

CORANTES ARTIFICIAIS EM ALIMENTOS

Marcelo Alexandre PRADO*
Helena Teixeira GODOY*

■ **RESUMO:** O emprego de aditivos químicos é, sem dúvida, um dos mais polêmicos avanços alcançados pela indústria de alimentos. Os corantes artificiais pertencem a uma dessas classes de aditivos alimentares e têm sido objeto de muitas críticas, já que seu uso em muitos alimentos justifica-se apenas por questões de hábitos alimentares. Ainda existem diferentes opiniões quanto à inocuidade dos diversos corantes artificiais. Visando, principalmente, o controle no uso dos corantes sintéticos, mas tendo em vista que produtos coloridos artificialmente são exportados e importados, a análise desses aditivos requer métodos eficientes e rápidos para a detecção, identificação e quantificação. A cromatografia em papel e em camada delgada, apesar de serem técnicas relativamente rápidas, apresentam dados com baixa exatidão e precisão. Já na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) as maiores dificuldades encontram-se nas etapas de extração, mas principalmente no alto custo do equipamento. A eletroforese capilar apresenta os mesmos problemas da CLAE, aliados ao fato de se tratar de uma técnica relativamente recente para a análise desse tipo de substância e, portanto, existem poucos estudos a cerca da determinação e quantificação.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** Corantes artificiais; análise; legislação; CLAE; EC

Introdução

Há muitos séculos o homem vem colorindo os alimentos para torná-los mais atrativos e saborosos. No início, muitas dessas substâncias, como as especiarias e condimentos, já tinham a função de colorir os alimentos, mas com o passar do tempo foram gradativamente substituídas por outras substâncias, algumas sintéticas, com o objetivo específico de colorir.^{57, 105, 120}

O emprego de aditivos químicos, como os corantes, é um dos mais polêmicos avanços da indústria de alimentos, já que seu uso em muitos alimentos justifica-se apenas por questões de hábitos alimentares. Em geral, a importância da aparência do produto para sua aceitabilidade é a maior justificativa para o seu emprego.

Sob o ponto de vista toxicológico, vários estudos têm sido realizados para verificar os efeitos nocivos ao ho-

mem, já que esses aditivos não são totalmente inofensivos à saúde. Os corantes artificiais estão sempre na mira das investigações científicas devido às reações adversas que alguns consumidores podem apresentar.^{108, 109, 118}

Devido à diversidade de substâncias com poder corante, a lista dos corantes permitidos em cada país varia substancialmente. Em virtude do aumento no número de compostos com poder corante e de seu uso estendido aos alimentos e bebidas, tornou-se necessário o controle de suas aplicações e surgiu uma maior preocupação com possíveis efeitos à saúde humana.

Com o aumento do comércio de produtos alimentícios entre os países, o desenvolvimento de métodos de análises cada vez mais confiáveis, eficientes e rápidos, é uma necessidade maior a cada dia. Para os corantes artificiais não basta, simplesmente, provar que o produto é colorido artificialmente, cada corante, ou mistura desses, deve ser detectado e quantificado individualmente, o que tem sido dificultado, principalmente, pela falta de metodologias analíticas adequadas.

Alguns métodos, utilizando diferentes técnicas analíticas, têm sido empregados na determinação de corantes sintéticos. Métodos de identificação espectrofotométrica de corantes artificiais permitem a análise por comparação com espectros de padrões na região ultravioleta/visível (UV/VIS) e a quantificação baseada em cálculos computacionais por regressão linear.^{55, 91} Técnicas cromatográficas, como a cromatografia em papel,^{28, 95} camada delgada^{104, 107} e coluna aberta^{49, 129} foram bastante utilizadas, porém essas técnicas são muito demoradas e produzem dados com baixa exatidão e precisão. A CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência), uma técnica atrativa e um importante instrumento no controle desses aditivos^{50, 98, 99} é, atualmente, uma das principais técnicas para análise de corantes em alimentos. Mais recentemente, a eletroforese capilar (EC) vem sendo apontada como uma técnica bastante atrativa para a determinação simultânea de diferentes compostos, entre eles os corantes artificiais.^{44, 84, 100}

A qualidade dos dados analíticos é um fator importante para o conhecimento dos teores reais existentes nos alimentos, com vistas, principalmente, à garantia da segurança alimentar. Nos últimos anos, a AOAC (Association of Official Analytical Chemists) vem estimulando o controle de qualidade analítica através de planejamentos e análises estatísticas variadas.^{119, 124, 125} No Brasil, também, a validação dos métodos analíticos tem sido uma preocupação dos pes-

*Departamento de Ciência de Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP - 13083-862 - Campinas - SP - Brasil.

quisadores,^{2, 114} mas pouco se tem feito em relação à validação de novos métodos para os corantes artificiais.¹⁰¹

Corantes artificiais

Existe uma grande semelhança entre o que chamamos "ingrediente" e "aditivo". Ambos são substâncias químicas que fazem parte integrante dos produtos. De uma forma geral, se considera como ingredientes as substâncias básicas incluídas na fórmula em maior volume e aditivos as substâncias complementares, que em pequeno volume se destinam a preservar ou produzir determinadas características nos alimentos formulados. Assim, pode-se considerar os aditivos como toda a substância ou mistura, dotada ou não de valor nutritivo, adicionada ao alimento com a finalidade de impedir alterações, manter, conferir ou intensificar seu aroma, cor e sabor, modificar ou manter seu estado físico geral ou exercer qualquer ação exigida para uma boa tecnologia de fabricação do alimento.¹⁰⁸

Os corantes artificiais são uma classe de aditivos sem valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor, tornando-os mais atrativos. Por esse motivo, do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais em geral não são recomendados, justificando seu uso, quase que exclusivamente, do ponto de vista comercial e tecnológico.¹⁰⁸ Mesmo assim, os corantes são amplamente utilizados nos alimentos e bebidas devido à sua grande importância no aumento da aceitação dos produtos. Alimentos coloridos e vistosos aumentam nosso prazer em consumi-los.

Histórico

As civilizações antigas já tinham o hábito de retirar substâncias da natureza para colorir seus alimentos, e assim melhorar sua aparência. Egípcios adicionavam extratos naturais e vinhos para melhorar a aparência de seus produtos.³⁹ Muitas substâncias de origem animal, vegetal ou mineral utilizadas como especiarias e condimentos, já tinham o objetivo de colorir os alimentos, mas foram gradualmente substituídas por outras com o objetivo específico de conferir cor.^{39, 57, 104, 120}

Com a descoberta dos corantes sintéticos nos séculos XVIII e XIX, bem como da influência da cor na aparência e, conseqüentemente, de uma maior aceitação dos produtos pelos consumidores, o interesse das indústrias pelo uso dos corantes artificiais aumentou, inclusive na tentativa de mascarar alimentos de baixa qualidade. Desde então, os corantes sintéticos foram cada vez mais usados, especialmente por apresentarem maior uniformidade, estabilidade e poder tintorial em relação às substâncias naturais, incentivando novas descobertas.^{14, 104}

Vários alimentos sofreram abusos, sendo coloridos até com substâncias altamente tóxicas. Na Inglaterra, no início do século XIX foram relatados casos do uso de sulfato de cobre para colorir de verde as conservas de picles, de chumbo negro em folhas de chá para parecerem novas e, para realçar a coloração alaranjada de alguns queijos, do chumbo vermelho. Em 1860 foi relatada a morte de duas pessoas que consumiram esses produtos.^{39, 57}

O emprego de materiais sintéticos, principalmente para colorir, iniciou em 1856 com a síntese do primeiro corante derivado da hulha, desenvolvido por Sir William Henry Perkin.¹²² Desde então, nos Estados Unidos e Europa mais de uma centena de corantes foram desenvolvidos e lançados no mercado sem qualquer controle ou monitoramento. Muitos alimentos foram coloridos indiscriminadamente, como ketchup, mostardas, geléias, e ainda outros, que mesmo sendo proibido, tiveram adição de corantes, como por exemplo vinhos brancos de má qualidade que foram transformados em vinhos tintos, acrescentando-se a eles taninos e Bordeaux S. Já foram relatados acréscimos de corantes artificiais em cervejas, cidras e aperitivos.

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.^{12, 37} No Egito ocorreram casos de adulteração de olivas negras com o uso de corantes artificiais, o que é uma prática ilegal segundo sua legislação.¹³¹ Muitos desses aditivos nunca foram testados para verificar sua toxicidade ou outros efeitos adversos à saúde da população.^{39, 71}

A Figura 1 apresenta a distribuição do uso de corantes em alimentos e bebidas no mundo, mostrando claramente o grande emprego desses aditivos pelas indústrias de alimentos.

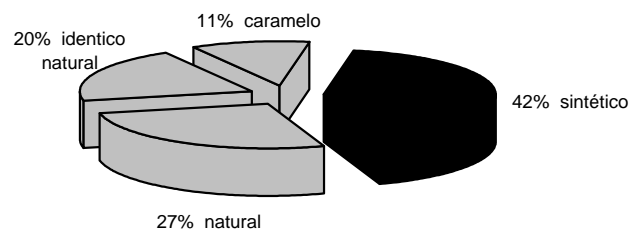


FIGURA 1 - Porcentagem de uso de corantes, no mundo, pelas indústrias de alimentos e bebidas (fonte: Downham & Collins).³⁹

Importância da cor

As cores estão intimamente ligadas a vários aspectos da nossa vida e são capazes de influenciar as nossas decisões do dia-a-dia, principalmente, as que envolvem os alimentos. A aparência, segurança, características sensoriais e aceitabilidade dos alimentos são todas afetadas pela cor.^{30, 39, 70, 104} Existe uma relação entre certas cores com os alimentos, e isto está relacionado com o nosso desenvolvimento cognitivo, que depende de nossa memória e de nossas experiências, por exemplo, cores azuis ou verdes sugerem queijos mofados e cores marrons (escuras) frutas podres ou estragadas. Esse mecanismo de advertência, em casos extremos, pode ocasionar aversões. Em alguns estudos, alimentos foram coloridos de forma anormal, como por exemplo, pêras vermelhas, bifês azuis e ovos verdes, causando aversões em quase todos os provadores.³⁰

A cor pode afetar outras características sensoriais e essa interrelação pode influenciar no aceite ou não do ali-

mento.³⁰ Isto pode estar associado ao fato do homem "enxergar" sabores através da cor. De uma forma geral, o verde está associado a frutas pouco maduras e, portanto, mais amargas. Já o sabor salgado, no entanto, não apresenta uma relação direta com as cores. Soluções salgadas coloridas não apresentaram diferentes valores de *threshold* com relação às soluções padrões incolores, embora se tenha observado que mudanças nas cores causam confusão com relação às estimativas deste sabor salgado.

