto + Indigotina	3,6
Amaranto + Tartrazina	2,4
Amaranto + A. Crepúsculo + Tartrazina	2,4
V. Sólido E** + Azul de Indantreno**	1,2
Amaranto + Azul Brilhante	1,2
Amaranto + A. Brilhante + Tartrazina	1,2
Ponceau 4R	1,2
V. Sólido E** + A. Crepúsculo + Tartrazina	1,2
A. Crepúsculo + V. Sólido E**	1,2
A. Crepúsculo + Tartrazina + Indigotina	1,2
Amaranto + V. Sólido E** + Indigotina + Tartrazina	1,2
Sem Corante Artificial	3,6

* Pó para sobremesas de gelatina, preparados sólidos artificiais para refresco, refrigerantes, xaropes, refrescos prontos e composto alimentar.

** Corantes permitidos na época em que as análises foram efetuadas (até dez/1986), mas proibidos a partir de 28/01/87 (Anexo 2).

TABELA 4 - Corantes Artificiais Encontrados em 57 Variedades de Balas.

CORANTE	FREQUENCIA (%)
Tartrazina + Indigotina	21
Amaranto	9
V. Sólido E*	5
Tartrazina	3,5
V. Sólido E* + Indigotina	3,5
V. Sólido E* + Tartrazina	3,5
A. Crepúsculo	2
Vermelho 40 + Indigotina	2
Eritrosina + Ponceau 4R	2
Amaranto + Tartrazina + Indigotina	2
Sem Corante Artificial	47

* Corante permitido na época em que as análises foram efetuadas (até dez/1986), mas proibidos a partir de 28/01/87 (Anexo 2).

Comparando-se as Tabelas 3 e 4 com o Anexo 1 verifica-se que todos os corantes identificados pertencem à lista dos 13 corantes artificiais então permitidos pela Legislação Brasileira (dezembro/86). Dos 5 corantes proibidos para uso em alimentos no Brasil a partir de fevereiro de 1987, Azul de Indantreno foi encontrado em um único produto (preparado

sólido artificial para refresco, marca H, sabor uva), enquanto Vermelho Sólido E apresentou uma frequência de 12% e 16% em balas e nos demais produtos analisados, respectivamente.

Observando-se agora as Tabelas 6, 7, 16 e 18 dos resultados quantitativos, nota-se que apenas as marcas B e F dão preferência ao uso do Vermelho Sólido E, em gelatinas e refrescos, respectivamente, em relação a outros corantes vermelhos. A substituição deste aditivo, portanto, não deve ter provocado maiores problemas para os fabricantes.

Os corantes que foram encontrados individualmente nos produtos coloridos analisados foram Amaranço, muito utilizado nos produtos de sabor cereja ou morango; Tartrazina, encontrada nos produtos de sabor abacaxi ou limão; Amarelo Crepúsculo para os produtos de sabor laranja e Vermelho Sólido E para os de sabor framboesa ou morango. Pode ainda ser observado que diferentes marcas comerciais utilizam diferentes misturas de corantes para obtenção de tonalidades semelhantes em seus produtos. Um exemplo é o produto "preparado sólido artificial para refresco", sabor uva que é fabricado por 4 marcas distintas, sendo que cada uma delas utiliza misturas diferentes de corantes artificiais (Tabela 18). No entanto, mesmo considerando este fato, ficou evidente a preferência pelos corantes Tartrazina, Amarelo Crepúsculo, Amaranço, Indigotina e Vermelho Sólido E nos produtos analisados. Cabe ressaltar que dentre estes 5 corantes, Vermelho Sólido E, devido à falta de informações

toxicológicas a seu respeito, foi proibido para uso em alimentos no Brasil, e Tartrazina apresenta características hipersensibilizantes que se manifestam independentemente da dose ingerida.

Tartrazina, embora presente individualmente em apenas 5 e 2 dos produtos e balas analisados, respectivamente, foi um dos corantes preferidos nas misturas encontradas, independentemente do sabor final. Este aditivo que, em muitos países, quando presente no produto deve claramente constar do rótulo, pode causar reações alérgicas em indivíduos sensíveis, que, normalmente, apresentam asma, alergias em geral e intolerância à aspirina. Combinado com um ou mais corantes, Tartrazina está presente em 48% dos produtos analisados (exceto balas) e em 28% das balas mais consumidas pela população-alvo.

Uma vez que nenhum corante verde artificial é permitido pela Legislação Brasileira para uso em alimentos, produtos de sabor limão, assim como balas de hortelã, muito consumidas, apresentam mistura de Tartrazina e Indigotina. Este fato é desconhecido por muitas pessoas, inclusive médicos, que consideram os alimentos de coloração verde ou de sabor limão ou hortelã "mais naturais" que os de coloração vermelha, quando na verdade estes produtos, por conterem Tartrazina, podem significar um risco maior para pessoas sensíveis.

O corante Indigotina, que foi encontrado apenas em presença de outro corante, foi detectado em 28% das balas mais

consumidas pela população-alvo e em 18% dos demais produtos analisados qualitativamente. Este corante, muito instável, pode sofrer descoloração em vários graus, originando compostos cujas propriedades tóxicas são menos conhecidas que as do próprio corantes (TOLEDO, 1984). Mesmo considerando sua baixa concentração nos produtos, as diversas fontes de Indigotina podem provocar uma alta ingestão, à semelhança do que pode ocorrer com todos outros corantes.

4.2. Análise Quantitativa

A extração do corante ou mistura de corantes para a análise quantitativa foi feita em coluna de poliamida, em preferência à técnica de fixação em lã pura. O método de tingimento de lã não se mostrou eficiente para a análise quantitativa, uma vez que muitos corantes demoram para tingir a lã, mesmo em solução ácida e a quente, e os corantes adsorvidos, muitas vezes, sofrem modificações ao serem dessorvidos da lã com solução amoniacal (CORRADI e MICHELI, 1979; LEHKANN et alii, 1970). O aquecimento das amostras acidificadas também acarreta em uma co-extração de outros materiais que não os corantes, reduzindo a pureza do extrato (PERRY e WOOLLEY, 1969). Além disso, o método de fixação em lã não se mostrou apropriado para produtos altamente açucarados, sendo o rendimentos da extração bastante diminuído. Optou-se então pelo método de extração em coluna de poliamida que, embora mais dispendioso, não envolve aquecimento prolongado com conseqüente caramelização dos açúcares.

O método descrito por LEHMANN et alii (1970) para a extração de corantes de produtos alimentícios através de coluna de poliamida aconselha misturar a fase estacionária à solução do produto colorido que será analisado. Este procedimento, no entanto, foi modificado segundo GILHOOLEY et alii (1972), no sentido de se fazer passar a solução colorida através da coluna de poliamida o que, praticamente, resultou em maior recuperação.

Para a análise quantitativa de amostras contendo mistura de corantes, foram feitas separações por cromatografia ascendente em papel, tendo sido observada uma relação direta entre eficiência da separação dos corantes e repetibilidade das leituras espectrofotométricas. Na Tabela 5 estão apresentadas as misturas de corantes encontradas nos produtos analisados quantitativamente e os solventes empregados em suas separações.

TABELA 05 - Misturas de Corantes Presentes nos Produtos Analisados e Solventes Empregados na Separação por Cromatografia em Papel.

MISTURAS	SOLVENTES
Amaranto + A. Crepúsculo	3
Amaranto + A. Crepúsculo + Tartrazina	11 e 3*
Amaranto + Tartrazina + Indigotina	11
Amaranto + Indigotina	15 e 11**
Tartrazina + A. Crepúsculo	11
Tartrazina + A. Crepúsculo + V. Sol. E	11
Tartrazina + Indigotina	11
Tartrazina + Amaranto	11
A. Crepúsculo + V. Sol. E	11
V. Sol. E + Indigotina	15 e 14**
Amaranto + Azul Brilhante + Tartrazina	12
Amaranto + Azul Brilhante	11
Amaranto + V. Sol. E + Tartrazina + Indigotina	14 e 11*

Solvente 3: 2% NaCl em etanol 50%

Solvente 11: 2% citrato tri-sódico em NH_4OH 5%

Solvente 12: H_2O , HCl conc. (30: 6,5)

Solvente 14: n-butanol, etanol, H_2O , amônia 0,88
(5: 2,5: 2,5: 1)

Solvente 15: água destilada

* O primeiro solvente separa um dos componentes da mistura. Os demais corantes, após eluição, são novamente aplicados no papel e então separados pelo segundo solvente.

** Desenvolvimento do cromatograma com o primeiro solvente e, depois de seco o papel, desenvolvimento do cromatograma com o segundo solvente, em sentido oposto.

A técnica recomendada na literatura (FAO/WHO, 1966) para a eluição dos corantes após desenvolvimento do cromatograma consiste, basicamente, na extração com o solvente acetona-água (1:1), por agitação mecânica em tubo de ensaio, seguida por evaporação a vácuo do solvente. Entretanto, as soluções finais de corantes, obtidas usando-se esta técnica, mostravam-se turvas devido à presença de pequenas fibras de celulose, sendo necessária uma etapa de centrifugação antes da leitura espectrofotométrica.

A técnica de eluição descendente, desenvolvida durante a realização deste trabalho, não só solucionou este problema como também eliminou as etapas de evaporação do solvente e de centrifugação. Para melhor recuperação dos corantes, a eluição dos mesmos foi feita com o solvente utilizado na leitura espectrofotométrica (acetato de amônio 0,02%), sendo o corante recolhido nos béqueres como uma solução límpida e concentrada (volume final < 5 mL). Utilizando-se um dessecador grande para a montagem do sistema, foi possível a eluição simultânea de oito tiras coloridas. Esta etapa, por não necessitar de um controle constante, foi conduzida durante a noite ou mesmo durante o dia de trabalho enquanto outras atividades eram realizadas. A temperatura ambiente de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, a eluição se completou num tempo médio de 10 horas.

Os produtos analisados quantitativamente foram aqueles evidenciados pela pesquisa de consumo realizada, independentemente de suas frequências ou quantidades

consumidas. As balas e pirulitos, consumidos em enorme variedade pela população infantil de Barão Geraldo, não foram analisados quantitativamente. Os fatores que motivaram este procedimento foram, principalmente, a constatação visual da não homogeneidade nas tonalidades das cores dos produtos de mesma marca e sabor e a necessidade de um grande número de análises devido à variedade de balas consumidas. Algumas análises quantitativas foram realizadas e, com base nos resultados obtidos, considerou-se que cada corante estava presente, em média, em quantidade equivalente à metade da máxima permitida pela legislação. Assim sendo, sabendo-se qual ou quais corantes constavam de cada uma das balas, foi atribuído um valor teórico médio de quantidade de corante presente.

As Tabelas 6 a 28 apresentam os resultados das análises qualitativas e quantitativas para cada produto analisado.

TABELA 6 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Morango (mg/100 ml
do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE		
	AMARANTO	A. CREPUSCULO	V. SOL. E
A	2,54	2,56	--
B	--	--	5,65
C	2,65	3,07	--
D	0,94	0,47	--
E	1,30	2,61	--

TABELA 7 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Framboesa (mg/100 ml
do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE		
	AMARANTO	A. CREPUSCULO	V. SOL. E
A	2,00	1,58	--
B	--	--	8,81
C	2,47	1,34	--
D	1,49	0,34	--
E	3,83	--	--

TABELA 8 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Cereja (mg/100 ml do
Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE	
	AMARANTO	V. SOL. E
A	7,65	--
B	--	8,81
C	6,84	--
D	1,31	--

TABELA 9 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Tutti-Frutti (mg/100
ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE		
	AMARANTO	A. CREPUSCULO	TARTRAZINA
A	0,83	2,52	0,68
C	0,38	1,40	1,23

TABELA 10 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Maçã (mg/100 ml do
Produto a ser Consumido.

MARCA	CORANTE
	V. SOL. E
E	1,96

TABELA 11 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Uva (mg/100 ml do
Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE			V. SOL. E
	AMARANTO	TARTRAZINA	INDIGOTINA	
A	1,82	0,18	0,13	--
B	--	--	0,18	5,67
C	2,53	--	0,16	--
D	2,31	--	0,11	--
E	0,92	0,29	tracos	1,36

QUADRO 12 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Tangerina (mg/100 ml
do Produto a ser Consumido.

MARCA	CORANTE		
	A. CREPUSCULO	TARTRAZINA	V. SOL. E
A	1,56	0,57	--
B	1,49	--	0,22

TABELA 13 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Abacaxi (mg/100 ml
do Produto a ser Consumido.

MARCA	CORANTE	
	TARTRAZINA	A. CREPUSCULO
A	0,96	0,48
B	2,65	0,20
C	1,31	0,26
E	2,71	0,21

TABELA 14 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Pêssego (mg/100 ml
do Produto a ser Consumido.

MARCA	CORANTE		
	TARTRAZINA	A. CREPUSCULO	V. SOL. E
A	0,65	1,30	--
B	0,10	0,92	0,09
C	0,57	1,00	--
D	0,78	0,21	--

TABELA 15 - Quantidade de Corante Presente em Pó para
Sobremesa de Gelatina, Sabor Limão (mg/100 ml do
Produto a ser Consumido.

MARCA	CORANTE	
	TARTRAZINA	INDIGOTINA
A	0,82	0,12
B	1,62	0,23
C	1,20	0,31
D	2,39	0,28

TABELA 16 - Quantidade de Corante Presente em Preparado
Sólido Artificial para Refresco, Sabor Morango
(mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE			
	AMARANTO	A. CREPÚSCULO	V. SOL. E	TARTRAZINA
A	2,73	1,84	--	--
F	--	--	3,64	--
G	1,74	--	--	0,24

TABELA 17 - Quantidade de Corante Presente em Preparado
Sólido Artificial para Refresco, Sabor Groselha
(mg/100 ml do produto a ser consumido).

MARCA	CORANTE
	V. SOL. E
F	7,56

TABELA 18 - Quantidade de Corante Presente em Preparado Sólido Artificial para Refresco, Sabor Uva (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE				
	ANARANTO	V.SOL.E	TARTRAZINA	A.INDANTRENO	INDIGOTINA
A	3,81	--	1,02	--	0,49
F	--	6,63	--	--	0,37
G	3,74	--	--	--	0,06
H	--	4,55	--	*	--

* Não foi quantificado.

TABELA 19 - Quantidade de Corante Presente em Preparado Sólido Artificial para Refresco, Sabor Laranja (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE	
	TARTRAZINA	A. CREPUSCULO
A	1,32	0,67
B	0,38	0,40
F	--	4,70
G	--	1,34
H	1,63	1,61
I	1,50	0,53
J	5,38	0,63

TABELA 20 - Quantidade de Corante Presente em Preparado
Sólido Artificial para Refresco, Sabor Maracujá
(mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE	
	TARTRAZINA	A. CREPUSCULO
A	1,14	0,50
H	1,18	0,48
I	2,02	1,18

TABELA 21 - Quantidade de Corante Presente em Preparado
Sólido Artificial para Refresco, Sabor Abacaxi
(mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE	
	TARTRAZINA	A. CREPUSCULO
A	0,10	0,02
B	0,13	0,06
G	0,59	--
H	0,37	0,11
I	0,20	0,03

TABELA 22 - Quantidade de Corante Presente em Preparado
Sólido Artificial para Refresco, Sabor Limão
(mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE
	TARTRAZINA
F	0,06
H	0,06

TABELA 23 - Quantidade de Corante Presente em Preparado
Sólido Artificial para Refresco, Sabor Guaraná
(mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE		
	AMARANTO	TARTRAZINA	INDIGOTINA
G	0,21	0,75	traços

TABELA 24 - Quantidade de Corante Presente em Refrigerante,
Sabor Laranja (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE
	A. CREPUSCULO
L	3,00
H	3,10
N	2,97

TABELA 25 - Quantidade de Corante Presente em Refrigerante,
Sabor Uva (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE		
	AMARANTO	TARTRAZINA	AZUL BRILHANTE
L	2,61	0,39	0,39

TABELA 26 - Quantidade de Corante Presente em Composto Alimentar, Sabor Morango (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

MARCA	CORANTE
	PONCEAU 4R
Q	2,67

TABELA 27 - Quantidade de Corante Presente em Refresco Pronto da Marca "P" (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

SABOR	CORANTE		
	AMARANTO	TARTRAZINA	AZUL BRILHANTE
MORANGO	2,98	0,66	--
UVA	1,99	--	0,25

TABELA 28 - Quantidade de Corante Presente em Xarope da Marca
"O" (mg/100 ml do Produto a ser Consumido).

