

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**ESTIMATIVA DE INGESTÃO DO CORANTE ARTIFICIAL AMARELO
CREPÚSCULO E QUANTIFICAÇÃO EM ALIMENTOS CONSUMIDOS PELA
POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Luana Carolina Alves Feitosa

Porto Alegre
2016

LUANA CAROLINA ALVES FEITOSA

**ESTIMATIVA DE INGESTÃO DO CORANTE ARTIFICIAL AMARELO
CREPÚSCULO E QUANTIFICAÇÃO EM ALIMENTOS CONSUMIDOS PELA
POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Florencia Cladera Olivera
Co-orientador: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

Porto Alegre

2016

CIP - Catalogação na Publicação

Alves Feitosa, Luana Carolina
ESTIMATIVA DE INGESTÃO DO CORANTE ARTIFICIAL
AMARELO CREPÚSCULO E QUANTIFICAÇÃO EM ALIMENTOS
CONSUMIDOS PELA POPULAÇÃO BRASILEIRA / Luana
Carolina Alves Feitosa. -- 2016.
89 f.

Orientador: Florencia Cladera Olivera.
Coorientador: Alessandro Oliveira Rios.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia
de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Corantes artificiais. 2. Amarelo Crepúsculo.
3. Estimativa de Ingestão. 4. Ingestão Diária
Aceitável. I. Cladera Olivera, Florencia, orient.
II. Oliveira Rios, Alessandro, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Autora: Luana Carolina Alves Feitosa (Tecnóloga em Alimentos /IFRS)

Título da Dissertação: Estimativa de ingestão do corante artificial Amarelo Crepúsculo e
quantificação em alimentos consumidos pela população brasileira.

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de
MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprovada em: ___/___/___

Homologada em:

Pela banca examinadora:

Por:

Profa Dra Florencia Cladera Olivera
Orientadora - PPGCTA/UFRGS

Profa Dra Rosane Rech
Coordenadora PPGCTA

Prof. Dr. Eliseu Rodrigues
Banca - ICTA/UFRGS

Prof. Dr. Vitor Manfroi
Diretor ICTA / UFRGS

Profa. Dra. Juliane Elisa Welke
Banca - ICTA/UFRGS

Profa. Dra. Viviani Ruffo de Oliveira
Banca – FAMED/UFRGS

Porto Alegre, Abril de 2016

AGRADECIMENTOS

Tenho a satisfação e o orgulho em dividir esta conquista com minha querida orientadora Florencia Cladera Olivera, que me permitiu a construção deste sonho. Meu agradecimento especial não somente pela sabedoria com que conduziu este trabalho, mas também pela orientação competente que aliada à sensibilidade e à dedicação foi inestimável para que eu chegasse a este momento.

Ao meu co-orientador Alessandro de Oliveira Rios por acreditar no meu potencial, pelas dicas, observações, palavras de incentivo e por estar sempre presente nos momentos em que precisei.

À minha família, por ser uma base forte. A minha mãe Juçara Marques de Oliveira, pelo amor, pela garra e por ser incansável na formação de seus filhos. Ao meu irmão Alessandro Alves Feitosa, por ser meu exemplo, meu amigo e por me auxiliar sempre que precisei. A minha irmã, Natalia Alves Feitosa, por ser minha parceira, minha amiga e por estar sempre presente em minha vida. Amo muito vocês.

Ao meu companheiro de vida Felipe Haack, por todo o amor, incentivo, carinho, paciência e compreensão dedicados durante este período e nos momentos mais difíceis. Obrigada por ser minha base e por querer sempre o melhor para nós.

Aos meus amigos e colegas de laboratório Adson Storck da Silva, Patricia da Silva Rorigues, Andressa Diprat, Marta Cunha, Giovana Domeneguini Mercali, Karine Caetano e tantos outros, pela ajuda nos laboratórios, pelas conversas, pelas risadas, pelas trocas de informações preciosas e por estarem sempre prontos a ajudar. Desejo há todos muito sucesso na caminhada acadêmica e em toda a vida.

Ao CNPQ e a FAPERGS pelo apoio financeiro ao trabalho.

À banca examinadora.

RESUMO

Para avaliar os possíveis efeitos que os corantes artificiais podem causar à saúde, é de grande importância possuir dados relativos à exposição a estas substâncias. O fato de diversos estudos apontarem problemas de saúde relacionados ao consumo do corante artificial Amarelo Crepúsculo (AC) justifica a necessidade de verificar se a ingestão desta substância, através do consumo de alimentos industrializados, ultrapassa a Ingestão Diária Aceitável (IDA). O objetivo deste trabalho foi estudar e caracterizar a ingestão de AC pela população brasileira. Para isso, primeiramente foram verificados quais os alimentos comercializados por uma das maiores redes de supermercados do país que continham AC na sua formulação. Foi avaliada a ingestão média destes alimentos utilizando as Pesquisas de Orçamento Familiar (POF, 2008-2009) e determinada a Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) de AC, através dos valores estipulados pela legislação brasileira para a concentração máxima permitida deste corante nos diferentes grupos de alimentos. Posteriormente foram realizadas análises, através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), para avaliar o teor de Amarelo Crepúsculo em refrescos em pó, refrigerantes, bebidas isotônicas, gelatinas e balas, e verificar as faixas de utilização deste corante e a adequação à legislação vigente. Através dos dados obtidos, verificou-se que a IDMT para AC, considerando o consumo médio *per capita* de alimentos, não supera a IDA para nenhuma das distribuições populacionais estudadas. No entanto, ao considerar a prevalência de consumo alimentar, a IDMT é superior à IDA para adolescentes de 10 a 18 anos (277% da IDA), adultos (181% da IDA) e idosos (140% da IDA) das áreas urbanas e rurais e nas cinco regiões do país. Em relação às amostras analisadas, pode-se constatar que, considerando-se as médias obtidas, os produtos que mais contêm AC são na ordem: Refrigerantes (7,91 mg/100 mL); Bebidas Isotônicas (6,22 mg/100 mL); Refrescos em pó (5,96 mg/100 mL); Gelatinas (5,92 mg/100 mL) e Balas (menor que 1,25 mg/100 g). Através da realização deste trabalho, conclui-se que considerando o consumo médio *per capita* a ingestão diária representa entre 14 e 31% da IDA, não representando risco à saúde. No entanto, verificou-se que alguns indivíduos de todos os grupos populacionais podem estar ingerindo o corante em quantidades superiores às recomendadas. Cabe destacar que a POF (2008-2009), utilizada como fonte de dados nesta

pesquisa, entrevistou crianças a partir dos 10 anos de idade. Visto que neste estudo o consumo de AC aumentou ao diminuir a faixa etária, é provável que esta tendência se aplique para crianças com menos de 10 anos. Diante do exposto, torna-se necessário um maior rigor no emprego e na fiscalização do uso de Amarelo Crepúsculo em produtos alimentares, visto que o consumo elevado deste corante pode ocasionar reações adversas aos seus consumidores.

Palavras-chave: Corantes artificiais, amarelo crepúsculo, quantificação de amarelo Crepúsculo, estimativa de ingestão, ingestão diária aceitável.

ABSTRACT

To evaluate the possible effects that artificial dyes can cause health is very important to have data on exposure to these substances. The fact that several studies suggest health problems related to the consumption of artificial dye Sunset Yellow (SY) justifies the need to verify that the ingestion of this substance through consumption of processed foods, exceeds the Acceptable Daily Intake (ADI). The aim of this study was to evaluate and characterize the SY intake by the Brazilian population. For this, they were first checked which foods marketed by one of the country's largest supermarket chains containing SY in its formulation. the average intake of these foods using the Household Budget Surveys were evaluated (HBS 2008-2009) and determined the Theory Maximum Daily Intake (TMDI) SY, through the values set by the Brazilian legislation for the maximum permitted concentration of the dye in the different groups of food. Later analyzes were performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to evaluate the Yellow Twilight content in powdered drinks, soft drinks, isotonic drinks, gelatins and candy, and check the use of bands of this dye and the adequacy of legislation current. Through the data, it was found that the TMDI for SY, considering the average per capita consumption of food does not exceed the ADI for any of the studied population distributions. However, when considering the prevalence of food consumption, the TMDI is higher than the ADI for adolescents 10-18 years (277% of ADI), adults (181% of ADI) and the elderly (140% ADI) in urban areas and rural and in five regions of the country. Regarding the samples, it can be seen that, considering the averages, the products that contain SY are in order: Soft drinks (7.91 mg/100 mL); Isotonic drinks (6.22 mg/100 mL); powdered drinks (5.96 mg/100 mL); Gelatins (5.92 mg/100 mL) and candy (below 1,25 mg/100 g). Through this work, it is concluded that considering the average consumption per capita daily intake is between 14 and 31% of ADI and do not represent a health risk. However, it was found that some individuals of all population groups may be ingesting the dye in amounts greater than those recommended. It should be noted that the HBS (2008-2009), used as a data source in this research, interviewed children from 10 years old. Since in this study the use of SY increased by reducing the age, it is likely that this trend will apply to children under 10 years. Given the above, it is necessary a greater rigor in applying and monitoring the use of

Sunset Yellow in food products, as the high consumption of this dye can cause adverse reactions to their consumers.

Keywords: Artificial dyes, sunset yellow, sunset yellow quantification, estimated intake, acceptable daily intake.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1. Estrutura do corante alimentar Amarelo Crepúsculo (INS 110).....	23
--	----

LISTA DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Tabela 1. Origem, aplicações e efeitos adversos dos corantes sintéticos artificiais.	21
Tabela 2. Alimentos cujo uso do AC é permitido pela legislação.....	26
Tabela 3. Ingestão Diária Aceitável (IDA).....	31

ARTIGO 1: Estimate of the theoretical maximum daily intake of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population.

Table 1. Products with Sunset Yellow FCF (SY) are classified according to the categories of the HBS 2008-2009.	48
Table 2. ADI of SY by age group and gender considering the average body weight from HBS..	49
Table 3. Estimate of TMDI per capita of SY (mg/day) in urban and rural areas.	50
Table 4. Estimate of TMDI per capita of SY (mg/day) by region of the country.	53
Table 5. Estimate of TMDI per capita of SY (mg/day) by age group.....	54

ARTIGO 2: Determination of Sunset Yellow (INS 110) in Samples of Foods Commercialized in Southern Brazil by High-Performance Liquid Chromatography

Table 1. Average concentration (mg/100 mL) of the artificial dye Sunset Yellow in reconstituted powdered drinks samples	65
Table 2. Average concentration (mg/100 mL) of the artificial dye Sunset Yellow in soft drink samples.	67
Table 3. Average concentration (mg/100 mL) of the artificial dye Sunset Yellow in isotonic drink samples.	68
Table 4. Average concentration (mg/100 g) of the artificial dye Sunset Yellow in gelatin samples..	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ADI: *Acceptable Dayli Intake*

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CNPQ: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FAPERGS: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

FDA: Food and Drug Administration

HA: História Alimentar

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography*

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDA: Ingestão Diária Aceitável

IDTM: Ingestão Diária Teórica Máxima

INS: International Numbering System

JECFA: *Joint Expert Committee on Food Additives*

OMS: Organização Mundial da Saúde

POF: Pesquisa de Orçamento Familiar

AC: Amarelo Crepúsculo

PPGCTA: Programa de Pós-Graduação e Ciência e Tecnologia de Alimentos

QFCA: Questionário de frequência de consumo alimentar

R24h: Recordatório de 24 horas

RA: Registro alimentar

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

TMDI: *Theoretical Maximum Daily Intake*

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

PPM: Partes por Milhão

SÚMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Objetivo geral	17
1.2 Objetivos específicos	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Corantes em alimentos.....	18
2.2 Corantes artificiais	19
2.3 Amarelo Crepúsculo (AC).....	22
2.4 Legislação	24
2.5 Aspectos toxicológicos	28
2.6 Ingestão Diária Aceitável (IDA).....	29
2.7 Métodos de avaliação da ingestão de alimentos	32
2.7.1 Inquérito Recordatório de 24 horas- (IR24h)	32
2.7.2 Registro Alimentar (RA)	33
2.7.3 História Alimentar (HA)	33
2.7.4 Questionário de Frequência Alimentar (QFA)	34
2.7.5 Pesquisa de Orçamento Familiar (POF)	35
2.8 Métodos de quantificação do Amarelo Crepúsculo	37
2.8.1 Espectrofotometria	38
2.8.2 Voltametria	38
2.8.3 Eletroforese capilar	39
2.8.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	39
3. RESULTADOS	41
3.1 ARTIGO 1: Estimate of the theoretical maximum daily intake of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population.....	42

3.2 ARTIGO 2: Determination of Sunset Yellow (INS 110) in Samples of Foods Commercialized in Southern Brazil by High-Performance Liquid Chromatography.....

58

4. DISCUSSÃO GERAL.....	74
5. CONCLUSÃO	7
6. PERSPECTIVAS	80
7. BIBLIOGRAFIA.....	81

1. INTRODUÇÃO

Há 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, sintéticas e artificiais com o objetivo específico de fornecer cor (PRADO e GODOY, 2003).

Existem corantes de origem natural, sintética e artificial. São considerados corantes naturais os que se obtém a partir da natureza, animal ou vegetal, e que podem ser isolados por processos de extração relativamente complicados. Em contrapartida, os corantes sintéticos são os obtidos por síntese química (LIDON e SILVESTRE, 2007). Os corantes artificiais são corantes sintéticos não encontrados na natureza.

Devido à diversidade de substâncias com poder corante, a lista dos corantes permitidos em cada país varia substancialmente. No Brasil são permitidos os seguintes corantes artificiais: Tartrazina (INS 102), Amarelo de Quinoléina (INS 104), Amarelo Crepúsculo (INS 110), e Azorrubina (INS 122), Amarantho (INS 123), Ponceau 4R (INS 124), Eritrosina (INS 127), Vermelho 40 (INS 129), Azul Patente V (INS 131), Azul Indigotina (INS 132), Azul Brillante (INS 133), Verde Rápido (INS 143), Negro Brillante (INS 151) e Marrom HT (INS 155). (BRASIL, 2011).

De acordo com Lidon e Silvestre (2007), o corante artificial Amarelo Crepúsculo, apresenta-se sob forma de grânulos ou pó de cor laranja a vermelha e pode ser utilizado em um grande número de gêneros alimentícios. A legislação brasileira permite o uso de Amarelo Crepúsculo em produtos como bebidas alcoólicas não fermentadas, bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas, sopas e caldos, cereais e produtos de/ou a base de cereais, produtos de frutas e de vegetais, geleia de mocotó, gelados comestíveis, leite e derivados, chocolates e similares, molhos e condimentos, petiscos (*Snacks*) e preparações culinárias industriais (BRASIL, 2011).

No entanto, estudos apontam que o uso do corante artificial Amarelo Crepúsculo pode apresentar alguns problemas para a saúde como reações alérgicas, especialmente em pessoas com

intolerância ao ácido acetilsalicílico, além de ser suspeito de hipercinesia e existir a possibilidade de conter resíduos de substâncias potencialmente carcinogênicas (LIDON e SILVESTRE, 2007).

A preocupação com a presença de substâncias químicas nos alimentos iniciou-se na década de 1940 nos Estados Unidos. Em 1954, Lehman e Fitzhugh, dois toxicologistas da FDA (*Food and Drug Administration*), definiram as bases para o que hoje é chamado de IDA (Ingestão Diária Aceitável). Esta é definida como a quantidade da substância que pode ser ingerida diariamente por toda a vida sem risco apreciável à saúde, sendo expressa em base de peso corpóreo. Este valor é estabelecido pelo Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da Organização Mundial da Saúde (JECFA).

A avaliação do risco causado pela exposição humana a substâncias químicas na dieta é reconhecida como um processo fundamental no desenvolvimento de padrões alimentares seguros (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

Para avaliar os possíveis efeitos que os aditivos alimentares podem causar à saúde é importante possuir dados relativos à exposição a estas substâncias. Para isso é necessário conhecer o consumo qualitativo e quantitativo de alimentos contendo o corante. O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) conduz periodicamente a coleta de dados de disponibilidade de alimento por meio da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF). Na edição mais recente dessa pesquisa (POF 2008-2009), foi incluído o consumo individual de alimentos para consumidores com idade superior ou igual há 10 anos, nos domicílios e fora deles. Outros dados coletados incluem idade, sexo e peso corpóreo de cada indivíduo do domicílio. Os dados da POF encontram-se disponíveis no site do IBGE, com informações para cada estado e região do país e foram utilizados neste trabalho para avaliar a ingestão de alimentos (IBGE, 2014).

A determinação de corantes sintéticos e artificiais em alimentos tem sido feita por vários métodos espectrofotométricos e cromatográficos. Para estudos mais detalhados dos corantes, o uso da CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) tem apresentado resultados bastante satisfatórios, em função do seu alto poder de separação e capacidade de detectar limites muito baixos (1 a 5 ppm), com valores de recuperação na ordem de 95 % (PRADO e GODOY, 2003).

Este trabalho teve como objetivo estimar a ingestão do corante artificial Amarelo Crepúsculo (AC) pela população brasileira. Para isto foi realizado o levantamento de dados dos principais alimentos comercializados no Brasil contendo o corante artificial e estimada a Ingestão

Diária Teórica Máxima (IDMT) utilizando os limites estipulados pela legislação e a POF, verificando a possibilidade de ultrapassar a IDA. Foi realizada também a quantificação do AC em diversos alimentos através de cromatografia líquida de alta eficiência, verificando a adequação à legislação vigente.

1.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi caracterizar e estimar quantitativamente a ingestão do corante artificial Amarelo Crepúsculo (INS 110) pela população brasileira.

1.2 Objetivos específicos

- Verificar e caracterizar os alimentos comercializados no país que contenham o corante artificial Amarelo Crepúsculo.
- Estimar através dos valores máximos permitidos pela legislação e dados de consumo da POF 2008-2009, a Ingestão Diária Máxima Teórica do corante Amarelo Crepúsculo, verificando se pode ultrapassar a Ingestão Diária Aceitável (IDA).
- Determinar a contribuição relativa dos diferentes alimentos na ingestão total estimada do corante Amarelo Crepúsculo pela população.
- Avaliar através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência a concentração de Amarelo Crepúsculo nos alimentos que mais contribuem para a ingestão deste corante, verificando também a sua adequação à legislação vigente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta revisão bibliográfica foram abordados os principais aspectos relacionados aos corantes artificiais, especialmente ao Amarelo Crepúsculo, e seu uso em alimentos, além dos principais aspectos toxicológicos deste corante e métodos utilizados para estimar a ingestão deste pela população brasileira.

