



FURG

Dissertação de Mestrado

**SCREENING E COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE
CORANTES ALIMENTÍCIOS EM ESTADO SÓLIDO**

Ana Maria Munaretto Durigon

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2020

SCREENING E COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE CORANTES ALIMENTÍCIOS EM ESTADO SÓLIDO

por

ANA MARIA MUNARETTO DURIGON

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2020

Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a dissertação de Mestrado

SCREENING E COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE CORANTES ALIMENTÍCIOS EM ESTADO SÓLIDO

elaborada por

ANA MARIA MUNARETTO DURIGON

Como requisito para a obtenção do título de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. Daiane Dias
(Presedente-Orientador)



Prof. Dr. Marcelo Godoi (FURG - RS)



Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho (UFSM - RS)

Rio Grande, 18 de junho de 2020.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente as principais pessoas da minha vida, que tornaram meu caminho até aqui possível, que nunca mediram esforços pra me proporcionar o necessário, que me passaram valores, por terem sido exemplo, à vocês eu devo tudo, meu pai Ivo e minha mãe Vera, eu amo vocês.

Agradeço a minha orientadora Dra. Daiane Dias pela confiança, pelo conhecimento compartilhado, por me presentear com este trabalho, mas principalmente por ter acreditado no meu potencial quando eu não acreditei.

Meus agradecimentos também a minha coorientadora Gêssica Domingos da Silveira, que além da inestimável colaboração, acreditou no meu potencial para a realização deste trabalho.

Agradeço aos professores Dr. Leandro Machado de Carvalho e Dr. Marcelo Godoi por terem compartilhado seu conhecimento e tempo para a banca de defesa deste trabalho.

Agradeço aos professores Dr. Juliano Rosa de Menezes Vicenti e a Dra. Rosilene Maria Clementin pelas valiosas contribuições no exame de qualificação.

À todos os meus colegas de laboratório, em especial a Juliana, Mônica, Greyce, Flávio, Leandro, Michele, João e Roni, agradeço pelo conhecimento compartilhado, pela paciência, incentivo, apoio e ajuda que recebi durante todo o período que estive no LEEA.

Agradeço também ao meu namorado Evandro pela paciência, amor, carinho, respeito e companheirismo. A ele eu devo meu equilíbrio nas horas de crise, meu respiro em meio às horas atribuladas e meu olhar mais leve sobre a vida.

Às minhas amigas, que entenderam minhas ausências, me incentivaram, se entristeceram com minhas tristezas e se alegraram com as minhas conquistas.

À todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho, minha formação ou minha caminhada, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	XI
RESUMO	XII
ABSTRACT	XIII
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. OBJETIVO	19
2.1. Objetivo Geral.....	19
2.2. Objetivos Específicos.....	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1. Corantes alimentícios	21
3.2. Métodos para análise de corantes em matrizes alimentícias.....	25
3.2.1. Métodos cromatográficos.....	25
3.2.2. Métodos voltamétricos	27
3.3. Voltametria.....	35
3.3.1. Técnicas voltamétricas	36
3.3.2. Voltametria de micropartículas imobilizadas	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1. Reagentes, soluções e amostras.....	44
4.2. Instrumentação	45
4.3. Procedimento Analítico	46
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	48
5.1. <i>Screening</i> em estado sólido de corantes alimentícios	48
5.1.1. Comparação entre as respostas voltamétricas dos corantes em estado sólido em diferentes tipos de eletrólitos e concentrações.	48
5.1.2 <i>Screening</i> em estado sólido de amostras de corantes culinários comerciais.....	75
5.2. Elucidação do mecanismo do corante amarelo crepúsculo em estado sólido através da análise por voltametria cíclica	82

5.2.1. Comparação entre o comportamento eletroquímico do corante amarelo crepúsculo em estado sólido e em solução	89
5.2.1. Caracterização espectroscópica e morfológica dos produtos dos processos de oxidação/redução	91
6. CONCLUSÃO	97
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de barras com número de trabalhos publicados de 2002 a 2019 com a pesquisa das palavras “voltammetry, food, dye” em <i>Web of Science Core Collection</i>	28
Figura 2. Gráfico de barras com número de trabalhos publicados de 2002 a 2019 com a pesquisa das palavras “voltammetry, food, dye” associadas ao nome dos corantes “tartrazine” ou “sunset yellow”, em <i>Web of Science Core Collection</i>	28
Figura 3. Gráfico de barras com número de trabalhos publicados de 2002 a 2019 com a pesquisa das palavras “voltammetry, food, dye” associadas ao nome dos corantes “erythrosine”, “indigotine” ou “brilliant blue”, em <i>Web of Science Core Collection</i>	29
Figura 4. (a) Aplicação de potencial na forma triangular para a voltametria cíclica e (b) voltamograma cíclico.	36
Figura 5. Representação esquemática da voltametria de onda quadrada.	37
Figura 6. Desenho esquemático do sistema eletrodico de três fases.	38
Figura 7. Voltamograma de onda quadrada do corante azul indigotina imobilizado em PIGE.....	41
Figura 8. Reações de oxidação e redução para o corante indigotina.....	42
Figura 9. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -0,6 V; E _{final} : 1,3 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	48
Figura 10. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -0,6 V; E _{final} : 1,3 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	50
Figura 11. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 1,3 V; E _{final} : -0,6 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	52
Figura 12. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 1,3 V; E _{final} : -0,6 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.....	53

Figura 13. Esquema de representação do <i>screening</i> voltamétrico dos compostos em estado sólido em HCl 0,1 mol L ⁻¹	55
Figura 14. Esquema de representação do <i>screening</i> voltamétrico dos compostos em estado sólido em HCl 1 mol L ⁻¹	55
Figura 15. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaOH 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 0,9 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	56
Figura 16. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaOH 1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 0,9 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	58
Figura 17. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em NaOH 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 0,9 V; E _{final} : -1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	60
Figura 18. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em NaOH 1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 0,9 V; E _{final} : -1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	61
Figura 19. Esquema de representação do <i>screening</i> voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	63
Figura 20. Esquema de representação do <i>screening</i> voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaOH 1 mol L ⁻¹	63
Figura 21. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	64
Figura 22. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	66
Figura 23. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	68

Figura 24. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	69
Figura 25. Esquema de representação do <i>screening</i> voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaCl 0,1 mol L ⁻¹	72
Figura 26. Esquema de representação do <i>screening</i> voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaCl 1 mol L ⁻¹	72
Figura 27. Voltamogramas com a identificação dos picos específicos na (a) varredura anódica e catódica do amarelo crepúsculo, (b) varredura anódica do amarelo tartrazina, (c) varredura anódica e catódica do vermelho eritrosina, (d) varredura anódica e catódica do azul indigotina e (e) varredura anódica e catódica do azul brilhante a partir do <i>screening</i> voltamétrico utilizando micropartículas imobilizadas para análise de corantes alimentícios.....	73
Figura 28. Voltamogramas anódicos para a amostra de corante em pó amarelo e padrão amarelo tartrazina em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	76
Figura 29. Voltamogramas catódicos para a amostra de corante em pó azul e padrões azul indigotina e azul brilhante em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	77
Figura 30. Voltamogramas (a) anódicos para a amostra de corante em pó preto e padrões amarelo tartrazina, azul indigotina e azul brilhante e (b) catódicos para a amostra de corante em pó preto e padrão azul brilhante em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	78
Figura 31. Voltamogramas (a) anódicos para a amostra de corante em pó verde e padrões amarelo tartrazina, azul indigotina, azul brilhante e vermelho eritrosina e (b) catódicos para a amostra de corante em pó verde e padrão azul indigotina em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	79
Figura 32. Voltamogramas (a) anódicos para a amostra de corante em pó rosa e padrões azul indigotina, azul brilhante e vermelho eritrosina e (b) catódicos para a amostra de corante em pó rosa e padrão vermelho eritrosina em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : -1,2 V; E _{final} : 1,2 V, E _{step} : 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.	81

Figura 33. Voltamograma anódico em estado sólido de amarelo crepúsculo por CV em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 0,25 V; E _{superior} : 1,4 V, E _{inferior} : -1,4 V, E _{final} : 1,4 V, E _{step} : 2,44 mV, velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹	83
Figura 34. Esquema de reação de oxidação radicalar da hidroxila	84
Figura 35. Esquema de reação de redução do grupo azo a hidrazo.	85
Figura 36. Esquema de reação de redução do grupamento hidrazo a aminas correspondentes.....	85
Figura 37. Esquema de reação de oxidação das a aminas correspondentes.	85
Figura 38. Reação redox global para o corante amarelo crepúsculo demonstrado pela voltametria cíclica anódica.....	86
Figura 39. Voltamograma catódico em estado sólido de amarelo crepúsculo por CV em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 0,25 V; E _{superior} : 1,4 V, E _{inferior} : -1,4 V, E _{final} : 1,4 V, E _{step} : 2,44 mV, velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹	87
Figura 40. Esquema de reação de redução da ligação azo	88
Figura 41. Esquema de reação de oxidação das aminas.....	88
Figura 42. Esquema de reação de oxidação da hidroxila da amina.	88
Figura 43. Reação redox global para o corante amarelo crepúsculo demonstrado pela voltametria cíclica catódica.....	89
Figura 44. Voltamogramas anódicos em (a) estado sólido e em (b) solução e catódicos em (c) estado sólido e em (d) solução de amarelo crepúsculo por CV em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ . Condições experimentais: E _{inicial} : 0,25 V; E _{superior} : 1,4 V, E _{inferior} : -1,4 V, E _{final} : 1,4 V, E _{step} : 2,44 mV, velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹	90
Figura 45. Espectros de FTIR de 900 a 1500 cm ⁻¹ obtidos para o (a) padrão amarelo crepúsculo e para o (b) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de 1,3 V.....	92
Figura 46. Espectros de FTIR de 1400 a 1700 cm ⁻¹ obtidos para o (a) padrão amarelo crepúsculo e para o (b) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de -1,3 V.	93
Figura 47. Imagens de MEV do corante amarelo crepúsculo (a) padrão de amarelo crepúsculo, (b) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de 1,3 V e (c) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de -1,3 V.	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Corantes sintéticos orgânicos permitidos pela ANVISA na manufatura de alimentos e bebidas e sua classificação.	22
Tabela 2. Trabalhos encontrados na literatura sobre determinação de corantes alimentícios sintéticos em amostras de alimentos.	30
Tabela 3. Trabalhos que utilizam a VIM em estudo com corantes.	39
Tabela 4. Estrutura química e classe dos corantes utilizados neste trabalho.	44
Tabela 5. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em HCl 0,1 mol L ⁻¹	49
Tabela 6. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em HCl 1 mol L ⁻¹	51
Tabela 7. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em HCl 0,1 mol L ⁻¹	53
Tabela 8. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em HCl 1 mol L ⁻¹	54
Tabela 9. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	57
Tabela 10. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 1 mol L ⁻¹	59
Tabela 11. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 0,1 mol L ⁻¹	61
Tabela 12. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 1 mol L ⁻¹	62
Tabela 13. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaCl 0,1 mol L ⁻¹	65
Tabela 14. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaCl 1 mol L ⁻¹	67
Tabela 15. Potenciais de picos dos corantes em estado sólido em NaCl 0,1 mol L ⁻¹	69
Tabela 16. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em NaCl 1 mol L ⁻¹	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. ANVISA, agência nacional de vigilância sanitária
2. CV, voltametria cíclica, do inglês *cyclic voltammetry*
3. FTIR, espectrômetria infravermelho de transformada de Fourier, do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*
4. HPLC, cromatografia líquida de alta resolução, do inglês *high performance liquid chromatograph*
5. SWV, voltametria de onda quadrada, do inglês *square wave voltammetry*
6. GCE, eletrodo de carbono vítreo, do inglês *glassy carbon electrode*
7. MWCNTs, nanotubos de carbono de paredes múltiplas, do inglês *multi-walled carbon nanotubes*
8. PIGE, eletrodo de grafite impregnado por parafina, do inglês *paraffin impregnated graphite electrode*
9. VIM, voltametria de micropartículas imobilizadas, do inglês *voltammetry of immobilized microparticles*
10. AFM, microscopia de força atômica, do inglês *atomic force microscopy*
11. CPE, eletrodo de pasta de carbono, do inglês *carbon paste electrode*
12. MEV, microscopia eletrônica de varredura
13. HRFESM-EDX, microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo de alta resolução, do inglês *high-resolution field emission scanning electron microscopy*
14. FIB-FESEM, microscopia eletrônica de varredura de campo de emissão com feixe de ions focalizado, do inglês *focusing ion beam-field emission scanning electron microscopy*

RESUMO

Título: SCREENING E COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DE CORANTES ALIMENTÍCIOS EM ESTADO SÓLIDO

Autor: Ana Maria Munaretto Durigon

Orientador: Prof. Dr. Daiane Dias

Palavras-chave: Voltametria, screening, mecanismo, estado sólido, corantes alimentícios.

Os corantes alimentícios muito utilizados na indústria geram preocupação aos órgãos reguladores e aos consumidores visto que estes estão cada vez mais ligados a efeitos deletérios à saúde humana. Tendo em vista que grande parte das amostras alimentícias se apresentam na forma sólida, um método eletroquímico de *screening* em estado sólido foi desenvolvido neste trabalho para identificação simultânea de cinco corantes (amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, vermelho eritrosina, azul indigotina e azul brilhante) em matrizes alimentícias utilizando a voltametria de micropartículas imobilizadas (VIM). Para isso, a avaliação do eletrólito suporte (HCl, NaOH e NaCl) e das suas concentrações (0,1 e 1 mol L⁻¹) foi realizada, sendo escolhido NaCl 0,1 mol L⁻¹, uma vez que utilizando a voltametria de onda quadrada no sentido anódico e catódico, estas condições possibilitaram a identificação de todos os corantes em estudo. A aplicação do método foi realizada em amostras comerciais de corantes culinários em pó sendo obtidos resultados satisfatórios demonstrando a eficácia do método proposto. Além disso, a avaliação do comportamento eletroquímico em estado sólido do azo corante amarelo crepúsculo utilizando a VIM foi realizado a partir de análises de voltametria cíclica e permitiu a proposição de mecanismo das reações redox deste corante. Análises de espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier foram utilizadas para confirmação dos resultados obtidos pela VIM, evidenciando a formação dos produtos de algumas das etapas de reações propostas do mecanismo. A elucidação de processos sólido-sólido e dissolutivos do amarelo crepúsculo foi possível através da comparação entre os

comportamentos eletroquímicos em estado sólido e em solução, tendo seus resultados corroborados pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

ABSTRACT

Title: SCREENING AND ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF SOLID STATE FOOD DYES

Author: Ana Maria Munaretto Durigon

Advisor: Prof. Dr. Daiane Dias

Keywords: Voltammetry, screening, mechanism, solid state, food dyes.

Food dyes, widely used in industry, are of concern to regulators and consumers since they are increasingly linked to harmful effects on human health. Considering that most food samples are presented in solid form, an electrochemical method of solid state screening was developed in this work for simultaneous identification of five dyes (sunset yellow, tartrazine yellow, erythrosine, indigotine and brilliant blue) in food matrices using voltammetry of immobilized microparticles (VIM). For this, the evaluation of the support electrolyte (HCl, NaOH and NaCl) and its concentrations (0.1 and 1 mol L⁻¹) was performed, with NaCl 0.1 mol L⁻¹ being chosen, since using voltammetry square wave in anodic and cathodic sense, these conditions allowed the identification of all dyes under study. The application of the method was carried out on commercial samples of powdered food colors and satisfactory results were obtained demonstrating the effectiveness of the proposed method. In addition, the evaluation of the electrochemical behavior in solid state of the sunset yellow azo dye using VIM was carried out from cyclic voltammetry analyzes and allowed the proposition of a mechanism for the redox reactions of this dye. Fourier transform infrared spectrometry analyzes were used to confirm the results obtained by VIM, showing the formation of the products of some of the proposed reaction steps of the mechanism. The elucidation of solid-solid and dissolutive sunset yellow processes was possible through the comparison between the electrochemical behaviors in solid state and in solution, having their results corroborated by the analysis of scanning electron microscopy.

1. INTRODUÇÃO

O rápido desenvolvimento da indústria de alimentos levou a crescente incorporação de aditivos alimentares, como conservantes, adoçantes, espessantes e corantes que são utilizados para garantir a melhora das propriedades organolépticas dos alimentos (KOBYLEWSKI; JACOBSSON, 2012). Dentre estes, os corantes apresentam extrema relevância uma vez que a qualidade e o sabor dos alimentos estão frequentemente associados à sua cor (VARZAKAS; TZIA, 2015).

Apesar destes benefícios, os corantes artificiais são uma classe de aditivos sem nenhum valor nutritivo, introduzidos nos alimentos e bebidas com o único objetivo de conferir cor (ANASTÁCIO et al, 2016). Do ponto de vista toxicológico, vários estudos têm sido realizados para verificar os efeitos nocivos dos corantes aos seres humanos, uma vez que estes vem sendo associados ao surgimento de alergias, problemas respiratórios e gástricos, a hiperatividade em crianças e até mesmo a efeitos carcinogênicos (MPOUNTOUKAS et al, 2010).

A legislação brasileira atual, através das Resoluções nº 382 a 388, de 9 de agosto de 1999, da ANVISA (agência nacional de vigilância sanitária), permite o uso de apenas 11 corantes artificiais em alimentos e bebidas tendo suas concentrações máximas definidas e a exigência da descrição dos compostos presentes nas lista de ingredientes do produto comercializado (Vermelho de Eritrosina: 0,005 g/100g; Amarantho, Azorrubina, Ponceau 4R e Amarelo Crepúsculo: 0,01 g/100g; Vermelho 40, Amarelo Tartrazina, Azul de Indigotina, Azul Brilhante, Verde Rápido e Azul Patente V: 0,015 g/100g) (ANVISA, 1999).

Assim como no Brasil, estes corantes são permitidos na formulação de alimentos na União Europeia (EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL DIRECTIVE, 1994). Já a legislação americana proíbe a utilização de 4 (Amaranto, Ponceau 4R, Azorrubina e Azul Patente V) dos 11 corantes usualmente empregados em alimentos no Brasil (U.S. FDA, 2015). A partir disso, qualquer alimento que contenha uma substância não aprovada pela legislação vigente na região em que é

fabricado é considerado adulterado e está sujeito a medidas coercitivas para removê-lo do comércio (AMCHOVA; KOTOLOVA; RUDA-KUCEROVA, 2015).

Dentre os métodos analíticos para a determinação de corantes alimentícios, destaca-se a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) (VLASE et al, 2014). Porém o preparo de amostra para estas análises se faz necessário, visto que as substâncias contidas em alimentos podem interferir ou tornar inviável a determinação dos corantes nestas matrizes (KUCHARSKAA; GRABKA, 2010). Entretanto, devido à etapa de preparo de amostra que é considerada grande fonte de erros (KRUG, 2010) e ao fato de que estes equipamentos apresentam alto custo de aquisição, manutenção e elevado consumo de reagentes (VASANTHI; DEVENDIRAN; NARAYANAN, 2017) faz-se necessário a procura de novas alternativas para identificação deste tipo de compostos nestas matrizes.

Por outro lado, estes compostos apresentam grande riqueza de sinais gerados através da oxidação e da redução dos grupos funcionais presentes em suas cadeias moleculares o que possibilita sua caracterização e determinação por métodos eletroquímicos (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010).

Dentre os métodos eletroquímicos, destaca-se a voltametria sendo que as análises podem ser realizadas de forma que o analito/amostra encontre-se em solução e a partir da imobilização deste/a na superfície do eletrodo de trabalho. Os métodos utilizando voltametria convencional, onde o analito se encontra solubilizado no eletrólito, oferecem vantagens como alta sensibilidade, seletividade e reprodutibilidade, baixo investimento e custo de manutenção. Porém, na maioria das vezes, também necessitam de um preparo de amostras para que as análises de matrizes alimentícias sejam realizadas (VLADISLAVIĆ et al, 2018).

Neste contexto, a voltametria aliada ao estudo de substâncias em estado sólido se mostra uma opção quando se trata da avaliação de corantes em amostras de alimentos, visto que esta análise em estado sólido não requerer preparo de amostra (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2013), possibilitando a identificação dos compostos em seu estado original.

Levando em consideração o estudo em estado sólido de amostras de alimentos, é pertinente considerar que, na maioria das vezes, a indústria faz a utilização de uma combinação de corantes para se obter a cor desejada para o produto final, o que dificulta a identificação eletroquímica individual de cada corante (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010). Para isso, os métodos de *screening* voltamétricos se tornam viáveis uma vez que buscam a caracterização dos corantes através de picos característicos que sejam específicos destes compostos.

O termo *screening* pode ser aplicado a qualquer análise que produza como resultado um conjunto de sinais capazes de caracterizar um determinado analíto (ou família de analitos) dentro de uma determinada matriz, onde interferentes podem estar presentes (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2014).

Sendo assim, um método de *screening* voltamétrico utilizando micropartículas imobilizadas para identificação de corantes alimentícios se mostra uma alternativa muito promissora, visto que possibilita a identificação de corantes em matrizes alimentícias a partir da imobilização da amostra sem que haja processos de extração associados à análise. Além disso, a possibilidade de um estudo eletroquímico para elucidação do mecanismo de oxidação e redução destes compostos é extremamente enriquecedor e tem sido pouco explorado na literatura.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver um método de *screening* voltamétrico de corantes em estado sólido utilizando micropartículas imobilizadas para aplicação em amostras alimentícias assim como propor mecanismo redox em estado sólido para o azo corante amarelo crepúsculo.

2.2. Objetivos Específicos

- I) Desenvolver um método de *screening* voltamétrico para identificação dos corantes amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, vermelho eritrosina, azul indigotina e azul brilhante para amostras de corantes culinários após simples maceração;
- II) Avaliar o efeito do eletrólito e suas concentrações na resposta eletroquímica dos corantes com o intuito de se obter melhor identificação dos mesmos através do método de *screening*;
- III) Propor um estudo eletroquímico para elucidação do mecanismo de oxidação e redução do corante amarelo crepúsculo através da voltametria cíclica, levando em consideração as propostas de mecanismo em solução já existentes;
- IV) Comprovar a formação de produtos em algumas etapas do mecanismo através da utilização de análise de espectrometria de infravermelho com transformada de fourier;
- V) Comparar os comportamentos eletroquímicos do corante amarelo crepúsculo em solução e em estado sólido para que se possa atribuir processos genuinamente sólido-sólido e processos dissolutivos às etapas de reação;

VI) Utilizar análises morfológicas de microscopia eletrônica de varredura para comprovação dos processos atribuídos como sólido-sólido e dissolutivos propostos a partir das análises voltamétricas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Corantes alimentícios

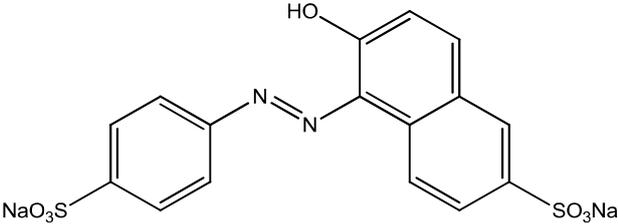
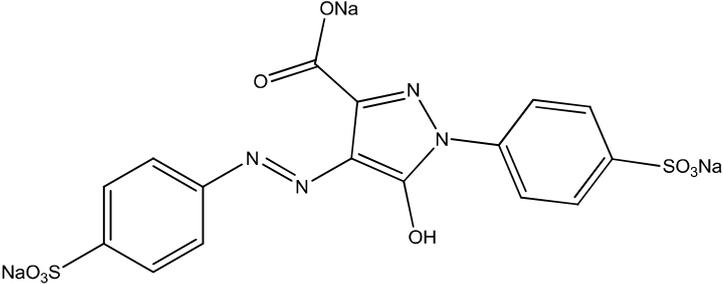
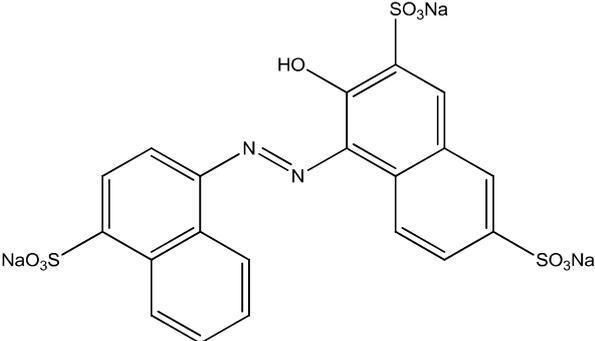
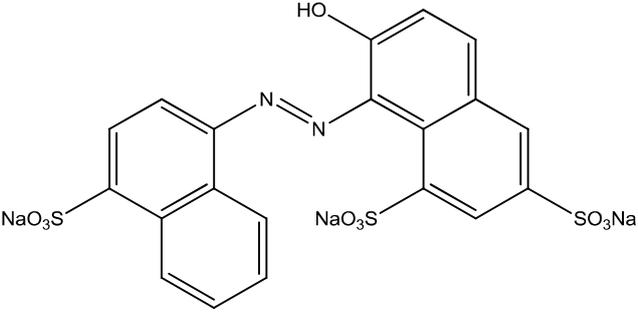
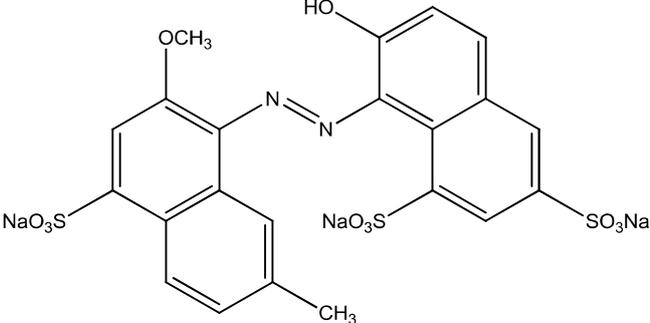
Os corantes alimentícios são aditivos sem valor nutritivo, definidos como substâncias que possuem propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimentos e bebidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE-ANVISA, 1978; WARNER, 2014). Estes corantes são amplamente utilizados pela indústria alimentícia com o intuito de reconstituir a coloração dos alimentos que pode ser alterada pelo armazenamento ou até mesmo durante seu processamento, minimizar a variação de coloração entre lotes, adicionar cor a alimentos tornando-os mais atrativos aos consumidores (MPOUNTOUKAS et al, 2010).

Apesar de muito utilizadas pela indústria, os corantes sintéticos são conhecidos como causadores de reações como asma, alergias e desenvolvimento de tumores, se tornando a classe de aditivos mais associada a riscos toxicológicos à saúde do homem (MARTINS et al, 2016). Apesar disso, a indústria alimentícia os utiliza pois quando comparados aos corantes naturais estes apresentam menor custo de produção, maior estabilidade, uniformidade e também por serem mais brilhantes (KOBYLEWSKI; JACOBSSON, 2012).

Além dos corantes, outra classe de aditivos utilizados para conferir cor são os pigmentos. A principal diferença entre eles é que, quando aplicados, os pigmentos são insolúveis gerando cobertura e não se misturando ao que são adicionados como no caso dos corantes, sendo menos aplicados a matrizes alimentícias uma vez que não podem ser incorporados ao produto (SHINDY, 2016).

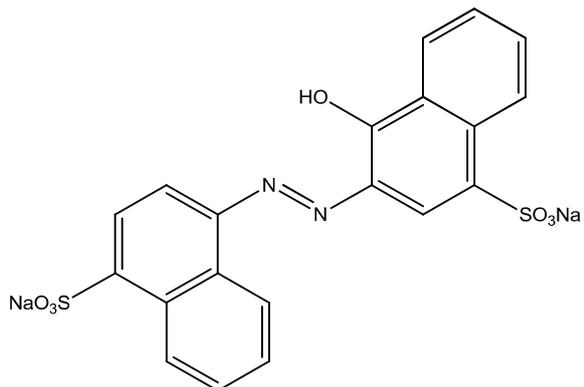
Os corantes sintéticos orgânicos permitidos pela ANVISA na manufatura de alimentos e bebidas estão divididos em quatro grupos principais, sendo eles azo, trifenilmetanos, indigóides e xantenos (WARNER, 2014). Na Tabela 1 estão demonstradas as estruturas destes corantes.

Tabela 1. Corantes sintéticos orgânicos permitidos pela ANVISA na manufatura de alimentos e bebidas e sua classificação.