SABOR	CORANTE	
	ANARANTO	A. CREPUSCULO
GROSELHA	2,70	--
MORANGO	1,68	--
MARACUJA	--	0,36

Observando-se as Tabelas 6 a 15, que apresentam os resultados das análises para sobremesas de gelatina, foram observadas algumas tendências tais como semelhança entre as quantidades e qualidades dos corantes utilizados pelas marcas A e C; emprego, pela marca B, de Vermelho Sólido E em quantidade elevada relativamente a outras marcas; utilização pela marca D de, basicamente, os mesmos corantes que A e C, porém em quantidades menores e variação na marca E de composições de corantes havendo, inclusive, mistura de quatro corantes (Tabela 11), o que não é permitido pela Legislação (ABIA, 1978). Comparando-se as Tabelas 6, 11 e 16, 18 pode ainda ser observado que a marca A utiliza as mesmas misturas de corantes para seus produtos sobremesa de gelatina e preparados sólidos artificiais para refresco, quando os sabores são os mesmos.

Com relação aos preparados sólidos artificiais para refresco, Tabelas 16 a 23, quando estes produtos apresentam a cor vermelha nota-se o emprego, pela marca F, de Vermelho Sólido E em quantidades elevadas, enquanto que as marcas A e G utilizam Amaranto misturado a outro corante. A marca H, cujo único refresco de tonalidade vermelha é o de sabor uva (Tabela 18), também emprega o Vermelho Sólido E misturando-o ao Azul de Indantreno. A quantificação deste corante azul não foi possível devido a sua baixíssima solubilidade em água, o que dificultou a sua extração e eluição quantitativa da coluna de poliamida.

Os resultados obtidos através da análise quantitativa, indicam que os níveis de corante utilizados em alimentos no Brasil são bastante próximos de níveis utilizados em países europeus, embora os corantes permitidos nem sempre sejam os mesmos. Dados disponíveis na literatura sobre conteúdo de corantes em refrescos prontos mostram que na Suíça, por exemplo, aqueles de sabor framboesa chegam a conter até 0,008% de Azorrubina ou 0,009% de Ponceau 4R, sendo o Amarantho, embora permitido, pouquíssimo empregado (HUNZIKER e ZIMMERLI, 1984). Já na Itália, Tartrazina é encontrada em refrescos em quantidade próxima a 0,006% no produto a ser consumido, sendo que os níveis de corante permitidos neste país variam de 0,01% a 0,02% conforme o produto (QUATRUCCI e SALETTI, 1983).

O limite máximo de "10 mg de corante/100 ml do produto a ser consumido" não foi desrespeitado em nenhum dos casos analisados, considerando-se a soma total dos corantes presentes em cada amostra e as diluições que o produto sofrerá para então ser consumido. Notou-se, entretanto, uma disparidade entre produtos de cores similares e marcas distintas, que utilizam os mesmos corantes em quantidades que diferem da ordem de até 5 vezes.

O fato de não terem sido encontrados corantes em quantidades superiores àquelas permitidas pela Legislação Brasileira não significa, a princípio, segurança para a saúde do consumidor. A presença do mesmo corante em diferentes produtos pode levar

a um consumo diário acima da faixa de Ingestão Diária Aceitável (IDA).

A fim de se avaliar a confiabilidade dos resultados quantitativos encontrados, alguns testes de recuperação foram feitos. Primeiramente, foi dada atenção especial à etapa de eluição desenvolvida no presente trabalho, avaliando-se a recuperação de 5 corantes padrões (Amaranto, Amarelo Crepúsculo, Indigotina, Vermelho Sólido E e Tartrazina) e 3 misturas de corantes encontradas com maior frequência nos produtos analisados (Amarelo Crepúsculo + Tartrazina; Amaranto + Indigotina; Amaranto + Amarelo Crepúsculo). Para este estudo foram utilizadas soluções concentradas dos corantes, as quais sofreram o mesmo tratamento das amostras, com exceção da etapa de extração. Os resultados encontrados estão resumidos na Tabela 29.

Já era esperado para a Indigotina o menor valor de recuperação, principalmente quando em mistura. Os solventes utilizados em separações de misturas que contém Indigotina são sistemas alcalinos e a Indigotina, por sua vez, é altamente instável neste meio. Além disto, em relação à misturas de corantes, CHO, CHO e YANG (1975) já constatarem recuperações menores quando estão presentes mais de um corante no produto, podendo, mesmo o Amaranto, apresentar uma recuperação de 64% quando misturado a A. Crepúsculo e Tartrazina.

TABELA 29: Recuperação de Corantes*

CORANTE	RECUPERAÇÃO (%)
A) Tartrazina + B) A. Crepúsculo	A) 104 ; B) 88
A) Amaranto + B) Indigotina	A) 97 ; B) 38
A) Amaranto + B) A. Crepúsculo	A) 96 ; B) 91
A. Crepúsculo	96
Amaranto	96
Tartrazina	101
V. Sólido E	97
Indigotina	81

* Corantes Padrões, excluída a etapa de extração.

Para se incluir a etapa de extração na avaliação da recuperação de corantes, foram feitos ensaios com um produto comercial contendo A. Crepúsculo e Tartrazina, mistura de corantes mais encontrada nos produtos analisados. Baseando-se nos resultados de quantificação deste produto, duplicou-se a quantidade de corante adicionando-se solução padrão de concentração conhecida. A amostra foi submetida ao método completo de quantificação, sendo obtidos 103% e 93% de recuperação para A. Crepúsculo e Tartrazina, respectivamente.

Uma observação abrangente sobre os dados da literatura que incluem vários métodos de extração (método de lá modificado (YAMAMOTO et alii, 1972), extração por solvente (CHO, CHO e YANG, 1975), extração com resina Amberlite LA-2 (GRAICHEN, 1975) e coluna de poliamida (BRANCA e SPAGNOLINI, 1980)) e também vários alimentos em que se encontram os corantes (produtos de panificação, embutidos, refrigerantes, balas...), demonstra que os valores de recuperação dos corantes individualmente variam desde 70% a 105%, sendo Indigotina o mais problemático devido a sua grande instabilidade. Para este corante, encontram-se valores de recuperação tão baixos quanto 21% (GRAICHEN e MOLITOR, 1965).

Os valores apresentados nas Tabelas 6 a 28 são os resultados experimentais, não tendo sido considerados os testes de recuperação.

4.3. Coleta de Dados de Consumo

O primeiro levantamento de dados de consumo foi feito em supermercados, mercearias e padarias do Distrito de Barão Geraldo, junto a consumidores presentes no local, durante um dia de entrevistas. Os questionários, ainda apresentando caráter preliminar, foram preenchidos com auxílio dos indivíduos em cujas compras era observada a presença de algum produto colorido artificialmente. Alguns problemas como pressa e má vontade foram encontrados; porém, o objetivo desta pesquisa piloto foi alcançado. Informações preliminares

a respeito de aproximadamente 200 crianças foram obtidas, embora se tivesse a consciência de que os dados não seriam exatos ou confiáveis. A amostragem de crianças varreu todas as idades e escolas do Distrito. Foram obtidos dados interessantes, por exemplo, quanto a marcas e sabores preferidos pela população e que seriam analisados no Laboratório.

Aproximadamente 6 meses depois, com a aplicação do questionário definitivo (Anexo 4) junto aos responsáveis pelas crianças sorteadas, entrou-se então em contato com os problemas e desafios de um trabalho que envolve a participação de pessoas. Na maior parte dos casos, houve enorme interesse por parte das mães ou responsáveis, que demonstraram grande preocupação quanto à qualidade dos alimentos consumidos por seus filhos.

Quando os questionários apresentavam dados incompletos ou, quando havia a percepção de falta de verdade nas respostas, excluía-se os mesmos da avaliação final. Muitos participantes se esmeraram na coleta das embalagens dos produtos de interesse que foram consumidos pela família ou só pelas crianças, o que facilitou o recolhimento dos dados.

Durante o preenchimento dos questionários, foram encontradas dificuldades no fornecimento de informações referentes ao item 9, "CONSUNO DE BALAS E PIRULITOS". Percebeu-se que estes são produtos muito consumidos pela população-alvo do presente trabalho, sendo itens cujo controle de consumo dentro do lar

é quase impossível. Balas e pirulitos são adquiridos pelas próprias crianças nos bares ou mercearias, ou então compradas a granel em feiras onde, em geral, não se leva em conta a marca ou o sabor do produto.

A partir destes resultados, decidiu-se fazer um levantamento isolado, junto às crianças de interesse, a respeito do consumo de balas. Os dados obtidos com este levantamento demonstraram que, pelo menos 250 tipos de balas e pirulitos foram consumidos sendo, portanto, praticamente impossível a análise quantitativa dos corantes artificiais presentes em todos eles. Neste caso, optou-se pela análise qualitativa dos corantes presentes naquelas balas cujo consumo, durante a semana da pesquisa, foi igual ou superior a 10 unidades, o que representou um total de 64 balas diferentes. Entre as 64 balas, um total de 57 foram efetivamente analisadas quanto à presença de corantes artificiais. A análise das outras 7 balas não foi possível de ser realizada por estarem em falta no mercado.

Para ambas as pesquisas de consumo (alimentos coloridos e balas) foram traçados perfis da participação dos indivíduos em função da idade. As Figuras 2 e 3 ilustram a frequência (n de indivíduos), por idade, em cada uma das pesquisas.

FIGURA 2 - Participação na Pesquisa de Consumo de Alimentos Coloridos. N° de Indivíduos X Idade.

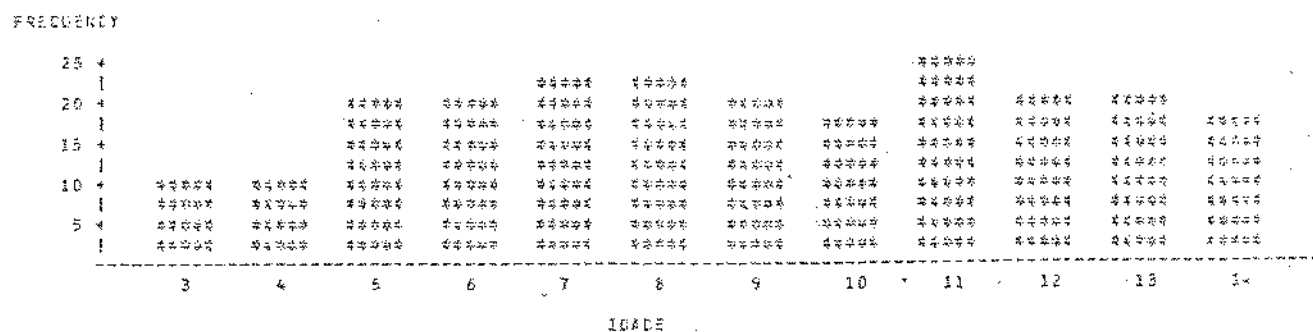
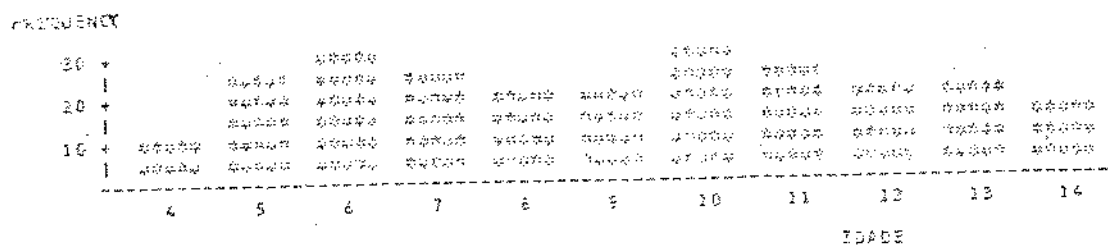


FIGURA 3 - Participação na Pesquisa de Consumo de Balas. N° de indivíduos X idade.



Os dados apresentados nas Figuras 2 e 3 não incluem crianças de idades inferiores ou superiores à faixa etária de interesse da pesquisa (3 a 14 anos), embora alguns casos tenham sido registrados no Arquivo Geral. Na pesquisa de consumo de balas (Figura 3), não aparece a idade de 3 anos pelo fato de que somente aos 4 anos são aceitos alunos nas Escolas Públicas e, nas Escolas Particulares, o retorno de questionários para esta idade foi muito baixo.

4.4. Ingestão de Aditivo Corante. Comparação entre Diferentes Grupos da População-Alvo.

Considerando a soma de todos corantes ingeridos, ou seja, a ingestão do Aditivo Corante, foram realizadas algumas comparações entre diferentes grupos de crianças aplicando-se o Teste F. A significância atribuída ao teste em cada uma das comparações indica a probabilidade de erro, se for descartada a alternativa de que não há diferença significativa entre os grupos comparados.

Este teste estatístico foi aplicado sobre valores médios de Ingestão Potencial Semanal (IPS) do aditivo corante. Os valores de IPS calculados para cada grupo da população resultaram das somas das médias individuais de Ingestão Potencial Semanal de cada um dos corantes ingeridos através da dieta.

Desta forma, 4 comparações foram feitas considerando-se as variáveis "Escola" e "Sexo", conforme apresentado na Tabela 30

Tabela 30. Ingestão de Aditivo Corante através do Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas). Comparação entre Grupos.

GRUPO		I P S*** (mg/kg p.c.)	COMPARAÇÕES****			
SEXO*	ESCOLA**		1	2	3	4
M	PU	2,021	A			A
F	PU	1,776	A		A	
M	PA	1,857		A		A
F	PA	1,042		B	B	
SIGNIFICANCIA DO TESTE			0,42	0,04	0,03	0,67

* M = Masculino; F = Feminino
 ** PU = Escolas Públicas; PA = Escolas Particulares
 *** Ingestão Potencial Semanal
 **** Letras diferentes na vertical indicam diferenças significativas

De acordo com os dados apresentados, não foi observada diferença significativa de Ingestão Potencial Semanal quando comparados meninos e meninas que frequentam as Escolas Públicas (COMPARAÇÃO 1). No entanto, quando comparados meninos e meninas que frequentam as Escolas Particulares, detectou-se diferença significativa, sendo o grupo de meninos aquele mais exposto ao aditivo corante (COMPARAÇÃO 2).

Ainda, de acordo com a Tabela 30 e, considerando o sexo feminino, pode ser afirmado que existe diferença

significativa de ingestão do aditivo corante quando comparadas as escolas. O grupo que frequenta as Escolas Públicas é aquele mais exposto ao aditivo (COMPARAÇÃO 3). Para o grupo de meninos, a exposição a corantes é igual tanto para as Escolas Públicas quanto para as Particulares (COMPARAÇÃO 4).

De uma maneira geral, pode-se afirmar que o grupo de meninas que frequentam Escolas Particulares é aquele menos exposto ao aditivo corante devido ao consumo de alimentos coloridos artificialmente.

Para a pesquisa de consumo de balas, também foram feitas 4 comparações de Ingestão Potencial Semanal entre os diferentes grupos da população-alvo, conforme ilustra a Tabela 31.

De acordo com os dados apresentados, não se observam diferenças significativas entre ingestões de aditivo corante, quando comparados meninos e meninas que frequentam as Escolas Públicas ou aqueles que frequentam as Escolas Particulares (COMPARAÇÕES 1 e 2). No entanto, considerando a variável "escola" para o grupo feminino e para o grupo masculino (COMPARAÇÕES 3 e 4), foram observadas diferenças significativas de ingestão de corantes, sempre maior nas Escolas Públicas.

