



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

DAYANE CRISTINA DE FREITAS AVI

**MÉTODOS ANALÍTICOS ASSOCIADOS AO CONTROLE DE QUALIDADE DE
SUCO DE LARANJA NATURAL**

São Carlos – SP

2023

DAYANE CRISTINA DE FREITAS AVI

**MÉTODOS ANALÍTICOS ASSOCIADOS AO CONTROLE DE QUALIDADE DE
SUCO DE LARANJA NATURAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao Departamento de Química da Universidade
Federal de São Carlos, para obtenção do título
de bacharel em Química Tecnológica.

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira
Filho

São Carlos – SP

2023



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ/CCET

Rod. Washington Luís km 235 - SP-310, s/n - Bairro Monjolinho, São Carlos/SP, CEP
13565-905

Telefone: (16) 33518206 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 3/2023/DQ/CCET

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso

Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)

FOLHA DE APROVAÇÃO

DAYANE CRISTINA DE FREITAS AVI

**"MÉTODOS ANALÍTICOS ASSOCIADOS AO CONTROLE DE QUALIDADE DE
SUCO DE LARANJA NATURAL"**

Trabalho de Conclusão de Curso

Universidade Federal de São Carlos - Campus São Carlos

São Carlos, 30 de março de 2023

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho
Membro da Banca 1	Dr. Herick Macedo Santos
Membro da Banca 2	Me. Dennis da Silva Ferreira

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.035443/2023-54

SEI nº 1203250

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer as duas pessoas que são meus referenciais de força e amor: meus pais, Daniela e Júlio. Muito obrigada por terem abraçado o sonho daquela garotinha que queria a todo custo estudar longe de casa e por terem dado tudo de si para que esse sonho se tornasse possível. A minha querida irmã, Ana Júlia, por todos os abraços, travessuras e momentos em que pudemos aprender uma com a outra. Aos meus avós, primos e tios, especialmente Tia Rita (in memoriam), Tio Pedro, Tia Simone, Tia Patrícia e Tio João por todo suporte, conselhos e torcida para que meu “voo” para longe fosse cheio de boas experiências. Ao meu amor, Leonardo, por ser tão carinhoso, compreensivo e por entender que uma parte de mim sempre estará viva em São Carlos.

A minha amiga de longa data, Gabriela Pizarro, por se fazer presente mesmo distante e comemorar comigo as conquistas mais especiais que já vivi. As minhas amadas peças raras, em especial Marielle, Sofia, Tais, Hilary e Vitória por dividirem tantos momentos especiais dentro e fora da nossa república e por enfrentarem junto comigo todos os perrengues da vida universitária. Aos amigos que a federal me presenteou, em especial Bruna, Mateus, Lucas, Jonathan e João Victor por tornarem as noites em claro menos difíceis e os dias mais divertidos.

A todos os grupos de extensão e organizações que pude fazer parte (Atom Jr., NUJ, Coletivo Quiminas e Equipes de hackathon) e aos que acompanhei de perto (CAQuí e Circo da Ciência) por me deixarem construir boas memórias enquanto me desenvolviam como pessoa e me preparavam para a vida profissional.

A todos os professores e colaboradores da UFSCar, pelos ensinamentos, vivências e “puxões de orelha” que me mostraram a importância de ter comprometimento e dedicação com tudo que fazemos, principalmente com aquilo que amamos. Um agradecimento especial ao Prof. Edenir Rodrigues Pereira Filho, por manter suas portas sempre abertas, por aceitar me orientar nesse presente trabalho e por tornar admirável e acessível o universo da química analítica.

|

A todos os meus amigos de trabalho, em especial Thalita, Giselle e Amanda, por me darem suporte durante minha jornada dupla, por me aconselharem e muitas vezes acreditarem em mim mais do que eu mesma.