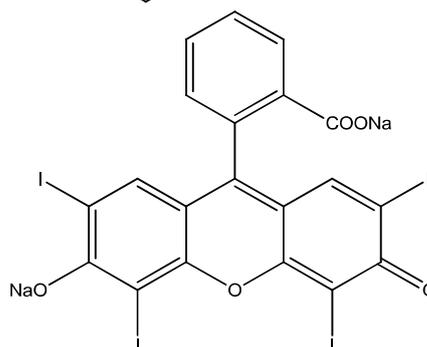
Corantes	Classe	Estruturas químicas
Amarelo Crepúsculo	Azo	
Amarelo Tartrazina	Azo	
Amaranto	Azo	
Ponceau 4R	Azo	
Vermelho 40	Azo	

Azorrubina

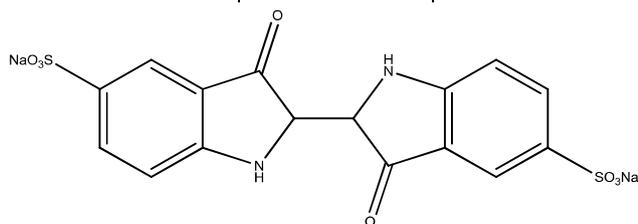
Azo

Vermelho
Eritrosina

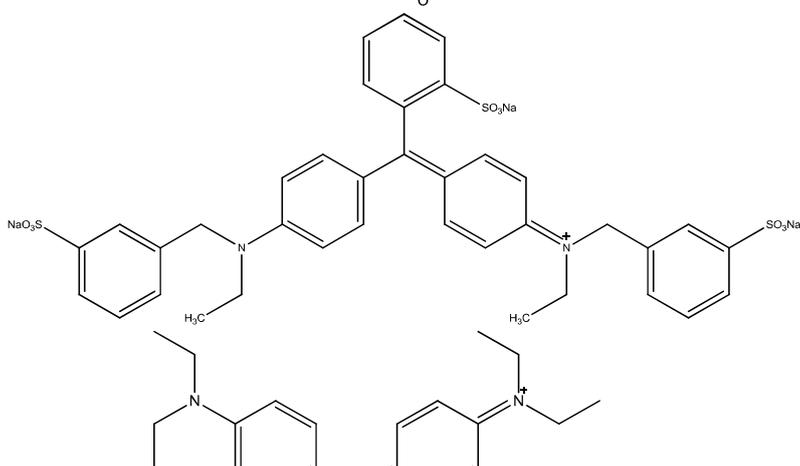
Xanteno

Azul
Indigotina

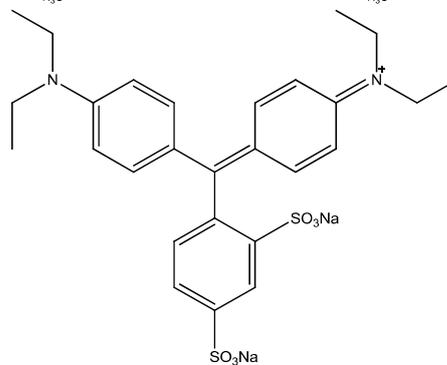
Indigóides

Azul
Brilhante

Trifenilmetanos

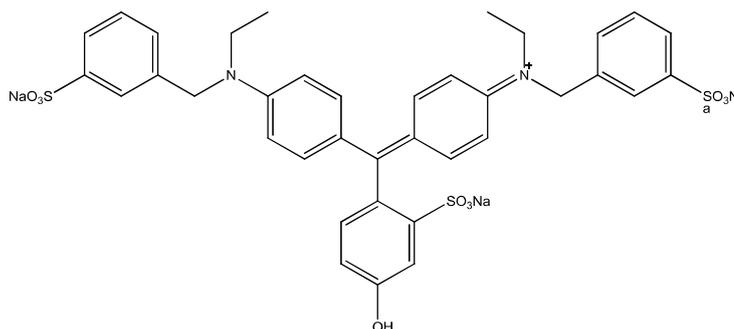
Azul
Patente V

Trifenilmetanos



Verde
Rápido

Trifenilmetanos



Os corantes azo apresentam anéis aromáticos distintos ligados por dupla ligação entre nitrogênios, podendo também apresentar grupos sulfônicos ligados aos anéis (CORRADINI, 2018). No Brasil os corantes desta classe permitidos pra uso em alimentos são amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, amaranço, azorrubina, ponceau 4R e vermelho 40. Estes corantes são decompostos naturalmente pela flora intestinal, formando aminas aromáticas que são a causa de dores de cabeça frequentes em adultos e geram distúrbios como distração e hiperatividade em crianças (YAMJALA; NAINAR; RAMISETTI, 2016).

Dentre os corantes da classe azo, a tartrazina tem despertado uma maior atenção dos toxicologistas e alergistas, sendo apontada como a responsável por várias reações adversas, causando desde urticária até asma (AMIN; AL-SHEHRI, 2018). Entretanto, este é um dos corantes mais empregado em alimentos e é permitido em muitos países, como Canadá, Estados Unidos e União Européia (EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL DIRECTIVE, 1994; U.S. FDA, 2015)

O grupo dos corantes trifenilmetanos apresenta estrutura básica de três grupamentos arila, em geral grupos fenólicos, ligados a um átomo de carbono central e apresentam, ainda, grupos sulfônicos que lhes conferem alta solubilidade em água (CORRADINI, 2018). A esta classe são atribuídos efeitos deletérios como hipersensibilidade, carcinogenicidade e hiperatividade, além de estudos apontarem a relação entre o consumo destes corantes e o efeito de redução nos valores de hemoglobina, hematócrito e contagens de glóbulos vermelhos (LUCOVÁ et al, 2013). Os corantes azul brilhante, verde rápido e azul patente V são os representantes desta classe permitidos na formulação de alimentos pela ANVISA e pelos órgãos regulamentadores nos Estados Unidos, União Européia entre outros

países (ANVISA, 1999; EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL DIRECTIVE, 1994; U.S. FDA, 2015)

Os corantes indigóides possuem uma estrutura molecular complexa, o que o torna mais estável quimicamente e mais resistente aos processos de biodegradação (CHAVES, 2008). O corante azul indigotina é o único corante desta classe permitido no Brasil, para utilização no setor alimentício (ANVISA, 1999) e pode causar efeitos como tumores, bem como hipertensão grave, doença cardiovascular e problemas respiratórios (PEREIRA et al, 2017).

Assim como para os corantes indigóides, o corante vermelho eritrosina é o único representante da classe xantenos permitido no Brasil. Devido à presença de iodo na estrutura cromófora deste composto, alguns estudos foram realizados associando a geração tumores na tiróide pela provável liberação de iodo no organismo, porém nenhum dos estudos foi conclusivo (CORRADINI, 2018).

Sendo assim, o monitoramento destes corantes em amostras de origem alimentícia se torna extremamente relevante, levando a implementação de diversos métodos a partir de diferentes técnicas para a determinação de corantes sintéticos alimentícios.

3.2. Métodos para análise de corantes em matrizes alimentícias

3.2.1. Métodos cromatográficos

Os primeiros trabalhos de separação e identificação dos corantes artificiais foram baseados na adsorção destes corantes em lã natural, sendo posteriormente extraídos a partir de aquecimento com solução amoniacal e separação através da cromatografia em papel (CHIANG, 1969). Porém este método possui algumas desvantagens, como por exemplo, a lenta e incompleta adsorção que alguns corantes podem apresentar, mudanças irreversíveis na estrutura dos corantes pelo uso de altas temperaturas e exposição a valores extremos de pH, longos períodos necessários para se obter um extrato puro, além das dificuldades relacionadas com

a matriz alimentícia, como alimentos insolúveis em água, ricos em lipídeos, contendo amido ou alto teor proteico que dificultam fixação do corante à lã tornando este método inviável para estas análises (BOLEY et al, 1980).

É conhecido que no caso de para a identificação e/ou quantificação de corantes alimentícios sintéticos por métodos cromatográficos, a etapa de é a de preparo de amostra e a mais importante e depende do tipo de matriz e substâncias que a amostra contém e está estritamente atrelada à técnica analítica que será utilizada.

A determinação de corantes alimentícios sintéticos pode ser realizada através da cromatografia em camada delgada (ATAYAN; SUMINA; SHYKOV, 2003; MASŁOWSKA, 1985), porém além de poucos compostos poderem ser identificados por esta técnica e da escolha da fase estacionária e da fase móvel para cada corante ser uma tarefa difícil, a utilização de solventes orgânicos tóxicos e que muitas vezes apresentam atividade cancerogênica fazem desta uma técnica com muitas desvantagens (KUCHARSKAA; GRABKA, 2010).

Outra técnica de separação utilizada para a determinação de corantes alimentares artificiais é o de cromatografia em coluna (DAVIDEK; DAVIDKOVA, 1967). Porém esta técnica vem caindo em desuso com o passar do tempo, pois além de não garantir uma eficiente separação dos componentes, é uma análise muito demorada e com alto consumo de eluentes (KUCHARSKAA; GRABKA, 2010).

O método de cromatografia líquida de alta eficiência permite a separação e identificação e quantificação de misturas de substâncias sendo uma alternativa muito interessante na determinação de corantes alimentícios sintéticos (ŠULEKOVÁ; HUDÁK; SMRČOVÁ, 2016). Este método de separação é baseado nas diferenças de afinidades entre os componentes (fase estacionária e fase móvel). Os corantes possuem diferentes afinidades de interação e adsorção na fase estacionária, o que é proveniente das diferenças de massa, espaço estrutural e presença de grupos funcionais na molécula dos mesmos, garantindo assim uma eficiente separação destes compostos (YAMJALA; NAINAR M; RAMISETTI, 2016).

Os detectores utilizados nestas análises também podem variar garantindo uma melhora na identificação destes analitos. Na literatura os detectores ultravioleta-visível e por arranjo de diodos são muito utilizados para detecção de corantes sintéticos (FLORIANO et al, 2018; MATHIYALAGANA; MANDALA; LING, 2019; REJCZAK; TUZIMSKI, 2017).

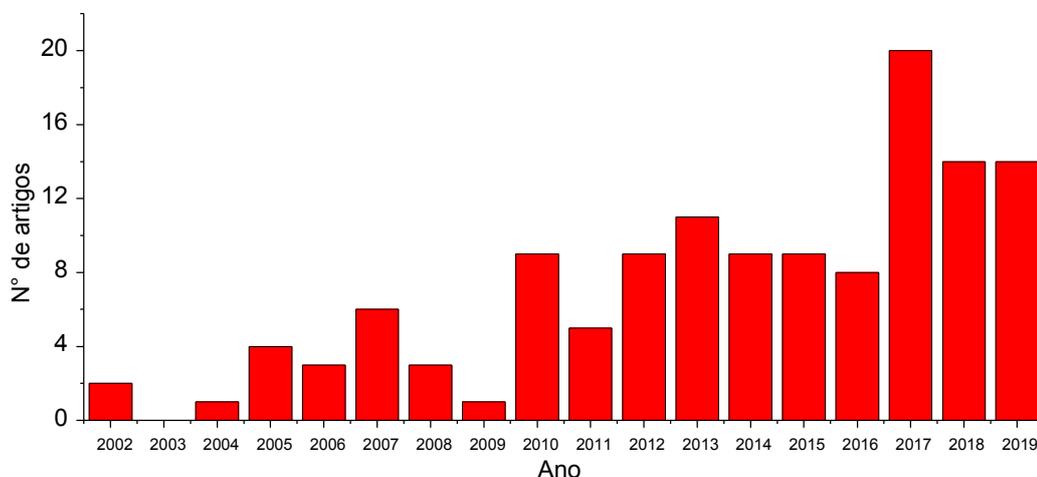
Apesar de sua eficácia, as análises por HPLC tendem a ter desvantagens ligadas ao seu preço, uma vez que o custo do equipamento e de sua manutenção são altos além do elevado consumo de reagentes, e também por necessitar de dispendiosos e minuciosos preparos de amostra (VASANTHI; DEVENDIRAN; NARAYANAN, 2017). Sendo assim, faz-se necessária a procura de novos métodos para identificação de corantes em matrizes alimentícias.

3.2.2. Métodos voltamétricos

A voltametria se mostra uma técnica muito interessante para a análise de corantes alimentícios uma vez que estes apresentam diferentes processos oxidação e redução devido a presença de grupos funcionais em suas estruturas, possibilitando assim a caracterização e determinação destes corantes através de métodos eletroquímicos (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010).

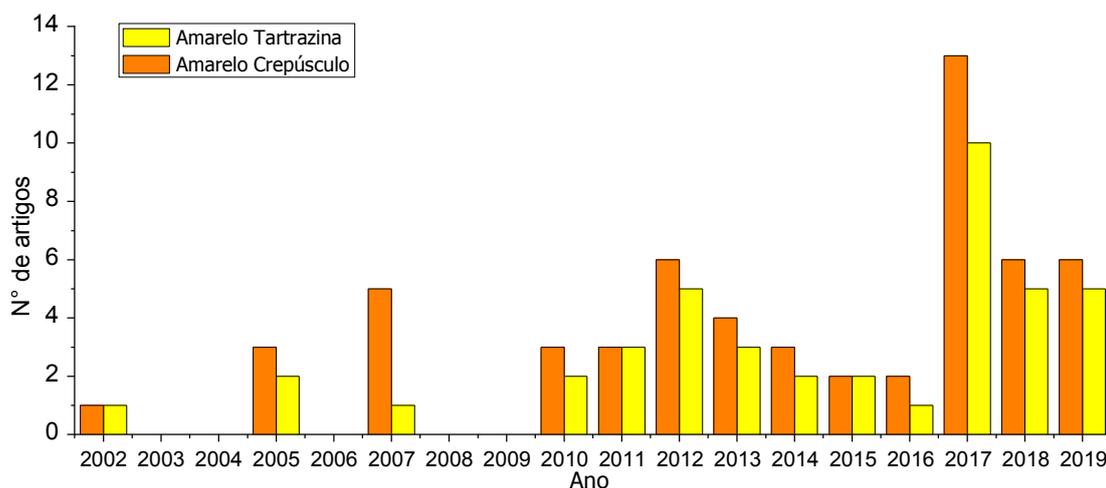
Na Figura 1 estão demonstrados o número de trabalhos publicados na base de dados *Web of Science Core Collection* nos últimos anos. A busca foi restrita as palavras “*voltammetry, food, dye*” nos campos título, resumo e palavras chaves.

Figura 1. Gráfico de barras com número de trabalhos publicados de 2002 a 2019 com a pesquisa das palavras “voltammetry, food, dye” em *Web of Science Core Collection*.



Através do gráfico apresentado na Figura 1, pode-se observar a crescente utilização da técnica voltamétrica para determinação de corantes em matrizes alimentícias. Como pode ser visualizado na Figura 2, dentre os corantes os mais utilizados são amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina.

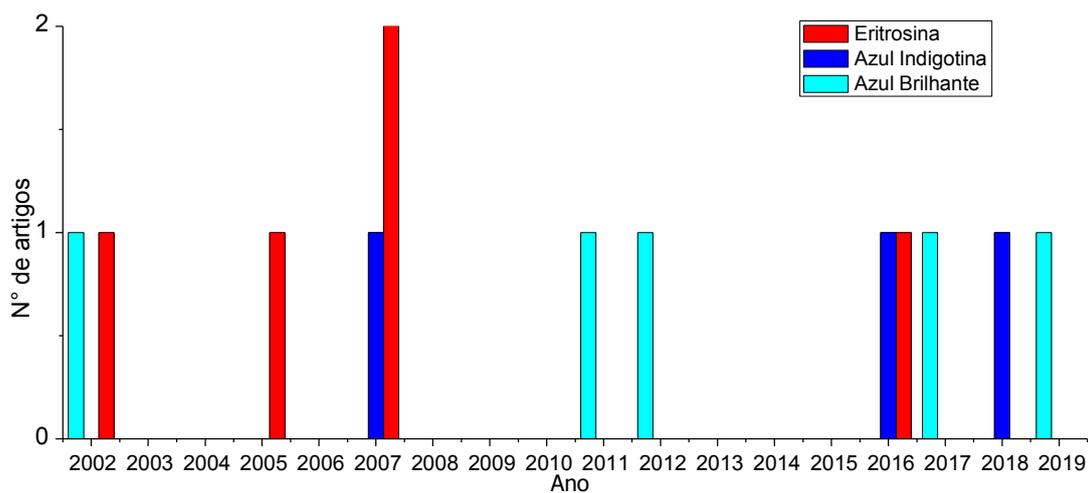
Figura 2. Gráfico de barras com número de trabalhos publicados de 2002 a 2019 com a pesquisa das palavras “voltammetry, food, dye” associadas ao nome dos corantes “tartrazine” ou “sunset yellow”, em *Web of Science Core Collection*.



Como pode ser observado, o número de trabalhos quando adicionados os nomes dos corantes azo amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina foi muito superior aos resultados obtidos para outros corantes como eritrosina, indigotina e azul

brilhante (Figura 3) o que pode ser justificado pela grande utilização dos corantes azo pela indústria alimentícia (KIM; SON, 2011) e pela gerando assim maior interesse e relevância em sua determinação.

Figura 3. Gráfico de barras com número de trabalhos publicados de 2002 a 2019 com a pesquisa das palavras “voltammetry, food, dye” associadas ao nome dos corantes “erythrosine”, “indigotine” ou “brilliant blue”, em *Web of Science Core Collection*.



Na Tabela 2 estão descritos alguns trabalhos encontrados na literatura que focam na determinação voltamétrica dos corantes eritrosina, indigotina, azul brilhante, amarelo crepúsculo e tartrazina em matrizes alimentícias.

Tabela 2. Trabalhos encontrados na literatura sobre determinação de corantes alimentícios sintéticos em amostras de alimentos.

Corantes	Eletrodo	Amostra	Método de preparo	Eletrólito	Referência
Tartrazina Amarelo Crepúsculo Carminosina	MWCNT/GCE	Refrigerante	Diluição	PBS pH 7	SIERRA-ROSALES, TOLEDO-NEIRA, SQUELLA, 2017
Azul Brillhante Alllura	MWCNT/GCE	Isotônico esportivo	Diluição	PBS pH 7	SIERRA-ROSALES et al, 2019
Indigotina	TX-100M/CPE	Chocolate revestido	Maceração, solubilização e diluição	PBS pH 6,5	CHENTHATTIL et al, 2018
Tartrazina, Amarelo Crepúsculo	Nd _{ox} /CPE	Suco sintético	Diluição	PBS pH 3	MARQUEZ-MARINÓ et al, 2018

Tartrazina, Amarelo Crepúsculo Allura	Co _{complex} /CPE	Gelatina	Diluição	PBS pH 3,2	PENAGOS-LLANOS et al, 2019
Azul Brilhante Tartrazina	MWCNT/CPE	Refrigerante	Diluição	PBS pH 2	GHOREISHI, BEHPOUR, GOLESTANEH, 2011
Azul Brilhante Eritrosina Amarelo quinolina	HMDE	Suco em pó e isotônico esportivo	Diluição	Tampão acetato pH 4,5	FLORIAN et al, 2002
Tartrazina Amarelo crepúsculo	PDDA-Gr- Pd/GCE	Refrigerante	Diluição	PBS pH 5	YU et al, 2016
Tartrazina Amarelo crepúsculo	ZnO-Cysteic acid/GCE	Refrigerante	Diluição	PBS pH 7	DORRAJI, JALALI, 2017
Amarelo crepúsculo	CHIT-GO- MWCNTs- AuNPs/GCE	Doces, geléias e refrigerantes	Extração, sonicação, centrifugação, diluição	PBS pH 7	ROVINA, SIDDIQUEE, SHAARANI, 2017

Tartrazina	GCE	Gelatina	Diluição, centrifugação, filtração	Tampão BR pH 2	LIPSIKH, NIKOLAEVA, KOROTKOVA, 2017
Tartrazina Amaranto	H- SWCNT/SPCE	Suco sintético e refrigerante	Diluição	PBS pH 2,3	NUÑEZ-DALLOS et al, 2018
Amarelo crepúsculo	Cu ₂ O- ErGO/GCE	Sucos, refrigerantes e doces	Maceração, solubilização e diluição	PBS pH 3,8	HE et al, 2018
Tartrazina	Lactase- AuNPs/SPCE	Suco sintético e chocolate revestido	Diluição	PBS pH 5	MAZLAN, LEE, HANIFAH, 2017
Tartrazina Amaranto	SPCE	Refrigerante e suco sintético	Diluição	PBS pH 3,2	PERDOMO et al, 2017
Eritrosina	Glucose/CPE	Refrigerante, corante em pó e urina	Diluição	PBS pH 11,2	NAYAK, SHETTI, 2016

Tartrazina	Suco sintético, gelatina e isotônico esportivo	Diluição, filtração	0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄	MEDEIROS et al., 2012
Amarelo Crepúsculo	BDD			
Azul Brilhante				

MWCNT/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de múltiplas paredes; TX-100M/CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado com surfactante TX-100M; Nd_{ox}/CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado por óxido de neodímio (III); Co_{complex}/CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado por [bis(3,5-dimetil-1-pyrazolil)methano-NN]cobalto(II); MWCNT/CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de múltiplas paredes; HMDE: eletrodo suspenso de gota de mercúrio; PDDA-Gr-Pd-CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado com polí cloreto de dialildimetilamônio disperso em grafeno e composto de nanopartículas de paládio; ZnO/Cysteic acid/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanofilmes de ZnO depositados em polímero de ácido cisteico; CHIT/GO/MWCNTs/AuNPs/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de múltiplas paredes, nanopartículas de ouro e membrana nanocompósita de quitosana; H-SWCNT/SPCE: Eletrodo impresso de carbono modificada por nanotubo de carbono de parede única e fita dupla de cobre (I); Cu₂O-ErGO/GCE: eletrodo de carbono vítreo modificado por nanocompósito de grafeno eletroquimicamente reduzido e óxido cuproso; Lactase-AuNPs/SPCE: Eletrodo impresso de carbono modificado por microesferas conjugadas de lacase e nanopartículas de ouro revestidas. SPCE: Eletrodo impresso de carbono; Glucose/CPE: Eletrodo de pasta de carbono modificado por glucose; BDD: Eletrodo de diamante dopado com boro; PBS: Tampão fosfato; BR: Britton-Robinson.

De acordo com o demonstrado na Tabela 2, os métodos voltamétricos aplicados à determinação de corantes não necessitam de preparos de amostras laboriosos o que é interessante para análise de alimentos. Dentre as amostras analisadas (sólidas ou sólidas) o preparo mais utilizado foi à diluição sendo o processo de solubilização necessário tendo em vista a que nestes casos, há a necessidade do analito estar dissolvido em solução para que ocorra a difusão do mesmo até o eletrodo de trabalho (MOSCOSO; INOSTROZA; SQUELLA, 2017).

Os eletrodos utilizados para as análises voltamétricas são outro parâmetro que merece destaque. Na maioria dos trabalhos apresentados na Tabela 2, os eletrodos utilizados são modificados com diferentes materiais, desde carbonáceos a modificações enzimáticas. Estas modificações são realizadas com diferentes intuítos como, melhorar a seletividade e/ou sensibilidade, melhorar a transferência eletrônica e também a estabilidade destes eletrodos (EDWARDS; BERGREN; PORTER, 2007). Porém apesar de eficientes, as modificações representam uma etapa a mais para que a análise seja realizada, aumentando assim o tempo requerido para determinação voltamétrica.

Além das análises quantitativas dos corantes orgânicos artificiais através das técnicas voltametrias, o estudo dos mecanismos de redução e oxidação destes compostos também são uma área de muito interesse, visto que os processos que ocorrem no eletrodo são semelhantes às que ocorrem em processos metabólicos (VLADISLAVIĆ et al, 2018). Além disto, a compreensão do comportamento eletroquímico se torna relevante do ponto de vista eletroquímico para entendimento das etapas das reações redox dos mecanismos destas moléculas.

Um dos corantes que apresenta mecanismo das reações redox conhecidos utilizando a voltametria a partir do analito em solução é o amarelo crepúsculo (FLORENCE, 1974; VLADISLAVIĆ et al, 2018). Entretanto, a avaliação deste mecanismo em estado sólido ainda não foi explorada, apesar se pertinente para a estudos eletroquímicos.

Estes trabalhos demonstram que este corante apresenta em sua estrutura os grupamentos eletroativos hidroxila (-OH) e azo (-N=N-) com capacidade de oxidação e redução respectivamente. Segundo estes estudos, a hidroxila ligada ao anel benzeno possui oxidação reversível a partir da transferência de um elétron e um próton. Já a redução do grupamento azo se dá em duas etapas, sendo a primeira considerada reversível, onde ocorre a quebra de uma das duas ligações entre os nitrogênios através da inserção prótica e transferência de dois elétrons, transformando o composto azobenzeno em hidrazobenzeno. Subsequentemente ocorre a redução irreversível do grupamento formado a aminas aromáticas também a partir da transferência de dois prótons e dois elétrons.

3.3. Voltametria

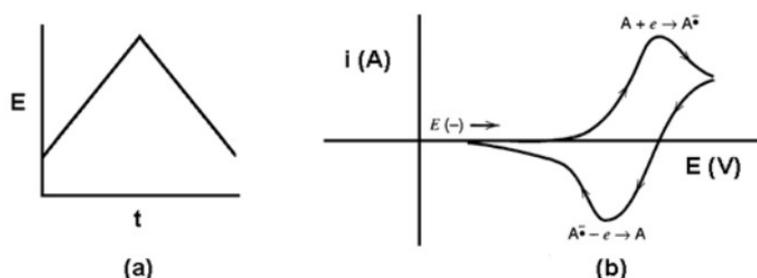
A voltametria é uma técnica eletroquímica capaz de fornecer informações quali e quantitativas sobre uma espécie química, a partir da geração de curvas corrente *versus* potencial, durante a eletrólise dessa espécie em uma célula eletroquímica que normalmente possui três eletrodos, sendo eles o eletrodo de trabalho, de referência e o auxiliar (WANG, 2000). No processo da análise, o potencial é variado a uma velocidade constante em função do tempo e a corrente gerada durante essa varredura compõe um voltamograma (BARD; FAULKNER, 2001). Esta técnica apresenta diversas vantagens, como a possibilidade de realizar análises sem que haja uma etapa de separação ou pré-tratamento das amostras, possibilitando a determinação de compostos em diferentes matrizes, além do curto tempo na realização das análises e do baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados (BRETT; BRETT, 1993).

3.3.1. Técnicas voltamétricas

Dentre as técnicas voltamétricas amplamente utilizadas a voltametria cíclica (CV, do inglês *cyclic voltammetry*) e voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *square wave voltammetry*) merecem destaque.

A CV possibilita o estudo de processos redox, fornece informações termodinâmicas e cinéticas, além da identificação de espécies eletroativas (ELGRISHI et al, 2018). Esta técnica consiste na aplicação de potenciais anódicos e/ou catódicos ocasionando a oxidação e/ou redução do analito na superfície do eletrodo, respectivamente (BRETT; BRETT, 1993). A variação do potencial é realizada na forma triangular, onde a varredura do potencial é realizada em função do tempo e ocorre inicialmente em um sentido de potencial, e na sequência, no sentido oposto, completando um ciclo voltamétrico (ELGRISHI et al, 2018). O perfil de aplicação de potencial na forma triangular para a voltametria cíclica encontra-se demonstrado na Figura 4.

Figura 4. (a) Aplicação de potencial na forma triangular para a voltametria cíclica e (b) voltamograma cíclico.

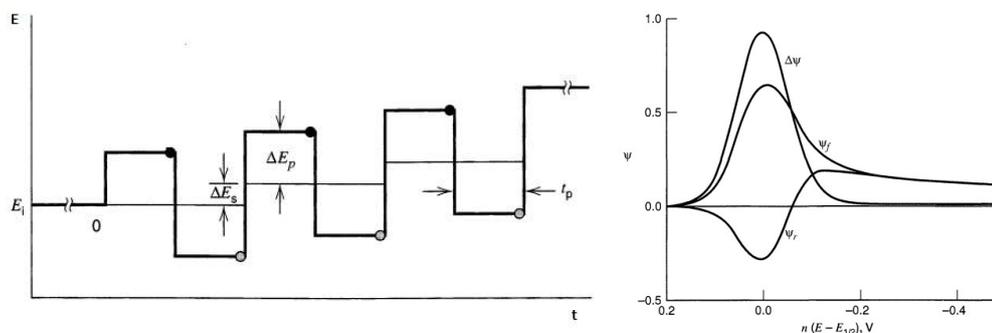


Fonte: (SKOOG et al, 2006)

Já a SWV é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis tendo seus limites de detecção comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas (MIRCESKI et al, 2013). Nesta técnica uma onda quadrada simétrica de amplitude é sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada como representado na Figura 5. A medida de corrente é amostrada apenas ao final do pulso de potencial no sentido anódico e catódico, onde a magnitude da corrente

capacitiva já está minimizada, aumentando a sensibilidade da técnica, tornando mais viável a sua aplicação para análises.

Figura 5. Representação esquemática da voltametria de onda quadrada.



Fonte: (BARD; FAULKNER, 2001).

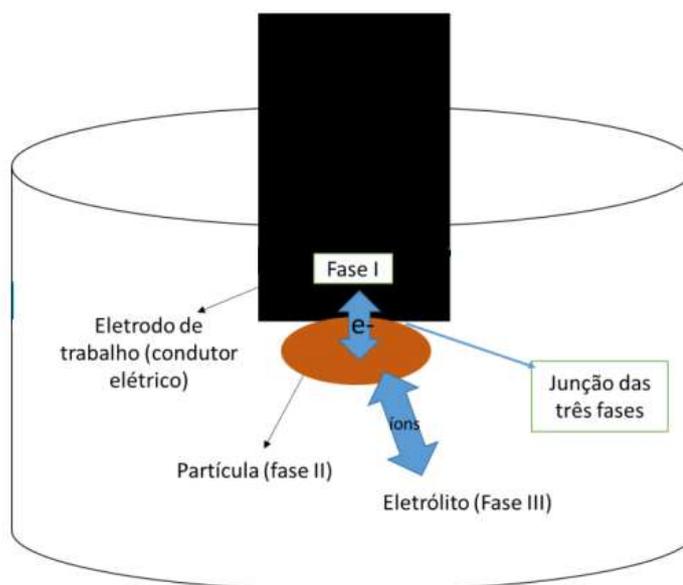
3.3.2. Voltametria de micropartículas imobilizadas

Os primeiros estudos realizados com análise direta com material em estado sólido (liga metálica) utilizando técnicas voltamétricas foram realizados em 1989 por Scholz e colaboradores (SCHOLZ, NITSCHKE, HENRION, 1989) onde se utilizou eletrodo de grafite impregnado com parafina (PIGE, do inglês *paraffin impregnated graphite electrode*) para a imobilização de analitos em estado sólido diretamente no eletrodo. Esta técnica recebeu o nome de “análise abrasiva de redissolução” e mais tarde ficou conhecida como “voltametria de micropartículas imobilizadas” (MACIEL et al, 2017).

A voltametria de micropartículas imobilizadas (VIM, do inglês *voltammetry of immobilized microparticles*) baseia-se na imobilização de micropartículas de uma amostra sobre a superfície de um eletrodo sólido adequado, o qual é imerso em um eletrólito líquido, e no subsequente registro de um sinal de corrente em função do potencial aplicado (SCHOLZ, NITSCHKE, HENRION, 1989). Os voltamogramas obtidos revelam informações sobre a composição química da amostra sólida (de CARVALHO et al, 2010) e a aplicação da VIM baseia-se no fato de que, pela Lei de Faraday, quantidades extremamente pequenas de uma amostra são suficientes para

gerar, facilmente, correntes mensuráveis (SCHOLZ, MEYER, 2014). O eletrodo de trabalho e as partículas eletroativas imobilizadas devem apresentar transferências iônicas e eletrônicas simultaneamente, assim três fases estarão em contato (SCHOLZ, SCHRÖDER, GULABOSKI, 2005), como demonstrado na Figura 6.

Figura 6. Desenho esquemático do sistema eletródico de três fases.



Fonte: (Silveira, 2018)

Uma vez que a partícula depositada sobre a superfície do eletrodo contém moléculas neutras e íons com quantidades idênticas de cargas positivas e negativas, qualquer transferência de elétrons entre as fases I (condutor elétrico) e II (partículas depositadas sobre o eletrodo de trabalho) deve ser acompanhada por uma transferência de íons entre as fases II e III (eletrólito). A transferência de íons é uma reação indispensável para manter a eletroneutralidade da fase II (de CARVALHO et al, 2010).

