

## VALIDAÇÃO DE ESTRATÉGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DE CORANTE SINTÉTICO EM MATRIZES ORGÂNICAS COMPLEXAS EMPREGANDO FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS

**Augusto Cezar Magalhães Aleluia<sup>1</sup>**; Mariana Moitinho Ferraz de Oliveira<sup>2</sup>; Katharine Valéria Saraiva Hodel<sup>3</sup>; Bruna Machado<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Bolsista CNPq – DTI A; augustoaleluia@hotmail.com

<sup>2</sup> Graduanda em Ciências Biológicas – UESB;

<sup>3</sup> Especialista I – Coordenadora, SENAI-CIMATEC;

<sup>4</sup> Professora Titular – Orientadora, SENAI-CIMATEC; brunam@fieb.org.br

### RESUMO

O corante amarelo de tartrazina é um azo-corante (sintético) com diversas aplicações nas indústrias alimentícia e farmacêutica. Sua toxicidade é elevada, podendo ocasionar diversas doenças. A espectrofotometria UV-VIS tem sido largamente aplicada nas investigações de espécies cromóforas que absorvem radiação de forma específica, sendo útil para determinação da tartrazina. No método proposto, se faz necessária a otimização das condições de preparo da solução contendo tartrazina de modo multivariado e a validação da estratégia considerando os parâmetros analíticos pertinentes. Um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> foi aplicado nesse método. Os resultados foram comparados com as disposições de compêndios nacionais e internacionais, como a farmacopeia brasileira e CODEX. O método apresenta boa sensibilidade (LD = 0,0012 g L<sup>-1</sup>, LQ = 0,0043 g L<sup>-1</sup>) e repetibilidade (RSD = 0,16 %), além de não apresentar efeito de matriz, uma vez que as inclinações das curvas analíticas em solução aquosa e na amostra são estatisticamente semelhantes.

**PALAVRAS-CHAVE:** tartrazina; espectrofotometria; suplementos; quimiometria.

### 1. INTRODUÇÃO

Substância corante é qualquer composto de natureza orgânica ou inorgânica, natural ou sintético, que é adicionado aos medicamentos, alimentos ou correlatos com a finalidade única de corá-los ou de alterar a sua cor original<sup>1</sup>. A Farmacopeia Brasileira<sup>1</sup> e a Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas juntamente com a Organização Mundial da Saúde estabelecem os tipos de corantes permitidos, indicações, restrições e exigências em seu uso, bem como limites de ingestão, a depender do tipo de alimento e/ou suplemento, conforme o CODEX ALIMENTARIUS<sup>2</sup>, a exemplo dos limites para o amarelo de tartrazina (INS102), um dos principais corantes utilizados. Corantes sintéticos oferecem maior risco à saúde humana, aumentando as possibilidades de surgimento de alergias, asma e até transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH). A determinação desses corantes pode ser realizada por diversas técnicas analíticas, empregando a eletroquímica<sup>3</sup> e a cromatografia líquida de alta eficiência<sup>4</sup>. Contudo, métodos espectrofotométricos, que possuem como vantagem o baixo custo e a facilidade de aplicação em relação aos métodos cromatográficos e eletroquímicos, têm sido propostos, a exemplo de Fooladi e colaboradores<sup>5</sup> que apresentaram a determinação de tartrazina em amostras agrícolas de açafrão utilizando a espectrofotometria UV-VIS para quantificação do corante. O planejamento fatorial, enquanto ferramenta quimiométrica, permite a otimização das condições experimentais para determinação de tartrazina, de modo multivariado, já que a abordagem multivariada possibilita uma análise de todas as variáveis e seus efeitos sobre a determinação do analito naquela amostra. Assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um planejamento fatorial completo de dois níveis para otimizar o preparo da solução de tartrazina e sua determinação empregando espectrofotometria UV-VIS e validar o método conforme as exigências da química analítica, comparando com o disposto nas farmacopeias brasileira e americana.

### 2. METODOLOGIA

O corante estudado nesse trabalho foi o amarelo de tartrazina (fórmula química C<sub>16</sub>H<sub>9</sub>N<sub>4</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub>, massa molar 534,36 g mol<sup>-1</sup>, 98% pureza), da marca Dinâmica, CAS 1934-21-0. Foram preparadas soluções de acetato de amônio (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>, massa molar 77,08 g mol<sup>-1</sup>, marca Quimex, 97% pureza) na faixa de concentração de 0,02 a 0,1 mol L<sup>-1</sup> para solubilizar a tartrazina que variou de concentração entre 0,001 e 0,004 %. Utilizou-se o espectrofotômetro da Biochrom modelo WPA Biowave. A matriz do planejamento fatorial completo com dois níveis e três fatores foi construída incluindo o ponto central (três réplicas), totalizando onze experimentos. Os fatores e seus níveis estudados foram: concentração de acetato de amônio (+1: 0,1 mol L<sup>-1</sup>, -1: 0,02 mol L<sup>-1</sup>); concentração de tartrazina (+1: 0,004 %, -1: 0,001 %) e comprimento de