TABELA 31 - Ingestão de Aditivo Corante através do Consumo de Balas. Comparação entre Grupos.

GRUPO		I P S*** (mg/kg p.c.)	COMPARACOES****			
SEXO*	ESCOLA**		1	2	3	4
M	PU	0,067	A			A
F	PU	0,064	A		A	
M	PA	0,024		A		B
F	PA	0,032		A	B	
SIGNIFICANCIA DO TESTE			0,89	0,52	0,02	0,01

* M = Masculino; F = Feminino
 ** PU = Escolas Públicas; PA = Escolas Particulares
 *** Ingestão Potencial Semanal
 **** Letras diferentes na vertical indicam diferenças significativas

Estes resultados permitem afirmar que as crianças da comunidade de Barão Geraldo que frequentam as Escolas Públicas são aquelas que ingerem maior quantidade de aditivo corante devido ao consumo de balas, comparativamente às crianças de Escolas Particulares.

Tanto para a pesquisa de consumo de alimentos coloridos como para a pesquisa de balas, observou-se uma tendência de maior ingestão de corantes pelas crianças que frequentam as Escolas Públicas. Este fato parece refletir uma situação social, caracterizando diferenças de nível de consciência e informação entre as classes de consumidores estudadas. A

deterioração do Ensino Público, aliada à dificuldade financeira de parte da população, fez com que se concentrassem em Escolas Estaduais de 1 e 2 graus principalmente crianças provenientes de famílias de nível social inferior. Esta população, geralmente desinformada e com baixo poder aquisitivo, não parece exercer controle sobre a alimentação infantil, principalmente quanto ao consumo de "guloseimas coloridas" que, muitas vezes, é a substituição de uma fruta da sobremesa ou de um lanche do horário da tarde.

As famílias de maior poder aquisitivo e maior acesso aos meios de comunicação parecem atuar mais eficientemente sobre o controle da alimentação de suas crianças, embora, para o sexo masculino, não tenham sido detectadas diferenças significativas no consumo de alimentos coloridos entre os meninos que frequentam Escolas Públicas e Particulares.

4.5. Ingestão de Corantes Individuais

Considerando a exposição da população-alvo a cada um dos corantes presentes nos produtos coloridos ou balas, foram feitas distribuições do número de indivíduos (FREQUENCIA) por intervalos discretos de níveis de Ingestão Potencial Semanal (IPS), conforme as Figuras 4 e 5.

FIGURA 4 - Frequência da Ingestão Potencial Semanal (IPS) de Corantes Artificiais através do Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas).

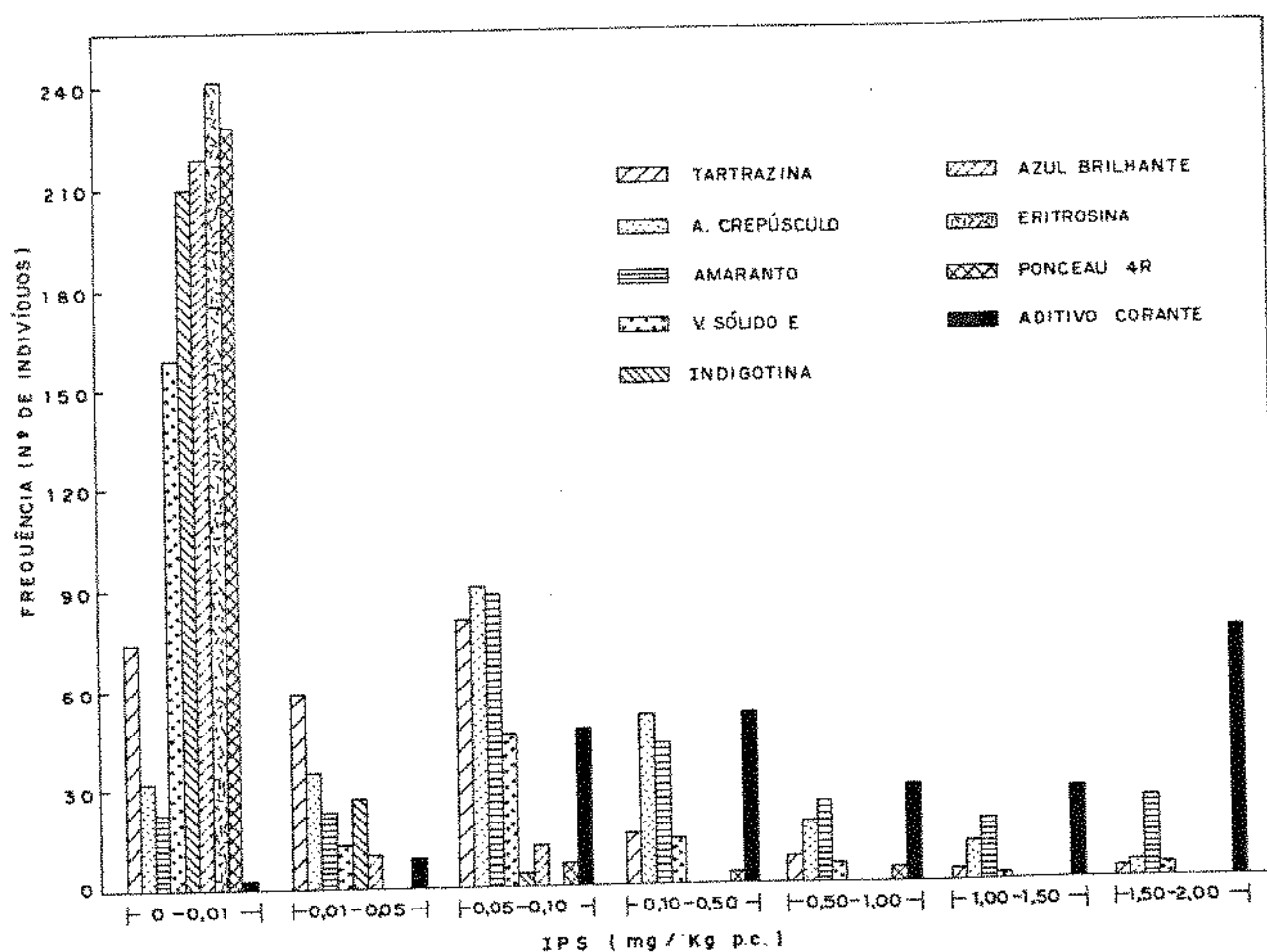
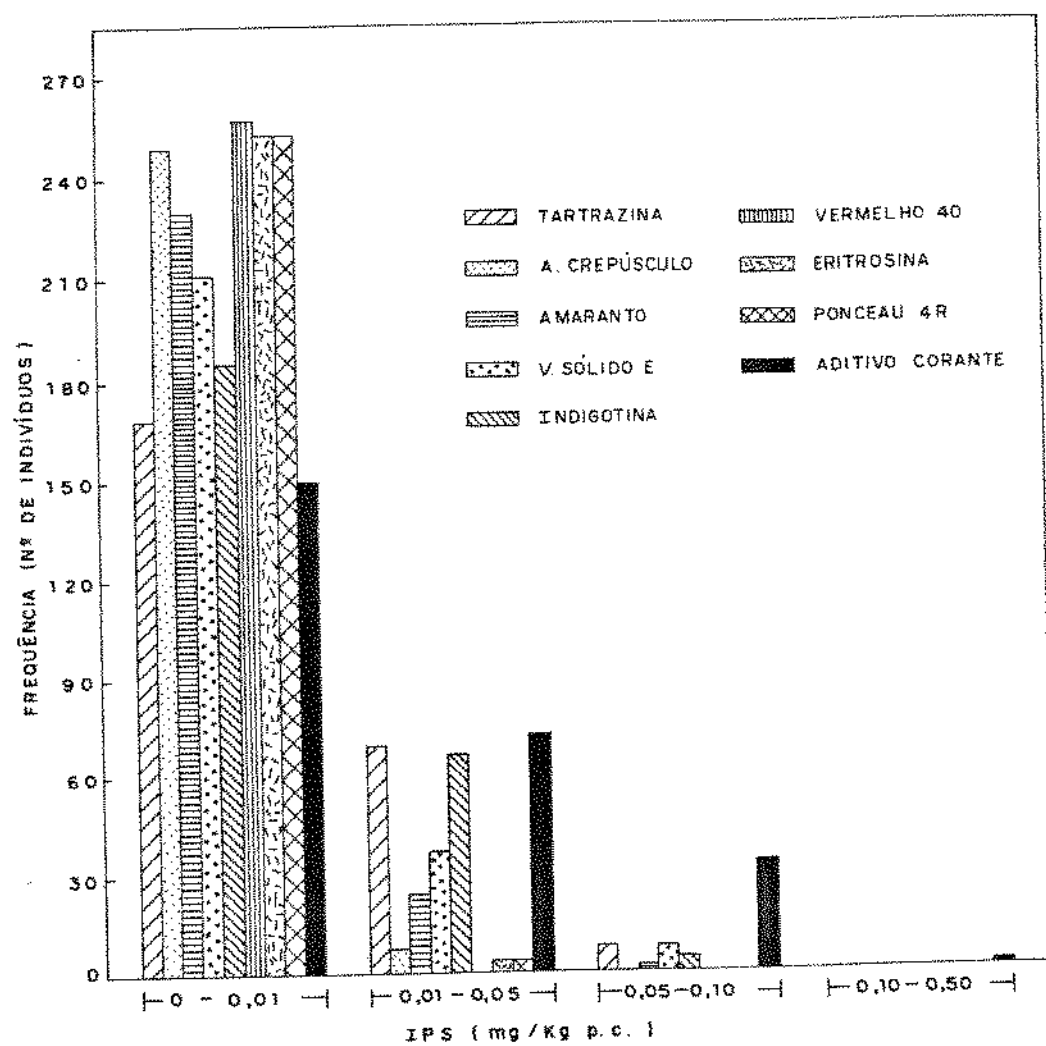


FIGURA 5 - Frequência da Ingestão Potencial Semanal (IPS)
de Corantes Artificiais através do Consumo de
Bolas.



De acordo com as Figuras 4 e 5, para cada corante, individualmente, a frequência de consumo é menor em faixas de IPS mais elevadas. Quando observado, porém, o consumo do aditivo corante como um todo, notam-se tendências distintas quando se compara a pesquisa de consumo de alimentos coloridos (exceto balas) com a de consumo de balas. Na primeira condição (Figura 4), a soma do consumo individual de corantes resultou numa frequência de consumo do "aditivo corante" crescente com o aumento dos níveis de IPS, enquanto que na segunda condição (Figura 5), a frequência de ingestão do aditivo corante tendeu a diminuir com o aumento dos valores de IPS. Neste último caso, a pequena quantidade de cada corante que contribui para a Ingestão Potencial Semanal do aditivo devido ao consumo de balas, não foi suficiente ao ponto de acarretar níveis de exposição elevados.

Em ambas as figuras percebe-se nitidamente uma maior exposição a 5 corantes artificiais, a saber: Amarantho, Amarelo Crepúsculo, Indigotina, Tartrazina e Vermelho Sólido E. Estes são os corantes mais empregados pelos fabricantes de alimentos coloridos artificialmente, sendo portanto aqueles aos quais a população está mais exposta.

Considerando cada um destes 5 corantes, foram construídos gráficos de barras que ilustram, em função da idade, a Ingestão Potencial Semanal devido ao consumo de alimentos coloridos e aquele devido ao consumo de balas (Figuras 6, 7, 8, 9 e 10).

FIGURA 6 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante
Amaranto em Função da Idade.

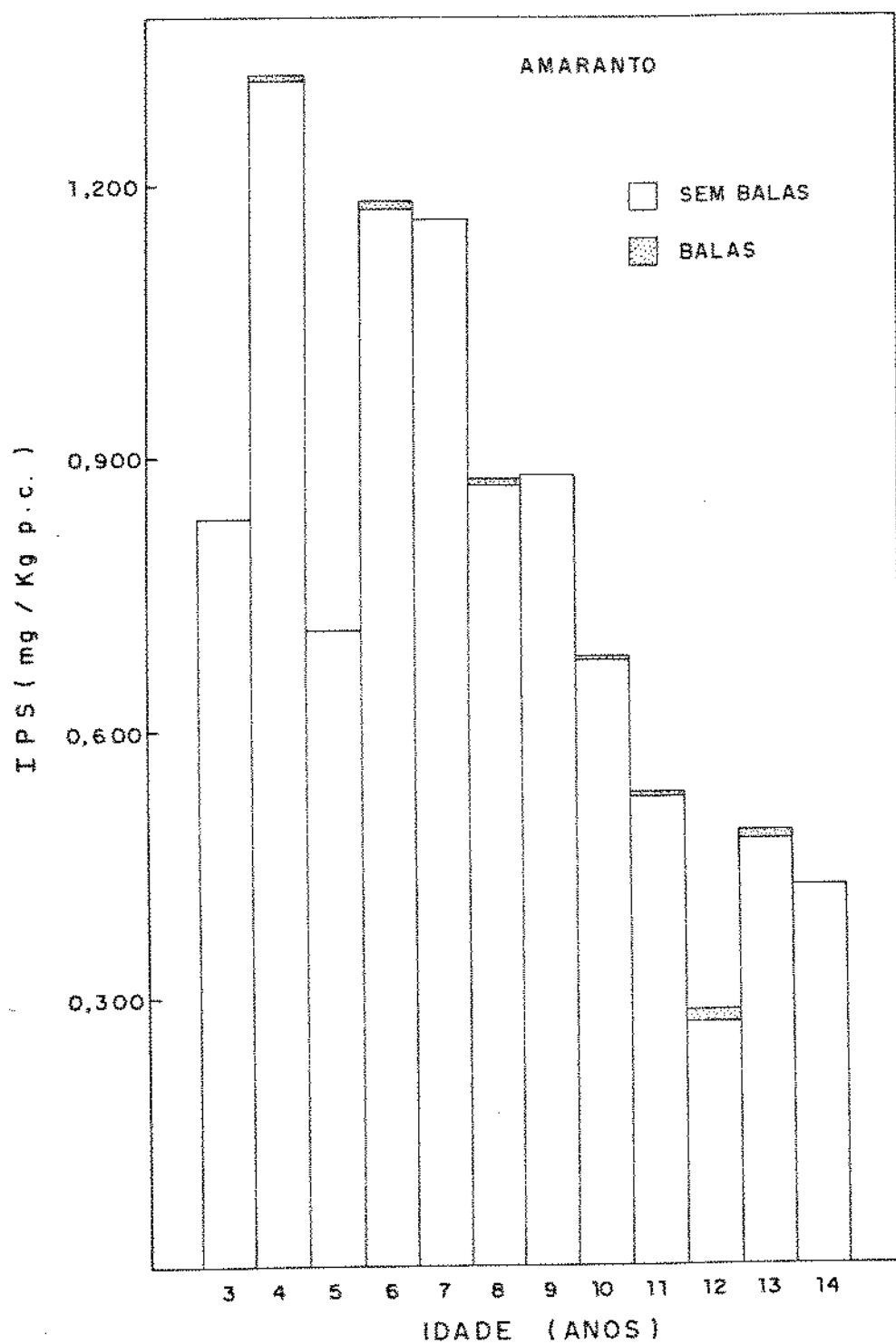


FIGURA 7 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Amarelo Crepúsculo em Função da Idade.