A VIM já vem sendo utilizada em diversos trabalhos para determinação de compostos orgânicos (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2013; DOMINGUÉZ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2015; MACIEL et al, 2017; MACIEL et al, 2018) e até mesmo para a avaliação de corantes em obras de artes (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010; DOMÉNECH; DOMÉNECH; VÁZQUEZ, 2007; DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2009).

Na Tabela 3 estão demonstrados que fazem uso da voltametria de micropartículas imobilizadas para a identificação e estudo de diferentes corantes orgânicos.

Tabela 3. Trabalhos que utilizam a VIM em estudo com corantes.

Corante	Eletrodo	Tipo de estudo	Referência
Alizarina, Indigo e Morin	PIGE	Eletroquímico	DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2008
Indigo	CPE	Eletroquímico	HE et al, 2010
Alizarina, Purpurina e Morin	PIGE	Quantitativa	BOSCH-REIG et al, 2007
Alizarina, Purpurina, Luteolina, Morin e Indigo	PIGE	Eletroquímico	DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2006
TT, TTNa, TS	Pt	Eletroquímico	YANG et al, 2014
Indigo	PIGE	Arqueométrico	DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2009
Indigo	PIGE	Eletroquímico	DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2012
Curcuma e Açafrão	PIGE	Qualitativo	DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2005
Indigo	PIGE	Eletroquímico	DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2013

Indigo, Antraquinona, Naftoquinona, Flavonóide, Pirona, Pyran	PIGE	Qualitativo	DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010
Naftoquinona, Antraquinona, Flavonóide, Carmin, Vermelho cochonilha, Indigo e Azul da prússia	PIGE	Eletroquímico	GRYGAR et al, 2003

TT(2-cyano-3-(4-hexyl-5-dimethyltriphenylamine-thien-2-yl)acrylic acid); TTNa(2-cyano-3-(4-hexyl-5-dimethyltriphenylamine-thien-2-yl)acrylic acid sodium salt); TS(2-[5-(4-hexyl-5-dimethyltriphenylamine-thien-2-yl)methylene-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl]acetic acid); PIGE: Eletrodo de grafite impregnado com parafina; CPE: Eletrodo de pasta de carbono; Pt: Platina.

A partir dos trabalhos relatados na Tabela 3, é possível constatar a aplicabilidade do método de micropartículas imobilizadas para a análise de corantes orgânicos para a avaliação qualitativa, eletroquímica, arqueológica e até mesmo quantitativa. As análises foram realizadas em sua maioria em eletrodos de grafite impregnado com parafina, porém a partir dos outros trabalhos, pode-se observar a utilização de eletrodos sólidos como e platina e de pasta de carbono. Cabe salientar que dentre os trabalhos listados, o único a não utilizar o método de imobilização a partir da abrasão do eletrodo sobre das micropartículas foi o realizado com o CPE, onde as micropartículas foram maceradas juntamente com a pasta para formação do eletrodo.

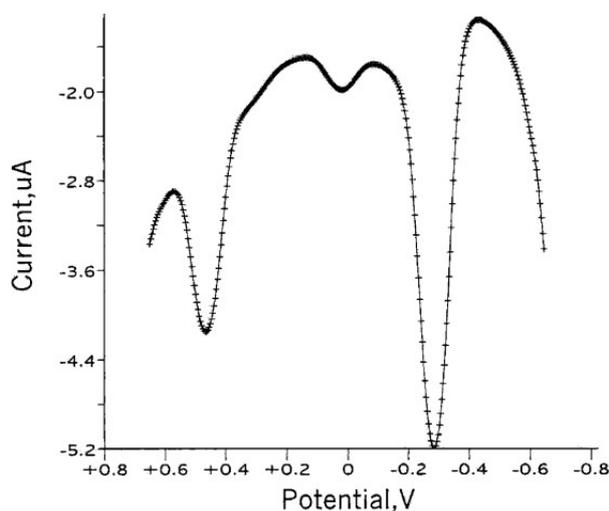
Dentre os corantes estudados em trabalhos utilizando a voltametria em estado sólido, o corante azul indigotina pode ser destacado uma vez que dentre os corantes sintéticos descritos na Tabela 3, este é o único a apresentar aplicação na produção de alimentos. Este corante apresenta sua determinação qualitativa descrita no trabalho apresentado por Doménech-Carbó e colaboradores (2010), onde os corantes Indigo, Antraquinônico, Naftoquinônico, Flavonóide, Pirona e Pyran tiveram identificação sequencial realizada através do método de *screening* associado a voltametria de micropartículas imobilizadas sendo a microamostras de obra de artes imobilizadas em PIGE onde o conjunto de picos gerados foi utilizado

para caracterização destes em meio a interferentes, possibilitando assim sua identificação (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010).

Além de análises qualitativas, a VIM também é muito utilizada para o estudo de mecanismo eletroquímico de corantes orgânicos e dentre eles, estudos envolvendo o corante azul indigotina tem sido bastante explorado (DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2008, HE et al, 2010, DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2006, DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2012, DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2013, GRYGAR et al, 2003).

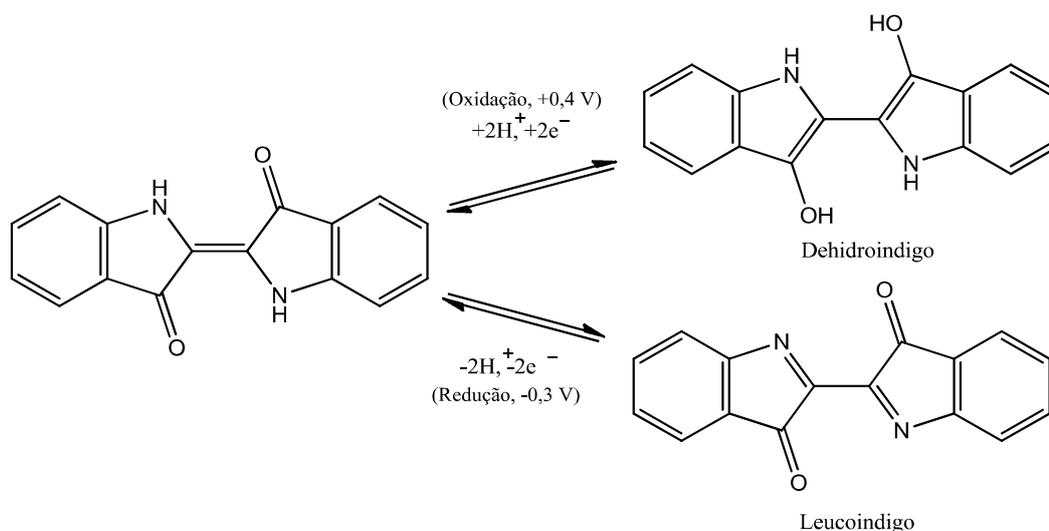
Como demonstrado na Figura 7, as micropartículas do corante azul indigotina geram através da sua eletrólise, dois pares de picos reversíveis sendo que a reação de oxidação dos nitrogênios dos anéis pirrolidínicos, através da perda de dois prótons, gera um pico em potencial 0,4 V e a redução das carbonilas presentes no mesmo anel apresenta pico reversível em -0,3 V (DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2006). Estas reações levam a formação das espécies leucoindigo e dehidroindigo, respectivamente, demonstradas na Figura 8 (DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2006).

Figura 7. Voltamograma de onda quadrada do corante azul indigotina imobilizado em PIGE.



Fonte: (DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2006).

Figura 8. Reações de oxidação e redução para o corante indigotina



Adaptado de (DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2006).

Associadas as informações obtidas pela VIM, técnicas como microscopia de força atômica (AFM, do inglês *atomic force microscopy*), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo de alta resolução (HRFESM-EDX, do inglês *high-resolution field emission scanning electron microscopy*) e microscopia eletrônica de varredura de campo de emissão com feixe de ions focalizado (FIB-FESEM, do inglês *focusing ion beam-field emission scanning electron microscopy*) também tem sido utilizadas para estudar as alterações morfológicas que ocorrem nos cristais durante os processos de oxidação e redução eletroquímica dos corantes orgânicos imobilizados (DOMÉNECH-CARBÓ; DOMÉNECH-CARBÓ, 2008; SILVEIRA et al, 2017; DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS; DOMÉNECH-CARBÓ, 2020). Estas análises, podem auxiliar na visualização e comprovação da formação de produtos de oxidados e/ou reduzidos indicando, por exemplo, que estas são reações ocorrem na fina camada da interface eletrodo/partícula/eletrólito e são assistidas por prótons, demonstrando a concordância deste processo com a teoria do sistema de três fases, (DOMÉNECH-CARBÓ; DOMÉNECH-CARBÓ, 2008).

Sendo assim, a determinação de corantes de diversas classes assim como o estudo eletroquímico e elucidação de mecanismos redox se fazem possíveis através da metodologia de micropartículas imobilizadas. Apesar disto, até o momento, não

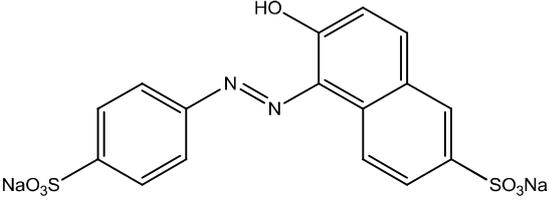
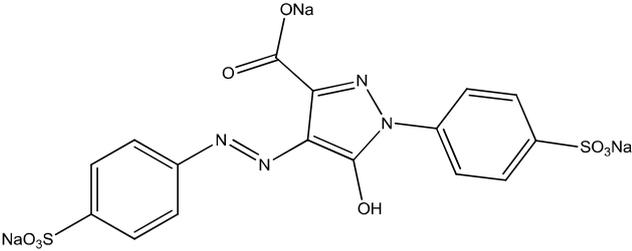
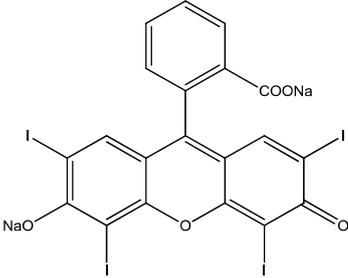
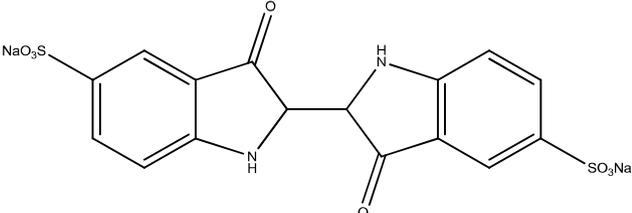
foram encontrados trabalhos que façam a identificação de corantes em matrizes alimentícias através da análise em estado sólido.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes, soluções e amostras

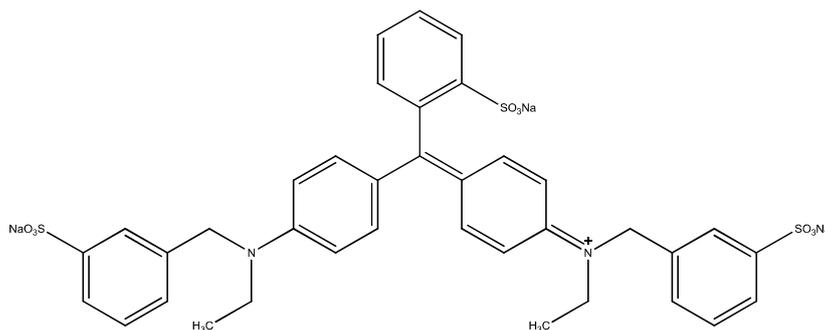
Os padrões dos corantes amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul brilhante, azul indigotina e vermelho eritrosina apresentam 95% de pureza (Duas Rodas, Brasil). A estrutura química de cada corante encontra-se demonstrada na Tabela 4. O NaOH foi adquirido da Merck (Alemanha), e NaCl e HCl da Synth (Brasil).

Tabela 4. Estrutura química e classe dos corantes utilizados neste trabalho.

Corantes	Classe	Estruturas químicas
Amarelo Crepúsculo	Azo	
Amarelo Tartrazina	Azo	
Vermelho Eritrosina	Xanteno	
Azul Indigotina	Indigóides	

Azul
Brilhante

Trifenilmetanos



As amostras utilizadas neste trabalho foram de corantes culinários em pó amarelo, azul, verde, preto e vermelho (Regina Ind. e Com. S.A., Brasil) adquiridas no comércio local de Rio Grande – RS. A vidraria e outros materiais comuns de laboratório utilizados nas análises foram descontaminados por imersão em uma solução de HNO₃ 10% (v/v) (Synth, Brasil) durante 24 h e, posteriormente, lavados com água ultrapura. As células voltamétricas foram descontaminadas por imersão em uma solução de HNO₃ 20% (v/v) (Synth, Brasil) e antes de serem utilizadas foram lavadas com água ultrapura.

4.2. Instrumentação

As análises voltamétricas foram feitas utilizando um Multi Potenciostato/Galvanostato M204 (Autolab, Holanda) controlado pelo software Nova 2.1.4 (Eco Chemie). Os dados de todas as análises foram tratados pelo programa Origin Pro 8.0.

Utilizou-se uma célula de três eletrodos que consistia em uma barra de grafite (hastes cilíndricas de diâmetro 2 mm, *Faber Castell*, Alemanha) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de Ag/AgCl (NaCl, 3 M) e platina como o eletrodo auxiliar.

As balanças analíticas AUW220D (Shimadzu, Japão) com resolução de $\pm 0,01$ mg, H10 (Mettler, EUA) com precisão $\pm 0,1$ mg e Marte (Marte Científica, Brasil) com precisão ± 1 mg foram utilizadas para os procedimentos de pesagem.

Para a pipetagem das soluções foram utilizados micropipetadores automáticos com capacidade variável de 0,1 a 10 μL , 10 a 100 μL e 100 a 1000 μL (Brand, Alemanha).

Para o preparo de soluções e lavagem das vidrarias foi utilizada água ultrapura obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q Direct-Q UV3® (Millipore, Alemanha), com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

A confirmação das mudanças dos grupos funcionais dos corantes foi obtida através de espectrômetro infravermelho de transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier-transform infrared spectroscopy*) (Modelo IR PRESTIGE-21, Shimadzu, Japão).

Para as análises morfológicas foi utilizado um equipamento da Dentun Vacuum e um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) JSM 6610 LV (JEOL, Japão), operando a 20 kV. Essas análises foram realizadas no Centro de Microscopia da Zona-Sul (CEME-Sul), da FURG.

4.3. Procedimento Analítico

Para a imobilização dos compostos no eletrodo em estado sólido, primeiramente foi realizado a maceração dos padrões e das amostras de corantes culinários com um almofariz e pistilo de ágata, para garantir a uniformidade das partículas e também para obter o material finamente distribuído. O eletrodo de grafite foi pressionado sobre a amostra para que houvesse a imobilização dos compostos sólidos por abrasão. Após, o eletrodo foi cuidadosamente adicionado na célula voltamétrica sendo que apenas a superfície do eletrodo contendo as substâncias imobilizadas estivesse em contato com o eletrólito suporte.

Para avaliação do perfil eletroquímico dos compostos utilizou-se a SWV com E_{step} de 4 mV, amplitude de 25 mV e frequência de 5 Hz com potenciais de -0,6 a 1,3 V (em HCl) -1,2 a 0,9 V (em NaOH) e -1,2 a 1,2 V (em NaCl). Adicionalmente,

realizou-se análises por CV em sentido anódico e catódico iniciando a varredura em 0,25 V (1,4 a -1,4 V) utilizando 50 mV s^{-1} como velocidade de varredura e 2,44 mV para potencial step.

A influência da composição (NaOH, HCl e NaCl) e da concentração do eletrólito (0,1 e 1 mol L^{-1}) foi avaliada por SWV.

No caso das análises por voltametria com o analito em solução, 2 mg L^{-1} do corante amarelo crepúsculo NaCl 0,1 M para a realização das análises por CV em sentido anódico e catódico iniciando a varredura em 0,25 V (1,4 a -1,4 V) utilizando 50 mV s^{-1} como velocidade de varredura e 2,44 mV para potencial step.

Para obter os espectros de FTIR dos produtos de oxidação/redução obtidos, o grafite com o composto imobilizado foi submetido à eletrólise em potenciais fixos (1,3 e -1,3 V) por 30 segundos em contato com NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Após o solvente evaporado, o material foi retirando do grafite por raspagem e produto foi misturado e macerado com brometo de potássio (KBr) sendo as análises realizadas de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} utilizando o método de refletância difusa.

A caracterização morfológica foi realizada por MEV, onde os eletrodos de grafite contendo as amostras secas imobilizadas obtidas através da eletrólise sob potenciais fixos (1,3 e -1,3 V) por 30 segundos em contato com NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ do corante amarelo crepúsculo foram fixadas em um *stub* utilizando uma fita adesiva dupla face e em seguida essas foram recobertas com ouro durante 300s a uma corrente de 50 mA.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

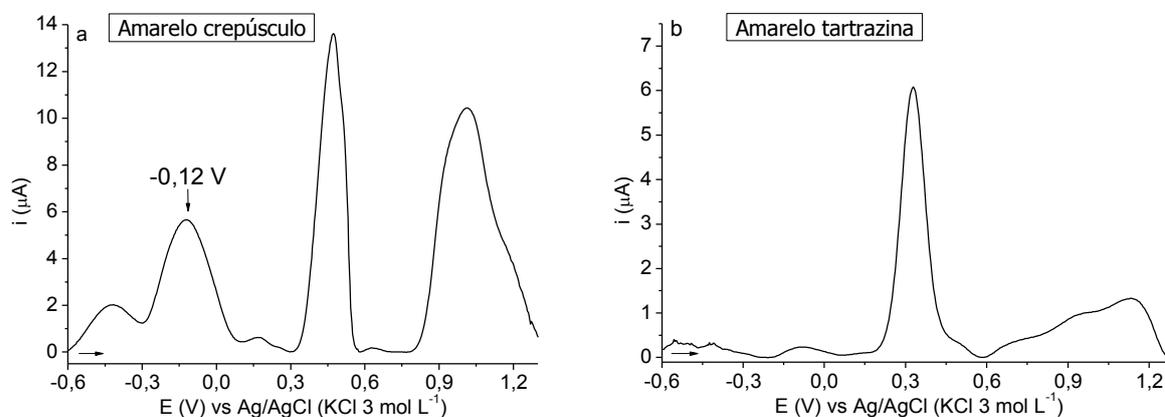
5.1. *Screening* em estado sólido de corantes alimentícios

5.1.1. Comparação entre as respostas voltamétricas dos corantes em estado sólido em diferentes tipos de eletrólitos e concentrações.

Inicialmente, avaliou-se o comportamento eletroquímico por SWV dos corantes (amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, vermelho eritrosina, azul indigotina e azul brilhante) em sentido anódico e catódico em diferentes eletrólitos (HCl, NaOH e NaCl em concentração de 0,1 e 1 mol L⁻¹) com o intuito de se obter o perfil de cada composto e propor um método de *screening* para estes corantes. Em comum as tabelas apresentam marcações com “X” representando que nos referidos potenciais o corante apresenta pico de oxidação ou redução. Se estes picos representarem picos de caracterização específica do composto, a letra “X” estará destacada em vermelho.

Na Figura 9 e Tabela 5, estão demonstrados os voltamogramas e os potenciais de oxidação obtidos para os corantes em estudo em HCl 0,1 mol L⁻¹.

Figura 9. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -0,6 V; E_{final}: 1,3 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



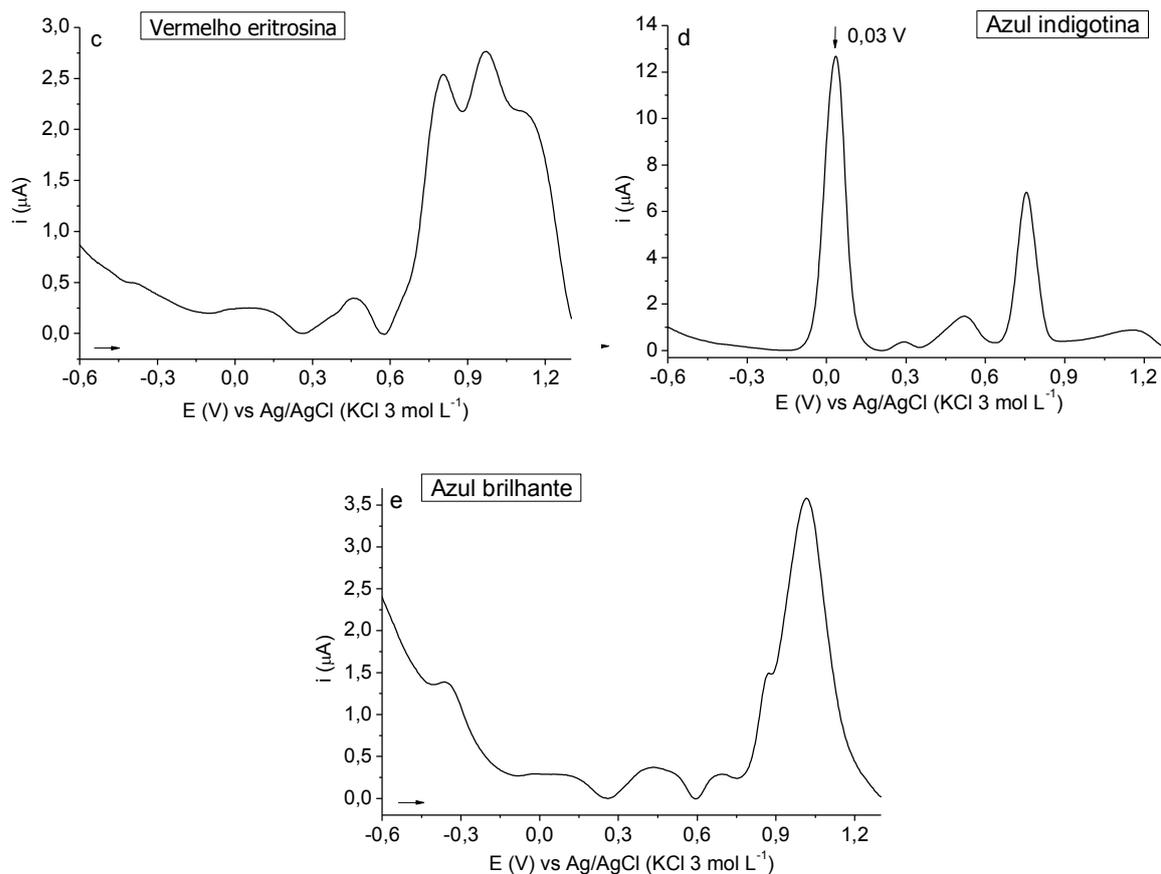


Tabela 5. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em HCl 0,1 mol L⁻¹.

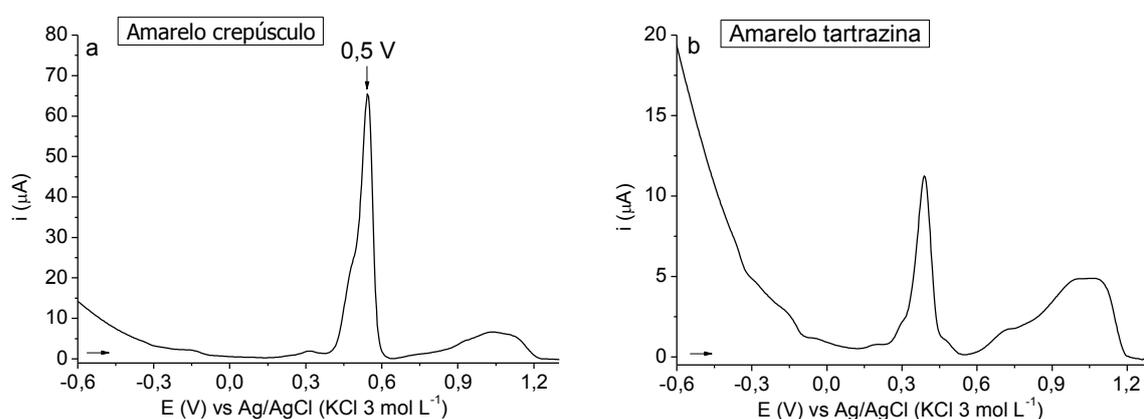
Corantes	Potenciais anódicos (V)							
	1,2	1	0,8	0,5	0,3	0,03	-0,12	-0,4
Azul indigotina	X	X	X	X	X	X		
Azul brilhante		X	X					X
Vermelho eritrosina	X	X	X	X				X
Amarelo tartrazina	X	X	X		X			X
Amarelo crepúsculo		X	X				X	X

A partir da avaliação da varredura anódica pode-se observar que somente os corantes azul indigotina e amarelo crepúsculo possuem picos de oxidação capazes de serem distinguidos dos demais corantes (0,03 e -0,12 V, respectivamente). Como pode se observar na Figura 9, a região anódica dos voltamogramas apresentam muitos processos ocorrendo, como a oxidação de

grupamentos envolvendo oxigênio e nitrogênio, onde os processos de oxidação de hidroxilas a carboxila para alguns corantes são registrados em potencial de 0,25 e 0,40 V e a oxidação de aminas levando a formação de ligações duplas entre carbono e nitrogênio é observada em potencial de 0,35 V (DOMÉNECH-CARBÓ et al, 2010). Além destes, os grupamentos contendo enxofre, presentes em praticamente todas as estruturas dos compostos estudados, sofrem oxidação em região mais positiva (de 1,2 a 1,5 V) (SILVEIRA et al, 2017). Apesar disso, pode-se observar que os corantes vermelho eritrosina e amarelo tartrazina apresentam três picos de oxidação sobrepostos muito característicos entre 0,6 e 1,3 V, o que possibilita a diferenciação destes frente aos outros corantes. Entretanto, utilizando esse meio eletrolítico é possível obter especificadamente informações de potencial de apenas 2 corantes (azul de indigotina e amarelo crepúsculo em potencias de 0,03 e -0,12, respectivamente).

O mesmo experimento foi realizado em HCl 1 mol L⁻¹ e os resultados podem ser observados na Figura 10 e Tabela 6.

Figura 10. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -0,6 V; E_{final}: 1,3 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



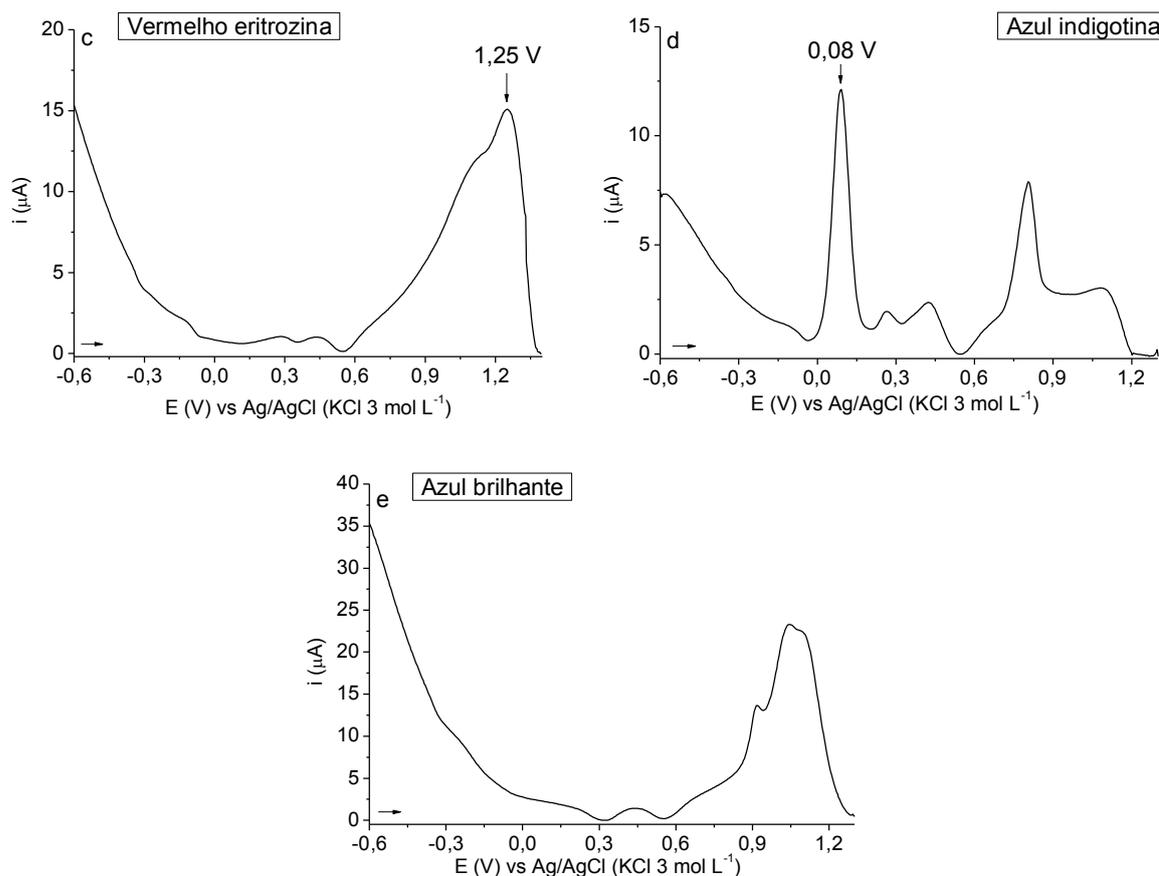


Tabela 6. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em HCl 1 mol L⁻¹.

Corantes	Potencias anódicos (V)									
	1,25	1,1	1	0,9	0,5	0,4	0,3	0,08	-0,1	-0,3
Azul indigotina						X	X	X	X	X
Azul brilhante		X	X	X		X				X
Vermelho eritrosina	X	X				X	X		X	X
Amarelo tartrazina						X				X
Amarelo crepúsculo					X		X		X	X

De um modo geral pode-se observar que há alteração do perfil dos voltamogramas obtidos em HCl 1 e 0,1 mol L⁻¹. Esse efeito pode ser explicado pelo aumento da força iônica do meio, que pode influenciar a inserção iônica e consequentemente o perfil de oxidação dos compostos (DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS; DOMÉNECH-CARBÓ, 2020). Utilizando-se meio eletrolítico mais concentrado, foi possível identificar com três corantes uma vez que apresentam picos

característicos em 0,08 V (azul indigotina), 1,25 V (vermelho de eritrosina) e 0,5 V (amarelo crepúsculo).

