

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CAMPUS SERTÃO
BACHARELADO EM AGROINDÚSTRIA**

MARIA GESSICA CARVALHO DE OLIVEIRA

**QUANTIFICAÇÃO DO BENZOATO DE SÓDIO EM POLPAS DE FRUTAS
COMERCIALIZADAS EM SERGIPE**

Nossa Senhora da Glória/SE

2024

MARIA GESSICA CARVALHO DE OLIVEIRA

**QUANTIFICAÇÃO DO BENZOATO DE SÓDIO EM POLPAS DE FRUTAS
COMERCIALIZADAS EM SERGIPE**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Departamento de Agroindústria do Campus do Sertão da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Agroindústria.

Orientadora: Profa. Dra. Lília Calheiros de Oliveira Barretto

Nossa Senhora da Glória/SE

2024

MARIA GESSICA CARVALHO DE OLIVEIRA

**QUANTIFICAÇÃO DO BENZOATO DE SÓDIO EM POLPAS DE FRUTAS
COMERCIALIZADAS EM SERGIPE**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao Departamento de Agroindústria do Campus do Sertão da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Agroindústria. Defendido em 01 de outubro de 2024 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Lília Calheiros de Oliveira Barretto – Dra. – UFS – Orientadora

Prof. Dr. Fábio de Melo Resende – Dr. – UFS

M.Sc. Gerson Barbosa Guedes – Me. – UFS

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao Dono dos meus dias, Deus, por tudo que fizeste por mim; és imensurável.

À minha mãe, Maria de Fátima, sou grata pelo esforço e incentivo que sempre me ofereceste. Mesmo com seu jeitinho estressado, obrigada por tudo; eu a amo profundamente.

Aos meus irmãos, Gê, Baby e Vivi, a quem chamo carinhosamente, agradeço por todo o apoio. Vocês são fundamentais na minha vida.

Ao meu noivo, que me motiva a ser uma versão melhor de mim mesma a cada dia e traz calma aos meus dias difíceis.

Aos meus amigos, que sempre torceram e torcem por mim. Embora não mencione nomes, eles sabem quem são.

Aos meus colegas de curso, pelas memórias que criamos juntos e pelo suporte ao longo de toda a trajetória acadêmica.

À minha orientadora, professora Dra. Lília Calheiros de Oliveira Barretto, muito obrigada por me ensinar mais do que poderias imaginar.

A todos do Departamento de Química do Campus São Cristóvão, em especial à Profa. Dra. Lisiane Freitas e a Thauane Mayara, que contribuíram nas conduções das análises cromatográficas.

A todos os professores do Campus do Sertão, especialmente aos do curso de Agroindústria, agradeço por compartilharem uma das coisas mais preciosas da vida: o conhecimento.

RESUMO

No universo dos alimentos processados existem diversas preocupações quanto aos possíveis riscos à saúde causados pelos aditivos alimentares. No entanto, esses aditivos são essenciais para manter a qualidade e a segurança dos alimentos, pois auxiliam na preservação dos produtos por mais tempo, impedindo o crescimento de microrganismos (deteriorantes e patógenos) e prevenindo reações químicas indesejadas. Entre os aditivos mais utilizados na indústria de alimentos está o benzoato de sódio, um conservante amplamente empregado na indústria de bebidas, incluindo produtos derivados de frutas, como sucos, polpas e néctares. O benzoato de sódio é o sal do ácido benzoico, com propriedades antibacterianas e antifúngicas, sendo normalmente encontrado na forma de pó. Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) teve como objetivo determinar a quantidade de benzoato de sódio em polpas de frutas de caju, cupuaçu e umbu comercializadas no mercado do estado de Sergipe, comparando os resultados com os limites estabelecidos pela legislação brasileira. A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi utilizada para identificar e quantificar o conservante nas amostras. A análise foi realizada em um sistema de solvente isocrático composto por acetato de sódio e tampão de ácido acético (pH = 4,5) com acetonitrila, na proporção de 80:20 (v/v), a 30°C. Os níveis de benzoato de sódio encontrados estavam dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira, com a maior concentração de 910 mg/kg na polpa de cupuaçu (marca A), respeitando o limite de 1000 mg/kg. Os resultados demonstraram conformidade com os padrões internacionais, indicando que as indústrias seguem as normas vigentes, contribuindo para a segurança alimentar. É importante destacar que o excesso ou a exposição contínua ao benzoato pode representar riscos à saúde. O consumo elevado desse aditivo está associado a reações alérgicas, como urticária e asma. Além disso, quando exposto a ambientes ácidos, o benzoato pode converter-se em benzeno, uma substância carcinogênica. Por isso, é relevante que os consumidores busquem conhecimento sobre a importância de um consumo moderado de alimentos que contenham esse conservante em suas formulações.

Palavras-chave: Aditivos alimentares; Benzoato de sódio; Segurança de Alimentos; Cromatografia; Controle de Qualidade.

ABSTRACT

In the realm of processed foods, there are numerous concerns regarding the potential health risks posed by food additives. However, these additives are crucial for maintaining the quality and safety of foods, as they help extend the shelf life of products by preventing the growth of microorganisms (both spoilage and pathogenic) and avoiding unwanted chemical reactions. Among the most commonly used additives in the food industry is sodium benzoate, a widely used preservative in the beverage industry, including fruit-based products such as juices, pulps, and nectars. Sodium benzoate is the salt of benzoic acid, with antibacterial and antifungal properties, typically found in powder form. This undergraduate thesis aimed to determine the amount of sodium benzoate in cashew, cupuaçu, and umbu fruit pulps sold in the market of the state of Sergipe, comparing the results with the limits established by Brazilian regulations. The technique of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used to identify and quantify the preservative in the samples. The analysis was carried out using an isocratic solvent system composed of sodium acetate and acetic acid buffer (pH = 4.5) with acetonitrile in a ratio of 80:20 (v/v), at 30°C. The levels of sodium benzoate found were within the limits allowed by Brazilian legislation, with the highest concentration of 910 mg/kg in cupuaçu pulp (brand A), complying with the limit of 1000 mg/kg. The results were consistent with international standards, indicating that industries comply with current regulations, contributing to food safety. It is important to highlight that excessive or prolonged exposure to sodium benzoate may pose health risks. High consumption of this additive is associated with allergic reactions, including hives and asthma. Moreover, when exposed to acidic environments, benzoate can convert into benzene, a carcinogenic substance. Therefore, it is essential for consumers to be aware of the importance of moderate consumption of foods containing this preservative.