2.1 Corantes em alimentos

A cor e a aparência são atributos fundamentais, considerados os mais importantes para a qualidade dos alimentos. Isso se deve à capacidade humana de perceber com facilidade, esses fatores, os quais são os primeiros a serem avaliados pelos consumidores no momento da aquisição dos alimentos (DAMODARAN et al., 2010).

Segundo Prado e Godoy (2003), as cores estão intimamente ligadas a vários aspectos da vida e são capazes de influenciar as decisões do dia-a-dia, principalmente, as que envolvem a escolha dos alimentos. A aparência, segurança, características sensoriais e aceitabilidade dos alimentos são todas afetadas pela cor.

Existe uma relação entre certas cores com os alimentos e isto está relacionado com o desenvolvimento cognitivo de cada um, sendo influenciado por suas memórias e experiências, desta forma o consumidor relaciona cores específicas com a qualidade. Por exemplo, determinadas cores de frutas são normalmente associadas à maturação, enquanto o vermelho brilhante da carne crua está associada ao frescor (ABRANTES, et al., 2007).

Conforme Damodaran et al. (2010), a cor também influencia na percepção do sabor. O consumidor espera que bebidas vermelhas tenham sabor de morango, as amarelas de limão e as verdes de lima. O impacto da cor sobre a percepção da doçura também já foi demonstrado e essa inter-relação pode influenciar no aceite ou não do alimento.

Ao considerar que o aspecto visual é um fator importante para a seleção e escolha do produto, os corantes destacam-se entre uma das classes de aditivos imprescindíveis para a indústria alimentícia na conquista de mercados (SCHUMANN et al., 2008).

De acordo com Lidon e Silvestre (2007), o processamento pode causar a degradação de pigmentos naturais existentes nos alimentos, o que torna importante a adição de corantes alimentares para restituir ou intensificar a cor. Outros produtos necessitam que sejam adicionados corantes para possuírem uma aparência agradável ou característica, tal como os gelados, os "snacks" e os refrigerantes.

A Resolução CNNPA nº 44/77, define corante como a substância ou a mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimento e/ ou bebida (BRASIL, 1977).

Há corantes de origem natural e há corantes de origem sintética. São considerados corantes naturais os que se obtém a partir da natureza, animal ou vegetal, e que podem ser isolados por processos de extração relativamente complexos. Em contrapartida, os corantes sintéticos são os obtidos por síntese química. Há também corantes que podem ser obtidos pelas duas vias, natural ou sintética e sendo a via sintética economicamente favorável torna-se a mais viável (LIDON e SILVESTRE, 2007).

Alguns corantes sintéticos artificiais podem apresentar problemas para a saúde, nomeadamente problemas alergênicos, especialmente em crianças, e em alguns casos características cancerígenas (LIDON e SILVESTRE, 2007).

Diante disto, o emprego de corantes em alimentos é motivo de polêmica, na medida em que a principal justificativa, em muitos dos casos, é tornar o produto mais atrativo esteticamente. Além disso, estudos têm demonstrado a ocorrência de reações adversas a curto e longo prazo, devido ao consumo de alimentos que apresentam esses aditivos (SCHUMANN et al., 2008).

2.2 Corantes artificiais

Segundo a Resolução CNNPA nº 44/77 corante artificial é o corante orgânico sintético não encontrado em produtos naturais (BRASIL, 1977).

Do ponto de vista da saúde, os corantes artificiais em geral não são recomendados, sendo seu uso justificado, quase que exclusivamente, do ponto de vista comercial e tecnológico. No mundo, são produzidas aproximadamente 700.000 toneladas/ano de 10.000 diferentes tipos de

corantes e pigmentos, o que representa processos industriais das mais diversas áreas (HABIBI et al., 2005).

Os corantes orgânicos sintéticos artificiais foram, progressivamente, substituindo os corantes naturais, devido à sua maior estabilidade, poder de coloração, maior faixa de coloração e menor preço, além de garantir a uniformidade dos alimentos produzidos em larga escala (SATO, 1992).

Com a utilização cada vez maior desses aditivos, os países começaram a estabelecer legislações para controlar seu uso. Assim comitês internacionais, como a Comissão do *Codex Alimentarius*, órgão da FAO (*Food and Agriculture Organization*) e da OMS (Organização Mundial da Saúde), foram criados com o intuito de, entre outros objetivos, estabelecer especificações e critérios para a utilização de aditivos alimentares, o que inclui os corantes sintéticos (TOLEDO e BENTO, 1994).

A tabela 1 apresenta os principais tipos de corantes sintéticos artificiais.

Tabela 1. Origem, aplicações e efeitos adversos dos corantes sintéticos artificiais.

CORANTES	ORIGEM	APLICAÇÃO	EFEITOS ADVERSOS
Amarelo Crepúsculo	Sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão e tintas azóicas.	Cereais, balas, caramelos, coberturas, xaropes, laticínios, gomas de mascar.	A tinta azóica, em algumas pessoas, causa alergia, produzindo urticária, angioedema e problemas gástricos.
Azul Brillhante	Sintetizado a partir da tinta do alcatrão de carvão.	Laticínios, balas, cereais, queijos, recheios, gelatinas, licores, refrescos.	Pode causar hiperatividade em crianças, eczema e asma. Deve ser evitado por pessoas sensíveis a purinas.
Amaranto ou Vermelho Bordeaux	Tinta do alcatrão de carvão.	Cereais, balas, laticínios, gelados, recheios, xaropes, preparados líquidos.	Deve ser evitado por pessoas sensíveis à aspirina. Esse corante já causou polêmica sobre sua toxicidade em animais de laboratório, sendo proibido em vários países.
Vermelho Eritrosina	Tinta do alcatrão de carvão.	Pós para gelatinas, laticínios, refrescos, geleias.	Pode ser fototóxico. Contém 557mg de iodo por grama de produto. Consumo excessivo pode causar aumento de hormônio tireoidiano no sangue em níveis para ocasionar hipertireoidismo.
Indigotina	Tinta do alcatrão de carvão.	Goma de mascar, iogurte, balas, caramelos, pós para refrescos artificiais.	Pode causar náuseas, vômitos, hipertensão e ocasionalmente alergia, com prurido e problemas respiratórios.
Vermelho Ponceau 4R	Tinta do alcatrão de carvão.	Frutas em calda, laticínios, xaropes de bebidas, balas, cereais, refrescos e refrigerantes, sobremesas.	Deve ser evitado por pessoas sensíveis a aspirina e asmáticos. Pode causar anemia e aumento da incidência de glomerulonefrite (doença renal).
Amarelo Tartrazina	Tinta do alcatrão de carvão.	Laticínios, licores, fermentados, produtos de cereais, frutas, iogurtes.	Reações alérgicas em pessoas sensíveis a aspirina e asmáticos. Recentemente tem-se sugerido que a tartrazina em preparados de frutas causa insônia em crianças. Há relatos de casos de afecção da flora gastrointestinal.

Vermelho 40	Sintetizado quimicamente.	Alimentos a base de cereais, balas, laticínios, recheios, sobremesas, xaropes para refrescos, refrigerantes, geléias.	Pode causar hiperatividade em crianças, eczema e dificuldades respiratórias.
--------------------	---------------------------	---	--

Fonte: TOLEDO e BENTO (1994).

Existem diferentes opiniões quanto à inocuidade dos diversos corantes artificiais, consequentemente, 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 (TOLEDO e BENTO, 1994).

Os corantes artificiais mais utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e de cosméticos são a Tartrazina e o Amarelo Crepúsculo. Em alimentos, estes corantes são muito utilizados em sucos em pó, refrigerantes, balas, entre outros. O processo de degradação destes corantes se altera conforme o estado físico em que estão inseridos, com a composição de cada produto alimentício e o tipo de embalagem (PRADO e GODOY, 2003).

2.3 Amarelo Crepúsculo (AC)

O corante alimentar Amarelo Crepúsculo FCF (INS 110) também denominado por Amarelo-alaranjado S, por Amarelo alimentar CI 3 e por Amarelo- sol, é um corante azóico que confere cor amarela alaranjada aos alimentos (LIDON e SILVESTRE, 2007).

A classe de corantes azoicos 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. Esse grupo representa a classe de corantes sintéticos em alimentos mais importantes e utilizados (PRADO e GODOY, 2003). No entanto, alguns corantes azoicos e seus subprodutos, como as aminas aromáticas, são altamente cancerígenos (CICEK et al, 2007). As aminas aromáticas são formadas como metabólitos da clivagem reductiva das ligações azo, e muitas vezes são mais tóxicas do que as moléculas intactas dos corantes (AZBAR et al, 2004).

De acordo com Prado e Godoy (2003), este corante possui boa estabilidade na presença de luz, calor e ácido, porém pode apresentar perda de cor na presença de ácido ascórbico e dióxido

de enxofre. É pouco solúvel em etanol e insolúvel em azeites, estável até 130°C e em meio alcalino apresenta coloração vermelha. Os Estados Unidos, Japão e países da União Europeia permitem seu emprego em alimentos, e o Canadá permite seu emprego em alguns produtos específicos e numa concentração máxima de 300 ppm (partes por milhão). A fórmula química do corante Amarelo Crepúsculo é $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$ e sua fórmula estrutural apresenta-se na figura 1.

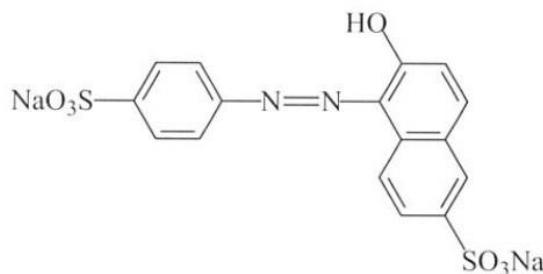


Figura 1. Estrutura do corante alimentar Amarelo Crepúsculo (INS 110).

Fonte: LIDON e SILVESTRE (2007).

De acordo com Lidon e silvestre (2007), à semelhança dos outros corantes azoicos, o AC se encontra habitualmente na forma de sal de sódio, mas, também são permitidos os sais de potássio e de cálcio. O corante AC apresenta-se sob forma de grânulos ou pós de cor laranja a vermelha e pode ser utilizado num grande número de gêneros alimentícios, com destaque para os refrigerantes, produtos de confeitaria, doces, compotas e geleias, sobremesas, queijos fundidos, sopas e bebidas alcoólicas (LIDON e SILVESTRE, 2007).

Estudos apontam que a utilização deste corante pode apresentar alguns problemas para a saúde, tais como: reação alérgica, especialmente em pessoas com intolerância ao ácido acetilsalicílico, é suspeito de hipercinesia e pode conter resíduos de substâncias potencialmente carcinogênicas (LIDON e SILVESTRE, 2007).

2.4 Legislação

No Brasil, as diretrizes para permissão de um aditivo para uso em alimentos seguem as recomendações do *Codex Alimentarius*, da União Europeia e da *Food and Drug Administration* (GOMES, 2007). As principais legislações brasileiras que regem o uso de aditivos alimentares em alimentos são:

- Resolução CNNPA/MS nº 44, de 25 de novembro de 1977 estabelece as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção de alimentos e bebidas.
- Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1988 que determina os aditivos e coadjuvantes de tecnologia que podem ser utilizados bem como as quantidades permitidas em cada tipo de alimento específico.
- Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997 da secretaria de vigilância sanitária do ministério da saúde que define, classifica e apresenta normas para o uso dos aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia.
- Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002 que regulamenta a rotulagem dos alimentos e determina a obrigatoriedade de informar os aditivos e suas funções na lista de ingredientes dos alimentos.
- Resolução RDC nº 27, de 6 de agosto de 2010 que dispensa os aditivos alimentares e os coadjuvantes de tecnologia da obrigatoriedade de registro na ANVISA.

Com o objetivo de padronizar a nomenclatura dos aditivos alimentares, foi criado pelo *Codex Alimentarius* o sistema de numeração internacional, conhecido como INS (*International Numbering System*). Esta numeração é uma alternativa à necessidade de escrever o nome completo do aditivo que, por vezes, é muito extenso. É importante lembrar que a inclusão de uma substância nesta lista não significa que o seu uso foi aprovado como aditivo pelo *Codex*. Esta lista pode incluir alguns aditivos que ainda não foram avaliados pelo JECFA (*Joint FAO/WHO Committee on Food Additives*) (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2014).

Os corantes permitidos para uso em alimentos e bebidas são classificados segundo a Legislação Brasileira da seguinte forma (BRASIL, 1978):

- **Corante orgânico natural:** É aquele obtido a partir de vegetais ou, eventualmente, de animais, cujo princípio do corante tenha sido isolado com emprego de processos tecnológicos adequados.
- **Corante orgânico artificial:** É aquele obtido por síntese orgânica mediante o emprego de processos tecnológicos adequados e não encontrado em produtos naturais.
- **Corante sintético idêntico ao natural:** É o corante cuja estrutura química é semelhante a do princípio isolado do corante orgânico natural.
- **Corante inorgânico:** É aquele obtido a partir de substâncias minerais e submetido a processos de elaboração e purificação adequados ao seu emprego em alimentos.
- **Caramelo:** o corante natural obtido pelo aquecimento de açúcares à temperatura superior ao ponto de fusão.
- **Caramelo (processo amônia):** é o corante orgânico sintético idêntico ao natural obtido pelo processo amônia, desde que o teor de 4-metil, imidazol não exceda no mesmo a 200mg/kg.

No Brasil são permitidos os seguintes corantes artificiais: Tartrazina (INS-102), Amarelo de quinoleína (INS-104), Amarelo Crepúsculo (INS-110), Azorrubina (INS-122), Amarantho ou Bordeaux S (INS-123), Ponceau 4R (INS-124), Eritrosina (INS-127), Vermelho 40 (INS-129), Azul Patente V (INS-131), Indigotina (INS-132), Azul Brillhante (INS-133), Verde Rápido (INS-143), Negro Brillhante (INS-151) e Marron HT (INS-155) (BRASIL, 2011).

Com relação à rotulagem dos aditivos, a resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002 determina que os aditivos alimentares devam ser declarados na lista de ingredientes dos alimentos (BRASIL, 2002). Nesta declaração deve constar a função principal do aditivo no alimento e seu nome completo ou seu número INS, ou ambos (LORENZONI, 2011). Os rótulos dos alimentos coloridos artificialmente devem conter o dizer "COLORIDO ARTIFICIALMENTE" e ter relacionado nos ingredientes o nome completo do corante ou seu número de INS (BRASIL, 1997). No caso do corante Tartrazina deve aparecer obrigatoriamente o nome por extenso (BRASIL, 2002).

Na tabela 2 são especificados os limites máximos para o Amarelo Crepúsculo estipulados pela legislação brasileira nos diferentes alimentos e a legislação correspondente.

Tabela 2. Alimentos cujo uso do AC é permitido pela legislação.

INS 110 AMARELO SUNSET, AMARELO CREPÚSCULO, LACA DE AL		
Função: Corante	Limite máximo	Legislação
Alimentos	(g/100g ou g/100mL)	
Cerejas em calda (somente para reconstituição de cor).	0,01	R 04/88
Iogurtes aromatizados.		
Leites gelificados aromatizados; Leites aromatizados.	0,005	
Leites fermentados aromatizados.		
Produtos de frutas, cereais, legumes e outros ingredientes para uso em iogurtes, petti-suisse e similares.	0,01	
Queijos (fuccina ou magenta somente na crosta dos tipos consagrados).		
Biscoitos ou similares com ou sem recheio, com ou sem cobertura.	0,005	R 383/99
Bolos, tortas, doces, massas de confeitaria, com fermento químico, com ou sem recheio, com ou sem cobertura, prontos para consumo ou semi-prontos.		
Mistura para o preparo de bolos, tortas, doces, massas de confeitaria, com fermento químico, com ou sem recheio, com ou sem cobertura.		
Balas e caramelos; Pastilhas; Confeitos; Balas de goma e balas de gelatina; Goma de mascar ou chicle; Torrões; marzipans; pasta de sementes comestíveis com, ou sem açúcar (exceto para pastas de sementes com ou sem açúcar).	0,01	R 387/99
Outros bombons sem chocolate.		
Coberturas e xaropes para produtos de panificação e biscoitos, produtos de confeitaria, sobremesas, gelados comestíveis, balas, confeitos, bombons, chocolates e similares e banhos de confeitaria prontos para o consumo (Somente para coberturas. Não autorizado para banhos de confeitaria que contem cacau, quando denominados banhos de confeitaria com cacau).	0,05	
Pós para o preparo de coberturas e Xaropes para produtos de panificação e biscoitos, produtos de confeitaria, sobremesas, gelados comestíveis, balas, confeitos, bombons, chocolates e		

similares e banhos de confeitaria.		
Recheios para produtos de panificação e biscoitos, produtos de confeitaria, sobremesas, gelados comestíveis, balas, confeitos, bombons, chocolates e similares e banhos de confeitaria pronto para o consumo	0,01	
Pós para preparo de recheios para produtos de panificação e biscoitos, produtos de confeitaria, sobremesas, gelados comestíveis, balas, confeitos, bombons, chocolates e similares e banhos de confeitaria.		
Sobremesa de gelatina pronta para o consumo; Pós para o preparo de sobremesas de gelatina; Outras sobremesas (com ou sem gelatina, com ou sem amidos, com ou sem gelificantes) prontas para o consumo. Pós para o preparo de outras sobremesas (com ou sem gelatina, com ou sem amidos, com ou sem gelificantes).	0,01	R 388/99
Sopas e caldos prontos para o consumo.	0,005	R 33/01
Sopas e caldos concentrados.		
Sopas e caldos desidratados.		
Preparações culinárias industriais prontas para o consumo, congeladas ou não, a base de ingredientes de origem vegetal e ou animal processadas ou não, não incluídas em outras categorias.	0,005	R 34/01
Suplementos vitamínicos e ou de minerais (líquidos).	0,01	R 24/05
Suplementos vitamínicos e ou de minerais (sólidos).	0,03	
Bebidas não alcoólicas a base de soja pronta para o consumo Preparados líquidos não alcoólicos para bebidas com soja.	0,01	R 25/05
Pós para o preparo de bebidas não alcoólicas a base de soja.		
Gelados comestíveis prontos para o consumo.	0,01	R 03/07
Misturas para o preparo de gelados comestíveis.		
Pós para o preparo de gelados comestíveis.		
Molhos emulsionados (incluindo molho a base de maionese), (exceto para produtos cuja denominação inclua a palavra tomate).	0,05	R 04/07
Molhos desidratados.		
Mostarda de mesa	0,03	
Bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas prontas para o consumo; Preparados líquidos para bebidas gaseificadas e não gaseificadas.	0,01	R 05/07

Pós para o preparo de bebidas gaseificadas e não gaseificadas.		
Cereais matinais, para lanches ou outros, alimentos à base de cereais, frios ou quentes.	0,025	R 60/07
Aperitivos a base de batatas, cereais, farinha ou amido (derivado de raízes e tubérculos, legumes e leguminosas).	0,02	R 64/08
Sementes oleaginosas e nozes processadas, com cobertura ou não.	0,01	
Licores, aperitivos, aguardente composta e bebidas alcoólicas mistas com graduação alcoólica maior que 15% v/v.	0,02	R 41/09
Licores, aperitivos, aguardente composta e bebidas alcoólicas mistas com graduação alcoólica até 15% v/v (exceto para bebidas alcoólicas mistas derivadas da uva e do vinho).		

