

PAULO GARCIA DE ALMEIDA

**CORANTE CARAMELO UTILIZADO EM REFRIGERANTES:
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSTOS
VOLÁTEIS**

**São Caetano do Sul
2011**

PAULO GARCIA DE ALMEIDA

**CORANTE CARAMELO UTILIZADO EM REFRIGERANTES:
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSTOS
VOLÁTEIS**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Linha de Pesquisa: Análise e Controle de Processos Industriais

Orientadora: Prof^a Dra Eliana Paula Ribeiro

São Caetano do Sul

2011

DEDICATÓRIA

A minha esposa Eliana e meus filhos Mariana e Guilherme, razões dos meus objetivos de vida.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço inicialmente a Deus e a Fernando de Bulhões, santificado como Antonio, que sempre estiveram ao meu lado nos momentos alegres e difíceis da vida.
- A esposa Eliana e aos filhos Mariana e Guilherme.
- Aos meus pais e irmãos.
- A minha querida orientadora Prof. Dra. Eliana Paula Ribeiro pela paciência e competência como educadora.
- Ao Prof. Dr. José Luiz Feijfar pelas importantes considerações e comentários construtivos.
- Ao grande amigo e motivador Prof. Dr. José Oscar W. V. Bustillos pela competência e exemplo de humildade e dedicação à ciência.
- A amiga e incentivadora Dra. Suziley Ciampone pela incansável colaboração.
- A ex-Cia. Antarctica Paulista, minha grande escola profissional.
- As empresas que me permitiram exercer meu aprendizado profissional.

Pensando que sabia bastante, quando jovem, eu não entendia uma frase milenar atribuída a Sócrates, que dizia: “o que sei é que nada sei...” Ao passar dos 50 anos adquiri sabedoria e maturidade suficiente para entender que não sei metade do que pensei que sabia quando tinha 25.

RESUMO

Os corantes alimentícios têm grande participação nas indústrias de alimentos e são utilizados para atender a uma variedade de requisitos, tais como reforçar ou padronizar a cor de um produto e repor perdas ocorridas durante o processamento. O corante caramelo é o corante alimentício mais utilizado em alimentos industrializados, sendo aplicado numa grande variedade de alimentos e bebidas. Ele é obtido pelo aquecimento de carboidratos, isoladamente ou na presença de ácidos, álcalis ou sais de grau alimentício. De acordo com os reagentes utilizados como catalisadores na sua fabricação, o corante caramelo é agrupado em quatro classes distintas (I, II, III e IV) que diferem em suas propriedades coloidais e macromoleculares. A carga elétrica adquirida durante o seu processamento é um aspecto de extrema importância e indica em quais produtos ele poderá ser aplicado. O corante caramelo Classe IV apresenta carga iônica fortemente negativa, com boas propriedades emulsionantes, alto poder tintorial e alta compatibilidade em refrigerantes e bebidas de baixo pH. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de refrigerantes e é nesse segmento industrial que o corante caramelo Classe IV encontra sua maior aplicação. Ele é utilizado nos refrigerantes “tipo cola” e guaraná, que representam 75% de toda a produção e consumo. O presente trabalho teve por objetivo a caracterização do corante caramelo Classe IV, representadas pelas amostras dos dois principais fornecedores para as indústrias brasileiras de refrigerantes, através da avaliação de suas características físico-químicas e identificação dos principais compostos voláteis presentes nesse corante. Foram feitas as análises de cor, sólidos, pH e índice de Hue (tonalidade avermelhada). Os compostos voláteis do corante caramelo Classe IV foram isolados por extração líquido-líquido, utilizando o solvente acetonitrila e, posteriormente, identificados por cromatografia à gas e espectrometria de massas (CG/MS). Os valores encontrados nas análises físico-químicas dos corantes analisados estiveram dentro dos parâmetros estabelecidos pelo órgão internacional JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*) que regulamenta os aditivos alimentares e dentro das especificações que os próprios fabricantes fornecem aos seus usuários. A avaliação dos compostos voláteis presentes no corante, não faz parte das especificações dos fornecedores do corante caramelo, nem de normas nacionais ou internacionais. As duas marcas de corante caramelo analisadas, apresentaram qualitativamente a mesma composição de compostos voláteis. No entanto, no corante caramelo da marca A foram identificados três compostos a mais, o 2-ciclohexenona , o 2,3,5-trimetilfurano e o 3-metil -2,5-furandiona. Dentre os compostos encontrados no corante caramelo da marca A aqueles presentes em maior porcentagem foram, respectivamente: 2-acetilfurano (30,0%), 5-metilfurfural (19,9%), 5-metil-2-(5H)-furanona (17,4%), 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (14,1%), furfural (5,0%) e 2,3,5-trimetilfurano (4,4%). Para os compostos encontrados no corante caramelo da marca B aqueles presentes em maior porcentagem foram respectivamente: furfural (39,1%), 5-metilfurfural (24,5%), 5-metil-2-(5H)-furanona (15,4%), 2-acetilfurano (11,6%) e 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (2,6%). Dentre os compostos voláteis encontrados no corante caramelo, existem alguns com características flavorizantes e que poderiam interferir no sabor da bebida. Considerando que os refrigerantes se identificam principalmente pela cor e sabor, os resultados do presente estudo mostram a importância de se incluir no controle de qualidade das indústrias de refrigerantes, a avaliação dos compostos voláteis do corante caramelo.

Palavras-chave: Corante caramelo. Refrigerantes. Aditivos Alimentares.

ABSTRACT

Food colors have great participation in the food industry and are used to meet a variety of requirements, such as increase or standardize the color of a product and replace losses during processing. The caramel color, the most widely used food coloring in processed foods, is applied in a wide variety of foods and beverages. It is obtained by heating carbohydrates, alone or in the presence of acids, alkalis or food grade salts. According to the reagents used as catalysts in its production, the caramel coloring is grouped into four distinct classes (I, II, III and IV) that differ in their macromolecular and colloidal properties. The electrical charge acquired during processing is a very important point and indicates which products it can be applied to. The Class IV caramel coloring has strong negative ionic charge, with good emulsifying properties, high coloring strength and high compatibility in low pH soft drinks. Brazil is the third largest soft drinks producer and that is the industrial segment the caramel color Class IV has its main application. It is used in cola and guarana soft drinks, which represent 75% of all production and consumption. This study aimed to characterize the Class IV caramel color, represented by samples from the two leading suppliers of the Brazilian soft drink industry through the evaluation of their physico-chemical characteristics and identification of the main volatile compounds present in this color. There were made analysis of color, solids, pH and Hue index (reddish tone). The volatile compounds of caramel coloring Class IV were isolated by liquid-liquid extraction, using acetonitrile solvent, with posterior identification by gas chromatography and mass spectrometry (GC / MS). The analyzed values in coloring physical-chemical analysis were found within the JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) established parameters, which regulates food additives; and within the specifications that manufacturers provide to their users. The evaluation of volatile compounds present in the color is not part of the specifications of the suppliers of caramel color, nor of national or international standards and regulations. The two analyzed brands of caramel color showed qualitatively the same composition of volatile compounds. However, there were identified three additional compounds in caramel color brand A: 2-cyclohexen-1-one, 2,3,5-trimethylfuran and 3-methyl-2,5-furandione. Among the compounds found in the caramel color of brand A, those found in higher percentages were, respectively, 2-acetyl furan (30.0%), 5-methyl-furfural (19.9%), 5-methyl-2-(5H)-furanone (17.4%), 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (14.1%), furfural (5.0%) and trimethylfuran (4.4%). The compounds found in caramel color brand B on higher percentages were, respectively, furfural (39.1%), 5-methyl-furfural (24.5%), 5-methyl-2-(5H)-furanone (15.4%), 2-acetyl furan (11.6%) and 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (2.6%). Among the compounds found in caramel color, there are some characteristics and flavors that could interfere with the beverage taste. Regarding that soft drinks are identified primarily by color and flavor, it would be recommended to include this assessment among the specifications of caramel color for effect of soft drinks quality control.

Keywords: Caramel color. Soft drinks. Food additives

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. PARTICIPAÇÃO BRASILEIRA DOS SABORES DE REFRIGERANTES NO ANO DE 2008.....	29
FIGURA 2. EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DOS COMPOSTOS PRESENTES NO CORANTE CARAMELO	33
FIGURA 3. CROMATOGRAMAS DAS DUAS MARCAS (A E B) DO CORANTE CARAMELO CLASSE IV ISOLADOS POR DOIS DIFERENTES SOLVENTES: METANOL E ACETONITRILA.....	36
FIGURA 4. CROMATOGRAMA DO CORANTE CARAMELO CLASSE IV DA MARCA A....	37
FIGURA 5. CROMATOGRAMA DO CORANTE DA MARCA B	39

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS DO CORANTE CARAMELO CLASSE IV.....	34
TABELA 2. COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO ISOLADO DO CORANTE CARAMELO CLASSE IV DA MARCA A.....	38
TABELA 3. COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS NO ISOLADO DO CORANTE CARAMELO CLASSE IV DA MARCA B.....	40

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. CLASSIFICAÇÃO DO CORANTE CARAMELO.....	23
QUADRO 2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO CORANTE CARAMELO CLASSE IV.....	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1. Aditivos de Alimentos	13
3.1.1. Corantes alimentícios: importância e mercado.....	14
3.1.1.1. Corante caramelo.....	15
3.1.1.2. Formação do corante caramelo.....	19
3.1.1.3. Carga elétrica e características funcionais	21
3.1.1.4. Caramelo Classe IV	24
3.2. Aplicação do corante caramelo em refrigerantes.....	26
3.2.1. Histórico das indústrias de refrigerantes.....	26
3.2.2. Os refrigerantes “tipo cola” e guaraná	27
3.2.3. Legislação de refrigerantes	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1. Material	31
4.1.1. Matéria-Prima.....	31
4.2. Métodos	31
4.2.1. Caracterização físico-química dos corantes caramelos.....	31
4.2.1.1. Determinação do pH	31
4.2.1.2. Determinação da cor.....	31
4.2.1.3. Determinação do índice de Hue	32
4.2.1.4. Determinação de sólidos.....	32
4.2.2. Caracterização dos compostos voláteis presentes no corante caramelo.....	32
4.2.2.1. Isolamento dos voláteis (extração líquido-líquido) com dois solventes.....	32
4.2.2.2. Análise cromatográfica dos voláteis por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/MS-ION TRAP)	33
4.3. Análise estatística dos dados	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1. Caracterização físico-química do corante caramelo	34
5.2. Caracterização dos compostos voláteis presentes no corante caramelo.....	35
5.2.1. Isolamento dos compostos voláteis pela extração líquido-líquido com dois diferentes solventes.....	35
5.2.2. Análise cromatográfica dos voláteis por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG/MS-ION TRAP)	37
6. CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

Os corantes alimentícios têm uma participação importante nas indústrias de alimentos e são utilizados para atender a uma variedade de requisitos, tais como reforçar ou padronizar a cor de um produto e repor perdas ocorridas durante o processamento. A mudança de cor em um alimento pode ser indício de condição anormal do produto com consequente perda da sua qualidade e aceitação.

O corante caramelo é o mais utilizado pelas indústrias alimentícias e é aplicado numa grande variedade de alimentos e bebidas representando, sozinho, 11% de todo o mercado de corantes (DOWNHAM; COLLINS, 2000). Ele é obtido através da caramelização de açúcares que é conhecida e praticada desde a antiguidade. Sua aplicação comercial como corante iniciou-se na Europa em meados do século XIX. Com sua crescente utilização e nas mais variadas aplicações alimentícias foram introduzidas modificações no seu processo de fabricação de modo a se obter corantes com diferentes atributos funcionais que assegurassem a compatibilidade com os produtos destinados e eliminassem efeitos indesejáveis.

O corante caramelo se apresenta na forma de um líquido viscoso ou pó higroscópico de cor que varia do castanho-avermelhado ao marrom escuro. Ele é utilizado para conferir cor com variantes de matizes marrom-amarelada clara, marrom escuro até o preto. (ZENKEVICK *et al.*, 2002).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de refrigerantes. É nesse segmento industrial que o corante caramelo encontra sua maior aplicação, pois é utilizado nos refrigerantes “tipo cola” e guaraná, que representam, praticamente, 75% de toda a produção e consumo. Walter e Fagerson (1968) , Yaylayan e Kaminsky (1998), Fadel e Farouk (2002), Kitts e outros (2006), produziram caramelo em laboratório e após análises identificaram a presença de compostos voláteis . Desta forma, trabalhos que caracterizem o corante caramelo utilizado pelas indústrias brasileiras de refrigerantes podem trazer importantes contribuições para maior entendimento de suas características físico-químicas e principais compostos voláteis presentes nesse corante.

2. OBJETIVOS

Os objetivos gerais do trabalho foram a análise físico-química do corante caramelo Classe IV e a avaliação da caracterização dos voláteis do corante caramelo para refrigerantes.

