

ANÁLISE DE CORANTES EM CHÁS AROMATIZADOS

► Resumo

Hoje no mercado brasileiro, temos disponíveis os mais diversos sabores e marcas de chás. Alguns tipos, ao serem colocados em infusão, mesmo em água fria, liberam um colorido tão intenso dando-nos a impressão de que esse colorido atraente não é devido somente à matéria-prima, embora nas embalagens nada conste em relação à utilização de corantes artificiais. Sendo assim, esse foi o material de interesse desse trabalho. A constatação da presença ou não desses aditivos foi feita, primeiramente, através de uma triagem em papel e, para comprovação dos resultados obtidos pelo primeiro método, procedeu-se à análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Foram analisadas dezoito amostras de chás (ervas, flores e frutas) dentre sete marcas diferentes com o objetivo de se comprovar a não adição de corante artificial. Pela triagem não foi encontrado nenhum dos oito corantes artificiais permitidos no Brasil para alimentos. Utilizando a sensibilidade e especificidade que a técnica por CLAE possui, esta foi utilizada para confirmar os resultados obtidos na cromatografia em papel. O resultado obtido na CLAE proporciona a não presença, em nenhuma das amostras analisadas, de corantes artificiais.

Palavras-chave: chás aromatizados; corantes artificiais; CLAE

► Summary

Nowadays in the Brazilian market, there are an enormous variety of flavors and brands of tea. Some of these brands were butted in infusion with water, even water at low temperature, release a vividly color, which marks us distrust about the use of synthetic dyes, although there is no mention about its use at the tea's package. At this context, the goal of this work is the checking of the presence or absence of these dyes. To achieve this, firstly was made a paper selection and then, to recheck the results, another analysis by high performance liquid chromatography (HPLC). Eighteen samples of tea (herbs, flowers and fruits) were analyzed among seven brands. It wasn't found any synthetic dyes, among those permitted by Legislation in both methods of analysis the paper chromatography and HPLC.

Keywords: aromatic tea; synthetic dyes; HPLC

■ Introdução

Com a finalidade de ganhar cada vez mais o mercado competitivo, as indústrias de alimentos lançam mão de novos produtos a cada dia. O crescente emprego de aditivos intencionais no desenvolvimento de novos produtos e processos da indústria de alimentos, vem provocando o aperfeiçoamento do mercado de aditivos de maneira rápida, como consequência da disputa pelo consumidor, cada vez mais exigente.

A indústria de insumos adquiriu maior importância no desenvolvimento de inovações tecnológicas que a indústria de bens de capital. Isso leva a uma alta especialização no segmento de insumos, pois a indústria passa a exigir maior qualidade no produto final (1,2).

Os corantes artificiais pertencem a uma dessas classes de aditivos alimentares e têm sido objeto de muitas críticas,

Marcelo Prado,
Fernanda Abujamra,
Helena Godoy*

Unicamp – Depto. de Ciências
de Alimentos
Faculdade de Engenharia de
Alimentos

* Autor para correspondência:
C.P. 6121
CEP: 13083-970. Campinas. SP
Fone: (19) 3788-4024
Fax (19) 3289-2832
E-mail: m.a.prado@bol.com.br

já que seu uso em muitos alimentos justifica-se apenas por questões de hábitos alimentares.

Adicionar corantes aos alimentos para torná-los mais atraentes é uma prática de longa data. Civilizações antigas retiravam substâncias da natureza para colorir seus alimentos (3,4).

A manutenção da cor natural do alimento se constitui num fator fundamental para o marketing do produto, em face da primeira avaliação do consumidor. Antes do paladar, os alimentos coloridos seduzem as pessoas pela visão. A lógica do consumo desses produtos se inicia pelos olhos, alimentos coloridos, vistosos, atraentes só podem ser deliciosos. Em geral, a importância da aparência do produto para sua aceitabilidade é a maior justificativa para o emprego de corantes (5).

Vários alimentos sofreram abusos, sendo coloridos até com substâncias altamente tóxicas. Na Inglaterra, no começo do século, foram relatados casos do uso de sulfato de cobre para colorir de verde conservas de pickles, chumbo negro em folhas de chá para parecerem novas e, para realçar a coloração alaranjada de alguns queijos, o chumbo vermelho (4).