Fonte: Adaptado de ANVISA, 1999.

2.5 Aspectos toxicológicos

Inúmeros estudos revelam reações adversas aos aditivos alimentares, quer seja aguda ou crônica, tais como reações tóxicas no metabolismo desencadeantes de alergias, alterações comportamentais e carcinogenicidade (observada em longo prazo) (POLÔNIO e PERES, 2009). No entanto, de todos os aditivos utilizados em alimentos, os corantes artificiais são os mais genotóxicos (SASAKI et al., 2002).

As primeiras suspeitas da possível ação cancerígena dos corantes surgiram em 1906 quando foi observado um crescimento celular atípico em coelhos que tiveram o corante vermelho escarlate injetado sob a pele da orelha e, em 1924 foi verificado que a ingestão deste corante por camundongos podia induzir a formação de adenomas hepáticos (PRADO e GODOY, 2003).

Em países industrializados a incidência de câncer intestinal pode torna-se comum, podendo existir a possibilidade de estar ligado diretamente ao consumo excessivo de alimentos com corantes azoicos. Os corantes azoicos, tal como o Amarelo Crepúsculo, são degradados por microrganismos intestinais e possivelmente a toxicidade, inclusive a carcinogenicidade pode ter origem dos produtos degradados destes corantes (PIASINI *et al.*, 2014).

O Amarelo Crepúsculo (AC) é amplamente utilizado em preparações alimentares, tais como produtos de confeitaria, sorvetes, doces, salgados, sobremesas congeladas, bebidas, cosméticos, medicamentos, suplementos dietéticos, entre outros (TRIPATHI et al., 2010, FSA,

2006). O nível máximo autorizado de AC em produtos alimentares é de 100-200 ppm, no entanto, vários estudos têm relatado que estes limites são excedidos frequentemente em diversos produtos alimentares (TRIPATHI et al., 2007, DIXIT et al., 2008 E HUSAIN et al., 2006). Além disso, tem sido observada a presença de AC em produtos alimentares como o molho de tomate, onde a sua utilização como um corante é proibida sob as diretrizes regulamentares (DIXIT et al., 2008).

Estudos sobre os possíveis danos causados pelos corantes artificiais à saúde ainda são insuficientes e bastante contraditórios (PRADO e GODOY, 2003). Não existe nenhum estudo de abrangência nacional ou internacional que tenha sido realizado para avaliar a verdadeira dimensão da alergia alimentar ao redor do mundo. Os dados de prevalência ou incidência de alergia alimentar, na maior parte das vezes, são obtidos com o estudo de pequenos grupos populacionais, com metodologia diagnóstica variável e, em geral, com resultados não extrapoláveis (RUBINI, 2007).

Desse modo, diversos países permitem o uso de diferentes corantes e em quantidades diferentes, principalmente ao levar em consideração o maior ou menor consumo de alimentos com corantes presentes na dieta da população (NINNI, 2015; PRADO E GODOY, 2003).

Para minimizar os riscos que o consumo de aditivos alimentares acarretam a saúde, devem ser obedecidos os limites máximos estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e/ou pelo *Codex Alimentarius* em produtos alimentares. 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 embora esses valores estejam sujeitos a alterações contínuas de acordo com resultados de estudos toxicológicos.

Assim, o monitoramento dos teores de corantes artificiais em alimentos tem, continuamente, contribuído para alertar para um consumo consciente desses produtos alimentícios (NINNI, 2015; PRADO E GODOY, 2003).

2.6 Ingestão Diária Aceitável (IDA)

Segundo a FAO/WHO a Ingestão Diária Aceitável ou IDA de uma substância, expressa em mg/kg de peso corpóreo por dia, é definida como a quantidade de substância que, ingerida

diariamente e durante a vida pelo homem, parece não oferecer riscos à saúde humana, à luz dos conhecimentos toxicológicos na época da avaliação (WHO, 1987).

A IDA pode ser (BRASIL, 2013a):

- **IDA não especificada ou não limitada:** Atribuída a um aditivo quando o estabelecimento de um valor numérico para a IDA é considerado desnecessário face às informações disponíveis sobre o mesmo e ao seu emprego de acordo com as Boas Práticas de Fabricação, ou seja, a substância não representa risco à saúde nas quantidades necessárias para obter o efeito tecnológico desejado.
- **IDA não alocada:** Atribuída a um aditivo quando os dados toxicológicos disponíveis não são suficientes para se estabelecer a segurança de uso do mesmo. Portanto, nesse caso, o aditivo não poderá ser utilizado.
- **IDA temporária:** Atribuída a um aditivo quando os dados são suficientes apenas para concluir que o uso da substância é seguro por um período limitado de tempo, até que os estudos toxicológicos sejam concluídos e avaliados. Caso as informações adicionais solicitadas não sejam apresentadas no prazo estipulado a IDA temporária é retirada.
- **IDA aceitável:** Atribuída a um aditivo quando seu uso é aceitável para certos propósitos, seu emprego não representa preocupação toxicológica ou quando a ingestão é autolimitante por razões tecnológicas ou organolépticas. Nesses casos, o aditivo em questão deve ser somente autorizado de acordo com as condições especificadas.

De acordo com Prado e Godoy (2003), os aditivos são inofensivos à saúde desde que obedçam aos percentuais máximos estabelecidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e pelo *Codex Alimentarius*. Estes estabelecem para cada aditivo a quantidade diária aceitável de ingestão (IDA).

A avaliação segura dos aditivos no âmbito mundial é baseada no controle da IDA desenvolvida pelo JECFA. No Brasil, a ANVISA com a finalidade de minimizar os riscos à saúde humana, publicou em 1999 resoluções que estabeleciam os limites máximos permitidos dos aditivos para as diferentes categorias de alimentos. Contudo, a utilização de aditivos em alimentos suscita uma série de dúvidas como: se as quantidades utilizadas pelas indústrias são adequadas para que o consumo de determinado alimento não permita que seja ultrapassada a

IDA, na medida em que não existe obrigatoriedade legal em declarar as quantidades presentes no alimento, mas somente a relação dos aditivos utilizados (POLÔNIO E PERES, 2009).

O comitê de peritos da FAO e da OMS para aditivos alimentares, o JECFA, 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 (PRADO e GODOY, 2003).

No Brasil, todos os corantes artificiais permitidos pela Legislação Brasileira possuem valores definidos de IDA, embora esses valores estejam sujeitos a alterações contínuas de acordo com os resultados de estudos toxicológicos (PRADO e GODOY, 2003).

Na Tabela 3 estão descritos os nomes comerciais dos corantes artificiais permitidos pela legislação brasileira, os códigos relacionados ao Sistema Internacional de Numeração (Do inglês INS) e a IDA conforme descrito no compêndio da ANVISA (BRASIL, 2011).

Tabela 3. Ingestão Diária Aceitável (IDA).

NOME	CÓDIGO	IDA (mg/Kg de peso corpóreo)
Amaranto	INS 123	0,50
Amarelo Crepúsculo	INS 110	2,50
Azorrubina	INS 122	4,00
Azul Brillhante	INS 133	10,00
Azul patente V	INS 131	15,00
Eritrosina	INS 127	0,10
Indigotina	INS 132	5,00
Ponceau 4R	INS 124	4,00
Verde Rápido	INS 143	10,00
Vermelho 40	INS 129	7,00
Tartrazina	INS 102	7,50

Fonte: Adaptado de BRASIL (1999).

2.7 Métodos de avaliação da ingestão de alimentos

Os estudos de consumo de alimentos são importantes para estimar o uso seguro dos aditivos alimentares numa determinada população. Ainda são poucos os estudos de consumo de aditivos alimentares, como os corantes artificiais, fato de grande importância para avaliação da ingestão e dos possíveis efeitos à saúde que essas substâncias possam causar.

A seguir são descritos alguns dos métodos mais comuns utilizados para avaliar a ingestão de alimentos, sendo estes o Inquérito Recordatório de 24 horas, Registro Alimentar, História Alimentar, Questionário de Frequência Alimentar e Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF).

2.7.1 Inquérito Recordatório de 24 horas- (IR24h)

O IR24h consiste em quantificar todo o consumo de alimentos do dia anterior, desde o desjejum até a ceia, ou 24 horas procedentes à entrevista (FERRO-LUZZI, 2002). Baseia-se na memória recente dos indivíduos e constitui-se de respostas abertas, o que permite obter um quadro mais detalhado do consumo, uma vez que captura a variedade dos alimentos ingeridos. Ele pode ser aplicado para medir a ingestão alimentar de forma individual ou coletiva (MACHADO, 2010).

O método é apropriado para a avaliação da ingestão média de energia e nutrientes de um grande número de indivíduos, desde que a amostra seja representativa da população e que os sete dias da semana estejam representados adequadamente (THOMPSON e BYERS, 1994).

Entre algumas vantagens na utilização do IR24h estão: baixo custo, rápida aplicação, alta aceitação, lembrança recente do consumo, o fato que o procedimento não provoca alterações nos hábitos alimentares e não exige habilidades especiais do entrevistado (THOMPSON e BYERS, 1994; ANJOS, SOUZA e ROSSATO, 2009). As desvantagens se relacionam com a memória, a cooperação do entrevistado, a capacidade do entrevistador em estabelecer um diálogo com o entrevistado e a dificuldade em estimar as quantidades consumidas (VILLAR, 2001). Além disto, idade, sexo e nível de escolaridade influenciam na habilidade do entrevistado em informar corretamente o consumo (MACHADO, 2010).

2.7.2 Registro Alimentar (RA)

O RA é um método prospectivo no qual, o próprio indivíduo ou responsável registra, detalhadamente, as estimativas das porções dos alimentos ingeridos, seus tipos, receitas e preparações, por um dia, uma semana ou um período mais longo, o que irá caracterizar a ingestão atual (VASCONCELOS, 2007). Ele permite estimar com mais exatidão a ingestão alimentar (MACHADO, 2010). Entretanto, as medidas devem ser anotadas logo após a ingestão dos alimentos, a fim de evitar que ocorra erro de memória do indivíduo.

Este inquérito não deve ser repetido por mais do que quatro dias consecutivos, pois pode cansar o entrevistado e o mesmo não relatar as medidas com fidedignidade. O treinamento prévio é importante para que haja maior eficácia (THOMPSON; BYERS, 1994).

A utilização desse método de investigação tem como vantagens o fato de que o registro é feito na hora em que o alimento está sendo ingerido, sem depender da memória do indivíduo; fornece informações mais detalhadas sobre alimentos e padrões alimentares e, se vários dias de registros são realizados, estes podem ser distribuídos ao longo de um dado período, o que proporciona uma melhor estimativa da ingestão alimentar habitual (THOMPSON e BYERS, 1994; HOLANDA e FILHO, 2006).

Entre as desvantagens do método encontram-se a necessidade dos indivíduos serem alfabetizados; pode ocorrer alteração dos hábitos alimentares, bem como a omissão de certos tipos de alimentos durante o período de realização do inquérito. Quando o registro propõe a pesagem dos alimentos, a necessidade de cooperação torna-se maior, porém, proporciona resultados mais fidedignos (HOLANDA e FILHO, 2006). Assim, a utilização do RA é restrita a pequenas amostras, com motivação e capacidade de seguir procedimentos de pesagem e registros adequados (THOMPSON e BYERS, 1994).

2.7.3 História Alimentar (HA)

Este método foi desenvolvido por Burke, em 1947, para obter informações que refletissem a “média da ingestão alimentar individual por um período considerado extenso e/ou o estado

nutricional de indivíduos por um período” (HOLANDA e FILHO, 2006). O método inclui três elementos: 1) uma entrevista detalhada sobre o padrão de alimentação, 2) uma lista de alimentos cuja frequência e periodicidade do consumo alimentar são anotados e 3) um RA de três dias (THOMPSON e BYERS, 1994).

A história alimentar, portanto, é um método que visa à obtenção de informações retrospectivas sobre consumo e hábitos alimentares do indivíduo durante seu ciclo de vida, em extensa entrevista realizada por profissional treinado (VASCONCELOS, 2007). O método pode cobrir o período de um dia, uma semana, um mês, um período mais longo ou um período particular, possibilitando a caracterização do consumo habitual ou usual (HOLANDA e FILHO, 2006).

A história alimentar permite uma descrição mais completa e detalhada dos aspectos qualitativos e quantitativos da ingestão dos alimentos, apresenta boa correlação com outras medidas do estado nutricional, permite uma avaliação da ingestão habitual de todos os nutrientes, não sofre influência das variações sazonais na dieta e não altera as dietas habituais, sendo muito utilizada em ambulatórios (MACHADO, 2010). Dentre as desvantagens da utilização deste método, em particular em estudos epidemiológicos, encontram-se a dependência da memória do indivíduo e os altos custos de análise, devido à complexidade do instrumento. Além disto, o tempo necessário para obter dados é maior comparado a outros métodos (HOLANDA e FILHO, 2006).

2.7.4 Questionário de Frequência Alimentar (QFA)

Este instrumento tem como sua principal característica permitir que se conheça o padrão de consumo habitual dos alimentos de um grupo populacional, uma vez que ele tem a capacidade de capturar o consumo da maioria dos alimentos em um determinado período progresso de tempo, em geral, do ano anterior (SLATER *et al.*, 2003).

O QFA apresenta como vantagens, o fato de ser um instrumento de baixo custo e fácil de ser aplicado, podendo assim ser utilizado em estudos com grande número de indivíduos (MACHADO, 2010).

Apesar de suas vantagens, o QFA apresenta algumas limitações, pois raramente fornece exatidão suficiente para ser utilizado na avaliação da adequação da ingestão de nutrientes, tanto em indivíduos quanto em coletividades, e é afetado pela sazonalidade da alimentação. Isso se deve às características próprias desse método (WILLETT, 1998). O desempenho de um QFA, portanto, para avaliar a ingestão e o padrão alimentar depende de questões tais como: quão acurado pode o indivíduo relatar a frequência de consumo alimentar, o quão apropriada é a lista de alimentos, além de fatores externos, como o ambiente, por exemplo (WILLETT, 1998).

2.7.5 Pesquisa de Orçamento Familiar (POF)

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) é o órgão do Governo Brasileiro que se constitui no principal provedor de dados e informações do País, que atendem às necessidades dos mais diversos segmentos da sociedade civil, bem como dos órgãos das esferas governamentais federal, estadual e municipal. O IBGE conduz periodicamente, entre outras pesquisas, a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF). Estas pesquisas obtêm informações gerais sobre domicílios, famílias e pessoas, hábitos de consumo, despesas e recebimentos das famílias pesquisadas, tendo como unidade de coleta os domicílios. Atualiza a cesta básica de consumo e obtêm novas estruturas de ponderação para os índices de preços que compõem o Sistema Nacional de Índices de Preços ao Consumidor do IBGE e de outras instituições (BRASIL, 2013b).

As Pesquisas de Orçamentos Familiares iniciaram no Brasil no período de 1987-1988 e tiveram quatro edições até os dias atuais. A primeira pesquisa teve abrangência geográfica nas áreas metropolitanas de Belém, Fortaleza, Recife, Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba e Porto Alegre, além do Distrito Federal e do Município de Goiânia. A segunda, realizada no período de 1995-1996, teve a mesma abrangência e visou atingir os mesmos objetivos da anterior. A terceira pesquisa, realizada no período de 2002-2003, teve os mesmos objetivos das pesquisas anteriores e ainda procurou atender novas demandas, principalmente relacionadas a aspectos de nutrição e condições de vida. A partir desta pesquisa, a abrangência foi ampliada para todo território Nacional, cobrindo as áreas urbanas e rurais do país. A quarta e mais atual pesquisa, realizada no período de 2008-2009, além de manter o objetivo principal o

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) também incluiu os temas nutrição e condições de vida, tendo um maior aprofundamento no tema nutrição. Nesta pesquisa, também foi incluída uma primeira experiência metodológica de investigação do consumo efetivo pessoal (BRASIL, 2009).

O público alvo são domicílios particulares permanentes ocupados e seus moradores, na área de abrangência da pesquisa nas situações urbana e rural. A captação das informações para a pesquisa, a partir da POF 2002-2003, foi realizada eletronicamente através de computador portátil com os seguintes documentos de coleta (BRASIL, 2009):

POF 1: Questionário de Características do Domicílio e dos Moradores. Utilizado para identificar e caracterizar o domicílio e seus moradores; além de investigar variáveis relacionadas aos temas: meio ambiente, utilização de energia alternativa, amamentação infantil, alimentação escolar e fecundidade.

POF 2: Questionário de Aquisição Coletiva. Registra as despesas com bens e serviços do domicílio e todos os moradores (ex: energia elétrica, gás, telefone, aluguel, pequenos reparos ou manutenção do domicílio, etc.)