Keywords: Food additives; Sodium benzoate; Food safety; Chromatography; Quality control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura 3D do benzoato de sódio.....	10
Figura 2 – Esquema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Áreas de pico obtidas das amostras escolhidas.....	19
Tabela 2 – Área e concentração final do benzoato de sódio nas polpas analisadas.....	21

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1– Curva analítica da solução padrão de benzoato de sódio.....	20
Gráfico 2– Comparação da concentração do benzoato entre as polpas de frutas com os padrões limites	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CL – Cromatografia Líquida

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

FAO – *Food and Agriculture Organization*

FDA – Federal Drug Administration

GRAS – Geralmente Reconhecida como Seguro

HPLC – *High-Performance Liquid Chromatography*

IDA – Ingestão Diária Aceitável

IN – Instrução Normativa

INS – Sistema Internacional de Numeração

mL – Mililitro

OMS – Organização Mundial da Saúde

pH – Potencial Hidrogeniônico

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

Ppm – Parte por Milhão

TDHA – Transtorno do déficit de atenção com hiperatividade

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

UPLC – Cromatografia líquida de alta performance

LC-MS – Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas

DAD – Detector de arranjo linear

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 Aditivos na Indústria	9
2.2 Benzoato de Sódio	10
2.3 Riscos Toxicológicos do Benzoato de Sódio	11
2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	13
2.5 Quantificação de Benzoato de Sódio por CLAE	14
2 OBJETIVOS	16
3.1 Objetivo Geral	16
3.2 Objetivos Específicos	16
4. METODOLOGIA	17
4.1 Amostras	17
4.2 Reagentes	17
4.3 Método Analítico para Quantificação do Benzoato de Sódio	17
4.3.1 Sistema HPLC:	17
4.3.2. Preparação da Fase Móvel: a.	18
4.3.3. Preparação da Solução Padrão de Benzoato de sódio:	18
4.3.4 Preparação da Solução Amostra:	18
4.3.5 Quantificação:	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	19
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking mundial de produção de frutas, oferecendo uma variedade de frutas tropicais, subtropicais e temperadas (Silva; Abud, 2017). As frutas são perecíveis e possui facilidade em deteriorar, com isso a opção de polpa de frutas torna-se uma preferência uma vez que o crescimento do consumo e comercialização de polpas de frutas segue aumentando consideravelmente a cada ano. A fim de impedir ações de microrganismos na deterioração das polpas e prolongar a vida útil do produto, o uso do aditivo alimentares é uma realidade nas indústrias.

Os aditivos alimentares são substâncias adicionadas aos alimentos para manter o sabor, melhorar a consistência e prolongar o tempo de conservação. Eles podem ser naturais ou sintéticos e são regulamentados por leis que seguem as diretrizes do *Codex Alimentarius* (Tomaska, 2014).

A busca por alimentos que sejam atrativos, nutritivos e saborosos tem sido constante desde o início do desenvolvimento de produção de alimentos e bebidas processados (Sloan, 2004). Os alimentos industrializados facilitam a vida dos consumidores, especialmente aqueles que busca economizar tempo. Com a ajuda da tecnologia de alimentos e dos aditivos, os produtos têm uma vida útil mais longa, além de sabores, aromas e texturas atrativos. No entanto, o uso excessivo ou inadequado desses aditivos pode trazer consequências negativas para a saúde (Jaques, 2020).

O *Codex Alimentarius* estabelece regras para a seleção e uso seguro dos aditivos alimentares, garantindo a saúde dos consumidores e facilitando o comércio internacional de alimentos. Essas regras incluem especificações técnicas, limites máximos de uso, boas práticas de fabricação e outras orientações importantes. O *Codex* trabalha com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) para avaliar riscos e definir padrões internacionais (Codex Alimentarius, 2019).

Em 2023, a Anvisa publicou a RDC n° 778, de 1° de março de 2023, que unifica as regulamentações sobre aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia permitidos para uso em alimentos. O objetivo dessa unificação é simplificar a identificação das substâncias permitidas e suas condições de uso, tanto para os reguladores quanto para as autoridades de fiscalização (Brasil, 2023). A IN n° 211, de 1° de março de 2023, define as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso dos aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados (Brasil, 2023).

Vale destacar que a utilização de aditivos pela indústria alimentícia tem sido alvo de intensos debates e pesquisas. Enquanto alguns aditivos são considerados seguros e até benéficos, outros são criticados pelo potencial de causar reações adversas em indivíduos sensíveis. Além disso, a conscientização e exigências por parte dos consumidores sobre os ingredientes dos alimentos tem aumentado. Há uma demanda crescente por produtos com menos aditivos artificiais, o que tem incentivado a indústria a buscar alternativas mais naturais e a transparência nas rotulagens.

O benzoato de sódio é um aditivo alimentar, possui sua função de conservação, ele é um sal de sódio derivado do ácido benzoico. Conhecido como E211, facilmente dissolvido em água, não tem cheiro e usado como conservante em alimentos. Suas propriedades antifúngicas e antibacterianas impedem o crescimento de bactérias, fungos e leveduras (Davidson; Sofos; Branen, 2021).

O benzoato de sódio é considerado seguro para a saúde humana se consumido em quantidades menores que 5 mg por kg de peso corporal por dia. Esse valor é conhecido como Ingestão Diária Aceitável (IDA) e representa a quantidade que uma pessoa pode consumir diariamente ao longo da vida sem sofrer danos à saúde (Walczak-Nowicka; Herbet, 2022).

A educação alimentar desempenha um papel importante na escolha consciente dos produtos consumidos. Informar a população sobre os tipos e funções dos aditivos, bem como seus efeitos potenciais, contribui para uma alimentação mais saudável e equilibrada.

Neste contexto, este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) propôs quantificar os níveis de benzoato de sódio em polpas de frutas comercializadas no estado de Sergipe, utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aditivos na Indústria

Os aditivos alimentares são substâncias adicionadas intencionalmente aos alimentos com o objetivo de aprimorar suas características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais durante o processo de fabricação, visando prolongar sua vida útil (BRASIL, 2024). Esses aditivos são amplamente utilizados na conservação dos alimentos, sendo especialmente comuns em sucos industrializados (Cruz; Pinto; Almeida, 2012).

Embora os aditivos não possuam valor nutritivo, desempenham um papel crucial na preservação e na melhoria da qualidade dos alimentos processados. Sua utilização é regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelece na RDC 740/2022 as permissões, quantidades máximas e condições de uso para cada categoria de alimento. A principal função dos aditivos é a preservação, pois eles previnem ou retardam as alterações nos alimentos causadas por microrganismos ou reações bioquímicas de degradação (Randhawa; Bahanas, 2009).

Com os novos avanços na indústria alimentícia, há um investimento crescente em processos inovadores que garantam a segurança e a durabilidade dos produtos no mercado (Polônio; Peres, 2009). Quando métodos físicos de conservação, como refrigeração, secagem e aquecimento, não são viáveis, o uso de aditivos químicos pode ser necessário. Muitos desses aditivos são complementares e, em alguns casos, essenciais para atender às demandas do mercado (Saltmarsh, 2013). Contudo, é recomendável adotar um consumo consciente desses aditivos (Aun et al., 2011).