A cor influencia no sabor, na aceitabilidade e, conseqüentemente, na preferência por certos alimentos e bebidas.^{30, 39} Embora esses efeitos sejam associações inerentes às características psicológicas, estes interferem na escolha e dificultam a quantificação do sabor. Isto é um problema para as indústrias, pois a relação causa-efeito não pode ser ignorada ou minimizada nas formulações de novos alimentos e bebidas que visam suprir nossas necessidades.³⁰

Riscos à saúde

Muitos estudos tentaram demonstrar as reações adversas que os corantes podem causar, assim o monitoramento dos teores destes em alimentos tem, continuamente, contribuído para alertar para um consumo consciente desses produtos alimentícios.³⁹

Existem diferentes opiniões quanto à inocuidade dos diversos corantes artificiais, conseqüentemente, diversos países ou regiões permitem o uso de diferentes corantes e em quantidades diferentes, devido ao maior ou menor consumo de alimentos presentes na dieta da população, aos quais os corantes são adicionados.

Os aditivos são inofensivos à saúde desde que obedecendo aos percentuais máximos estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e ou pelo *Codex Alimentarius*. Estes estabelecem para cada aditivo a quantidade diária aceitável de ingestão (IDA). Todos os corantes artificiais permitidos pela Legislação Brasileira já possuem valores definidos de IDA,⁴ embora esses valores estejam sujeitos a alterações contínuas dependendo dos resultados de estudos toxicológicos. O comitê de peritos da FAO (Food and Agriculture Organization) e da OMS (Organização Mundial da Saúde) para aditivos alimentares, o JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives), recomenda que os países verifiquem sistematicamente o consumo total de aditivos permitidos, através de estudos da dieta de sua população, para assegurar que a ingestão total não ultrapasse os valores determinados na IDA.^{77, 106}

Os estudos sobre os efeitos nocivos causados pelos corantes artificiais à saúde são insuficientes e bastante contraditórios. Os corantes podem causar desde simples urticárias, passando por asma e reações imunológicas, chegando até ao câncer em animais de laboratórios.^{5, 71, 96, 109} O amaranto, por medida de segurança, é proibido nos Estados Unidos devido aos estudos naquele país demonstrarem seu poder carcinogênico, porém seu uso é liberado no Canadá, onde testes não apresentaram problemas de carcinogenicidade.^{6, 39, 71}

KAPADIA et al.⁶³ estudaram a ação antitumoral *in vitro* de 29 corantes artificiais permitidos pelo FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos para alimentos, fármacos e cosméticos sobre o vírus Epstein-

Barr (EBV) que produz o indutor de tumores 12-otetradecanoilforbol-13-acetato (TBA). Em 10 amostras foi efetiva a ação antitumoral, sendo 6 substâncias do grupo azo, 2 derivadas da tartrazina e o índigo, com significativa inibição do indutor do EBV, durante ensaios *in vitro*. Efeitos da eritrosina também foram avaliados. Esses três corantes apresentaram atividade quimiopreventiva, apresentando uma redução de até 50% na formação de papiloma em ratos.

Outros estudos realizados por YAMAZAKI et al.^{127, 128} demonstraram que alguns corantes amarelos, entre eles a tartrazina e o amarelo crepúsculo, podem inibir a síntese de tromboxano, e que alguns corantes vermelhos, utilizados no Japão, também podem interferir na coagulação sanguínea, assim como os amarelos, apresentando com isso um risco potencial à saúde.

Pesquisas realizadas em 486 crianças hiperativas, entre 7 e 13 anos, demonstraram que 60% reportavam problemas de aumento da hiperatividade quando do consumo de alimentos e bebidas coloridos artificialmente. Em contraste, de 172 crianças controle apenas 12% apresentavam problemas associados a corantes artificiais. A hiperatividade das crianças pode ser associada à diminuição de Zn e Fe no plasma sanguíneo e conseqüente aumento destes na urina, quando em comparação com as crianças controle. Somente crianças hiperativas apresentaram redução nos níveis de Zn no soro sanguíneo e aumento de Zn na urina, após consumir os corantes tartrazina e amarelo crepúsculo. O amaranto não apresentou alterações significativas durante o tempo de observação do experimento, que era de 120 minutos após a ingestão dos alimentos. De 23 crianças que consumiram bebidas contendo tartrazina, 18 aumentaram os níveis de hiperatividade, 16 se tornaram agressivas e 4 se tornaram violentas, 2 diminuíram seus movimentos, 12 tiveram diminuição da coordenação motora e 8 desenvolveram asma ou eczema.¹²³

Em 1906, surgiram as primeiras suspeitas da ação cancerígena dos corantes. Ao injetar um corante azóico (vermelho escarlate) sob a pele da orelha de um coelho observou-se um crescimento celular atípico sob a pele. Em 1924, foi observado que a ingestão desse corante por camundongos podia provocar a formação de adenomas hepáticos.⁷¹ Desde então várias pesquisas sobre a ação tóxica e cancerígena de diversos corantes foram empreendidas.

Dada a estrutura química dos corantes azóicos suspeita-se que a parte ativa da molécula causadora de tumores seja, possivelmente, formada pela sua degradação. Desde o início do século XX tem sido demonstrado que moléculas originadas dos corantes azóicos apresentam ação cancerígena, principalmente pela formação do amino-azobenzeno (Figura 2).⁷¹

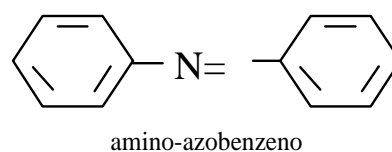


FIGURA 2 - Provável porção cancerígena dos corantes azóicos.

A partir de então, algumas pesquisas tentam definir com mais clareza qual é a estrutura química causadora de tumores e como é a ação carcinogênica propriamente dita, e qual é a sua via de ação. Sabe-se que a presença de grupamentos básicos funcionais, a função amina NH₂ por exemplo, é indispensável à atividade cancerígena dos corantes.^{71,40} Assim, tentou-se eliminar essas propriedades malélicas dos corantes azóicos, introduzindo em suas estruturas grupamentos carboxílicos (COOH) ou sulfonados (SO₃H) no lugar desses grupamentos funcionais amins. Além de uma diminuição da ação carcinogênica, isto os tornava hidrossolúveis, o que permitia serem rapidamente eliminados, enquanto que a matriz original era lipofílica, retendo-os no organismo durante muito tempo. Assim, pesquisadores conseguiram demonstrar que os corantes azóicos sulfonados se apresentavam inócuos, mesmo em altas doses por longos períodos.⁷¹

Há ainda a possibilidade de transformações metabólicas de corantes azóicos por redução do grupo N=N e formação de amino-compostos tóxicos, alguns cancerígenos. Este é o principal processo pelo qual o amaranto, segundo alguns autores, se torna cancerígeno.^{40,71} A Figura 3 apresenta os possíveis sais formados da degradação do amaranto.

Ao lado dos corantes azóicos, existem outros corantes que podem agir da mesma forma, entre eles estão muitos derivados do trifenilmetano. Alguns pesquisadores⁷¹ provocaram tumores em ratos e em camundongos através de injeções subcutâneas de corantes derivados do trifenilmetano, como o verde rápido e o azul brilhante. Ao contrário, o azul patente V, que é um sal de cálcio, não mostrou nenhum efeito carcinogênico nas experiências realizadas.⁷¹

Outro grupo, que parece ser suspeito de propriedades cancerígenas é o das ftaleínas, embora muitos estudos têm demonstrado o contrário. A eritrosina, um sal dissódico da tetraiodofluoresceína, jamais provocou tumores malignos,⁷¹ embora se tenha a suspeita, não comprovada, da liberação de iodo de sua estrutura, o que poderia levar a

disfunções da tireóide.⁴⁰

O fato desses corantes terem sido autorizados para uso alimentício na legislação de muitos países, simplesmente por serem sulfonados e hidrossolúveis, não lhes tira quaisquer propriedades cancerígenas. Somente experimentações em várias espécies de animais, podem oferecer a certeza da inocuidade desses compostos e assim garantir o consumo humano sem riscos à saúde.

Legislações

Nas primeiras décadas do século XX já existiam em todo o mundo mais de oitenta corantes sintéticos disponíveis para alimentos, entretanto não existiam quaisquer regulamentações de seus usos ou graus de pureza. Devido a essa diversidade de substâncias com poder corante, a lista dos permitidos em cada país variava substancialmente.^{33,104}

Com a utilização cada vez maior desses aditivos, os países começaram a estabelecer legislações para controlar seu uso. Assim, comitês internacionais, tais como a Comissão do *Codex Alimentarius*, organismo subsidiário da FAO e da OMS, têm sido criados com o intuito de, entre outros objetivos, estabelecer especificações e critérios para a utilização de aditivos alimentares, incluindo os corantes sintéticos.^{104,106,120}

Os Estados Unidos que chegou a ter no início do século XX mais de 700 substâncias com poder corante, hoje reduziu a quantidade de corantes sintéticos permitidos em alimentos para 9, sendo 2 de uso restrito.³⁹ No Japão, segundo a legislação, permite-se o uso de 11 corantes sintéticos.¹⁰⁵

Com a criação da União Européia, houve a necessidade de uma harmonização das legislações dos países membros. Assim, foram elaboradas as diretrizes que controlam o uso de aditivos em alimentos, sendo as que englobam os corantes são as diretrizes 94/36/EC e a 95/45/EC. Atualmente 17 corantes artificiais são permitidos na União Européia para uso em alimentos e bebidas. Cabe destacar que alguns países, como a Noruega e Suécia, proibem o uso de corantes artificiais nos alimentos.^{104,106}