POF 3: Caderneta de Aquisição Coletiva. Utilizada pelo informante para registrar, durante sete dias consecutivos todas as despesas realizadas com alimentos, bebidas, artigos de higiene pessoal e de limpeza, combustíveis de uso doméstico (exceto gás e lenha) e outras pequenas compras de rotina.

POF 4: Questionário de Aquisição Individual. Registra as despesas com vestuário, produtos farmacêuticos, alimentação fora do domicílio, veículos, transportes, viagens esporádicas, comunicação, etc.

POF 5: Questionário de Trabalho e Rendimento Individual. Registra as informações sobre características do trabalho, assim como os rendimentos e outros recebimentos provenientes do trabalho.

POF 6: Avaliação das Condições de Vida. Registra informações de caráter subjetivo, que expressaram a opinião do informante em relação as suas condições de vida.

POF 7: Bloco de Consumo Alimentar Pessoal. Registrados pelos informantes, durante dois dias não consecutivos, todos os alimentos e bebidas consumidos efetivamente pelos informantes, com detalhamento da hora, descrição do produto, quantidade consumida informada

através de medidas caseiras e ainda se foi consumida no domicílio ou fora do domicílio. Este tema foi incluído como uma primeira experiência na POF 2008-2009 (BRASIL, 2009).

Para propiciar a estimativa de orçamentos familiares que contemplem as alterações a que estão sujeitos ao longo do ano, foi definido o tempo de duração da pesquisa em doze meses. A POF 2008-2009 foi realizada de maio de 2008 a maio de 2009. O tempo entre o início da coleta e a liberação dos dados foi de aproximadamente 18 meses (BRASIL, 2009).

O método de registro alimentar utilizado na POF 2008-2009 apresenta a vantagem de ser independente da memória, uma vez que os alimentos são anotados no momento do consumo. Esse instrumento é considerado mais preciso do que o método alternativo de relato por memória das quantidades e porções consumidas (GIBSON, 2005; PEREIRA e SICHIERI, 2007).

2.8 Métodos de quantificação do Amarelo Crepúsculo

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 (DOWNHAM E COLLINS, 2000).

Segundo Prado e Godoy (2007), com a globalização, restrições das legislações em relação às quantidades permitidas e as tendências futuras de se aumentar essas restrições com o consequente aumento das importações e exportações, o desafio é utilizar métodos mais confiáveis, eficientes e rápidos para a identificação e quantificação dos corantes.

A regulamentação dos corantes e a necessidade de controle de qualidade do governo sobre as empresas têm forçado o desenvolvimento de novas técnicas analíticas capazes de responder não só à demanda do número de análises, mas, de forma rápida e principalmente, confiável (PRADO e GODOY, 2007).

Atualmente, vários métodos como espectrofotometria, voltametria, eletroforese capilar ou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) estão sendo usados para determinar qualitativa e quantitativamente esse tipo de aditivo, sendo descritos a continuação.

2.8.1 Espectrofotometria

O método analítico de espectrofotometria pode ser utilizado para quantificar corantes artificiais quando se realiza a separação destes por outras técnicas analíticas. As determinações são baseadas em análises computacionais e cálculos por regressão linear, 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 (PRADO e GODOY, 2003).

A espectrofotometria derivativa é atualmente uma ferramenta analítica adicional que auxilia na resolução de diversos problemas analíticos. A derivatização dos espectros permite separar sinais sobrepostos e eliminar "background" causado pela presença de outras espécies na amostra. Portanto, torna-se desnecessária uma etapa preliminar de separação das espécies a serem determinadas, o que simplifica o procedimento analítico e aumenta a velocidade analítica, além de apresentar baixo custo (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2006).

Os autores Vidotti e Rollemberg (2006) e Santos e Nagata (2005), relataram que pela técnica espectrofotométrica torna-se possível analisar amostras comerciais para verificar se as concentrações destes corantes encontram-se de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira.

2.8.2 Voltametria

A voltametria é reconhecida desde a década de 80, como um dos métodos eletroquímicos mais populares e que pode dar uma visão global dos processos que resultam de reações redox, que possam ocorrer num eletrodo reativo (metal ou liga), por efeito da polarização eletroquímica, entre dois valores de potenciais (FONSECA et al., 2015).

Medeiros e Fatibello-Filho (2008), utilizaram um eletrodo de diamante dopado com boro para a determinação do corante alimentício tartrazina em diferentes amostras utilizando a voltametria de pulso diferencial. Os autores concluíram que os teores de tartrazina encontrados nos produtos alimentícios pelo procedimento proposto foram concordantes com aqueles teores encontrados com emprego do método cromatográfico, utilizado como referência.

Freitas (2012), analisou amostras de balas dos sabores abacaxi e hortelã pela técnica voltamétrica. Segundo o autor, a simplicidade do pré-tratamento da amostra com diluição direta do produto comercial, a alta sensibilidade do método, velocidade de análise e baixo custo da instrumentação são algumas das principais vantagens oferecidas pela técnica.

2.8.3 Eletroforese capilar

A eletroforese capilar é uma das mais recentes tendências na análise de corantes alimentícios (SANTOS, 2005). Nesta técnica instrumental os compostos são separados com base na diferença das mobilidades eletroforéticas dos compostos, que estão relacionados com a razão carga-massa e fatores estruturais (HATIMONDI et al., 2002).

Hatimondi et al. (2002), desenvolveram métodos analíticos para detectar corantes artificiais presentes em alimentos, a técnica utilizada pelos autores foi à eletroforese capilar.

Os corantes selecionados, dentre eles o amarelo tartrazina, foram determinados em eletrólitos de diversas composições. A variação da concentração e pH do eletrólito, tensão aplicada e tempo de injeção, assim como a incorporação de aditivos como o dodecil sulfato de sódio (SDS), ciclodextrina, brij 35 ou acetonitrila ao eletrólito foram os principais parâmetros testados durante a otimização dos métodos para a determinação dos corantes. Os resultados mais promissores foram apresentados pelos eletrólitos compostos por borato, brij 35 e acetonitrila. A eletroforese capilar trata-se de uma técnica de custo elevado sendo pouco difundida (principalmente quando comparada à espectrofotometria), além disso necessita de um acompanhamento técnico especializado durante sua utilização (SANTOS, 2005).

2.8.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

De acordo com Cecchi (2003), a cromatografia é uma adequada e muito usada técnica de separação dos componentes de uma amostra. Os componentes da amostra são distribuídos entre duas fases, uma das quais permanece estacionária, enquanto a outra elui entre os interstícios ou sobre a superfície da fase estacionária (FE). O movimento da fase móvel (FM) resulta numa

migração diferencial dos componentes da amostra. O mecanismo envolvido nessa migração diferencial vai depender do tipo de fase móvel e estacionária utilizado.

Atualmente, vários métodos envolvendo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) estão sendo usados para determinar qualitativa e quantitativamente os corantes alimentícios (LANCASTER e LAWRENCE, 1991). A CLAE é um método em que o solvente passa pela coluna a alta pressão, o que possibilita a separação entre os compostos da amostra de modo rápido e eficiente. A CLAE possui algumas vantagens e desvantagens em comparação com a coluna clássica, tais como: maior resolução, maior sensibilidade, maior reprodutibilidade, maior rapidez e automação e equipamento caro e de alto custo de operação e manutenção (PRADO e GODOY, 2003).

Com tempos de análise muito mais curtos, em comparação aos observados em outras técnicas tradicionais, a aplicação em separações e identificações dos corantes artificiais têm aumentado nos últimos anos (PRADO e GODOY, 2003)

Embora a metodologia de CLAE seja a mais eficiente nos métodos de quantificação, e nas separações destes aditivos alimentícios, a técnica apresenta alto custo e geralmente as amostras precisam de pré-tratamento para torná-las compatíveis com a fase estacionária (SANTOS, 2005).

3. RESULTADOS

Os resultados do presente estudo estão apresentados na forma de dois artigos científicos, conforme descritos abaixo:

3.1 ARTIGO 1: Estimate of the theoretical maximum daily intake of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population.

3.2 ARTIGO 2: Determination of Sunset Yellow (INS 110) in Samples of Foods Commercialized in Southern Brazil by High-Performance Liquid Chromatography

3.1 ARTIGO 1: Estimate of the theoretical maximum daily intake of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population.

Estimate of the theoretical maximum daily intake of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population.

Luana Carolina Alves Feitosa¹, Patrícia da Silva Rodrigues¹, Adson Storck da Silva¹, Alessandro de Oliveira Rios¹, Florencia Cladera-Olivera^{1*}.

- 1- Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43212, Campus do Vale. Bairro Agronomia, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil. Telefone: (xx-51)3308-9849 – fax: (xx-51)3308-7048 – e-mails: (luana_carolina92@hotmail.com; patitri@hotmail.com; adson22@hotmail.com; alessandro.rios@ufrgs.br; florencia.cladera@ufrgs.br).

* Corresponding Author: Florencia Cladera-Olivera - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, (ICTA-UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +5551 3308 9849; fax: +5551 3308 7048; e-mail: florencia.cladera@ufrgs.br

ABSTRACT

This study aimed to estimate the Theoretical Maximum Daily Intake (TMDI) of the Sunset Yellow (SY) synthetic food dye by the Brazilian population, through food consumption data from the Household Budget Survey (HBS) of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE, 2008/2009). The study covered the population in urban and rural areas, in the five regions of the country and from different age groups, in order to verify if it was possible to exceed the Acceptable Daily Intake (ADI) of SY, which is 2.5 mg / kg corporeal. For this was performed cross checking of food products containing this dye, through of the largest supermarket chains in Brazil, with data from the HBS-IBGE 2008/2009. This data showed that the average consumption of Sunset Yellow per capita did not exceed the ADI in any of the aforementioned population distributions. However, when considering the prevalence of food consumption in urban and rural areas (311.6 and 289.1 mg of SY/day), in the five regions of the country (26.7 to 35.7 mg of SY/day), and in the age groups of adolescents (368.4 mg SY/day), adults (SY 308.2 mg/day) and seniors (247.8 mg SY/day), it is noted that part of the population could be exceeding the recommended ADI, which may pose health risks.

Keywords: Sunset Yellow FCF, Acceptable Daily Intake, Dye, Additive.

1. Introduction

It is estimated that in the year 2020, non-communicable chronic diseases will account for 75% of deaths worldwide. Therefore, human diet has been on the international research agenda as one of the main determining causes of these diseases (Machado et al., 2012).

Due to changes in the eating habits of Brazilians and the replacement of fresh food for processed foods, the diet of the population has become increasingly poorer. This habit has resulted in changes in global patterns of disease in the second half of the 20th century, contributing to the onset of non-communicable chronic diseases, mainly the ones of the circulatory system, diabetes and cancer (Pineiro, 2012).

In addition to diet changes throughout the years, the technology used by food industry has raised questions regarding the safety of food additives, primarily when it comes to artificial food coloring (Moutinho et al., 2007). The use of dyes in food has always been a controversial subject, since the main reason for its use is to make the product aesthetically more attractive in many cases. In addition to that, studies have shown the occurrence of short and long-term adverse reactions due to the consumption of food products containing these additives (Schumann et al., 2008).

A reliable evaluation of food additives at a global level is based on the control of the Acceptable Daily Intake (ADI) developed by the Joint Experts Committee on Food Additives (JECFA). The ADI, expressed in mg/kg of body weight/day, is defined as “the maximum amount of a substance ingested by a person on a daily basis over their life span, without causing any harmful effects”, according to the toxicological knowledge available (WHO, 1987). For the artificial dye Sunset Yellow this value is 2.5 mg / kg body weight / day.

In Brazil, the National Health Surveillance Agency (ANVISA) is responsible for the regulation of the use of food additives such as dyes, which through its resolutions allows the use of fourteen synthetic dyes. They are: Tartrazine (INS-102), Quinoline Yellow (INS-104), Sunset Yellow (INS-110), Azorubine (INS-122), Amaranth (INS-123), Ponceau 4R (INS-124), Erythrosine (INS-127), Allura Red FCF (INS-129), Patent Blue V (INS-131), Indigotine (INS-

132), Brilliant Blue FCF (INS-133), Bright Black (INS-151), Chocolate Brown HT (INS-155) and Fast Green FCF (INS-143) (Brasil, 2011).

Among the cited dyes, the Sunset Yellow FCF (INS 110) stands out because of its association with adverse reactions in consumers (urticaria, asthma and hyperactivity). This artificial dye is presented in the form of orange and red granules or powder and it can be used in many different food products (Lindon and Silvestre, 2007).

The use of food dyes has raised a number of questions, such as whether the amounts used by the industry are suitable, so that the consumption of certain food products does not exceed ADI parameters. In Brazil, there is no legal obligation to declare the amount of food coloring present in a given food product, but only a general list of the additives used (Schumann et al., 2008).

In order to evaluate the possible effects that food additives can cause to health, it is important to have data on the exposure to these substances. The first step to estimate the consumption of additives and their potential risks is to obtain appropriate estimates for the presence and the amount of a particular substance both in the food product and in the general diet (Kroes et al., 2002). In order to do that, it is necessary to obtain a database containing qualitative information on the use of additives in food products. Data on the purchase of food by the population can be used to determine the presence of additives in the general diet.

The Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) periodically conducts data collection on food purchases via the Household Budget Survey (HBS). In the latest edition of the survey HBS/2008-2009, the study was based on 55.970 households, which included the individual consumption of food by consumers aged 10 years old or above, inside and outside the household.

This study aimed to estimate from the Brazilian legislation and the food consumption data of HBS-IBGE/2008-2009, the maximum value for the Theoretical Maximum Daily Intake (TMDI) of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population, in order to verify if it is possible to exceed the ADI.

2. Method

This study was conducted in three stages. The first stage was the development of a database with the processed food products which had the artificial dye Sunset Yellow FCF on its label and had been sold by one of the largest supermarket of Brazil. The assessment of food intake by the Brazilian population was subsequently done through data obtained from the HBS 2008/2009 (IBGE, 2010). The third stage was the estimate of the Theoretical Maximum Daily Intake of Sunset Yellow FCF by the Brazilian population, carried out via the correlation of the data obtained.

2.1 *Synthetic dye Sunset Yellow in food*

Using data available on the website of one of the largest supermarket chains in Brazil, it was possible to find out the food products that contained the synthetic coloring Sunset Yellow.

Initially, data on food was sorted according to the 98 different food groups established in the HBS 2008/2009 (IBGE, 2010). Based on this division, the records were sorted in fourteen food groups (Table 1), in which at least one food product contained the Sunset Yellow FCF in its composition.

2.2 *Food consumption according to the HBS-IBGE 2008/2009*

The data source used was the Household Budget Survey- 2008/2009. The basic information of HBS used in this study refers to the consumption of food and drink inside and outside the household. Each resident aged ten years old or above recorded their individual food consumption for two non-consecutive days. Other data collected included age, sex and body weight of each individual in the household (IBGE, 2010).

In this study, we considered the location data of the sectors - urban and rural areas- in the five regions of the country as well as age group - adolescents, adults and seniors - from the HBS 2008/2009.

2.3 Estimate of the Theoretical Maximum Daily Intake (TMDI)

Information about the presence of Sunset Yellow in food (item 2.1) was correlated with data on the prevalence of food consumption *per capita*, obtained by the HBS 2008/2009 (item 2.2).

In order to estimate the Theoretical Maximum Daily Intake (TMDI) of Sunset Yellow FCF, the maximum concentration of the dye allowed by the Brazilian legislation for each food category was considered, according to the Compendium of the National Health Surveillance Agency (Brasil, 2011). Furthermore, since the objective of the study is to estimate the maximum possible consumption, it was considered that all food consumed of one category containing at least one product with Sunset Yellow, contained this dye.

3. Results and discussion

3.1 Synthetic dye Sunset Yellow in food

The Table 1 presents the food groups according to the classification of HBS-IBGE 2008/2009, where at least one product contained Sunset Yellow FCF (SY) in its composition.

Table 1

Products with Sunset Yellow FCF (SY) classified according to the categories of the HBS 2008-2009.

Category/ Subcategory Category	No. of available products	No. of products with SY	% of products with SY
Cakes	112	3	2.7
Sandwich cookies	127	1	0.8
Yogurts	122	2	1.6
Chocolate	170	4	2.4
Fruit based sweets	104	2	1.9
Other sweets	128	12	9.4
Spirits	100	5	5.0
Juices	74	10	13.5
Soft Drinks	24	4	16.7
Milk Beverages	33	3	9.1
Other non-alcoholic beverages	51	6	11.8
Fried and baked pastries	38	2	5.3
Industrialized snacks	54	2	3.7
Ready Meals	443	13	2.9
Total	1580	69	4.4

4.503 labels of foods sold on the website of the largest supermarket chain in Brazil were analyzed. According to the data obtained, 69 labels of foods assessed contain this dye.

The categories of food products with the highest occurrence of products with Sunset Yellow FCF in relation to the total number of products in the category were Soft Drinks (16.7%), Juices (13.5%), other Non-alcoholic Beverages (11.8%) and Other Sweets (9.4%). It should be noted that in most cases these products are largely consumed by children, which easily exceeds the ADI when compared to adults, what do can cause health risks.

3.2 Acceptable Daily Intake of Sunset Yellow FCF

The Table 2 shows the Acceptable Daily Intake (ADI) of Sunset Yellow FCF (SY) for adolescents, adults and seniors, male and female. To obtain the ADI, the average weights by age group were calculated using the data of the average body weight, which was given by the HBS-IBGE 2008/2009.

Table 2

ADI of SY by age group and gender considering the average body weight from HBS.

Gender	Groups	Average weight (Kg)	ADI of SY (mg/day)
Male	Adolescents	51	127
	Adults	72	180
	Seniors	70	175
Female	Adolescents	48	120
	Adults	61	152
	Seniors	63	157

Source: Adapted from IBGE (2010).

This data was correlated with the ADI for Sunset Yellow FCF, which is 2.5 mg/kg of body weight. From the data, in order not to exceed the ADI the maximum consumption of Sunset Yellow must be from 120-180 mg/day, depending on gender and age.