Os objetivos específicos foram:

- Escolha dos dois principais fornecedores de corante caramelo Classe IV para a indústria brasileira de refrigerantes;
- Avaliar e comparar os corantes caramelo Classe IV, obtidos dos dois principais fornecedores, através das determinações do pH, sólidos, cor e índice de Hue;
- Avaliação dos valores encontrados, de acordo com a especificação do JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*);
- Identificar e comparar os principais compostos voláteis presentes no corante caramelo Classe IV, obtidos dos dois principais fornecedores.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Aditivos de Alimentos

Os aditivos adicionados aos alimentos industrializados desempenham atualmente um papel vital para o desenvolvimento populacional. Permitem que a crescente população urbana possa desfrutar, durante todo o ano, de uma grande variedade de alimentos, de modo que eles cheguem às suas mesas saudáveis, seguros e saborosos.

Entretanto, ainda há uma propensão nos indivíduos de pensar em qualquer aditivo alimentar como substâncias altamente complexas e, muitas vezes, prejudiciais à saúde. De acordo com Gomes (2007), apesar dos vários estudos sobre a segurança do uso de aditivos na indústria alimentícia, o seu emprego ainda é uma das tecnologias mais discutidas e polêmicas, embora sejam regulamentados pelas autoridades federais e por organizações internacionais que lhes garantem a segurança e inocuidade.

Os órgãos internacionais que regulamentam os aditivos alimentares são: JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additives*), FAO (*Food and Agriculture Organization*), WHO (*World Health Organization*), EU (*European Union*), FDA (*Food and Drug Administration*) e o *Codex Alimentarius* (FAO/WHO). Esse último foi criado em 1963 e é um código alimentar de aplicação internacional que estabelece normas e padrões para alimentos, ou seja, a quantidade segura de um aditivo para cada alimento. Essas regulamentações federais exigem provas da segurança, com testes químicos e toxicológicos de cada substância, assim como o nível de utilização antes de serem adicionados aos alimentos. Além disso, todos os aditivos estão sujeitos a revisões em relação à segurança e a compreensão científica para uma contínua melhoria (BRASIL, 1997).

No Brasil, as diretrizes para permissão de um aditivo para uso em alimentos seguem as recomendações do *Codex Alimentarius*, da União Européia, da *Food and Drug Administration* e de outros órgãos de reconhecimento mundial (GOMES, 2007).

A legislação brasileira também permite complementações referenciadas do JECFA, IARC (*International Agency for Research on Cancer*), ITIC (*International Toxicology Information Centre*) e do *National Institute of Public Health and Environmental Protection - RIVM-Research for Man and the Environment* (BRASIL, 1997).

Segundo a portaria nº. 540/97 emitida pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SVS/MS), **aditivo alimentar** é definido como qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais durante a fabricação,

processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se, poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais (BRASIL, 1997).

Existe mais de seis mil aditivos disponíveis para as indústrias de alimentos. Mais da metade deles são aromas (naturais ou sintéticos), enquanto que os restantes executam uma variedade de funções tais como corante, acidulante, agente de firmeza, agente de massa, antiespumante, antioxidante, antiumectante, conservante, edulcorante, emulsificante, espessante, espumante, estabilizante, realçador de sabor, regulador de acidez, sequestrante e umectante (KAMUF; NIXON; PARKER; 2000; KAMUF *et al.*, 2003). Dentre os aditivos citados, os corantes têm uma participação significativa nas indústrias alimentícias e são utilizados para reforçar a cor existente (iogurte, massas, geléias); padronizar a cor de um produto durante a produção (sucos, sorvetes, polpas de frutas, ovos); repor perdas ocorridas no processamento, como no clássico exemplo da cereja; conferir cor em balas, gelatinas, refrigerantes (principalmente “tipo cola” e guaraná) e bebidas alcoólicas, dentre outros. De forma geral, a percepção humana utiliza a cor como um indicador para analisar a qualidade de um alimento (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; DIEHL, 2008; DOWNHAM; COLLINS, 2000; KAMUF *et al.*, 2003).

3.1.1. Corantes alimentícios: importância e mercado.

A alimentação é necessária para a sobrevivência, mas também é fonte de prazer e satisfação. Em relação à escolha e consumo de um alimento, todas as percepções humanas estão envolvidas, sendo a visão uma das mais importantes para selecionar o alimento, apreciar sua qualidade e, consequentemente, atrair o consumidor (DIEHL, 2008; DOWNHAM; COLLINS, 2000).

A mudança de coloração em um alimento pode ser indício de alteração do produto com consequente perda da sua qualidade e aceitação. Muitos alimentos industrializados perdem ou alteram sua cor durante o processamento (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; DIEHL, 2008; DOWNHAM; COLLINS, 2000).

Pela legislação brasileira, os corantes alimentícios são regulamentados pela Portaria nº. 540 (SVS/MS) que o define como substância que confere, intensifica ou restaura a cor de um alimento (BRASIL, 1997).

Os consumidores rejeitam determinados produtos alimentícios se estes não se apresentarem com a cor esperada. Por outro lado, cores agradáveis e características favorecem a escolha e podem ser um fator de decisão de compra. Desta forma, a cor deve ser mantida, exceto quando sua perda ou transformação é inevitável. Para isso, a indústria alimentícia utiliza os corantes para conferir, intensificar ou restaurar a coloração dos alimentos. Isso proporciona não só uma aparência mais convidativa, sob o ponto de vista sensorial, mas também é de suma importância sob o ponto de vista tecnológico, para garantir uniformidade ao produto (ABRANTES, *et al.*, 2007; BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; EVANGELISTA, 2000).

O mercado mundial de corantes chegou a movimentar U\$ 940 milhões por ano. Os sintéticos (U\$ 400 milhões) ainda são os mais utilizados, enquanto que os naturais chegaram a movimentar U\$ 250 milhões/ano, sendo U\$ 100 milhões apenas nos EUA. Os corantes idênticos aos naturais contribuíram com U\$ 189 milhões e o corante caramelo, sozinho, movimentou U\$ 100 milhões/ano e forma um segmento significativo em todo o mercado de corantes, principalmente, devido à sua utilização pelas indústrias de bebidas do “tipo cola” (DOWNHAM; COLLINS, 2000).

O consumo mundial de corante caramelo ultrapassa 200.000 toneladas/ano e responde por mais de 80% (em peso) de todos os corantes adicionados em alimentos e bebidas (JECFA, 2008; KAMUF *et al.*, 2003; PINTEA, 2008).

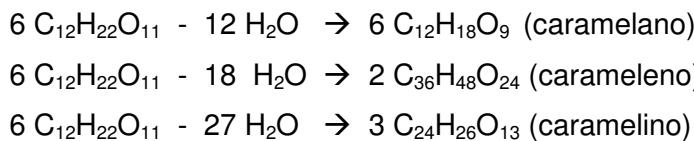
3.1.1.1. Corante caramelo

A caramelização do açúcar para produzir caldas escuras e aromáticas, para serem adicionadas em doces e sobremesas caseiras, vem sendo produzida há séculos. Inicialmente, o corante caramelo era produzido pelo simples aquecimento de açúcares a altas temperaturas (cerca de 200 °C) até que 10 a 15% do seu peso inicial fosse perdido. Geralmente, utilizava-se açúcar de cana, porém, glicose, mel, melaço e misturas de açúcares também eram empregados. Glicose e frutose são os açúcares que caramelizam mais rapidamente. Com sua crescente utilização, e nas mais variadas aplicações alimentícias, foram introduzidas modificações no seu processo de fabricação, obtendo-se corantes com diferentes atributos funcionais e compatíveis com os vários tipos de alimentos e bebidas (CHAPPEL; HOWELL, 1992; MYERS; HOWELL, 1992).

Uma das primeiras informações sobre caramelo foi feita pelo filósofo romano Sêneca em 65 a.C. Mas, a primeira publicação científica foi realizada nos *ANNALES DE CHIMIE ET PHYSIQUE* em 1838, de autoria do químico francês Eugene Peligot. Ele observou que aquecendo e mantendo o açúcar comum entre 210-220°C ocorria uma reação espontânea, na qual o açúcar adquiria uma coloração marrom que continuava a escurecer cada vez

mais, liberando muito vapor de água e exalando odor de açúcar queimado. Ao término da reação formava-se uma substância preta de aspecto brilhante, solúvel em água e sem sabor de açúcar, que ele denominou de caramelo. O produto final foi analisado e por meio dos resultados obtidos, foi proposta a fórmula $C_{48}H_{36}O_{18}$ (GRISOM, 1839; TOMASIK; PALASINSKI; WIEJAK, 1989).

Durante quase vinte anos, o caramelo não foi mais mencionado, ressurgindo apenas em 1858 nos ANNALES DE CHIMIE ET PHYSIQUE, no artigo “Étude du caramel et des produits torréfiés”, de autoria de Gélis. Voekel já havia repetido e confirmado o experimento de Peligot e denominou o composto formado de caramelano, atribuindo a fórmula $C_{24}H_{13}O_{13}$. Gélis, após estudar e analisar os experimentos dos outros dois pesquisadores, concluiu que, na realidade, existiriam três substâncias que faziam parte do caramelo e as denominou de caramelano, carameleno e caramelino (TOMASIK; PALASINSKI; WIEJAK, 1989). A formação desses compostos foi representada do seguinte modo:



Em 1862, Graham publicou o trabalho “*La Diffusion Moléculaire Appliquée à L'analyse*” onde realizou um estudo sobre o caramelo produzido de açúcar de cana a 210-220 °C. Em 1899, Stole iniciou estudos sobre a pirogenização de açúcares aquecendo a sacarose a 180-190 °C até a perda de massa de 12%. Ao determinar a massa molecular do produto obtido como caramelano, confirmou a fórmula do mesmo como sendo $C_{12}H_{18}O_9$. (CUNNINGHAM; DORÉE, 1917).

Em 1906, Trillat, examinando os produtos voláteis formados durante o aquecimento da sacarose, fez as seguintes observações:

A 200 °C = forma-se 0,1 – 0,3 % de formaldeído
 A 100 °C = há traços de formaldeído após 24 horas

A partir destes resultados, ele concluiu que o caramelo é uma combinação de produtos polimerizados de formaldeído.

Em 1909, Ehrlich, durante seus experimentos com a caramelização da sacarose, estimou que a matéria corante do produto formado tivesse a composição de $C_{12}H_{22}O_{11} - 2 H_2O$, a qual denominou de sacarona (CUNNINGHAM; DORÉE, 1917; TRUHAUT; VITTE; LASSALLE-SAINT-JEAN, 1962).

Em 1917, Cunningham e Dorée apresentam um estudo de contribuição sobre a química do caramelo. Os autores apresentaram as seguintes conclusões:

1- a sacarose aquecida a 170-180 °C perde duas moléculas de água e forma o caramelano, cuja fórmula pode ser definida entre $C_{12}H_{18}O_9$ ou $C_{24}H_{36}O_{18}$;

2-compostos formados por caramelano e semicarbazida indicam a existência de um grupo CO e CHO por unidade C_{24} , formados com extensiva desidratação;

3-sob oxidação, o caramelano tende a formar mais substâncias complexas.

A primeira discordância em relação a estes compostos foi dos pesquisadores Joszt e Molinski colocando em dúvida a existência do caramelano, carameleno e caramelino, após realizarem análises de acidez, tensão superficial, viscosidade e intensidade de cor. Os pesquisadores verificaram pequenas diferenças nestes valores entre os três compostos (TRUHAUT; VITTE; LASSALLE-SAINT-JEAN, 1962).

Von Elbe, aquecendo a sacarose até perda de 12% de sua massa original obteve uma dispersão coloidal que continha três substâncias distintas (substância I,II,III).

Concluiu em seu trabalho que a substância I de coloração marrom escura, não se funde e é insolúvel, enquanto que as substâncias II e III são incolores, instáveis termicamente, amorfas, higroscópicas e solúveis em vários solventes orgânicos. Observou também, que na presença da substância I, as outras duas substâncias protetoras promoveram a estabilidade térmica (GUNTHER, 1936; TOMASIK; PALANSKI; WIEJAK, 1989).

Com o avanço dos trabalhos apresentados sobre o corante caramelo, em 1850, surgiram na Europa as primeiras indústrias produtoras do corante e, em 1863, nos EUA. Inicialmente era vendido como aditivo em produtos de cervejaria e para colorir conhaques (CHAPPEL; HOWELL, 1992; PINTEA, 2008).