onda,  $\lambda$  (+1: 428 nm, -1: 426 nm). No ponto central os valores reais das variáveis foram 0,06 mol L<sup>-1</sup>, 0,0025 % e 427 nm para concentração de acetato de amônio, de tartrazina e comprimento de onda, respectivamente. Os dados do planejamento foram analisados no programa Statistica 6.0. Para as etapas iniciais da validação desse método analítico foram realizadas a comparação das inclinações das curvas analíticas (matriz e aquosa) para avaliar o efeito matriz, ensaios de limite de detecção e quantificação e repetibilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A FB sugere que a tartrazina (0,001 %) seja dissolvida em solução aquosa de acetato de amônio 0,02 mol L<sup>-1</sup> para sua determinação espectrofotométrica, utilizando  $\lambda = 426$  nm. Já a monografia da tartrazina no CODEX indica que essa determinação seja realizada utilizando solução aquosa simples e  $\lambda = 427$  nm. Portanto, a aplicação do planejamento fatorial permitiu avaliar a contribuição do acetato de amônio e do  $\lambda$  para a determinação da tartrazina nesse método. Analisando o Gráfico de Pareto a seguir (Figura 1), é possível perceber, que ao nível de 95% de confiança ( $p = 0,05$ ), apenas o fator [tartrazina] é significativo, com efeito positivo, ou seja, quando maior a concentração do corante, maior a absorvância. Os fatores [C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>] e  $\lambda$  não foram estatisticamente significativos, logo não são determinantes para o sinal analítico. Assim, optou-se por utilizar a solução aquosa simples de tartrazina para determinação espectrofotométrica. O  $\lambda$  é característico de cada molécula, e, embora não tenha apresentado fator significativo nesse planejamento multivariado, influencia diretamente no sinal de absorvância. Logo, o  $\lambda$  foi analisado de modo univariado, conforme Figura 2: os maiores valores de absorvância foram encontrados em 426 nm (para solução aquosa de tartrazina, 0,611) e em 427 nm (para a solução de tartrazina em C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>, 0,475), sendo que o sinal de absorvância para a solução aquosa 0,001 % de tartrazina foi maior do que para a solução de tartrazina 0,001 % em C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>.

Figura 1. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial.

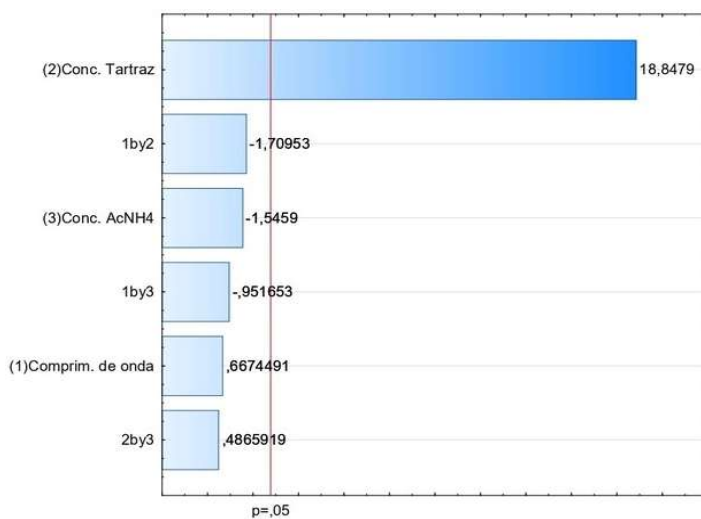
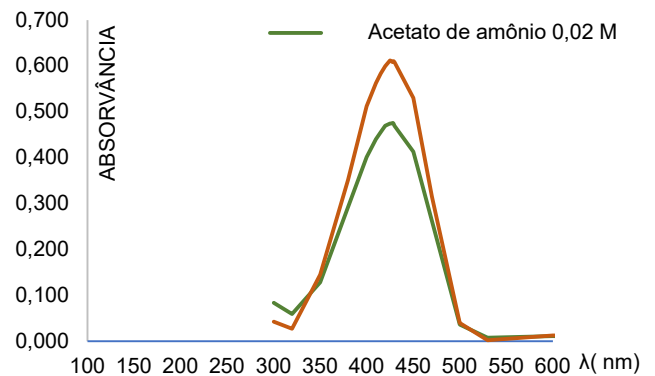


Figura 2. Absorvância da tartrazina.



As inclinações das curvas analíticas foram comparadas com o objetivo de avaliar a interferência da matriz orgânica na determinação do analito (tartrazina). Foram construídas duas curvas analíticas do corante, uma em solução aquosa (Figura 3) e a outra em uma solução de amostra (suplemento nutricional) contendo o corante amarelo de tartrazina (Figura 4). As equações das curvas foram comparadas através do intervalo de confiança estabelecido ao nível de 95% de confiança ( $p = 0,05$ ) para ambos os coeficientes angular e linear, sendo a equação na matriz da amostra e a equação na solução aquosa  $y = (33,22 \pm 3,59) + (0,1332 \pm 0,09)$  e  $y = (36,57 \pm 4,40) + (0,0062 \pm 0,11)$ , respectivamente.