3.3 Estimates of intake

In order to obtain the average intake per capita, the average food consumption (obtained from HBS) was used. All ingested food products within the category of products with Sunset Yellow

FCF and which contained the dye were considered and their concentration in the food product was the maximum permitted by law.

Since that the average consumption considered that all people that were studied had consumed the food product, in order to evaluate the possibility that only part of the population may be exceeding the ADI, it was more appropriate to consider the prevalence of food intake, i.e. the percentage of the population that claimed to consume certain food product (data obtained from the HBS).

3.3.1 Intake estimates in urban and rural areas

The Table 3 presents data on the average intake per capita of the Sunset Yellow FCF (SY) in urban and rural areas, as well as the intake per capita considering the prevalence of consumption within the category.

Table 3
Estimate of TMDI per capita of SY mg/day in urban and rural areas.

Food	Urban				Rural			
	Aver. Cons. of food (g/day)	Average ADI of SY (mg/day)	*PFC (%)	Average ADI of SY (mg/day) *CPFC	Aver. Cons. of food (g/day)	Average ADI of SY (mg/day)	*PFC (%)	Average ADI of SY (mg/day) *CPFC
Cakes	13.1	0.7	13.1	5.0	18.1	0.9	14.8	6.1
Sandwich cookies	5.0	0.3	4.5	5.6	2.5	0.1	2.3	5.5
Yogurts	10.8	1.1	4.5	24.1	4.6	0.5	1.9	24.5
Chocolate	3.9	1.9	4.3	8.4	1.3	0.7	1.8	1.2
Fruit based sweets	2.2	0.1	2.9	44.9	2.6	0.1	3.6	38.4
Other sweets	7.6	0.8	11.6	3.8	8.4	0.8	12.4	3.5
Spirits	1.3	0.3	0.6	6.6	1.9	0.4	0.8	6.7
Powder Juices	151.0	15.1	41.1	47.1	115.1	11.5	33.1	49.9

Soft Drinks	105.0	10.5	25.2	36.8	42.7	4.3	11.4	34.8
Flavored and sweetened milk beverages	22.2	1.1	7.9	41.6	8.4	0.4	3.2	37.6
Other non-alcoholic beverages	3.0	0.3	0.9	14.1	1.4	0.1	0.5	13.3
Fried and baked pastries	11.3	0.6	13.7	32.9	4.3	0.2	6.3	30.0
Industrialized snacks	0.7	0.0	0.8	4.1	0.6	0.0	0.7	3.4
Ready Meals	3.2	0.2	5.1	4.3	1.4	0.1	2.9	4.6
TMDI (mg/day)	-	33	-	279	-	20	-	260

* PFC: Prevalence of food consumption (%).

*CPFC: Considering the Prevalence of Food Consumption.

* TMDI: Theoretical Maximum Daily Intake.

It should be noted that the TMDI data represents the consumption of all food products in the aforementioned categories, which also considers the prevalence of food consumption (PFC).

From the location data of urban and rural areas, it is possible to estimate that the average consumption of Sunset Yellow FCF is 39% higher in urban areas than in rural areas. This result had already been expected, due to the proximity of points of sale, as well as to the different eating habits of this population. According to Coelho et al., (2009), in rural areas there is a higher probability of the purchase of basic commodities, especially beans, sugar and rice; therefore, the role of homegrown food products, which certainly influences this result, should also be evaluated.

The average consumption values obtained were below the ADI, representing 19% and 22% of the Acceptable Daily Intake for adults, males and females, respectively.

However, considering the data on the prevalence of food intake - which range from 279 mg of SY/day in urban areas to 260 mg of SY/day in rural areas, part of the population could be

extrapolating the ADI in both regions, with values representing up to 153% of the established ADI for Sunset Yellow FCF.

The food products that represented the most significant contribution to these results were Powder Juices and Soft Drinks, which together accounted for 75% of the total Sunset Yellow consumed.

3.3.2 Estimates of intake by country region

In order to obtain the data of average consumption per capita of the Sunset Yellow FCF in five different regions of the country, the same methodology above mentioned was followed (Table 4).

Table 4

Estimate of TMDI per capita of SY (mg/day) by region of the country.

Food	North		Northeast		Southeast		South		Midwest	
	Aver. Cons.	Average *CPFC	Aver. Cons.	Aver. *CPFC	Aver. Cons.	Aver. *CPFC	Aver. Cons.	Aver.* CPFC	Aver. Cons.	Aver. *CPFC
Cakes	0.6	4.7	0.5	4.7	0.7	5.4	0.9	5.4	0.9	5.3
Sandwich cookies	0.2	6.0	0.3	7.5	0.2	4.8	0.3	5.1	0.1	4.1
Yogurts	0.6	27.9	0.9	25.7	1.0	23.3	1.2	24.4	1.0	22.3
Chocolate	1.4	3.7	1.1	2.2	1.8	8.4	2.8	17.0	2.1	6.2
Fruit based sweets	0.1	53.5	0.1	56.5	0.1	37.7	0.3	44.4	0.1	68.5
Other sweets	0.9	4.8	0.9	5.8	0.7	3.2	0.8	2.9	0.6	3.6
Spirits	0.4	6.7	0.4	7.4	0.2	6.0	0.4	6.2	0.2	7.6
Juices	15.7	101.5	13.5	54.7	14.7	32.5	15.3	45.0	14.6	73.9
Soft Drinks	8.3	37.8	5.9	33.7	11.2	37.2	11.6	38.4	9.8	37.8
Flavored and sweetened milk beverages	0.6	42.1	0.5	36.9	1.4	41.4	1.0	45.9	0.9	41.0
Other non-alcoholic beverages	0.2	13.3	0.4	14.5	0.3	14.1	0.1	14.2	0.3	12.5
Fried and baked pastries	0.4	28.8	0.3	31.1	0.6	37.0	0.5	25.6	0.7	33.7
Industrialized snacks	0.0	3.2	0.0	3.8	0.0	4.5	0.1	3.8	0.0	3.7
Ready Meals	0.2	4.1	0.2	4.9	0.2	4.1	0.3	4.4	0.3	3.0
TMDI (mg/day)	30	338	25	289	33	260	35	283	32	323

*CPFC: Considering the prevalence of food consumption.

The regions that showed the highest consumption of food products containing Sunset Yellow FCF were the Southern region (35 mg SY/day), followed by Southeastern region (33 mg SY/day) and Midwestern region (32 mg SY/day).

By comparing the different regions of the country, it is possible to observe that the average intake per capita of Sunset Yellow FCF was within the recommended ADI in all regions of the country, with values between 19% and 23% of the ADI for male and female adults, respectively.

However, when considering the prevalence of food intake is possible to observe that in all regions of the country (289 to 338 mg SY/day) part of the population might be exceeding the

ADI recommended, which is 180 mg SY/day and 152 mg SY/day for male and female, respectively.

3.3.3 Estimates of intake by age group

In order to evaluate the average intake per capita of Sunset Yellow SY by age group, the classification conducted by the HBS 2008/2009 was considered: Adolescents (10-18 years old), adults (19-54 years old) and seniors (over 55 years old) (IBGE, 2010).

The table 5 shows the average intake per capita and consumption per capita considering the prevalence of consumption for each age group.

Table 5
Estimate of TMDI per capita of SY (mg/day) by age group

Food	Adolescents (10 to 18 years old)		Adults (10 to 54 years old)		Seniors (More than 55 years old)	
	Average	*CPFC:	Average	*CPFC:	Average	*CPFC:
Cakes	0.7	5.2	0.7	5.3	0.7	4.8
Sandwich cookies	0.6	6.5	0.2	5.1	0.0	2.7
Yogurts	1.4	25.7	0.9	23.9	0.7	21.7
Chocolates	3.1	19.0	1.5	5.5	0.7	1.7
Fruit based sweets	0.1	51.0	0.1	42.9	0.1	30.9
Other sweets	1.1	3.9	0.7	3.9	0.6	3.0
Spirits	0.1	5.8	0.3	6.8	0.3	8.0
Juices	16.8	78.6	14.7	48.2	10.0	38.4
Soft Drinks	12.4	38.4	9.8	36.6	3.5	32.0
Flavored and sweetened milk beverages	2.2	43.9	0.8	41.4	0.3	30.9
Other non-alcoholic beverages	0.2	14.8	0.3	13.6	0.3	13.1
Fried and baked pastries	0.7	31.0	0.5	35.2	0.3	24.4
Industrialized salty snacks	0.1	4.0	0.0	4.1	0.0	4.2
Ready Meals	0.2	4.4	0.2	4.2	0.3	5.2
TMDI (mg/day)	40	332	31	276	18	221

*CPFC: Considering the prevalence of food consumption.

The age group that consumes the most food products containing Sunset Yellow FCF is adolescents (40 mg SY/day). This result may be related to the particularities of adolescence, which especially influence their habits and dietary recommendations. The diet represents, at this

stage, a major component of lifestyle that favors the development of obesity and its comorbidities (Pinho et al., 2013).

Adolescence is the prime time for interventions in health and nutrition when it comes to adopting healthy eating habits and promoting health in adulthood. Habits acquired at this stage will form the basis of eating habits in the future (Andrade, 2007; Caroba and Silva, 2005).

According to data on consumption per capita/day by age group, the food products that contributed the most to these results are Powder Juices, Soft Drinks and Chocolate, which together account for about 79% of the total Sunset Yellow FCF consumed by adolescents.

It is worth mentioning that the Household Budget Survey (IBGE 2008-2009) interviewed children as young as 10 years old, which can raise major concerns, since the category of children with under 10 years old represents one of the largest number of consumers of these products (Polonio and Peres, 2009).

According to Polonio and Peres (2009), children are more susceptible to adverse reactions caused by food additives. Another aspect that should be noticed is their physiological immaturity, which affects the metabolism and excretion of these substances. Moreover, children have no cognitive ability to control a regular consumption as effectively as adults do.

Considering the prevalence of food consumption per capita, one segment of the population of adolescents could be consuming up to 277% of the ADI, adults 181% and seniors 140%.

4. Conclusion

This study demonstrated that, when considering the average intake per capita of foods containing Sunset Yellow FCF by the Brazilian population, the Theoretical Maximum Daily Intake (TMDI) of this food dye would not be exceeding the Acceptable Daily Intake (ADI). However, when considering the prevalence of consumption with the current eating habits of parts of the Brazilian population, it is possible that the TMDI for this specific dye exceed its ADI.

According to the survey, adolescents are the most likely age group to have a high intake of Sunset Yellow FCF. Foods that contribute the most to the excess consumption of Sunset Yellow may be powder juices, soft drinks and chocolate.

The results of this study show the importance of research in the area of food safety legislation in order to collaborate on the adoption of public health policies aiming to ensure not only the safety of food from the aspect of contamination, as well as the safety in the usage of food additives.

Acknowledgments

We would like to acknowledge the financial support of the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq).

References

- Andrade, S.C. (2007). Índice de qualidade da dieta e seus fatores associados em adolescentes do estado de São Paulo. Dissertação (mestrado em nutrição) - faculdade de saúde pública, universidade de São Paulo, São Paulo.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2011). Compêndio da legislação brasileira de aditivos alimentares. In: diário oficial da república federativa do Brasil, DF., 1 Ed.
- Caroba, D.C.; Silva, M.V. (2005). Consumo alimentar de adolescentes matriculados na rede pública de ensino de Piracicaba- SP. Campinas. *Segur. Aliment. Nutr.*, v.12, n.1, p.55- 66.
- Coelho, A. B; Aguiar, D. R. D; Fernandes, E. A. (2009). Padrão de consumo de alimentos no Brasil. Piracicaba, São Paulo, vol. 47, nº 02, p. 335-362, abr./jun.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2010). *Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009*. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=25. Acesso em: 29 de jan. 2015.
- Kroes, R; Mueller, A.H.E; Lambe, J; Lowik, M.R.H. (2002). Assessment of intake from the diet. **Food and chemical toxicology**, oxford, v.40, n. 3, p.327-385.
- Lidon, F.; Silvestre, M.M. (2007). Indústrias alimentares. *Aditivos e tecnologia. Portugal*: escolar editora.
- Machado, F.C.S.; Henn, R.L.; Olinto, M.T.A.; Anjos, L.A.; Wahrlich, V.; Waissmann, W. (2012). Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire based on food groups,

in adult population of the metropolitan region of Porto Alegre, rev. Nutr. *Campinas*, vol. 25 no.1.

Moutinho, I.L.S.; Bertges, L.C.; Assis, R.V.C. (2007). Prolonged use of food dye tartrazine (fd&c yellow n°5) and its effects on the gastric mucosa of wistar rats. *Braz j boil. P.* 67:141-5.

Pinheiro, M. C. O. (2012). Avaliação da exposição aos corantes artificiais por crianças entre 3 e 9 anos em relação ao consumo de balas. Dissertação (mestrado em vigilância sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo cruz, Rio de Janeiro.

Pinho L.; Flavio, E.F.; Santos, S.H.; Botelho, A.C.; Caldeira, A.P. (2013). Excesso de peso e consumo alimentar em adolescentes de escolas públicas no norte de Minas Gerais. *Ciênc. Saúde coletiva*.

Polônio, M.L.T.; Peres, F. (2009). Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, v. 25(8), p.1653-1666.

Schumann, S.P.A; Polônio, M.L.T; Gonçalves, É.C.B.A. (2008). Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares. *Ciência e tecnologia de alimentos, campinas*, v. 28, n. 3, p. 534-539.

World Health Organization (WHO) (1987). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. 1987. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc70.htm>>. Acesso em: 15 de jan. 2015.

3.2 ARTIGO 2: Determination of Sunset Yellow (INS 110) in Samples of Foods Commercialized in Southern Brazil by High-Performance Liquid Chromatography.

Determination of Sunset Yellow (INS 110) in Samples of Foods Commercialized in Southern Brazil by High-Performance Liquid Chromatography.

Luana Carolina Alves Feitosa¹, Patrícia da Silva Rodrigues¹, Adson Storck da Silva¹, Alessandro de Oliveira Rios¹, Florencia Cladera-Olivera^{1*}.

1- Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43212, Campus do Vale. Bairro Agronomia, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil. Telefone: (xx-51)3308-9849 – fax: (xx-51)3308-7048 – e-mails: (luana_carolina92@hotmail.com; patitri@hotmail.com; adson22@hotmail.com; alessandro.rios@ufrgs.br; florencia.cladera@ufrgs.br).

* Corresponding Author: Florencia Cladera-Olivera - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, (ICTA-UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +5551 3308 9849; fax: +5551 3308 7048; e-mail: florencia.cladera@ufrgs.br

ABSTRACT

Sunset Yellow (SY) is an artificial dye used in foods that may be associated with adverse reactions such as allergies, asthma, and urticaria. The aim of this study was to evaluate the concentration of SY in commercial samples of powdered drinks, soft drinks, isotonic drinks, gelatins, and candies commercialized in the cities of São Leopoldo and Porto Alegre (southern Brazil) and check whether the amount is within the limits stipulated by the Brazilian legislation. 25 powdered drinks, 6 soft drinks, 7 isotonic drinks, 13 gelatins, and 11 candies containing SY in the ingredients list (product label), representing all products available in the supermarkets, were analyzed in two different lots for each product. The analyses were performed using high-performance liquid chromatography (HPLC). For reconstituted powdered drinks, four samples were below the limit of detection (LoD = 0.41 mg/100 mL), fourteen were below the limit of quantification (LoQ = 1.25 mg/100 mL), and four had values above the Brazilian legal limit (BLL = 10 mg/100 mL). The other samples had values between 2.06 and 9.46 mg/100 mL. For soft drinks, one sample was below the LoQ, while four samples had values above the BLL and the others were between 1.46 and 9.40 mg/100 mL. For isotonic drinks, three were below the LoQ, two were above the BLL, and the others were between 1.32 and 5.80 mg/100 mL. For gelatins, five were below the LoD, 12 were below the LoQ, one was above the BLL, and the others were between 1.34 and 9.58 mg/100 mL. All samples of candies had values below the LoQ. The results showed that 8.9% of the 124 samples analyzed (in the two respective lots) were above the limit established by the Brazilian legislation (up to 10 mg of SY/100 mL of the product ready to consume) and that there is no uniformity in Sunset Yellow amounts among different manufacturers. Monitoring artificial dye levels in food is important to ensure consumer safety and to keep the intake from exceeding the acceptable daily intake.

Keywords: Artificial dye; Sunset Yellow; Powdered drinks; Soft drinks; Isotonic drinks

1 Introduction

From a technological point of view, additives play an important role in the development of foods. However, the use of additives is an issue that arouses concern of consumers. In recent years, consumers have become increasingly cautious about food safety and, among the various items related to this matter, food additives are some of the most controversial (VARELA and FISZMAN, 2013).

Artificial dyes are among the most commonly used food additives because color is one of the main properties by which food is evaluated. For this reason, food colorants (synthetic or natural) are added to foodstuffs in order to make them visually attractive and/or to restore their original appearance when it has been lost during production processes (BONAN et al., 2013).

Azo dyes are the largest group of artificial dyes (60–70% of all artificial dyes) and their molecular structures are characterized by the presence of an azo group ($-N=N-$) between aromatic rings (YADAV et al., 2013). However, many azo dyes can be converted into harmful derivatives in the human body, e.g., Sunset Yellow can be reduced into aromatic amines by anaerobic bacteria from the human intestinal tract, which may cause allergies, migraines, eczema, anxiety, and diarrhea if they are excessively consumed (LIUDI-JI et al., 2016).

A European Union-wide mandatory warning must be put on any food and drink (except drinks with more than 1.2% alcohol) that contains any of the following dyes: Sunset Yellow FCF- E110, Quinoline Yellow- E104, Carmoisine- E122, Allura Red- E129, Tartrazine- E102, and Ponceau 4R- E124. The label must carry the warning "may have an adverse effect on activity and attention in children" (FSA, 2012).

The safety evaluation of dyes at a global level is based on ADI (acceptable daily intake) control, developed by JECFA (Joint FAO/WHO Committee on Food Additives). The maximum permissible level of SY in food products is 100–200 ppm, however, several studies have reported that this limit is frequently exceeded in many foods (TRIPATHI et al., 2010; DIXIT et al., 2008). In Brazil, ANVISA (National Health Surveillance Agency), in order to minimize the risks to human health, has established the maximum allowable limits of additives for different categories of food.