Diversos estudos relacionaram, diretamente ou indiretamente, a influência da cor na aceitabilidade e preferência dos alimentos e bebidas, apontando que uma redução na cor resulta na diminuição da aceitabilidade. Bebidas de laranja e cereja, quanto mais intensa a cor (até um certo ponto) maior é a aceitação e preferência pela bebida mais colorida (6,7).

Fica claro que, além da identificação, é necessária a quantificação desses aditivos nos alimentos. Neste trabalho, realizou-se primeiro uma triagem com cromatografia em papel e depois se utilizou uma nova metodologia desenvolvida por Prado e Godoy (1998) (1), empregando a CLAE para a determinação quali e quantitativa de possíveis corantes artificiais presentes em chás aromatizados.

A motivação na escolha deste tipo de produto, chás aromatizados com frutas, recai na impressão causada pela intensa coloração que eles apresentam ao serem preparados e no grande consumo mundial que os chás possuem no mundo (8).

Corantes naturais apresentam baixa estabilidade a altas temperaturas, o mesmo não ocorre aos corantes artificiais que apresentam uma boa estabilidade a tratamentos térmicos.

Uma vez que chás são preparados com água quente, suspeita-se que talvez esses produtos estivessem utilizando corantes artificiais em sua composição para impedir a perda da cor pelo aquecimento, o que seria uma prática ilegal, pois a legislação brasileira proíbe o uso de corantes artificiais em chás (9).

■ Riscos à Saúde

Com a descoberta nos séculos XVIII e XIX dos corantes sintéticos e a constatação da influência da cor na aparência e, conseqüentemente, uma melhor aceitação dos produtos pelos consumidores, o interesse pelo uso dos corantes artificiais

aumentou muito, inclusive utilizando substâncias não permitidas na tentativa de mascarar alimentos de má qualidade. Vários alimentos sofreram esses abusos, sendo coloridos até com substâncias altamente tóxicas.

Na Inglaterra, no início do século XX foram relatados casos do uso de sulfato de cobre para colorir de verde conserva de pickles, chumbo negro em folhas de chá para parecerem novas e, para realçar a coloração alaranjada de alguns queijos, o chumbo vermelho (4). Na Índia, 61,6 % dos alimentos analisados em alguns estudos apresentavam em suas composições corantes não permitidos por aquele país. Sendo, somente em calcutá, 13,1% dos alimentos. No Egito ocorreram casos de adulteração de olivas negras com o uso de corantes artificiais, o que é uma prática ilegal segundo sua legislação (10-12).

Os estudos sobre os efeitos à saúde causados pelos corantes artificiais são insuficientes e bastante contraditórios.

Kapadia e colaboradores (1998) (13) estudaram a ação antitumoral *in vitro* de 29 corantes artificiais permitidos pelo *Food and Drugs Administration* (FDA) nos Estados Unidos para alimentos, fármacos e cosméticos, sobre o vírus Epstein-Barr (EBV) que produz o indutor de tumores 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA). Destes, 10 tiveram efetiva ação antitumoral, sendo a tartrazina e índigo com significativa inibição do indutor do EBV, durante ensaios *in vitro*. Efeitos da eritrosina também foram avaliados. Esses três corantes apresentaram atividade quimiopreventiva com uma redução de até 50% na formação de papiloma em ratos.

Os aditivos são inofensivos à saúde desde que obedecendo aos percentuais máximos estabelecidos pelo DINAL (Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos) e/ou Codex Alimentarius. Estes estabelecem para cada aditivo uma ingestão diária aceitável (IDA). Todos os corantes artificiais permitidos pela Legislação Brasileira já possuem valor definido de IDA, embora esses valores estejam sujeitos a alterações contínuas, dependendo dos resultados de estudos toxicológicos. O comitê conjunto FAO/OMS de peritos em aditivos alimentares da JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives), a nível internacional, recomenda que cada país verifique periodicamente o consumo total de cada aditivo com base em estudos de dieta, para se assegurar que a ingestão total do aditivo não ultrapasse a IDA (14).

■ Corantes artificiais permitidos no Brasil

São permitidos no Brasil o uso de 11 corantes artificiais, sendo eles: amarantho, vermelho de eritrosina, vermelho 40, ponceau 4R, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul de indigotina e azul brilhante, azorrubina, verde rápido e azul patente V (9).

Neste trabalho, foram utilizados oito dos onze corantes artificiais permitidos, sendo eles amarantho, vermelho de eritrosina, vermelho 40, ponceau 4R, amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul de indigotina e azul brilhante.