A pessoa e profissional que me tornei é resultado de uma trajetória de esforços e dedicação, não só meus, mas de todos que antes citei. Para mim é uma honra ter pessoas tão especiais ao meu lado e é uma honra ainda maior poder ter sido a primeira da família a entrar em uma faculdade pública, especialmente na “Melhor do meu Brasil”! Muito obrigada a todos e obrigada Universidade Federal de São Carlos por tornar real o maior sonho que já tive até agora!

RESUMO

Com o passar dos anos, agências alimentares, governos e a própria população têm buscado consumir e garantir alimentos cada vez mais seguros e nutritivos, que sejam assegurados pelas leis e que atendam às exigências das certificações. Isto porque ter maior qualidade de vida, bem-estar e vitalidade se tornaram objetivos inegociáveis para os consumidores finais. As indústrias de sucos cítricos, especialmente as de suco de laranja, têm utilizado diversas abordagens e métodos analíticos para garantir que: seus processos produtivos atendam às exigências das Boas Práticas de Fabricação (BPF); seu produto final esteja livre de contaminações e para que o suco brasileiro siga sendo destaque no comércio internacional. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo descrever e avaliar, teórica e experimentalmente, dois dos principais métodos de análise, utilizados usualmente na indústria de sucos de laranja, para monitoramento dos indicativos de contaminações química e microbiológica em produtos do tipo NFC (*Not-from-concentrate*). Utilizando-se da titulação iodométrica foi possível monitorar as concentrações dos sanitizantes empregados no processo produtivo, garantindo que estes trabalhassem com concentrações na faixa ótima para um intervalo de confiança de 95%. Já com o método colorimétrico, foi possível determinar a concentração de diacetil presente no suco, constatando uma baixa contaminação microbiológica no produto (com erro experimental também associado a um intervalo de confiança de 95%). As técnicas utilizadas se mostraram eficientes para o controle de qualidade e ambas atendem às necessidades da indústria de frequência de amostragem e precisão de resultados.

Palavras-chave: Indústria. Alimentos. Segurança. Contaminações. Titulação. Diacetil.

ABSTRACT

Over the years, food agencies, governments and the population itself have sought to consume and guarantee increasingly safe and nutritious food, which is guaranteed by law and which meets the requirements of certifications. This is because having a better quality of life, well-being and vitality have become non-negotiable goals for end consumers. The citrus juice industries, especially those of orange juice, have used different approaches and analytical methods to ensure that: their production processes meet the requirements of Good Manufacturing Practices (GMP); its final product is free of contamination and for Brazilian juice to continue to be one of the key players in international trade. Therefore, the present work aimed to describe and evaluate, theoretically and experimentally, two of the main analysis methods, usually employed in the orange juice industry, to monitor chemical and microbiological contamination indicators in NFC-type products (Not- from-concentrate). Using iodometric titration, it was possible to monitor the concentrations of sanitizers used in the production process, ensuring that they worked with concentrations in the optimal range for a 95% confidence interval. With the colorimetric method, it was possible to determine the concentration of diacetyl present in the juice, noting a low microbiological contamination in the product (with experimental error also associated with a confidence interval of 95%). The methods used proved to be efficient for quality control and both meet the needs of the analysis industry with speed of execution and accuracy of results.