Os voltamogramas e detalhamento dos picos obtidos em sentido catódico em HCl 0,1 mol L⁻¹ estão demonstrados na Figura 11 e Tabela 7, respectivamente

Figura 11. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,3 V; E_{final}: -0,6 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

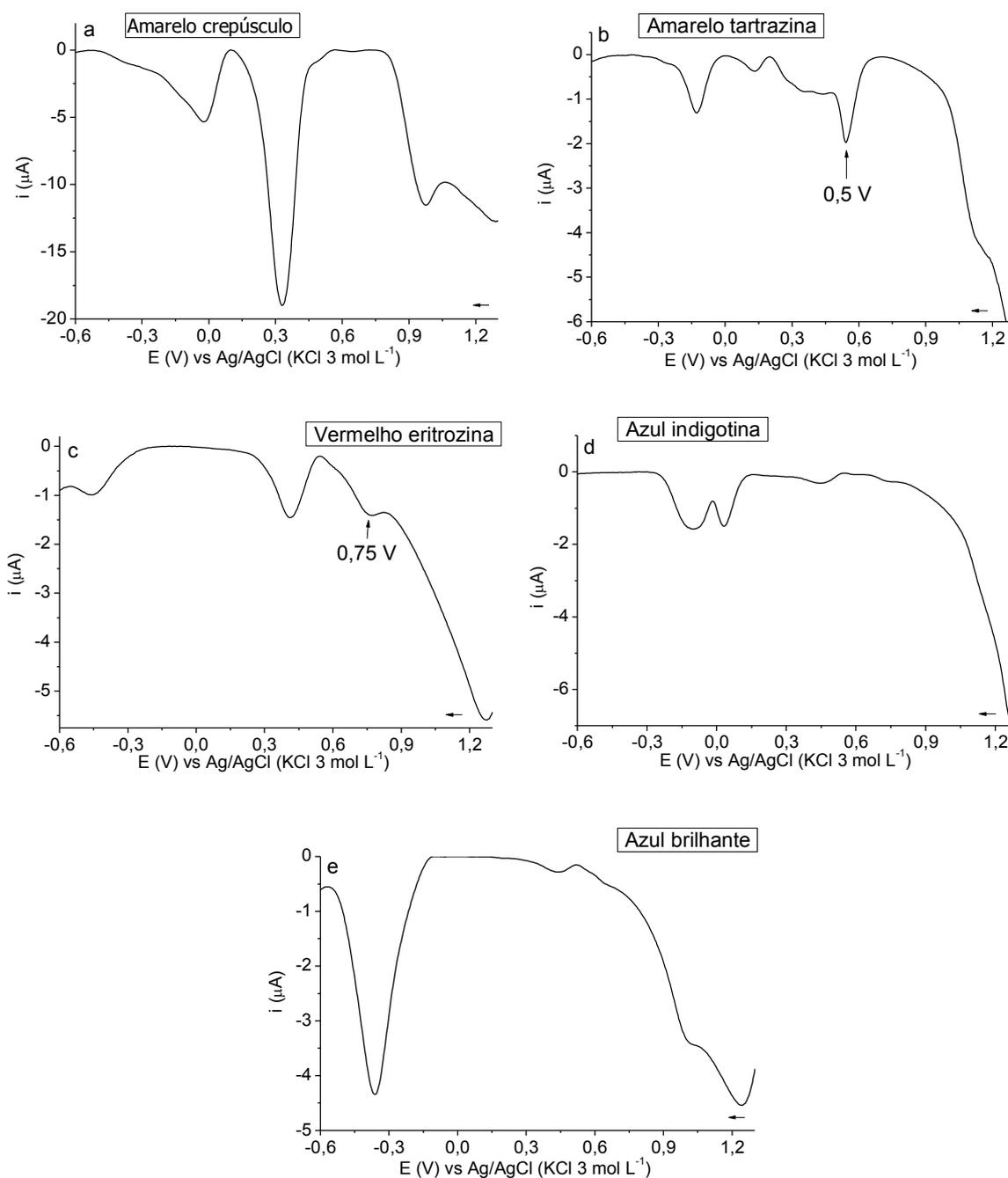
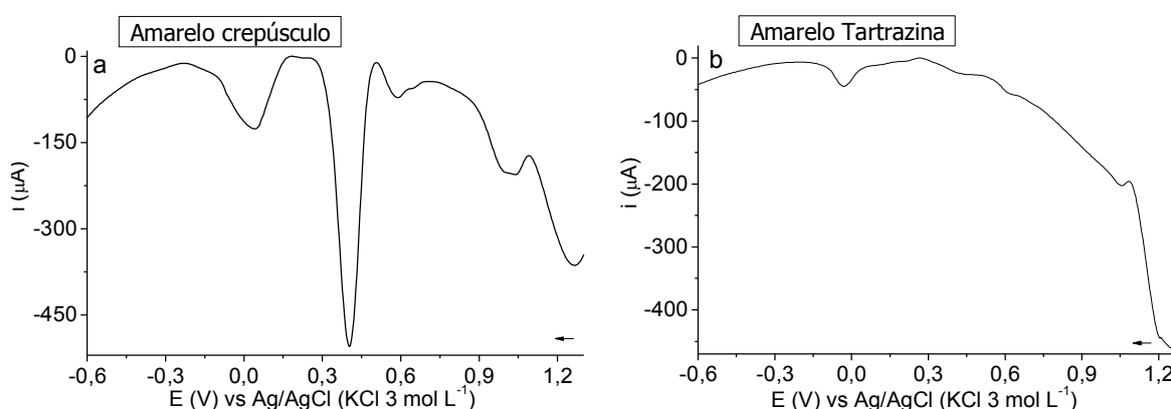


Tabela 7. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em HCl 0,1 mol L⁻¹.

Corantes	Potencias catódicos (V)									
	1	0,75	0,5	0,6	0,35	0,43	0,1	-0,1	-0,2	-0,4
Azul indigotina						X	X	X		
Azul brilhante	X					X				X
Vermelho eritrosina		X			X					X
Amarelo tartrazina			X				X	X	X	
Amarelo crepúsculo	X				X			X		

Na varredura catódica por SWV utilizando como eletrólito HCl 0,1 mol L⁻¹, é possível identificar dois corantes que apresentam picos em potenciais específicos (vermelho eritrosina em 0,75 V e amarelo tartrazina em 0,5 V). Além disso, o corante azul brilhante pode ser caracterizado pela ausência dos picos em -0,15 e 0,75 V. Contudo, quando a força iônica do meio foi aumentada e utilizou-se HCl 1 mol L⁻¹, a identificação específica dos corantes foi dificultada e como pode visualizado na Figura 12 e Tabela 8 apenas o corante azul brilhante (-0,2 V) apresentou picos específicos.

Figura 12. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em HCl 1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 1,3 V; E_{final}: -0,6 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



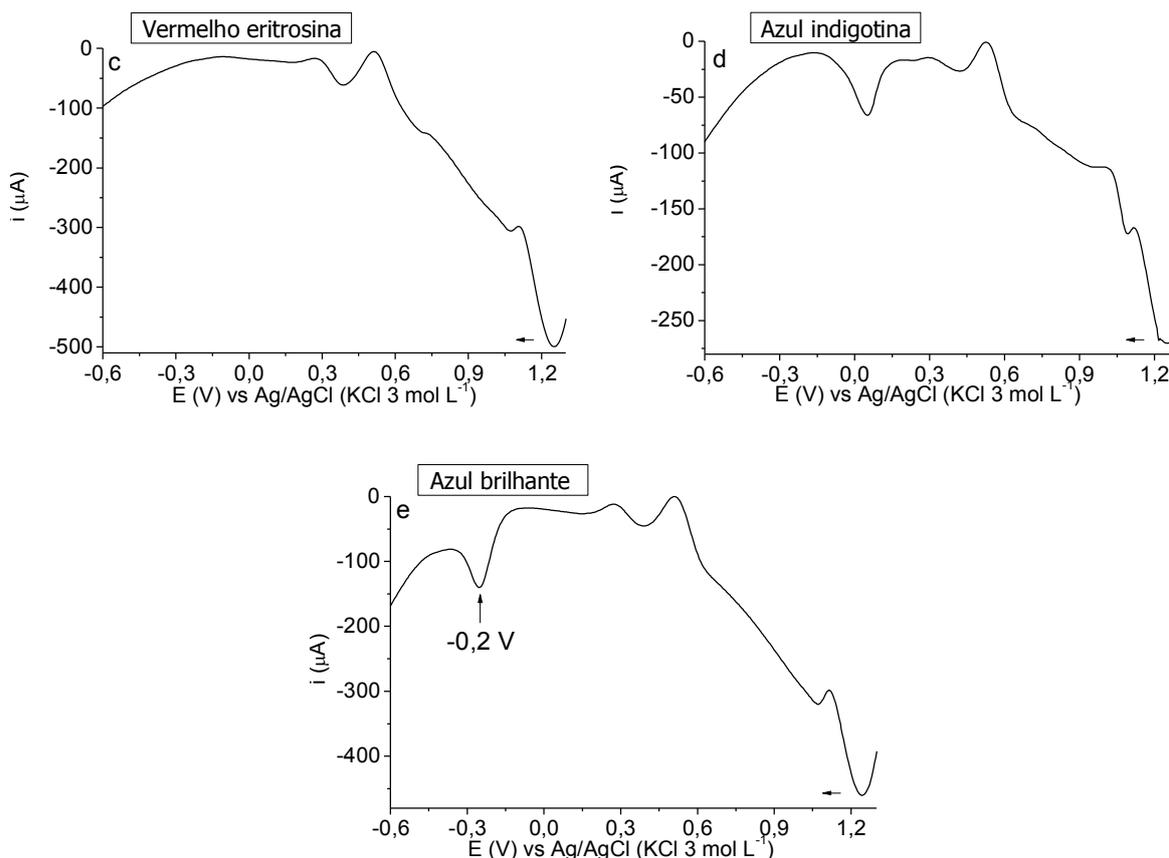


Tabela 8. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em HCl 1 mol L⁻¹.

Corantes	Potenciais catódicos (V)				
	1,1	0,6	0,4	0	-0,2
Azul indigotina	X	X	X	X	
Azul brilhante	X		X		X
Vermelho eritrosina	X	X	X		
Amarelo tartrazina	X	X	X	X	
Amarelo crepúsculo	X	X	X	X	

Para o sentido catódico utilizando o eletrólito HCl 1 mol L⁻¹, os compostos estudados apresentam picos de redução em potenciais muito semelhantes sendo possível somente a separação do corante azul brilhante em potencial -0,2 V.

Como resultados obtidos para o *screening* em HCl 0,1 mol L⁻¹, fez-se possível a identificação dos corantes azul de indigotina e amarelo crepúsculo

(ambos com varredura em sentido anódico) assim como vermelho eritrosina, amarelo tartrazina e azul brilhante (ambos com varredura em sentido catódico). Já em meio de HCl 1 mol L⁻¹ os corantes azul de indigotina, vermelho de eritrosina, amarelo tartrazina (ambos com varredura em sentido anódico) e azul brilhante (varredura em sentido catódico) apresentam picos específicos. Os perfis dos *screenings* voltamétricos dos corantes em estado sólido em HCl 0,1 e 1 mol L⁻¹ encontram-se demonstrados nos esquemas das Figuras 13 e 14 respectivamente.

Figura 13. Esquema de representação do *screening* voltamétrico dos compostos em estado sólido em HCl 0,1 mol L⁻¹.

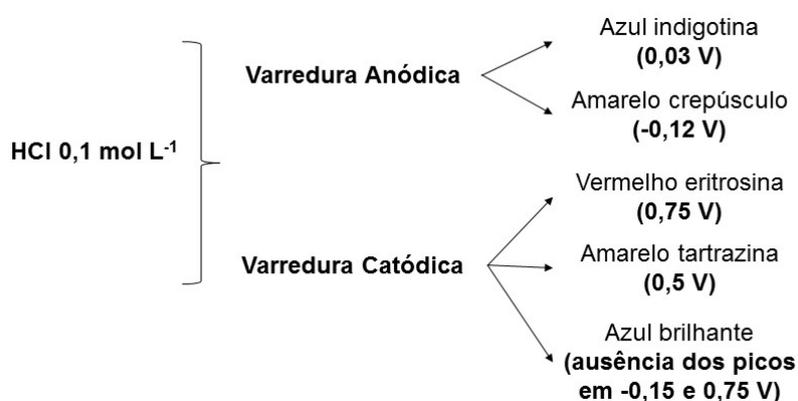
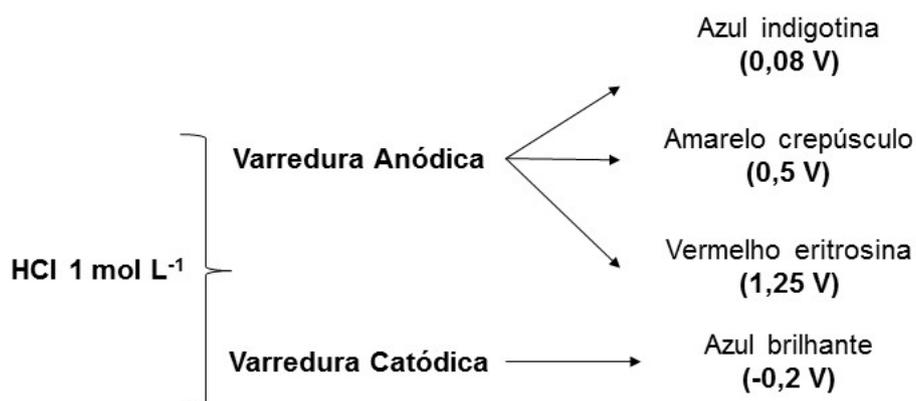


Figura 14. Esquema de representação do *screening* voltamétrico dos compostos em estado sólido em HCl 1 mol L⁻¹.



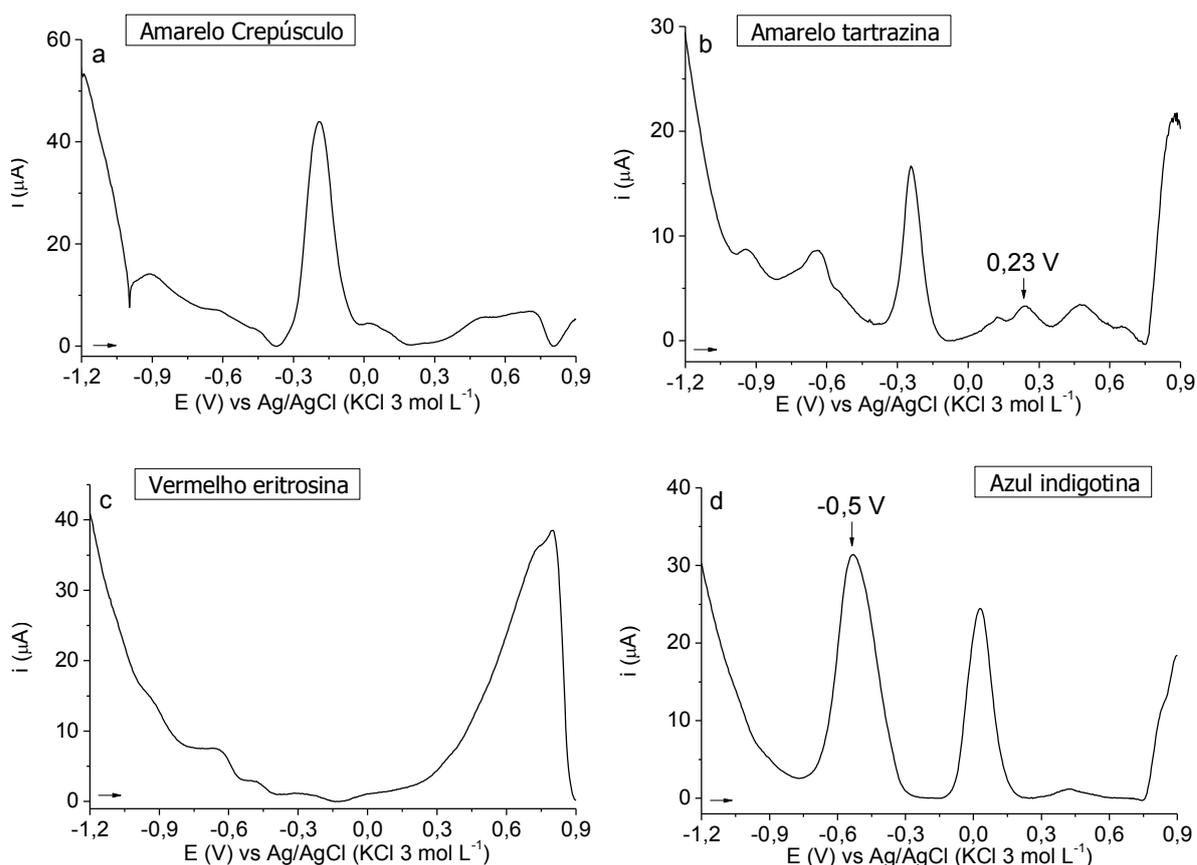
A avaliação do eletrólito NaOH também foi realizada neste trabalho como tentativa de otimização do método de *screening*. Este eletrólito dentre todos os estudados, foi o que apresentou maior corrente de background, o que dificulta a interpretação dos sinais obtidos pelos padrões, uma vez que o desconto da resposta

do eletrodo pode gerar falsos resultados. Outro agravante vinculado à utilização deste eletrólito é a geração excessiva de picos, observada principalmente no sentido catódico em ambas concentrações, tornando a identificação dos sinais característicos dos corantes muito mais dificultosa.

Apesar destas considerações, as varreduras nos sentidos anódico e catódico foram feitas com a utilização do eletrólito NaOH 0,1 mol L⁻¹ e 1 mol L⁻¹.

A Figura 15 e a Tabela 9 trazem os resultados das análises realizadas em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Figura 15. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaOH 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 0,9 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



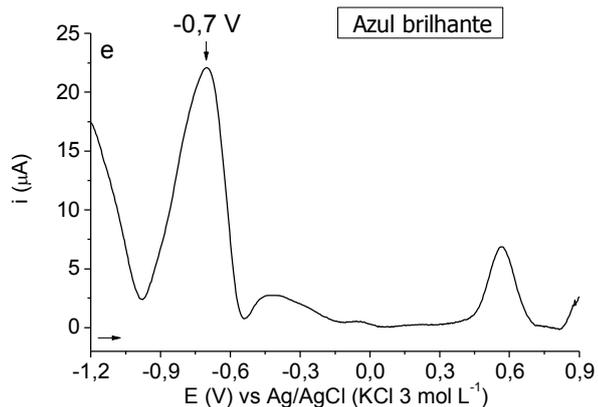


Tabela 9. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Corantes	Potenciais anódicos (V)									
	0,9	0,7	0,6	0,23	0,05	-0,2	-0,5	-0,6	-0,7	-0,9
Azul indigotina	X				X		X			
Azul brilhante	X		X						X	
Vermelho eritrosina		X	X					X		
Amarelo tartrazina	X		X	X		X		X		X
Amarelo crepúsculo	X	X			X	X		X		X

Como pode ser observado, nas condições utilizadas foi possível identificar picos específicos de oxidação para azul indigotina, azul brilhante e amarelo tartrazina (-0,5; -0,7 e 0,23 V, respectivamente).

Os voltamogramas anódicos e valores de potenciais de picos obtidos em NaOH 1 mol L⁻¹ estão demonstrados na Figura 16 e Tabela 10, respectivamente.

Figura 16. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaOH 1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 0,9 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

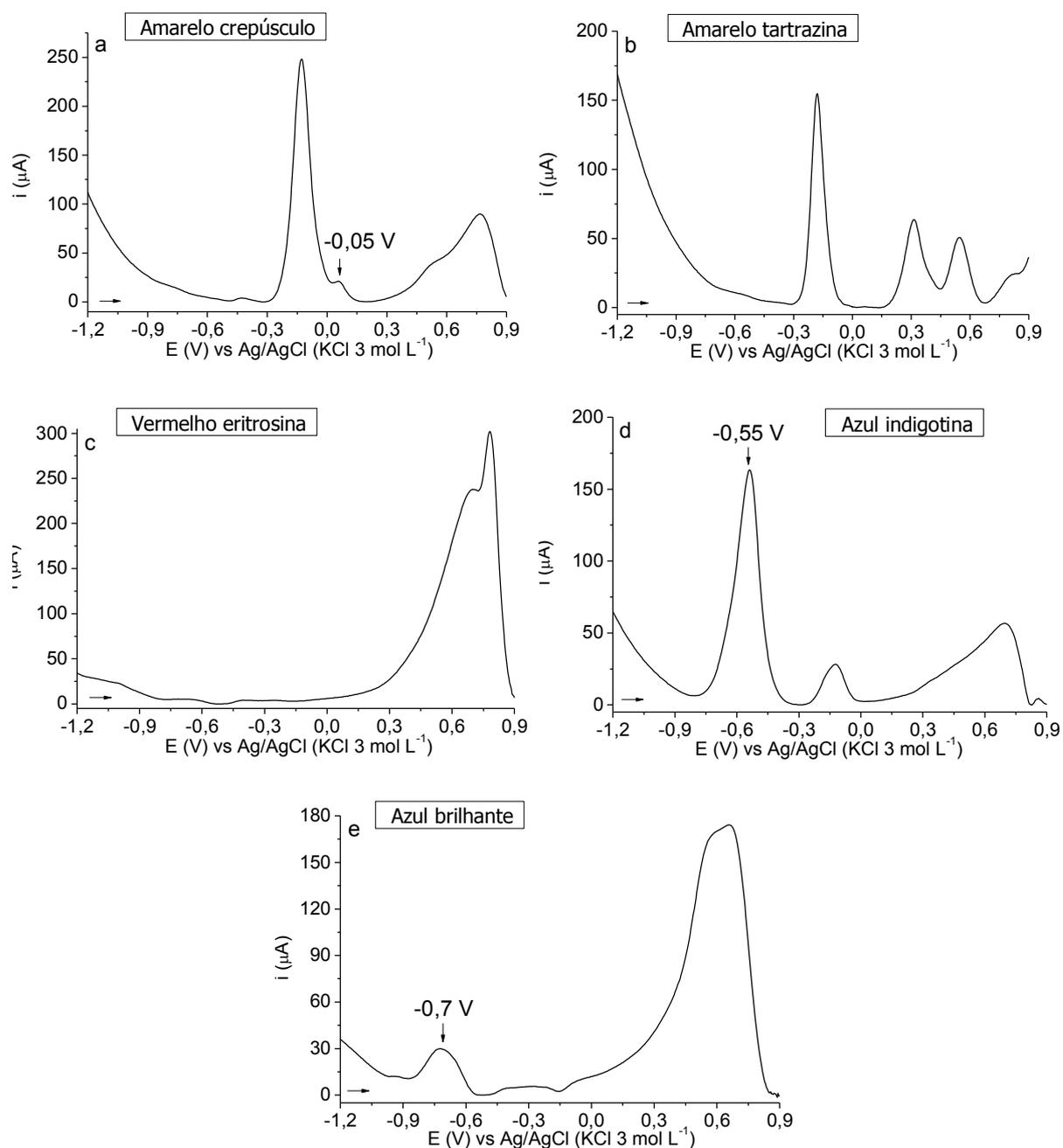


Tabela 10. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 1 mol L⁻¹.

Corantes	Potenciais anódicos (V)						
	0,7	0,5	0,2	-0,05	-0,25	-0,55	-0,7
Azul indigotina	X				X	X	
Azul brilhante	X	X					X
Vermelho eritrosina	X	X					
Amarelo tartrazina	X	X	X		X		
Amarelo crepúsculo	X	X		X	X		

Neste experimento, pode-se observar a identificação de azul indigotina, azul brilhante e amarelo crepúsculo em potenciais de -0,55; -0,7 e -0,05 V, respectivamente. Adicionalmente, pode-se observar que nestas condições, o voltamograma do amarelo crepúsculo demonstra comportamento característico para este corante através da presença de um pico em potencial -0,05 V sobreposto ao pico bem definido em -0,25 V.

Já no sentido catódico para este eletrólito com concentração 0,1 mol L⁻¹ (Figura 17 e Tabela 11), podem-se observar vários picos de redução sendo gerados, o que para a proposição de um método de *screening* não é interessante, uma vez que se tenta buscar sinais característicos que possam distinguir um corante dos outros.

Figura 17. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 0,9 V; E_{final}: -1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

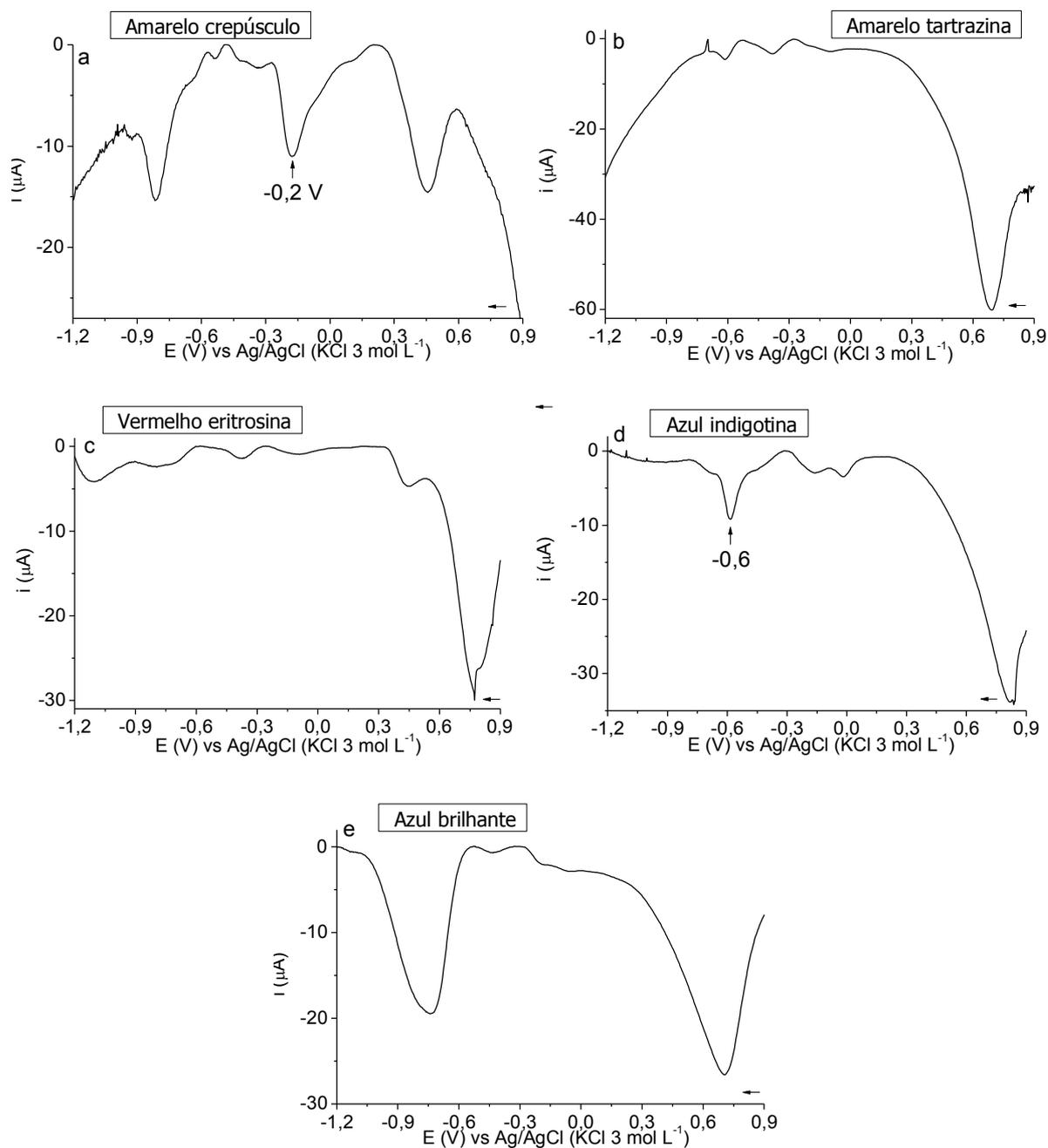


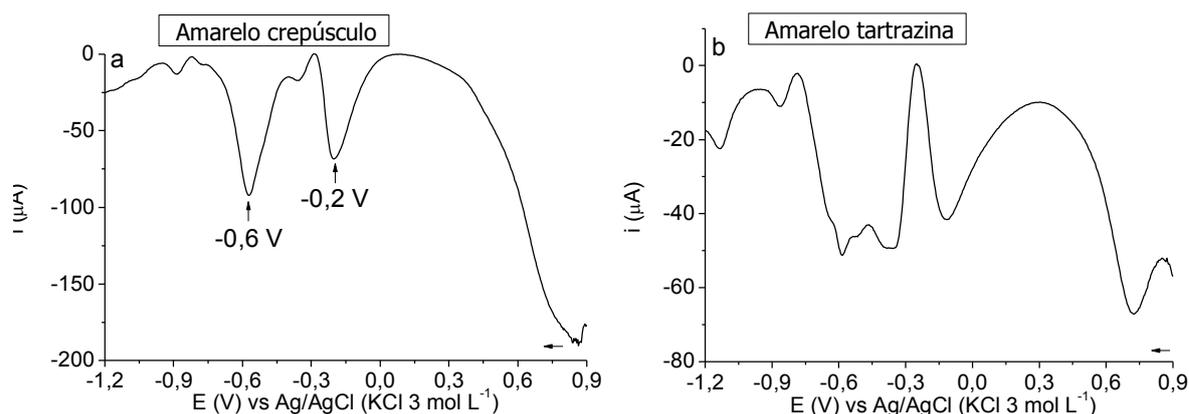
Tabela 11. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Corantes	Potenciais catódicos (V)					
	0,8	0,7	0,5	-0,2	-0,6	-0,8
Azul indigotina	X				X	
Azul brilhante		X				X
Vermelho eritrosina	X		X			
Amarelo tartrazina		X				
Amarelo crepúsculo			X	X		X

Dentre os corantes avaliados, apenas o amarelo crepúsculo e azul indigotina apresentam picos de possível identificação específica (-0,2 e -0,6 V, respectivamente).

Na Figura 18 e Tabela 12 estão demonstrados os resultados obtidos em NaOH 1 mol L⁻¹ e em sentido catódico.