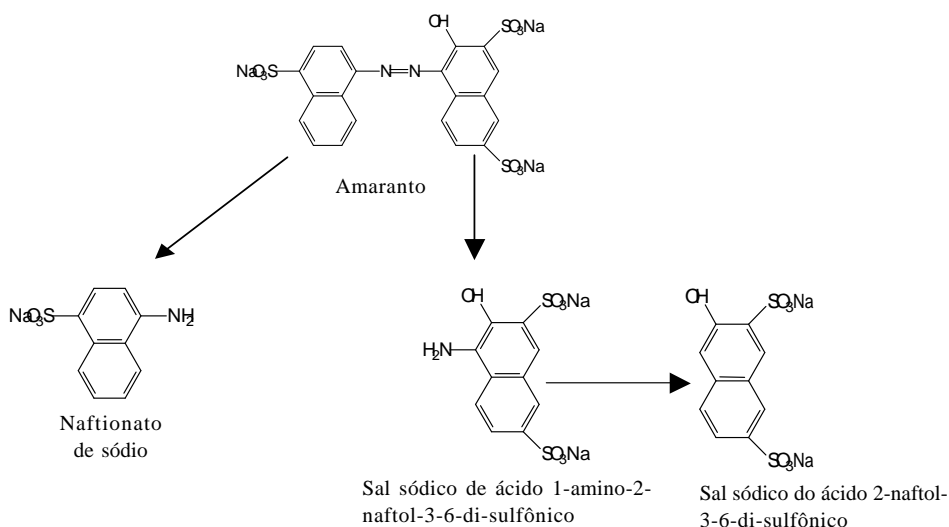


FIGURA 3 - Prováveis sais formados pela degradação do amaranto.⁷¹

Legislação Brasileira

No Brasil, o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, dispunha sobre as normas técnicas especiais reguladoras do emprego de aditivos químicos em alimentos, sendo alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. A legislação foi alterada novamente por conta do Decreto nº 55.871 de março de 1965. Em 1977, a resolução CNNPA nº 44 estabeleceu as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção de alimentos e bebidas. A Portaria nº 02 DINAL/MS, de 28 de janeiro de 1987, excluiu da Tabela I do Decreto 55871/65, os corantes Amarelo Ácido ou Amarelo Sólido (13015), Azul de Indantreno ou Azul de Alizarina (69800), Laranja GGN (15980), Vermelho Sólido E (16045), e Escarlate GN (14815) para uso em alimentos.^{4, 15, 16, 17}

Pela legislação atual, através das Resoluções nº 382 a 388, de 9 de agosto de 1999, da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), são permitidos no Brasil para alimentos e bebidas o uso de apenas onze corantes

artificiais sendo eles: Amaranço, Vermelho de Eritrosina, Vermelho 40, Ponceau 4R, Amarelo Crepúsculo, Amarelo Tartrazina, Azul de Indigotina, Azul Brillante, Azorrubina, Verde Rápido e Azul Patente V.^{1, 4} Isto ocorreu devido à necessidade de harmonização da legislação entre os países membros do Mercosul para o uso de corantes em alimentos. A Resolução GMC nº 50/98 trata dessa harmonização, bem como a Resolução GMC nº 52/98 que trata dos critérios para determinar funções de aditivos, aditivos e seus limites máximos para todas as categorias de alimentos.⁴

Os rótulos dos alimentos coloridos artificialmente devem conter os dizeres "COLORIDO ARTIFICIALMENTE" e ter relacionado nos ingredientes o nome completo do corante ou seu número de INS (International Numbering System).^{1, 4}

A Tabela 1 mostra algumas propriedades físicas e químicas dos corantes artificiais permitidos no Brasil, bem como algumas classificações de uso internacional. Eles são divididos em 4 grupos de corantes: azo; trifenilmetanos; indigóides e xantenos.

Tabela 1 - Propriedades dos corantes utilizados no Brasil

Nome Usual	Tartrazina	Amarelo Crepúsculo	Azorrubina	Amaranto	Ponceau 4R	Eritrosina	Vermelho 40	Azul Patente V	Azul Indigotina	Azul Brillante	Verde Rápido
Nome Químico	sal tri-sódico 5-hidroxi-1-(4-sulfonil)-4-(4-sulfonil) azo]-pirazole-3-carboxilato	sal di-sódico 6-hidroxi-5-[(4-sulfonil) azo]-naftaleno-2-sulfonato	sal di-sódico 4-hidroxi-3-[(4-sulfo-1-naftil) azo]-naftaleno-1-sulfonato	sal tri-sódico do ácido 3-hidroxi-4-(4-sulfo-1-naftil) azo)-naftaleno-2,7-di-sulfonato	sal tri-sódico 7-hidroxi-8-(4-sulfo-1-naftil) azo)-naftaleno-1,3-di-sulfonato	sal di-sódico 2,4,5,7-tetraiodo fluoresceína	sal di-sódico de 1-(2-metoxi-5-metil-4-sulfonilazo)-2-naftol-6-sulfonato	sal de cálcio di-4-[diethylamino ciclohexa-2,5-dienilideno-(4-dietilaminofenil) metil]-6-hidroxi-benzeno-1,3-di-sulfonato	sal di-sódico do ácido 5,5'-indigotino sulfonato	sal tri-sódico de 4',4"-di (N-etil-3-sulfonatobenzil amino)-trifenil metil-2-sulfonato	sal tri-sódico 4-[4-(N-etil-p-sulfobenzil amino) -fenil]-4-hidroxi-2-sulfonil-metileno)-1-(N-etil-N-p-sulfobenzil)-Δ2,5-ciclohexa dienimina.
Classe	monoazo	monoazo	monoazo	monoazo	monoazo	xanteno	monoazo	trifenilmetano	indigóide	trifenilmetano	trifenilmetano
Fórmula	C ₁₆ H ₁₂ N ₄ Na ₃ O ₆ S ₂	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ Na ₂ O ₅ S ₂	C ₂₀ H ₁₂ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂	C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₀ S ₃	C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₀ S ₃	C ₂₀ H ₁₁ Na ₂ O ₅	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₆ S ₂	C ₂₇ H ₃₁ N ₂ Na ₂ O ₆ S ₂	C ₁₆ H ₈ N ₂ Na ₂ O ₅ S ₂	C ₂₇ H ₃₁ N ₂ Na ₂ O ₅ S ₂	C ₂₇ H ₃₁ N ₂ Na ₂ O ₅ S ₂
Massa Molar	534,35781	452,36374	502,42354	604,46361	604,46361	879,86194	496,41674	566,66147	466,34734	792,84314	808,84254
CAS Number	1934-21-0	2783-94-0	3567-69-9	915-67-3	2611-82-7	16423-68-0	25956-17-6	3536-49-0	860-22-0	3844-45-9	2353-45-9
Color Index (C.I.)	19140	15985	14720	16185	16255	45430	16035	42051	73015	42090	42053
Código Brasil	E-102	E-110	E-122	E-123	E-124	E-127	E-129	E-131	E-132	E-133	E-143
Absorção Máxima	λ _{max} = 426nm	λ _{max} = 480nm	λ _{max} = 515nm	λ _{max} = 523nm	λ _{max} = 505nm	λ _{max} = 526nm	λ _{max} = 502nm	λ _{max} = 635nm	λ _{max} = 610	λ _{max} = 629nm	λ _{max} = 625nm
Absortividade (em água)	1% E _{1cm} = 527	1% E _{1cm} = 551	1% E _{1cm} = 545	1% E _{1cm} = 438	1% E _{1cm} = 431	1% E _{1cm} = 1154	1% E _{1cm} = 556	1% E _{1cm} = 2000	1% E _{1cm} = 498	1% E _{1cm} = 1637	1% E _{1cm} = 1560
Solubilidade (g/100mL) a 25°C	Água 20 Glicerina 18 Propileno 7 Etanol <0,1	Água 19 Glicerina 20 Propileno 2,2 Etanol <0,1	Água 5-10 g/100mL a 19°C Propileno 0,4 Etanol <0,1	Água 8 Glicerina 1,5 Propileno 0,4 Etanol <0,1	Água 25 Glicerina 1,4 Propileno 1,4 Etanol 0,02	Água 9 Glicerina 20 Propileno 20 Etanol 1	Água 22 Glicerina 3 Propileno 1,5 Etanol 0,001	Água < 10 Propileno 0,1 Etanol <0,1	Água 1,6 Glicerina 1 Propileno 0,1 Etanol <0,1	Água 20 Glicerina 20 Propileno 20 Etanol 0,15	Água < 10
IDA (mg/Kg peso corpóreo)	7,5	2,5	4,0	0,5	4,0	0,1	7,0	15,0	5,0	10,0	10,0
Sinónimos	Tartrazine, FD&C Yellow No. 5, Food Yellow No.4	Sunset yellow FCF; Food Yellow No.5, FD&C Yellow No.6	Carmoisine, Food Red 3, Acid ed 14	Amaranth; Food Red No.2; Bordeaux S	New cocine, Food Red 7, Food Red No.102	Erythrosine B, Food Red 14, Acid Red 18	Allura Red AC, Food Red 17	Acid blue 3; Patent Blue V, Food Blue 5	Indigo carmine, FD&C Blue No. 2, Food Blue No.2	FD&C Blue No.1, Food Blue 2, Brilliant blue FCF	Fast green FCF, Food Green 3, FD&C Green No 3

Corantes azo

Esta classe compreende vários compostos que apresentam um anel naftaleno ligado a um segundo anel benzeno por uma ligação azo (N=N). Esses anéis podem conter um, dois ou três grupos sulfônicos.⁴⁰ Esse grupo representa a classe de corantes sintéticos em alimentos mais importante e utilizada. Pertencem a essa classe os corantes:

Amaranto - Esse corante apresenta boa estabilidade à luz, calor e ácido, mas descolore em presença de agentes redutores como o ácido ascórbico e SO₂. Alguns estudos são contraditórios quanto à inocuidade carcinogênica deste corante, sendo, por medida de segurança, proibido nos Estados Unidos desde 1976. No Canadá é permitido, pois sua estrutura química (Figura 4) é bastante semelhante a outros corantes considerados não carcinogênicos. Na Inglaterra seu uso é permitido em caráter provisório até que se apresentem estudos mais conclusivos. No Japão foi voluntariamente banido pelas indústrias de alimentos e na União Européia seu uso é permitido.^{6, 39}

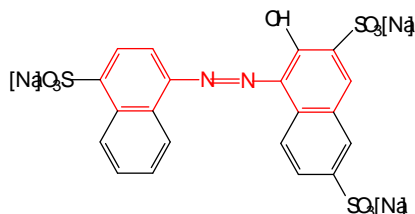


FIGURA 4: Estrutura química do corante amaranto.