Esses aditivos alimentares são destinados a fins tecnológicos em produtos alimentícios, trazendo benefícios apenas quando não é possível usar métodos mais seguros. Nem todos os alimentos e bebidas podem conter qualquer tipo de aditivo, e as quantidades aplicadas não são uniformes para todos os aditivos. Além disso, os níveis não devem exceder os valores de Ingestão Diária Aceitável (IDA), conforme estipulado pela toxicologia. A aplicação também deve seguir os padrões de pureza estabelecidos pelo FDA e pelo *Food Chemicals Codex* (Rego; Vialta; Madi, 2020).

Atualmente, a indústria de bebidas desempenha um papel fundamental em atender às necessidades dos consumidores, oferecendo uma ampla variedade de produtos, incluindo bebidas refrescantes e agradáveis ao paladar. A indústria continua a evoluir, adaptando-se às preferências e exigências dos consumidores. Nesse cenário em constante mudança, os aditivos

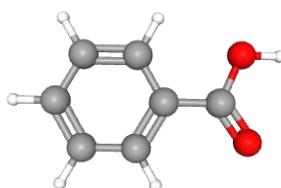
são fundamentais para assegurar a qualidade, segurança e durabilidade desses produtos, tornando-se um componente crítico para o sucesso da indústria. Pois sem eles, muitos produtos não atenderiam aos padrões atuais de consumo e qualidade, impactando diretamente o sucesso da indústria.

Diversas tecnologias industriais estão disponíveis no mercado para preservação de derivados de frutas como sucos e polpas. A pasteurização, por exemplo, é um dos métodos mais comuns, e envolve o aquecimento do alimento seguido por um resfriamento rápido, de forma a reduzir sua carga microbiana e inativar enzimas. No entanto, esse processo pode afetar o valor nutricional (vitamina C). Para minimizar a perda de nutrientes e atender à demanda por produção em larga escala de sucos e polpas de frutas, o uso de conservantes químicos ainda é uma realidade. Além disso, muitos sucos e néctares prontos para consumo são estabilizados com aditivos específicos, mesmo com a pasteurização garantindo sua qualidade e prolongando sua vida útil (Aziz, 2023).

2.2 Benzoato de Sódio

O benzoato de sódio ($C_7H_5O_2Na$; Figura 1) é um aditivo alimentar identificado como conservante (INS 211). Suas propriedades são nomeadas como sal sódico do ácido benzoico, manifesta-se na forma de um pó praticamente sem odor, apresentando um sabor levemente adocicado (Conservante Bayer, 1993). Sua fácil solubilidade favorece sua utilização nas indústrias.

Figura 1. Estrutura tridimensional do benzoato de sódio.



Fonte: PubChem, (2023).

O benzoato de sódio é um dos agentes bacteriostáticos e fungicidas mais usados no ramo de alimentos e bebidas. De modo geral é aplicado nas indústrias por sua eficácia e fácil manipulação. É usado como conservante de alimentos em margarinas, molhos, marmeladas, gelatinas, licores e principalmente em sucos de frutas e refrigerantes (Guilhermino, 2014).

O benzoato de sódio foi primeiro entre os aditivos conservantes químicos a receber aprovação para uso em alimentos pela FDA (*Food and Drug Administration*) (Jay, 2005).

Apresenta-se naturalmente em pequenas quantidades em amoras e ameixas (Who, 2000). Sua atividade microbiana acontece entre o pH de 2,5 a 4,0, sendo o ácido benzoico (com $pK_a = 4,2$) apropriado para alimentos e bebidas naturalmente ácidos.

De acordo com Oga (2003), o benzoato de sódio é considerado um conservante seguro em produtos alimentícios por muitos anos. Todavia entre as dúvidas, incerteza e a segurança, a *Codex Alimentarius* sugere que o uso diário seja menor que as quantidades mencionadas na literatura científica, mesmo apresentando segurança e baixo teor de toxicidade. Em bebidas ácidas, por exemplo, o benzoato de sódio atua na forma de ácido benzoico, que é um ácido orgânico fraco e não apresenta implicações tóxicas na concentração recomendada, sendo considerado uma substância GRAS (*Generally Recognized as safe*, em inglês; Geralmente Reconhecida como Segura, em português) (Chiple, 1993). O monitoramento dos teores de benzoato de sódio em alimentos industrializados é de suma importância, contribui para o controle de qualidade dos produtos, a fim de que sejam evitadas práticas inadequadas que comprometam a efetividade do regulamento da saúde ocasionando riscos aos consumidores e irregularidade no cumprimento das legislações.

Seguindo a recomendação estabelecida pelo *Codex Alimentarius*, a legislação brasileira permite o uso do benzoato de sódio em sucos, néctares, polpas de fruta, sucos tropicais e água de coco no limite máximo de 1000 mg/kg ou 1000 mg/L, sendo este limite expresso como ácido benzoico para os aditivos INS 210, 211, 212 e 213, sozinhos ou combinados. Destaca-se que, no caso de produtos concentrados ou desidratados (suco concentrado, suco desidratado, água de coco concentrada e água de coco desidratada), deverá ser observado o fator de diluição para o suco reconstituído e para a água de coco reconstituída (BRASIL, 2023).

2.3 Riscos Toxicológicos do Benzoato de Sódio

O uso inadequado de aditivos alimentares, especialmente em quantidades excessivas, pode acarretar sérios riscos toxicológicos à saúde. Ferreira (2015) destaca que, devido às suas diversas funções, os aditivos químicos têm sido incorporados de forma precoce e em grandes quantidades na alimentação, resultando em problemas de saúde significativos tanto a curto quanto a longo prazo, especialmente para crianças, que são os principais consumidores desses produtos e por serem mais sensíveis. A indústria frequentemente investe na adição desses ingredientes para melhorar as características sensoriais dos alimentos e para torná-los mais atraentes e desejáveis através de estratégias de marketing eficazes.

Albuquerque, Santos e Cerqueira (2012) relatam que certos aditivos podem apresentar efeitos tóxicos se os limites de segurança não forem seguidos, representando riscos particularmente para indivíduos alérgicos. A regulamentação nacional exige apenas a lista de aditivos utilizados na rotulagem, sem exigir a declaração das quantidades empregadas. Isso significa que não há certeza sobre as quantidades efetivamente utilizadas pelas indústrias, uma vez que não há obrigatoriedade de informar nos rótulos a quantidade presentes no alimento (Brito; Andrade, 2022).