Figura 18. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV em NaOH 1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 0,9 V; E_{final}: -1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



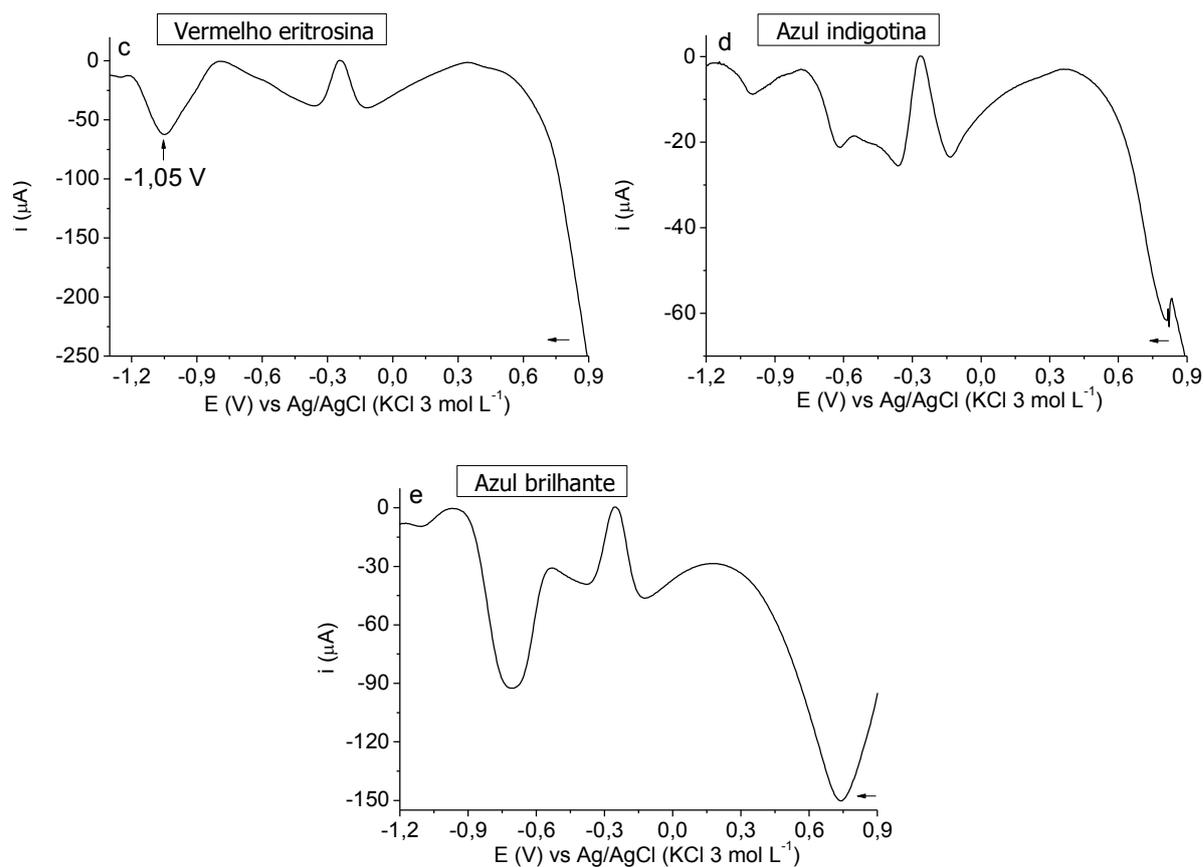


Tabela 12. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em NaOH 1 mol L⁻¹.

Corantes	Potenciais catódicos (V)				
	0,7	-0,2	-0,6	-0,65	-1,05
Azul indigotina	X			X	
Azul brilhante	X			X	
Vermelho eritrosina					X
Amarelo tartrazina	X				
Amarelo crepúsculo		X	X		

Neste sentido é possível se obter a identificação do amarelo crepúsculo (-0,2 e -0,6 V) e vermelho eritrosina (-1,05 V). Cabe salientar que neste sentido um pico em -0,28 é gerado pelo desconto do branco, dando a impressão de um sinal “ao contrário”.

Pela comparação entre as concentrações tem-se que em eletrólito NaOH 0,1 mol L⁻¹ quatro corantes são identificados (amarelo crepúsculo, amarelo tartrazina, azul indigotina e azul brilhante), enquanto em concentração 1 mol L⁻¹ somente três corantes são identificados (amarelo crepúsculo, vermelho eritrosina e azul indigotina). Estes resultados mostram que para o método de *screening*, o eletrólito NaOH 0,1 mol L⁻¹ tem seu desempenho comparável a ambas as concentrações de HCl em número de identificações e se mostra mais eficiente do que em concentração 1 mol L⁻¹. Em resumo, os esquemas das figuras 19 e 20 trazem os perfis do *screening* voltamétrico para os corantes em estado sólido em NaOH 0,1 e 1 mol L⁻¹, respectivamente.

Figura 19. Esquema de representação do *screening* voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaOH 0,1 mol L⁻¹.

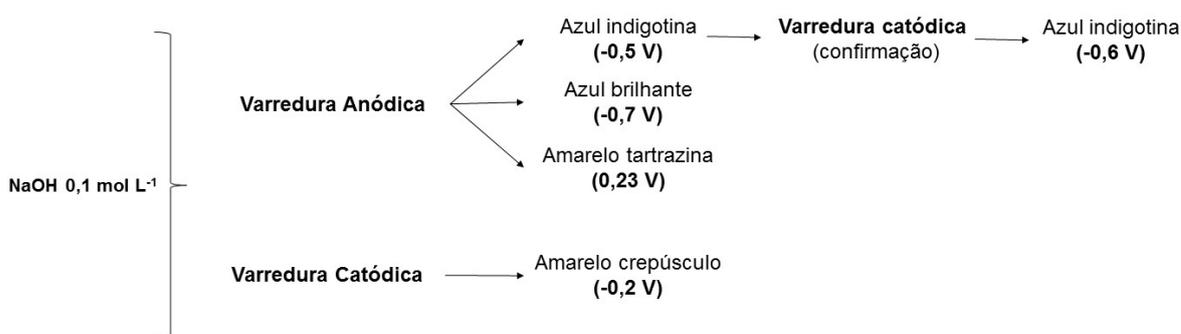
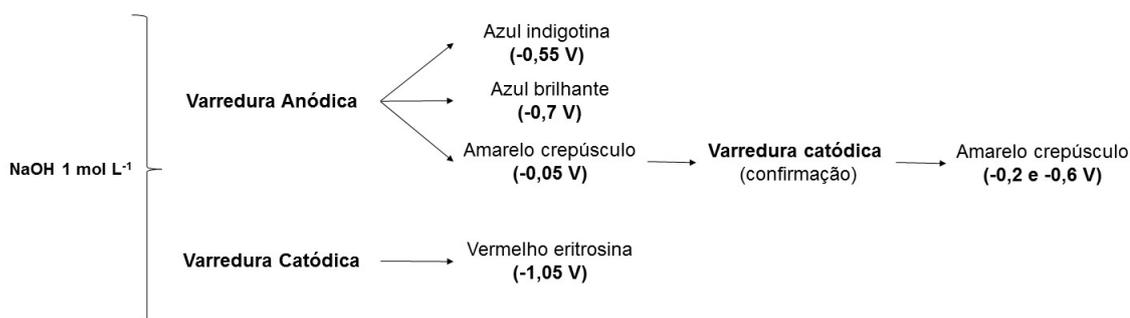


Figura 20. Esquema de representação do *screening* voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaOH 1 mol L⁻¹.



Com o intuito de identificar todos os corantes em estudo, avaliou-se também o efeito de NaCl (0,1 e 1 mol L⁻¹) no perfil eletroquímico dos compostos.

Nas Figuras 21 e Tabela 13 estão demonstrados os voltamogramas anódicos obtidos em NaCl 0,1 mol L⁻¹ assim como os potenciais dos picos dos compostos.

Figura 21. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

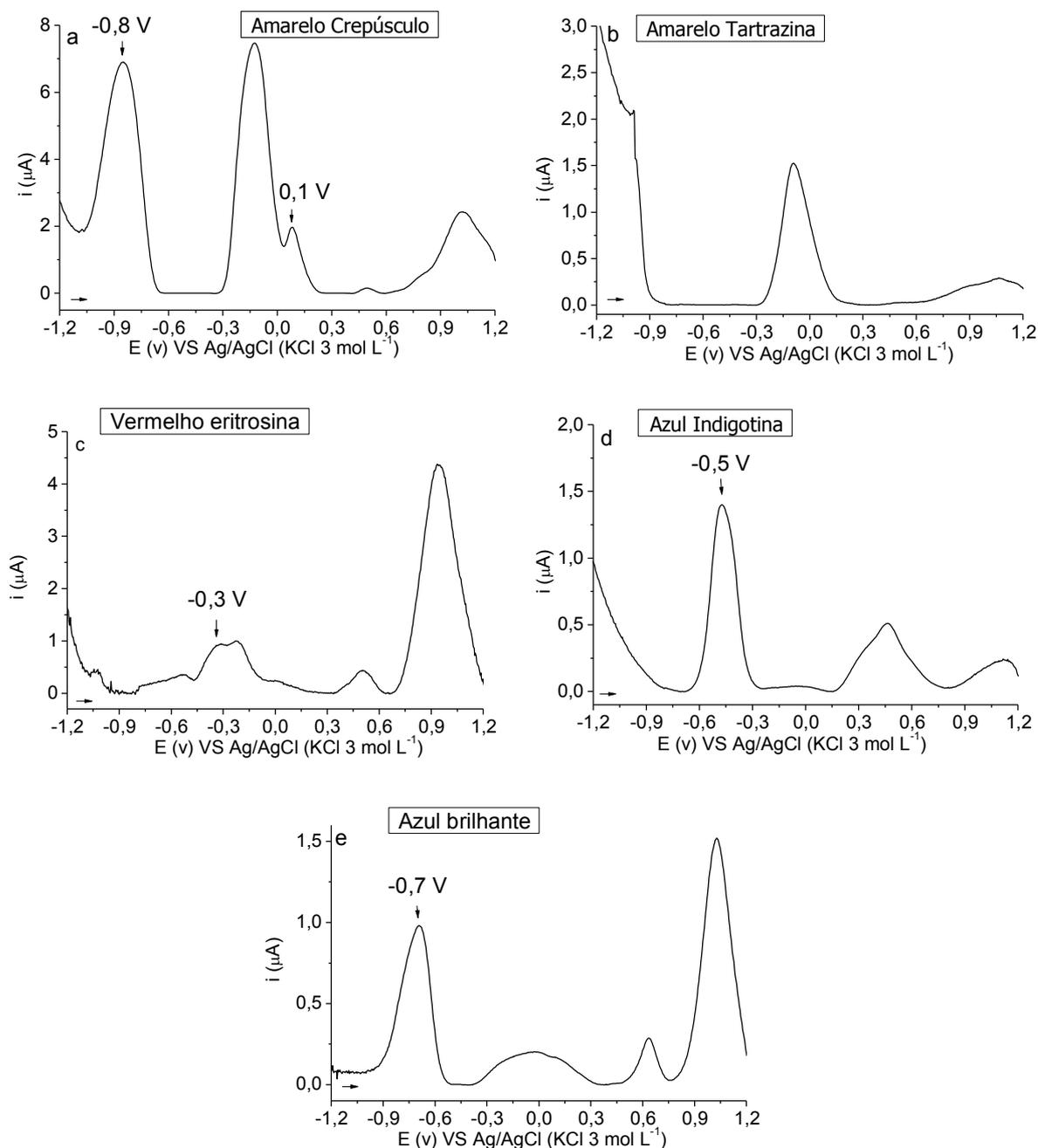


Tabela 13. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaCl 0,1 mol L⁻¹.

Corantes	Potencias anódicos (V)								
	1	0,6	0,5	0,1	-0,1	-0,3	-0,5	-0,7	-0,8
Azul indigotina	X		X				X		
Azul brilhante	X	X						X	
Vermelho eritrosina	X		X			X			
Amarelo tartrazina			X		X				
Amarelo crepúsculo	X		X	X	X				X

No sentido anódico de varredura, o corante amarelo crepúsculo pode ser identificado pelos picos em -0,8 e em 0,1 V. Já os corantes azul brilhante, azul indigotina e vermelho eritrosina que possuem dois picos entre os potenciais de 0,45 e 1,2 V podem ser diferenciados por picos característicos em -0,7, -0,5 e -0,3 V, respectivamente. O corante amarelo tartrazina, assim como o corante amarelo crepúsculo, apresenta pico em potencial -0,1 V, sendo este um pico em comum para os corantes do grupo azo. A diferenciação entre estes dois compostos se dá através do não aparecimento dos picos em 0,1 e -0,8 V no voltamograma do amarelo tartrazina (picos característicos de amarelo crepúsculo), o que permite a diferenciação de mais um corante nestas condições de análise.

Os voltamogramas anódicos e valores de potenciais de picos também foram obtidos em NaCl 1 mol L⁻¹ e estão demonstrados na Figura 22 e Tabela 14, respectivamente.

Figura 22. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

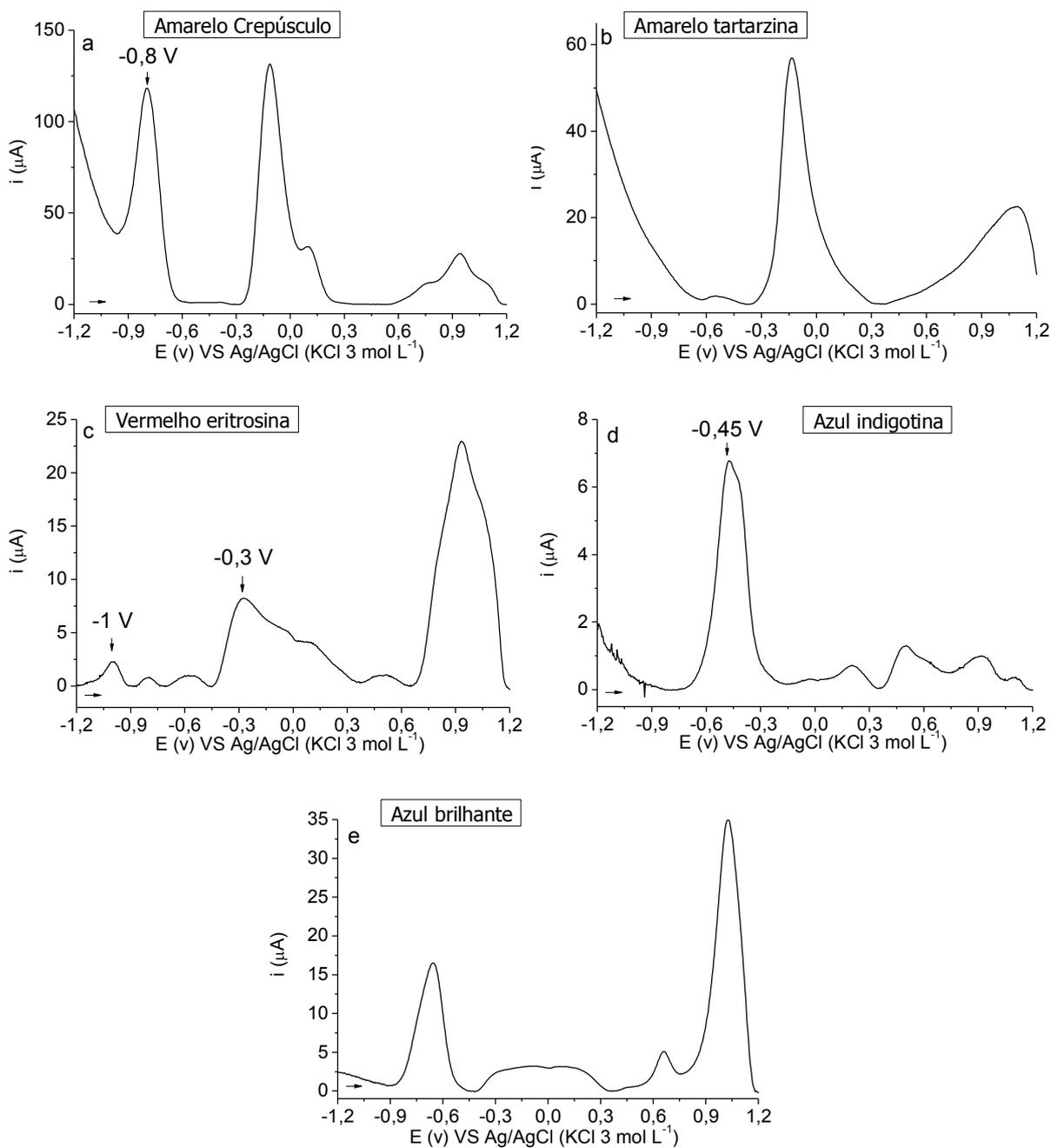


Tabela 14. Potenciais de picos anódicos dos corantes em estado sólido em NaCl 1 mol L⁻¹.

Corantes	Potencias anódicos (V)												
	1,1	1	0,9	0,7	0,6	0,1	-0,1	-0,3	-0,45	-0,5	-0,7	-0,8	-1
Azul indigotina	X		X		X		X		X				
Azul brilhante		X			X		X					X	
Vermelho eritrosina	X		X		X	X	X	X	X		X		X
Amarelo tartrazina	X			X			X			X			
Amarelo crepúsculo	X		X	X		X	X					X	

Como pode ser observado, os picos de oxidação em -1 e -0,3 V são característicos do corante vermelho eritrosina, já o pico em -0,45 V consegue identificar a presença do composto azul indigotina. Para o corante amarelo crepúsculo, o pico em 0,1 V sobreposto ao pico bem definido em -0,1 V, além da presença do pico em -0,8 V com intensidade comparável ao pico em -0,1 V são um conjunto de características que identifica facilmente este corante em meio aos outros.

A análise catódica em NaCl 0,1 mol L⁻¹ também foi realizada na tentativa de se conseguir a separação e consequente identificação dos demais corantes nesta concentração. Os voltamogramas e os picos destes compostos se encontram demonstrados na Figura 23 e Tabela 15, respectivamente.

Figura 23. Voltamogramas anódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

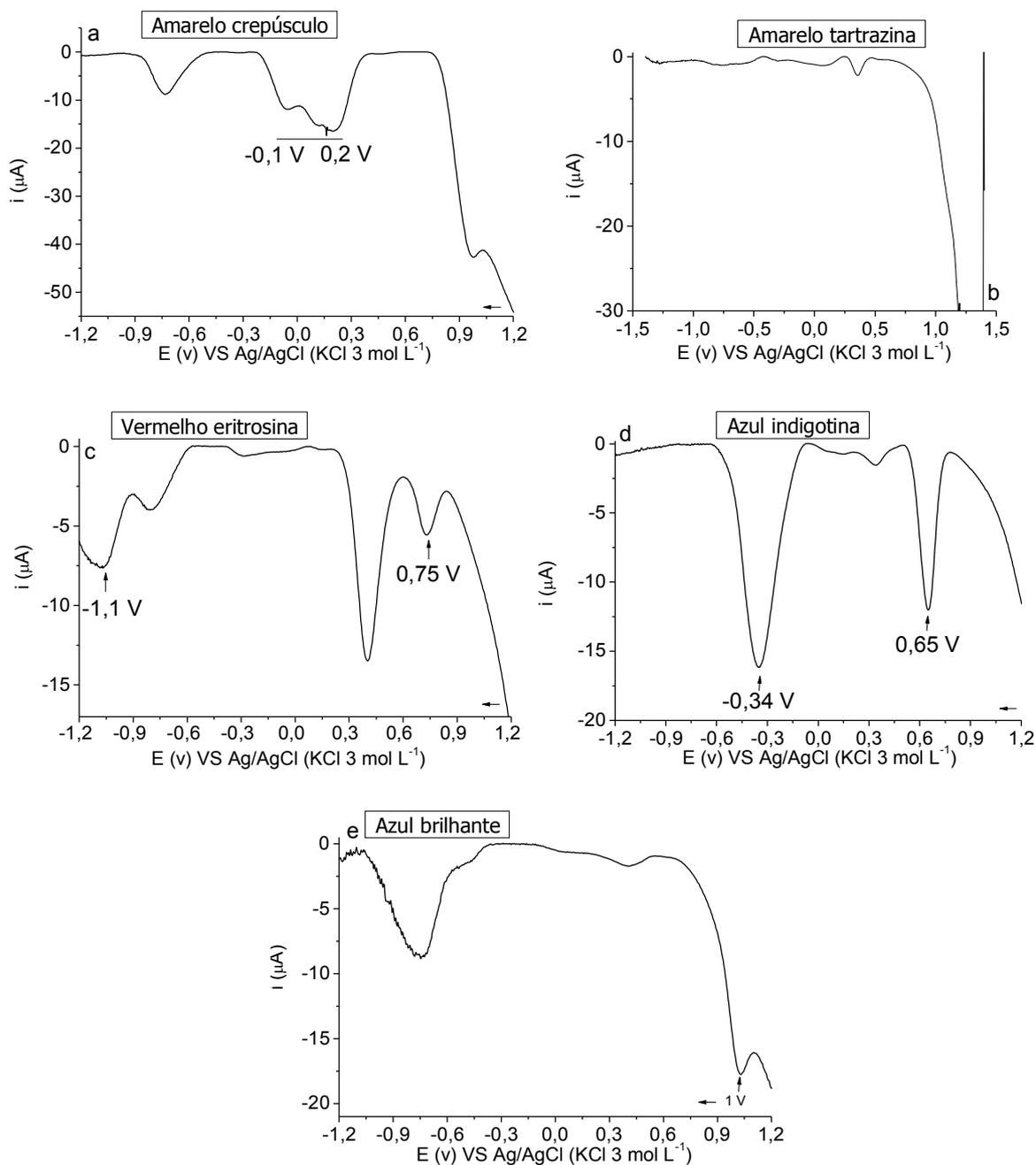


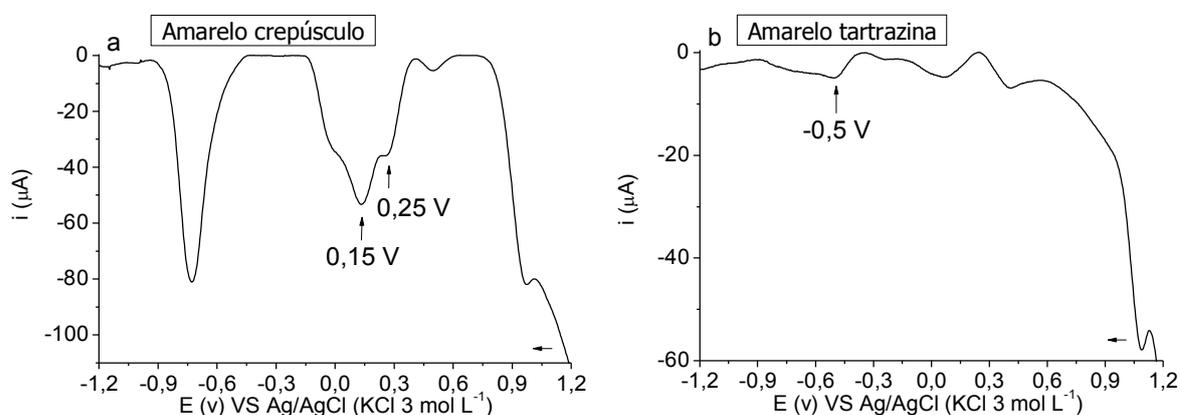
Tabela 15. Potenciais de picos dos corantes em estado sólido em NaCl 0,1 mol L⁻¹.

Corantes	Potencias catódicos										
	1	0,75	0,65	0,4	0,2	0,1	0	-0,1	-0,34	-0,8	-1,1
Azul indigotina			X	X					X		
Azul brilhante	X			X						X	
Vermelho eritrosina		X		X			X			X	X
Amarelo tartrazina				X		X				X	
Amarelo crepúsculo					X	X	X	X		X	

Neste sentido o corante azul brilhante apresentou pico de confirmação em 1 V e o azul indigotina dois picos característicos em 0,65 e -0,34 V. O corante vermelho eritrosina apresenta um pico em 0,75 V e em potenciais de -0,8 e -1,1 V são registrados dois picos sobrepostos, característicos deste composto, por isso, mesmo outros corantes apresentando picos em potencial -0,8 V, a identificação deste composto é garantida. Além destes, o corante amarelo crepúsculo apresenta três picos sobrepostos entre os potenciais de -0,1 a 0,2 V, o que permite sua diferenciação.

O mesmo experimento foi realizado em NaCl 1 mol L⁻¹ como pode ser observado na Figura 24 e Tabela 16.

Figura 24. Voltamogramas catódicos em estado sólido de (a) amarelo crepúsculo, (b) amarelo tartrazina, (c) vermelho eritrosina, (d) azul indigotina e (e) azul brilhante por SWV NaCl 1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



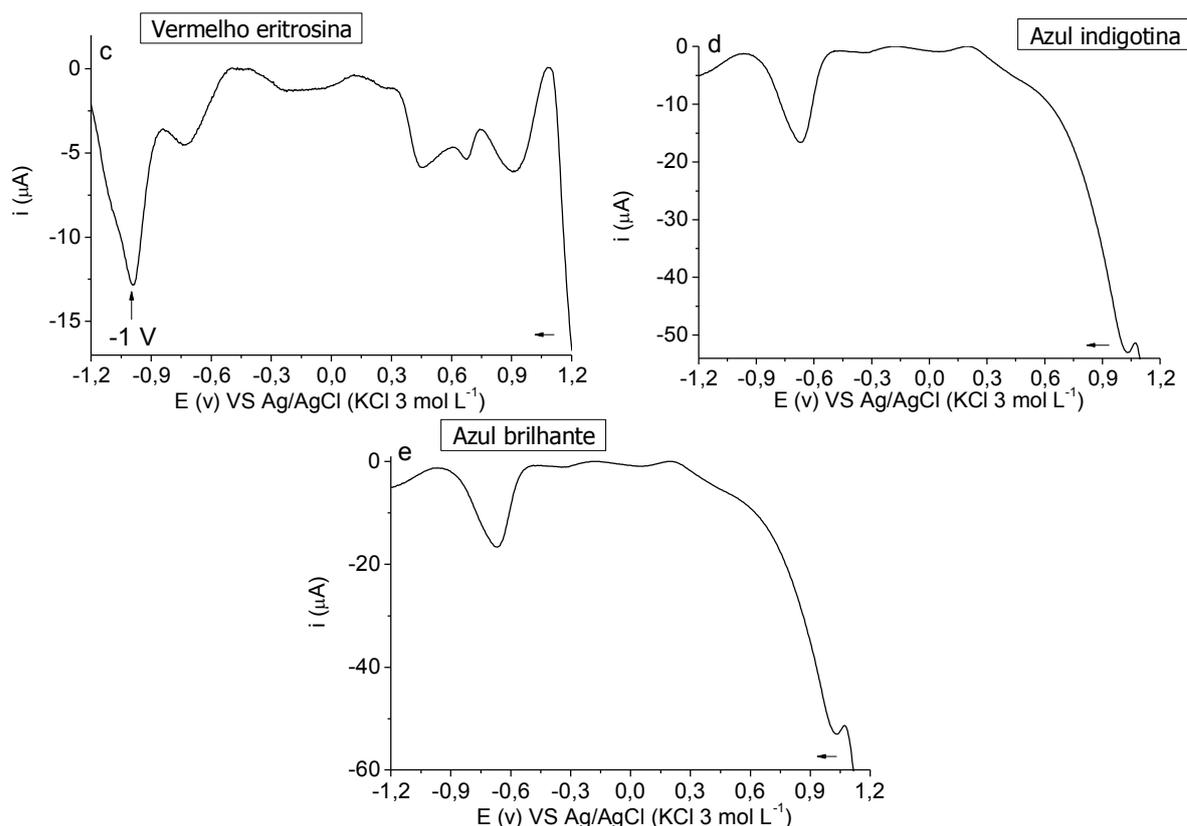


Tabela 16. Potenciais de picos catódicos dos corantes em estado sólido em NaCl 1 mol L⁻¹.

Corantes	Potencias catódicos (V)										
	1,1	0,7	0,5	0,25	0,15	0	-0,1	-0,3	-0,5	-0,8	-1
Azul indigotina		X					X	X			
Azul brilhante	X						X	X			
Vermelho eritrosina	X	X	X							X	X
Amarelo tartrazina	X		X			X			X		
Amarelo crepúsculo	X		X	X	X	X				X	

A varredura catódica possibilita a identificação de uma maior quantidade de corantes complementando assim os resultados obtidos pelo sentido anódico do eletrólito NaCl 1 mol L⁻¹. O corante amarelo crepúsculo, apresenta três picos sobrepostos entre os potenciais 0 e 0,25 V característico deste composto e observado também na concentração de 0,1 mol L⁻¹. Além da identificação do amarelo crepúsculo, a varredura catódica permite a diferenciação do corante

amarelo tartrazina (pico em -0,5 V). Já o vermelho eritrosina apresenta dois picos sobrepostos em potencial -1 V.

A partir dos resultados obtidos para as duas concentrações deste eletrólito, pode-se destacar a eficiência do NaCl 0,1 mol L⁻¹ para um método de *screening*. Nesta concentração, ocorre a identificação da mesma quantidade de corantes por avaliação dos potenciais de picos, do que em concentração 1 mol L⁻¹. Porém através dos resultados obtidos em NaCl 0,1 mol L⁻¹ existe a possibilidade de identificação do composto amarelo tartrazina que apresenta pico em -0,1 V em comum para o corante amarelo crepúsculo, porém a partir da ausência dos picos em 0,1 e -0,8 V (característicos do amarelo crepúsculo) também possibilita a sua identificação nestas condições. Sendo assim, o NaCl 0,1 mol L⁻¹ foi escolhido como eletrólito para as análises de *screening* dos corantes alimentícios em estado sólido por possibilitar a identificação de todos os corantes avaliados neste estudo.

A Figura 25 e 26 resume os principais processos anódicos e catódicos que possibilitam a caracterização e confirmação da presença dos corantes alimentares no estado sólido em NaCl 0,1 e 1 mol L⁻¹, respectivamente.

Figura 25. Esquema de representação do *screening* voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaCl 0,1 mol L⁻¹.