■ Métodos para análise de corantes artificiais

Métodos Clássicos

Os métodos analíticos de identificação e quantificação de corantes artificiais, bem como micro constituintes da matriz complexa dos alimentos, compreende várias etapas. A análise se inicia com a extração do corante da matriz, seguida de uma etapa de limpeza para a retirada de possíveis interferentes (açúcar, ácidos, corantes naturais, etc.) e por fim, a separação por técnicas cromatográficas, seguidas de identificação e quantificação.

A primeira técnica de separação de corantes sintéticos se baseia num trabalho de Arata, empregando lã pura (15,16). Este método, ainda hoje é bastante utilizado, os corantes são fixados na lã, em seguida são extraídos e identificados por cromatografia em papel. Corantes naturais não se ligam à lã ou então não são desorvidos, tornando essa técnica de extração também uma etapa de limpeza.

O uso de cromatografia de coluna com fase estacionária de sílica-gel e alumina, ajustada para diferentes pHs, permite a separação dos corantes por adsorção ou troca iônica, dependendo das condições escolhidas. O emprego de cromatografia por coluna é um método que possibilita a obtenção dos corantes de maneira quimicamente pura e isolados, podendo a seguir, serem facilmente identificados (17,18).

Métodos, principalmente envolvendo cromatografia em papel (19,20) e cromatografia em camada delgada (21,22) têm sido descritos. Métodos por cromatografia gasosa não são aplicáveis, devido à baixa volatilidade dos corantes sintéticos e à instabilidade às altas temperaturas empregadas.

Métodos por CLAE

Em separações muito difíceis, tanto para cromatografia em papel como para camada delgada (23, 24), ou em estudos mais detalhados dos corantes, o uso da CLAE tem demonstrado resultados bastante satisfatórios, graças ao seu poder de separação e sua capacidade de detectar limites muito baixos (1 a 5ppm), com valores de recuperação na ordem de 95% (25).

Com um tempo de análise muito curto, em comparação ao requerido pelas técnicas tradicionais (23), a sua aplicação na separação e identificação dos corantes artificiais tem aumentado nos últimos anos (23, 26).

A CLAE é, atualmente, uma das principais técnicas para análise de corantes em alimentos, os limites de detecção obtidos com a técnica são satisfatórios para aqueles estabelecidos pela legislação. Entretanto, poucos sistemas foram desenvol-

vidos para a separação de todos os corantes permitidos pela legislação brasileira numa única corrida. Prado e Godoy (1998) (1) apresentam uma técnica para separação simultânea de corantes artificiais em alimentos utilizando a CLAE (27).

■ Materiais e Métodos

Material

Foram analisados 18 tipos de chá aromatizados com sabores de frutas. Para todas as amostras foram analisados dois lotes diferentes, identificados pela data de fabricação. As análises foram sempre realizadas em duplicata. Antes da tomada da amostra analítica, os alimentos foram homogeneizando. Todos os produtos foram comprados em supermercados da região de Campinas (SP).

Reagentes

Os padrões de corantes artificiais foram adquiridos da Importadora Brastóquio Ltda. O metanol utilizado com grau cromatográfico (ominsolv), NH₄OH 2%, ácido cítrico, etanol, NaCl e o acetato de amônio foram adquiridos da Merck Brasil. A água utilizada no preparo das fases móveis e das amostras foi purificada no sistema Milli-Q (Millipore). As fases móveis foram sempre filtradas em filtros Flouppore (Millipore Hawp 0013) de 0,5µm de diâmetro de poro, e degaseificados em banho ultra-sônico.

Equipamento

Para análise em papel, foi seguido o método desenvolvido por Arata, empregando lã pura.

Para análise em CLAE, foi utilizado cromatógrafo a líquido HP série 1050, com sistema de bombeamento isocrático; válvula injetora tipo "Rheodyne", com alça de amostragem de 20µL; e detector de arranjo de diodos (DAD) HP série 1050, acoplado a um software HP Chemstation, que apresenta o recurso de visualização de até cinco comprimentos de ondas diferentes numa mesma corrida. Foram utilizados os comprimentos de onda de 595nm para os azuis, 525nm para os vermelhos e 450nm para os amarelos.