Ponceau 4R - Apresenta boa estabilidade ao calor, à luz e ao ácido, descolore parcialmente na presença de alguns agentes redutores como o ácido ascórbico e SO₂. Não é permitido nos Estados Unidos, na Inglaterra seu uso é provisório e restrito, nos países da UE (União Européia) e no Japão seu uso é permitido, mas foi voluntariamente banido pelos industriais japoneses. Isso se deve aos poucos estudos relevantes realizados sobre sua toxicidade.^{6, 39} A estrutura química deste corante pode ser observada na Figura 5.

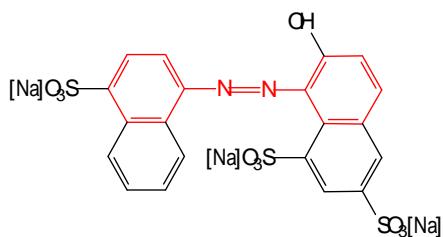


FIGURA 5: Estrutura química do corante ponceau 4R.

Vermelho 40 - Este apresenta boa estabilidade à luz, calor e ácido, além de ser o corante vermelho mais estável para bebidas na presença do ácido ascórbico, um agente redutor. Países da UE permitem seu uso. Estudos metabólicos mostraram que o vermelho 40 (Figura 6) é pouco absorvido pelo organismo e em estudos de mutagenicidade não apresentou potencial carcinogênico, desta forma tendo seu uso liberado para alimentos no Canadá e Estados Unidos.^{39, 57}

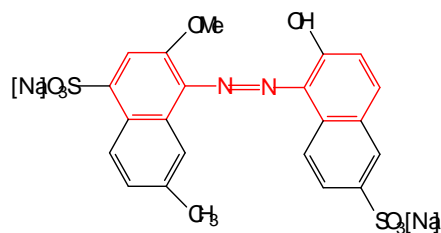


FIGURA 6: Estrutura química do corante vermelho 40.

Azorrubina - Possui boa estabilidade à luz, calor e ácido. Seu uso é liberado para alimentos nos países da UE, porém é proibido nos Estados Unidos. Mesmo com seu uso liberado necessita de estudos adicionais sobre o seu metabolismo.^{39, 79, 80, 122} A Figura 7 mostra a estrutura química deste corante.

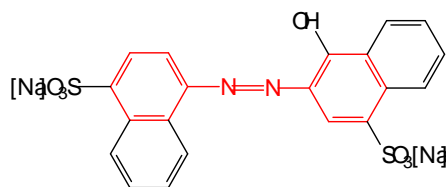


FIGURA 7: Estrutura química do corante azorrubina.

Tartrazina - Apresenta excelente estabilidade à luz, calor e ácido, descolore em presença de ácido ascórbico e SO₂. Dentre os corantes azo, a tartrazina tem despertado uma maior atenção dos toxicologistas e alergistas,^{35, 39} sendo apontada como a responsável por várias reações adversas, causando desde urticária até asma. Estima-se que uma em cada 10 mil pessoas apresenta reações a esse corante.⁶ Provavelmente, de 8 a 20% dos consumidores sensíveis à aspirina, são também sensíveis a tartrazina (Figura 8). Entretanto, é um dos corantes mais empregado em alimentos e é permitido em muitos países, como Canadá, Estados Unidos e União Européia.^{6, 39}

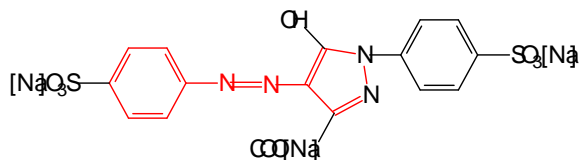


FIGURA 8: Estrutura química do corante tartrazina.

Amarelo crepúsculo - Possui boa estabilidade na presença de luz, calor e ácido, apresentando descoloração na presença de ácido ascórbico e SO₂. Os Estados Unidos, Japão e países da UE permitem seu emprego em alimentos, já o Canadá permite seu emprego em alguns produtos específicos e numa concentração máxima de 300 ppm (partes por milhão).^{6, 39} A Figura 9 mostra a estrutura química deste corante.

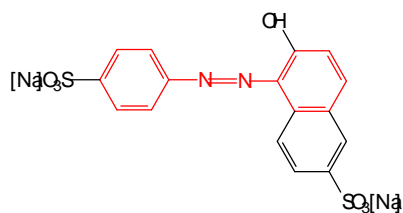


FIGURA 9. Estrutura química do corante amarelo crepúsculo.

Corantes trifenilmetanos

Esse grupo apresenta estrutura básica de três radicais arila, em geral grupos fenólicos, ligados a um átomo de carbono central e apresentam, ainda, grupos sulfônicos que lhes conferem alta solubilidade em água. O sistema cromóforo desta classe de corantes é apresentado em destaque nas figuras a seguir. Com a legislação das normas do MERCOSUL, passam a integrar esse grupo além do azul brilhante, o verde rápido e o azul patente V.

Azul patente V - Excelente estabilidade à luz, ácido e calor, mas apresenta descoloração na presença de ácido ascórbico e SO_2 . Seu uso não é permitido nos Estados Unidos, porém é liberado para uso em alimentos nos países da UE. É um dos corantes utilizados em alimentos (Figura 10) que também apresenta a necessidade de mais estudos sobre seu metabolismo.^{39, 79, 80, 122}

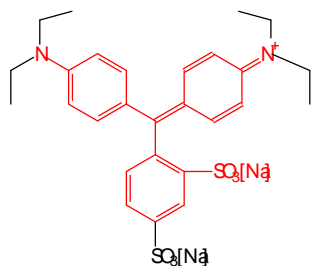


FIGURA 10. Estrutura química do corante azul patente V.

Verde rápido - Razoável estabilidade à luz, calor e ácido, mas possui baixa estabilidade oxidativa. Seu uso é permitido nos Estados Unidos desde 1927, mas proibido nos países da UE.^{39, 79, 80, 122} A Figura 11 mostra a estrutura química do corante.

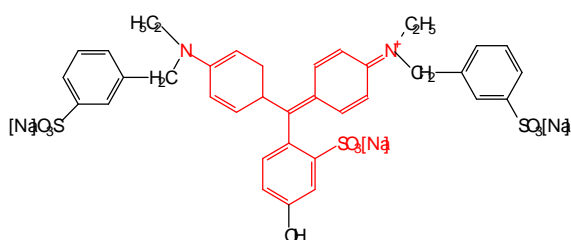


FIGURA 11. Estrutura química do corante verde rápido.

Azul brilhante - Apresenta as mesmas características de estabilidade do verde rápido. Seu uso é incondicional nos Estados Unidos, no Canadá seu limite máximo é de 100 ppm, na Inglaterra pode ser utilizado apenas em alguns alimentos e na União Européia seu uso é liberado.^{6, 30} A estrutura química é apresentada na Figura 12.

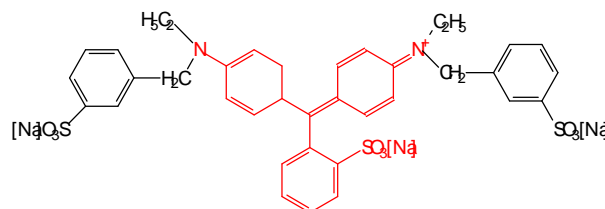


FIGURA 12. Estrutura química do corante azul brilhante.

Corantes indigóides

Azul de indigotina - Possui baixa estabilidade à luz, calor e ácido, baixa estabilidade oxidativa e descolora na presença de SO_2 e ácido ascórbico. A UE considera seu uso seguro, sendo também empregado no Japão, Estados Unidos e Inglaterra.^{6, 39, 121} O sistema cromóforo desta classe de corantes possui uma estrutura tetrapólo (Figura 13).

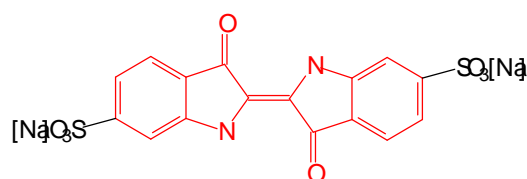


FIGURA 13. Estrutura química do corante indigotina.

Corantes xantenos

Eritrosina - Insolúvel em pH abaixo de 5. É o único representante dessa classe permitido no Brasil. É também permitido nos Estados Unidos, países da UE, Reino Unido e Canadá.^{6, 39} Existem estudos de uma possível associação com tumores na tireóide pela provável liberação de iodo no organismo, porém esses estudos não foram conclusivos.^{40, 42} O sistema cromóforo desta classe de corantes é apresentado em destaque a seguir na Figura 14.

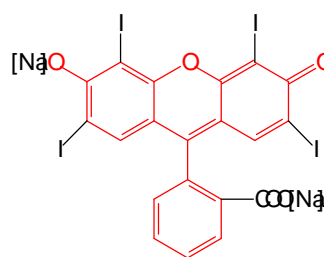


FIGURA 14. Estrutura química do corante eritrosina

Métodos de análise para corantes artificiais

Métodos clássicos

As análises se iniciam com a extração dos corantes das matrizes alimentícias, seguidas de etapas de limpeza para a retirada de prováveis interferentes (açúcares, ácidos, corantes naturais, etc.), e por fim a separação por técnicas analíticas, com posterior identificação e quantificação dos corantes artificiais.

Durante muitos anos, vários métodos, principalmente envolvendo cromatografia em papel^{26, 51, 72, 95, 129} e cromatografia em camada delgada,^{15, 27, 29, 48, 56, 74, 94, 97, 104} foram descritos para análises desses aditivos.