Um estudo *in vitro* conduzido por Zengin et al. (2011) mostrou que o benzoato de sódio é uma substância mutagênica, isto é, tóxica para as células e prejudicial ao crescimento dos tecidos, o que reforça a necessidade de monitoramento contínuo por parte dos órgãos regulamentadores. Outros estudos associam o benzoato de sódio a efeitos colaterais em crianças, como hiperatividade (Souza, 2013), e evidenciam correlações entre o benzoato de sódio e Transtorno do Déficit de Atenção (Kilic, 2006; Arnold, 2012; Beezhold, 2014).

É importante destacar que as crianças são particularmente suscetíveis a reações adversas provocadas pelo uso de aditivos alimentares. Assim, é fundamental considerar não apenas a frequência de consumo desses aditivos, mas também o excesso em relação aos limites estabelecidos por peso (Polônio; Peres, 2009).

Além dos riscos mencionados, o benzoato de sódio pode ter impactos adversos na saúde metabólica. Pesquisas sugerem que a exposição prolongada ao benzoato de sódio pode afetar a função metabólica e aumentar o risco de condições como obesidade e diabetes tipo 2. Já outras pesquisas laboratoriais mostraram alterações em marcadores metabólicos associados a processos inflamatórios e resistência à insulina (Rogers et al., 2018; Wang et al., 2020).

Outro ponto relevante é a interação do benzoato de sódio com outros aditivos alimentares. A combinação de benzoato de sódio com certos corantes artificiais, como os corantes vermelhos e amarelos, pode resultar na formação de compostos potencialmente mais tóxicos quando expostos a condições de calor e luz. Essas interações podem amplificar os efeitos adversos já associados ao benzoato de sódio e complicar a avaliação dos riscos (Smith *et al.*, 2015; Liu et al., 2017).

Estudos adicionais apontam que exposições ao benzoato de sódio, tanto a curto quanto a longo prazo, podem levar a efeitos adversos, incluindo potenciais riscos cancerígenos e danos ao fígado e rins (Ree; Stoa, 2011; Chua; Teo, 2017). A necessidade de uma regulamentação mais rigorosa e práticas de monitoramento mais eficazes torna-se evidente para garantir um alimento seguro e proteger os consumidores.

2.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), também conhecida como *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), é um método analítico amplamente utilizado para a separação e detecção dos componentes de uma mistura. Este método é fundamental tanto para análises qualitativas quanto quantitativas e é baseado na interação entre duas fases: a fase estacionária e a fase móvel. Ambas as fases desempenham papéis críticos nas interações analíticas e na otimização do tempo de retenção dos compostos (Matumoto; Alcântara, 2014).

Introduzida inicialmente por Stwett no início do século XX, a cromatografia líquida evoluiu significativamente. A técnica utiliza colunas pequenas, com materiais especialmente preparados, e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões. Sua capacidade de realizar separações e análises quantitativas com alta resolução, eficiência e sensibilidade em um curto período a tornou uma ferramenta essencial em muitos laboratórios (Silva, 2012).

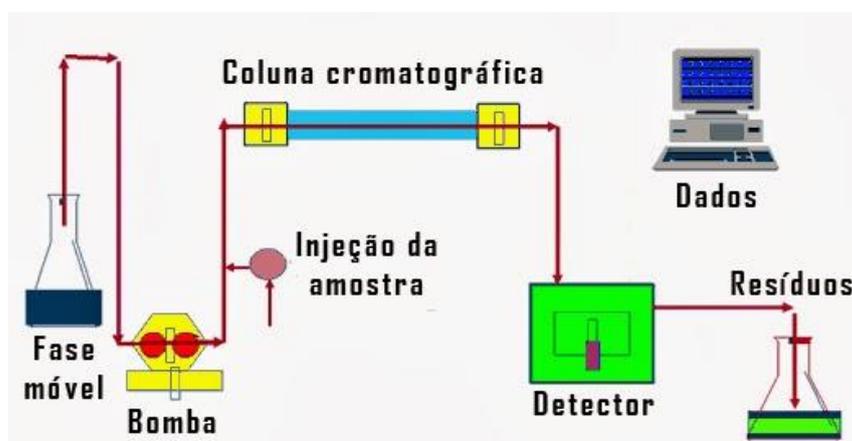
O sistema HPLC é uma tecnologia avançada amplamente empregada em laboratórios de pesquisa e controle de qualidade. A especificidade do HPLC permite análises altamente seletivas, o que é fundamental em áreas como a indústria alimentícia, farmacêutica e química (Gama, 2019). Apesar do alto custo de operação, a CLAE oferece vantagens significativas, como sua flexibilidade, sensibilidade, e a capacidade de realizar separações de moléculas com excelente resolução. A tecnologia é apreciada por sua agilidade e a diversidade de aplicações que possibilita (Maldaner, 2009; Santos et al., 2008).

A aplicação da CLAE é frequentemente associada à análise detalhada e precisa de amostras, incluindo a filtragem e a separação de componentes com grande eficiência. O uso de detectores comuns, como UV-vis, em conjunto com equipamentos de cromatografia, permite a obtenção de resultados rápidos e precisos (Mesquita et al., 2013).

O funcionamento da cromatografia líquida de alta eficiência envolve a separação dos componentes de uma amostra através de duas fases: a fase estacionária e a fase móvel. A fase estacionária está fixa dentro da coluna cromatográfica, enquanto a fase móvel, que é uma solução líquida, passa através da coluna e interage com a fase estacionária para separar os diferentes componentes da amostra. O sistema HPLC é composto pelos seguintes principais componentes: a bomba, responsável por fornecer a pressão necessária para impulsionar a fase móvel; o injetor automático, que minimiza erros e otimiza a repetição das análises; a coluna, onde ocorre a separação das substâncias com o objetivo de identificar e quantificar os componentes da mistura; o detector, que identifica os solutos e envia os dados para o computador; e, por fim, o sistema de descarte, que remove os resíduos (Figura 2).

Recentemente, o desenvolvimento tecnológico na CLAE tem incorporado novas técnicas e avanços, como a cromatografia líquida de alta performance (UPLC) e a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS), ampliando ainda mais suas aplicações e a precisão das análises. Essas inovações têm contribuído para a melhoria contínua da eficiência e sensibilidade dos métodos analíticos, tornando a CLAE uma ferramenta indispensável na análise de compostos em diversas indústrias e pesquisas científicas.

Figura 2. Esquema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



Fonte: Nicésio (2012).

2.5 Quantificação de Benzoato de Sódio por CLAE

Atualmente, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência é um dos métodos analíticos mais utilizados para identificar e quantificar derivados de ácidos benzoicos e benzoatos em alimentos e bebidas. Dada a ampla utilização do ácido benzoico e seus derivados como conservantes na indústria alimentícia, a quantificação desses componentes é essencial para assegurar a qualidade dos produtos e prevenir adulterações ou práticas inadequadas durante a fabricação (Santos, 2012).