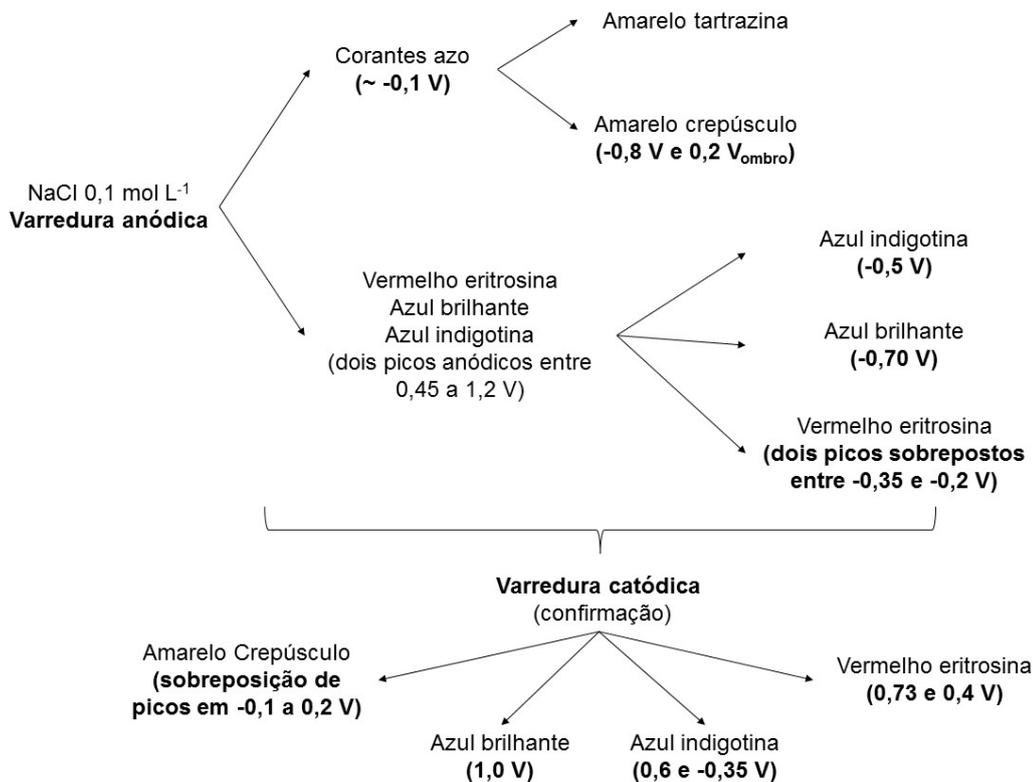
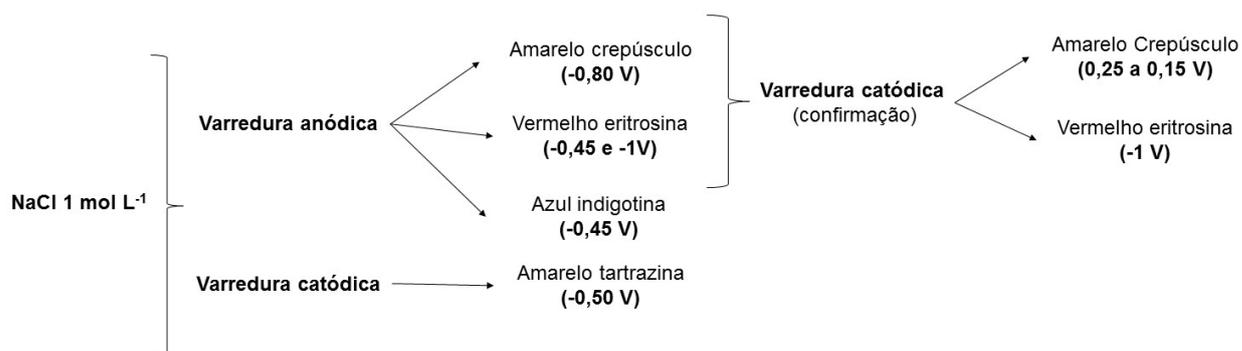


Figura 26. Esquema de representação do *screening* voltamétrico dos compostos em estado sólido em NaCl 1 mol L⁻¹.

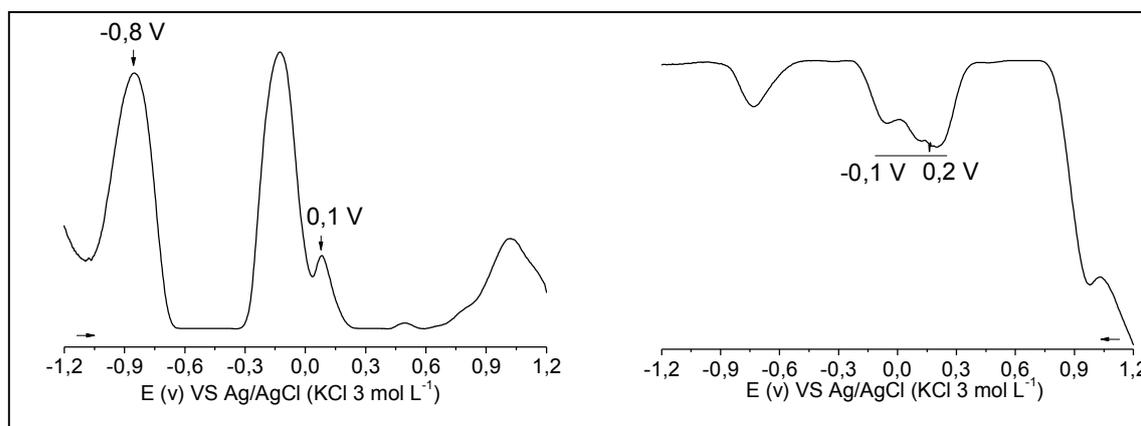


Levando em consideração os resultados obtidos para os diferentes eletrólitos e concentrações testadas, o método de *screening* voltamétrico utilizando micropartículas imobilizadas para análise de corantes alimentícios apresentou melhores respostas quando o eletrólito NaCl 0,1 mol L⁻¹ foi empregado. O resumo demonstrando os voltamogramas destacando os picos para identificação de cada

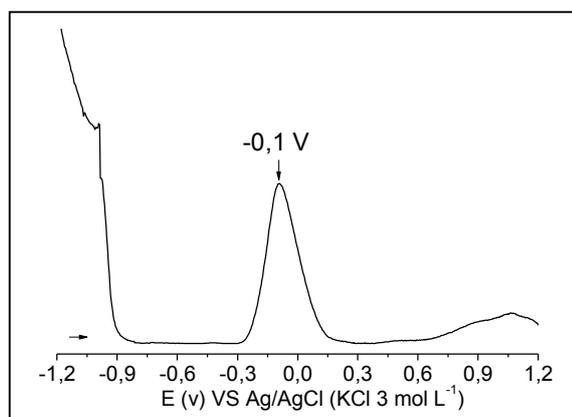
um dos corantes no sentido anódico, assim como as confirmações catódicas obtidas, encontram-se apresentados nos voltamogramas da Figura 27.

Figura 27. Voltamogramas com a identificação dos picos específicos na (a) varredura anódica e catódica do amarelo crepúsculo, (b) varredura anódica do amarelo tartrazina, (c) varredura anódica e catódica do vermelho eritrosina, (d) varredura anódica e catódica do azul indigotina e (e) varredura anódica e catódica do azul brilhante a partir do *screening* voltamétrico utilizando micropartículas imobilizadas para análise de corantes alimentícios.

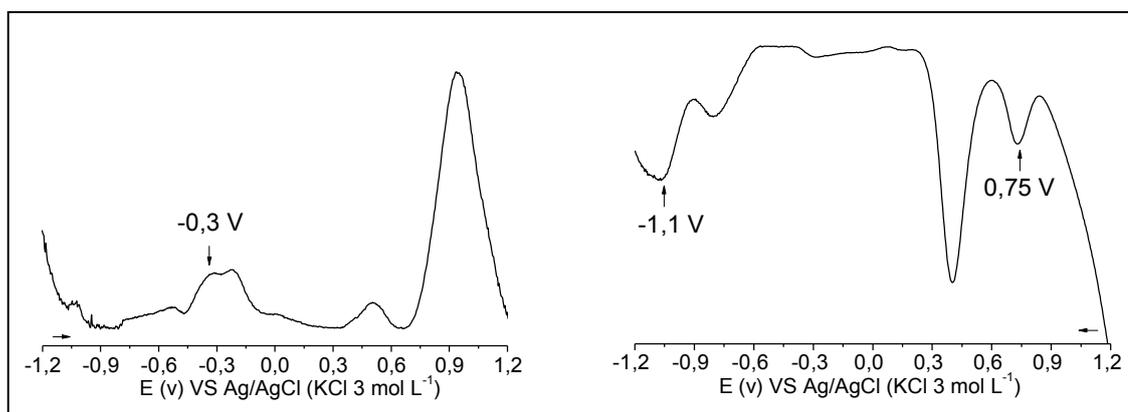
(a) Amarelo crepúsculo



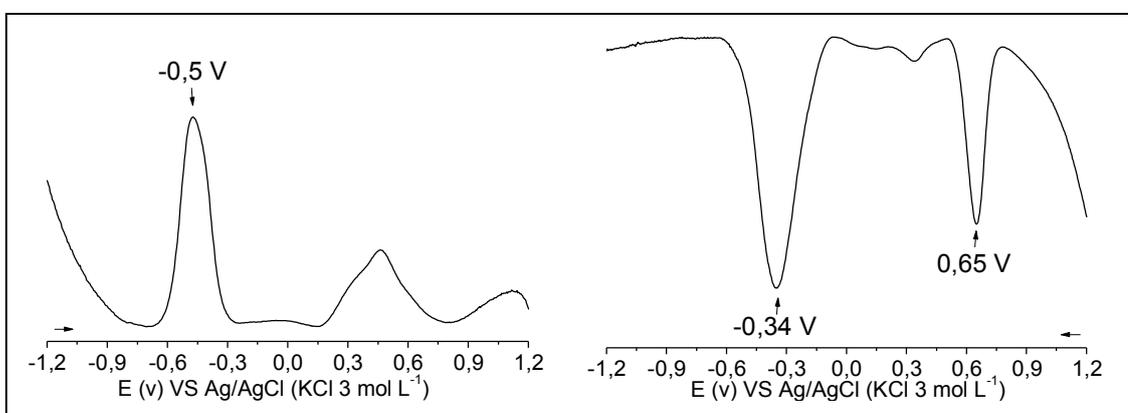
(b) Amarelo tartrazina



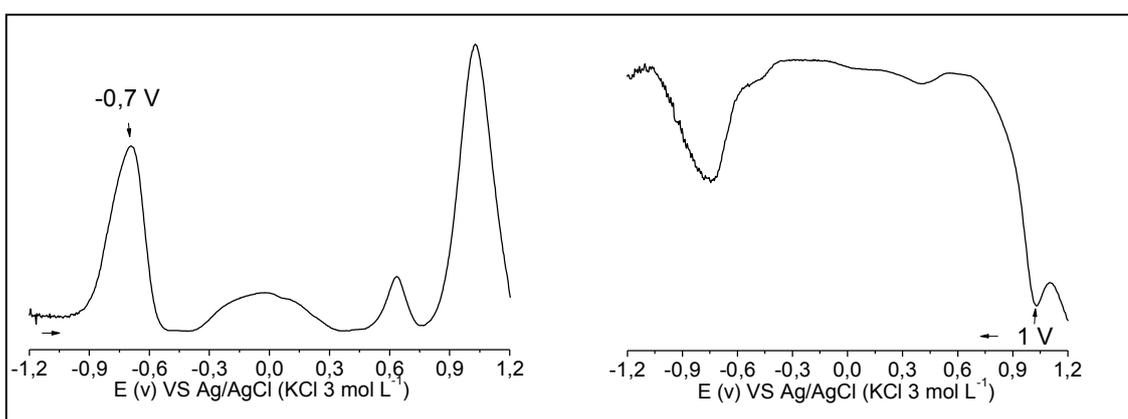
(c) Vermelho eritrosina



(d) Azul indigotina



(e) Azul brilhante



Na literatura até o momento, não foram encontrados trabalhos que consigam fazer determinação simultânea de uma quantidade tão grande de corantes sem que haja prévio preparo de amostra. Foriano et al. (2018) realizou determinação de seis

corantes (tartrazina, amarelo crepúsculo, amaranço, ponceau 4R, vermelho indigo e azul brilhante) através de extração por dispersão em fase sólida e análise por HPLC. Cabe salientar que em comparação com o método proposto neste trabalho, a determinação por HPLC é muito cara, visto que o custo do equipamento é muito superior além da manutenção e do custo dos reagentes e a necessidade do preparo de amostra para que essa análise seja realizada (VASANTHI; DEVENDIRAN; NARAYANAN, 2017), evidenciando assim a superioridade do método de *screening* em estado sólido desenvolvido neste trabalho.

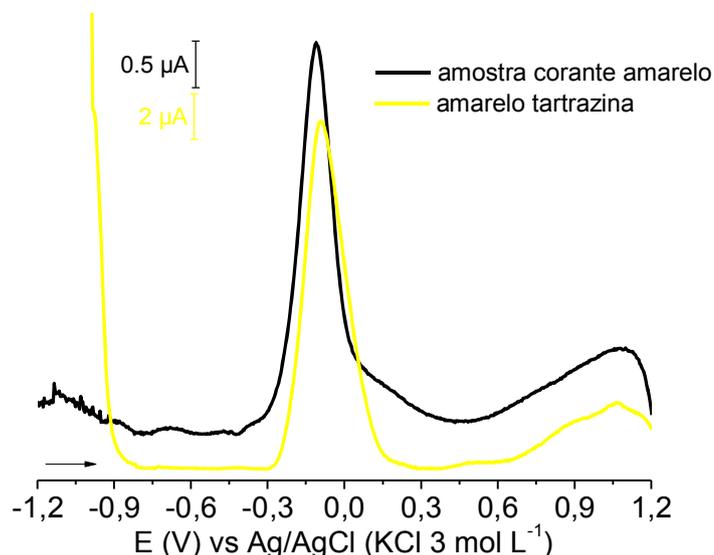
5.1.2 *Screening* em estado sólido de amostras de corantes culinários comerciais

A identificação dos corantes presentes nas amostras de corantes alimentícios em pó foi realizada a partir de varreduras anódicas e catódicas por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹, uma vez que estas condições apresentaram os melhores resultados para a realização do *screening* dos corantes estudados neste trabalho.

Para melhor compreensão dos dados obtidos, os voltamogramas dos padrões com picos de identificação compatíveis aos picos gerados pelas amostras serão sobrepostos a estas com o intuito de facilitar a investigação das presenças dos corantes contidos nas amostras comerciais.

Sendo assim, o voltamograma do corante culinário em pó “amarelo” teve a sobreposição da resposta eletroquímica do corante amarelo tartrazina em seu voltamograma anódico, como observado na Figura 28.

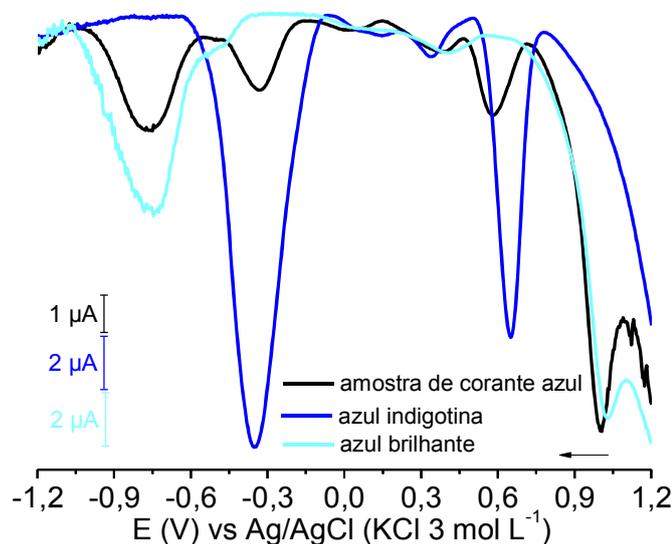
Figura 28. Voltamogramas anódicos para a amostra de corante em pó amarelo e padrão amarelo tartrazina em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



Como pode ser observado o voltamograma da amostra apresenta pico anódico em potencial -0,1 V, que também é um indicativo da presença do corante amarelo crepúsculo. Porém, conforme descrito anteriormente, o amarelo tartrazina tem sua identificação confirmada pelo não aparecimento dos picos de oxidação em 0,1 e -0,8 V (característicos de amarelo crepúsculo). Sendo assim, conforme identificado no rótulo do produto, esta amostra contém somente o corante amarelo tartrazina.

O corante culinário “azul” apresenta seu voltamograma sobreposto ao voltamograma dos padrões azul indigotina e azul brilhante na Figura 29.

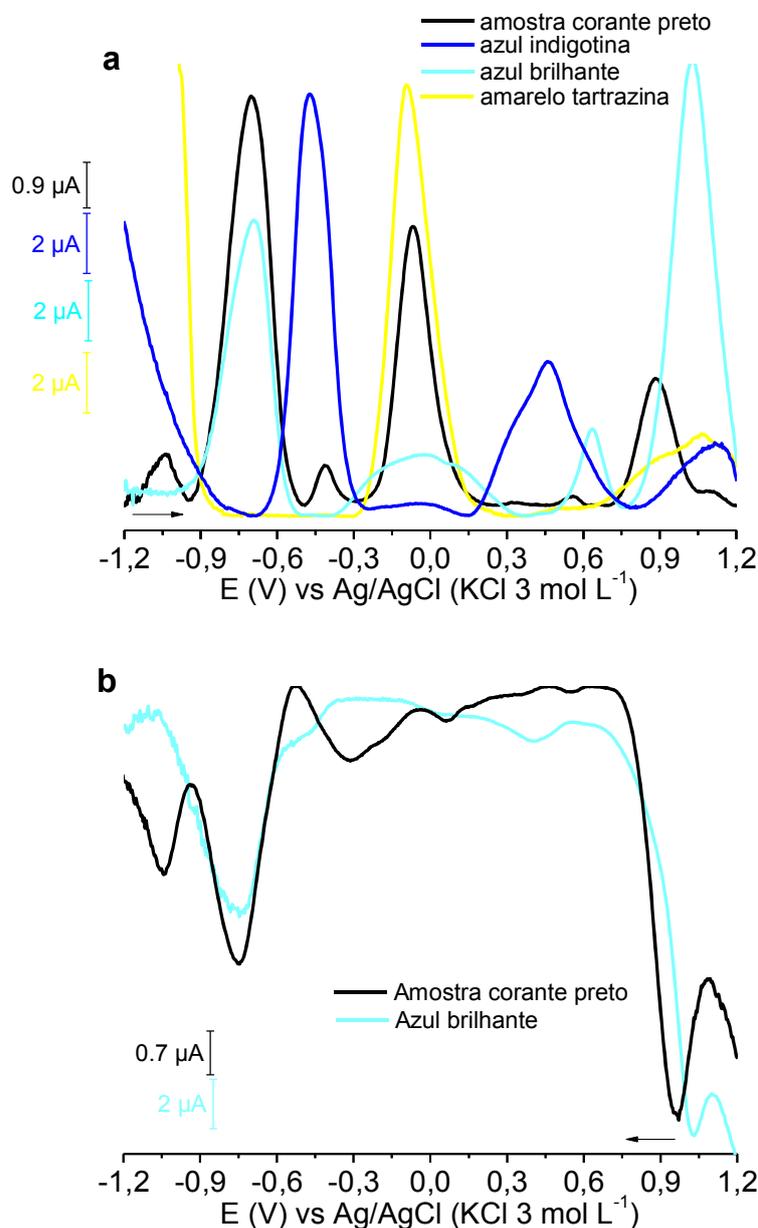
Figura 29. Voltamogramas catódicos para a amostra de corante em pó azul e padrões azul indigotina e azul brilhante em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



A identificação dos dois corantes presentes nesta amostra pode de ser realizada pela análise do voltamograma no sentido catódico onde dois picos característicos do composto azul indigotina podem ser observados (0,65 e -0,34 V). Além deste, o corante azul brilhante também pode ser identificado na amostra pelos picos catódicos obtidos em 1 e -0,8 V.

A partir da análise dos picos gerados para o corante culinário “preto” os voltamogramas em ambos os sentidos de varredura da amostra e dos possíveis corantes utilizados na sua formulação estão sobrepostos na Figura 30.

Figura 30. Voltamogramas (a) anódicos para a amostra de corante em pó preto e padrões amarelo tartrazina, azul indigotina e azul brilhante e (b) catódicos para a amostra de corante em pó preto e padrão azul brilhante em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

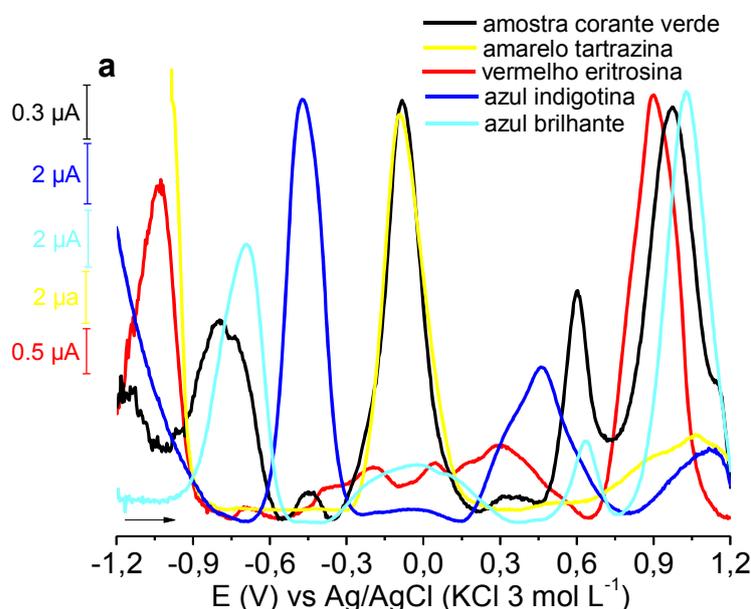


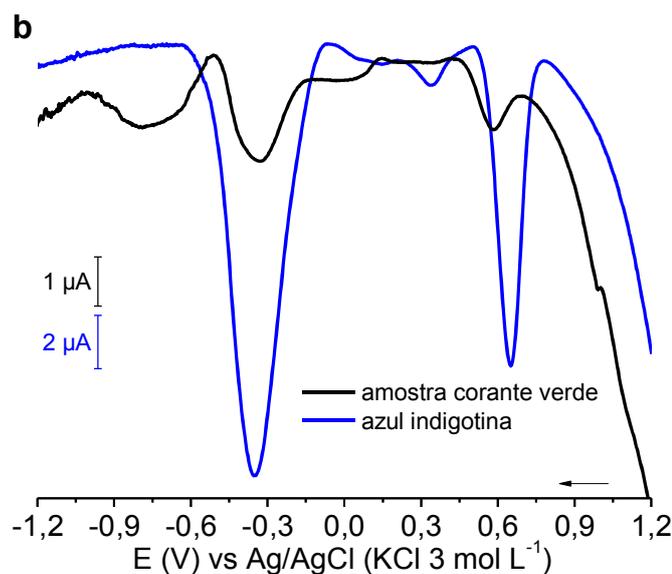
Como pode ser observado no voltamograma anódico, os picos gerados pelo corante alimentar preto nos potenciais -0,70, -0,45 e -0,1 V podem ser atribuídos azul brilhante, indigotina e azo compostos, respectivamente. Além disso, o pico anódico intenso em torno de 0,9 V também pode ser um indicativo de eritrosina, no entanto, não é um corante comum usado para a cor verde. A ausência de sinais em

torno de -0,8 V e um ombro em 0,1 V do perfil voltamétrico amarelo crepúsculo leva a identificação do corante azo presente na amostra como sendo amarelo tartrazina. Quando a varredura catódica foi realizada, foi observado um intenso processo catódico em torno de 1,0 V, confirmando a presença de azul brilhante. Além disso, mesmo com um sinal em torno de -0,35 V característico da indigotina, o pico intenso em torno de 0,6 V não foi observado na amostra, levando a uma não confirmação do corante indigotina. Os picos para caracterização do amarelo crepúsculo também estavam ausentes durante a varredura catódica, confirmando novamente a presença de amarelo tartrazina como o corante do grupo azo utilizado.

Na Figura 31 têm-se apresentados os voltamogramas da amostra do corante “verde” além dos voltamogramas dos padrões amarelo tartrazina, azul indigotina, azul brilhante e vermelho eritrosina.

Figura 31. Voltamogramas (a) anódicos para a amostra de corante em pó verde e padrões amarelo tartrazina, azul indigotina, azul brilhante e vermelho eritrosina e (b) catódicos para a amostra de corante em pó verde e padrão azul indigotina em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.

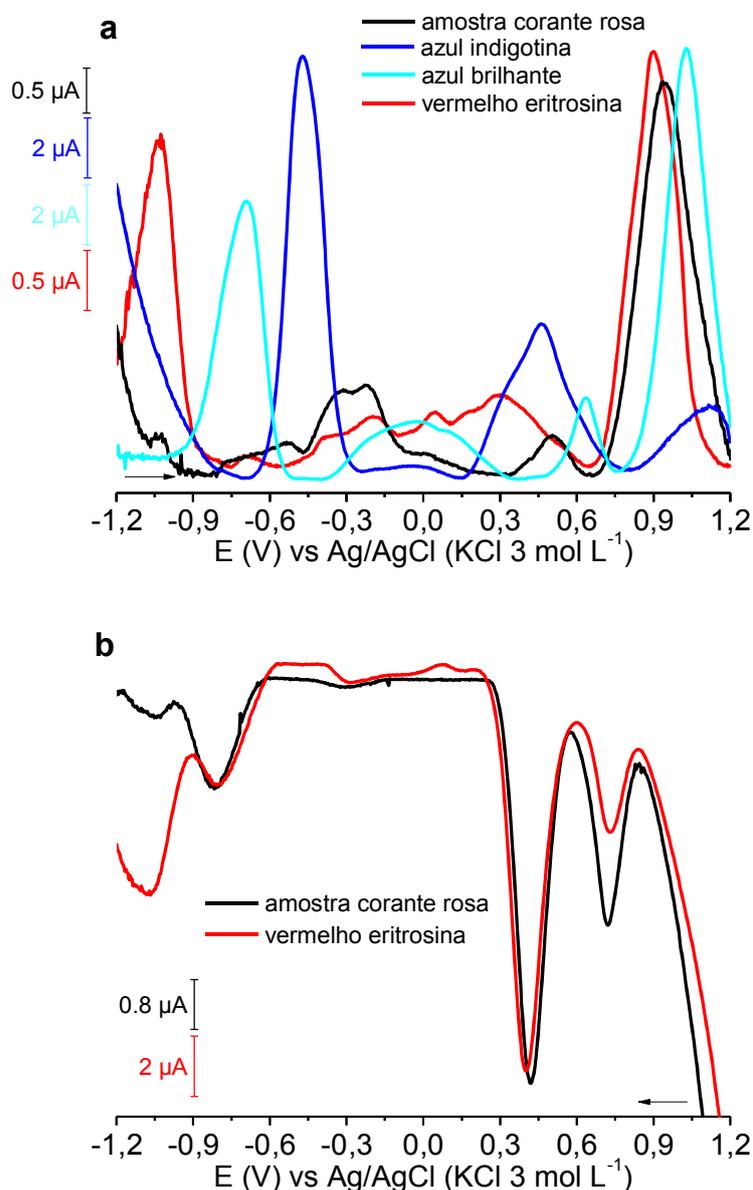




A varredura anódica retratou dois picos sobrepostos da amostra de corante alimentar "verde" entre -0,9 e -0,6 V, além de três picos anódicos em torno de -0,1; 0,6 e 1,0 V. Um pico menos intenso em torno de -0,45 V também foi observado. Os dois picos anódicos entre 0,45 e 1,2 podem ser características de vermelho eritrosina, azul brilhante e indigotina. Do mesmo modo, a presença de um pico intenso em torno de -0,1 V é caracterizado como compostos azo, mas a ausência de um ombro próximo a esse pico intenso exclui a presença de amarelo crepúsculo e confirma a presença de amarelo tartrazina. Durante a varredura catódica, a suspeita da presença de vermelho eritrosina e azul brilhante foi descartada pela ausência dos picos de caracterização em torno de 0,73; 0,40 e 1,0, enquanto a indigotina foi confirmada pela presença de um pico intenso em 0,60 e -0,35 V.

O corante alimentício em pó "rosa" teve seus voltamogramas sobrepostos aos voltamogramas das amostras de azul brilhante, azul indigotina e vermelho eritrosina e encontram-se demonstrados na Figura 32.

Figura 32. Voltamogramas (a) anódicos para a amostra de corante em pó rosa e padrões azul indigotina, azul brilhante e vermelho eritrosina e (b) catódicos para a amostra de corante em pó rosa e padrão vermelho eritrosina em estado sólido por SWV em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: -1,2 V; E_{final}: 1,2 V, E_{step}: 4 mV, frequência: 5 Hz e amplitude: 25 mV.



O perfil voltamétrico da amostra de corante alimentar “rosa” apresentou processos sobrepostos de -0,5 a -0,15 V, um pico em 0,5 V seguido de um pico anódico intenso em 0,9 V, que pode ser atribuído ao azul brilhante, indigotina ou eritrosina. No entanto, durante a varredura catódica, é possível confirmar apenas o vermelho eritrosina devido à presença de dois sinais intensos em torno de 0,73 e

0,40 V e à ausência dos picos característicos para azul brilhante de azul e indigotina excluem a possibilidade destes corantes na formulação deste produto. Além disso, o corante vermelho eritrosina estava presente na lista de ingredientes no rótulo da amostra.

5.2. Elucidação do mecanismo do corante amarelo crepúsculo em estado sólido através da análise por voltametria cíclica

Tendo em vista que os corantes da classe azo são uns dos mais importantes e mais utilizados corantes sintéticos dentre todos os permitidos no Brasil (YAMJALA; NAINAR; RAMISETTI, 2016) e não haver na literatura estudos eletroquímicos do amarelo crepúsculo em estado sólido, este corante foi escolhido para realizar-se a avaliação do comportamento eletroquímico e a compreensão dos processos redox.

Para a avaliação do comportamento eletroquímico do corante amarelo crepúsculo, a voltametria de micropartículas imobilizadas foi utilizada visando o estudo deste composto em estado sólido. Estudos sobre as reações de redução e oxidação dos grupamentos deste composto já vem sendo relatados na literatura em solução (VLADISLAVIĆ et al, 2018; Ahmad; Murtaza; Ahmed, 2015), porém, o estudo mecanístico em estado sólido do corante amarelo crepúsculo é algo inédito até o momento.