Os primeiros trabalhos de separação e identificação dos corantes artificiais foram baseados nos trabalhos de ARATA. Esta técnica, com algumas modificações, é até hoje empregada no mundo inteiro e se baseia na adsorção dos corantes artificiais pela lã natural. Depois de extraídos com solução amoniacal, os corantes são separados através da cromatografia em papel.^{14, 32, 73, 94} Corantes naturais não se ligam à lã ou não são desorvidos, tornando essa etapa de extração também uma etapa de limpeza.^{14, 32, 38, 73, 129} Alguns pesquisadores apontam desvantagens desse método, como por exemplo a lenta e incompleta adsorção que alguns corantes podem apresentar, mudanças irreversíveis na estrutura dos corantes pelo uso de altas temperaturas e exposição a valores extremos de pH, além de longos períodos necessários para se obter um extrato puro. Existem ainda algumas dificuldades relacionadas com a matriz alimentícia, como alimentos insolúveis em água, ricos em lipídeos, contendo amido ou alto teor protéico. A presença dessas substâncias dificulta a fixação do corante à lã, por exemplo, as proteínas em meio ácido formam coágulos que aprisionam os corantes artificiais, dificultando a extração destes.^{32, 73}

Há outros métodos que se baseiam na extração dos corantes por solventes orgânicos, como o álcool iso-amílico, o éter de petróleo, o álcool benzílico, a metil ciclohexanona e a quinoleína,^{28, 83} seguida de separação da mistura de corantes utilizando a cromatografia de camada delgada com fase estacionária de alumina. Entretanto, o uso desses solventes como extratores não apresentou resultados muito satisfatórios, embora a alumina permitisse uma boa separação das estruturas de interesse.^{13, 83}

Métodos empregando a CCDAE (cromatografia de camada delgada de alta eficiência), com análise densitométrica para a quantificação de corantes artificiais em bebidas alcoólicas e não alcoólicas, apresentaram bons resultados em termos quantitativos.^{3, 36, 41, 110}

A cromatografia em coluna aberta também foi utilizada para a análise de corantes artificiais em alimentos. Resinas trocadoras de ânions foram as mais empregadas nas determinações,^{14, 38, 49} entretanto, havia a necessidade de uma separação prévia dos interferentes antes da introdução da mistura de corantes na coluna. A utilização da lã pura, por si só já era uma purificação bastante satisfatória na maioria dos casos, mas poderia causar degradação dos corantes. A técnica de limpeza com o uso de coluna de poliamida parece ser superior e não apresenta o problema de degradação.^{45, 73} A purificação pode ser feita através de sucessivas lavagens da

coluna de poliamida com água e acetona para retirada de açúcares, ácidos, flavorizantes e possíveis corantes naturais básicos. A desorção dos corantes sintéticos da coluna é feita com uma solução metanólica de hidróxido de amônio.¹¹⁸ A poliamida adsorve, preferencialmente, os corantes sintéticos devido à presença de pontes de hidrogênio com ácidos e com hidroxilas fenólicas, sendo mínima a presença de contaminantes.⁷³ Os cartuchos de sep-pak C₁₈ também proporcionam uma rápida limpeza e concentração dos corantes,^{14, 70, 76, 130} mas devido ao seu alto custo são pouco utilizados.

O uso da cromatografia em coluna aberta com fase estacionária de celulose e poliamida, ajustada para diferentes pHs, permite a separação dos corantes por adsorção ou troca iônica, dependendo das condições escolhidas. É um método que possibilita a obtenção dos corantes de forma quimicamente pura, através do uso de diversos grupos de eluentes, podendo a seguir serem facilmente identificados e quantificados.^{15, 112, 129}

Métodos por espectrofotometria

Quando se realiza a separação dos corantes artificiais por outras técnicas analíticas, estes podem ser quantificados por espectrofotometria.^{13, 15, 104} Outra forma de identificação e quantificação de corantes artificiais dispensa a necessidade de separação dos mesmos. As determinações são baseadas em análises computacionais e cálculos por regressão linear,⁵⁵ porém esse método necessita que os corantes não apresentem uma alta sobreposição de seus espectros, e assim possam ser identificados e quantificados de maneira satisfatória.^{89, 90, 92, 116}

O grande problema enfrentado nesses métodos é quando se tem grupos de corantes que apresentam máximos de absorvância muito próximos, ou espectros com grande área de sobreposição. Nos últimos anos diversos trabalhos tentaram desenvolver, com algum sucesso, técnicas usando a espectrofotometria aliada a um recurso matemático de análise das derivadas dos espectros dos corantes. A visualização do espectro nada mais é que uma representação gráfica no espaço, então são realizadas derivadas desta curva, que é o produto da mistura de corantes, e assim é possível obter novas curvas onde o cálculo de concentração é realizado, não mais no máximo de absorvância dos compostos, mas sim numa região do novo espectro onde o composto calculado absorve e os outros não. Assim através de equações matemáticas é possível determinar as concentrações de cada corante presente na mistura.^{7, 8, 9, 10, 84, 85, 86, 87, 88, 91, 111} A Figura 15 ilustra de que forma isto pode ser realizado.

Na Figura 15 (a) pode-se observar a sobreposição dos espectros e, conseqüentemente, a dificuldade em se avaliar qualitativamente e quantitativamente os corantes presentes. Já na Figura 15 (b) o que se tem é o espectro da primeira derivada, que apresenta agora regiões do espectro onde praticamente não há interferência de absorção entre os corantes, assim são escolhidos novos comprimentos de onda e desta forma é possível determinar a concentração de cada corante sem a necessidade prévia de separação.

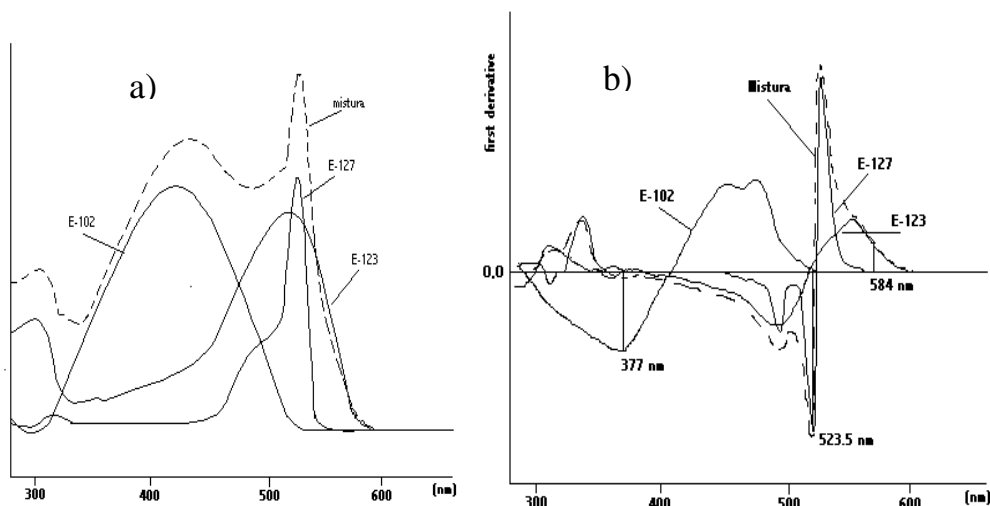


FIGURA 15. Espectros de absorção (a) e espectros da primeira derivada (b) de três corantes e sua mistura.

Métodos por CLAE

Quando não é possível ou quando não se obtém resultados satisfatórios em separações por cromatografia em papel e por camada delgada,^{78, 103, 113} ou para estudos mais detalhados dos corantes,^{5, 11, 21, 34, 47} o uso da CLAE (cromatografia a líquido de alta eficiência) tem apresentado resultados bastante satisfatórios, graças ao seu alto poder de separação e sua grande capacidade de detectar limites muito baixos (1 a 5 ppm), com valores de recuperação na ordem de 95%.^{47, 113} Com tempos de análise muito mais curtos, em comparação aos observados em outras técnicas tradicionais,^{79, 80, 113} a aplicação em separações e identificações dos corantes artificiais tem aumentado nos últimos anos.^{76, 78, 101, 102, 113, 130}

O uso de colunas de sílica nas primeiras determinações de corantes artificiais por CLAE apresentou alguns inconvenientes. Como os corantes são compostos muito polares, a adsorção era irreversível ou o tempo de análise muito longo, além de se obter picos irregulares e com extensa cauda. Separações mais rápidas e eficientes foram obtidas com colunas de troca-iônica.⁹⁵ As colunas de troca iônica para CLAE apresentaram bons resultados, principalmente com o uso de fases móveis com eluição por gradiente, melhorando assim os problemas ocorridos com o uso da sílica. A cromatografia de troca iônica é uma boa alternativa para análise de soluções com forte hidrofobicidade. Este método sendo aplicado a bebidas possibilitou a separação de oito corantes.²⁵

Outra alternativa para análise de corantes artificiais é a utilização de colunas de fase reversa C₁₈ com gradiente de eluição^{14, 69, 70, 76, 102, 130} e ou eluentes tamponados, que apresentam uma melhora significativa na seletividade, retenção e simetria dos picos.¹⁴ A fase móvel tamponada pode alterar de duas maneiras a afinidade do analito pela a fase estacionária, o tampão pode suprir a ionização ou pode reduzir a solubilidade do corante na fase móvel.^{23, 82}

A uso de par-iônico foi desenvolvido para separações de compostos fortemente polares e tem se mostrado uma técnica bastante adequada para o uso nas determina-

ções dos corantes artificiais.^{10, 14, 33, 46, 70, 93, 96, 103} No caso dos corantes, o par-iônico mais utilizado é o brometo de cetiltrimetilamônio (cetrimida),⁶⁴ podendo também ser utilizado o fosfato de tetra-n-butilamônio (TBAP).^{67, 68} O uso deste tipo de sistema tem apresentado bons níveis de detecção, sendo na ordem de 1 a 8 ng, com análises bastante rápidas, com tempos inferiores a 10 minutos.⁸⁷ No entanto, essa técnica apresenta inconvenientes de longos períodos de condicionamento das colunas.

Embora a CLAE seja uma das principais técnicas para análise de corantes em alimentos, poucos sistemas foram desenvolvidos para a separação simultânea de todos os corantes permitidos pela Legislação Brasileira. PRADO & GODOY^{99, 100} desenvolveram e validaram métodos para separação simultânea de corantes artificiais em alimentos e bebidas utilizando a CLAE.