Como o corante caramelo tem sido utilizado há muito tempo e em uma grande variedade de produtos alimentícios, os consumidores tendem a pensar que ele é uma substância única quando, na realidade, é um grupo de produtos similares com propriedades ligeiramente diferentes. No entanto, existem classes distintas de corante caramelo que satisfazem as exigências dos diferentes tipos de alimentos e de bebidas (CHAPPEL; HOWELL, 1992; JECFA, 2008; KAMUF; NIXON; PARKER, 2000; MYERS; HOWELL, 1992; PINTEA, 2008). Com o aumento da produção e aplicações, houve necessidade de regulamentar e estabelecer especificações. Em 1940, nos EUA, o FDA iniciou os procedimentos e determinou que o corante caramelo utilizado em alimentos e bebidas poderia ser identificado na rotulagem como “colorido de açúcar queimado”, “adicionado de corante caramelo” ou “colorido com caramelo”. Em 1958, o corante caramelo foi incluído na lista de produtos GRAS (*Generally Recognized As Safe*) (CHAPPEL; HOWELL, 1992).

Na Europa, em 1923, o Reino Unido, através do Comitê do Ministério da Saúde iniciou um estudo abrangente para avaliar os corantes alimentícios. Durante 30 anos estes aditivos foram submetidos e avaliados em inúmeros testes toxicológicos. Em 1954, foi

apresentada uma lista positiva na qual o corante caramelo foi designado corante natural e aprovado para uso em alimentos. O JECFA apresentou em 1978 uma classificação com três classes de caramelo. Posteriormente, a Associação dos Fabricantes Ingleses de Caramelo propôs uma subdivisão em seis tipos (CHAPPEL; HOWELL, 1992; KAMUF; NIXON; PARKER, 2000).

Vários estudos foram realizados para se estabelecer a adequada especificação do corante caramelo, contudo, o mais abrangente foi patrocinado pelo ITCA (*International Technical Caramel Association*), um grupo formado pelos maiores usuários e fabricantes de corante caramelo do mundo. As pesquisas tiveram o intuito de definir padrões para assegurar qualidade e segurança aos consumidores e agências governamentais, quanto ao uso desse corante. Inicialmente, o corante foi fracionado utilizando ultrafiltração e dividido em subfrações por técnicas baseadas na carga elétrica, polaridade, solubilidade e grupos funcionais. As subfrações foram submetidas a análises cromatográficas juntamente com outras técnicas físicas e químicas. Os estudos definiram quatro tipos de corante caramelo (KAMUF; NIXON; PARKER, 2000; CHAPPEL; HOWELL, 1992; JECFA, 2008):

Classe I = caramelo simples ou caramelo cáustico - preparado pelo tratamento térmico controlado de carboidratos com álcali ou ácido;

Classe II = caramelo sulfito cáustico - preparado pelo tratamento térmico controlado de carboidratos com compostos contendo sulfito;

Classe III = caramelo amônia ou caramelo *beer* - preparado pelo tratamento térmico controlado de carboidratos com compostos de amônia;

Classe IV = caramelo sulfito amônia ou caramelo *soft drink* - preparado pelo tratamento térmico controlado de carboidratos com compostos de amônia e de sulfitos.

Os carboidratos permitidos na produção de caramelo devem ser comercialmente avaliados como adoçantes de grau alimentício, como por exemplo glicose, frutose e/ou seus polímeros. Os ácidos e bases também devem ser de grau alimentício, permitindo-se o ácido sulfúrico e o ácido cítrico. As bases de grau alimentício podem ser os hidróxidos de sódio, cálcio, potássio, sozinhos ou em misturas. Os reagentes de amônia podem ser os respectivos sais de carbonatos, bicarbonatos, fosfatos, sulfatos, sulfitos, ou na forma de hidróxido de amônia ou bissulfito. Os reagentes de sulfito podem ser o ácido sulfuroso, gás sulfídrico ou os respectivos sais de amônia, sódio e potássio (JECFA, 2008).

A definição do JECFA (2008) estabelece que o corante caramelo é uma complexa mistura de compostos, alguns dos quais na forma de agregados coloidais, fabricados pelo aquecimento de carboidratos, isoladamente ou na presença de ácidos, álcalis ou sais de grau alimentício. Na legislação brasileira, o decreto nº. 55871/65 define “caramelo” como

sendo o produto obtido, a partir de açúcares, por meio do aquecimento a temperatura superior ao seu ponto de fusão e ulterior tratamento indicado pela tecnologia. As diretrizes para permissão e uso em alimentos seguem as recomendações do *Codex Alimentarius*, da EU e do FDA (GOMES, 2007).

3.1.1.2. Formação do corante caramel

Existem dois tipos de reações de escurecimento em alimentos: i) escurecimento enzimático, visível quando as superfícies de frutas, cortadas ou danificadas são expostas ao ar ambiente (exemplos: maçã, pera, entre outros) e; ii) escurecimento não enzimático, que ocorre quando produtos alimentícios como grãos de café, carnes, pães ou açúcares são aquecidos. A formação desejável da cor marrom geralmente é associada ao escurecimento não enzimático que ocorre em algumas formas. As duas mais importantes reações são (BILLAUD; ADRIAN, 2003; BOBBIO; BOBBIO, 1992; FENNEMA, 1996; GREENSHIELDS; MACGILLIVRAY, 1972; KAMUF, *et al.*, 2003; KROH, 1994; YAYLAYAN; KAMINSKY, 1998):

- i) Reação de Maillard, na qual açúcares, aldeídos e cetonas reagem com compostos contendo nitrogênio, como as aminas e as proteínas, para formar pigmentos marrons conhecidos como melanoidinas;
- ii) Reação de caramelização, na qual açúcares são aquecidos na ausência de compostos contendo nitrogênio.

A degradação térmica de açúcares pode ser processada por vários mecanismos que possuem em comum a desidratação de hexoses e pentoses. Na produção de compostos aromáticos de açúcares, duas ou três desidratações estão envolvidas. Desidratações sem catálise requerem altas temperaturas. Reações podem ser potencializadas com a presença de bases que contenham nitrogênio. Em produtos alimentícios, estas bases normalmente são aminoácidos. A reação de escurecimento não enzimático foi primeiramente descrita por Maillard em 1912. A primeira etapa desta reação é a adição do grupo α -amino de um aminoácido com o grupo carbonila de um açúcar, com a perda de água para formar a chamada base de Schiff. Rearranjos na base Schiff formam uma α -amino cetona. Essa reação quando envolve um aldo-açúcar é conhecida como rearranjo de Amadori. O produto de Amadori é o composto 1-amino-1-deoxi-2-cetose (FEATHER, 1992; McWEERY; KNOWLES; HEARNE, 1974; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

Uma reação análoga com um ceto-açúcar é denominada de rearranjo de Heyns e produz o 2-amino-2-deoxi-1-aldose (HO, 1996; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

O produto de Amadori pode seguir para uma etapa de enolização e desaminação para produzir dehidroredutona e redutona. Os produtos de Heyns e Amadori podem também se transformar em 3-deoxihexosona e outra dehidroredutona. Esses compostos são importantes intermediários no desenvolvimento de compostos de aromas chaves (FEATHER, 1992; McWEERY; KNOWLES; HEARNE, 1974; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

Outro importante composto formado é o furfural. Quantitativamente ele é um dos principais produtos voláteis resultante da reação de desidratação de carboidratos. A dehidroredutona de uma pentose pode formar um anel e desidratar para formar o furfural. Esse composto tem um aroma de caramelo e cereal e é utilizado em muitas formulações de aromas (SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

No processo de quebra do açúcar a reação retro-aldol, que é o reverso da condensação aldol, é outra importante reação. A condensação aldol é uma reação na qual um composto carbonila adiciona-se a outro composto carbonila, de tal maneira que o carbono α da primeira liga-se ao carbono α da segunda. Os produtos gerados são α -hidroxialdeídos ou α -hidroxicetonas, os quais são facilmente desidratados para formar compostos carbonilas insaturados, preferencialmente conjugados. Na reação retroaldol, o grupo carbonila insaturado é hidratado na dupla ligação para formar compostos α -hidroxi que podem se reverter para dois compostos carbonilas iniciais. As condensações de retroaldol de deoxihexosona formando compostos de 2 a 4 carbonos são extremamente importantes na formação de compostos aromáticos heterocíclicos (FEATHER, 1992; McWEERY; KNOWLES; HEARNE, 1974; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

Dentre os muitos voláteis, que são compostos característicos formados da queima do açúcar, estão as 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona que possuem características típicas de caramelo. O mecanismo para a formação de 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona envolve condensação de ácido α -cetobutírico que é, provavelmente derivado do aminoácido treonina com o ácido pirúvico (um intermediário biológico) ou pode ser produzido pelas reações de aquecimento de açúcares ou aminoácidos (HEATH; REINECCIU, 1986; NAMIKI, 1998 SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

Muitos aldeídos resultantes da degradação de Strecker são também importantes compostos voláteis que são formados através dos mecanismos de quebra de aminoácidos. A degradação de Strecker é uma reação entre um aminoácido e um composto dicarbonil que produz esses aldeídos (HO, 1996; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

Outro grupo importante de compostos formados durante a reação de Maillard são as pirazinas. A formação de pirazinas durante o aquecimento de alimentos e sistemas modelo envolve a reação de dois compostos α -amino carbonila, sendo que um deles é oriundo de uma reação de Amadori ou degradação de Strecker. O grupo amino de uma molécula reage com o grupo carbonila de outra molécula e forma uma estrutura hexagonal com dois nitrogênios e dois grupos hidroxilos. A perda de duas moléculas de água deixa um anel com dois nitrogênios e dois graus de insaturação. Esse composto oxida facilmente e produz um terceiro grau de insaturação, o qual resulta em uma pirazina (HO, 1996; HEATH, 1986; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

Os produtos citados anteriormente são resultantes da reação de Maillard que necessita de compostos aminados. Já nas reações de caramelização, os açúcares são fortemente aquecidos e requerem temperaturas maiores do que 120 °C, sem a presença de compostos nitrogenados. Durante a reação, os açúcares sofrem inicialmente desidratação, por um mecanismo que envolve enolização e eliminação alílica (β -eliminação) com formação de um furaldeído como produto final. Posteriormente, a 3-desoxi-hexosulose formada sofre novamente enolização, seguida de eliminação alílica, com formação de um composto que facilmente cicliza nas posições 2 e 5, seguida de nova enolização β -eliminação, resultando no composto hidroximetilfurfural. Das pentoses, por mecanismo idêntico ao mencionado acima, é obtido o 2-furaldeído (BOBBIO; BOBBIO, 2003; SCARPELLINO; SOUKUP, 1993).

O hidroximetilfurfural é menos estável do que o furfural e sofre posterior decomposição com formação do ácido levulínico. Nos estágios iniciais da reação são formados caramelos levemente coloridos e de sabor agradável. Dando continuidade na reação, são produzidos compostos de massas moleculares ainda mais altas, que resultam em sabor amargo (KROH, 1994; LICHT *et al.*, 1992; PINTEA, 2008).

3.1.1.3. Carga elétrica e características funcionais

O corante caramelo pode ser produzido a partir de uma variedade de fontes de carboidratos. Dois grandes tipos de corante caramelo são produzidos: i) eletropositivo ou positivo, que é feito com compostos de amônia e ii) eletronegativo ou negativo, feito com compostos de sulfitos (MYERS; HOWELL, 1992).

A carga elétrica adquirida durante o processamento é um aspecto de extrema importância do corante caramelo e indica em quais produtos o corante poderá ser aplicado.

Dependendo da classe do corante caramelo, eles são indicados para distintas aplicações, tais como sobremesas e molhos (classe I); licores (classe II); cerveja, produtos

de panificação e confeitoria (classe III); refrigerantes, sopas e alimentos para animais (classe IV) (DOWNHAM; COLLINS, 2000; JECFA, 2008; PINTEA, 2008).

A existência das cargas positivas ou negativas determina compatibilidade com o meio aquoso, além de estabelecer um estado de repulsão entre as próprias moléculas de caramelo. Isso leva a um aumento da interação com o solvente e, consequentemente, favorecimento da solubilidade (FENNEMA, 1996). A carga coloidal é influenciada pelo pH do meio. Dessa forma, uma mudança de pH das soluções onde se aplicam o corante caramelo pode levá-lo ao seu ponto isoelétrico (neutralização das cargas elétricas), o que poderia causar efeitos indesejáveis como precipitação, efeitos de névoa e separação (KAMUF *et al.*, 2003; MYERS; HOWELL, 1992).

As quatro classes distintas do corante caramelo (I, II, III e IV) foram agrupadas de acordo com os reagentes utilizados como catalisadores na sua fabricação. Isso resulta em diferentes propriedades coloidais e macromoleculares de seus constituintes (JECFA, 2008; PINTEA, 2008). O corante caramelo Classe I é produzido com o menor número de reagentes e produz uma carga elétrica ligeiramente negativa. Já o corante caramelo Classe II tem sulfato como catalisador da reação, o que também lhe confere carga iônica ligeiramente negativa. Essas duas classes de corantes (I e II) são compatíveis com bebidas de alto teor alcoólico. Com a introdução de sais de amônia como reagente, produziu-se um corante caramelo com carga iônica fortemente positiva (Classe III), o que o tornou compatível com bebidas como a cerveja (DOWNHAM; COLLINS, 2000; JECFA, 2008).