De acordo com Lachenmeier et al. (2018), uma pesquisa realizada na Alemanha revelou a presença de benzeno em aproximadamente 94% das amostras de suco de cenoura para bebês analisadas, com uma concentração média de 186 mg/L. Apesar da ausência de uma legislação específica para o teor de benzeno em sucos de hortaliças, há um limite máximo estabelecido para o benzoato de sódio, que é de 1.000 mg/kg ou mg/L. Além disso, um estudo adicional demonstrou que uma mistura contendo 0,35 g/100 mL de sorbato de potássio e 0,075 g/100 mL de benzoato de sódio a 45°C conseguiu inibir o crescimento de *Escherichia coli* O157 em suco de morango (Gurtler et al., 2011).

Aslam et al. (2020) realizaram uma análise de benzoato de sódio em trinta e duas amostras de sucos de frutas, incluindo laranja, manga e abóbora. A pesquisa revelou que o suco de manga da marca Haleeb continha 0,102% de benzoato de sódio, excedendo o limite de 0,1% estabelecido pelos padrões da FDA. Observou-se também que as concentrações de benzoato variavam entre as estações do ano, com o inverno possivelmente contribuindo para o excesso devido à falta de frutas frescas. Por outro lado, os sucos de manga da marca Shezan apresentaram teores de benzoato consistentes entre o inverno (0,092%) e o verão (0,083%), ambos dentro dos limites permitidos.

O uso de aditivos alimentares, como o benzoato de sódio, é amplamente adotado para aprimorar a comercialização de produtos, aumentando sua vida útil e prevenindo a contaminação microbiana, o que garante a segurança alimentar. No presente estudo, é apresentado um método eficaz para a quantificação de benzoato de sódio em diferentes marcas de sucos. O método envolve uma simples diluição da amostra seguida de detecção e determinação por HPLC com detecção UV, proporcionando resultados precisos e confiáveis.

Recentemente, melhorias na tecnologia de HPLC têm permitido uma análise mais detalhada e eficiente desses aditivos. A introdução de técnicas como a cromatografia líquida de ultra alta performance (UPLC) e a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) tem aprimorado mais a precisão das análises e aumentado as possibilidades de detecção de contaminantes e aditivos em alimentos e bebidas. Estes avanços são importantes para assegurar a conformidade com os regulamentos de segurança alimentar e visa atender às crescentes demandas por alimentos seguros.

Além disso, o desenvolvimento contínuo de métodos de análise e a implementação de regulamentações mais rigorosas são essenciais para manter a integridade, segurança dos produtos alimentícios e proteger a saúde dos consumidores. O acompanhamento rigoroso e a avaliação constante dos níveis de aditivos são meio de garantir que os produtos oferecidos no mercado estejam em conformidade considerando os limites estabelecidos e não representem riscos à saúde pública.

2 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Quantificar os teores de benzoato de sódio em polpas de frutas comercializadas em Sergipe e avaliar conformidade com a legislação brasileira.

3.2 Objetivos Específicos

- Selecionar amostras comerciais de polpas de frutas que utilizem benzoato de sódio como conservante em sua formulação.
- Quantificar as concentrações de benzoato de sódio nas amostras selecionadas, utilizando o método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).
- Comparar os resultados obtidos com os limites permitidos pela legislação brasileira.

4. METODOLOGIA

As análises foram desenvolvidas em parceria com o Departamento de Química do Campus São Cristóvão da Universidade Federal de Sergipe. Foram conduzidas análises quantitativas para determinar a concentração de conservante benzoato de sódio em amostras polpas de frutas, como Umbu, Caju, Cupuaçu.

4.1 Amostras

Foram realizadas análises quantitativas para determinar a concentração de conservante benzoato de sódio em 6 amostras de polpas (Caju, Umbu, Cupuaçu) adquiridas em supermercados de Sergipe. Apenas produtos que apresentasse o aditivo, conforme indicado nos rótulos, foram selecionados. As amostras, mantidas congeladas até a análise, foram examinadas em duplicata utilizando o método cromatográfico proposto por Akter *et al.* (2017).

4.2 Reagentes

- Acetonitrila grau HPLC e acetato de sódio (97%) da Merck, Darmstadt, Alemanha;
- Ácido acético glacial e benzoato de sódio anidro da Sigma Chemical Co., Alemanha;
- Água purificada em sistema Master System (modelo MS3000) acoplado a osmose reversa (modelo OS50LXE), ambos da GEHAKAI®.

4.3 Método Analítico para Quantificação do Benzoato de Sódio

4.3.1 Sistema HPLC: o sistema HPLC (Prominence Shimadzu) estava equipado com bomba isocrática, degaseificador, coluna, forno e detector DAD (Detector de Arranjo Linear de Diodos). Vinte microlitros (20 μ L) de amostra foram injetados no injetor. Uma coluna Phenomenex Gemini C18 (5 μ m – Dimensões: 150,0 x 4,6 mm) foi usada para a separação cromatográfica a 30°C. A análise do benzoato de sódio foi conduzida com sistema solvente isocrático utilizando 20% de acetonitrila grau HPLC e 80% de tampão acetato (pH = 4,5). Os cromatogramas foram registrados a 224 nm (considerado um comprimento de ondas adequado para detectar o benzoato de sódio).

4.3.2. Preparação da Fase Móvel: a fase móvel compreendendo 80:20 de tampão acetato e acetonitrila grau HPLC foi preparada usando o método modificado reportado por Pylypiw e Grether (2000). Um (01) mL de ácido acético glacial e 1000 mg de acetato de sódio foram transferidos para um balão volumétrico de 1000 mL contendo cerca de 50 mL de água deionizada, sendo então agitado. Em seguida, água deionizada foi adicionada até obtenção de 1000 mL. 200ml de acetonitrila foram adicionados a 800ml da solução tampão de acetato, bem misturado. Esta solução foi filtrada por sistema de filtração a vácuo por disco de membranas 47mm - 0,2 μ m.

4.3.3. Preparação da Solução Padrão de Benzoato de sódio: para preparar a solução padrão de benzoato de sódio, 50 mg de benzoato de sódio anidro foram pesados e transferidos para um balão volumétrico de 50 mL. Em seguida, foram adicionados 20 mL de acetonitrila a 50%, agitando-se manualmente até que o benzoato estivesse completamente dissolvido. Finalmente, acetonitrila aquosa a 50% foi adicionada até o menisco. A solução foi filtrada através de um filtro de seringa.