Figura 3. Curva analítica em solução aquosa.

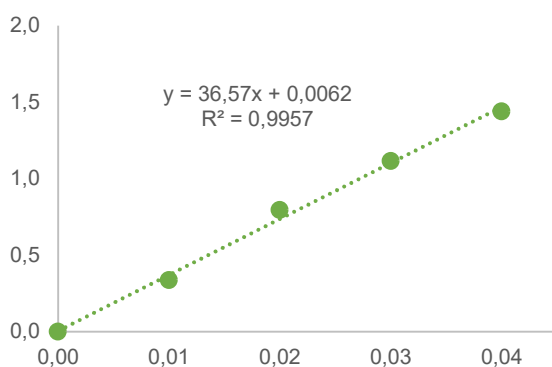
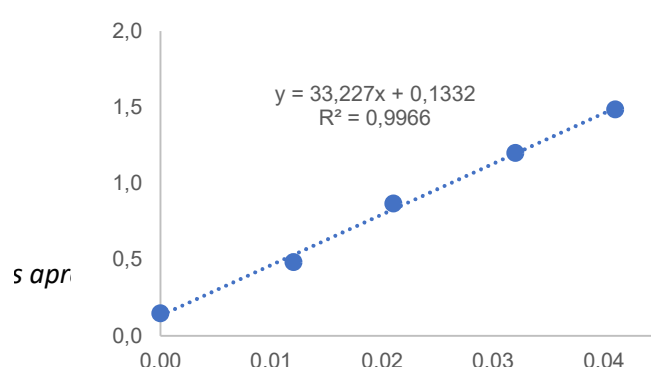


Figura 4. Curva analítica na amostra de suplemento.



Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), enquanto figuras de mérito importantes para avaliar subjetivamente a sensibilidade de método, foram calculados a partir da multiplicação de três vezes o desvio padrão dividido pela inclinação da curva e dez vezes o desvio padrão dividido pela mesma inclinação, respectivamente, sendo o LD = 0,0012 g L<sup>-1</sup> e LQ = 0,0043 g L<sup>-1</sup>. O desvio padrão foi obtido a partir do conjunto de dados resultantes da leitura (em triplicata) de 10 brancos no espectrofotômetro. O branco analítico foi preparado apenas com água destilada, já que não foi utilizado o acetato de amônio nesse método.

A repetibilidade do método foi avaliada através do desvio padrão relativo (RSD) na determinação da tartrazina pela espectrofotometria UV-VIS, sendo 0,16 % para uma solução contendo a massa de 0,1 g de amostra e 0,19 % para uma solução contendo 0,3 g. Foram preparadas 3 réplicas de cada com 10 leituras de absorvância para cada réplica. Logo, o método apresenta boa precisão. O teor da tartrazina na amostra estudada foi de 0,0093 g L<sup>-1</sup>, o que corresponde, em termos de massa de amostra a um teor de 3,1 mg g<sup>-1</sup> (3,1 mg de tartrazina por grama de amostra)

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados do planejamento fatorial completo e da análise univariada do comprimento de onda permitiram concluir que a determinação espectrofotométrica UV-VIS do amarelo de tartrazina pode ser realizada a partir do preparo de solução aquosa, sem a utilização de acetato de amônio, empregando o comprimento de onda em 426 nm. O método está parcialmente validado, contudo as figuras de mérito exatidão e robustez ainda estão sendo realizadas. A exatidão será desenvolvida através da comparação dos resultados de concentração de tartrazina na amostra obtida por esse método com o protocolo proposto pelo CODEX empregando HPLC e também através de teste de Spike. Esse método será aplicado a outras amostras de suplementos nutricionais e farmacêuticos objetivando a determinação da tartrazina a partir da obtenção de soluções aquosas das amostras.

#### Agradecimentos

Ao CNPq (Bolsa DTI A / Processo 380865/2023-8).

#### 5. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, 6<sup>a</sup> ed, vol. 1, 2019
- <sup>2</sup> FAO/WHO. Codex Alimentarius: general standard for food additives - CODEX STAN 192-1995. Revisão 2021
- <sup>3</sup> CHEBOTAREV, A., KOICHEVA, A., BEVZIUK, K., PLIUTA, K., SNIGUR, D. Simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine in soft drinks on carbon-paste electrode modified by silica impregnated with cetylpyridinium chloride. Journal of Food Measurement and Characterization, v. 13, 2019
- <sup>4</sup> SULEKOVA, M., HUDAK, A., SMRCOVA, M. The determination of food dyes in vitamins by RP-HPLC. Molecules, v. 21, 2016
- <sup>5</sup> FOOLADI, E., EBRAHIMI, M., NAKHAEI, N., ASADI, K. A new spectrophotometric method for determination of tartrazine in saffron samples based on modified magnetic graphene oxide nanocomposite. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, v. 9, 2021