Métodos por eletroforese capilar

A determinação analítica de cátions e ânions encontra extensa aplicação nos vários segmentos das indústrias químicas, farmacêuticas e de alimentos. Desde 1990, a eletroforese capilar (EC) vem sendo apontada como uma alternativa bastante satisfatória para a determinação desses compostos.^{43, 59, 60} A EC tem demonstrado maior versatilidade e simplicidade que as demais técnicas usualmente empregadas, além de menores custos e maior durabilidade da coluna e menores tempo de análise, volume de amostra e custo final de análise. A conclusão que prevalece nesses estudos é que a EC apresenta inúmeras vantagens, o que a tem destacado entre as técnicas analíticas de separação.^{31, 59}

As aplicações da EC em alimentos demonstraram claramente a versatilidade da técnica. Os tipos de alimentos e analitos analisados podem ser os mais diversos, desde águas, bebidas, cereais, carnes, leites, etc., nas determinações de íons, ácidos orgânicos, proteínas, vitaminas, pesticidas, herbicidas, açúcares, corantes e outros.^{22, 31, 43, 59}

A eletroforese capilar por zona (CZE) funciona como uma extensão da eletroforese típica aplicada à bioquímica. Muitos trabalhos confirmam que a CZE pode ser aplicada com

sucesso em análise de alimentos na determinação de várias substâncias, como, os corantes artificiais; as vitaminas hidrossolúveis, incluindo a C, B₁, B₂, B₃; conservadores como o ácido benzóico e sórbico; adoçantes artificiais, incluindo o ciclamato, sacarina aspartame e acesulfame K; ácidos orgânicos; e ânions como os cloretos, nitritos e nitratos.^{22, 43, 58}

A EC oferece vantagens sobre a CLAE e outras técnicas cromatográficas devido ao pouco uso de solventes químicos, baixo custo das colunas capilares em relação às colunas de CLAE, velocidade de análise e maior eficiência de separação. Entretanto, as limitações da EC incluem sua baixa sensibilidade e limpeza frequente das colunas. A faixa de aplicação da EC foi rapidamente expandida com o aproveitamento dos mesmos detectores utilizados em outros equipamentos, como a CLAE.^{19, 24, 117}

Há na literatura poucos trabalhos utilizando esta técnica para determinações de corantes artificiais, entre eles poucas publicações técnicas^{53, 54} que demonstram o potencial, a importância e a versatilidade da técnica. Em mais de 200 trabalhos revisados utilizando a EC, FRAZIER et.al.⁴³ encontraram apenas seis que envolviam corantes artificiais em alimentos.

Das diferentes técnicas existentes em EC, a Eletroforese Capilar por Zona e a Eletroforese Capilar por Micelas são as duas técnicas utilizadas para a separação de corantes artificiais em alimentos. As variações existentes nas técnicas apresentadas vão desde o simples uso do tampão (borato ou fosfato) até o uso destes com tensoativos. Em todos os trabalhos revisados, ambas técnicas apresentaram bons resultados, sendo eficientes na separação e quantificação desses aditivos em alimentos e bebidas.^{43, 44, 66, 75, 81, 96, 100, 115}

Embora não seja uma técnica recente, somente nas últimas décadas a EC vem se destacando como uma possível técnica a ser aplicada na rotina dos laboratórios. A CLAE tem sido usada como principal parâmetro de comparação das performances da EC, seja em termos de limites de detecção ou quantificação, seja em termos de teores dos analitos.^{9, 18, 19, 20, 52, 65, 61, 62, 126}

Ambos, o desenvolvimento da teoria e aplicação da eletroforese capilar, tem que ser ainda melhor estudados. Isto implica, por exemplo, que métodos precisam ser desenvolvidos, otimizados e validados para cada aplicação. Com as pesquisas mais recentes, algumas padronizações da técnica têm alcançado avanços significativos.

PRADO, M.A.; GODOY, H.T. Synthetic dyes in foods. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 14, n.2, p. 237-250, 2003.

■ **ABSTRACT:** The use of chemical additives is, without a doubt, one of the most controversial advances in the food industry. The synthetic dyes belong to one of these classes of alimentary additive and have been criticized since its use in many foods is justified only by alimentary customs. But there are still different opinions whether those different synthetic dyes used in the foods are safe. Aiming, mainly, the control of the use of synthetic dyes, but having in mind that those products with synthetic dyes are exported and imported, the analysis of these

additives requires efficient and fast methods for the detection, identification and quantification. The chromatography in paper and thin layer, although they are relatively fast techniques, the data present low accuracy and precision. In the high performance liquid chromatography (HPLC) the greatest difficulties are in the extraction process, mainly the high cost of the equipment. Capillary electrophoresis has the same problems of the HPLC, besides being a relatively recent technique for the analysis of these compounds and, therefore, there are few studies to support the effectiveness of this technique.

■ **KEYWORDS:** Synthetic dyes; analysis; legislation; HPLC; CE

Referências bibliográficas

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO **Compêndio da legislação de alimentos:** consolidação das normas e padrões de alimentos. 8 ed. São Paulo, 2001.v. 1A.
2. AGOSTINI, T.A **Desenvolvimento de metodologia para determinação simultânea, por clae, das vitaminas b1, b2, b6, ácido nicotínico e nicotinamida em alimentos enriquecidos.** 1997. 183p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.
3. ANDERTON, S. M.; INCARVITO, C. D.; SHERMA, J. Determination of natural and synthetic colors in alcoholic and non-alcoholic beverages by quantitative HPTLC. **J. Liq. Chromatogr. Related Technol.**, v. 20, n 1, p 101-110, 1997.
4. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, Referência bibliográfica de documentos eletrônicos Disponível em <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 2 de abril de 2004.
5. BEAUDOUIN, E. et al. Food anaphylaxis following ingestion of carmine. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, v. 74, p. 427-430, 1995.
6. BERDICK, M. Safety of food colors In: HANTHCOCK, J. N. (Ed.) **Nutritional toxicology.** New York: Academic Press, 1982, v. 1, p. 383-434.
7. BERZAS, J. J. et al. Spectrophotometric resolution of ternary mixtures of tartrazina, patent blue v, and indigo carmine in commercial products. **Anal. Chim. Acta**, v. 391, p. 353-364, 1999.
8. BERZAS-NEVADO, J. J. et al. Spectrophotometric simultaneous determination of amaranth, ponceau 4r, allura red and red2g by partial least squares and principal component regression multivariate calibration. **Anal. Letters**, v. 32, p. 1879-1898, 1999.
9. BERZAS-NEVADO, J. J.; GUIBERTEAU-CABANILLAS, C.; CONTENTO-SALCEDO, A. M. Method development and validation for the simultaneous determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. **Anal. Chim. Acta**, v. 378, p. 63-71, 1999.
10. BERZAS-NEVADO, J. J.; GUIBERTEAU-CABANILLAS, C.; CONTENTO-SALCEDO, A. M. Separation and determination of dyes by ion-pair chromatography. **J. Liq. Chromatogr. Related Technol.**, v. 20, p. 3073-3088, 1997.