4.3.4 Preparação da Solução Amostra: para o preparo das amostras, foi pesado aproximadamente 0,2 g da polpa e dissolvido em 2 mL da mistura 8:2 de tampão acetato e acetonitrila. Em seguida, foi realizada uma diluição na proporção 1:5, sendo diluído 0,2 mL de amostra em 1 mL da mistura 8:2 de tampão acetato e acetonitrila para análise no HPLC. Aproximadamente 1,5 ml da solução foram filtrados com filtro de amostra (tamanho de poro 0,2 μ m) para um tubo Eppendorf. Exatamente 20 μ l desta mistura de amostra foram injetados na coluna de HPLC.

A curva analítica foi preparada a partir da diluição do padrão de 1000 ppm nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 e 50 ppm, utilizando como solvente uma mistura 8:2 de tampão acetato e acetonitrila.

4.3.5 Quantificação: a quantificação das soluções padrão e suas diluições, bem como das amostras foi baseada na comparação das áreas dos picos do padrão e das amostras.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras utilizadas para a análise mencionada apresentaram resultados nas diferentes concentrações de benzoato de sódio (1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 e 50 ppm), conforme mostrado na Tabela 1. A tabela representa a média e o desvio padrão das áreas dos picos obtidos, servindo como base para avaliar a precisão e linearidade do método CLAE.

Tabela 1. Áreas dos picos obtidas das amostras d solução padrão de benzoato de sódio.

C (ppm)	I	II	média	desvio
1	2149	2828	2488,5	480,126
10	817208	731244	774226	60785,4
15	1020569	1082150	1051360	43544,3
20	1374411	1291254	1332833	58800,9
25	1602425	1495161	1548793	75847,1
30	1805369	1848219	1826794	30299,5
40	2399740	2378700	2389220	14877,5
50	2827393	2927322	2877358	70660,5

Legenda: C (ppm) parte por milhão; I e II primeira e segunda análise (duplicatas).

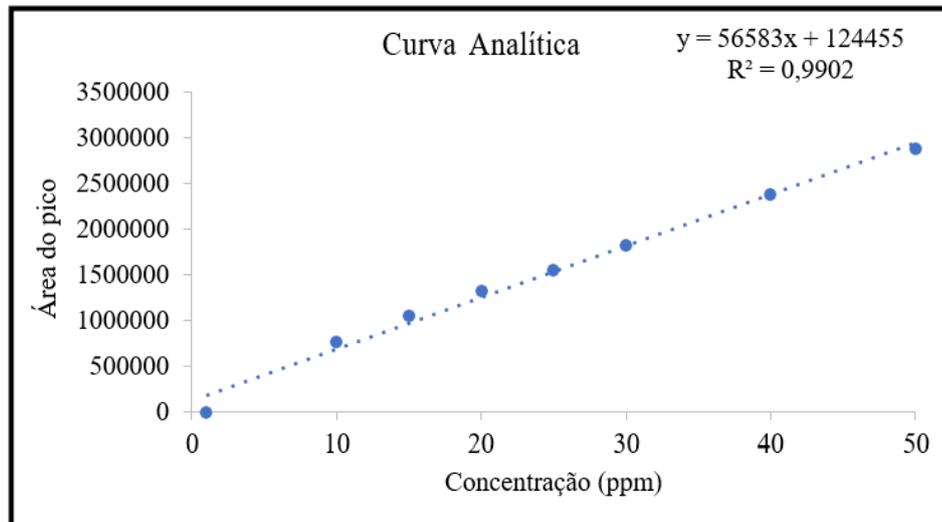
que a maioria dos desvios padrão é relativamente baixa em comparação aos valores médios, demonstrando consistência nas medições entre as repetições I e II para cada concentração. Maior variabilidade foi observada nas concentrações mais baixas, como 1 ppm, e em concentrações intermediárias, como 10 ppm e 25 ppm. Em concentrações mais elevadas, como 40 ppm, o desvio padrão é relativamente baixo, indicando melhor precisão das medições nessas faixas.

Com base nos valores médios obtidos, é possível observar uma relação linear razoável entre a concentração do padrão e a resposta média, o que sugere que o método pode ser utilizado para quantificação dentro desse intervalo de concentrações. A análise indica que o método aplicado para medir as respostas do padrão é eficaz para o controle de qualidade, garantindo resultados precisos na maioria das concentrações, com variações aceitáveis comuns em métodos analíticos como a cromatografia.

A curva analítica de calibração para o benzoato de sódio foi obtida através das áreas das diferentes concentrações, preparadas com os dados da Tabela 1. O Gráfico 1, comunica que a equação possui uma boa linearidade, um excelente fator de regressão ($R^2 = 0,9902$). Desta forma, pode-se afirmar que este modelo de regressão linear é válido, confiável para quantificar o benzoato de sódio nas amostras. A linearidade é a habilidade do procedimento analítico, alcançar resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostra

(Inmetro, 2003).

Gráfico 1. Curva analítica da solução padrão de benzoato de sódio.



A partir das áreas dos picos cromatográficos encontrados foi usada a equação da reta ($y = 56583x + 124455$), obtida a partir da curva de calibração, para determinar a concentração de benzoato de sódio nas amostras. O valor da concentração (eixo x), foi obtido isolando a variável da equação da reta após inserir o valor de (y), área do pico, conforme Equação 1.

$$X = \frac{Y - 124455}{56583} \quad \text{Eq. 1}$$

Para realizar o cálculo de concentração na diluição, usou-se a fórmula descrita na Equação 2:

$$C_i = \frac{V_f \times C_f}{V_i} \quad \text{Eq. 2}$$

onde:

C_i = é a concentração do benzoato de sódio antes da diluição.

V_i = 0,2 mL é o volume inicial da amostra diluída.

C_f = é a concentração obtida a partir da equação da reta.

V_f = 1,0 mL é o volume final após diluição.

A partir da Equação 2, foi possível calcular a concentração do analito em cada amostra. Após o cálculo de diluição, a concentração final na polpa foi determinada em mg/g e convertida

na unidade de mg/kg conforme a Tabela 2, utilizando a fórmula apresentada na Equação 3.

$$\text{Concentração na polpa (mg/g)} = \frac{Ci \times \text{Volume da amostra (L)}}{\text{massa da amostra (g)}} \quad \text{Eq. 3}$$

Tabela 2. Área e concentração final do benzoato de sódio nas polpas analisadas.