Há mais de cem anos foi inserida no processamento do corante caramelo, a utilização simultânea dos reagentes sulfato e amônia utilizados como catalisadores. Essa técnica resultou em um corante de carga iônica fortemente negativa denominado de Classe IV, com boas propriedades emulsionantes e alto poder tintorial. As características do corante caramelo Classe IV apresentaram alta compatibilidade em refrigerantes e bebidas de baixo pH (DOWNHAM; COLLINS, 2000; JECFA, 2008; PINTEA, 2008).

O **Quadro 1** apresenta as quatro classificações do corante caramelo, de acordo com os órgãos internacionais (JECFA, EU) e nacionais (INS), os reagentes utilizados na sua fabricação, a carga elétrica final do produto e sua ingestão diária aceitável (IDA).

Quadro 1. Classificação do corante caramelo.

CLASSIFICAÇÃO			REAGENTES UTILIZADOS	CARGA ELÉTRICA	IDA (mg/kg peso corporal)
JECFA	EU	INS			
Classe I	Caramelo (E 150a)	150a	Com ou sem ácidos, álcalis, sais, com exceção de sulfito e amônia	—	Ilimitada
Classe II	Caramelo sulfito-básico (E 150b)	150b	Com ou sem ácidos, álcalis, sais, na presença de sulfitos (ácidos sulfurosos, sulfito e bissulfito de Na e K); não pode ser utilizado composto de amônia	—	0-160 mg/kg
Classe III	Caramelo amônia (E 150c)	150c	Com ou sem ácidos, álcalis, sais, na presença de compostos de amônia (hidróxidos, carbonatos, fosfatos); não pode ser utilizado composto de sulfito	+	0-200 mg/kg
Classe IV	Caramelo sulfito-amônia (E 150d)	150d	Com ou sem ácidos, álcalis e sais, na presença de compostos de amônia e sulfito	—	0-200 mg/kg

IDA: Ingestão Diária Aceitável.

Fontes: JECFA, 2008; PINTEA, 2008.

Cada uma dessas quatro classes do corante caramelo apresenta propriedades funcionais específicas que asseguram a compatibilidade com os produtos destinados e eliminam efeitos indesejáveis. (KAMUF *et al.*, 2003; MYERS; HOWELL, 1992). Dessa forma, a composição e poder tintorial do corante caramelo dependem do tipo de matéria-prima e do processo utilizado. Tanto reações do tipo Maillard quanto reações de pura caramelização produzem um produto de composição bastante complexa. O corante se apresenta na forma de um líquido viscoso ou pó higroscópico, com odor de açúcar queimado. Atualmente, o termo “corante caramelo” é utilizado para distinguir os produtos utilizados estritamente com propósitos de colorir, diferentemente do termo “caramelo” referente aos confeitos e aroma de caramelo (CHAPPEL; HOWELL, 1992; KAMUF, *et al.*, 2003).

A composição química do corante caramelo ainda não é bem compreendida. Contém em sua composição compostos de diversas massas moleculares e uma variedade de componentes voláteis. Alguns compostos identificados na fração de baixo peso molecular são considerados como “marcadores do caramelo”. Alguns tipos de corante caramelo contêm o composto 5-hidroximetil-2-furfural (5-HMF) (PINTEA 2008; ZENKEVICH *et al.*, 2002). Entretanto, devido a baixa probabilidade de formação do 5-HMF em meio alcalino e a possibilidade de interação com sulfitos, dependendo do processamento do corante, pode-se encontrar muito pouca quantidade deste composto (ZENKEVICH *et al.*, 2002). Diferenças

quantitativas foram encontradas nos quatro tipos de corante caramelo, sendo que as classes I e II possuem maiores quantidades do mesmo. Não foi detectado no corante Classe III e muito pouca quantidade foi encontrada no corante Classe IV (BRENNNA; CEPPI; GIOVANELLI, 2009).

Temperaturas próximas a 300 °C permitem a degradação do 5-HMF em produtos termodinamicamente estáveis como o 5-metilfurfural e furfural. Além dos furanos, as furanonas também são importantes produtos voláteis da caramelização (KRHO, 1994).

3.1.1.4. Caramelo Classe IV

Os produtos de caramelização incluem componentes voláteis e não voláteis. Apesar de inúmeros experimentos e avaliações, a fração não volátil (aproximadamente 95% do total do produto), ainda é pouco conhecida (DEFAYE; FERNÁNDEZ, 1994).

Uma das primeiras propostas de padronização para as especificações do corante caramelo relacionava as seguintes determinações: gravidade específica, poder tintorial, pH, viscosidade, cinzas, além de testes específicos para determinados usos do corante, como resistência a floculação, espuma, acidez, compatibilidade com lúpulo (FETZER, 1938). Especificações comerciais variam de acordo com o fabricante e, atualmente, dentre as principais análises realizadas incluem-se a intensidade de cor, o pH e o teor de sólidos (KAMUF; NIXON; PARKER, 2000).

Na produção do corante caramelo são consideradas três variáveis críticas: cor, temperatura e pH. São variáveis em função do tempo e dependentes das características dos equipamentos utilizados na fabricação. A formação da coloração é altamente dependente do pH ácido, o que implica na importância da adição dos reagentes que definem esta propriedade funcional. Os carboidratos utilizados na fabricação do caramelo variam em várias partes do mundo em função de fatores geográficos e econômicos, podendo ser utilizados sacarose, amido hidrolisado de milho, trigo e fécula de mandioca. Como a caramelização inicialmente procede de monossacarídeos, em alguns casos há necessidade de inversão ou hidrólise ácida para obter a estrutura ideal do carboidrato. A introdução de sulfitos e amônia como reagentes resultou em um corante caramelo com boas propriedades emulsificantes e com carga iônica negativa, o que propiciou excelente compatibilidade com refrigerantes e outras bebidas de baixo valor de pH. Os compostos de amônia iniciam as reações de desidratação que é o ponto crítico na formação de cor. Quando estes compostos são utilizados como reagentes, ocorrem algumas incorporações com os constituintes de alto peso molecular, conferindo carga positiva ao polímero. O reagente excedente é incorporado

aos compostos de baixo peso molecular. O uso dos sulfitos proporcionam ligações estáveis C-S, com características fortemente ácidas, que são incorporadas nos constituintes de alto e baixo peso molecular (MYERS; HOWELL, 1992).

O corante caramelô Classe IV (sulfito-amônia) corresponde a 70% de todo o corante caramelô fabricado mundialmente. Estudos sobre sua caracterização demonstraram que os componentes de alto peso molecular (7.900-42.100 Da) participam de 7 a 33% dos constituintes do corante e são os principais responsáveis pela intensidade de cor do produto. Os de baixo peso molecular (valores menores que 2000 Da) participam de 51 a 86% da sua composição química e são responsáveis pela maioria dos sólidos presentes no produto (LICHT *et al.*, 1992). Em função de variáveis como tempo, pH, concentração dos reagentes, temperatura, equipamentos e tipos de carboidratos utilizados como matéria-prima, que interfem nas características do produto final, os métodos mais comuns de identificação dos componentes coloridos são por meio da aplicação de sistemas modelos em laboratório (GREENSHIELDS; MACGILLIVRAY, 1972). Na monografia apresentada pelo comitê de especialistas em aditivos alimentares da FAO/WHO são indicadas as características físico-químicas que identificam o corante caramelô Classe IV conforme o **Quadro 2** (JECFA, 2008).

Quadro 2: Características físico-químicas do corante caramelô Classe IV

Características	Parâmetros
Solubilidade	Miscível em água
Conteúdo de sólidos	40 - 75%
Intensidade de cor	0,1 - 0,6%
Nitrogênio total	0,5 – 7,5%
Enxofre total	1,4 – 10%
SO ₂	< 0,5%
Nitrogênio amonical	< 2,8%
4-metilimidazol	< 1000 mg/kg
Arsênico	< 1 mg/kg
Chumbo	< 2 mg/kg

Fonte: JECFA, 2008.

3.2. Aplicação do corante caramelo em refrigerantes

3.2.1. Histórico das indústrias de refrigerantes

O corante caramelo é utilizado em vários alimentos, mas é na indústria de refrigerantes onde se encontra sua grande aplicabilidade.

O desenvolvimento histórico dos refrigerantes pode ser dividido em seis períodos distintos: i) da água mineral; ii) das frutas cítricas; iii) da *soda-water*; iv) dos aromas artificiais; v) do gás carbônico líquido e vi) das tampas metálicas.

Embora a literatura aponte o médico suíço Paracelsus (1493-1541) como um dos primeiros a observar os gases formados durante a fermentação e ação de ácidos em CaCO_3 é ao médico e químico belga Jean Baptiste van Helmont (1577-1644) a quem foi creditada a descoberta do dióxido de carbono (CO_2). No decorrer do tempo, muitos cientistas realizaram trabalhos com águas minerais artificiais, no entanto, é a Joseph Priestley, um químico britânico, que se atribui o início do que seria a indústria de refrigerantes no mundo. O que também pode ser considerado como um dos primeiros desenvolvimentos em tecnologia de alimentos. Em 1767, Priestley conduziu um experimento com CO_2 coletado de uma cervejaria próxima de sua residência - o qual denominou de “ar fixo” - e observou que, dissolvido em água, o gás proporcionava um leve sabor acidulado. Desde então, empenhou-se em obter o gás carbônico partindo da reação do ácido sulfúrico em minerais contendo carbonato de cálcio (JACOBS, 1959; RILEY, 1958).

No final do século XVIII, alguns estabelecimentos já fabricavam água mineral artificial e vários países foram estimulados a desenvolver a indústria deste segmento. Uma inovação americana atribuída a Townsend Speakman foi a adição de aroma, como suco de fruta em águas carbonatadas, iniciando uma nova fase no desenvolvimento da indústria de refrigerantes (JACOBS, 1959).

A venda comercial de *soda water* começou nos EUA entre 1806-1807. Nesta fase, essas novas bebidas eram desenvolvidas em farmácias até a implantação das “sodas *fountain*”, apresentada em 1819 por Samuel Fahnestock na forma de uma patente relativa ao equipamento de produção de *soda water*. Era um tipo de tanque portátil (*fountain*) que continha água carbonatada para ser dispensada (RILEY, 1958). Outra fase importante desta evolução foi a fabricação de CO_2 líquido. Em 1823, os ingleses Humphry Davy e Michael Faraday liqüefizeram este gás (JACOBS, 1959).

Na década de 1850 foi desenvolvida a água tônica de quinino como meio de proteção das forças britânicas contra a malária (HALL, 1990). Nesta década inicia-se a fabricação de aromas sintéticos para aplicação em bebidas e alimentos. Em 1865, uma

empresa americana (Powers and Weightman) já fabricava produtos químicos aromatizados com vários sabores de frutas, dentre eles abacaxi, cereja negra, laranja, maçã, morango, limão e uva (RILEY, 1958; WOODROOF; PHILLIPS, 1974).

A palavra “soda” foi uma das primeiras denominações adotadas nos EUA para denominar o refrigerante. Outros termos também utilizados foram tônica, soda *water* ou, simplesmente, *pop*. No período entre 1882-1884, nomes exóticos destas novas bebidas eram encontrados nos EUA, tais como *Little Daisy*, *Inca Cocoa*, *Buffalo Mead*, *Imperial Nerve Tonic*, *Fillipin Fizz*, *Ironbrew*, *Kola Phosphate*, *Bongo Beer*, *Graphine* e *Lime Phosfizz* (JACOBS, 1959).

Em 1889, William Painter fez uma das descobertas mais importantes em termos de industrialização, a qual patenteou em 1892: a tampa coroa. Ela garantia o fechamento das garrafas para bebidas carbonatadas e é utilizada até os dias de hoje (JACOBS, 1959).

O ciclo histórico da evolução da indústria de refrigerantes se completa com os equipamentos através da introdução das máquinas de fabricar garrafas, como a semi-automática patenteada em 1895 por Michael J. Owens. Esse foi o passo decisivo para o desenvolvimento de outros equipamentos, como as lavadoras de garrafas em 1902 (por Barry-Wehmiller Machinery Co) e as enchedoras semi-automáticas (xaropeiras-enchedoras – tampadoras) entre 1905-1910 (RILEY, 1958). Nesse período, várias formulações para águas carbonatadas artificiais e essências para bebidas não alcoólicas já podiam ser conhecidas em livros especializados (WALTER, 1916).