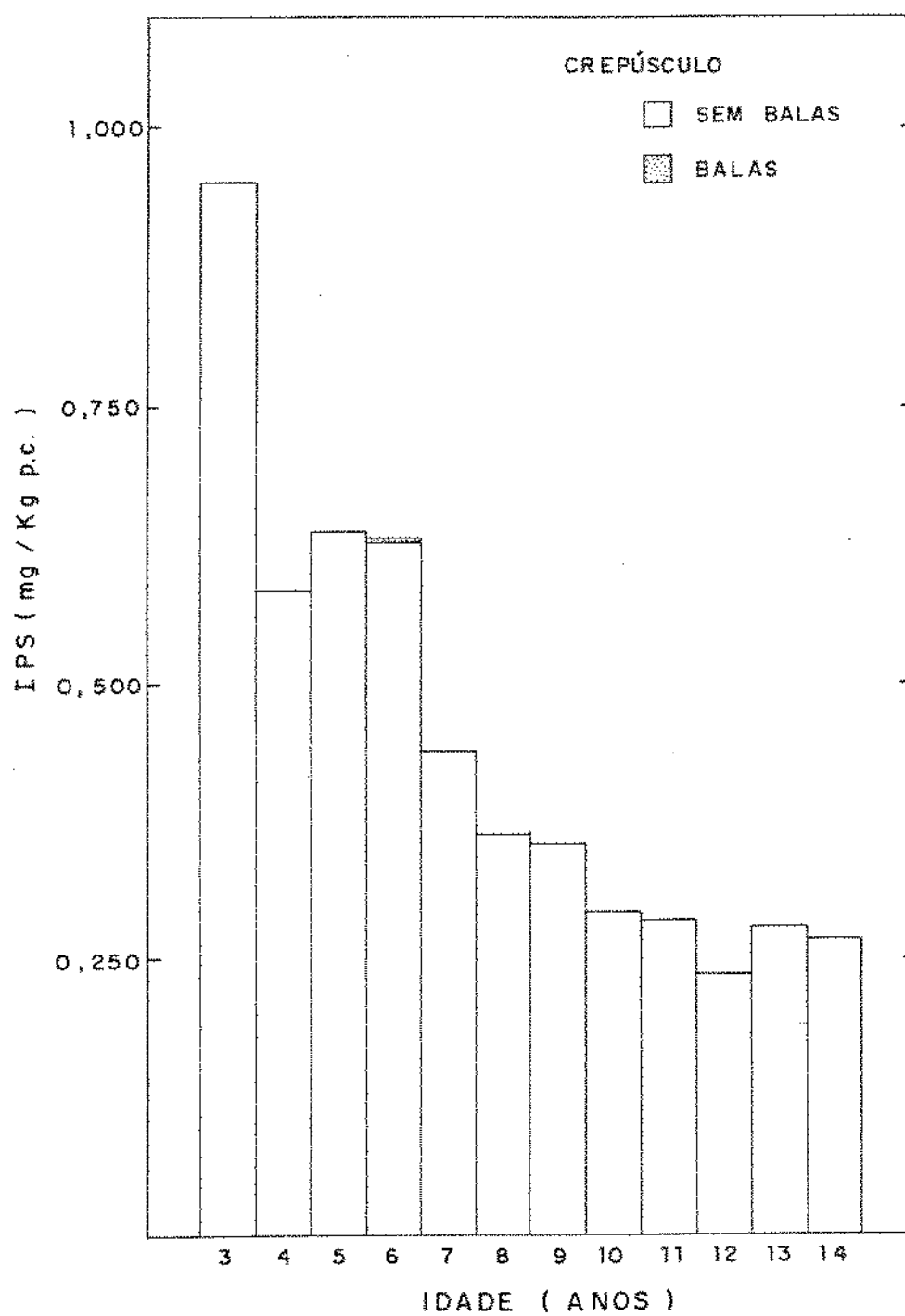


FIGURA 8 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Indigotina em Função da Idade.

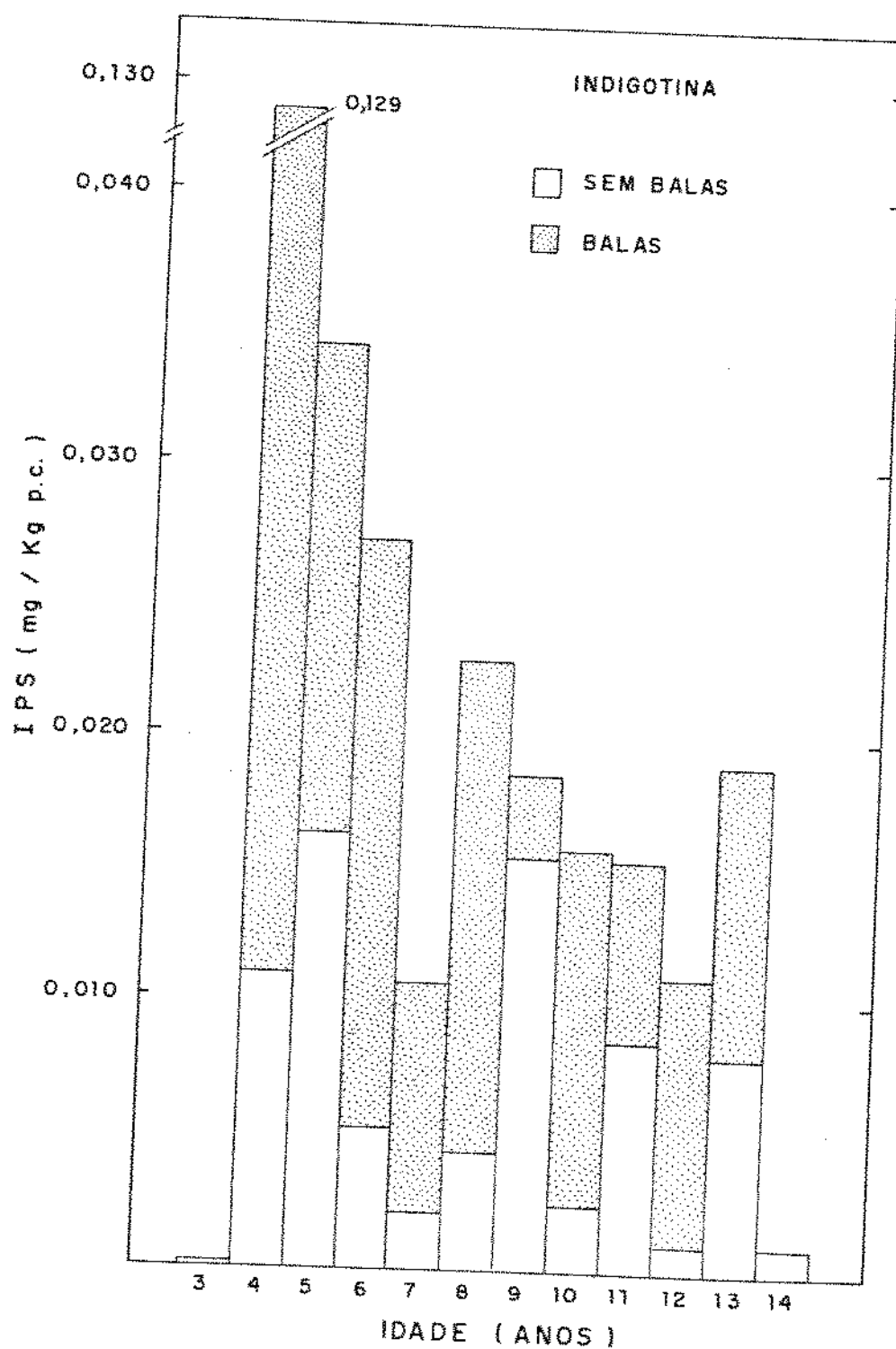


FIGURA 9 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Tartrazina em Função da Idade.

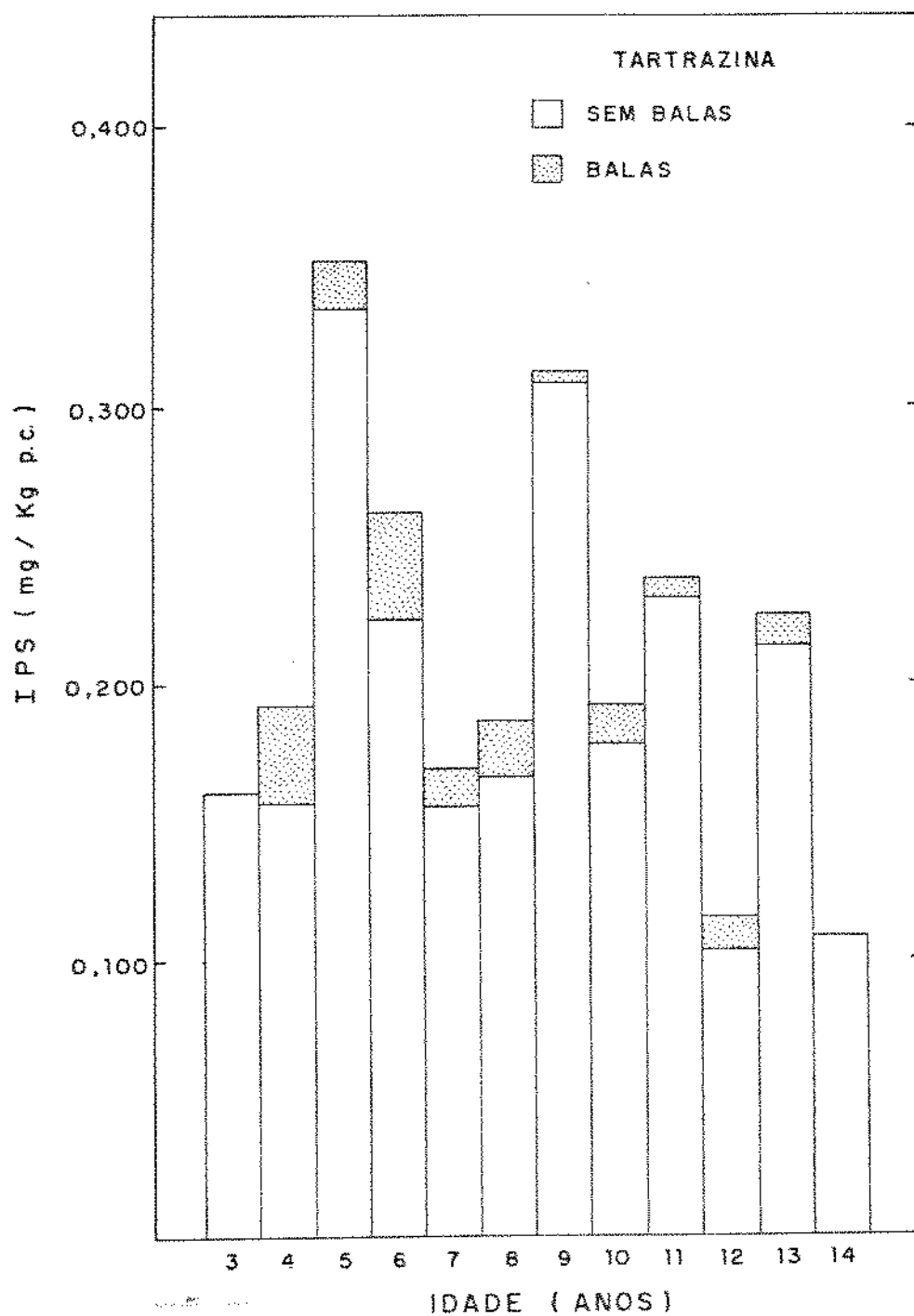
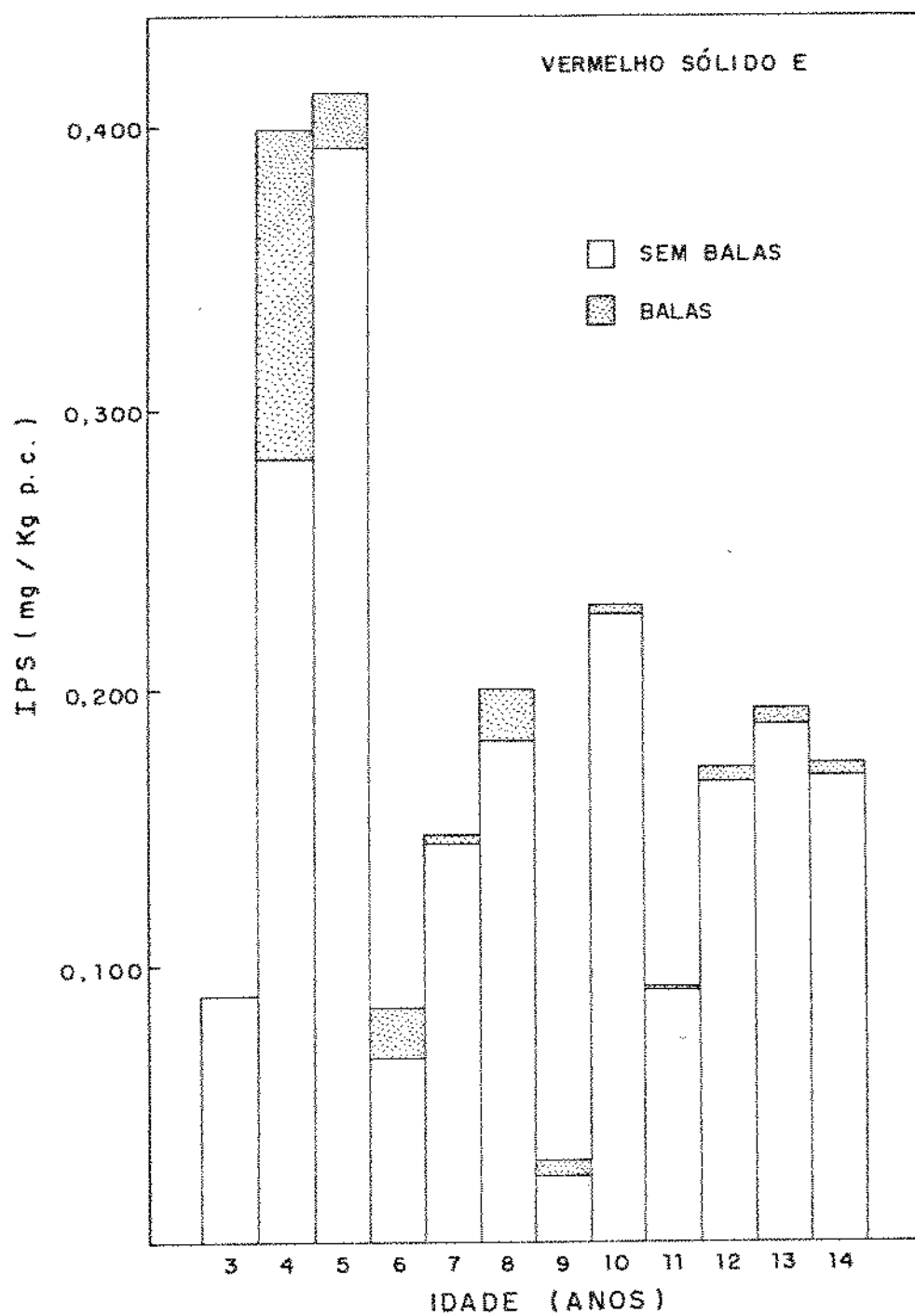


FIGURA 10 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Vermelho Sólido E em Função da Idade.



Para os corantes Amarantho e Amarelo Crepúsculo (Figuras 6 e 7), a contribuição de balas para as diferentes Ingestões Potenciais Semanais é pequena quando comparada às dos corantes Vermelho Sólido E, Tartrazina e Indigotina. Quanto ao corante V. Sólido E (Figura 10), é nítida a contribuição do consumo de balas para a Ingestão Potencial Semanal. Este corante, presente em menor número de produtos coloridos comparativamente ao corante vermelho Amarantho, foi detectado em grande número das balas vermelhas consumidas. Os corantes Indigotina e Tartrazina (Figuras 8 e 9), presentes nas balas de hortelã, muito consumidas, são aqueles que evidenciam maior influência do consumo de balas nas respectivas Ingestões Potenciais Semanais, principalmente para Indigotina, que está presente em pequeníssimas quantidades nos demais produtos analisados.

Considerando-se a variável "escola", foram também delineados perfis da Ingestão Potencial Semanal em função da idade, para os 5 corantes mais consumidos (Figuras 11, 12, 13, 14 e 15).