Para a separação cromatográfica, utilizou-se uma coluna Spherisorb ODS-2 de 150mm x 4,6mm d. i., C18 de 5µm, protegida por uma coluna de guarda Micropore 30mm x 4,6 mm d.i. C18, de 10µm.

Cromatografia

Na análise em papel, utilizou-se o método do tingimento da lã pura seguida de extração com NH₄OH 2%. Pesou-se cerca de 4g de cada sabor e fez-se a extração com água quente seguida de filtração. Cada solução foi acidificada até pH 4 pela adição de ácido cítrico a fim de que o corante, independentemente de ser natural ou artificial, ligue-se à lã.

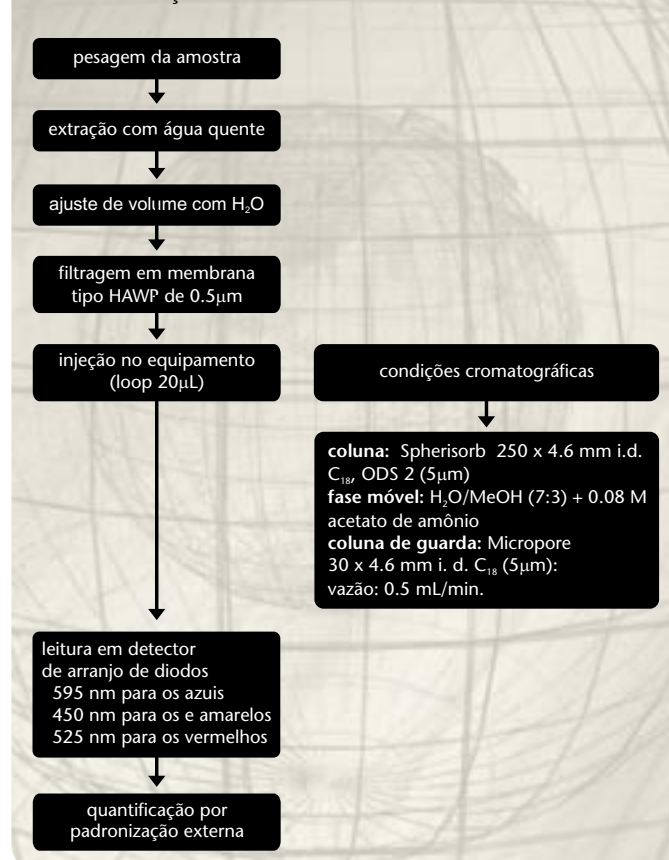
Após o tingimento da lã, fez-se a extração com a solução amoniacal seguida de aquecimento para que as soluções se concentrassem. A cromatografia em papel foi preparada com a aplicação de padrões dos oito corantes artificiais permitidos no Brasil e dos extratos dos chás. A constituição da fase móvel foi de 2% de NaCl em etanol 50% sólido. Após a corrida, nenhuma mancha característica de corante artificial foi verificada em comparação com os padrões na mesma corrida.

Para análise em CLAE, foi usada a técnica desenvolvida por Prado e Godoy 1998 (1), na qual os corantes são extraídos com água quente e depois filtrados em filtros de amostra com diâmetro de poro de 5µm e em seguida injetadas no equipamento.

Os corantes são separados através de um sistema de eluição isocrático. A coluna é condicionada pela passagem de uma solução de água/metanol 70:30 + 0.08 M de acetato de amônio por 12.5 minutos e, após esse período, foi acionada a corrida com mudança de fase móvel para água/metanol 70:30. Em ambos os casos, a vazão era de 0,5mL/min. O tempo de corrida para a separação dos corantes foi de 20 minutos (1).

Essa metodologia permite a análise simultânea de oito corantes artificiais permitidos no Brasil.

Tabela 1. Fluxograma da metodologia para CLAE utilizada na determinação de corantes artificiais



Resultados e Discussão

Em nenhuma das amostras analisadas se confirmou a presença de corantes artificiais. Não se detectando na comparação das manchas com padrões na cromatografia em papel, e nem mesmo na confirmação da contra-prova com a utilização da CLAE, na qual as mesmas amostras que foram aplicadas no papel, também foram injetadas no equipamento. Além disso, foram injetadas as mesmas amostras fazendo-se, simplesmente, uma extração com água quente seguida de filtragem em filtros de 0,5µm de diâmetro. Esta segunda extração foi realizada para se evitar qualquer degradação ou perda que pudesse ter ocorrido com o corante durante a extração com a lã. Os resultados obtidos com essa segunda extração foram iguais aos encontrados com a injeção dos extratos obtidos com a técnica da lã.