O crescimento vertiginoso do setor de bebidas carbonatadas pode ser observado pela evolução das fábricas de refrigerantes nos EUA. Enquanto que em 1859 eram produzidas 2 830 000 caixas de garrafas, em 1869, apenas 10 anos depois, a quantidade de plantas industriais triplicou e passaram a ser 387 produzindo 8 444 000 caixas. No final do século XIX, precisamente em 1899, já eram 2 763 fábricas com produção de 38 781 660 caixas de garrafas (WOODROOF; PHILLIPS, 1974). No período de 100 anos, entre 1849 a 1949, o número de fábricas de refrigerantes no EUA aumentou de 64 para 6 907 e a produção de 36 milhões de garrafas foi para 24 309 milhões (RILEY, 1958).

Os equipamentos foram aperfeiçoados com melhorias técnicas para acompanharem o consumo crescente da nova bebida. Lavadoras de garrafas, assim como outros equipamentos, foram adaptadas para que as indústrias de refrigerantes se expandissem.

3.2.2. Os refrigerantes “tipo cola” e guaraná

Os dois refrigerantes mais consumidos no Brasil são os do “tipo cola” e o guaraná (ABIR, 2011). Com extratos das sementes de noz cola, oriundo de árvores africanas, extrato

de folha de coca boliviana e outros ingredientes como o caramelo, o farmacêutico John Stith Pemberton, em Atlanta, preparou, em 1886, uma bebida concebida a princípio para ser um tônico para o cérebro, que recebeu o nome de Coca-Cola idealizado por Frank Mason Robinson (ALLEN, 1994; HALL, 1990). Em 1896, surge a Pepsi-Cola desenvolvida pelo farmacêutico Caled Bradham, na Carolina do Norte (EUA). Inicialmente foi chamado de Brad's Drink, com o intuito de suavizar o mal estar causado pelo desequilíbrio do ácido péptico no estômago. (RILEY, 1958). Uma formulação básica desses refrigerantes “tipo cola” contém açúcar, suco de limão, extrato de vanilina, extrato de cola e caramelo (TOCCHINI; NISIDA, 1995).

O refrigerante mais popular do Brasil não é o tradicional coke (tipo cola), mas sim uma bebida produzida com a semente de guaraná (STRATEN, 1994). Os botânicos Carl von Martius e Adolfo Ducke estudaram a diversidade dos guaranás colhidos na Venezuela e no baixo Amazonas e observaram que as espécies divergiam entre si. A espécie brasileira foi denominada como *Paullinia cupana sorbilis* (HENMAN, 1982; MONTEIRO, 1965). Dentre as várias plantas indígenas brasileiras de características medicinais conhecidas antes do descobrimento, destaca-se o guaraná. Foi o povo indígena brasileiro conhecido como “Sateré-Mawe” o inventor da cultura do guaraná. Eles transformaram a espécie em arbusto cultivado e introduziram seu plantio criando o processo de beneficiamento da planta. Isso possibilitou que o guaraná fosse conhecido e consumido no mundo todo. A primeira descrição do guaraná data de 1669, no primeiro contato do grupo Sateré-Mawe com os brancos, através do padre João Felipe Betendorf. Ele observou que os índios consumiam o fruto durante a caça mantendo-os sem fome, tirando febre, dores de cabeça e câimbras (LORENZ, 1992).

A coloração preta da semente de guaraná e a cor marrom da semente moída identifica a faixa de coloração do refrigerante sabor guaraná, que varia do amarelo dourado ao marrom escuro, quase negro. Esta coloração é atingida com a adição de corante caramelo, que também é utilizado nos refrigerantes sabor cola, maçã, *ginger-ale*, dentre outros. Uma formulação básica do refrigerante guaraná contém açúcar, ácido cítrico, extrato aromático de guaraná, água carbonatada, benzoato de sódio e caramelo. A composição desses refrigerantes é segredo industrial (FARIA 2000; TOCCHINI; NISIDA, 1995).

Atualmente, o Brasil ocupa a terceira posição mundial em produção de refrigerantes, atrás apenas dos EUA e do México. Em 2008 a produção foi de 14,13 bilhões de litros (ABIR 2011), sendo que mais da metade foi do sabor “tipo cola” (Figura 1).

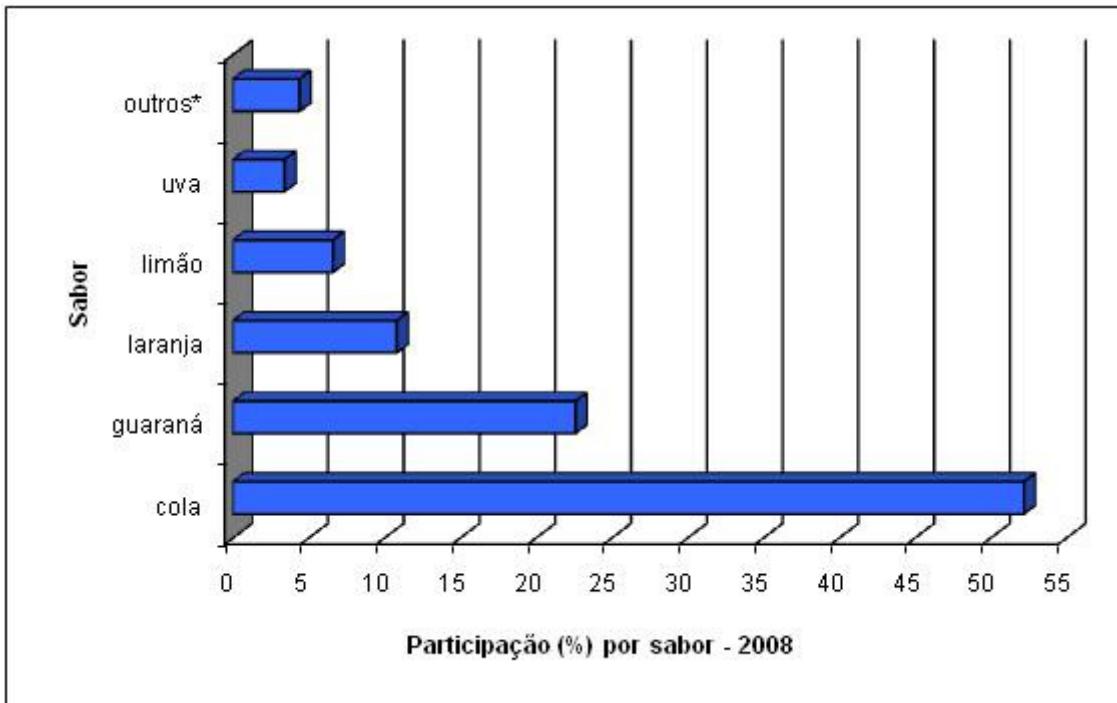


Figura 1 Participação brasileira dos sabores de refrigerantes no ano de 2008.

Fonte: ABIR, 2011

*Outros: tutti-frutti, tônica, cítrico, maçã e demais.

Conforme observado na Figura 1, os sabores “tipo cola” e o guaraná participam com praticamente 75% de toda a produção, seguidos dos “sabores de frutas” laranja, limão e uva. O corante caramelo entra na formulação dos dois refrigerantes mais consumidos no Brasil, além de outros tais como tutti-frutti e maçã (ABIR, 2011).

3.2.3. Legislação de refrigerantes

Todo o controle da produção, distribuição, comercialização de bebidas alcoólicas e não alcoólicas está sob a supervisão do Ministério da Agricultura. Porém, alguns gêneros de bebidas específicas encontram-se sob a supervisão do Ministério da Saúde (GOMES, 2007).

De acordo com a legislação brasileira, refrigerante é a bebida gaseificada, obtida pela dissolução em água potável, de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionado de açúcares. O refrigerante deverá ser obrigatoriamente saturado com dióxido de carbono industrialmente puro (BRASIL, 2009). Dentre as matérias-primas que compõem os refrigerantes, os corantes não têm nenhum efeito direto nas propriedades gustativas das bebidas, mas são utilizados para reforçar a percepção do aroma pelos consumidores. Uma

cor atractiva e natural, uma aparência agradável da bebida, transparência ou turbidez adequadamente homogênea desempenham um papel decisivo na escolha do consumidor. A inclusão de corantes em refrigerantes depende do mercado para o qual o produto está sendo direcionado (BARNABÉ; SALATA, VENTURINI FILHO, 2005). Alguns aditivos alimentares têm seu uso autorizado em bebidas não alcoólicas, com os limites máximos de uso estabelecidos em legislação específica. No caso dos refrigerantes, que fazem parte da categoria de bebidas não alcoólicas, os quatro tipos de corante caramelo são permitidos em *quantum satis* nos refrigerantes fabricados no Brasil (BRASIL, 2007).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. *Matéria-Prima*

Foram analisadas amostras de dez lotes do corante caramelo Classe IV, de dois diferentes fabricantes. As amostras foram armazenadas em local ventilado e sob temperatura ambiente.

4.2. Métodos

4.2.1. *Caracterização físico-química dos corantes caramelos*

As análises físico-químicas foram realizadas em 10 lotes de cada marca. As amostras foram caracterizadas com relação ao pH, cor, índice Hue e teor de sólidos.

4.2.1.1. *Determinação do pH*

A análise de pH foi realizada em potenciômetro digital da marca Marte, modelo MB-10, segundo método do Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.2.1.2. *Determinação da cor*

A cor foi determinada em espectrofotômetro da marca Quimis, modelo *Spectrumlab* 23A, de acordo com a metodologia do FCC (1981).

4.2.1.3. Determinação do índice de Hue

O índice de Hue foi determinado através da equação desenvolvida por Linner (1970).

$$IH = 10 \log (\text{Abs 510} / \text{Abs 610})$$

4.2.1.4. Determinação de sólidos

Foi estimado pela leitura direta do °Brix da amostra em sacarímetro de Brix Hg, da marca HG Brasil, modelo 62+90 DIV 1/5, conforme metodologia da AOAC (1995).

4.2.2. Caracterização dos compostos voláteis presentes no corante caramelo

4.2.2.1. Isolamento dos voláteis (extração líquido-líquido) com dois solventes.

Os compostos voláteis presentes no corante caramelo foram isolados de acordo com a técnica de extração com solvente (líquido-líquido), seguindo metodologia utilizada por Wolford, Alberding e Attaway (1962). Em um funil de separação (Figura 2), foram colocados 10 mL do corante, adicionando-se em seguida, 10 mL do solvente (grau cromatográfico) testado (metanol ou acetonitrila). Após agitação da mistura por 5 minutos, o funil foi deixado em repouso por 10 minutos. A fase mais densa foi cuidadosamente retirada e colocada em tubo de ensaio com tampa rosqueada. Uma segunda extração do mesmo corante foi conduzida com outros 10 mL do solvente, seguindo-se de agitação por 5 minutos, repouso, e, novamente, a fase mais densa foi retirada e colocada no mesmo tubo de ensaio. Uma terceira (e última) extração foi conduzida da mesma forma que as anteriores, perfazendo o total de aproximadamente 30 mL de extrato recolhido no tubo. Na sequência, através das bordas do tubo rosqueado, foi depositada pequena quantidade de sulfato de sódio, e o tubo colocado no freezer por 2 horas, para que qualquer resíduo de água remanescente no extrato pudesse ser retirado. Em seguida, o extrato resultante foi transferido para outro recipiente e concentrado com fluxo de nitrogênio ultrapuro até, aproximadamente, 0,5 mL. Dois solventes de diferentes polaridades (acetonitrila e metanol) foram testados, a fim de se comparar qual apresentava maior eficiência na extração dos voláteis.



Figura 2. Extração líquido-líquido dos compostos presentes no corante caramelô

4.2.2.2. Análise cromatográfica dos voláteis por cromatografia à gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG/MS-ÍON TRAP)

Uma alíquota de aproximadamente 2 μ L do isolado foi injetada em um cromatógrafo à gás Varian (modelo Saturn 3), acoplado à espectrometria de massas de armadilha iônica (*Ion Trap*) equipado com coluna capilar DB-5 de poli-dimetil-siloxana com 5% de fenila (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) de fase levemente polar. As condições cromatográficas foram previamente testadas para otimização da melhor separação dos compostos. A identificação inicial dos voláteis foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos para cada composto, com aqueles disponíveis na biblioteca do equipamento (Class 5000 Wiley) (SASSINE *et al.*, 2004). De modo geral, altas similaridades entre os espectros foram consideradas (aproximadamente 90 %).

4.3. Análise estatística dos dados

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio da aplicação do teste t de Student por meio da utilização do programa Statistica versão 6.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização físico-química do corante caramelô

O corante caramelô faz parte da composição básica de refrigerantes. Considerando que a acidez, a cor e o teor de sólidos destas bebidas são análises realizadas pelo controle de qualidade nas indústrias de refrigerantes, os valores correspondentes ao corante caramelô devem ser considerados e avaliados na formulação (TOMPSETT, 1998). Dessa forma, essas análises foram realizadas no corante caramelô Classe IV de dois grandes fabricantes mundiais deste produto. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição físico-química das amostras do corante caramelô Classe IV.