FIGURA 11 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Amarantho em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular
A: Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas)
B: Consumo de Balas

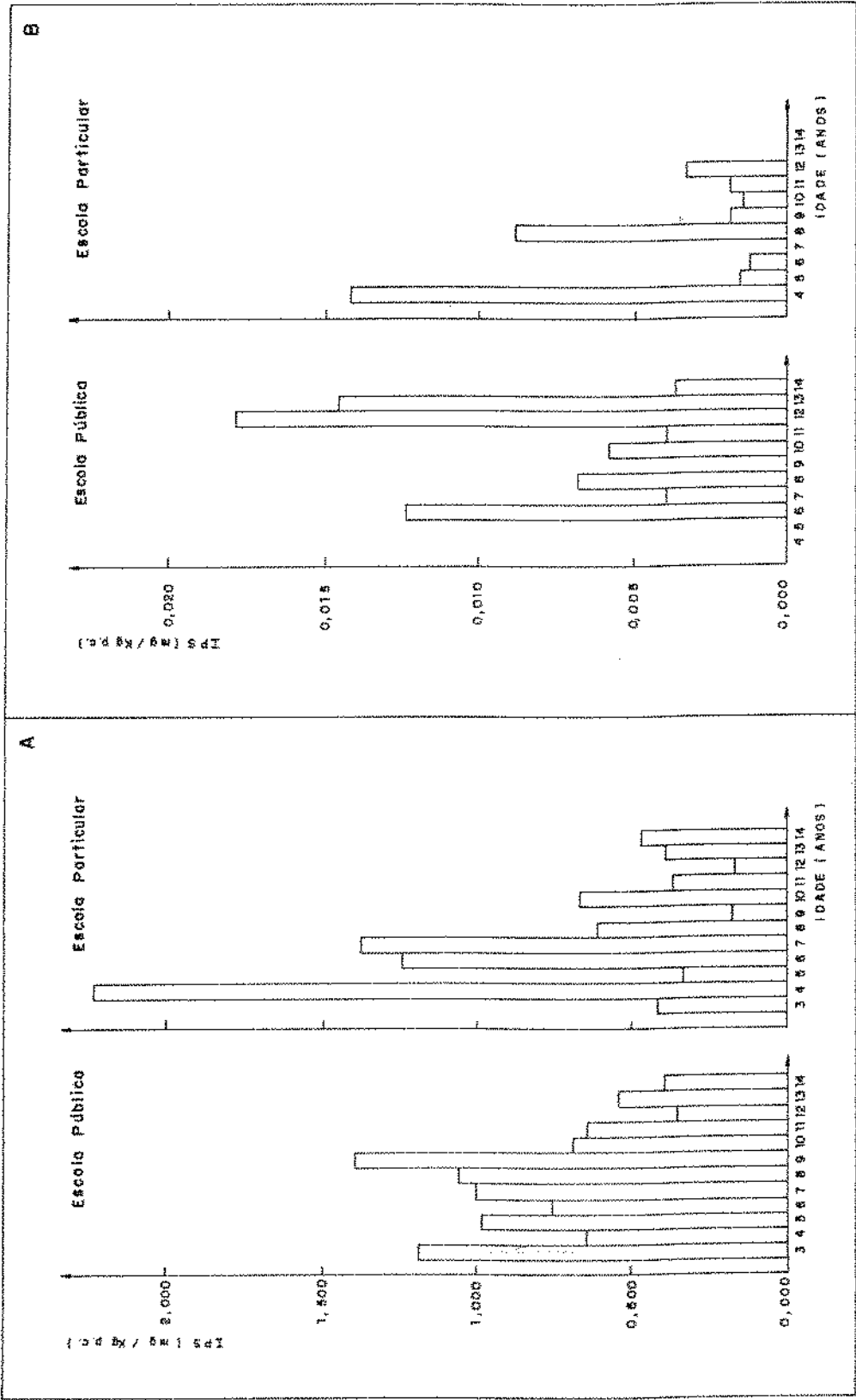
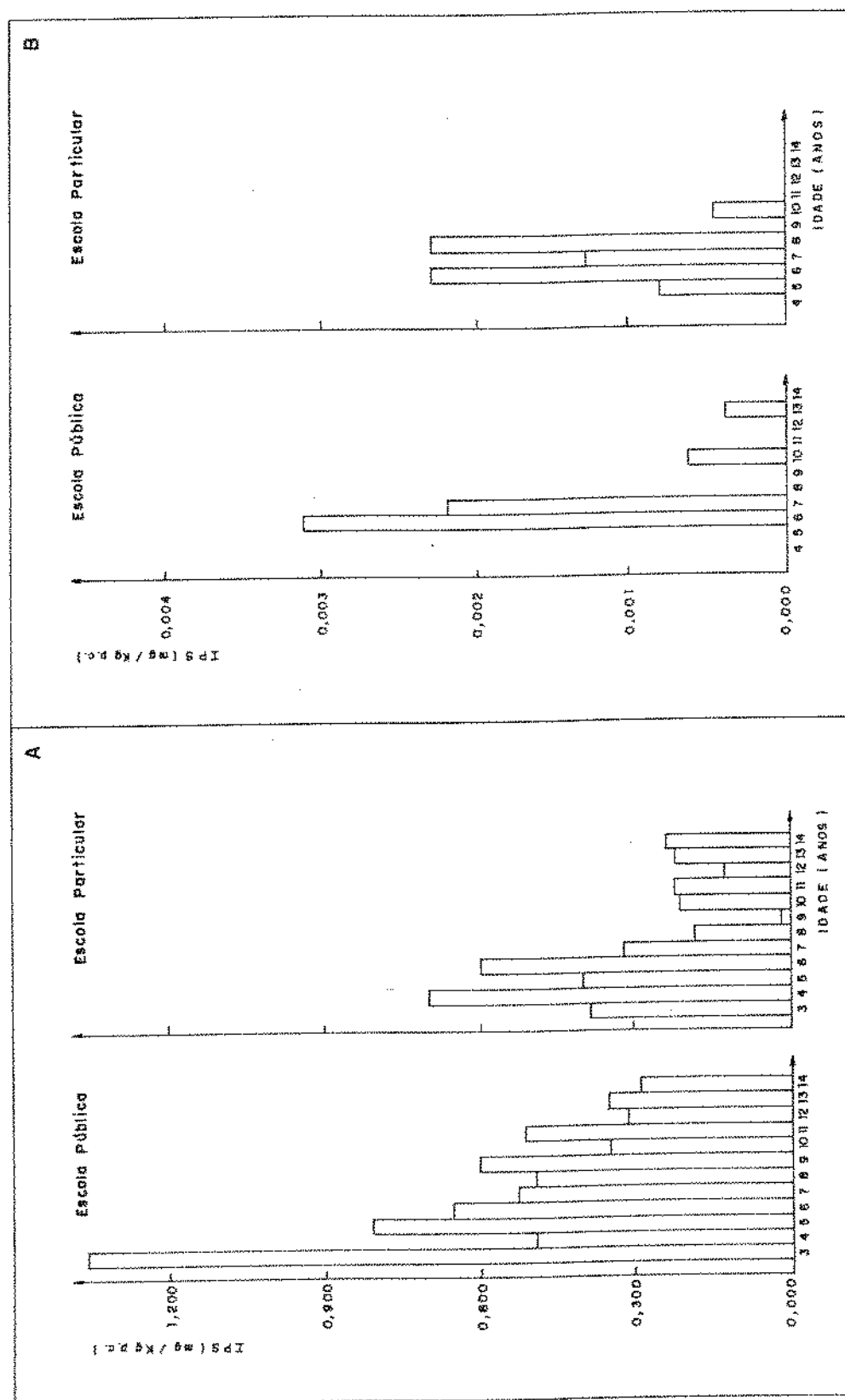


Figura 12 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Amarelo Crepúsculo em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.
A: Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas)
B: Consumo de Balas



* Notar a diferença entre as escolas dos gráficos A e B.

FIGURA 13 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Indigotina em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.
A: Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas)
B: Consumo de Balas

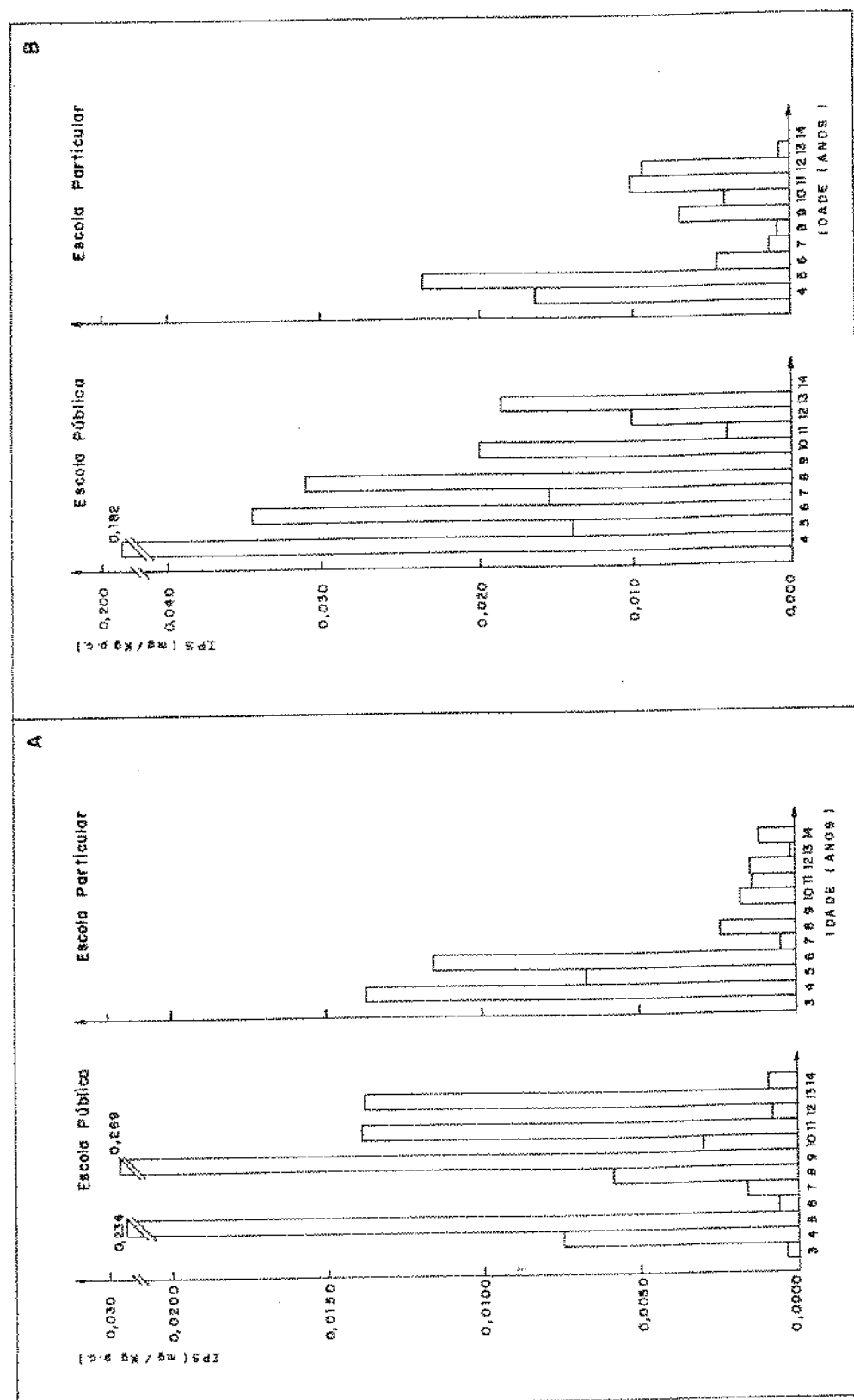
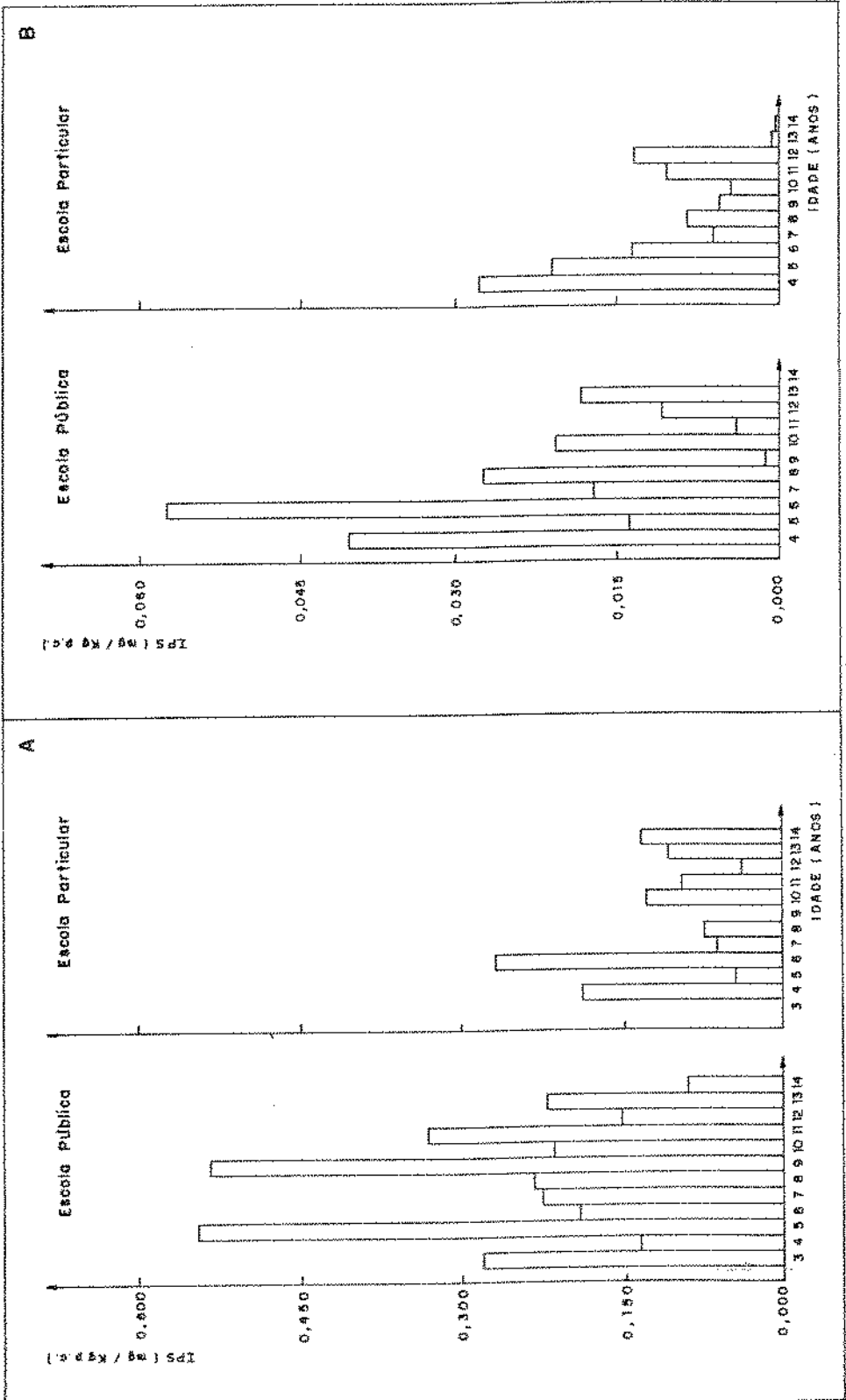
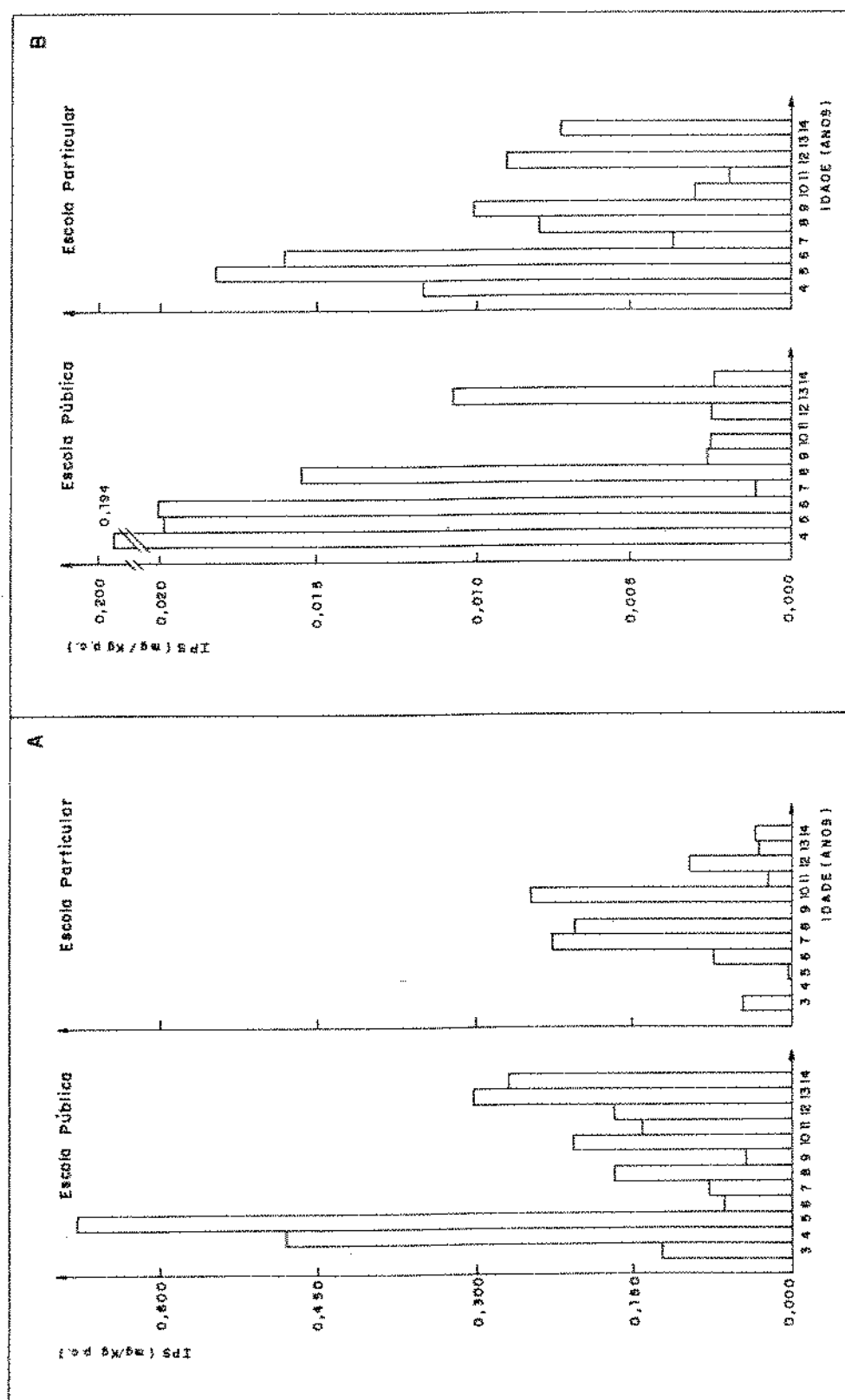