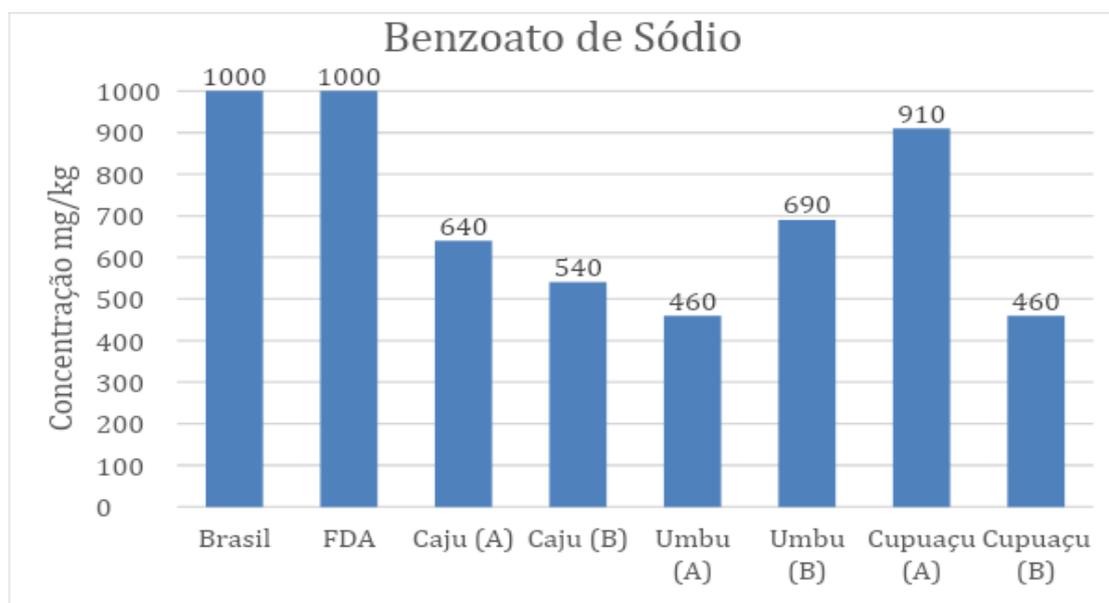
Amostras		
Amostra	Área (Benzoato)	Concentração final (mg/kg)
Caju (A)	896841	640
Caju (B)	965936	540
Umbu (A)	686566	460
Umbu (B)	943048	690
Cupuaçu (A)	1200730	910
Cupuaçu (B)	726127	460

A Tabela 2 sinaliza o comportamento do pico e a concentração final do benzoato de sódio nas polpas analisadas. Os resultados foram obtidos através do cálculo de quantificação mencionado, as concentrações de benzoato de sódio nas polpas apresentou variação entre elas mostrando concentrações entre 460 mg/kg à 910 mg/kg.

As amostras com maiores concentrações de benzoato apresentaram também valores mais altos nas medições de concentração e diluição, indicando uma relação direta entre a concentração e o processo de medição. Por outro lado, as amostras com menores concentrações de benzoato mostraram mais consistência nas medições. Essa variação nos níveis de benzoato pode ser resultado de diferenças nos processos de fabricação, nas marcas ou até mesmo nos tipos de polpas, variações no pH, sugerindo a necessidade de uma análise mais aprofundada para garantir a conformidade com os padrões regulatórios.

O benzoato de sódio foi identificado e quantificado utilizando o método proposto, com confirmação dos picos através de espectrofotometria UV com comprimento de ondas em 224nm. O tempo de retenção das amostras foi comparado com soluções padrão. O Gráfico 2 remete as concentrações de benzoato de sódio nas diferentes marcas de polpas analisados.

Gráfico 2. Comparação da concentração do benzoato de sódio entre as polpas de frutas com os padrões limites.



Diferenças entre as amostras de caju (A) e caju (B) também foram observadas, onde a polpa de caju da marca A apresentou 640 mg/kg, enquanto o caju da marca B teve 540 mg/kg. Já no umbu, a marca A, apresentou 460 mg/kg e a marca B 690 mg/kg. Essas variações podem ser atribuídas a diferenças nos métodos de produção, variações nos processos de produção, armazenamento, preservação e tratamentos, como a pasteurização, condições que afetam a concentração de benzoato de sódio nos produtos. Comparando com os limites recomendados no Brasil de 1% (1000 mg/kg), segue-se dentro dos padrões.

Foi realizado um teste de ANOVA, técnica usada para determinar diferenças estatisticamente significativas entre amostras, com nível de significância de 0,05. Estatisticamente não houve significância entre as amostras estudadas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve como objetivo quantificar os níveis de benzoato de sódio em polpas de frutas comercializadas em Sergipe, comparando os resultados com os limites estabelecidos pela legislação brasileira. A quantificação precisa desse aditivo é essencial para garantir a segurança alimentar e a qualidade dos produtos.

Os resultados indicaram que os níveis de benzoato de sódio estavam dentro dos limites permitidos pela legislação nacional. No entanto, o monitoramento contínuo é crucial para evitar possíveis riscos à saúde decorrentes do uso excessivo de aditivos. Avaliar regularmente a

concentração desses conservantes é vital para assegurar a conformidade com os padrões de segurança.

O método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC/CLAE) provou ser eficiente e forneceu resultados confiáveis. A presença do conservante dentro dos limites estabelecidos reforça a importância de um controle rigoroso para garantir a segurança dos produtos.

É fundamental que os fabricantes respeitem os limites de conservantes estabelecidos e adotem transparência nas rotulagens, além de considerar alternativas mais naturais e seguras para a preservação dos alimentos.

Assim, o controle contínuo não apenas garante a qualidade e segurança dos produtos, mas também protege a saúde pública, prevenindo fraudes e efeitos adversos. Esse controle fortalece a confiança dos consumidores nas marcas que utilizam benzoato de sódio de maneira responsável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKTER, S.; ZUBAIR, A.; KHAN, S. H.; BARI, L.; HUQ, A.; RASHID, M. A. Identification and quantification of sodium benzoate in different brands of mango juices available in Tangail region, Bangladesh. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, v. 20, n. 1, p. 20-26, 2017.

ALBUQUERQUE, M. V.; SANTOS, A. S.; CERQUEIRA, N. T.; SILVA, J. A. Educação alimentar: uma proposta de redução do consumo de aditivos alimentares. *Revista Química Nova na Escola*, v. 34, n. 2, p. 51-57, 2012.

ARNOLD, L. E.; LOFTHOUSE, N.; HURT, E. Artificial food colors and attention-deficit/hyperactivity symptoms: conclusions to dye for. *Neurotherapeutics*, v. 9, n. 3, p. 599-609, 2012.

ASLAM, M.; HAMID, S.; KHALID, S.; KAMRAN, H.; AZHAR, S. Determinação do conservante benzoato de sódio em amostras selecionadas de sucos de frutas e abóboras. *Jornal Asiático de Ciências Aliadas da Saúde (AJAHS)*, v. 2, n. 1, p. 27-32, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.52229/ajahs.v2i1.287>. Acesso em: 6 ago. 2024.