Amostra	pH ¹	Sólidos(°Brix)	Cor (610nm) ¹	Índice de Hue ¹
Marca A	2,7 ^b (\pm 0,2*)	53,7 ^b (\pm 0,4*)	0,26 ^a (\pm 0,01*)	4,02 ^a (\pm 0,03*)
Marca B	3,1 ^a (\pm 0,2*)	54,5 ^a (\pm 0,4*)	0,26 ^a (\pm 0,01*)	4,02 ^a (\pm 0,05*)

¹Valores médios (10 lotes); * Desvio-padrão.

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância ($p>0,05$).

Os valores médios do pH foram 2,68 para a marca A e 3,07 para a marca B. A análise estatística indicou que houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os valores de pH das duas marcas, sendo que o da marca B foi ligeiramente superior.

A medida de pH é de suma importância para várias determinações em alimentos, tais como indício de deterioração com crescimento de microorganismos, atividade enzimática, retenção de sabor/odor de produtos, estabilidade de corantes artificiais e escolha da embalagem, dentre outras (CECCHI, 2003). No corante caramelô, o pH pode variar dependendo do tipo de corante produzido e é um parâmetro que fornece um indicativo de sua qualidade. Altos valores de pH (acima de 5) podem indicar um aquecimento incompleto ou uma quantidade excessiva de álcali. Esses dois fatores podem aumentar o poder tintorial do corante durante o seu armazenamento. Ainda, valores de pH acima de 5,0 tornam o produto suscetível à contaminação microbiológica. Por outro lado, em valores de pH menores do que 2,5, o corante tende a resinar ou formar gel em um curto período de tempo. Para uma estabilidade máxima, o pH do corante caramelô não diluído deve ficar entre 2,8 a 3,3, com um valor médio de 3,1 (FETZER, 1938; PECK, 1955). A marca B apresentou o valor de pH mais próximo do ideal.

Os resultados do teor de sólidos foram 53,7 para a marca A e 54,5 para a marca B. De acordo com JECFA (2008), a quantidade de sólidos dever estar entre 40-75%, indicando que os dois corantes estavam dentro das especificações em relação a esse parâmetro. Entretanto, estatisticamente, as amostras apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) entre os valores de sólidos, sendo que o da marca B foi ligeiramente superior.

As duas marcas de corante apresentaram o mesmo valor para a variável cor (0,26) não apresentando diferença estatística significativa entre as amostras. A cor é uma das mais importantes propriedades do corante caramelo para sua comercialização. O parâmetro para o corante caramelo Classe IV é ditado pelo mercado como uma dependência física variável. De acordo com JECFA (2008), a cor deve estar entre 0,1-0,6. A cor das duas marcas encontra-se dentro dos valores especificados.

Linner (1970) demonstrou matematicamente uma fórmula para determinação da tonalidade avermelhada do corante caramelo que denominou de índice de Hue, que é baseado em leituras espectrofotométricas nos comprimentos de onda de 510 e 610 nm. A faixa do índice de Hue varia entre 3,5-7,5 e quanto maior é o valor, menor é a cor avermelhada do corante. Para esse parâmetro, as duas marcas do corante analisadas apresentaram o mesmo valor de 4,02 e não houve diferença estatística significativa entre as amostras.

5.2. Caracterização dos compostos voláteis presentes no corante caramelo

5.2.1. Isolamento dos compostos voláteis pela extração líquido-líquido com dois diferentes solventes.

Os cromatogramas dos isolados gerados por extração líquido-líquido obtidos através da eluição com metanol e acetonitrila são apresentados na Figura 3. Conforme pode ser observado, as duas marcas de corantes apresentaram diferentes perfis em relação ao solvente utilizado. Para o corante da marca A, com o solvente acetonitrila, os picos eluíram principalmente no início da corrida cromatográfica e apresentaram-se com maior área e melhor resolução em relação aos picos eluídos com metanol. Para o corante da marca B, as diferenças entre os perfis foram mais marcantes. Com metanol, resultou em um perfil cromatográfico com poucos picos e pequena área. Já com acetonitrila, apresentou um cromatograma com vários picos eluídos, com grande área e boa resolução. Dessa forma, os resultados indicaram que a extração com o solvente acetonitrila eluiu os compostos com maior eficiência do que o metanol, para ambas as marcas dos corantes. Portanto, a

determinação dos perfis cromatográficos dos corantes analisados no presente trabalho foi realizada utilizando-se os isolados obtidos com acetonitrila.

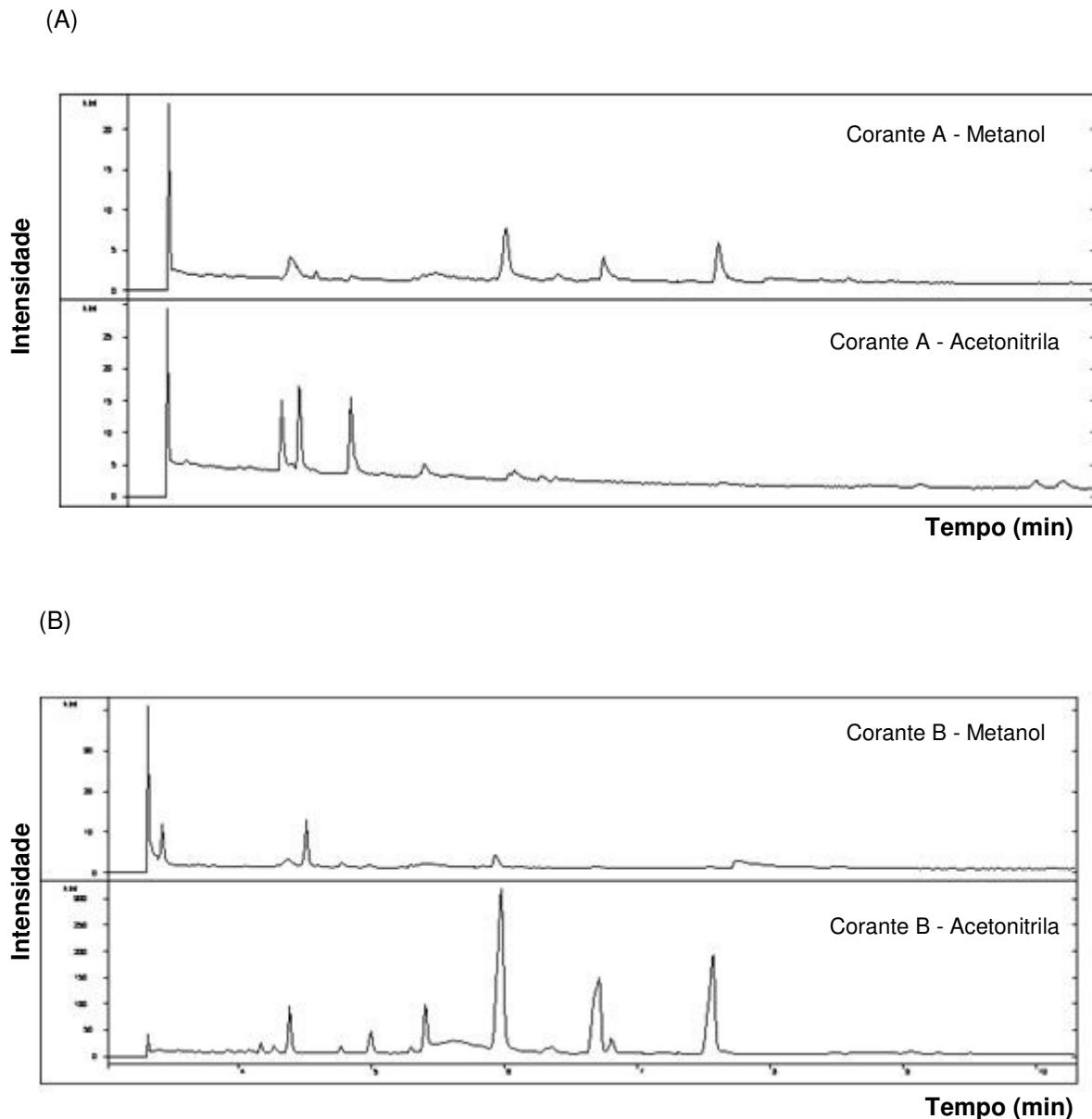


Figura 3. Cromatogramas das duas marcas (A e B) do corante caramelo Classe IV isolados por dois diferentes solventes: metanol e acetonitrila

5.2.2. Análise cromatográfica dos voláteis por cromatografia à gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG/MS-ION TRAP)

Na Figura 4 é apresentado o cromatograma do corante caramelô da marca A. Foram registrados 16 picos pelo detector acoplado à espectrometria de massas de armadilha iônica (*Ion Trap*). Destes, 15 foram identificados.

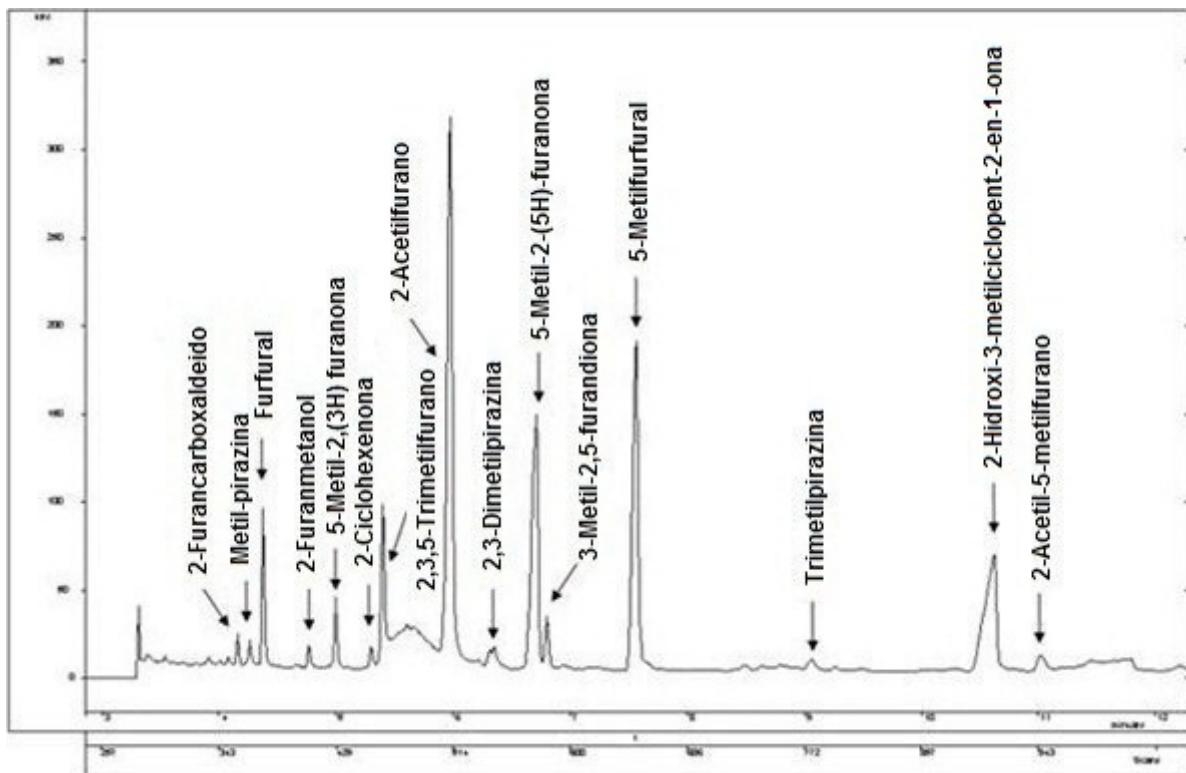


Figura 4. Cromatograma do corante caramelô Classe IV da marca A

Na tabela 2 são apresentados, para cada composto eluente identificado no cromatograma, a sua fórmula molecular, o peso molecular, o CAS number (*Chemical Abstracts Services*) e a área. O valor da área representa a área do pico cromatográfico já substituído do interferente iônico. Este valor é utilizado para cálculo da porcentagem relativa aos 2 μ L de corante injetado no CG/MS. Dentre os compostos encontrados no corante caramelô da marca A, aqueles presentes em maior porcentagem de área foram, respectivamente: 2-acetil-furano (30,0%), 5-metilfurfural (19,9%), 5-metil-2-(5H)-furanona (17,4%), 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (14,1%), 2,3,5-trimetilfurano (4,4%) e furfural (4,2%).

Tabela 2. Compostos voláteis identificados no isolado do corante caramelo Classe IV da marca A.