FIGURA 14 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Tartrazina em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.
 A: Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas)
 B: Consumo de Balas



* Notar a diferença entre as escolas dos gráficos A e B

FIGURA 15 - Ingestão Potencial Semanal (IPS) do Corante Vermelho Sólido E em Função da Idade para Escola Pública e Escola Particular.
A: Consumo de Alimentos Coloridos (exceto balas)
B: Consumo de Balas



* Notar a diferença entre as escolas dos gráficos A e B

Em todos os casos, observou-se que crianças que frequentam Escolas Públicas são mais expostas aos corantes individuais, independentemente de suas idades, conforme já observado para os corantes como um todo (item 4.4).

Para toda a população foi verificada uma tendência ao decréscimo da Ingestão Potencial Semanal de corantes artificiais com o aumento da idade. Esta observação se justifica pelo fato de que, mesmo que o consumo de cada corante (em mg) se mantenha inalterado através dos anos, a ingestão, em termos de mg/kg p.c., será menor quanto maior for o peso do indivíduo. Assim, as crianças mais novas e aquelas de peso inferior para suas idades são aquelas mais sensíveis à exposição aos aditivos.

Para se avaliar o risco potencial associado ao consumo de corantes artificiais pela população-alvo, foi feita a comparação da Ingestão Potencial observada no presente trabalho experimental com a Ingestão Aceitável recomendada pelo JECFA para cada corante. Como os valores de Ingestão Potencial observada são reportados em termos semanais, os valores de Ingestão Diária Aceitável (IDA) foram transformados em Ingestões Semanais Aceitáveis (ISA), tendo sido calculadas as relações IPS/ISA, expressas em porcentagens, conforme apresentado na Tabela 32. Esta comparação foi feita somente para 4 dos corantes mais ingeridos, ou seja, Amarantho, Amarelo Crepúsculo, Indigotina e Tartrazina, uma vez que, ao Vermelho Sólido E não foi

atribuído valor de IDA pelo JECFA, sendo atualmente proibido o seu uso no Brasil.

TABELA 32 - Relação entre Ingestão Potencial Semanal (IPS) e Ingestão Semanal Aceitável (ISA). Valores Percentuais.

CORANTE	ISA = IDA X 7* (mg/kg p.c.)	I D A D E (anos)											
		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
		I P S / I S A (%)											
Amaranto	0 - 3,50	25	38	20	34	33	25	25	20	15	8	14	12
A. Crepúsculo	0 - 17,50	5	3	4	4	3	2	2	2	2	1	2	2
Indigotina	0 - 35,00	(0,01	0,4	0,1	0,08	0,03	0,07	0,05	0,05	0,04	0,03	0,05	(0,01
Tartrazina	0 - 52,50	0,3	0,4	0,7	0,5	0,3	0,4	0,6	0,4	0,5	0,2	0,4	0,2

* Para efeito de comparação, foi multiplicado o valor da Ingestão Diária Aceitável (IDA) por 7, obtendo-se o valor da Ingestão Semanal Aceitável (ISA).

Como pode ser observado, todos os corantes apresentaram valores de ingestão abaixo da ISA (IPS/ISA < 100%), o que significa que os valores toxicologicamente aceitáveis de IDA não foram ultrapassados.

Através da Tabela 32, verifica-se, ainda, que o Amaranto foi o corante cujo consumo correspondeu às maiores porcentagens

de ISA. Este corante, que apresenta o menor valor da IDA, foi aquele consumido em maior quantidade pela população infantil, independentemente da idade. O corante Indigotina, que apresenta um valor de IDA comparativamente maior, é aquele cuja ingestão potencial atinge as menores porcentagens deste valor. Dois fatores principais podem ser considerados responsáveis por estes valores baixos de ingestão: baixa concentração com que Indigotina é utilizada industrialmente e problemas experimentais observados, como possíveis perdas por decomposição e baixos valores de recuperação não incluídos nos resultados finais.

Levando-se em conta os objetivos finais deste trabalho, algumas comparações puderam ser feitas com dados da literatura referentes à ingestão de corantes artificiais nos E.U.A., Itália, Suíça e Índia, embora os métodos empregados para o levantamento de dados de consumo dos alimentos tenham sido distintos. Cabe ressaltar que os dados reportados para as ingestões potenciais das populações norte-americana e suíça, são apresentados em unidade que equivale ao peso médio (mg) de cada corante consumido per capita e por dia (IFT, 1986; HUNZIKER e ZIMMERLI, 1984). Para efeito de comparação, estes dados foram então aplicados a crianças na faixa etária de 9 a 11 anos, com peso médio de 35 kg, obtendo-se valores em mg/kg p.c..

Com relação ao consumo dos corantes Indigotina, Tartrazina e Amarelo Crepúsculo, foram observadas Ingestões Potenciais Semanais inferiores para a população brasileira estudada

quando comparada às populações norte-americana e italiana. Os dados das ingestões potenciais dos corantes Indigotina, Tartrazina e A. Crepúsculo, determinados neste trabalho, foram de 0,05%, 0,5% e 2% dos valores de IDA, respectivamente, enquanto que os valores encontrados na literatura indicam ingestões de aproximadamente 1%, 3% e 8% para norte-americanos e 4%, 4% e 2% para italianos (IFT, 1986; QUATRUCCI e SALETTI, 1983).

Ainda, em relação à ingestão potencial dos corantes Indigotina, Tartrazina e A. Crepúsculo, os indianos atingem 0,03%, 4% e 4% dos valores da IDA, respectivamente, para crianças com peso médio de 25 kg (SHANTHANAKRISHNAN, 1981). Esses valores, comparados com aqueles encontrados nesta pesquisa para crianças de mesmo peso, demonstram que os indianos ingerem maior quantidade de Tartrazina e mesmas quantidades de Indigotina e A. Crepúsculo, relativamente aos brasileiros.

Para os corantes vermelhos, a comparação se torna difícil, uma vez que em cada país se observa, preferencialmente, o emprego de um determinado corante. Na Suíça, a ingestão de Ponceau 4R, Azorrubina e Amarantho, por consumidores de hábitos extremos, atingiu 0,2% do valor da IDA, calculada para crianças de 35 kg (HUNZIKER e ZIMMERLI, 1984). Os italianos ingerem Azorrubina em quantidades que representam 13 a 26% da IDA, além do Ponceau 4R, que é consumido em quantidades que excedem a IDA (dados de 1983). Na Índia, as

ingestões potenciais de Amaranto e Ponceau 4R por crianças de peso médio de 25 kg atingem 10% e 27% dos valores da IDA, respectivamente. Nos E.U.A., onde o único corante artificial vermelho permitido para alimentos é o Vermelho 40, aproximadamente 2% da IDA são atingidos através do consumo de alimentos coloridos artificialmente. Para a população estudada, além do Vermelho Sólido E, que ainda é consumido, a ingestão de Amaranto atinge níveis de 8 a 38% da IDA, conforme a idade do indivíduo.

Embora este estudo tenha sido conduzido em uma única comunidade do Estado de São Paulo, com hábitos característicos de região desenvolvida, acredita-se que dietas de populações de outras regiões do Brasil dificilmente resultarão em valores de ingestão que cheguem a ultrapassar a IDA. Este fato, no entanto, não significa segurança aos consumidores jovens uma vez que a IDA é um conceito dirigido principalmente ao homem na idade adulta (peso médio de 60 kg), não havendo considerações específicas quanto a crianças. Além disto, determinadas regiões do Brasil apresentam uma população em estado nutricional deficiente, o que pode aumentar o risco potencial ao qual estão expostos. Adicionalmente, os valores de IDA são calculados para os corantes individualmente, não havendo uma IDA global para a classe de "aditivo corante".

Deve ainda ser ressaltado que os corantes artificiais estão sendo constantemente reavaliados quanto a sua inocuidade podendo, no futuro, ser identificados danos associados ao seu

uso crônico que resultem em modificações nos seus status toxicológicos. As informações toxicológicas disponíveis e as decisões que tem sido tomadas não garantem portanto ausência de risco.

5. CONCLUSOES

Em vista dos resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que:

1. Os hábitos alimentares da população infantil do Distrito de Barão Geraldo, no que diz respeito ao consumo de alimentos coloridos, não acarreta exposições a corantes artificiais em níveis que excedem às respectivas Ingestões Diárias Aceitáveis (IDA), se considerado cada corante isoladamente.
2. Considerando que a utilização de valores de IDA na avaliação de segurança de uso de substâncias químicas na dieta de crianças tem sido questionada, não se pode garantir, com base nos dados obtidos, ausência de risco potencial devido a ingestão de corantes artificiais.
3. Amaranto é o corante artificial permitido para uso em alimentos no Brasil cujo consumo resulta em Ingestões Potenciais equivalentes aos maiores percentuais de IDA, variando entre 8 e 38%, conforme a idade.
4. Crianças mais jovens e de menor peso apresentam maior Ingestão Potencial de corantes artificiais (mg/kg p.c.) e constituem o grupo de maior risco, por seu crescimento rápido e baixo peso corpóreo.

5. A ingestão de corantes artificiais é influenciada pela classe sócio-econômica do consumidor. Crianças que frequentam Escolas Públicas apresentam Ingestão Potencial maior do que aquelas que frequentam Escolas Particulares.
6. Estudantes de Escola Particular, do sexo feminino e na faixa etária de 12 a 14 anos, constituem o grupo menos exposto a corantes artificiais.
7. Os cinco corantes mais frequentemente encontrados em alimentos coloridos artificialmente são, em ordem decrescente: Tartrazina (hipersensibilizante), Amarelo Crepúsculo, Amaranto, Indigotina e Vermelho Sólido E (uso proibido no Brasil a partir de fevereiro de 1987). Estes corantes são utilizados individualmente ou em misturas, conferindo aos produtos finais as mais variadas cores e tonalidades.
8. Todos os corantes artificiais presentes nos produtos analisados são empregados em quantidades inferiores àquelas prescritas por lei.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABIA (1978) - Compêndio de Resoluções da CNMPA.

ALMEIDA, H. E. W. (1984) - "Legislação sobre Resíduos de Pesticidas no Brasil". Anais do Seminário Latino Americano sobre Toxicologia de Alimentos (Agosto, 1983) - Ed. Unicamp - Campinas, S.P..

ALMEIDA, F. L. (1987) - "Política de Vigilância Sanitária em Alimentos". I Simpósio sobre Aditivos para Alimentos (Setembro, 1987) - ITAL - Campinas, S. P..

AMARAL, E. C. C. (1984) - "Aspectos Atuais da Legislação sobre Aditivos Alimentares em Ambito Internacional". Anais do Seminário Latino Americano sobre Toxicologia de Alimentos (Agosto, 1983) - Ed. Unicamp - Campinas, S.P..

ANON (1968) - "Guidelines for Good Manufacturing Practice: Use of Certified FD & C Colors in Food". Food Technology, 22, 946-949.

A.P.A. (1960) - "Separation and Identification of Food Colours Permitted by the Colourings Matter in Food Regulations, 1957" London.

ARATA, P. N. (1889), Z. Anal. Chem. 28 citado por LEHMANN et alii (1970) - "Rapid Method for Detection and Identification of Synthetic Water - Soluble Coloring Matter in Food and Drugs". Journal of the A.O.A.C., 53 (6), 1182-1189.

- BAILEY, J. E.; COX, E. A. (1975) - "Chromatographic Analysis of 4,4' (Diazoamino) - Dibenzenesulfonic Acid in FC & C Yellow n° 6". Journal of the A.O.A.C., 58 (3), 609-613.
- BAILEY, J. E.; COX, E. A.; SPRINGER, J. A. (1978) - "HPLC Determination of the Intermediates / Side Reaction Products in FD & C Red n° 2 and FD & C Yellow n° 5: Statistical Analysis of Instrument Response". Journal of the A.O.A.C., 61 (6), 1404-1414.
- BANERJEE, T. S.; GUHA, K. C.; SAHA, A. (1978) - "Identification and Standardisation of Some Blue and Green Food Dyes". J. Inst. Chemistry (India), 50, 91-93.
- BERDICK, M. (1982) - "Safety of Food Colours". In: "Nutritional Toxicology". HATHCOCK, J. N. - Vol. 1, Ed. Academic Press, N. Y..
- BIBEAU, T. C.; CLYDESDALE, F. M. (1978) - "Thermal Stability of Subsidiary Dyes Associated with FD & C Yellow n° 6". Journal of Food Science, 43, 521-534.
- BRANCA, P.; SPAGNOLINI, G. P. (1980) - "Identificazione e Dosaggio Spettrofotometrico di Alcuni Coloranti di Sintesi in Prodotti Alimentari". Estratto Dalla Rivista "Industrie Delle Bevande". Dicembre, 1980 - Chiriotti Editori.
- CALVEY, R. J.; GOLDBERG, A. L.; MADIGAN, E. A. (1981) - HPLC Determination of Intermediates / Side Reaction Products in FD & C Yellow n° 5". Journal of the A.O.A.C., 64 (3), 665-669.