11. BIBEAU, T. C.; CLYDESDALE, F.M. Thermal stability of subsidiary dyes associated with fd and c yellow n° 6. **J. Food Sci.**, v. 43, p. 521-534, 1978.
12. BISWAS, G.; SARKAR, S.; CHATTERJEE, T. K. Surveillance on artificial colours in food products marketed in Calcutta and adjoining areas. **J. Food Sci. Technol.**, India, v. 31, n 1, p. 66-67, 1994.
13. BIZZOZERO, N.; MICHELI, G. Research and identification of natural and synthetic colouring agents in sample of gnochi. **Ind. Alim.**, v. 35, p. 1300-1303, 1996.
14. BOLEY, N. P. et al.. Determination of synthetic colours in food using high performance liquid. **Chromatogr. Anal.**, v. 105, p. 589-593, 1980.
15. BRANCA, P.; SPAGNOLINI, G. P. Identificazione e dosaggio spettrofotometrico di alcuni coloranti di sintesi in prodotti alimentari. Estratto Dalla Rivista *Industrie Delle Bevande*. Dicembre, - Chiriotti Editori, 1980.
16. BRASIL, Leis e Decretos, Dec. Lei 55871. Regulamenta normas de aditivos intencionais. Diário Oficial da União. 29/04/1965.
17. BRASIL. Leis e Decretos, Resolução 04. Regulamenta normas de aditivos intencionais. Diário Oficial da União. 19/12/1988.
18. BRESSOLLE, F et al.. Cyclodextrins and enantiomeric separations of drugs by liquid chromatography and capillary electrophoresis: basic principles and new developments. **J. Chromatogr.**, v. 687, p. 303-336, 1996.
19. BUICK, D. R.; TRENERRY, V. C. Capillary electrophoresis: competitor or complementary to HPLC in food analysis. Los Banos, Laguna Philippines International Rice Research Inst. Library, 1995. 30 p.
20. BRUMLEY, W. C.; BROWNRINGG, C. M.; GRANGE, A. H. Capillary liquid-chromatography mass-spectrometry and micellar electrokinetic chromatography as complementary techniques in environmental-analysis. **J. Chromatogr.**, v. 680, p. 635-644, 1994.
21. CALVEY, R. J.; GOLDBERG, A. L.; MADIGAN, E. A. HPLC determination of intermediates / side reaction products in fd and c yellow n° 5. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 64, n 3, p. 665-669, 1981.
22. CANCALON, P. F. Capillary electrophoresis: a useful technique for food analysis. **Food Technol.**, v.49, n.6, p. 52-58, June 1995.
23. CIOLA, R. Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho HPLC. São Paulo: Edgard Blücher, 1998. 80p.
24. CHEMKEYS, O. Seu site de química - referência bibliográfica de documentos eletrônicos. Disponível em http://chemkeys.com/bra/md/mds_11/elec_4/elec_4.htm. Acesso em 2 abr. 2004.
25. CHEN, Q. C. et al. Determination of eight synthetic food colorants in drinks by high-performance ion chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 827, p. 73-81, 1998.
26. CHIANG, H. C. Polyamide - silica gel thin - layer chromatography of red food dyes. **J. Chromatogr.**, v. 40, p. 189-190, 1969.
27. CHIANG, H. C.; LIN, S. L. Polyamide kieselguhr thin - layer chromatography of yellow food dyes. **J. Chromatogr.**, v. 44 1, p. 203-204, 1969.
28. CHO, T. H.; CHO, J. H.; YANG, Y. K. Analysis of artificial colouring matter in sausage and ham by paper chromatography and spectrophotometry. **Res. Rep. Off. Rural Devel.**, v. 17, n.5, p.87-93, 1975.
29. CLERQ, H.; MASSART, D. L. The thin-layer chromatography separation of water soluble food dyes on silica gel layer. **J. Chromatogr.**, v. 93, n 1, p. 243-247, 1974.
30. CLYDESDALE, F.M. Color as a factor in food choice, **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 33, n 1, p. 83-101, 1993.
31. COLOMBARA, R. ; TAVARES, M. F. M.; MASSARO, S. Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações. **Quím. Nova**, v. 20, n.5, p. 512-518, 1997.
32. CORRADI, C.; MICHELI, G. Método rápido di ricerca ed identificazione dei coloranti acidi artificiali idrosolubili nei prodotti alimentari. **Bol. Chim. Lab. Provinciali**, v. 5, n.1, p. 188-200, 1979.
33. COULSON, J. Synthetic organic colours for food. In: **Developements in food colours - 1**. London: Walford, J. (Ed). Appl. Sc. Publ., 1980. p.47-94.
34. COX, E. A.; REED, G. F. HPLC determination of intermediates and two reaction by-products in fd and c red n° 40: colaborative study. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 64, n.2, p. 324-331, 1981.
35. CROCE, J. Muita cor e algum risco nas balas. **Consumidor S.A.** v. 2, p.5-8, 1965.
36. CSERHÁTI, T. et al. Use of multistep gradient elution tlcto model gradient separatin in HPLC. **J. Planar Chromatogr.** v .11, p. 34-37, 1998.
37. DIXIT, S.; PANDEY, R. C.; DAS, M.; KHANNA, S. K. Food quality surveillance on colours in eatables sold in rural markets of Uttar Pradesh. **J. Food Sci. Technol.**, India, v. 32, n 5, p. 373-376, 1995.
38. DOLINSKY, M.; STEIN, C. Application of a liquid anion exchange resin to the separation of fd and c colours from foods. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 45, n 3, p. 767-769, 1962.
39. DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our food in the last and next millennium. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 35, p. 5-22, 2000.
40. DRAKE, J. J. P. Food Colours - Harmless Aesthetics or Epicurean Luxuries ? **Toxicology**, v. 5, p. 3-42, 1975.
41. DUGAR, S. M.; LEIBOWITZ, J. N; DYER, R. H. Identification of synthetic colors in beverage alcohol products by solid phase extraction and thin layer chromatography. **J. Ass. Off. Anal. Chem. Int.**, v. 77, n.5, p. 1335-1337, 1994.
42. FDA. Food and drug administration referência bibliográfica de documentos eletrônicos. Disponível em <http://vm.cfsan.fda.gov/list.html>. Acesso em 2 ab. 2004.
43. FRAZIER, R. A.; AMES, J. M.; NURSTEN, H. E. The development and application of capillary electrophoresis method for food analysis. **Electrophoresis**, v. 20, p. 3156-3180, 1999.
44. FRAZIER, R. A. et al. Development of a capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of artificial sweeteners, preservatives and colours in soft drinks. **J. Chromatogr.**, v. 876, p. 213-220, 2000.
45. GILHOOLEY, R. A. et al.. Separation and identification of food colourants, iv. extraction of synthetic water - soluble food colours. **J. Chromatogr.**, v. 72, 325-331, 1972.

46. GENARO, M. C. et al.. Identification and determination of red dyes in confectionery by ion-interaction high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr A**, v. 767, p. 87-92, 1997.
47. GOLDBER, A. L.; CALVEY, R. J. Automated HPLC determination of intermediates and side reaction products in FD C red n^o 3. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 65, n 1, p. 103-107, 1982.
48. GRAHAN, R. J. T.; NYA, A. E. The partition chromatography of food dyes on polycarbonate - coated foils. **J. Chromatogr**, v. 43, p. 547-559, 1969.
49. GRAICHEN, C.; MOLITOR, J. C. Determination of certifiable FD&C colors additives in food and drugs. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 46, n 6, p. 1022-1029, 1963.
50. GRATZFELD-HÜSGEN, A.; SCHUSTER, R. Sensitive analysis synthetic colors using hplc and diode-array detection at 190-950 nm. application Note , *catalog Hewlett Packard*, publication number 12-5964-3559E, 1995.
51. GRIFFITHS, M. H. E. Systematic identification of food dyes using paper chromatography techniques. **J. Food Technol.**, v. 1, p. 63-72, 1966.
52. HADDAD, P. R. Comparison of ion chromatography and capillary electrophoresis for the determination of inorganic ions. **J. Chromatogr. A**, v. 770, p. 281-290, 1997.
53. HEWLETT PACKARD Applications of the HP^{3d} Capillary Electroforesis System Publication number 12-5963-7140E, 1, 107p, 1995.
54. HEWLETT PACKARD Applications of the HP^{3D} Capillary Electroforesis System - Publication number 12-5962-6957E, 1, 84p, 1996.
55. HOFER, K.; JENEWEIN, D.; QUICK, J. Spectrophotometric identification of synthetic food colorants by linear regression analysis. **Zeitschrift fuer Lebensmittel Untersuchung und Forschung A/Food Res. Technol.**, v. 204, n.1, p.32-38, 1997.
56. HOODLESS, R. A. et al. Separation and identification of food colours-identification of synthetic water-soluble food colours using thin-layer chromatography. **J. Chromatogr**, v. 54, p. 393-404, 1971.
57. IFT Food Colours. A Scientific status summary by the Institute of Food Technologist's expert panel of food safety and nutrition and the Comite of Public Information, 1986.
58. ISSAQ, H. J. Capillary electrophoresis of natural products-II. **Electrophoresis**, v. 20, 3190-3202, 1999.
59. JAGER, A. V.; TAVARES, M. F. M. - Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar: fundamentos e aplicações. **Quím. Nova**, v. 24, n 3, p. 363-373, 2001.
60. JANDIK, P.; BONN, G. Capillary electroforesis of small molecules and ions. New York: Wiley Publ., 1993. 248p.
61. JANDERA, P. et al. Separation of aromatic sulphonic acid dye intermediates by high-performance liquid chromatography and capillary zone electrophoresis. **J. Chromatogr A**, v. 738, p. 201-213, 1996.
62. JIMIDAR, M. et al. Comparison of capillary zone electrophoresis with high-performance liquid chromatography for the determination of additives in foodstuffs. **J. Chromatogr**, v. 636, p. 179-186, 1993.
63. KAPADIA, J. G. et al. Cancer chemopreventive activity of synthetic colorants used in foods, pharmaceuticals and cosmetic preparations. **Cancer-Lett.**; v. 129, n 1, p. 87-95, 1998.
64. KNOX, J. H.; LAIRD, G. R. Soap chromatography - A new HPLC technique for separation of ionizable materials. **J. Chromatogr**, v. 122, p. 17-34, 1976.
65. KUNKEL, A. et al. Quantitation of insulin by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography method comparison and validation. **J. Chromatogr A**, v. 781, p. 445-455, 1997.
66. KUO, K. L.; HUANG, H. Y.; HSIEH, Y. Z. High-performance capillary electrophoretic analysis of synthetic food colorants. **Chromatogr**, v. 47, p. 249-256, 1998.
67. LANCASTER, F. E.; LAWRENCE, J. F. Ion-Pair HPLC separation and detection of subsidiary dyes in synthetic food colors. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 65, n 6, p. 1305-1310, 1982.
68. LANCASTER, F. E.; LAWRENCE, J. F. Ion-Pair liquid chromatography determination of uncombined intermediates in three synthetic food colors. **J. Ass. Off. Anal. Chem.** v. 66, n 6, p. 1424-1428, 1983.
69. LANCASTER, F. E.; LAWRENCE, J. F. Determination of total non-sulphonated aromatic amines in tartrazine, sunset yellow FCF and allura red by reduction and derivatation followed by HPLC. **Food Addit. Contami.**, v. 8, n 3, p. 249-264, 1991.
70. LAWRENCE, J. F.; LANCASTER, F. E.; CONACHER, H. B.S. Separation and detection of synthetic food colours by ion-pair HPLC. **J. Chromatogr**, v. 210, p. 168-172, 1981.
71. LEDERER, J. Alimentação e câncer, São Paulo: Manole Dois, 1990. 279p.
72. LEES, R. **Colour** - Identification of Food Dyes. In: Laboratory Handbook of Methods of Food Analysis. 2nd ed. London: Leonard Hill, 1971.
73. LEHMANN, G. et al. Rapid method for detection and identification of synthetic water-soluble coloring matter in food and drugs. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 53, n 6, p. 1182-1189, 1970.
74. LEPRI, L.; DESIDERE, P. G.; COAS, V. Separation and identification of water-soluble food dyes by ion exchange and soap thin-layer chromatography. **J. Chromatogr**, v. 161, p. 279-286, 1978.
75. LIU, H. et al. Determination of synthetic colourant food additives by capillary zone electrophoresis. **J. Chromatogr A**, v. 718, p. 448-453, 1995.
76. LOVE, J. L. A simple method to identify added synthetic colour in foods. **New Zeland J.**, v. 27, 113-116, 1984.
77. MACKINSKI-Jr, M. Estimates of maximum limits of food colors use in brazil through the danish budget method and the baerand wuertzen-modified method. **Food Addit. Contami.**, v. 15, n 4, p. 481-486, 1998.
78. MACRAE, R. Recent applications of HPLC to food analysis. **J. Food Technol.**, v. 16, p. 1-11, 1981.
79. MARMION, D. M. HPLC Determination of 4,4-diazoamino of dibenzene sulfonic acid in FD and C yellow n^o 6. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 60, n 1, p. 168-172, 1977.
80. MARMION, D. M. **Handbook of U.S. colorants:** foods, drugs, cosmetics, and medical devices. 3rd ed. John Wiley & Song, USA, 1991. 575p.
81. MAZAR, M.; KANIANSKY, D.; MADAJOVA, V.