Monitoring synthetic dyes in food products should be the responsibility of official food control laboratories and food manufacturers to ensure consumer safety (AL-DEGS, 2009). However, the large increase in the consumption of processed foods containing artificial dyes, in particular the SY dye, mainly in products destined for children, creates an urge for methods that can monitor and quantify these dyes in foods (BOTELHO; ASSIM; SENA, 2014).

The objective of this study was to evaluate the concentration of the artificial dye Sunset Yellow in commercial samples of powdered drinks, soft drinks, isotonic drinks, candies, and gelatins using high-performance liquid chromatography (HPLC) and to verify its conformity with Brazilian law.

2 Materials and Methods

2.1 Samples

25 different powdered drinks, 6 soft drinks, 7 isotonic drinks (or sports drinks, ready to consume), 13 gelatins, and 11 candies containing Sunset Yellow in the ingredients list (product label) were purchased from some local supermarkets in the cities of São Leopoldo and Porto Alegre in the State of Rio Grande do Sul (southern Brazil). These products represent all the powdered drinks, soft drinks, isotonic drinks, candies, and gelatins containing Sunset Yellow in the ingredient list available in those establishments.

For all products, two different lots were analyzed, identified through the manufacture date shown on the packaging (totaling 124 samples). Each sample analyzed was prepared from five commercial samples with the same lot number, homogenizing the entire contents.

2.2 Methods

The analyses were performed at the Special Equipment Laboratory of the Institute of Food Science and Technology at the Federal University of Rio Grande do Sul.

For powdered drinks, the samples were prepared as recommended by the manufacturer using deionized water (Milli-Q) at room temperature. The samples of soft drinks and isotonic drinks were simply homogenized and degassed in an ultrasonic bath for 5 min.

For the extraction of the artificial dye Sunset Yellow in gelatin samples, the procedure used by Prado and Godoy (2004) was followed, with adaptations. 5 g of previously homogenized sample were weighed and dissolved in water obtained from a Milli Q filtration system at 50 °C and the volume was adjusted to 50 mL. After that, 10 mL were collected and centrifuged.

For the evaluation of candies, 5 g of previously homogenized sample were weighed, dissolved in water (obtained from a Milli Q filtration system) at 50 °C, and the volume was adjusted to 50 mL (Prado and Godoy, 2004). Gelatin gum candies, in particular, were washed several times with water for complete dye extraction.

After sample preparation, 2 mL were collected and filtered in a cellulose acetate filter of 0.45 µm pore size (Sartorius Stedim Biotech) and injected into the chromatograph. All analyses were performed in duplicate.

2.3 Chemicals and Reagents

Analytical reagent-grade chemicals of purity higher than 99% were used. The Sunset Yellow standard (INS 110) was purchased from Sigma-Aldrich, as were the chromatographic-grade methanol and the ammonium acetate used. All solutions were prepared with distilled deionized water (Millipore Milli-Q System) and always filtered through cellulose acetate filters of 0.45 µm pore size (Sartorius Stedim Biotech).

2.4 Equipment

The separation was performed on a Waters liquid chromatography system (Milford, MA, USA) consisting of a 600 pump, a 2996 PDA detector with isocratic pumping system, a Rheodyne injector valve with 20 µL sample loop, and data acquisition system consisting of Empower 2® software and a Waters 2998 diode array detector (DAD) coupled with Empower PDA software. The wavelength of 480 nm was used for the detection of the dye. For

chromatographic separation, a Spherisorb S3 ODS-2 5 μm particle size 4.6 mm i. d. x 150 mm length C18 column was used.

2.5 Chromatographic Analysis

The artificial dye was separated according to the method described by Prado and Godoy (2007), with adaptations, using an isocratic elution system. The column was conditioned by passing a 70:30 methanol/water solution + 0.08 M ammonium acetate for 6 min and, after that, was run with change in mobile phase to 70:30 methanol/water. In both cases, the flow rate was 0.300 mL/min. The running time for the separation of the dye was 15 min, with 5 min intervals for cleaning (70:30 water/methanol injection) between samples.

The chromatograms were processed at a fixed wavelength of 480 nm for Sunset Yellow. Dye identification was performed by comparing the retention times of the peaks for the sample and the standard under the same conditions. For quantification, a standard curve was constructed in the Sunset Yellow concentration range of 0.15-20 mg/100 mL ($R^2 = 0.998$).

The limits of detection (LoD) and limits of quantification (LoQ) were 0.41 mg/100 mL and 1.25 mg/100 mL (RIBANI et al., 2004).

2.6 Data Analysis

The statistical analysis was performed by ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$) using the software Statistica for Windows 12.0. For the verification of significant differences ($p < 0.05$) among lots, Student's *t*-test was employed.

3. Results and Discussion

The results obtained for samples of reconstituted powdered drinks are shown in Table 1. The samples are divided by flavors, showing values obtained for each lot. The legal limit of Sunset Yellow in Brazil for drinks (carbonated and non-carbonated) ready for consumption is 10 mg/100 mL (BRASIL, 2011).

Table 1

Average concentration (mg/100 mL) of the artificial dye Sunset Yellow in reconstituted powdered drinks samples.

Flavor	Brand	1 st lot (mg/100 mL)	2 nd lot (mg/100 mL)
Passion Fruit	T	< LoQ *	< LoQ *
	F	< LoQ *	< LoQ *
	I	2.96 ± 0.02 ^{a,A}	2.30 ± 0.02 ^{a,B}
	C	3.69 ± 0.00 ^{b,A}	2.19 ± 0.12 ^{a,B}
	N	5.83 ± 0.07 ^{c,A}	2.75 ± 0.03 ^{a,b,B}
	M	2.96 ± 0.01 ^{a,A}	3.18 ± 0.03 ^{b,B}
Orange	T	< LoQ *	< LoQ *
	F	< LoQ *	< LoQ *
	I	6.20 ± 0.04 ^{b,A}	5.94 ± 0.04 ^{b,B}
	N	2.30 ± 0.04 ^{a,A}	3.84 ± 0.13 ^{a,B}
Mango	T	2.40 ± 0.03 ^{a,A}	2.06 ± 0.00 ^{a,B}
	C	5.62 ± 0.03 ^{b,A}	2.81 ± 0.02 ^{b,B}
	M	6.87 ± 0.01 ^{c,A}	6.87 ± 0.01 ^{c,A}
Pineapple	T	< LoD **	< LoD **
	F	< LoQ *	< LoQ *
	I	< LoD **	< LoD **
Tangerine	I	<u>18.00 ± 0.00</u> ^{c,A}	<u>18.15 ± 0.07</u> ^{c,A}
	C	5.55 ± 0.00 ^{a,A}	6.25 ± 0.24 ^{a,A}
	M	<u>16.24 ± 0.04</u> ^{b,A}	<u>14.56 ± 0.23</u> ^{b,B}
Peach	T	2.66 ± 0.00 ^{a,A}	2.66 ± 0.00 ^{a,A}
	N	6.37 ± 0.01 ^{b,A}	3.19 ± 0.04 ^{b,B}
Citrus Fruits	T	< LoQ **	< LoQ **
Fruit Salad	F	3.62 ± 0.01 ^A	3.62 ± 0.01 ^A
Orange and Apple	M	< LoQ **	< LoQ **
Orange and Papaya	G	9.48 ± 0.03 ^A	9.48 ± 0.03 ^A

Means and standard deviations; the same lowercase letters in the same column for the same flavor and the same capital letters on the same row indicate that there is no significant difference at 5% significance level.

* < LoQ = below the limit of quantification.

** < LoD = below the limit of detection.

Of the 50 samples, four had values below the limit of detection (LoD = 0.41 mg/100 mL) and 14 were below the limit of quantification (LoQ = 1.25 mg/100 mL). For the other samples, values varied from 2.06 to 18.15 mg/100 mL. Of the 25 samples tested (in two respective lots), 23 (92%) were within the range established by the Brazilian legislation for Sunset Yellow content. However, two products had levels higher than permitted by Brazilian law in the two respective lots, i.e., the tangerine-flavored powdered drinks of brands I and M, with values in the first lot of 180% and 162%, respectively, and, in the second lot, 182% and 145% of the maximum content stipulated by law (values are underlined in Table 1).

Statistical analysis was performed to verify whether significant differences exist in the amount of Sunset Yellow for the same flavor of powdered drinks from different manufacturers and in different lots of the same product.

Among the 25 powdered drinks analyzed, ten (40%) showed significant differences ($p < 0.05$) between the lots.

For products of the same flavor but from different manufacturers, significant differences ($p < 0.05$) were also observed. These data suggest that there is no uniformity in the use of Sunset Yellow for the same flavor powdered drinks.

Similar results were observed by Alves et al. (2008), who determined the contents of artificial dyes Sunset Yellow, tartrazine, amaranth, Brilliant Blue, and Red-40 in juice powders, gelatin powders, and soft drinks purchased in local markets of the cities of Rio de Janeiro and Niterói (Brazil) and determined that the concentrations of Sunset Yellow varied widely (0.05–9.31 mg/100 g) depending on the product, flavor, and brand. Moreover, different lots of the same brands showed significantly different concentrations.

For soft drinks, results are shown in Table 2. Six products were analyzed in two lots, totaling 12 samples. Values were between 1.46 and 11.90 mg/100 mL and one of the samples had a value below the limit of quantification (1.25 mg/100 mL). Significant differences ($p < 0.05$) were found in Sunset Yellow content in only one of the soft drink samples evaluated (orange flavor of brand C).

Table 2

Average concentration (mg/100 mL) of the artificial dye Sunset Yellow in soft drink samples.

Flavor	Brands	1st lot (mg/100 mL)	2nd lot (mg/100 mL)
Orange	H	4.09 ± 0.04 ^{a, A}	4.31 ± 0.13 ^{a, A}
	F	<u>11.90 ± 0.02</u> ^{c, A}	9.33 ± 1.59 ^{b, A}
	S	<u>11.63 ± 0.24</u> ^{c, A}	<u>11.32 ± 0.07</u> ^{b, A}
	C	<u>11.33 ± 0.12</u> ^{c, A}	3.35 ± 0.48 ^{a, B}
	K	9.40 ± 0.29 ^{b, A}	8.94 ± 0.76 ^{b, A}
Passion Fruit	F	1.46 ± 0.01 ^c	< LoQ *

Means and standard deviations; the same lowercase letters in the same column for the same flavor and the same capital letters on the same row indicate that there is no significant difference at 5% significance level.

*< LoQ = below the limit of quantification.

For products of the same flavor (orange) but from different manufacturers, significant differences ($p < 0.05$) were also observed. These data suggest that there is no uniformity in the use of the Sunset Yellow dye for the same flavor soft drinks.

In the evaluation of soft drinks, of the six products tested (in two respective lots) three brands had levels higher than permitted by Brazilian law. The orange-flavored soft drinks of brands F, S, and C exhibited values that represented 119%, 116%, and 113% of the maximum stipulated by law in the first lot. However, these values were not confirmed in the evaluation of the second lot. In the analysis of the second lot, these samples exhibited values that represented 93%, 113%, and 34% of the maximum stipulated by law, respectively.

Andrade et al. (2014) determined the concentration of the artificial dyes Sunset Yellow, tartrazine, amaranth, and Brilliant Blue in 22 samples of soft drinks (orange and grape flavors) produced in Brazil. In that study, the content of amaranth exceeded the legal limit in two soft drink samples.

Seven different isotonic drinks were analyzed representing five flavors and four brands. These results are shown in Table 3.

Table 3

Average concentration (mg/100 mL) of the artificial dye Sunset Yellow in isotonic drink samples.

Flavor	Brands	1st lot (mg/100 mL)	2nd lot (mg/100 mL)
Passion Fruit	G	1.88 ± 0.09	< LoQ *
	I	< LoQ *	4.69 ± .02
Tangerine	P	4.93 ± 0.01 ^A	5.80 ± 0.03 ^A
	D	< LoQ *	4.14 ± 0.09
Grape	G	1.32 ± 0.07 ^A	1.80 ± 0.00 ^B
Orange	P	2.95 ± 0.67 ^A	3.53 ± 0.02 ^B
Strawberry and Orange	G	<u>18.16 ± 0.01</u> ^A	<u>19.19 ± 0.04</u> ^B

Means and standard deviations; the same lowercase letters in the same column for the same flavor and the same capital letters on the same row indicate that there is no significant difference at 5% significance level.

*< LoQ = below the limit of quantification.

Of the seven isotonic drinks analyzed, six (86%) showed significant differences ($p < 0.05$) between the lots. For products of the same flavor but from different manufacturers, significant differences ($p < 0.05$) were also observed, as also happened for powdered and soft drinks.

The isotonic drink with the highest Sunset Yellow content was the strawberry-orange flavored sample of brand G with 182% of the maximum content permitted by Brazilian law in the first lot and 192% in the second lot.

In this study, 13 gelatins were also analyzed and the results are shown in Table 4.

Table 4

Average concentration (mg/100 g) of the artificial dye Sunset Yellow in gelatin samples.

Flavor	Brand	1st lot (mg/100 g)	2nd lot (mg/100 g)
Passion Fruit	R	< LoQ *	< LoQ *
	D	1.34 ± 0.00	< LoQ *
	S	< LoQ *	< LoQ *
Pineapple	R	< LoQ *	< LoQ *
	D	< LoQ *	< LoD **
	S	< LoD **	< LoD **
Strawberry	R	9.58 ± 5.58 ^{a, A}	7.77 ± 0.01 ^{a, B}
	D	< LoQ *	8.85 ± 0.02
	S	<u>14.00 ± 0.20</u> ^{b, A}	4.24 ± 0.08 ^{b, B}
Lemon	R	< LoD **	< LoD **
	D	< LoQ *	< LoQ *
Raspberry	S	3.75 ± 1.30 ^A	1.52 ± 0.00 ^A
Zero Passion Fruit	R	2.25 ± 0.00	< LoQ *

Means and standard deviations; the same lowercase letters in the same column for the same flavor and the same capital letters on the same row indicate that there is no significant difference at 5% significance level.

*< LoQ = below the limit of quantification.

** <LoD = below the limit of detection.

Comparing the lots, it can be noted that, of the 13 products analyzed, four (30%) showed significant differences ($p < 0.05$) among them. For products of the same flavor and different brands, significant differences ($p < 0.05$) were also observed. This suggests that there is no uniformity in the use of Sunset Yellow among the products of the same flavor of different brands.

The legal limit of Sunset Yellow in Brazil for candies, tablets, gelatin gum, bubble gum, and powders for the preparation of gelatin desserts is 10 mg/100 g in products ready for consumption (BRASIL, 2011).

Of the 13 samples analyzed (in two respective lots), 92% were in agreement with the values established by the Brazilian legislation for the artificial dye Sunset Yellow. However, one strawberry-flavored gelatin sample (brand S) evaluated in the first lot had higher content than permitted by the Brazilian legislation, at 140% of the maximum allowed. This value was not

confirmed in the evaluation of the second lot of the same sample since a value that represented 42% of the maximum stipulated by Brazilian law was found.

11 candy samples were analyzed, comprising five brands and three colors representing all products containing Sunset Yellow in the label, in two different lots. However, all samples showed SY levels below the limits of quantification.

Similar results were found by Pinheiro (2012), who observed in the labels of more than 15 candies consumed by children in public schools of Rio de Janeiro, Brazil, that many candies have natural dyes in their composition and that some do not have dyes. As the author mentioned, it is noteworthy that the second most consumed candy brand by those children does not have dyes in its composition, yet it is attractive to children.

According to this research, most of the samples analyzed were within the limits established by the Brazilian legislation for Sunset Yellow. Among all the products evaluated, considering the average SY content, it can be seen that the products that most contain SY are, in order: soft drinks (7.91 mg/100 mL); isotonic drinks (6.22 mg/100 mL); powdered drinks (5.96 mg/100 mL); gelatins (5.92 mg/100 mL), and candies (below 1.25 mg/100 g).

All artificial colorants permitted for use in foods have a defined amount of acceptable daily intake (ADI), established by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). These values are subjected to constant changes depending on the results of toxicological studies. For the artificial dye Sunset Yellow, the established ADI value is 0-2.5 mg/kg body weight (bw).

However, this study suggests that there is a discrepancy concerning the recommendation of Sunset Yellow and the allowed value of this dye in food products. Through this research, we conclude that 12-year-old children with average weight of 30 kg (theoretical weight which is in the 50th percentile of the reference standard) (NCHS, 1997) may exceed consumption of SY by consuming powdered drinks, soft drinks, isotonic drinks, and gelatins considering the average levels of SY found.

We evaluated that, in order not to exceed the ADI (75 mg SY/day), those children could ingest up to 948 mL of soft drink (considering an average concentration of 7.91 mg SY/100 mL). It is important to mention that a considerable number of other products that are part of the day-to-

day of these children can also have this dye in their composition, which increases the risk of extrapolating the ADI.

Tennant (2008), in a similar study, aimed to determine whether any of the colors used in non-alcoholic beverages in the European Union had potential to exceed the ADI. According to that study, two colors had the potential to exceed the ADI: riboflavins (E101) and Sunset Yellow (E110). Since the calculation of intake used in the study of Tennant (2008) assumes that all other Sunset Yellow uses were at maximum permitted levels, the estimate can be considered conservative. However, if we consider the data obtained in this study, where 18 (29%) of the 62 samples analyzed contained SY levels above the limit established by European law, this piece of data does not seem impossible.

These studies indicate the importance of displaying dye concentrations in the labels of commercial products since that would allow the final consumer to choose among brands, flavors, and products, selecting those containing the lowest concentrations and number of dyes (ALVES et al., 2008).

Excessive use of food additives, such as artificial dyes, in addition to consisting in fraud, can cause adverse reactions in consumers, thus their use must be controlled.

4. Conclusion

In this study, 62 products commercialized in the cities of São Leopoldo and Porto Alegre (southern Brazil) were analyzed, including powdered drinks, soft drinks, isotonic drinks, gelatins, and candies, to determine the contents of Sunset Yellow (SY). Values for the samples were between 0.09 and 19 mg SY/100 mL in the products ready to consume. Considering Brazilian legal limits (10 mg SY/100 ml), 13% of the samples, had values above the allowed.