CHIANG, H. C. (1969) - "Polyamide - Silica Gel Thin - Layer Chromatography of Red Food Dyes". Journal of Chromatography 40, 189-190.

CHIANG, H. C.; LIN, S. L. (1969) - "Polyamide - Kieselguhr Thin-Layer Chromatography of Yellow Food Dyes". Journal of Chromatography, 44 (1), 203-204.

CHO, T. H.; CHO, J. H.; YANG, Y. K. (1975) - "Analysis of Artificial Colouring Matter in Sausage and Ham by Paper Chromatography and Spectrophotometry". Reprinted from: The Research Reports of the Office of Rural Development, 17 (5), 87-93.

CLERQ, H.; MASSART, D. L. (1974) - "The Thin-Layer Chromatographic Separation of Water Soluble Food Dyes on Silica Gel Layer". Journal of Chromatography, 93 (1), 243-247.

CLYDESDALE, F. M. (1972) - "Measuring the Color of Foods". Food Technology, 26 (7), 45-51.

CLYDESDALE, F. M. (1976) - "Instrumental Techniques for Color Measurement of Foods". Food Technology, 30 (10), 52-59.

COLOR ADDITIVES (1970) - In: "Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.". 11th ed..

- CORRADI, C.; MICHELI, G. (1979) - "Metodo Rapido di Ricerca ed Identificazione dei Coloranti Acidi Artificiali Idrosolubili Nei Prodotti Alimentari". Bollettino dei Chimici dei Laboratori Provinciali, 5 (1), 188-200.
- COULSON, J. (1980) - "Synthetic Organic Colours for Food". In: Developments in Food Colours - 1". Walford, J. (Ed) Appl. Sc. Publ. LTD, London.
- COX, E. A.; REED, G. F. (1981) - "HPLC Determination of Intermediates and Two Reaction By-Products in FD & C Red n° 40: Colaborative Study". Journal of the A.O.A.C., 64 (2), 324-331.
- DOLINSKY, M.; STEIN, C. (1962) - "Application of a Liquid Anion Exchange Resin to the Separation of FD & C Colours from Foods". Journal of the A.O.A.C., 45 (3), 767-769.
- FAO/WHO (1966) - "Specifications for Identity and Purity and Toxicological Evaluation of Food Colours". FAO Nutrition Meetings Report Series n° 38B, WHO/Food Add./66.25 - Geneva 8-17, December, 1964.
- FAO/WHO (1985) - "Evaluations by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives". Food Additives Data System, 1956-1984, FAO Food and Nutrition, Paper 30/Rev. 1 - Rome.
- FILER Jr., L. J. (1976) - "Patterns of Consumption of Food Additives". Food Technology, 30 (7), 62-70.

- FOGG, A. G.; BHANOT, D. (1980) - "Voltammetric Determination of Synthetic Food Colouring Matters at a Stationary Glassy Carbon Electrode". Analyst 105, 868-872.
- FRATZ, D. D. (1976) - "Quantitative Determination of 4.4' (diazoamino) - dibenzenesulfonic acid in FD & C Yellow n° 5 by Ion Exchange Chromatography". Journal of the A.O.A.C., 59 (6), 1312-1314.
- FRATZ, D. D. (1980) - "Automated Determination of Salts in Water - Soluble Cerfifiable Color Additives by Ion Chromatography". Journal of the A.O.A.C., 63 (4), 882-888.
- FURIA, T. E. (1977) - "Nonabsorbable, Polymeric Food Colours". Food Technology, 31 (5), 34-37.
- GASPARIC, J.; CHURACEK, J. (1978) - "Synthetic Dyes" In: "Laboratory Handbook of Paper and Thin-Layer Chromatography". Elli Horwood Limited Publisher.
- GILHOOLEY, R. A.; HOODLESS, R. A.; PITHAN, K. G.; THOMSON, J. (1972) - "Separation and Identification of Food Colours, IV. Estraction of Synthetic Water - Soluble Food Colours". Journal of Chromatography 72, 325-331.
- GOLDBER, A. L.; CALVEY, R. J. (1982) - "Automated HPLC Determination of Intermediates and Side Reaction Products in FD & C Red n° 3". Journal of the A.O.A.C., 65 (1), 103-107.

- GRAHAM, R. J. T.; NYA, A. E. (1969) - "The Partition Chromatography of Food Dyes on Polycarbonate - Coated Foils". Journal of Chromatography 43, 547-559.
- GRAICHEN, C.; MOLITOR, J. C. (1963) - "Determination of Certifiable FD & C Colors Additives in Foods and Drugs". Journal of the A.O.A.C., 46 (6), 1022-1029.
- GRAICHEN, C. (1975) - "Quantitative Determination of the FD & C Color in Food". Journal of the A.O.A.C., 58 (2), 278-282.
- GRIFFITHS, M. H. E. (1966) - "Systematic Identification of Food Dyes Using Paper Chromatographic Techniques". Journal of Food Technology 1, 63-72.
- GUNNER, S. W.; KIRKPATRICK, D. C. (1979) - "Approaches for Estimating Human Intakes of Chemical Substances". Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 12 (1), 27-31.
- HALL, R. L. (1958) - "Flavor Study Approach at McCormick and Company Inc". In: "Flavor Research and Food Acceptance". Reinhold Pub. Corp., N.Y. citado por BERDICK, M. (1982). "Safety of Food Colors". In: "Nutritional Toxicology". HATHCOCK, J. M. - Vol. 1, Ed. Academic Press, N. Y..
- HOODLESS, R. A.; PITHAN, K. G.; STEWART, T. E.; THOMSON, J.; ARNOLD, J. E. (1971) - "Separation and Identification of Food Colours - 1. Identification of Synthetic Water - Soluble Food Colours Using Thin - Layer Chromatography". Journal of Chromatography 54, 393-404.

- HUNZIKER, H. R.; ZIMMERLI, B. (1984) - "Intake Estimation of Food Additives: Red Synthetic Food Colours". Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75, 77-92.
- HURST, W. J.; Mc KIM; MARTIN Jr., R. A. (1981) - "Determination of Tartrazine in Food Products by HPLC". Journal of Food Science 46, 419-421.
- IFT (1980) - "Food Colours". A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologist's Expert Panel of Food Safety & Nutrition and the Committee of Public Information.
- IFT (1986) - "Food Colours". A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologist's Expert Panel of Food Safety & Nutrition and the Committee of Public Information.
- IWADA, K.; NAKAMURA, K.; TONOGAI, Y.; MATSUMOTO, Y.; KANAMORI, T. (1977) - "Results of the Product Examination of Coal-Tar Dyes (Including Dye Aluminum Lakes) from April in 1976 till March in 1977 (on the Product Examination of Coal Tar Dyes XVI)". Eiseishikenjo Hokoku 95, 126-128.
- KENMOCHI, K.; KATAYAMA, O. - "A Simple Method for Identification of Cochineal Pigment and Lac Dye under Coexistence of Synthetic Food Dyes". Rept. Nat. Food Res. Inst. 32, 128-132.

- KENMOCHI, K.; KATAYAMA, O.; YOSHIKAWA, S. (1973) - "Column Chromatography for the Separation and Identification of Synthetic Water - Soluble Acid Dye Mixtures". Japanese Association of Food Eng., 20 (1), 16-20.
- KILNER, M. (1987) - "Codex Alimentarius". I Simpósio sobre Aditivos para Alimentos (Setembro, 1987) - ITAL - Campinas, S. P..
- KRAHER, A. (1976) - "Use of Color Measurement in Quality Control of Foods". Food Technology, 30 (10), 62-71.
- KRAHER, A. (1978) - "Benefits and Risks of Color Additives". Food Technology, 32 (8), 65-67.
- LAWRENCE, B. H. (1968) - "Thin - Layer Chromatography - II. Introduction, Technique, Some Applications". J. Inst. Can. Technol. Aliment., 1 (4), 136-145.
- LEES, R. (1971) - "Colour - Identification of Food Dyes". In: "Laboratory Handbook of Methods of Food Analysis". 2nd Ed., Leonard Hill, London.
- LEHMANN, G.; HAHN, H. G.; SEIFFERT - EISTERT, B. (1968) - "Bestimmung der Sorptionskapazität von Poliamidpulver zur Säulenchromatographie". Journal of Chromatography 37, 422-430.

- LEHMANN, G.; COLLET, P.; HAHN, H.G.; ASHWORTH, M. R. F. (1970) - "Rapid Method for Detection and Identification of Synthetic Water - Soluble Coloring Matter in Food and Drugs". Journal of the A.O.A.C., 53 (6), 1182-1189.
- LEPRI, L.; DESIDERI, P. G.; COAS, V. (1978) - "Separation and Identification of Water-Soluble Food Dyes by Ion-Exchange and Soap Thyn-Layer Chromatography". Journal of Chromatography 161, 279-286.
- LINDSAY, D. G. (1986) - "Estimation of the Dietary Intake of Chemicals in Food". Food Additives and Contaminants, 3 (1), 71-78.
- LITTLE, A. C. (1976) - "Physical Measurement as Predictors of Visual Appearance". Food Technology, 30 (10), 74-82.
- LOBLAY, R. H.; SWAIN, A. R. (1985) - "Adverse Reactions to Tartrazine". Food Technology in Australia, 37 (11), 508-510.
- LORENA, W. (1987) - "Corantes Artificiais e Pigmentos Inorgânicos para Fins Alimentícios". I Simpósio sobre Aditivos para Alimentos (Setembro, 1987) - ITAL - Campinas, S.P..
- LOVE, J. L. (1984) - "A Simple Method to Identify Added Synthetic Colours in Foods". New Zeland Journal of Science 27, 113-116.

- HACRAE, R. (1981) - "Recent Applications of HPLC to Food Analysis". Journal of Food Technology, 16, 1-11.
- HARLETTA, G. P.; LOKAR, L. C.; BRUNI, G. (1973) - "Applicazioni dei Metodi Cromatografici nell'Analisi dei Constituenti dei Prodotti Alimentari". Ressegna Chimica 4, 315-330.
- HARMION, D. H. (1975) - "Determination of 4,4' (diazamino)-Dibenzenesulfonic Acid in FD & C Yellow n° 6". Journal of the A.O.A.C., 58 (4), 719-724.
- HARMION, D. H. (1977) - "HPLC Determination of 4,4' (diazamino)-Dibenzene Sulfonic Acid in FD & C Yellow n° 6". Journal of the A.O.A.C., 60 (1), 168-172.
- HARMION, D. H. (1979) - "Handbook of U. S. Colorants for Foods, Drugs and Cosmetics". A Wiley Interscience Publication - John Wiley & Sons - N. Y., Chichester, Brisbane, Toronto.
- HARR, J. W. (1971) - "Individual Dietary Surveys: Purposes and Methods". World Review of Nutrition and Dietetics, 13, 105-164.
- MARTIN, G. E.; TENENBAUM, M.; AFONSO, F.; DYER, R. H. (1978) - "Alcoholic Beverages - HPLC and Thin-Layer Chromatography of Synthetic Acid Fast Dyes in Alcoholic Products". Journal of the A.O.A.C., 61 (4), 908-910.

- Mc. INTOSH, A.; VILIM, A. (1977) - "Detection of Tracer Dyes in Milk". Reprinted from Journal of Food Protection, 40 (11), 747-748.
- Mc. NUTT, K. W.; POWERS, M. E.; SLOAN, A. E. (1986) - "Food Colors, Flavors and Safety: A Consumer Viewpoint". Food Technology, 40 (1), 72-78.
- MEGGOS, H. N. (1984) - "Colors - Key Food Ingredients". Food Technology, 38 (1), 70-74.
- MOTTIER, M.; POTTERAT, M. (1955) - "De L'extraction des Colorants pour Denre'es Alimentaires Avec la Quinoleine et de leur Identification par Chromatographie sur Plaque d'Alumine". Analytica Chimica Acta 13, 46-56.
- NAZARIO, G.; ZENEBON, O. (1972) - "Estudo Polarográfico de Alguns Corantes usados em Alimentos". Rev. Inst. Adolfo Lutz 32, 101-104.
- NAZARIO, G. (1987) - "A Escolha de Aditivos para Alimentos no Ambito Internacional". I Simpósio sobre Aditivos para Alimentos (Setembro, 1987) - ITAL - Campinas, S. P..
- NOIRFALISE, A.; FOUASSIN, A.; COLLINGE, A. (1980) - "Les Colorants dans les Produits de la Confiserie et Assimilés". Revue de Fermentations et des Industries Alimentaires, Bruxelles, 35 (6), 186-193.

NOIRPALISE, A.; FOUASSIN, A.; THOMAS, D.; COLLINGE, A. (1984)

- "Nouvelle Contribution a L'etude des Colorants dans les Produits de la Confiserie". Revue des Fermentation et des Industries Alimentaires, Bruxelles, 32 (2), 45-49.

OLMEDO, R. G.; VALDEHITA, M. T.; MATA, M. G. (1979) -

"Caracteristicas de los Chicles del Mercado Español". Anal. Bromatol., 31 (3,4), 271-278.

OMS (1985) - "Orientaciones para el Estudio de las Ingestas Alimentarias de Contaminantes Quimicos". Publicacion en offset, n° 87, Ginebra.

PALLOTTI, G.; BENCIVENGA, B.; MAURIZIO, G.; GIABBAI, M.;

PALMIOLI, A.; ROSATELLI, I. (1977) - "Metodo Spettrofotometrico per la Determinazione Simultanea di Coloranti Sintetici Idrosolubili negli Alimenti e nelle Bevande". Bollettino dei Chimici dell'Unione Italiana Dei Laboratori Provinciali 7, 217-230.

PEARSON, D. (1973) - "Food Additives". In: Laboratory Techniques in Food Analysis". John Wiley & Sons - N. Y., Toronto.

PEARSON, D. (1973) - "The identification of EEC Food Colours". Journal Ass. Publ. Analysts. 11, 127-134.

PEARSON, D. (1976) - "General Methods for Additives and Contaminants". In: "The Chemical Analyses of Foods". 7th ed., Churchill Livingstone - Edimburgh, London, N. Y..

- PEKKARINEN, M. (1970) - "Methodology in the Collection of Food Consumption Data". World Review of Nutrition and Dietetics 12, 145-171.
- PERRY, A. R.; WOOLEY, D. G. (1969) - "The Identification of Some Water - Soluble Food Colours by Thin - Layer Chromatography". Journal Ass. Publ. Analysts 7, 94-98.
- POLLARD, F. H.; NICKLESS, G.; SAMUELSON, T. J.; ANDERSON, R. G. (1964) - "Thin - Film Chromatography of Some Azo - Dyestuffs". Journal of Chromatography 16, 231-233.
- PUTTERMANS, N. L.; DRYON, L.; MASSART, D. L. (1981) - "Ion - Pair HPLC of Synthetic Water - Soluble Acid Dyes". Journal of the A.O.A.C., 64 (1), 1-8.
- PUTTERMANS, N. L.; DRYON, L.; MASSART, D. L. (1982) - "Evaluation of Thin - Layer, Paper and High Performance Liquid Chromatography for Identification of Dyes Extracted as Ion - Pair with Tri - n - Octylamine". Journal of the A.O.A.C., 65 (3), 730-736.
- QUATRUCCI, E.; SALETTI, M. C. (1983) - "Determinazione Analitica ed Ingestione Potenziale di Coloranti Artificiali negli Alimenti". La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione, Anno 12, n° 1., 28-36.
- SANS, R. G.; CHOZAS, M. G. (1982) - "Los Colorantes en Alimentos - II Analisis". Alimentaria 136, 31-35.