Keywords: Industry. Foods. Security. Contaminations. Titration. Diacetyl.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapeamento da estimativa de produção por setor para a safra 2022/23 .	8
Figura 2 - Comparativo da aparência e textura dos sucos do tipo FCOJ e NFC	9
Figura 3 - Fluxograma das etapas do processo de <i>CIP</i>	10
Figura 4 - Tipos de kits para determinação da concentração de ácido peracético ..	16
Figura 5 - Mecanismo proposto para formação do diacetil a partir da sacarose	17
Figura 6 - Determinação dos teores de ácido peracético e agente VX antes (a) e após (b) o ponto de viragem	21
Figura 7 - Coloração dos complexos formados pelo diacetil e os reagentes creatina, hidróxido de potássio e α -naftol nas amostras (a) branco, (b) primeiro destilado obtido do suco e (c) terceiro destilado obtido do suco.....	26
Gráfico 1 - Concentração do agente VX (mg/L) <i>versus</i> horários de monitoramento da produção	24
Gráfico 2 - Concentração do ácido peracético (mg/L) <i>versus</i> horários de monitoramento da produção	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Presença do diacetil em diversos alimentos e bebidas	18
Tabela 2 - Concentrações do agente VX obtidas no monitoramento do processo produtivo do suco NFC.....	22
Tabela 3 - Concentrações de ácido peracético obtidas no monitoramento do processo produtivo do suco NFC.....	23
Tabela 4 - Concentrações das soluções para preparo da curva de calibração do espectrofotômetro	27
Tabela 5 - Concentrações de diacetil obtidas para 5 sucos NFC coletados logo após o processo de pasteurização	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAc e CH_3COOH	Ácido Acético
APA e CH_3COOOH	Ácido Peracético
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CIP	Limpeza com desmontagem mínima (<i>Cleaning in Place</i>)
CO_2	Dióxido de Carbono
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Etanol
$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$	Sulfato de Cério
$\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$	Sulfato de Cério (III)
$\bullet\text{CH}_3$	Radical metil
$\bullet\text{C}=\text{O}$	Radical carbonil
$\bullet\text{C}=\text{O}(\text{CH}_3)$	Radical cetonil
FCOJ	Suco de laranja concentrado (do inglês <i>Frozen Concentrate Orange Juice</i>)
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
H_2SO_4	Ácido Sulfúrico
I_2	Iodo
KI	Iodeto de Potássio
K_2SO_4	Sulfato de Potássio
NFC	Suco de laranja não concentrado (<i>Not-from-concentrate</i>)
O_2	Oxigênio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	13
3	REVISÃO DA LITERATURA	14
	3.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AGENTES SANITIZANTES UTILIZADOS NO <i>CIP</i> E NA LAVAÇÃO DE FRUTAS	14
	3.2 APLICAÇÃO DO MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DIACETIL.....	16
	3.3 APLICAÇÃO DO MODELO ESTATÍSTICO <i>t</i> – STUDENT PARA DETERMINAÇÃO DE ERROS EXPERIMENTAIS	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
	4.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO PERACÉTICO EM SANITIZANTES POR TITULAÇÃO IODOMÉTRICA	20
	4.2 DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE DIACETIL EM SUCOS DE LARANJA NFC	25
5	CONCLUSÃO	28
6	REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

Ter qualidade de vida, bem-estar e vitalidade têm se tornado objetivos cada vez mais comuns aos consumidores finais da indústria alimentícia. Isso porque com o passar dos anos, agências alimentares, governos e a própria população têm buscado garantir e consumir alimentos mais seguros e nutritivos, que sejam assegurados pelas leis de regulamentação e que atendam às exigências das certificações (**CARRIZO, 2005**). Neste contexto, empresas nacionais e globais têm se dedicado a produzir, comercializar e distribuir produtos que estejam livres de contaminações, garantindo alto padrão de qualidade e evitando prejuízos aos compradores.