Portanto, todas as amostras analisadas estão em conformidade com a legislação que proíbe o uso de corantes artificiais neste tipo de produto alimentício.

A Figura 1 mostra o perfil de padrões de corantes artificiais utilizados na cromatografia em CLAE.

A Figura 2 mostra o perfil de uma amostra utilizados na cromatografia em CLAE.

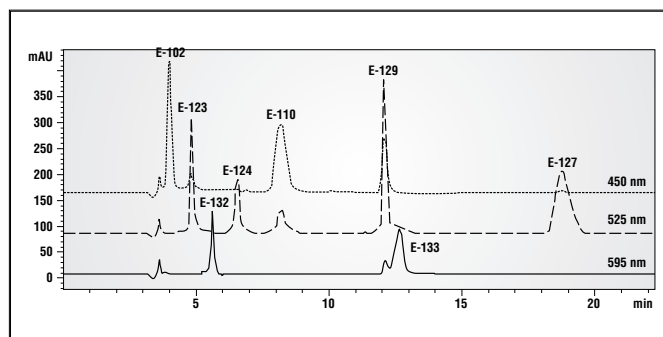


Figura 1. Perfil de padrões de corantes artificiais em CLAE, condições descritas no texto

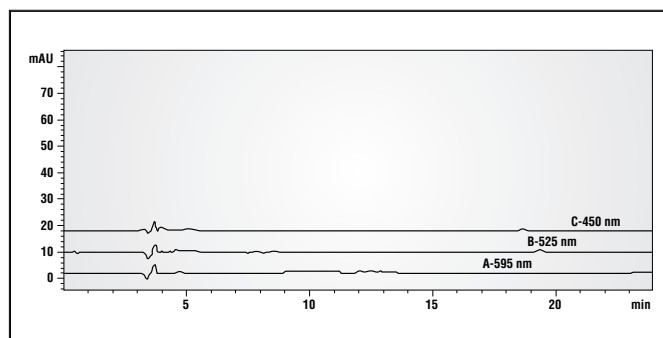


Figura 2. Amostra de chá em CLAE, condições descritas no texto

Referências

1. Prado MA, Godoy HT. *Metodologia para determinação de corantes artificiais em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência*. Dissertação de Mestrado em Ciências de Alimentos, FEA, UNICAMP, Campinas, 1998.
2. Alvarez VMD. *A participação da indústria de insumos na dinâmica da produção da indústria de alimentos: o setor de massas e biscoitos*. Campinas-Unicamp, 56p 1989.
3. Valim MFCFA. *Avaliação do efeito de corantes orgânicos sintéticos artificiais na função respiratória mitocondrial*. Dissertação de mestrado em ciências de alimentos, FEA, UNICAMP, Campinas, 1989.
4. IFT - Food Colours. A Scientific Status Summary by the Institute of Food Technologists's Expert Panel of Food Safety and Nutrition and the Comite of Public Information, 1986.
5. Tricard C, Cazabeil JM, Medina B. *Identification Of Natural Dyes Added To Food Products*. **Sciences Des Aliments**, 18, 25-40, 1998
6. Asp EH. *Factors affecting Food Decisions Made By individual Consumers*. **Food Policy**, 24, 287-294; 1999
7. Clydesdale FM. *Color as a factor in food choice*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 33, (1), 83-101, 1993.
8. Horie H, Kohata K. *Analysis Of Tea Components By High Performance Liquid Chromatography And High Performance Capillary Electrophoresis*. **Journal Of Chromatography A**, 881, 425-438, 2000
9. ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Reference eletronic. www.anvisa.gov.br. 12/07/2001.
10. Ziena HMS, Youssef MM, Aman ME - **Food Chemistry**; 60 (4) 501-508, 1997.
11. Dixit S, Pandey RC, Das M, Khanna SK. *Food quality surveillance on colours in eatables sold in rural markets of Uttar Pradesh*. **Journal of Food Science and Technology**, India; 32 (5) 373-376, 1995.
12. Biswas G, Sarkar S, Chatterjee TK. *Surveillance on artificial colours in food products marketed in Calcutta and adjoining areas*. **Journal of Food Science and Technology**, India; 31 (1) 66-67, 1994.
13. Kapadia JG, Tokuda H, Takayasu J, Ping B, Enjo F, Takasaki M, Konoshima T, Nishino H. *Cancer chemopreventive activity of synthetic colorants used in foods, pharmaceuticals and cosmetic preparations*. **Cancer-Letters**; 129 (1) 87-95, 1998.
14. Reyes FGR, Prado MA. **JECFA - Aditivos e Contaminantes Alimentares. Notícias ILSI Brasil**, Ano 9, n.1, p. 4-5, 2001.
15. Boley NP, Bunton NG, Crosby NT, Johnson AE, Roper P, Sommers L. *Determination of Synthetic Colours in Food Using High-Performance Liquid Chromatography*. **Analyst**, 105, 589-593, 1980.