AUN, M. V.; MAFARA, C.; PHILIPPI, J. K.; AGONDI, R. C.; MOTTA, A. A. Aditivos em alimentos. *Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, v. 34, n. 5, p. 177-186, 2011.

AZIZ, A. Preservatives in the beverage industry: balancing freshness and safety. 2023.

BRASIL. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Aprova o regulamento técnico: aditivos alimentares – definições, classificação e emprego. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 28 out. 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 778, de 1º de março de 2023. Dispõe sobre os princípios gerais, as funções tecnológicas e as condições de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em alimentos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/legislacao>.

BEEZHOLD, B. L.; JOHNSTON, C. S.; NOCHTA, K. A. Sodium benzoate-rich beverage

consumption is associated with increased reporting of ADHD symptoms in college students: a pilot investigation. *Journal of Attention Disorders*, v. 18, n. 3, p. 236-241, 2014.

BRITO, A. C. T.; ANDRADE, J. S. Aditivos alimentares: impacto que pode causar na saúde humana. 2022.

CHIPLEY, J. R. Sodium benzoate and benzoic acid. In: DAVIDSON, P. M.; BRANEN, A. L. *Antimicrobials in Foods*. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 11-48.

CODEX ALIMENTARIUS – Normas Internacionales De Los Alimentos. *Norma General Para Los Aditivos Alimentarios Codex Stan 192-1995*. 2019.

Conservante Bayer para indústria de gêneros alimentícios. *Boletim Informativo Bayer*, 1993.

CRUZ, B. M. B.; PINTO, G. S.; ALMEIDA, R. A. A. Química e inovação: caminho para a sustentabilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 52., 2012, Recife. Anais... Recife: SBQ, 2012. Disponível em: <https://www.abq.org.br/cbq/2012/trabalhos/10/1570-14723.html>. Acesso em: 21 fev. 2024.

DAVIDSON, P. M.; SOFOS, J. N.; BRANEN, A. L. *Antimicrobials in Food*. 4. ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2021. 720 p.

EFSA - European Food Safety Authority. Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. *EFSA Journal*, v. 1, n. 660, p. 1-54, 2008. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/660>. Acesso em: 6 ago. 2024.

FERREIRA, F. S. Aditivos alimentares e suas reações adversas no consumo infantil. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 13, n. 1, p. 397-407, 2015.

GAMA, R. G. M. Boas práticas para cromatografia líquida de alta eficiência: uma abordagem para o controle de qualidade farmacêutico. Farmanguinhos Instituto de Tecnologias em Fármacos, 2019.

GUILHERMINO, L. M.; CHASIN, A. A. M. Estudo da formação de benzeno em bebidas contendo o conservante benzoato de sódio. *Revista Acadêmica Oswaldo Cruz*, v. 1, n. 1, 2014.

GURTLER, J. B.; BAILEY, R. B.; DAVID, J. G.; HOWARD, Q. Z. Pulsed electric field inactivation of *E. coli* O157 and non-pathogenic surrogate *E. coli* in strawberry juice as influenced by sodium benzoate, potassium sorbate, and citric acid. *Food Control*, v. 22, n. 10, p. 1689-1694, 2011.

HARRY, M. P. JR; GREETHER, M. T. Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbate in foods. *Journal of Chromatography A*, v. 883, n. 1–2, p. 1-10, 2000.

INMETRO (2003) Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos. DOQ-CGCRE– 008, Revisão: 01-MARÇO/2003. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. *Modern Food Microbiology*. Springer, 2005.

JAQUES, A. M. C. A influência dos aditivos alimentares no desenvolvimento de alergias em crianças. *Revista Brasileira de Revisão de Saúde*, v. 4, p. 10185–10195, 2020. DOI: 10.34119/bjhrv3n4-243. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/14855>. Acesso em: 1 maio. 2024.

KILIC, N.; BALKAN, E.; AKGOZ, S.; SEN, N.; DOGRUYOL, H. Comparison of the effectiveness and side-effects of tolterodine and oxybutynin in children with detrusor instability. *International Journal of Urology*, v. 13, p. 105-108, 2006.

KRAEMER, M. V. S. et al. Aditivos alimentares na infância: uma revisão sobre consumo e consequências à saúde. *Revista de Saúde Pública*, v. 56, p. 32, 2022.

LACHENMEIER, D. W.; HELMUT, R.; CONSTANÇA, R.; KERSTIN, S.; TOMÁS, K.

Occurrence of benzene as a heat-induced contaminant of carrot juice for babies in a general survey of beverages. *Food Additives and Contaminants*, v. 25, n. 10, p. 1216-1224, 2008.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. *Química Nova*, v. 32, p. 214-222, 2009.

MATUMOTO, P. Y.; ALCÂNTARA, F. C. Estudos comparativo entre técnicas de cromatografia líquida utilizadas para otimização de metodologia analítica de citrato de sildenafil. *Revista Acadêmica Oswaldo Cruz*, v. 01, n. 02, p. 01-09, 2014.

MESQUITA, P. L.; AFONSO, R. J. C. F.; AQUINO, S. F.; LEITE, G. S. Validação de método de cromatografia líquida para a determinação de sete ácidos graxos voláteis intermediários da digestão anaeróbia. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, p. 295-302, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 45, de 3 de novembro de 2010. Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados para uso segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Brasília, DF.

PubChem. Bethesda: Biblioteca Nacional de Medicina (EUA), Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia, 2024.

RANDHAWA, S.; BAHNA, S. L. Hypersensitivity reactions to food additives. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, v. 9, p. 278-283, 2009.

REE, M.; STOA, E. Determinação simultânea de aspartame, ácido benzóico, cafeína e sacarina em bebidas sem açúcar usando HPLC. *Concordia College Journal of Analytical Chemistry*, v. 1, n. 2, p. 71-77, 2011.

SALTMARSH, M. *Essential Guide to Food Additives*. 4. ed. Cambridge, UK: RSC Publishing, 2013.

Silva, C. E. D. F., & Abud, A. K. D. S. (2017). Tropical fruit pulps: processing, product standardization and main control parameters for quality assurance. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, 1-19.

SLOAN, A. E. Sabores do futuro. *Tecnologia Alimentar*, v. 58, 2004.

TOMASKA, L. D.; BROOKE-TAYLOR, S. *Food Additives: General*. 2014.

WALCZAK-NOWICKA, Ł. J.; HERBET, M. Sodium benzoate - Harmfulness and potential use in therapies for disorders related to the nervous system: A review. *Nutrients*, v. 14, n. 7, p. 1497, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Benzoic Acid and Sodium Benzoate: Concise International Chemical Assessment Document*, v. 26. Geneva, 2000.

ZENGIN, N.; YUZBASIOGLU, D.; UNAL, F.; YILMAZ, S.; AKSOV, H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology*, v. 49, n. 4, p. 763-769, 2011.