The products were analyzed in two different lots and results show that 63% had significant differences ($p < 0.05$) between lots, suggesting deficiencies in quality control and in the use of artificial dyes. Significant differences were also found in SY content for products of the same flavors and different brands, suggesting that there is no uniformity in SY usage among different manufacturers and demonstrating the importance of displaying the dye concentrations in product labels since this information allows the consumer to choose among brands and flavors.

Excessive use of food additives such as artificial colors can cause adverse reactions in their consumers, therefore, monitoring their levels in food is important to ensure consumer safety and to keep the intake from exceeding the acceptable daily intake.

Acknowledgement

The authors are grateful for the Brazilian government agencies CNPq (process 477059/2013-9) and FAPERGS (scholarship), which funded this study.

References

AL-DEGS, Y. S. (2009). Determination of three dyes in commercial soft drinks using HPLC and liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 485-490.

ALVES, S.P., BRUM, D.M., ANDRADE, E.C.B., NETTO, A.D.P. (2008). Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection. **Food Chemistry**, v. 107, p 489-496.

ANDRADE, F. I.; GUEDES, M. I. F.; VIEIRA, I. G. P.; MENDES, F. N. P.; RODRIGUES, P. A. S.; MAIA, C. S. C.; ÁVILA, M. M. M.; RIBEIRO, L. M. (2014). Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC. **Food Chemistry**, v. 157, p. 193-198.

BONAN, S., FEDRIZZI, G., MENOTTA, S., ELISABETTA, C. (2013). Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. **Dyes and Pigments**. V. 9. P. 36-40.

BOTELHO, B.G., ASSIM, L.P., SENA, M.M. (2014). Development and analytical validation of a simple multivariate calibration method using digital scanner images for sunset yellow determination in soft beverages. **Food Chemistry**, v. 159, p 175-180.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2011). *Compêndio da Legislação Brasileira de Aditivos Alimentares*.

DIXIT, S., MISHRA, K.K., KHANNA, S.K., DAS, M. (2008). Benzoate and synthetic color risk assessment for fast food sauces served at street food joints of Lucknow, India. **American Journal of Food Technology**. V. 3, 183–191.

FOOD STANDARDS AGENCY- FSA. (2003). Survey of colours in soft drinks. *Food Survey Information Sheets*. No.37/03. Available at: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsiscoloursinfoods032003.pdf>.

NCHS - NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. (1997). **Growth curves for children birth: 18 years**. Washington, DC: Print Office, (Vital Health Statistics Series, v. 11, n. 165).

PRADO, M. A.; GODOY, H.T. (2004). Determinação de corantes artificiais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em pó para gelatina. **Química Nova**, v. 27, p. 22-26, 2004.

PRADO, M.A.; GODOY, H.T. (2007). Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 30, nº2, p. 268-273.

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

TENNANT, D.R. (2008). Screening potential intakes of colour additives used in non-alcoholic beverages. **Food And Chemical Toxicology**. V. 46, Pp. 1985-1983.

TRIPATHI, M., DIXIT, S., KHANNA, S.K., DAS, M. (2010). Intake pattern of synthetic colours by different age and socio-economic consumer groups of lucknow, India. **International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health**. V. 3, 19–31.

VARELA, P., FISZMAN, S.M. (2013). Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. **Food Hydrocolloids**, v.30, n.1, p.477-484.

YADAV, A; KUMAR, A; TRIPATHI, A; DAS, M. (2013). Sunset yellow FCF, a permitted food dye, alters functional responses of splenocytes at non-cytotoxic dose. **Toxicology Letters**, v. 217, p. 197–204.

4. DISCUSSÃO GERAL

O processo de urbanização acelerado modifica o modo de vida das famílias e seus hábitos alimentares, facilitando o acesso a um número elevado de alimentos industrializados de baixo custo e fácil preparo (PINHEIRO, 2012). Estas mudanças podem interferir na quantidade de aditivos ingeridos pela população.

Dentre os aditivos, o emprego de corantes artificiais em alimentos é motivo de muita polêmica, isto porque, diversos estudos demonstram a ocorrência de reações adversas a curto e longo prazo, devido ao consumo excessivo de alimentos que contenham estas substâncias.

Os corantes azoicos constituem o maior grupo de corantes artificiais em alimentos. Embora esses corantes proporcionem muitos benefícios tecnológicos, a principal preocupação, o que muitas vezes limita o seu uso, é a carcinogenicidade potencial que ocorre após a sua azo redução em metabolitos cancerígenos através da microbiota intestinal (FENG; CERNIGLIA; CHEN, 2012).

Dentre os corantes azoicos, o Amarelo Crepúsculo (AC) é um dos mais utilizados. Este corante possui coloração laranja e é aplicado em um grande número de produtos alimentícios. Além disso, também tem um vasto uso na indústria farmacêutica e de cosméticos. No entanto, este corante é apontado como possível responsável por alergias, hiperatividade em crianças, lesão hepatocelular e insuficiência renal (MEKKAWY; ALI; ZAWAHRY, 1998; GHOREISHI; BEHPOUR; GOLESTANEH, 2012; GAN et al., 2012).

Para avaliar de forma abrangente os possíveis efeitos que o corante artificial AC pode causar a saúde, é importante possuir dados relativos à exposição a esta substância. Para isto, neste trabalho, foram identificados os alimentos disponíveis no mercado que continham AC e estimada a Ingestão Diária Máxima Teórica pela população brasileira para verificar se poderia ultrapassar a Ingestão Diária Aceitável (IDA). Além disso, foram realizadas análises laboratoriais para verificar a quantidade de AC nos alimentos que mais contribuíram com a ingestão do corante.

Diante do exposto, o primeiro artigo intitulado “*Estimate Of The Theoretical Maximum Daily Intake Of Sunset Yellow Fcf By The Brazilian Population*” teve como objetivo estimar através do limite máximo de AC permitido pela legislação brasileira e de dados de consumo alimentar da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF-IBGE 2008/2009), a Ingestão Diária

Máxima Teórica (IDMT) do corante artificial pela população brasileira, distribuída nas áreas urbana e rural, nas cinco regiões do país e por grupos etários, para verificar se é possível que determinados grupos da população ultrapassem a Ingestão Diária Aceitável (IDA).

Através deste estudo, foi possível avaliar que ao se considerar o consumo médio *per/capita* de alimentos que contenham AC, a ingestão diária máxima teórica (IDMT) deste corante não supera a IDA para nenhuma das distribuições populacionais estudadas, obtendo-se valores entre aproximadamente 14 e 31% da IDA. No entanto, ao se considerar a prevalência de consumo alimentar nas áreas urbanas e rurais (279 e 260 mg de AC/dia), nas cinco regiões do país (260 a 338 mg de AC/dia) e nos grupos etários, considerando adolescentes (332 mg de AC/dia), adultos (276 mg de AC/dia) e idosos (221 mg de AC/dia), observa-se que porções da população poderiam estar excedendo a IDA recomendada, o que pode acarretar riscos à saúde. Neste caso, a ingestão pode chegar a aproximadamente 140% da IDA para idosos, 181% para adultos e 277% para adolescentes de 10 a 18 anos. Este estudo apontou os adolescentes como o grupo etário mais propenso a alta ingestão de AC.

Através deste trabalho foi possível avaliar quais são os alimentos que mais contribuem para a ingestão do corante, sendo principalmente as bebidas formadas por refrescos, refrigerantes e outras bebidas não alcoólicas, seguida por chocolates e outros doces, que juntos representam 79% ou mais do consumo médio de AC.

Em função destes resultados, o segundo artigo intitulado “*Determination of Sunset Yellow (INS 110) in commercial samples of foods by high performance liquid chromatography*”, teve como objetivo analisar através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a concentração do corante artificial AC em 25 amostras de refrescos em pó, 6 amostras de refrigerantes, 7 amostras de isotônicos, 13 amostras de gelatinas e 11 amostras de balas, em dois respectivos lotes, e comparar os teores de AC encontrados com os limites permitidos pela legislação brasileira e europeia.

De acordo com as análises, o teor de AC nas amostras variou entre 0,09 a 19 mg /100mL. Desta forma, ao considerar o teor máximo permitido pela legislação brasileira (10 mg de AC/ 100mL), das 62 amostras avaliadas, 11% apresentaram teores de AC acima do permitido (2 refrescos em pó; 3 refrigerantes; 1 bebida isotônica e 1 gelatina). Em relação ao limite máximo estabelecido pela União Europeia, como o valor máximo é de 5mg/100mL, 29% das amostras

analisadas apresentaram teores de AC acima do permitido (9 refrescos em pó; 4 refrigerantes; 2 bebidas isotônicas e 3 gelatinas). Entre as balas avaliadas, nenhuma das amostras apresentou níveis de AC acima dos limites estabelecidos.

O estudo também realizou análise estatística para avaliar se as amostras apresentavam diferenças significativas entre os lotes. Nesta avaliação observou-se que 63% das amostras apresentavam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os lotes, o que sugere falhas no controle de qualidade e na utilização de corantes artificiais. Diferenças significativas ($p < 0,05$) também foram observadas para produtos do mesmo sabor, porém de diferentes fabricantes, sugerindo que não há uniformidade no uso de AC entre diferentes fabricantes para o mesmo sabor de bebida.

Ao considerar todos os valores obtidos para todas as bebidas avaliadas, chega-se a um valor médio de 5 mg/100mL de AC. Este valor represente 50% do que a legislação brasileira permite. Sendo assim, ao recalculer a Estimativa de Ingestão considerando a média dos valores experimentais e não mais o máximo estipulado pela legislação, obtêm-se uma redução de 50% no valor da Ingestão Diária aproximadamente. Desta forma, a prevalência de consumo alimentar nas áreas urbanas e rurais (155,8 e 144,5 mg de AC/dia), nas cinco regiões do país (144,9 a 185,2 mg de AC/dia) e nos grupos etários, considerando adolescentes (184,2 mg de AC/dia), adultos (154,1 mg de AC/dia) e idosos (123,9 mg de AC/dia) é reduzida. No entanto, mesmo com a redução no valor de Ingestão Diária, observa-se que o grupo etário adolescentes poderiam estar excedendo a IDA recomendada. Neste caso, a ingestão pode chegar a aproximadamente 149% da IDA para adolescentes de 10 a 18 anos.

Dentre todos os produtos avaliados, ao considerar a média nos teores de AC pode-se constatar que, os produtos que mais contêm AC são, na ordem: Refrigerantes (7,91 mg/100mL); Bebidas Isotônicas (6,22 mg/100 mL); Refrescos em pó (5,96 mg/100 mL); Gelatinas (5,92 mg/100 mL) e Balas (abaixo de 1,25 mg/100 g).

Através da realização deste trabalho, fica evidente que a utilização do corante artificial AC é comum em diversos produtos alimentares e que a preocupação de que a sua IDA seja ultrapassada tem fundamento. Cabe destacar que a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF-IBGE 2008-2009), utilizada como fonte de dados nesta pesquisa, entrevistou crianças a partir dos 10 anos de idade (classificados na categoria de adolescentes entre 10 e 18 anos). Ao considerar que neste estudo o consumo de AC aumentou ao diminuir a faixa etária, é provável que esta

tendência se aplique para crianças com menos de 10 anos, sendo provavelmente a faixa populacional com maiores riscos à saúde relacionados ao consumo de AC.

As análises laboratoriais mostraram que não existe uniformidade no uso de AC entre os diferentes produtos analisados, de diferentes sabores e marcas e que alguns ainda podem apresentar teores do corante acima do que preconiza a legislação brasileira. Este fato aumenta a vulnerabilidade dos consumidores sobre os riscos que corantes alimentares podem acarretar à saúde e reforça a necessidade de exibição das concentrações de corantes artificiais no rótulo dos produtos, uma vez que esta informação pode contribuir para que o consumidor escolha entre os diferentes produtos disponíveis.

Estudos como este, que estão evidenciando altas concentrações de corantes artificiais em alimentos consumidos, principalmente pelo público infantil, juntamente daqueles que já evidenciam efeitos nocivos à saúde humana, relacionados a estes aditivos, poderiam servir como justificativa para a elaboração de estratégias no setor de Vigilância Alimentar e Nutricional da população, com a finalidade de reduzir o consumo dessas substâncias e promover hábitos alimentares mais saudáveis.

Acredita-se que novos estudos sejam necessários para colaborar na adoção de políticas públicas de saúde, que visem garantir, não só a segurança dos alimentos sob o aspecto da contaminação, como também a segurança na utilização e consumo destes aditivos alimentares.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi avaliada a ingestão de Amarelo Crepúsculo (AC), através do limite máximo permitido pela legislação brasileira e dados do consumo alimentar da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF-IBGE 2008/2009). Através dos dados obtidos, verificou-se que a Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) para o corante artificial Amarelo Crepúsculo, considerando o consumo médio *per capita* de alimentos, não supera a Ingestão Diária Aceitável (IDA) para nenhuma das distribuições populacionais estudadas. No entanto, ao se considerar a prevalência de consumo alimentar, a IDMT é superior à IDA para adolescentes de 10 a 18 anos (277% da IDA), adultos (181% da IDA) e idosos (140% da IDA) das áreas urbanas e rurais e nas cinco regiões do país.

Foi avaliado o conteúdo de Amarelo Crepúsculo através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), em 25 amostras de refrescos em pó, 6 amostras de refrigerantes, 7 amostras de bebidas isotônicas, 13 amostras de gelatinas e 11 amostras de balas, em dois respectivos lotes. Dentre todos os produtos avaliados, considerando a média dos teores de AC pode-se constatar que, os produtos que mais contêm AC são, na ordem: Refrigerantes (7,91 mg/100mL); Bebidas Isotônicas (6,22 mg/100mL); Refrescos em pó (5,96 mg/100mL); Gelatinas (5,92 mg/100mL) e Balas (0,70 mg/100mL). De acordo com os dados analíticos 8% dos refrescos em pó, 50% dos refrigerantes, 14% das bebidas isotônicas e 7% das gelatinas apresentaram teores de AC acima do permitido pela legislação brasileira. Além disto, observou-se que 63% das amostras avaliadas apresentavam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os lotes, sugerindo falhas no controle de qualidade e na utilização de AC. Diferenças significativas ($p < 0,05$) também foram observadas para produtos do mesmo sabor, porém de diferentes fabricantes, sugerindo que não há uniformidade no uso de AC entre diferentes fabricantes para o mesmo sabor ou cor de alimento.

Em função dos resultados obtidos neste trabalho, é possível concluir que o consumo de Amarelo Crepúsculo não representa um risco para a maior parte da população brasileira, visto que a média de consumo *per capita* é inferior à IDA, representando no máximo 34% da mesma. No entanto, verificou-se que, ao se considerar a prevalência de consumo alimentar alguns indivíduos em todos os grupos populacionais estudados podem estar ingerindo o corante em

quantidades superiores às recomendadas. Considerando que neste estudo o consumo de AC aumentou ao diminuir a faixa etária, é provável que esta tendência se aplique para crianças com menos de 10 anos (não avaliadas neste trabalho).

Diante do exposto, fica evidente a necessidade de que haja um maior rigor no emprego e na fiscalização do uso de Amarelo Crepúsculo em produtos alimentares, visto que o consumo elevado deste corante pode ocasionar reações adversas aos seus consumidores.

6. PERSPECTIVAS

Sugere-se verificar o conteúdo de Amarelo Crepúsculo em outros alimentos, para obter uma melhor estimativa da ingestão diária.

Visto que o consumo de AC pode ultrapassar a IDA, sugere-se o estudo também dos demais corantes artificiais permitidos pela legislação brasileira e a avaliação da concentração dos mesmos nos alimentos.

Sugere-se o uso de outros métodos de estimativa de ingestão de alimentos (como por exemplo inquérito recordatório 24horas ou registro alimentar) para obter dados mais precisos nas diferentes categorias populacionais e regiões do país.

Visto que neste estudo o consumo de AC aumentou ao diminuir a faixa etária, é provável que esta tendência se aplique para crianças com menos de 10 anos. Desta forma, sugere-se que um estudo abrangente sobre o consumo alimentar de crianças menores de 10 anos de idade seja realizado, a fim de avaliar se essa tendência se confirma.

7. BIBLIOGRAFIA

C., BAZILIO, F. S. Avaliação de corantes artificiais em bebidas não alcoólicas e não gaseificadas. *Revista Analytica*, n.27, p.30-33, 2007.

AL-DEGS, Y. S. (2009). Determination of three dyes in commercial soft drinks using HPLC/MS and liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 485-490.

ALVES, S.P., BRUM, D.M., ANDRADE, E.C.B., NETTO, A.D.P. (2008). Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection. **Food Chemistry**, v. 107, p 489-496.

ANDRADE, F. I.; GUEDES, M. I. F.; VIEIRA, I. G. P.; MENDES, F. N. P.; RODRIGUES, P. A. S.; MAIA, C. S. C.; ÁVILA, M. M. M.; RIBEIRO, L. M. (2014). Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC. **Food Chemistry**, v. 157, p. 193-198.

ANDRADE, S.C. (2007). Índice de qualidade da dieta e seus fatores associados em adolescentes do estado de São Paulo. Dissertação (mestrado em nutrição) - faculdade de saúde pública, universidade de São Paulo, São Paulo.

ANJOS, Luiz Antonio; SOUZA, Danielle Ribeiro de; ROSSATO, Sinara Laurini. Desafios na medição quantitativa da ingestão alimentar em estudos populacionais. **Rev. Nutr. Campinas**, v. 22, n. 1, p. 151-161, jan./fev. 2009.

ARAÚJO, M.C.P., ANTUNES, L.M.G. Mutagenicidade e antimutagenicidade dos principais corantes para alimentos. **Rev. Nutr.** v.13, n. 2, p. 81-88, Maio/Ago, 2000.

AZBAR, N.; YONAR, T.; KESTIOGLU, K. Comparison of various advanced oxidation processes and chemical treatment methods for COD and color removal from polyester and acetate fiber dyeing effluent. *Chemosphere*, v. 55, n. 1, p. 35-43, 2004.

BONAN, S., FEDRIZZI, G., MENOTTA, S., ELISABETTA, C. (2013). Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. **Dyes and Pigments**. V. 9. P. 36-40.