Compostos	Fórmula	Peso molecular	CAS number	Área
2-Furancarboxaldeido	C ₅ H ₄ O ₂	96	98-01-1	36.001
Metil-pirazina	C ₅ H ₆ N ₂	94	109-08-0	35.907
Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	98-01-1	195.923
2-furanmetanol	C ₅ H ₆ O ₂	98	98-00-0	37.793
5-metil-2,(3H)furanona	C ₅ H ₆ O ₂	98	591-128	96.918
2-ciclohexenona	C ₆ H ₈ O	96	930-68-7	30.189
2,3,5-trimetilfurano	C ₇ H ₁₀ O	110	10504-04-8	202.728
2-acetilfurano	C ₆ H ₆ O ₂	110	1192-62-7	1.385.075
2,3-dimetilpirazina	C ₈ H ₈ N ₂	108	5910-89-4	58.445
5-metil-2-(5H)-furanona	C ₅ H ₆ O ₂	98	591-11-7	800.780
3-metil-2,5-furadiona	C ₅ H ₄ O ₃	112	616-02-4	97.981
5-metilfurfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	620-02-0	918.215
Trimetilpirazina	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	14667-55-1	37.690
2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona	C ₆ H ₈ O ₂	112	80-71-7	651.162
2-acetil-5-metilfurano	C ₇ H ₈ O ₂	124	1193-79-9	48.256

Na Figura 5 é apresentado o cromatograma do corante caramelo da marca B. Foram registrados 14 picos, sendo que 12 deles foram identificados.

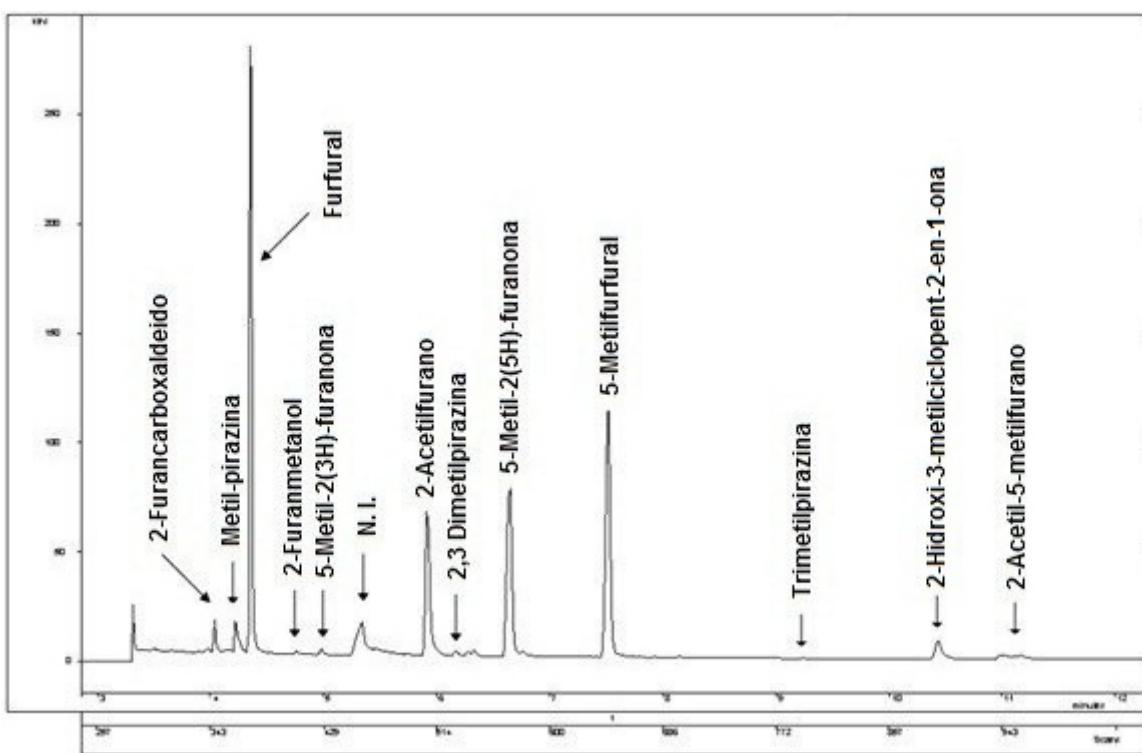


Figura 5. Cromatograma do corante da marca B

Na tabela 3 são apresentados, para cada composto eluente identificado no cromatograma, a sua fórmula molecular, o peso molecular, o CAS number (*Chemical Abstracts Services*) e a área. O valor da área representa a área do pico cromatográfico já substituído do interferente iônico. Este valor é utilizado para cálculo da porcentagem relativa aos 2 μ L de corante injetado no CG/MS.

Dentre os compostos encontrados no corante caramelo da marca B aqueles presentes em maior porcentagem de área foram respectivamente: furfural (38%), 5-metilfurfural (24,5%), 5-metil-2-(5H)-furanona (15,4%), 2-acetifurano (11,6%) e 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (2,6%).

Tabela 3. Compostos voláteis identificados no isolado do corante caramelo Classe IV da marca B.

Compostos	Fórmula	Peso molecular	CAS number	Área
2-Furancarboxaldeido	C ₅ H ₄ O ₂	96	98-01-1	36.001
Metil-pirazina	C ₅ H ₆ N ₂	94	109-08-0	40.888
Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96	98-01-1	745.771
2-furanmetanol	C ₅ H ₆ O ₂	98	98-00-0	45.369
5-metil-2,(3H)furanona	C ₅ H ₆ O ₂	98	591-12-8	38.376
2-acetilfurano	C ₆ H ₆ O ₂	110	1192-62-7	227.468
2,3-dimetilpirazina	C ₈ H ₈ N ₂	108	5910-89-4	6.500
5-metil-2-(5H)-furanona	C ₅ H ₆ O ₂	98	591-11-7	303.544
5-metilfurfural	C ₆ H ₆ O ₂	110	620-02-0	481.742
Trimetilpirazina	C ₇ H ₁₀ N ₂	122	14667-55-1	302
2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona	C ₆ H ₈ O ₂	112	80-71-7	52.086
2-acetil-methylfurano	C ₇ H ₈ O ₂	124	1193-79-9	22.529

Walter e Fagerson (1968) realizaram um experimento aquecendo glicose anidra entre 150-350 °C por um período de 30 minutos. Os voláteis foram extraídos com éter e identificados por cromatografia à gás acoplada a um espectrômetro de massas. Dentre os compostos encontrados estavam o furfural, 2-acetilfurano e 5-metilfurfural que também estiveram presentes nos dois caramelos analisados neste trabalho.

Pons e outros (1991) preparam uma amostra de caramelo aquecendo sacarose, ácido cítrico e água a 195 °C. Dentre os compostos extraídos por cloreto de metila e identificados por CG/MS estavam o 5-metil(3H)2-furanona, 5-metil(5H)2 furanona, furfural, 5-metilfurfural, 2-furanmetanol, 2-acetilfurano e a 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona que também foram encontrados na presente pesquisa.

Yaylayan e Kaminsky (1998) preparam uma mistura de glicina e glicose, mantendo em refluxo por 7 horas a 65 °C. Por meio da realização de diálise foram obtidas duas frações e a fração dialisável foi analisada por CG/MS onde foram identificados os voláteis furfural, 2-furanmetanol, acetilfurano, 5-metilfurfural, trimetilpirazina e 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona, compostos estes também encontrados no presente trabalho.

Fadel e Farouk (2002) aqueceram uma mistura de alanina com maltose a 130°C durante 90 minutos e extraíram os compostos voláteis por *headspace* através da técnica SPME (*solid phase micro extraction*). Após analisados por CG/MS, os autores identificaram os seguintes compostos: furfural, acetilfurano, metilfurfural, furanmetanol e 2-hidroxi-3-

metilciclopent-2-en-1-ona. Estes compostos também foram identificados nos caramelos analisados na presente pesquisa.

Em um trabalho realizado por Kitts e outros (2006), a sacarose foi aquecida a 180ºC por 90 minutos. Os voláteis foram extraídos por éter etílico e identificados por cromatografia à gás acoplada a um espectrômetro de massas. Dentre os compostos identificados pelo autor o 2-furfural, 5 metilfurfural e o 2-furanmetanol também foram encontrados nos dois corantes analisados no presente trabalho.

Porte, Rezende e Antunes (2007) produziram reações de aminoácidos com glicose durante 12 horas a 100ºC, sob agitação e refluxo constantes em quatro diferentes valores de pH. Os produtos foram extraídos com clorofórmio e analisados por CG/EM. Dentre os compostos identificados a 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona, 2-acetil-5 metilfurano, furanmetanol, metilpirazina, furfural, 2-3 dimetilpirazina e trimetilpirazina também estiveram presentes neste trabalho.

Os principais grupos químicos dos compostos identificados comparativamente nos corantes foram os derivados furanos , pirazinas e lactonas.

Furanos são compostos heterocíclicos , de baixo ponto de ebulição (31ºC) e incluem funções como aldeídos, cetonas, alcoóis, ésteres, ácidos e tióis. Estão presentes em um grande número de alimentos processados termicamente (CREWS;CASTLE,2007; DE MARIA;MOREIRA;TRUGO,1999). Sucos de frutas ,nestas condições de processamento, contém níveis desse composto numa faixa entre 2 até 31 ng/g, desde que o suco de frutas possua altas quantidades de açúcares livres e ácido ascórbico. Pirólise de carboidratos e ácido ascórbico a altas temperaturas (300 ºC) resulta na formação de furanos (FAN, HUANG, SOKORAI, 2008; YAYLAYAN, 2006).

A degradação térmica e rearranjo de carboidratos é encontrada em reações de escurecimento não enzimático (Maillard) durante o processamento e cozimento. Furanos substituídos são produtos familiares da reação de Maillard. Até mesmo em misturas de simples componentes um grande número de compostos furânicos são formados. Pequenas moléculas, como ácido furóico e o furfural são, sem dúvida, parte da rota do furano, o maior precursor químico. Furfural é um produto comum em escurecimento e outras reações (CREWS; CASTLE, 2007).

O 2-hidroximetil-furano ou 2-furanmetanol estão associados ao amargor e ao odor de queimado identificados no café submetido a torrefação drástica. Outros derivados de furanos também são encontrados no café , como o furfural (55-70 mg/kg) , o 2-acetil-furano (6-12 mg/Kg) e as furanonas (DE MARIA;MOREIRA;TRUGO,1999).

Dentre os compostos identificados no corante caramelo Classe IV, para as duas marcas analisadas, foram encontradas três pirazinas: metilpirazina ;2,3 dimetilpirazina e trimetilpirazina. As pirazinas estão entre os principais compostos nitrogenados obtidos a

partir da reação de Maillard (HWANG; HARTMAN; HO, 1995). Elas estão presentes em licor de chocolate, batata frita, amendoim e cevada torrados, café, bife grelhado e diversos outros alimentos submetidos ao aquecimento (ALVES MOREIRA, TRUGO, De MARIA, 2000; PORTE; REZENDE; ANTUNES, 2007). Esses compostos voláteis são característicos de alimentos submetidos a tratamento térmico. No café, o conteúdo de alquil-pirazinas é proporcional ao grau de torrefação. Deste grupo destacam-se as metil e dimetilpirazinas, na ordem de 60-80 mg de metil-pirazina e 3,0-4,5 mg de 2,3-dimetilpirazina por kg de café torrado. (DE MARIA;MOREIRA;TRUGO,1999).

As lactonas possuem um limiar perceptível de odor muito baixo, em torno de 0,1 ppm e possuem alto impacto flavorizante. As lactonas são formadas com equilíbrio químico entre ésteres e seus correspondentes ácidos. As lactonas estão presentes em produtos lácteos, produtos animais e vegetais, e outros tais como: maracujá, abacaxi, morango, tomate, cacau, café, chá, pães, cerveja e vinho (FISCHER; SCOTT, 1997). Alguns compostos são conhecidos como agentes flavorizantes pela semelhança aromática que possuem com produtos conhecidos, tais como: metil-pirazina (cacau); furfural (amêndoas/canela); furanmetanol (queimado); 5-metil-2,(3H)furanona (herbáceo/tabaco); 2-acetilfurano (café);2,3-dimetilpirazina (cacau); trimetilpirazina (batata assada); 2-hidroxi-3-metilciclopent-2-en-1-ona (maple/alcaçuz) (JECFA,2009).

Considerando que não existe nenhuma especificação nacional ou internacional sobre os voláteis do corante caramelo e a identificação neste trabalho de compostos com características flavorizantes, seria recomendável que as indústrias de refrigerantes incluíssem esta análise no controle de qualidade para não comprometer o sabor da bebida final .