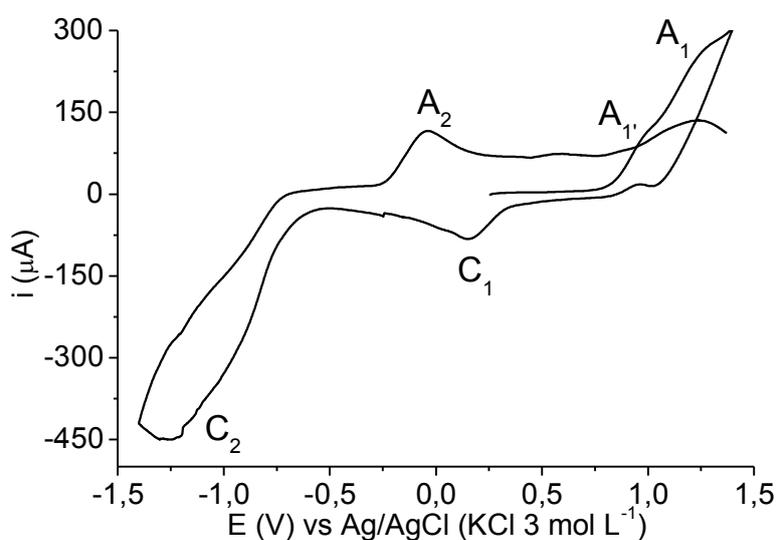
Este estudo se torna pertinente pelas vantagens relacionadas à análise em estado sólido (simplicidade e não necessitar de um preparo da amostra) além de ser possível se elucidar o mecanismo redox em matrizes sólidas.

As reações de redução e oxidação destes compostos na superfície do eletrodo ocorrem de maneira semelhante aos processos metabólicos (VLADISLAVIĆ et al, 2018), tornando assim o estudo mecanístico redox muito relevante. Além disto, a compreensão do comportamento em termos de estudo eletroquímico tem muito a agregar ao entendimento das etapas das reações redox dos mecanismos destas moléculas. Tendo em vista a complexidade de mecanismos de reação em estado

sólido, primeiramente avaliou-se o perfil redox do corante amarelo crepúsculo por CV com varreduras anódicas e catódicas.

O voltamograma cíclico no sentido anódico obtido para este composto pode ser observado na Figura 33.

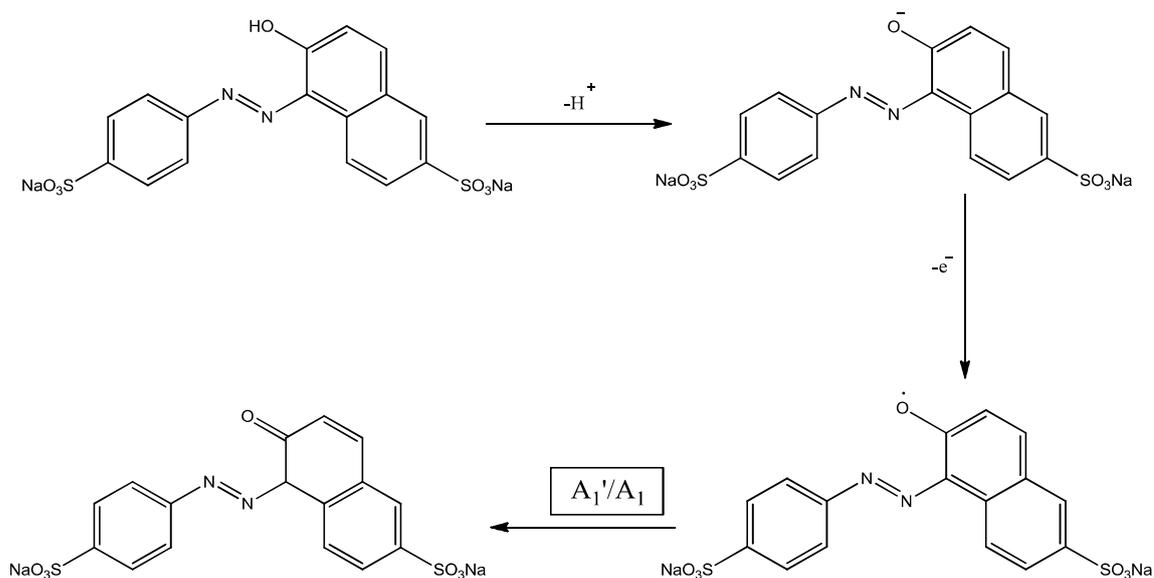
Figura 33. Voltamograma anódico em estado sólido de amarelo crepúsculo por CV em NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 0,25 V; E_{superior}: 1,4 V, E_{inferior}: -1,4 V, E_{final}: 1,4 V, E_{step}: 2,44 mV, velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.



No voltamograma com varredura iniciada em sentido anódico (0,2 V), podem-se observar dois picos de oxidação em potenciais de 0,91 e 1,2 V (representados como A₁' e A₁, respectivamente). Após a inversão de potenciais (varredura catódica) são observados picos de redução em potenciais de 0,18 e -1,4 V (C₁ e C₂ respectivamente) e realizando-se na sequencia a varredura anódica, observa-se um pico de oxidação em -0,07 V (A₂).

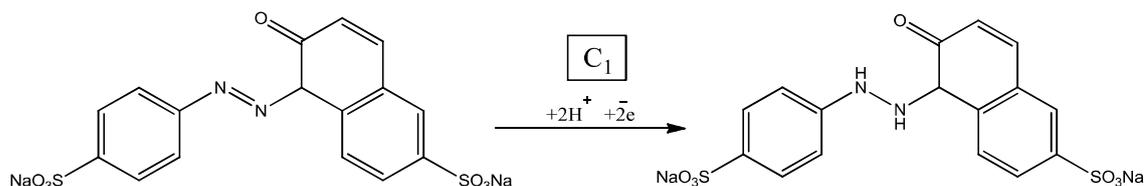
Como a varredura cíclica neste caso se inicia no sentido anódico, o pico A₁ pode ser atribuído a oxidação da hidroxila ligado ao anel aromático em posição ortho a ligação azo (Ahmad; Murtaza; Ahmed, 2015). Esta etapa pode acontecer segundo o mecanismo representado na Figura 34.

Figura 34. Esquema de reação de oxidação radicalar da hidroxila

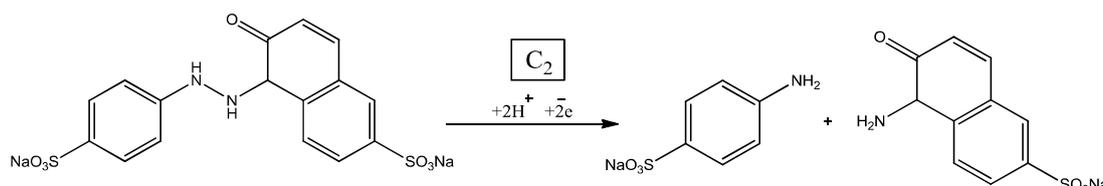


Os dois picos de oxidação obtidos na primeira varredura estão relacionados a (i) etapa da formação radicalar da carboxila (A₁'), onde primeiro ocorre a perda de um próton e logo em seguida a perda do elétron, formando assim a dupla ligação entre o carbono benzênico e o oxigênio e (ii) a formação direta da dupla ligação entre o carbono e o oxigênio, gerada a partir da transferência simultânea do próton e do elétron envolvidos na reação (A₁) (Ahmad; Murtaza; Ahmed, 2015).

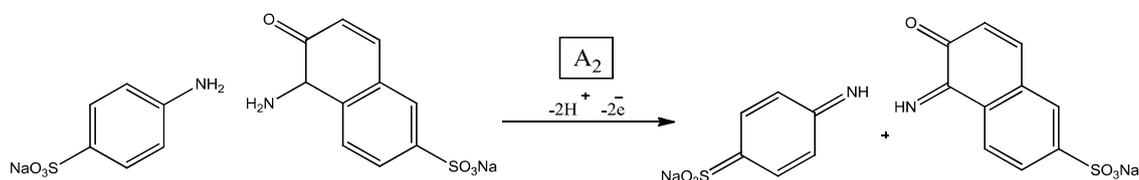
Segundo a literatura, a presença de um grupo retirador de elétrons em posição ortho a ligação azo, possibilita a redução parcial da dupla ligação entre os nitrogênios (VLADISLAVIĆ et al, 2018). Isso ocorre, pois o grupo retirador diminui a densidade eletrônica entre os nitrogênios, favorecendo a quebra em etapas da dupla ligação. Sendo assim, a carboxila em posição ortho a ligação azo favorece a redução deste grupamento a hidrazo. A partir disso, pode-se atribuir o pico C₁ a redução demonstrada na Figura 35.

Figura 35. Esquema de reação de redução do grupo azo a hidrazo.

O composto gerado a partir da quebra de uma das duas ligações entre os nitrogênios pode apresentar uma nova redução que segundo a literatura ocorre em regiões mais negativas de potencial (C_2) (Ahmad; Murtaza; Ahmed, 2015). A quebra deste composto leva à formação de duas aminas correspondentes, que estão apresentadas como produto da reação no Figura 36.

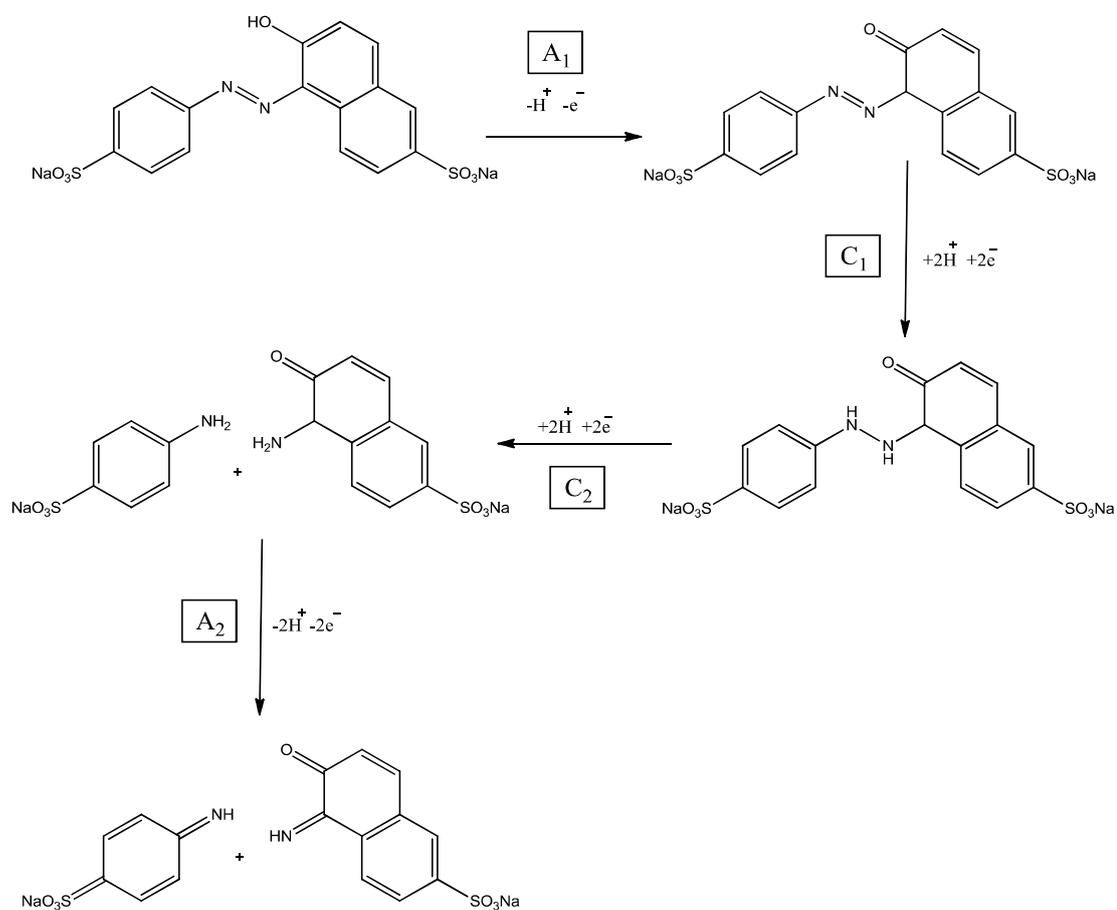
Figura 36. Esquema de reação de redução do grupamento hidrazo a aminas correspondentes.

As aminas geradas como produto da redução total do corante, tem sua oxidação facilitada na varredura inversa (YUU; JIAA; MA, 2004), o que no voltamograma anódico da Figura 33 está representado por A_2 . A reação demonstrada na Figura 37 apresenta a oxidação onde, através da perda de um elétron e um próton de cada nitrogênio, ocorre a formação de ligação dupla entre estes e os carbonos do anel (BERNETH, 2008).

Figura 37. Esquema de reação de oxidação das a aminas correspondentes.

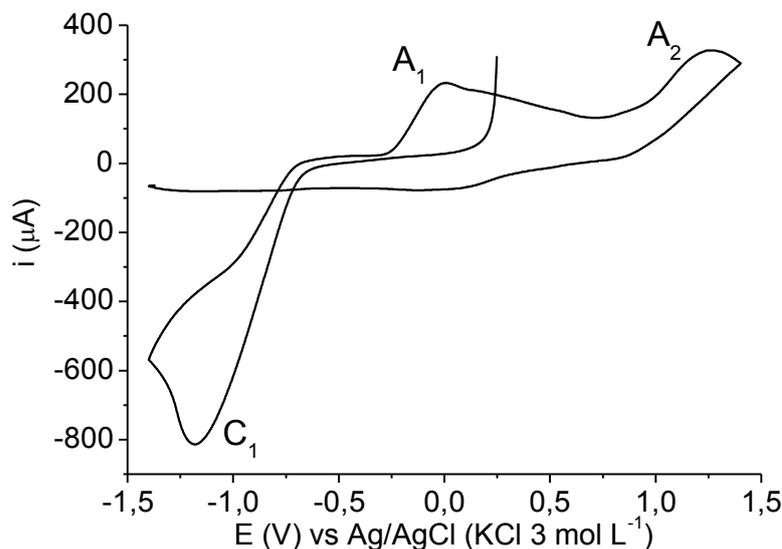
Em suma, as reações verificadas a partir de voltametria cíclica no sentido anódico encontram-se resumidas na Figura 38, onde a reação redox global nestas condições para o corante amarelo crepúsculo estão demonstradas.

Figura 38. Reação redox global para o corante amarelo crepúsculo demonstrado pela voltametria cíclica anódica



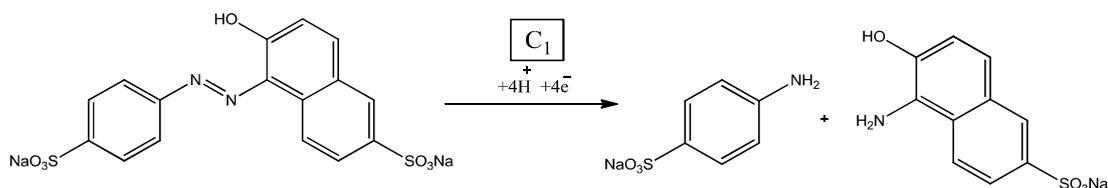
A voltametria cíclica do corante amarelo crepúsculo no estado sólido também foi registrada no sentido catódico e o voltamograma está demonstrado na Figura 39.

Figura 39. Voltamograma catódico em estado sólido de amarelo crepúsculo por CV em NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 0,25 V; E_{superior}: 1,4 V, E_{inferior}: -1,4 V, E_{final}: 1,4 V, E_{step}: 2,44 mV, velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.



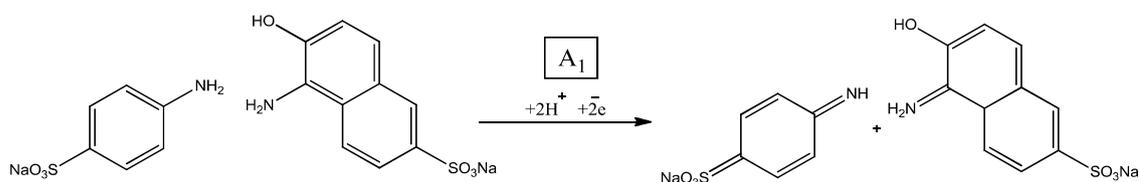
Neste caso a varredura catódica inicia em potencial 0,2 V e tem o primeiro pico de redução em potencial -1,1 V, representado no voltamograma por C₁. Na subsequente varredura anódica dois picos são registrados em 0 e 1,2 V, identificados como A₁ e A₂ respectivamente sendo que o pico A₁ apresenta um perfil alargado entre os potenciais 0,18 e 0,6.

O primeiro processo visualizado é o pico de redução em uma região de potencial negativo, que como na CV anódica, representa a redução total do grupo azo a aminas correspondentes (C₁). Conforme relatado na literatura, compostos contendo ligações azo com grupo hidroxila adjacente a ligação dupla entre os nitrogênios, são reduzidas diretamente produzindo aminas correspondentes, que são mais provável reoxidadas na varredura de retorno (A₁) (YUU; JIAA; MA, 2004). Sendo assim, diferentemente da varredura iniciada pelo sentido anódico onde se observava a formação da carboxila, a varredura catódica apresentou redução total do grupamento azo, como demonstra a figura 40.

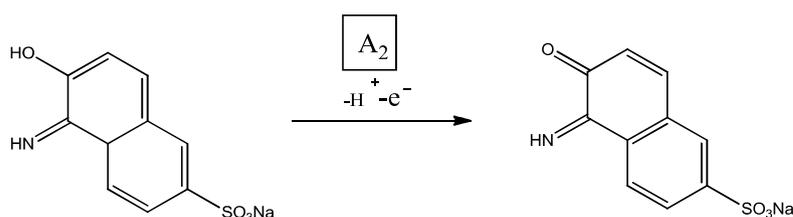
Figura 40. Esquema de reação de redução da ligação azo

Esta redução direta do grupamento azo a aminas ocorre devido ao aumento da densidade eletrônica gerada por um grupo doador de elétrons em posição orto, o que facilita a protonação dos nitrogênios (CARREY, 2011), levando a formação de duas aminas correspondentes.

Conforme relatado na literatura, compostos contendo ligações azo com grupo hidroxila adjacente a ligação dupla entre os nitrogênios, são reduzidas diretamente produzindo aminas correspondentes, que são mais provável reoxidadas na varredura de retorno (A_1) (YUA; JIAA; MA, 2004). Essa oxidação das aminas leva a formação de uma dupla ligação entre o nitrogênio e o carbono do anel, deslocando as duplas ligações do mesmo (BERNETH, 2008) como demonstrado na Figura 41.

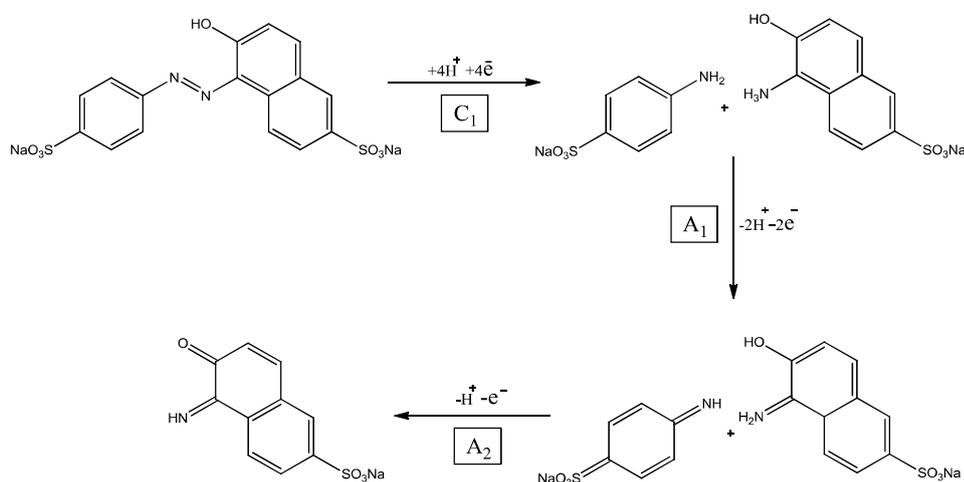
Figura 41. Esquema de reação de oxidação das aminas

A hidroxila ligada ao anel de um dos produtos gerados pela quebra do grupamento azo tem sua oxidação demonstrada na reação da Figura 42 e identificados como A_2 .

Figura 42. Esquema de reação de oxidação da hidroxila da amina.

Sendo assim, a reação global para o voltamograma cíclico no sentido anódico encontra-se demonstrado na Figura 43.

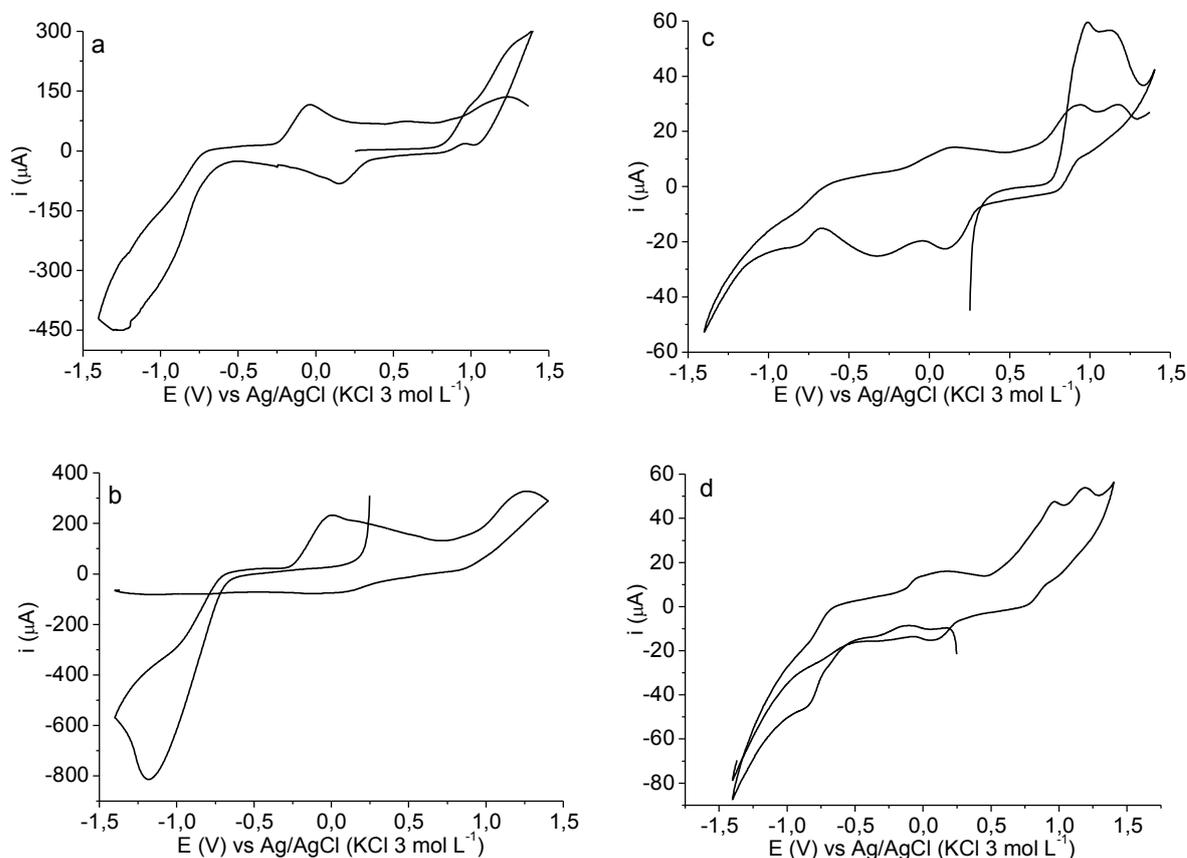
Figura 43. Reação redox global para o corante amarelo crepúsculo demonstrado pela voltametria cíclica catódica.



5.2.1. Comparação entre o comportamento eletroquímico do corante amarelo crepúsculo em estado sólido e em solução

A comparação entre o comportamento eletroquímico do corante amarelo crepúsculo em estado sólido e em solução por voltametria cíclica foi avaliada e os resultados se encontram na Figura 44.

Figura 44. Voltamogramas anódicos em (a) estado sólido e em (b) solução e catódicos em (c) estado sólido e em (d) solução de amarelo crepúsculo por CV em NaCl 0,1 mol L⁻¹. Condições experimentais: E_{inicial}: 0,25 V; E_{superior}: 1,4 V, E_{inferior}: -1,4 V, E_{final}: 1,4 V, E_{step}: 2,44 mV, velocidade de varredura: 50 mV s⁻¹.



Com base na comparação dos dados obtidos em estado sólido e em solução é possível observar que a oxidação da hidroxila (processo observado no sentido anódico entre os potenciais 0,9 e 1,3 V) ocorre em ambos os sentidos de varredura para o composto em solução e somente no sentido anódico para o composto em estado sólido. Isso pode ocorrer devido ao fenômeno de oxidação dissolutiva, onde o analito em estado sólido oxidado sofre solubilização por consequência do processo oxidativo (DIAS et al, 2013). Sendo assim, o composto em estado sólido contendo uma hidroxila em posição ortho a ligação azo sofre um reação de oxidação dissolutiva e tem seu produto (carboxila) solubilizado no eletrólito. Este produto possibilita também a redução do grupamento azo a hidrazo (Figura 35), como visto nos resultados anteriores.

Já a diferença entre os comportamentos para o analito em estado sólido e em solução em região de potenciais negativos deixa claro que o processo de formação das aminas acontece de maneiras distintas, uma vez que o pico catódico para este processo se encontra em potencial mais negativo quando comparado com o pico gerado pelo analito em solução. Sendo assim, o processo de redução do grupamento azo a aminas correspondentes da Figura 44 (a) e (c) são processos genuinamente em estado sólido, tendo sua formação favorecida em potenciais mais catódicos.

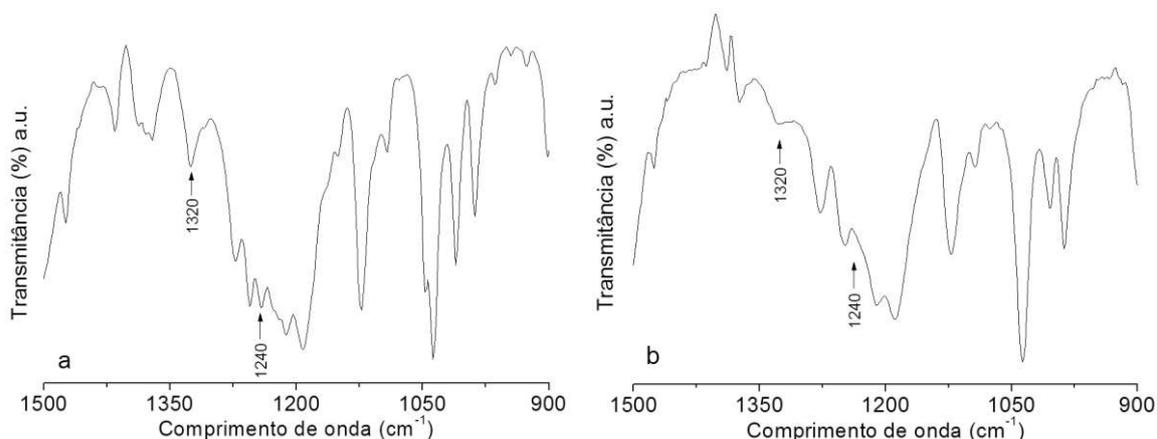
O processo oxidativo da hidroxila proveniente da análise no sentido catódico para o analito em estado sólido (Figura 44 c) apresenta comportamento não similar a nenhuma das outras análises onde a formação da carboxila ocorreu através da formação radicalar. Neste caso, acredita-se que a oxidação radicalar não é termodinamicamente favorecida uma vez que a hidroxila é proveniente da amina gerada a partir da quebra da ligação azo. Este comportamento também pode ser observado para a segunda varredura da voltametria anódica para o analito em estado sólido (Figura 44 a), onde diferentemente da primeira oxidação, a carboxila é formada em uma etapa só.

5.2.1. Caracterização espectroscópica e morfológica dos produtos dos processos de oxidação/redução

Para auxiliar na elucidação do mecanismo redox do corante amarelo crepúsculo, a utilização da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e microscopia eletrônica de varredura foram realizadas.

A comparação entre o espectro de FTIR do padrão de amarelo crepúsculo com os espectros obtidos para o padrão após a aplicação de potencial positivo (1,3 V) e negativo (-1,3 V) durante 30 s foi realizada e é apresentada na Figura 45.

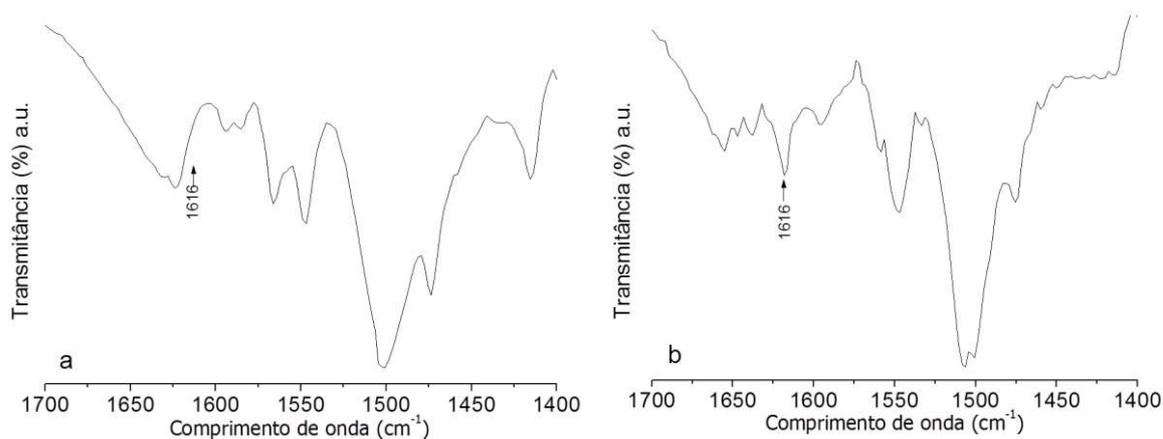
Figura 45. Espectros de FTIR de 900 a 1500 cm^{-1} obtidos para o (a) padrão amarelo crepúsculo e para o (b) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de 1,3 V.



A aplicação do potencial positivo deveria levar a oxidação da hidroxila ligada ao anel benzênico no composto amarelo crepúsculo à carboxila. Isto é observado através da comparação entre os espectros obtidos para o composto antes e após aplicação do potencial de 1,3 V onde as bandas em 1240 e 1320 cm^{-1} referentes a vibração da ligação O-H e C-O-H respectivamente (SOCRATES, 2001) sofrem alteração após o tratamento eletroquímico, sugerindo uma mudança de intensidade e até o desaparecimento dos picos pela oxidação destes grupos funcionais presentes no corante após a eletrólise.

Assim como para o potencial positivo, a comparação entre as bandas geradas para o espectro antes e após a aplicação de potencial negativo (-1,3 V) foi realizada e os espectros são apresentados na Figura 46.