BOTELHO, B.G., ASSIM, L.P., SENA, M.M. (2014). Development and analytical validation of a simple multivariate calibration method using digital scanner images for sunset yellow determination in soft beverages. **Food Chemistry**, v. 159, p 175-180.

BRASIL. Comitê de Especialistas da FAO/OMS em Aditivos Alimentares – JECFA. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/alimentos!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9

MSSzPy8xBz9CP0os3hnd0cPE3MfAwMDMydnA093Uz8z00B_A3cvA_2CbEdFADQgSKI!/?1dmy&urile=wcm%3Apath%3A/anvisa+portal/anvisa/inicio/alimentos/publicacao+alimentos/comite+de+especialistas+da+fao+oms+em+aditivos+alimentares++jecfa. Acessado em: 24 de março de 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução N° 44. Diário Oficial da União, Brasília, 25 de novembro de 1977.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n° 382 a 388, de 09 de agosto de 1999. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 09 ago, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Compêndio da Legislação Brasileira de Aditivos Alimentares**, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 259, de 20 de setembro de 2002. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 23 set, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 27, de 06 de agosto de 2010. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 09 ago, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução CNS/MS n° 04, de 24 de novembro de 1988. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 19 dez, 1988.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n° 540, de 27 de outubro de 1997. **Diário oficial [da] Republica Federativa do Brasil**. Poder Executivo, Brasília, DF, 28 out. 2009.

CAMPOS, P.R.P.; Desenvolvimento e validação de um método de quantificação de corantes em amostras de suco artificial em pó. Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da UFRN, RN. Natal. 2014.

CAROBA, D.C.; SILVA, M.V. (2005). Consumo alimentar de adolescentes matriculados na rede pública de ensino de piracicaba- sp. Campinas. *Segur. Aliment. Nutr.*, v.12, n.1, p.55- 66.

CECCHI, Heloisa M.; Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2° edição. Rev. - Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003. 206 pág.

CHUNG, K. T; CERNIGLIA, C. E. (1992). Mutagenicity of azo dyes: structure–activity relationships. **Mutat. Res.**, 277, pp. 201–220.

CHUNG, K; FULK, G; EGAN, M. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. *Applied and Environmental Microbiology*. V.35, n.3.p.558-562. 1983.

CIÇEK, F. *et al.* Low cost removal of reactive dyes using wheat bran. *Journal of Hazardous Materials*, v. 146, n. 1-2, p. 408-416, 2007.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Class Names and the International Numbering system for Food Additives**. Disponível em: <www.codexalimentarius.net/download/standards/7/cxg_036e.pdf> Acesso em: 02 jun. 2014.

COELHO, A. B; AGUIAR, D. R. D; FERNANDES, E. A. (2009). Padrão de consumo de alimentos no Brasil. Piracicaba, São Paulo, vol. 47, nº 02, p. 335-362, abr./jun.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L; FENNEMA, Owen R. *Química de alimentos de Fennema*. 4. ed. Porto Alegre, RS: Artemed, 2010. 900 p.

DIXIT, S., MISHRA, K.K., KHANNA, S.K., DAS, M. (2008). Benzoate and synthetic color risk assessment for fast food sauces served at street food joints of Lucknow, India. **American Journal of Food Technology**. V. 3, 183–191.

DIXIT, S., KHANNA, S.K., DAS, M. (2011). Usage pattern of synthetic food colours in different states of India and exposure assessment through commodities preferentially consumed by children. **Food Additives and Contaminants**. V. 28, p. 996–1005.

DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our food in the last and next millennium. **Int. J. Food Sci. echnolo.**, v. 35, p. 5-22, 2000.

FENG, J.; CERNIGLIA, C. E.; CHEN, H. (2012). Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. **Frontiers in Bioscience (Elite Edition)**, v. 1, n. 4, p. 568-86, 2012.

FOOD STANDARDS AGENCY- FSA. (2003). Survey of colours in soft drinks. *Food Survey Information Sheets*. No.37/03. Available at: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsiscoloursinfoods032003.pdf>.

FONSECA, I; PROENÇA, L; CAPELO, S. Cyclic voltammetry and unidirectional linear voltammetry: Potentialities in the study of corrosion processes. **Corros. Prot. Mater**. Vol. 34, nº 1. Lisboa. June 2015.

FERRO-LUZZI, Anna. Individual food intake survey methods. In: Proceedings of International Scientific Symposium on Measurement and Assessment of Food Deprivation and Undernutrition, Rome, Italy. **Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2002, p.101-125.

FREITAS, A. S; Tartrazina: Uma revisão das propriedades e análises de quantificação. ACTA Tecnologia, Vol. 7, Nº 2, pág. 65-72. 2012.

GAN, T; SUN, J. Y; CAO, S. Q; GAO, F; ZHANG, Y. X; YANG, Y. Q. (2012). One-step electrochemical approach for the preparation of graphene wrapped-phosphotungstic acid hybrid and its application for simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine. **Electrochim. Acta**, 74, pp. 151–157.

GHOREISHI, S.M; BEHPOUR, M; GOLESTANEH, M (2012). Simultaneous determination of sunset yellow and Tartrazine in soft drinks using gold nanoparticles carbon paste electrode. **Food Chemistry**, v. 132, pp. 637–641.

GIBSON, R. S. **Reproducibility in dietary assessment**. 2. ed. New York: Oxford Univ. Press, p. 129-148, 2005.

GOMES, J.C. **Legislação de alimentos e bebidas**. Viçosa: Editora UFV, 2007. P.307-344.
HABIBI, Y.M; MAHROUZ, M.R. Vignon: Isolation and structural characterization of protopectin from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydr Polymers* 60, 205, 213 (2005).

HATIMONDI, S. A.; JAGER, A. V.; TAVARES, M. F. M. **Determinação de corantes sintéticos em bebidas por eletroforese capilar**. In: Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, 1 0., 2002, São Carlos, Livro de Resumos. São Paulo: Universidade de São Paulo. 2002.

HOLANDA, Livia Batista; FILHO, Antonio de Azevedo Barros. Métodos aplicados em inquéritos alimentares. **Rev. Paul. Pediatria**, v. 24, n. 1, p. 62-70, mar. 2006.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Food Safety Policy, Science, and Risk Assessment: Strengthening the Connection**. Workshop Proceedings. Food Forum, Food and Nutrition Board. National Academy Press, Washington, DC, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **A Pesquisa de orçamentos familiares 2008–2009**. Disponível em : <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=25>. Acesso em: 03 de Ago. 2014.

JI, L., CHENG, Q., WU, K., YANG, X. (2016) Cu- BTC Frameworks-based electrochemical sensing platform for rapid and simple determination of Sunset yellow and Tartrazine. **Sensors and Actuators B: Chemical**. V. 231, p. 12-17.

KAPADIA, G.J. et al. Cancer chemopreventive activity of synthetic colorants used in foods, pharmaceuticals and cosmetic preparations. *Cancer Letter*, Limerick, v.129, n.1, p.87-95, 1998.

KROES, R; MUELLER, A.H.E; LAMBE, J; LOWIK, M.R.H. (2002). Assessment of intake from the diet. **Food and chemical toxicology**, oxford, v.40, n. 3, p.327-385

LANCASTER, F. E.; LAWRENCE, J. F. Determination of total non-sulphonated aromatic amines in tartrazine, sunset yellow FCF and allura red by reduction and derivation followed by HPLC. **Food Addit. Contami.**, v. 8, n. 3, p. 249-264, 1 991.

LIDON, F.; SILVESTRE, M. M. **Industrias Alimentares. Aditivos e Tecnologia.** Portugal: 2007.

LLAMAS, N.E., GARRIDO, M., DI NEZIO, M.S., BAND, B.S.F. (2009). Second order advantage in the determination of amaranth, sunset yellow FCF and tartrazine by UV-vis and multivariate curve resolution-alternating least squares. **Analytica Chimica Acta**, v. 655, p 38-42.

LORENZONI, A.S.G.; Aditivos presentes em alimentos para o publico infantil comercializados no brasil. Monografia apresentada ao curso de eng. De alimentos da UFRGS, RS. Porto Alegre. 2011.

MACHADO, F.C.S.; Henn, R.L.; Olinto, M.T.A.; Anjos, L.A.; Wahrlich, V.; Waissmann, W. (2012). Reproducibility and validity of a food frequency questionnaire based on food groups, in adult population of the metropolitan region of Porto Alegre, rev. Nutr. *Campinas*, vol. 25 no.1.

MACHADO, Fátima Carina de Souza. Reprodutibilidade e validade de um questionário de frequência alimentar baseado em grupos de alimentos, em população adulta da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS / por Fátima Carina de Souza Machado. – 2010.

MARTIN, F; OBERSON, J.M; MESCHIARI, M; MUNARI, C. Determination of 18- water-soluble artificial dyes by LC-MS in selected matrices. **Food Chemistry**. V. 197. Part B. Pages 1249-1255. 15 April 2016.

MEDEIROS, R. A.; O. FATIBELLO-FILHO. **Determinação do corante tartrazina por voltametria de pulso diferencial utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro.** In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 31 ., 2008, Águas de Lindóia. Anais eletrônicos... São Paulo: Sociedade Brasileira de Química. 2008. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/31 ra/resumos/T0786-1 .pdf>>. Acessado em: 03 de agosto de 2014.

MEKKAWY, H. A; ALI, M. O; ZAWAHRY, A. M. E. (1998). Toxic effect of synthetic and natural food dyes on renal and hepatic functions in rats. **Toxicol. Lett.**, 95 (1) p. 155.

MORRISON, J. M.; WRIGHT, C. M.; JOHN, G. H. (2012). Identification, isolation and characterization of a novel azoreductase from *Clostridium perfringens*. **Anaerobe**, v. 18, n. 2, p. 229-34.

MOUTINHO, I.L.S.; Bertges, L.C.; Assis, R.V.C. (2007). Prolonged use of food dye tartrazine (fd&c yellow n°5) and its effects on the gastric mucosa of wistar rats. *Braz j boil.* P. 67:141-5.

NAGARAJA, T; DESIRAJU, T. (1993). Effects of chronic consumption of metanil yellow by developing and adult rats on brain regional levels of noradrenaline, dopamine and serotonin, on acetylcholine esterase activity and on operant conditioning. *Food Chem. Toxicol.*, 31, pp. 41–44.

NCHS - NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. (1997). **Growth curves for children birth: 18 years.** Washington, DC: Print Office, (Vital Health Statistics Series, v. 11, n. 165).

ORSOLIN, P. C.; NEPOMUCENO, J. C. (2009). Potencial carcinogênico do açafrão (*Curcuma longa L.*) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*. **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão do UNIPAM**, v. 6, p. 55-69.

PEREIRA, R. A.; SICHIERI, R. Métodos de avaliação do consumo de alimentos. In: KAC, G.; SICHIERI, R.; GIGANTE, D. P. (Org.). **Epidemiologia nutricional.** Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz: Atheneu, 2007. p. 181-200.

PERES, F.; POLÔNIO, M.L.T. (2009). Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.8.

PIASINI, A.; STULP, S.; DAL BOSCO, S. M.; ADAMI, F. **Analysis of the concentration of tartrazine in food consumed by children and teenagers.** Revista Uninga Reviv. Rio de Janeiro: Ed. Master, 2014. Vol.19, n.1, pp.14-18.

PINHEIRO, M. C. O. (2012). Avaliação da exposição aos corantes artificiais por crianças entre 3 e 9 anos em relação ao consumo de balas. Dissertação (mestrado em vigilância sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Osvaldo cruz, Rio de Janeiro.

PINHO L.; Flavio, E.F.; Santos, S.H.; Botelho, A.C.; Caldeira, A.P. (2013). Excesso de peso e consumo alimentar em adolescentes de escolas públicas no norte de minas gerais. *Ciênc. Saúde coletiva.*

POLÔNIO, M. L. T. (2002). Aditivos alimentares e saúde infantil. In: accioly, e.; saunders, c.; lacerda, e. M. *Nutrição em obstetrícia e pediatria.* Rio de Janeiro: **Cultura Médica.** P. 511- 527.

POLÔNIO, M.L.T.; PERES, F. Consumo de aditivos alimentares e efeitos à saúde: desafios para a saúde pública brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25(8), p.1653-1666, 2009.

PRADO, Marcelo Alexandre; GODOY, Helena Teixeira. Corantes Artificiais em Alimentos. *Synthetic dyes in foods.* *Alim.Nutr.*, Araraquara, v. 14, n.2, p. 237-250, 2003.

- PRADO, M. A.; GODOY, H.T. Determinação de corantes artificiais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em pó para gelatina. **Química Nova**, v. 27, p. 22-26, 2004.
- PRADO, M.A.; GODOY, H.T (2007). Teores de corantes artificiais em alimentos determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 30, nº2, p. 268-273.
- RAFILI, F.; HAAL, J.D.; CERNIGLIA, C.E. (1997). Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by *Clostridium* species from the human intestinal tract. *Food and chemical Toxicology*. V. 35. Pp. 897-901.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. (2004). Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5 p. 771-780.
- RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**, São Paulo: Loyola, 1987. 445 p.
- RUBINI, N.P.; SOLA, D.; JACOB, C.M.A.; PASTORINO, A.C.; NETO, A.P.; BURNS, D.A.; SARINHO, E.S.C.; PRADO, E.A.; SOARES, F.J.P.; RIZZO, M.C.V.; SILVA, M.G.N. O conhecimento de pediatras sobre alergia alimentar: estudo piloto. *Revista Paulista de Pediatria*. v.25, n.4, São Paulo, Dez, 2007.
- SANTOS, M. E. **Análise simultânea dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo por espectrofotometria UV-VIS empregando-se métodos de calibração multivariada**. 2005. 103 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR, 2005.
- SANTOS, M. E.; NAGATA, N. **Determinação espectrofotométrica simultânea de corante amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo via regressão por componentes principais**. *Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.*, Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 51-60, 2005.
- SASAKI, Y.F; KAWAGUCHI, S; KAMAYA, A; OHSHITA, A; KABASAWA, K; IWAMA, K; TANIGUCHI, K; TSUDA, S. The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. *Mutat Res*. Aug. 519:103-19. 2002.
- SATO, G. S.; Chabaribery, D.; Maia, M. L.; Carvalho, F. C.; Neto, A. N. Marques, S. A.; *Agricultura em São Paulo* **1992**, 39 (supl. 1), 1.
- SHILS, M.; OLSON, J.; SHIKE, M. (2003). *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença*. São Paulo: **Manole**.
- SCHUMANN, S.P.A; POLONIO, M.L.T; GONÇALVES, E.C.B.A. **Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(3): 534-539, jul.-set. 2008.

SLATER, Betzabeth *et al.* Validação de Questionários de Frequência Alimentar - QFA: considerações metodológicas. **Rev. Bras. epidemiol.** v. 6, n. 3, p. 200-208, set. 2003.

STEVENSON, J.; MACCANN, D.; BARRET, A.; CRUMPLER, D.; DALEN, L.; GRIMSHAW, K.; KITCHIN, E.; LOK, K.; PORTEOUS, L.; PRINCE, E.; SONUGABARKE, E.; WARNER, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **The Lancet.** v. 370, p. 1560-1567.

TANG, B; XI, C; ZOU, Y; WANG, G; LI, X; ZHANG, L; CHEN, D; ZHANG, J. (2014). Simultaneous determination of 16 synthetic colorants in hotpot condiment by high performance liquid chromatography. *Journal of chromatography B.* v. 960. Pp. 87-91.

TENNANT, D.R. (2008). Screening potential intakes of colour additives used in non-alcoholic beverages. **Food And Chemical Toxicology.** V. 46, Pp. 1985-1983.

THOMPSON, Frances E.; BYERS, Tim. Dietary assessment resource manual. **J. Nutr.**, v.124, n. 11, p. 2245-70, Nov. 1994.

TOLEDO, M. Cecília & BENTO, Fernando M. – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, SP. **Revista Higiene Alimentar** – volume 8, n. 33, setembro 1994.

TRIPATHI, M., DIXIT, S., KHANNA, S.K., DAS, M. (2010). Intake pattern of synthetic colours by different age and socio-economic consumer groups of lucknow, India. **International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health.** V. 3, 19–31.

VARELA, P., FISZMAN, S.M. (2013). Exploring consumers' knowledge and perceptions of hydrocolloids used as food additives and ingredients. **Food Hydrocolloids,** v.30, n.1, p.477-484.

VASCONCELOS, Francisco de Assis Guedes de. Tendências históricas dos estudos dietéticos no Brasil. **Hist. Cienc. Saude-Manguinhos,** Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 197-219, jan./mar. 2007.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Espectrofotometria derivativa: uma estratégia simples para a determinação simultânea de corantes em alimentos. *Quim. Nova,* v. 29, n. 2, p. 230-233, 2006.

VILLAR, Betzabeth Slater. **Desenvolvimento e validação de um questionário semi-Quantitativo de frequência alimentar para adolescentes.** Tese de Doutorado da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

XING, Y; MENG, M; XUE, H; ZHANG, T; YIN, Y; XI, R. (2012). Development of a polyclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of sunset yellow FCF in food samples. **Talanta,** v. 99, pp. 125–131.

WARD, N.I.(1997). Assessment of chemical factors in relation to child hyperactivity. **J. Nutr. Environ. Med.** v.7, n.4, p.333-342.

World Health Organization (WHO) (1987). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. 1987. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc70.htm>>. Acesso em: 15 de jan. 2015.

WILLETT WC. Invited Commentary: **Comparison of Food Frequency Questionnaires**. Am J Epidemiol. 1998; 148(12):1157-9.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food**. 1987. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc70.htm>> Acesso em: 03 ago. 2014.

YADAV, A; KUMAR, A; TRIPATHI, A; DAS, M. (2013). Sunset yellow FCF, a permitted food dye, alters functional responses of splenocytes at non-cytotoxic dose. **Toxicology Letters**, v. 217, pp. 197–204.

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.

YE, X; DU, Y; LU, D; WANG, C. (2013). Fabrication of beta-cyclodextrin-coated poly (diallyldimethylammonium chloride)-functionalized graphene composite film modified glassy carbon-rotating disk electrode and its application for simultaneous electrochemical determination colorants of sunset yellow and tartrazine. **Anal. Chim. Acta**, 779, pp. 22–34.