16. Corradi C, Micheli G. *Método Rapido di Ricerca ed Identificazione dei Coloranti Acidi Artificiali Idrosolubili Nei Prodotti Alimentari*. **Boletino dei Chimici dei Laboratori Provinciali**, 5 (1), 188-200, 1979.
17. Sclar RN, Freeman KA. *Chromatographic Procedures for the Separation of Water-soluble Acid Dyes Mixtures*. **Journal Assoc. Off. Anal. Chem.**, 73, (6), 829-837 1990.
18. Yanuka Y, Shalon Y, Weissenberg E, Nir-Grosfeld I. *The Isolation and Separation of Dyes from Foodstuffs by Column Chromatography*. **Analyst**, 88, 872-876, 1963.
19. Pearson D. *General Methods for Additives and Contaminants*. **The Chemical Analyses of Food**. 7th ed. Churchill Livingstone - Edimburgh, London, N. Y, 1976.
20. Lees R. *Colour - Identification of Food Dyes*. **Laboratory Handbook of Methods of Food Analysis**. 2nd Ed., Leonard Hill, London , 1971.
21. Branca P, Spagnolini GP. *Identificazione e Dosaggio Spettrofotometrico di Alcuni Coloranti di Sintesi in Prodotti Alimentari*. Estratto Dalla Rivista **Industrie Delle Bevande**. Dicembre, Chiriotti Editori, 1980.
22. Lepri L, Desidere PG, Coas V. *Separation and Identification of Water-Soluble Food Dyes by Ionexchange and Soap Thin-Layer Chromatography*. **Journal of Chromatography**, 161, 279-286 , 1978.
23. Singh M. *Automation hplc Determination of Uncobined Intermédiantes of in FD and C Red n° 40*. **Journal of the AOAC**, 72 (6), 1342-1347, 1982.
24. Macrae R. *Recent Applications of HPLC to Food Analysis*. **Journal of Food Technology**, 16, 1-11, 1981.
25. Goldber AL, Calvey RJ. *Automated HPLC Determination of Intermédiantes and Side Reaction Products in FD C Red n° 3*. **Journal of the AOAC**, 65(1), 103-107, 1982.
26. Love JL. *A Simple Method to Identify Added Synthetic Colour in Foods*. **New Zealand Journal of Science**, 27, 113-116, 1984.
27. Nevado JJB, Cabanilla SCG, Salcedo AMC. *Method developed and validation for the simultaneous determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis*. **Analytical Chimica Acta**, 378, 63-71, 1999.

 **SPECTRO**
Sul Americana

20
ANIVERSÁRIO



SPECTRO XEPOS

*Tamanho pequeno
Grande Performance
Fluorescência de Raios-X*

- Instrumento de bancada
- Análise rápida e simultânea
- Todos os elementos: Na a U
- Raio-X polarizado proporcionando limite de detecção 10 vezes inferior ao convencional
- Todas as matrizes

SPECTRO CIROS^{CCD}

*Explore a performance de um
ICP revolucionário!
Novo e como nenhum outro!
Análise de halogênios na faixa de ppb*

- Aquisição de toda a região espectral desde 120nm, em 2 segundos com identificação das linhas e arquivamento de todo o espectro para posterior utilização
- Análise simultânea em menos de 2 minutos
- Automação completa de todo o ciclo analítico atendendo pré-requisitos de Normas Internacionais para certificação da qualidade do resultado



 **SPECTRO**
Sul Americana

Av. Moema, 477/485 - Moema
04077-022 - São Paulo - SP
Fone (11) 5055-4466
Fax (11) 5051-6008

www.spectro.com

E-mail: spectro-vendas@sol.com.br