Figura 46. Espectros de FTIR de 1400 a 1700 cm^{-1} obtidos para o (a) padrão amarelo crepúsculo e para o (b) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de -1,3 V.

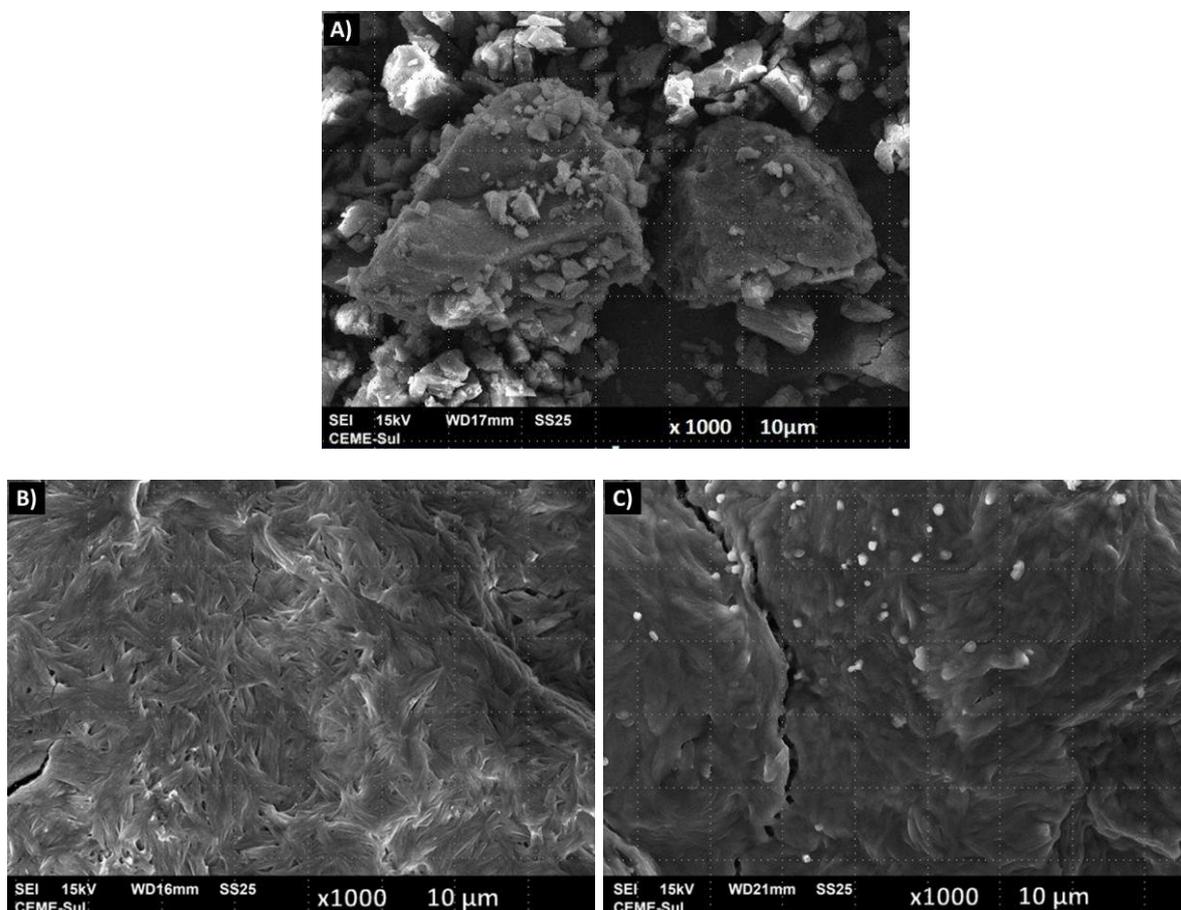


De um modo geral o espectro do padrão após o tratamento eletroquímico apresenta evidente diferença quando comparado ao espectro do padrão sem tratamento. Pontualmente pode-se observar a mudança relacionada à redução do grupamento azo pelo aparecimento da banda em 1616 cm^{-1} , característica da deformação da ligação N-H de aminas primárias aromáticas (SOCRATES, 2001).

Sendo assim, os espectros obtidos após aplicação de potencial constante ressaltam a formação dos produtos das reações sugeridas nas Figuras 35 e 40, respectivamente e corroboram com a elucidação do mecanismo redox para o corante amarelo crepúsculo proposto neste trabalho.

A possibilidade de formação de novos produtos oxidados ou reduzidos podem ser observados a partir de mudanças estruturais e morfológicas dos cristais imobilizados no eletrodo (SILVEIRA et al, 2017). Sendo assim, a análise de microscopia eletrônica de varredura foi realizada a fim de se monitorar a morfologia dos produtos formados a partir da eletrólise do corante amarelo crepúsculo em potenciais positivo (1,3 V) e negativo (-1,3 V), como demonstrado na figura 47.

Figura 47. Imagens de MEV do corante amarelo crepúsculo (a) padrão de amarelo crepúsculo, (b) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de 1,3 V e (c) padrão amarelo crepúsculo após aplicação de potencial de -1,3 V.



A partir das imagens obtidas, pode-se observar uma visível mudança na morfologia das micropartículas imobilizadas no eletrodo, tanto em comparação com o padrão imobilizado quanto entre as micropartículas que sofreram tratamento eletroquímico, corroborando assim com a ideia de que as reações de oxidação e de redução do corante amarelo crepúsculo geram diferentes produtos na superfície do eletrodo onde estas foram imobilizadas.

Os cristais do amarelo crepúsculo apresentam formatos bem definidos, com superfície lisa e distribuídos de forma randômica na superfície do eletrodo. Após a aplicação do potencial positivo, observa-se uma mudança significativa na morfologia do sólido com a perda no formato definido dos cristais de amarelo crepúsculo, levando a considerar a ocorrência de um processo de oxidação dissolutiva assistida pela perda de prótons para formação da carboxila.

Já após o processo de redução eletródica, esses cristais passam a apresentar uma forma menos definida e observa-se a formação de novos sólidos na superfície, conforme pode ser observado na Figura 47 c. A formação desses produtos na superfície do cristal está de acordo com os aspectos teóricos relacionados ao mecanismo reacional na voltametria de micropartículas imobilizadas (LOVRIC; SCHOLZ, 1997; SCHOLZ; DOMÉNECH-CARBÓ, 2019) onde a reação ocorre na junção das três fases formando produtos principalmente nos vértices e na superfície dos cristais, envolvendo dois equilíbrios simultaneamente (troca iônica e transferência de carga). Baseando-se nesses resultados é possível que uma redução sólido-sólido assistida pela inserção de prótons esteja ocorrendo com a aplicação de potenciais negativos, resultando na formação de novos sólidos da superfície do cristal. Alguns processos similares já vêm sendo abordados na literatura para o verde de malaquita e para alguns fármacos como o tadalafil (DOMÉNECH-CARBÓ; DIAS; DOMÉNECH-CARBÓ, 2020; SILVEIRA et al, 2020).

Estas mudanças morfológicas se devem ao fato de que as reações de oxidação ou redução ocorridas na partícula imobilizada são acompanhadas de diferentes inserções iônicas. Estas inserções ocorrem de maneira diferente dependendo da natureza da reação, uma vez que a redução envolve a entrada de prótons do eletrólito no sólido enquanto a oxidação envolve a perda de prótons do sólido para a solução eletrolítica, gerando diferentes produtos com diferentes morfologias (DOMÉNECH-CARBÓ, DOMÉNECH-CARBÓ, 2008).

Desta forma, assume-se que em potenciais negativo o mecanismo associado a formação dos novos sólidos na superfície do cristal levam em conta a inserção de prótons e o ganho de elétrons, conforme proposta de mecanismo para a redução do grupamento azo (Figura 40). Estes resultados de análises de imagem corroboram com a proposta de mecanismo sólido-sólido apresentada anteriormente a partir da comparação entre as reduções do corante amarelo crepúsculo em solução e a partir das micropartículas imobilizadas.

Já para o processo de oxidação dissolutiva, a aplicação do potencial positivo leva a perda de prótons e elétrons gerando um produto solúvel, como demonstrado na Figura 34, que acarreta na perda do formato definido dos cristais. Esta proposição também encontra-se de acordo com os resultados obtidos anteriormente.

Como fechamento deste trabalho destaque-se do artigo publicado na revista *Journal of Solid State Electrochemistry* sob título “*Food dyes screening using electrochemistry approach in solid state: the case of sunset yellow dye electrochemical behavior*”, o qual trata dos dados obtidos e discutidos nesta dissertação. Este artigo pode ser encontrado no endereço <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04678-z>.

6. CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho é possível concluir que o método de *screening* desenvolvido utilizando a voltametria de micropartículas imobilizadas se mostrou eficiente para a identificação de corantes alimentícios utilizados em amostras de corantes culinários comerciais, possibilitando a caracterização de até cinco corantes através das análises por SWV em sentido anódica e catódica e em meio de NaCl 0,1 mol L⁻¹. Desta forma, o método de *screening* voltamétrico em estado sólido para estes corantes e a identificação destes em amostras comerciais, se mostra eficiente e de grande valia sendo uma alternativa interessante aos métodos já existentes, uma vez que este tipo de análise não necessita de etapas de preparo de amostra laboriosos, sendo ainda realizada de forma simples, de baixo custo e rápida possibilitando a identificação destes compostos em matrizes de interesse alimentício.

Além do método de *screening*, este trabalho propôs o mecanismo redox em estado sólido para o corante amarelo crepúsculo por voltametria de micropartículas imobilizadas. As análises de FTIR e MEV foram utilizadas para investigação e tiveram resultados condizentes com as propostas estabelecidas para as etapas do mecanismo, corroborando e enriquecendo os resultados deste trabalho.

Outro estudo realizado foi o da comparação entre os comportamentos do corante amarelo crepúsculo em solução e em estado sólido. A partir deste processo foi possível estabelecer quais reações ocorrem de maneira dissolutiva e quais são reações genuinamente sólido-sólido.

Sendo assim, o trabalho em questão propõe um método de identificação simultânea de cinco corantes utilizados na indústria alimentícia além de propor um mecanismo de reação redox em estado sólido para o corante azóico amarelo crepúsculo a partir do método de voltametria de micropartículas imobilizadas, sendo embasado por análises complementares.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMAD, I.; MURTAZA, S.; AHMED, S. Electrochemical and photovoltaic study of sunset yellow and tartrazine dyes. **Monatshefte für Chemie**, 146, 1631-1640, 2015.
2. AMCHOVA, P.; KOTOLOVA, H.; RUDA-KUCEROVA, J. Health safety issues of synthetic food colorants. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 73, 914-922, 2015.
3. AMIN, K. A.; AL-SHEHRI, F. S. Toxicological and safety assessment of tartrazine as a synthetic food additive on health biomarkers: A review. **African Journal of Biotechnology**, 17, 139-149, 2018.
4. ANASTÁCIO, L. B.; OLIVEIRA, D. A.; DELMASCHIO, C. R.; ANTUNES, L. M. G.; CHEQUER, F. M. D. Corantes Alimentícios Amarantho, Eritrosina B e Tartrazina, e seus possíveis Efeitos Maléficos à Saúde Humana. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences**, 2, 16-30, 2016.
5. ANVISA- Agência Nacional de vigilância sanitária, Resolução nº 388, de 05/08/1999 de agosto de 1999. **Diário Oficial da União**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/RESOLUCAO_388_1999.pdf/ac1c03bc-17b8-46a1-b8e5-1003d3a930d8 Acesso em: 06 jan. 2020.
6. ATAYAN, V. Z.; SUMINA, E. G.; SHYKOV, S. N. Determination of Food Dyes by Thin-Layer Chromatography with Cyclodextrin Mobile Phases. **Journal of Analytical Chemistry**, 58, 642, 2003.
7. BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: Fundamentals and Applications**. 2 ed., Nova York, John Wiley & SONS INC, 2001.
8. BOLEY, N. P.; BUNTON, N. G.; CROSBY, N. T.; JOHNSON, A. E.; ROPER, P.; SOMERS, L. Determination of synthetic colours in food using high performance liquid. **Journal of Chromatography A**, 105, 589-593, 1980.
9. BOSCH-REIG, F.; DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; GIMENO-ADELANTAD, J. V. H-Point Standard Addition Method Applied to Voltammetry of Microparticles: Quantitation of Dyes in Pictorial Samples. **Electroanalysis**, 19, 1575-1584, 2007.
10. BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry: Principles, Methods and Applications**. Oxford, Oxford Science Publications, 1993.
11. CAREY, F. A. **Química Orgânica**, Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2011.

12. CARVALHO, L. M.; HILGEMANN, M.; SPENGLER, C.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D. Voltametria de micropartículas imobilizadas: fundamentos e aplicações analíticas. **Química Nova**, 33, 1765-1772, 2010.
13. CHENTHATTIL, R.; JAMBALLI, G. M.; LINGAPPA, N.; GURUMALLAPPA, S.; DODDARASINAKERE, K. R.; SANTOSH, F.; ESHWARAPPA, N. Surfactant Immobilized Electrochemical Sensor for the Detection of Indigotine. **Analytical & Bioanalytical Electrochemistry**, 10, 1479-1490, 2018.
14. CHIANG, H. C. Polyamide - silica gel thin – layer chromatography of red food dyes. **Journal of Chromatography A**, 40, 189-190, 1969.
15. CORRADINI, M. G. **Synthetic Food Colors**. Amherst: Elsevier, 2018.
16. DAVIDEK, J.; DAVIDKOVA, E. The use of polyamide in analyses of water soluble food dyes:IV. Thin layer chromatographic separation of water soluble food dyes. **Journal of Chromatography A**, 26. 519-521. 1967.
17. DIAS, D.; HASSE, U.; FRICKE, K.; NASCIMENTO, P. C.; SCHOLZ, F. The interaction of a polycrystalline gold electrode with ethanethiol in alkaline solution. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 690, 121–126, 2013.
18. DOMÉNECH, A.; DOMÉNECH, M. T.; VÁZQUEZ, M. L. Electrochemical monitoring of indigo preparation using Maya's ancient procedures. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 11, 1335, 2007.
19. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DIAS, D.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. Cation and anion electrochemically assisted solid-state transformations of malachite green. **Physical Chemistry Chemical Physics**, 22, 1502–1510, 2020
20. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; CARVALHO, L. M.; MARTINI, M.; CEBRIÁN-TORREJÓN, G. Voltammetric/amperometric screening of compounds of pharmacological interest. **Reviews in Analytical Chemistry**, 33, 173-199, 2014.
21. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. In situ AFM study of proton-assisted electrochemical oxidation/reduction of microparticles of organic dyes. **Electrochemistry Communications**, 10, 1238-1241, 2008.
22. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. Chronoamperometric study of proton transfer/electron transfer in solid state electrochemistry of organic dyes. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 10, 949-958, 2006.
23. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; CALISTI, M.; MAIOLO, V. Sequential identification of organic dyes using the voltammetry of microparticles approach. **Talanta**, 81, 404-411, 2010.
24. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; OSETE-CORTINA, L.; MONTOYA, N. Application of solid-state electrochemistry techniques to

polyfunctional organic–inorganic hybrid materials: The Maya Blue problem. **Microporous and Mesoporous Materials**, 166, 123-130, 2013.

25. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; SÁNCHEZ DEL RÍO, M.; GOBERNA, S.; LIMA, E. Evidence of Topological Indigo/Dehydroindigo Isomers in Maya Blue-Like Complexes Prepared from Palygorskite and Sepiolite. **The Journal of Physical Chemistry C**, 113, 12118-12131, 2009.
26. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; SAURÍ-PERIS, C.; GIMENO-ADELANTADO, J. V.; BOSCH-REIG, F. Identification of Curcuma and Safflower Dyes by Voltammetry of Microparticles Using Paraffin-Impregnated Graphite Electrodes. **Microchimica Acta**, 152, 75-84, 2005.
27. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; MARTINI, M.; CARVALHO, L. M.; VIANA, C.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; SILVA, M. Screening of pharmacologic adulterant classes in herbal formulations using voltammetry of microparticles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 74, 194-204, 2013.
28. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; MARTINI, M.; CARVALHO, L. M.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. Square wave voltammetric determination of the redox state of a reversibly oxidized/reduced depolarizer in solution and in solid state. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 684, 13-19, 2012.
29. DOMÉNECH-CARBÓ, A.; DIAS, D.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T. Cation and anion electrochemically assisted solid-state transformations of malachite green. **Physical Chemistry Chemical Physics**, 22, 2-28, 2020.
30. DOMÍNGUEZ, I.; DOMÉNECH-CARBÓ, A. Screening and authentication of tea varieties based on microextraction-assisted voltammetry of microparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 210, 491–499, 2015.
31. DORRAJI, P.S.; JALALI, F. Electrochemical fabrication of a novel ZnO /cysteic acid nanocomposite modified electrode and its application to simultaneous determination of sunset yellow and tartrazine. **Food Chemistry**, 227, 73-77, 2017.
32. EDWARDS, G. A.; BERGREN, A. J.; PORTER, M. D. Chemically Modified Electrodes. **Handbook of Electrochemistry**, 295-327, 2007.
33. ELGRISHI, N.; ROUNTREE, K. J.; MCCARTHY, B. D.; ROUNTREE E. S.; EISENHART, T. T.; DEMPSEY, J. D. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, 95, 197–206, 2018.
34. European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on colours for use in foodstuffs. **Official Journal**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex:31994L0036>. Acesso em: 06 jan. 2020.

35. FLORENCE, T. M. Polarography of azo compounds and their metal complexes. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, 52, 115-132, 1974.
36. FLORIAN, M.; YAMANAKA, H.; CARNEIRO, P. A.; ZANONI, V. B. Determination of brilliant blue FCF in the presence and absence of erythrosine and quinoline yellow food colours by cathodic stripping voltammetry. **Food Additives & Contaminants**. 19, 803-809, 2002.
37. FLORIANO, L.; RIBEIRO, L. C.; SAIBT, N.; BANDEIRA, N. M. G.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R. Determination of Six Synthetic Dyes in Sports Drinks by Dispersive Solid-Phase Extraction and HPLC-UV-Vis. **Journal of Brazilian Chemistry Society**. 29, 602-608, 2018.
38. GHOREISHI, S. M.; BEHPOUR, M.; GOLESTANEH, M. Simultaneous voltammetric determination of Brilliant Blue and Tartrazine in real samples at the surface of a multi-walled carbon nanotube paste electrode. **Analytical Methods**, 3, 2842-2848, 2011.
39. GRYGAR, T.; KUCKOVÁ, S.; HRADIL, D.; HRADILOVÁ, D. Electrochemical analysis of natural solid organic dyes and pigments. **Journal of Solid State Electrochemistry**. 7, 706, 2003.
40. HE, J. B.; MA, G. H.; CHEN, J. C.; YAO, Y.; WANG, Y. Voltammetry and spectroelectrochemistry of solid indigo dispersed in carbon paste. **Electrochimica Acta**, 55, 4845-4850, 2010.
41. HE, Q.; LIU, J.; LIU, X.; XIA, Y.; LI, G.; DENG, P.; CHEN, D. Novel Electrochemical Sensors Based on Cuprous Oxide-Electrochemically Reduced Graphene Oxide Nanocomposites Modified Electrode toward Sensitive Detection of Sunset Yellow. **Molecules**, 23, 2130-2145, 2018.
42. KIM, S. H.; SON, Y. A. **Handbook of Textile and Industrial Dyeing: Principles, Processes and Types of Dyes**. Philadelphia: Elsevier, 2011.
43. KOBYLEWSKI, S.; JACOBSON, M. F. Toxicology of food dyes. **International Journal of Occupational and Environmental Medicine**. 18, 220-246, 2012.
44. KRUG F. J. **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. EditSBQ: São Paulo, 2010.
45. KUCHARSKAA, M.; GRABKA, J. A review of chromatographic methods for determination of synthetic food dyes. **Talanta**, 80, 1045-1051, 2010.
46. LIPSKIKH, O. I.; NIKOLAEVA, A. A.; KOROTKOVA, E. I. Voltammetric Determination of Tartrazine in Food. **Journal of Analytical Chemistry**, 72, 396-401, 2017.

47. LOVRIĆ, M.; SCHOLZ, F. A model for the propagation of a redox reaction through microcrystals. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 1, 108–11, 1997.
48. LUCOVÁ, M.; HOJEROVÁ, J.; PAŽOUREKOVÁ, S.; KLIMOVÁ, Z. Absorption of triphenylmethane dyes brilliant blue and patent blue through intact skin, shaven skin and lingual mucosa from daily life products. **Food and Chemical Toxicology**, 52, 19-27, 2013.
49. MACIEL, J. V.; FAVA, E. L.; SILVA, T. A.; DIAS, D.; FATIBELLO-FILHO O. A combination of voltammetry of immobilized microparticles and carbon black-based crosslinked chitosan films deposited on glassy carbon electrode for the quantification of hydroquinone in dermatologic cream samples. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 21, 2859-2868, 2017.
50. MACIEL, J. V.; SILVA, T. A.; DIAS, D.; FATIBELLO-FILHO O. Electroanalytical determination of eugenol in clove oil by voltammetry of immobilized microdroplets. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 22, 2277-2285, 2018.
51. MARQUEZ-MARINÓ, K.; PENAGOS-LLANOS, J.; GARCÍA-BELTRÁN, O.; NAGLES, E.; HURTADO, J. J. Development of a novel electrochemical sensor based on a carbon paste electrode decorated with Nd_2O_3 for the simultaneous detection of tartrazine and sunset yellow. **Electroanalysis**. 30, 1-9, 2018.
52. MARTINS, N.; RORIZ, C. L; MORALES, P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. Food colorants: challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **Trends in Food Science and Technology**, 52, 1-15, 2016.
53. MASŁOWSKA, J. A new chromatographic method for the separation of food dye mixtures on thin MgO layers. **Journal of Chromatography A**, 20, 99–101, 1985.
54. MATHIYALAGANA, S.; MANDALA, B. K.; LING, Y. C. Determination of synthetic and natural colorants in selected green colored foodstuffs through reverse phase-high performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, 278, 381-387, 2019.
55. MAZLAN, S. Z.; LEE, Y. H.; HANIFAH, S. A. A new laccase based biosensor for tartrazine. **Sensors**. 17, 2859-2871, 2017.
56. MEDEIROS, R. A.; LOURENCAO, B. C.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Simultaneous voltammetric determination of synthetic colorants in food using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Talanta**, 97, 291-297, 2012.

57. MIRCESKI, V.; GULABOSKI, R.; LOVRIC, M.; BOGESKI, I.; KAPPL, R.; HOTH, M. Square-wave voltammetry: a review on the recent progress. **Electroanalysis**, 25, 2411-2422, 2013.
58. MOOLYA, C. V.; SHETTI, N. P.; NAYAK, D. S. Clay coated carbon electrode sensor for a food dye sunset yellow. **Materials Today: Proceedings**, 18, 1116-1123, 2019.
59. MOSCOSO, R.; INOSTROZA, E.; SQUELLA J. A. A non-conventional way to perform voltammetry. **Electrochemistry Communications**, 81, 61-64, 2017.
60. MPOUNTOUKAS, P.; PANTAZAKI, A.; KOSTARELI, E.; CHRISTODOULOU, P.; KARELI, D.; POLILIOU S. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. **Food and Chemical Toxicology**, 48, 2934-2944, 2010.
61. NAYAK, D. S.; SHETTI, N. P. A novel sensor for a food dye erythrosine at glucose modified electrode. **Sensors and Actuators B**, 230, 140-148, 2016.
62. NUÑEZ-DALLOS, N.; MACÍAS, M. A.; GARCÍA-BELTRÁN, O.; CALDERÓN, J. A.; NAGLES, E.; HURTADO, J. Voltammetric determination of amaranth and tartrazine with a new double-stranded copper(I) helicate-single-walled carbon nanotube modified screen printed electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. 822, 95-104, 2018.
63. PENAGOS-LLANOS, J.; GARCÍA-BELTRÁN, O.; CALDERÓN, J. A.; HURTADO-MURILLO, J. J.; NAGLES, E.; HURTADO, J. J. Simultaneous determination of tartrazine, sunset yellow and allura red in foods using a new cobalt-decorated carbon paste electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 852, 1-27, 2017.
64. PERDOMO, Y.; ARANCIBIA, V.; GARCÍA-BELTRÁN, O. NAGLES E. Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Amaranth and Tartrazine in Drinks and Gelatins Using a Screen-Printed Carbon Electrode. **Sensors**, 17, 2665-2675, 2017.
65. PEREIRA, P. C. G.; REIMÃO, R. V.; PAVESI, T.; SAGGIORO, E. M.; MOREIRA, J. C.; CORREIA, F. V. Lethal and sub-lethal evaluation of Indigo Carmine dye and byproducts after TiO₂ photocatalysis in the immune system of *Eisenia andrei* earthworms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 143, 275-282, 2017.
66. REJCZAK, T.; TUZIMSKI, T. Application of High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector for Simultaneous Determination of 11 Synthetic Dyes in Selected Beverages and Foodstuffs. **Food Analytical Methods**, 10, 3572–3588, 2017.

67. ROVINA, K.; SIDDIQUEE, S.; SHAARANI, S. M. Highly sensitive electrochemical determination of sunset yellow in commercial food products based on CHIT/GO/MWCNTs/AuNPs/GCE. **Food Control**, 82, 66-73. 2017.
68. SCHOLZ, F.; DOMÉNECH-CARBÓ, A. The Thermodynamics of Insertion Electrochemical Electrodes-A Team Play of Electrons and Ions across Two Separate Interfaces. **Angewandte Chemie International Edition**, 58, 3279–3284, 2019.
69. SCHOLZ, F.; MEYER, B. Electrochemical solid state analysis: state of the art. **Chemical Society Reviews**, 23, 341–347, 2014.
70. SCHOLZ, F. NITSCHKE, L.; HENRION, G. A new procedure for fast electrochemical analysis of solid materials. **Naturwissenschaften**, 76, 71-72, 1989.
71. SCHOLZ, F.; SCHRÖDER, U.; GULABOSKI, R. **Electrochemistry of Immobilized Particles and Droplets**, Springer: Berlin, 2005.
72. SHINDY H. A. Basics in colors, dyes and pigments chemistry: A review. **Chemistry International**, 2, 29-36, 2016.
73. SIERRA-ROSALES, P.; TOLEDO-NEIRA, C.; ORTÚZAR-SALAZAR, P.; SQUELLA, J. A. MWCNT-modified electrode for voltammetric determination of allura red and brilliant blue fcf in isotonic sport drinks. **Electroanalysis**. 31, 883-890, 2019.
74. SIERRA-ROSALES, P.; TOLEDO-NEIRA, C.; SQUELLA, J. A. Electrochemical determination of food colorants in soft drinks using MWCNT-modified GCEs. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 240, 1257-1264, 2017.
75. SILVEIRA, G. D.; CARVALHO, L. M.; MONTOYA, N.; DOMENECH-CARBÓ, A. Solid state electrochemical behavior of organosulfur compounds. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. 806, 180-190, 2017.
76. SILVEIRA, G. D.; BRESSAN, L. P.; SCHMIDT, M. E. P.; DAL MOLIN, T. R.; TEIXEIRA, C. A.; POPPI, R. J.; SILVA, J. A. F. Electrochemical behavior of 5-type phosphodiesterase inhibitory drugs in solid-state by voltammetry of immobilized microparticles. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 24, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04533-1>
77. SILVEIRA, G. D.; CARVALHO, L. M.; MONTOYA, N.; DOMENECH-CARBÓ, A. Solid state electrochemical behavior of organosulfur compounds. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 806, 180-190, 2017.
78. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**, São Paulo: Thomson, 2006

79. SOCRATES, G. **Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies**. Middlesex: Wiley, 2001.
80. ŠULEKOVÁ, M.; HUDÁK, A.; SMRČOVÁ, M. The Determination of Food Dyes in Vitamins by RP-HPLC. **Molecules**, 21, 1368-1376, 2016.
81. U. S. Food and Drug Administration. Color Additives Listed for Use in Food 2015. **Code of Federal Regulations**. Disponível em: <https://www.fda.gov/industry/color-additive-inventories/summary-color-additives-use-united-states-foods-drugs-cosmetics-and-medical-devices>. Acesso em: 06 jan. 2020.
82. VARZAKAS T.; TZIA, C. *Advances in Food Additives and Contaminants, Handbook of Food Processing: Food Preservation*. Boca Raton: CRC Press, 2015.
83. VASANTHI, S.; DEVENDIRAN, M.; NARAYANAN, S. A mercury free electrode for anodic stripping voltammetric determination of Pb (II) ions using poly zincon film modified electrode. **Applied Surface Science**, 422, 138-146, 2017.
84. VLADISLAVIĆ, N.; BUZUK, M.; RONČEVIĆ, I. S.; BRINIĆ, S. Electroanalytical Methods for Determination of Sunset Yellow - a Review. **International Journal of Electrochemical Science**. 13, 7008-7019, 2018.
85. VLASE, L.; MUNTEAN, D.; COBZAC, S. C.; FILIP, L. Development and Validation of an HPLC-UV Method for Determination of Synthetic Food Colorants. **Revue Roumaine de Chimie**. 59, 719-725, 2014.
86. WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. Canadá: Wiley, 2000.
87. WARNER, J. O. Diagnostic and Therapeutic Dilemmas: Adverse Reactions to Food Additives, Pharmacologic Food Reactions, Psychological Considerations Related to Food Ingestion, **Food Allergy**, 20, 285-295, 2014.
88. YAMJALA, K.; NAINAR, M. S.; RAMISETTI, N. R. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry - A review. **Food Chemistry**, 192, 813-824, 2016.
89. YANG, C.; TANG, A.; TENG, F.; JIANG, K. Determination of HOMO levels of organic dyes in solid-state electrochemistry. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 19, 883-890, 2014.
90. YU, L.; ZHENG, H.; SHI, M.; JING, S.; QU, L. A Novel Electrochemical Sensor Based on Poly (Diallyldimethylammonium Chloride)-Dispersed Graphene Supported Palladium Nanoparticles for Simultaneous Determination of Sunset Yellow and Tartrazine in Soft Drinks. **Food Analytical Methods**, 10, 200-209, 2016.

91. YUU, J.; JIAA, J.; MA, Z. Comparison of Electrochemical Behavior of Hydroxyl-substituted and Nonhydroxyl-substituted Azo Dyes at a Glassy Carbon Electrode. **Journal of the Chinese Chemical Society**, 51, 1319-1324, 2004.