- Separation of synthetic food colourants by capillary zone electrophoresis in a hydrodynamically closed separation. **J. Chromatogr A**, v. 724, p. 327-336, 1996.
82. McKONE, H. T.; IVIE, K. An introduction to HPLC: separation of some FD&C dyes. **J. Chem. Educ.**, v. 57, n. 4, p. 321-322, 1980.
 83. MOTTIER, M.; POTERRAT, M. De l'extraction des colorants pour denrées alimentaires avec la quinoleína et de leur identification par chromatographie sur plaque d'alumine. **Anal. Chim. Acta**, v. 13, p. 46-56, 1955.
 84. NEVADO, J. J. B. et al. Simultaneous spectrophotometric determination of tartrazine, patent blue V and indigo carmine in commercial products by partial least squares and principal component regression methods **Talanta**, v. 48, p. 895-903, 1999.
 85. NEVADO, J. J. B.; FLORES, J. R.; LLERENA, M. J. V. Simultaneous spectrophotometric determination of tartrazine, sunset yellow and ponceau 4R in commercial products by partial least squares and principal component regression multivariate calibration methods. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 361, p. 465-472, 1998.
 86. NEVADO, J. J. B. et al. Resolution of ternary mixture of tartrazine, sunset yellow and ponceau 4R by derivative spectrophotometric ratio spectrum-zero crossing method in commercial foods. **Talanta**, v. 46, p. 933-942, 1998.
 87. NEVADO, J. J. B. et al. Rapid spectrophotometric method for determination erythrosine, amaranth and tartrazine in ternary mixture. **Anal. Lett.**, v. 30, n 14, p. 2565-2578, 1997.
 88. NEVADO, J. J. B. et al. Determination of carmine acid, riboflavin, curcumin and erithrosine by derivative spectrophotometric and ratio spectra derivative. **Talanta**, v. 41, p. 789-797, 1994.
 89. NI, Y.; GONG, X. Simultaneous spectrophotometric determination of mixtures of food colorants. **Anal. Chim. Acta**, v. 354, p. 163-171, 1997.
 90. OHLWEILER, O. A. **Fundamentos da análise instrumental**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1991. 486p.
 91. OZDEMIR, Y.; AKKAN, A. A. Determination of patent blue V and carmoisine in gelatine desserts by derivative spectrophotometric. **Turkish J. Chem.**, v. 23, p. 221-229, 1999.
 92. PALLOTTI, G. et al. Método spettrofotometrico por la determinazione simultanea di coloranti sinteci idrosolubili negli alimenti e nelle bevande. **Boll. Chim.dell Únione Italiana Dei Lab.Provinciali**, v. 7, p. 217-230, 1977.
 93. PASARELLI, R. J.; JACOBS, E. S. High pressure liquid chromatography analysis of dyes and intermediates. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 13, p. 153-157, 1975.
 94. PEARSON, D. The identification of EEC food colours. **J. Ass. Publ. Anal.**, v. 11, p. 127-134, 1973.
 95. PEARSON, D. General methods for additives and contaminants. In: **The chemical analyses of food**. 7th ed. London: Churchill Livingstone, 1976. p.53-62.
 96. PÉREZ-URQUIZA, M.; BELTRÁN, J. L. Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 898, p. 271-275, 2000.
 97. PERRY, A. R.; WOOLEY, D. G. The Identification of some water-soluble food colors by thin-layer chromatography. **J. Ass. Publ. Anal.**, v. 7, p. 94-98, 1969.
 98. PRADO, M. A. **Metodologia para determinação de corantes artificiais em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência**. 117f. (Dissertação Mestrado em Ciências de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.
 99. PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Determinação dos corantes artificiais em pó para gelatina por CLAE. **Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Rio de Janeiro/RJ,Brasil, v.1, p.384, 1998.
 100. PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Validation of the methodology to determine synthetic dyes in foods and beverages by HPLC. **J. Liq. Chromotogr. Related Technol.**, v. 25, n .16, p. 2455-2472, 2002.
 101. PRADO, M. A. et al. Controle analítico de corantes artificiais em bebidas alcoólicas por eletroforese capilar. **Analytica**, v. 1, n 1, p. 52-56, 2002.
 102. PUTTERMANS, M. L.; DRYON, L.; MASSART, D. L. Ion-pair HPLC of synthetic water-soluble acid dyes. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 64, p. 1-8, 1981.
 103. PUTTERMANS, M. L.; DRYON, L.; MASSART, D. L. Isolation, Identification and determination of food dyes following ion-pair extraction. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 65, p. 737-744, 1982.
 104. QUEIJA, C.; QUEIRÓS, M. A.; RODRIGUES, L. M. A cor dos Alimentos. **Química - Bol. Soc. Portuguesa Quím.** v. 80, p. 6-11, 2001.
 105. REYES, F. G. R.; VALIM, M. F. C. F. A.; VERCESI, A. E. Effect of organism synthetic food colours on mitochondrial respiration. **Food Addit. Contam.**, v. 13, n.1, p. 5-11, 1996.
 106. REYES, F. G. R.; PRADO, M. A. JECFA - Aditivos e Contaminantes Alimentares - **Notícias ILSI Brasil** v. 9, n.1, 9.5-6, set. 2001.
 107. RIBEIRO-CUNHA, M. R. et al. Alguns métodos qualitativos para diferenciar corantes vermelhos e amarelos estruturalmente semelhantes em alimentos. **Rev. Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 16, n 1, p. 6-11, 1996.
 108. RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**, São Paulo: Loyola, 1987. 445 p.
 109. RING, J.; BROCKOW, K.; BEHRENDT, H. Adverse Reactions to Foods. **J.Chromatogr. B**, v. 756, p.3-10, 2001.
 110. RIZOVA, V.; STAFILOV, T. XAD-2 HPTLC method of identification and determination of some synthetic food colorings. **Anal. Lett.**, v. 28, p. 1305-1316, 1995.
 111. SAYAR, S.; OZDEMIR, Y. First-Derivative spectrophotometric determination of ponceau 4R, sunset yellow and tartrazine in confectionery products. **Food Chem.**, v. 61, p. 367-372, 1998.
 112. SCLAR, R. N.; FREEMAN, K. A. Chromatographic procedures for the separation of water-soluble acid dyes mixtures. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 73, n. 6, p. 829-837, 1990.
 113. SINGH, M. Automation HPLC determination of uncobined intermediates of in FD and C red n° 40. **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 72, n 6, p. 1342-1347, 1982.
 114. SOARES, L. M. V. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 60, n 1, p. 79-84, 2001.
 115. SUZUKI, S. et al. Determination of synthetic food dyes

- by capillary electrophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 680, p. 541-547, 1994
116. TAKAHASHI, M. Y.; YABIKU, H. Y.; MARSIGLIA, D. A. P. Determinação quantitativa de corantes artificiais em alimentos. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** v. 48, n 1/2, p. 7-15 1988.
 117. TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: Conceitos Básicos. **Quím. Nova**, v. 19, n 2, p. 173-181, 1996.
 118. TOLEDO, M. C. .F.; GUERCHON, M. S. Corantes artificiais em alimentos. **Rev. Ciênc.Tecnol. Alim.**, v. 10, n 1, p. 120-136, 1990.
 119. ULBERTH, F. Optimizing methods by ruggedness testing. In: Analytical quality assurance and good laboratory practice in dairy laboratories. *International Seminar of Association Official Analytical Chemists*. Association Official Analytical Chemists International, CEC, IDF, VDM, Germany, Int. Dairy Federation, Belgium, v. 9302, p.202-203, 1992.
 120. VALIM, M. F. C. F. A. **Avaliação do efeito de corantes orgânicos sintéticos artificiais na função respiratória mitocondrial**. 83f. (Dissertação Mestrado em Ciências de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.
 121. VETORAZZI, G. Toxicological profiles of food colorants In: **Handbook of international food regulatory toxicology**. Lancaster: MTP Press, v. 2, p.13-86, 1981.
 122. WALFORD, J. **Developments in food colours: the developments series**. Lodon: Applied Science Publ., 1980. v. 1, 259p.
 123. WARD, N. I. Assessment of chemical factors in relation to child hyperactivity. **J. Nutr. Environ. Med.**; v. 7, n 4, p. 333-342, 1997.
 124. WILRICH, P. Role of statistic in analytical quality assurance. In: Analytical quality assurance and good laboratory practice in dairy laboratories. *International Seminar of Association Official Analytical Chemists*. Association Official Analytical Chemists International, CEC, IDF, VDM, Germany, 1992, Int. Dairy Federation, Belgium, v. 9302, 61-79, 1993a.
 125. WILRICH, P. Importance of the limit of detection and the limit of determination in chemical analysis and their statistical assessment. In: Analytical quality assurance and good laboratory practice in dairy laboratories. *International Seminar of Association Official Analytical Chemists*. Association Official Analytical Chemists International, CEC, IDF, VDM, Germany, 1992, Int. Dairy Federation, Belgium, v. 9302, 190-201, 1993.
 126. WYNIA, G. S. et al. Development and validation of a capillary electrophoresis method within a pharmaceutical quality control environment and comparison with high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. A**, v. 773, p. 339-350, 1997.
 127. YAMAZAKI, H. et al. Effect of food additives on rabbit platelet function. II. **Jpn. J. Toxicol. Environ. Health**; v. 40, n 1, p. 41, 1994
 128. YAMAZAKI, H. et al. Effect of food additives yellow colors on rabbit platelet function. **Jpn. J. Toxicol. Environ. Health**; v. 43, n 1, p. 6, 1997.
 129. YANUKA, Y. et al. The isolation and separation of dyes from foodstuffs by column chromatography. **Analyst**, v. 88, p. 872-876, 1963.
 130. YOUNG, M. L. Rapid determination of color additives, using the C18 cartridge, **J. Ass. Off. Anal. Chem.**, v. 67, n 5, p. 1022-1024, 1984.
 131. ZIENA, H. M. S.; YOUSSEF, M. M.; AMAN, M. E. Quality attributes of black olives as affected by different darkening methods. **Food Chem.**; v. 60, n 4, p. 501-508, 1997.