6. CONCLUSÕES

Dos resultados do presente estudo com corante caramelo Classe IV, fornecidos pelos dois principais fabricantes que atendem as indústrias brasileiras de refrigerantes, pode-se concluir que:

- O corante da marca B apresentou valor de pH superior ao da marca A ($3,1 > 2,7$);
- O corante da marca B apresentou valor de sólidos ($^{\circ}\text{Brix}$) superior ao da marca A ($54,5 > 53,7$);
- Os corantes A e B apresentaram o mesmo valor de cor (0,26);
- Os corantes A e B apresentaram o mesmo valor de Índice de Hue (4,02);
- Os valores encontrados de pH, sólidos, cor e índice de Hue nos corantes A e B estão dentro da especificação internacional do JECFA;
- No corante da marca A foram encontrados três compostos voláteis a mais que o corante da marca B, que foram identificados como 2-ciclohexenona; 2,3,5-trimetillfurano e 3-metil - 2,5 – furandiona;
- Foram identificados 15 compostos voláteis no corante caramelo A e 12 compostos voláteis no corante caramelo B;
- A comparação das porcentagens de área relativas entre os corantes mostra maior participação do 2-acetil-furano no corante A e do furfural no corante B;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**, 16. ed. Washington, 1995. Ch. 44 .p.2.

ABIR (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES). **Mercado de refrigerantes**. Disponível em: <<http://www.abir.org.br/downloads/2008/pt1.pdf>> Acesso em jun. 2011.

ABRANTES, S., AMORIM, J. R., OLIVEIRA, S. M., BASTOS, P. A., NERY, V. V. C., BAZILIO, F. S. Avaliação de corantes artificiais em bebidas não alcoólicas e não gaseificadas. **Revista Analytica**, n.27, p. 30-33, 2007.

ALLEN, R. **A fórmula secreta**. Rio de Janeiro: editora objetiva, 1994. p.1-24

ALVES MOREIRA, R. P.; TRUGO, L.C.; De MARIA, C.A.B. Componentes voláteis do café torrado. Parte II: Compostos aliáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, v.23, n.2, p. 195-203, 2000.

BARNABÉ, D.; SALATA, C. C.; VENTURINI FILHO, W. G. Refrigerantes. In: VENTURINI FILHO. **Tecnologia de Bebidas**: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado, São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p.141-167.

BARUFALDI, R., OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. v.3, p.153-190.

BILLAUD, C., ADRIAN, J. Louis-Camille Maillard, 1878-1936. **Food Review International**, v. 19, n.4, p.345-374, 2003.

BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003. p.23-32.

BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. **Introdução à química dos alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 1992. p.51-80.

BRASIL. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego. D.O.U., Brasília, 28 de outubro de 1997.

BRASIL. **RDC nº 5, de 15 de janeiro de 2007**. Aprova o Regulamento Técnico sobre “Atribuição de aditivos e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 16.2:Bebidas Não Alcoólicas,Subcategoria 16.2.2:Bebidas Não Alcoólicas Gaseificadas e Não Gaseificadas. D.O.U., Brasília, 17 de janeiro de 2007.

BRASIL. **Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009**. Bebidas: normas sobre padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização - regulamentação. D.O.U., Brasília, 14 de junho de 2009.

BRENNNA, O.V.; CEPPI, E.L.M.; GIOVANELLI, G. Antioxidant capacity of some caramel-containing soft drinks. **Food Chemistry**, v.115, p.119-123, 2009.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. 2 ed. São Paulo: Editora Unicamp, 2003. p.107-111.

- CHAPPEL, C. I.; HOWELL, J. C. Caramel colours: a historical introduction. **Food and Chemistry Toxicology**, v.30, n.5, p.351-357, 1992.
- CREWS, C.; CASTLE, L.A. Review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, n.18, p.365-372, 2007.
- CUNNINGHAM, M.; DORÉE, C. Contribution to the chemistry of caramel. Part I. Caramelan. **Journal of the Chemical Society**, v.111, p.589-608, 1917.
- DEFAYE,J.;FERNANDÉZ,J.M.G. Protomic and thermal activation of sucrose and the oligosaccharide composition of caramel. **Carbohydrate Research**, v.256, p.C1-C4, 1994.
- DE MARIA,C.A.B.;MOREIRA,R.F.A.;TRUGO,L.C. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: compostos heterocíclicos. **Química Nova**, v.22, n.2, p.209-217, 1999.
- DIEHL, H. A. Physics of color. In: Socaciú, C. (ed). **Food colorants: chemical and functional properties**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 3-20.
- DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science and Technology**, v.35, p.5-22, 2000.
- EVANGELISTA, J. **Alimentos: um estudo abrangente**. São Paulo: Atheneu, 2000. p.3-27.
- FADEL, H.H.M.; FAROUK, A. Caramelization of maltose solution in presence of alanine. **Amino Acids**, v.22, p.199-213, 2002.
- FAN, X.; HUANG, L.; SOKORAI, K. J. B. Factors Affecting thermally induced furan formation. **Journal Agricultural and food chemistry**, n. 56, p. 9490-9494, 2008.
- FARIA, J. P. F. **Manual de produção de guaraná**. Cuiabá: Sebrae. 2000. p.81-82 (série natureza e negócios, n. 3).
- FEATHER, M.S. Dicarbonyl sugar derivates and their role in the Maillard reaction. In **Thermally Generated Flavors: Maillard, Microwave, and Extrusion Processes**. Washington: American Chemical Society, 1992, p.127-141.
- FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 1025-1030.
- FETZER, W.R. Analysis of caramel color. **Industrial & Engineering Chemistry**, v.10, p.349-353, 1938.
- FISHER, C.; SCOTT, T. R. **Food Flavours: Biology and Chemistry**. Cambridge: RSC,1997, p.18.
- FOOD CHEMICAL CODEX (FCC). National Academy of Science. 3.ed. Washington: Academy Press 1981, p.59.
- GOMES, J. C. **Legislação de alimentos e bebidas**. Viçosa: Editora UFV, 2007. p.307-344.
- GREENSHIEDS, R. N.; MACGILLIVRAY, A. W. Caramel – Part 1. The browning reactions. **Process Biochemistry**, n. 12, p. 11-13, 16, 1972.
- GRISSOM, J. Caramel. **Journal of the Franklin Institute**, v.27, p.116-118, 1839.

- GUNTHER, E. The nature of sucrose caramel. **Journal of the American Chemistry Society**, v.58, p.600-601, 1936.
- HALL, R. The growth and development of carbonated soft drinks. In: MITCHELL, A. J. **Formulation and production of carbonated soft drinks**, Glasgow: Blackie, 1990. p.5-13.
- HEATH, H.B.; REINECCIUS, G. **Flavor Chemistry and Technology**. Connecticut: The AVI Publishing Company, Inc., 1986. p.71-92.
- HENMAN, A. **O guaraná**. 2 ed. São Paulo: Global editora, 1982, p. 13-18. (cadernos de vida natural).
- HO, C.T. Thermal generation of Maillard aromas. In: **The Maillard reaction: consequences for the chemical and life sciences**, Ed. Raphael Ikan, 1996, p.27-53.
- HWANG, H.I.; HARTMAN, T.G.; HO, C.T. Relative reactivities of amino acids in pyrazine formation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.43, n.1, p.179-184, 1995.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, p. 18, 19, 27, 112.
- JACOBS, M.B. **Manufacture and analysis of carbonated beverages**. New York: Chemical Publishing CO. 1959.
- JECFA (JOINT EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES) **Caramel Colours**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=800>> Acesso em jul. 2008.
- JECFA (JOINT EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES) **Specifications for Flavourings**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-flav/search.html>> Acesso em Nov. 2009.
- KAMUF, W., NIXON A., PARKER, O. Caramel Color. In: LAURO, G.J.; FRANCIS, F.J. (eds). **Natural foods Colorants**. New York: Marcel Dekker. 2000. p.253-272.
- KAMUF, W., NIXON, A.; PARKER, O.; BARNUM JR., G. C. Overview of Caramel colors. **Cereal Foods World**, v. 48, n. 2, p.64-69, 2003.
- KITTS,D.D.;WU,C.H.;KOPEC,A.NAGASAWA,T.Chemistry and genotoxicity of caramelized sucrose.**Molecular Nutrition & Food Research**,v.50,p.1180-1190,2006.
- KROH, L. W. Caramelisation in foods and beverages. **Food Chemistry**, v. 54, p. 373,1994.
- LICHT, B. H.; SHAW, K.; SMITH, C.; MENDOZA, M.; ORR, J.; MYERS, D. V. Characterization of caramel colour IV. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 30, n. 5, p. 365-373, 1992.
- LINNER, R.T. **Caramel coloring**: a new method of determining its color hue and tinctorial power. Annual Meeting of society of soft drink technologists. Washington D.C. 1970 (Boletim 571).
- LORENZ, S. S. **Sateré-Mawé**: os filhos do guaraná. São Paulo: Centro de Trabalho Indígena. 1992. p. 39-65. (coleção Projetos I).

McWEERY,D.J.; KNOWLES, M.E.; HEARNE, J.F. The chemistry of non-enzymic browning foods and its control by sulphites. **Journal of the Science and Agriculture**, v.25, p.735-745, 1974.

MONTEIRO, M. Y. **Antropogeografia do guaraná**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), 1965. p. 11-20.

MYERS, D.V.; HOWELL, J.C. Characterization and specifications of caramel colours: an overview. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 30, n. 5, p. 359-363, 1992.

NAMIKI, M. Chemistry of Maillard reaction: recent studies on the browning reaction mechanism and the development of antioxidants and mutagens. **Advances in Food Research**, v.32, p.115-150, 1998.

PECK, F. W. Caramel color: its properties and its uses. **Food Engineering**, v.27, p.94-99, 1955.

PINTEA, A.M. Food colorants derived from natural sources by processing. In: Socaciu, C. (ed) **Food colorants: chemical and functional properties**. Boca Raton: CRC Press. 2008. p. 336-340.

PORTE, A. REZENDE, C.M.; ANTUNES, O.A.C. Produção de voláteis via sistema modelo de Maillard usando glucose e l-aminoácidos sob diferentes condições de pH. **Revista universidade Rural. Série Ciencias Exatas e da Terra**, v.26, p.12-32, 2007.

PONS, I.; GARRAULT,C.;JAUBERT,J.N.;MOREL,J.; FENYO, J.C. Analysis of aromatic caramel. **Food Chemistry**, v.39, p.311-320, 1991.

RILEY, J. J. **A history of the american soft drink industry**. Washington: Bottled Carbonated Beverages. 1958.

SASSINE, A. ; MOURA, S. C.; LEO, V. M. M.; BUSTILLOS, J. O. V. Cypermethrin residues determination in the milk of lactating dairy cow by gas chromatography - Ion Trap mass spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 28, n. 4, p. 238-241, 2004.

SCARPELLINO, R.; SOUKUP, R.J. Key flavors from heat reactions of food ingredients. In: ACREE, T.E.; TERANISHI, R. Eds. **Flavor Science: Sensible principles and techniques**. ACS: Washington, DC, 1993, p.309-335.

STRATEN, M. V. **Guarana: the energy seeds and herbs of the Amazon rainforest**. Inglaterra: The C.W. Daniel company limited, 1994. p.40-61.

TOMASIK, P.; PALANSINSKI, M.; WIEJAK, S. The thermal decomposition of carbohydrates. Part I. The decomposition of mono-,di-,ando ligo-saccharides. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v.47, p.203-278, 1989.

TOMPSETT, A. Product formulation. In: ASHURST, P.R. Ed. **Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices**. Sheffield: CRC Press, 1998, p.55-70.

TOCCHINI, R.P.; NISIDA, A. L. A. C. **Industrialização de refrigerantes**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), 1995. p. 23-29 (manual).

TRUHAUT,R.;VITTE,G.;LASSALLE-SAINT-JEAN,V.Étude bibliographique du caramel. **Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux**,v.101,p.97-120,1962

WALTER, E. **Manual for the essence industry**. Detroit: The continental press, 1916. p. 106-202

WALTER, R.H.; FAGERSON, I.S. Volatile compounds from heated glucose. **Journal of Food Science**, v.33, p.295-297, 1968.

WOLFORD, R. W.; ALBERDING, G. E.; ATTAWAY, J. A. Analysis of recovered natural orange essence by gas chromatography. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.10, n.4, p.297-301, 1962.

WOODROOF, J.P.; PHILLIPS, G. F. Growth history of carbonated beverages. *In: WOODROOF, J.P.; PHILLIPS, G. F. **Beverages: carbonated and noncarbonated***, Westport: The AVI publishing company, INC., 1974. p.1-39.

YAYLAYAN, V.A.; KAMINSKY, E. Isolation and structural analysis of Maillard polymers: caramel and melanoidin formation in glycine/glucose model system. **Food Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 25-31, 1998.

YAYLAYAN, V.A. Precursors, formation and determination of furan in food. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, n.1, p.5-9, 2006.

ZENKEVICH, I. G.; PIMENOV, A. I.; SOKOLOVA, L. I.; MAKAROV V. G. Caramel standardization with respect to 5-hydroxymethylfurfural. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 36, n. 1, p. 50-53, 2002.