- SANTHANAKRISHNAN, T. S. (1981) - "Food Colours and Their Future". Reprinted from "Indian Food Packer", 35 (2), 79-76.
- SINGH, M. (1977) - "HPLC Determination of Uncombined Intermediates in FD & C Red n° 2". Journal of the A.O.A.C., 60 (1), 173-175.
- SINGH, M.; ADAMS, G. (1979) - "Automated HPLC Determination of Uncombined Intermediates in FD & C Red n° 40 and FD & C Yellow n° 6". Journal of the A.O.A.C., 62 (6), 1342-1349.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. (1980) - "Statistical Methods". 7th ed. The Iowa State University Press.
- SRAMEK, J. (1963) - "Paper Chromatography of Dyes - IV. Paper Chromatography of Water - Soluble Dyes". Journal of Chromatography 15, 57-64.
- TAKESHITA, R.; ITOH, N.; SAKAGAMI, Y. (1971) - "Separation and Detection of Basic Dyes by Poliamide Thin - Layer Chromatography". Journal of Chromatography 57, 437-440.
- TAKAHASHI, M. V.; MARSIGLIA, D. A. P.; YABIKU, A. Y. (1985) - "Metodologia para Análise Quantitativa de Corantes Artificiais em Alimentos Variados". SBCTA - Resumo do VIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos (Novembro, 1985) - Itabuna, BA.

TOLEDO, M. C. F. (1984) - "Problemas Decorrentes do Uso de Corantes Artificiais em Alimentos". Anais do Seminário Latino Americano sobre Toxicologia de Alimentos (Agosto, 1983) - Ed. Unicamp - Campinas, S.P..

TOLEDO, M. C. F. (1987) - "Aditivos para Alimentos: Aspectos Toxicológicos". I Simpósio sobre Aditivos para Alimentos (Setembro, 1987) - ITAL - Campinas, S.P..

UEHATSU, T.; KURITA, T.; HANADA, A. (1979) - "Use of Amberlite XAD-2 for Isolation and Detection of Water - Soluble Acid Dyes". Journal of Chromatography 172, 327-334.

VETTORAZZI, G. (1980) - "Chemical Safety Evaluations and Toxicological Decisions". In: "The Principles and Methods in Modern Toxicology". C. L. Galli, S. D. Murphy and R. Paoletti, editors.

WOLLENWEBER, P. (1962) - "Dünnschicht - Chromatographische Trennungen von Farbstoffen an Cellulose - Schichten". Journal of Chromatography 7, 557-560.

YAHAMOTO, K.; MORIYAMA, S.; SAKABE, Y. (1972) - "Studies on the Efficient Recoveries of Water - Soluble Coal - Tar Dyes with Urea - Treated Woollen Yarn". Shyokueishi, 13 (1), 22-28.

YANUKA, Y.; SHALON, Y.; WEISSENBERG, E.; NIR-GROSFELD, I. (1963) - "The Isolation and Separation of Dyes from Foodstuffs by Column Chromatography". Analyst 88, 872-876.

YOUNG, H. L. (1984) - "Rapid Determination of Color Additives, Using the C₁₈ Cartridge". Journal of the A.O.A.C., 67 (5), 1182 - 1189.

ZUCKERMAN, S. (1964) - "Color for Foods, Drugs and Cosmetics". In: "Encyclopedia of Chemical Technology". Kirk, R.E. & Othmer, D. F. eds., vol. 4.

ANEXO 1

Limites de tolerância (Normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos - Decreto n 55.871 de 26 de março de 1965).

Corantes Artificiais	Alimentos em que podem ser tolerados	Limite máximo (%)
Amarelo Ácido ou Amarelo Sólido	Crosta de queijos	0,01
Amarelo Crepúsculo	Gelatinas	0,01
Laranja GGN	Geléias artificiais	0,01
Tartrazina	Licores artificiais	0,01
Azul de Idantreno	Recheios e revestimentos de biscoitos e similares (com exceção dos recheios de creme)	0,01
Indigotina	Recheios e revestimentos de produtos de confeitaria (com exceção dos recheios de creme)	0,01
Eritrosina	Recoloração de frutas em calda (somente cerejas)	0,01
Amaranto	Refrescos e refrigerantes artificiais	0,01
Escarlate GN	Xaropes artificiais	0,01
Vermelho Sólido E	Pós para geléias artificiais	0,01 no pro- duto a ser consumido
Azul Brilhante (Res. 9/69)	Pós para pudins artificiais	0,01 no pro- duto a ser consumido
Ponceau 4R (Res. 16/71)	Pós para refrescos artificiais	0,01 no pro- duto a ser consumido
Vermelho 40 (Res. 19/72)		

ANEXO 2: Portaria nº 2, de 28 de Janeiro de 1987

Ministério da Saúde

Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária

Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de
Alimentos

(Transcrição: Diário Oficial da União - 09/02/87)

O Diretor da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos/Dinal da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, no uso das atribuições que lhe confere o item III do Artigo nº 39 da Portaria nº 270/Bsb, de 19 de julho de 1978, e considerando:

1. Que as informações toxicológicas sobre os corantes Amarelo Acido ou Amarelo Sólido (13015) Azul de Idantreno ou Azul de Alizarina (69800) Laranja GGN (15980) Vermelho Sólido E (16045) e Escarlata GN (14815), usados como aditivos em alimentos, são insuficientes para uma avaliação do grau de risco toxicológico, especialmente quanto ao metabolismo, efeitos sobre a reprodução, embriotoxicidade, carcinogenicidade, mutagencidade e teratogenicidade.

2. Que o Grupo de Peritos em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA) não estabeleceu IDA (Ingestão Diária Aceitável) para os referidos corantes (aditivos) tendo em vista a insuficiência de dados para se concluir quanto ao risco toxicológico que estes apresentam;

3. Que a ausência de informações toxicológicas representa risco potencial a saúde pública;

Resolve:

I. Excluir da Tabela 1 do Decreto 55871/65, os corantes Amarelo Acido ou Amarelo Sólido (13015) Azul de Idantreno ou Azul de Alizarina (69800) Laranja GGN (15980) Vermelho Sólido E (16045) e Escarlata GN (14815) para uso em alimentos.

II. Conceder o prazo de 60 (sessenta) dias a partir da data de publicação desta Portaria para as Empresas requererem junto a DINAL a substituição dos Corantes proibidos por sucedâneos permitidos na Tabela 1 do Decreto 55871/65.

III. Fica estabelecido o prazo de 180 (cento e oitenta) dias a partir do prazo de publicação desta Portaria para definir as averbações de substituições dos corantes proibidos, bem como as alterações necessárias nos rótulos.

IV. Decorrido o prazo de 180 (cento e oitenta) dias da data de publicação desta Portaria, ficam proibidos os corantes citados no item I, para uso em alimentos.

V. Esta Portaria entrará em vigor na data de sua publicação revogadas as disposições em contrário.

ANTONIO OSVALDO NUNES COUTINHO

ANEXO 3

REGRAS A SEREM ADOTADAS PELOS ENTREVISTADORES

1) Caso o entrevistado não esteja em casa, insistir na visita por mais uma vez em horário adequado.

2) Se o entrevistado, por mais uma vez não estiver em casa, ou estiver viajando, ou se recusar a fornecer os dados: visitar a casa ao lado em direção aos números crescentes da rua até encontrar uma família onde tenham crianças dentro da faixa etária de nosso interesse (3 a 14 anos).

3) Se as casas da rua terminarem ou a rua terminar:

- Regra 1: Seguir a rua perpendicular para o lado direito.

- Regra 2: Seguir a rua perpendicular para o lado esquerdo (caso seja impossível seguir a Regra 1).

4) Se a rua terminar e não houver qualquer outra perpendicular, voltar à casa sorteada e iniciar as regras em direção aos números decrescentes da rua.

5) Os dados sobre a nova família devem ser anotados em um questionário em branco e deve haver uma nítida referência quanto a substituição. O questionário sorteado (em branco) e o novo questionário preenchido devem vir unidos com um clipe.

ANEXO 4

QUESTIONARIO

PESQUISA: Consumo de Alimentos

ENTREVISTADOR: _____

1. NOME (da criança): _____

ENDEREÇO: _____

ESCOLA: _____

SERIE: _____

IDADE: _____ DATA NASC.: _____

SEXO: _____ PESO: _____

2. PESSOAS DA CASA: (N TOTAL DE PESSOAS = _____)

	NOME DAS CRIANÇAS (3 a 14 anos)	IDADE	PESO	SEXO
(B)	_____	_____	_____	_____
(C)	_____	_____	_____	_____
(D)	_____	_____	_____	_____
(E)	_____	_____	_____	_____
(F)	_____	_____	_____	_____

3. GELATINA: Quem não come? _____ ()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
MORANGO	-----	-----	-----	-----
TUTTI-FRUTTI	-----	-----	-----	-----
FRAMBOESA	-----	-----	-----	-----
CEREJA	-----	-----	-----	-----
LIHÃO	-----	-----	-----	-----
UVA	-----	-----	-----	-----
ABACAXI	-----	-----	-----	-----
TANGERINA	-----	-----	-----	-----
PESSEGO	-----	-----	-----	-----
MAÇA	-----	-----	-----	-----
GUARANA	-----	-----	-----	-----

(1) Royal (2) Otker (3) Santista (4) Q-Gel (5) Kitano

4. PO PARA SUCOS: Quem não come? _____()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
LARANJA	_____	_____	_____	_____
LIMÃO	_____	_____	_____	_____
UVA	_____	_____	_____	_____
ABACAXI	_____	_____	_____	_____
MARACUJA	_____	_____	_____	_____
MORANGO	_____	_____	_____	_____
GROSELHA	_____	_____	_____	_____
GUARANA	_____	_____	_____	_____

(1) Suco Royal (2) Ki-Suco (3) Q-Refresco (4) Tang
 (5) Suco Otker (6) Refresco Fresh

5. XAROPE PARA FAZER SUCO: Quem não consome? _____()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
GROSELHA	_____	_____	_____	_____
MORANGO	_____	_____	_____	_____
MARACUJA	_____	_____	_____	_____
CAJU	_____	_____	_____	_____
ABACAXI	_____	_____	_____	_____

(1) Vanucci (2) Outros

6. REFRIGERANTE: Quem não consome? _____()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
LARANJA	_____	_____	_____	_____
UVA	_____	_____	_____	_____
TUTTI-FRUTTI	_____	_____	_____	_____

(1) Coca-Cola (Fanta) (2) Antártica (Pop-Laranja)

(3) Brahma (Sukita) (4) Vanucci (Vanette Laranja

e Tutti-Frutti)

7. SABOR PARA LEITE: Quem não consome? _____()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
MORANGO	_____	_____	_____	_____

(1) Quick (2) Outros

8. SUCO NO PLASTICO: Quem não consome? _____()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
VERMELHO	_____	_____	_____	_____
ROXO	_____	_____	_____	_____
LARANJA	_____	_____	_____	_____

(1) Indústria Irmãos Coragem (2) Outros

9. BALAS E PIRULITOS: Quem não consome? _____()

	Quantidade	(P/ Semana)	Marca	Código
VERMELHA	_____	_____	_____	_____
ROXA	_____	_____	_____	_____
LARANJA	_____	_____	_____	_____
AMARELA	_____	_____	_____	_____
VERDE	_____	_____	_____	_____
ROSA	_____	_____	_____	_____

(1) Soft (2) Topsy (3) Kid's (4) Paulistinha
(5) Pirulitos Kid's (6) Pirulitos Sing (7) Outros

10. OUTROS PRODUTOS COLORIDOS

A - SORVETE: _____

B - CHICLETE: _____

C - NAO INDUSTRIALIZADOS:

- Maçã do Amor: _____

- Algodão Doce: _____

- Maria-Mole: _____

- Geléias Coloridas: _____

- Doces Coloridos de Padaria: _____

ANEXO 5

LISTA DOS PRODUTOS A SEREM COLECIONADOS

- 1) Gelatina
- 2) Preparado em pó para sucos
- 3) Xarope para preparar sucos
- 4) Refrigerante
- 5) Balas, pirulitos e chicletes
- 6) Preparados em pó para sobremesas: pudins, flans, sorvetes...
- 7) Sucos coloridos em embalagem plástica
- 8) Sorvetes, Ice-pop

Obs.: Se a embalagem não for adequada para ser colecionada (p. ex.: garrafa de refrigerante...), qualquer papel com a anotação do que foi consumido, incluindo marca e sabor, pode ser um bom substituto.

ANEXO 6: Valores de R_f de Corantes Padrões em Diferentes Sistemas de Solvente.

- . Cromatografia ascendente em papel.
- . Tempo de saturação da cuba: 1 hora.
- . Temperatura ambiente: 26-28°C.

Padrões	Solvente														
	1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	15	
A. Crepúsculo	0,97	0,18	0,74	0,45	0,14-0,46	0,61	0,39	0,28	0,32	0,53	0,16	0,33	0,49	0,70	
Laranja 66N	0,97	0,16	0,74	0,48	0,27	0,65	0,40	0,29	0,36	0,56	0,13	0,32	0,49	0,69	
Tartrazina	0,98	0,26	0,44	0,29	0,04	0,50	0,12	0,07	0,05	0,85	0,29	0,68	0,19	0,74	
Eritrosina	0,47	0,00	0,82	0,85	0,89	0,84	0,95	0,92	0,82	0,05	0,00	0,04	0,79	0,15	
Vermelho 40	0,96	0,09	0,74	0,50	0,14-0,55	0,69	0,49	0,30	0,40	0,30	0,07	0,15	0,64	0,45	
Amaranto	0,93	0,07	0,34	0,12	0,00	0,47	0,15	0,03	0,10	0,44	0,05	0,17	0,25	0,40	
Escarlate 6N	1,00	0,26	0,73	0,48	0,55	0,67	0,46	0,43	0,51	0,92	0,24	0,79	0,62	0,56	
Ponceau 4R	1,00	0,26	0,52	0,19	0,05	0,54	0,24	0,04	0,15	0,58	0,19	0,42	0,31	0,47	
V. Sólido E	0,77	0,03	0,61	0,44	0,04-0,53	0,71	0,53	0,39	0,44	0,24	0,02	0,11	0,62	0,38	
Azul Brilhante	1,00	0,38	1,00	0,50	0,60	0,87	0,44	0,27	0,28	0,89	0,95	0,79	0,68	0,77	
Azul Indigotina	0,88	0,09	0,31	0,28	0,04	0,46	0,26	0,20	0,15	0,14	0,11	0,14	0,27	0,68	

Relação dos Solventes

- 1 - 1 mL de amônia 0,88 + 99 mL H₂O.
- 2 - 2,5% NaCl aquoso.
- 3 - 2% NaCl em EtOH 50%.
- 4 - Iso Bu-OH, EtOH, H₂O (1:2:1)
- 5 - n Bu-OH, H₂O, HAc gla. (20:12:5)
- 6 - Iso BuOH, EtOH, H₂O (3:2:2). Para 99 mL, adicionar 1 mL de amônia 0,88.
- 8 - Etilmetilcetona, acetona, H₂O, amônia 0,88 (35:150:1).
- 9 - Etilmetilcetona, acetona, H₂O (7:3:3).
- 10 - Acetato de etila, piridina, H₂O. (11:5:4).
- 11 - 5 mL de amônia 0,88, diluir a 100 mL (H₂O) + 2 g citrato tri-sódico.
- 12 - H₂O, HCl conc. (30:6,5).
- 13 - 15 mL de amônia 0,88, 80 mL sol. 2,5% de citrato de sódio, 5 mL H₂O.
- 14 - n BuOH, EtOH, H₂O, amônia 0,88 (5:2,5:2,5:1).
- 15 - H₂O destilada.

ANEXO 7: Espectro no Infra-vermelho dos Corantes Padrões Laranja GGN (A) e Amarelo Crepúsculo (B) e do Corante Presente no Refrigerante de Laranja, Marca M (C).