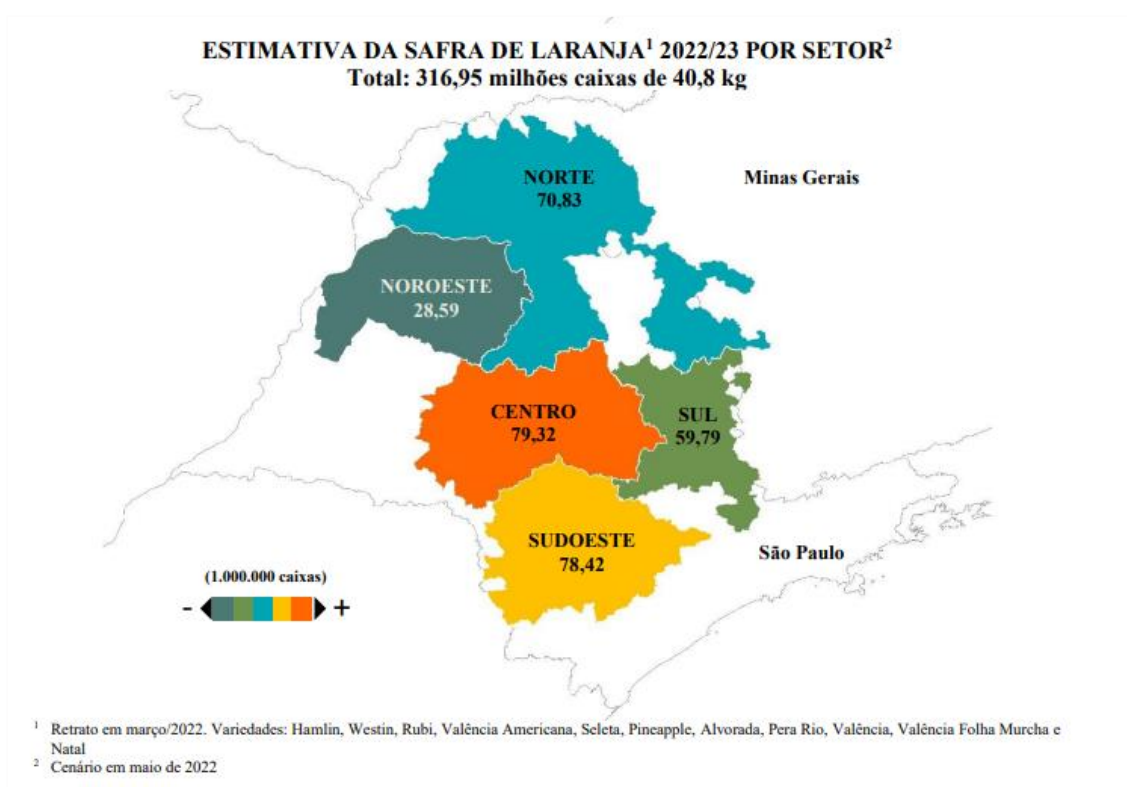
A Cultura da Qualidade associada as Boas Práticas de Fabricação (BPF), abordagens como o APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e constante busca por melhorias das operações, têm sido algumas das estratégias utilizadas pela indústria de sucos cítricos para atender tais exigências (**QUINTINO et al., 2018**).

Tratando de sucos cítricos, o suco de laranja é caracterizado como um produto complexo, formado por uma mistura “aquosa” de diversos componentes como ácidos, açúcares, pigmentos, vitaminas e sais minerais. Nele estão presentes também alguns compostos orgânicos (voláteis e instáveis), responsáveis pelo seu aroma e sabor (**CORRÊA NETO et al., 1999**).

Extraído do fruto da laranjeira (*Citrus sinensis*), esse produto continua sendo destaque no comércio internacional, uma vez que diversos países consomem diariamente o suco que é produzido no Brasil. Apesar de ter registrado uma queda de 23,5% nas exportações do primeiro semestre da safra de 2020/2021, esse setor vem se fortalecendo e investindo em pomares e processos industriais cada vez mais tecnológicos e sustentáveis (**SANTOS et al., 2022**). Segundo o relatório de estimativa de safra 2022/23 divulgado pela Fundecitrus (Figura 1), serão produzidos cerca de 320 milhões de caixas de 40,8 kg (unidade utilizada comumente para venda de laranja à granel). Comparada a safra anterior, isso indica um aumento de 20,5% na quantidade de matéria prima que será fornecida para as indústrias. Chuvas bem mais

distribuídas, temperaturas mais amenas e menor porcentagem de queda prematura de frutos são alguns fatores que favorecem esse cenário.

Figura 1 - Mapeamento da estimativa de produção por setor para a safra 2022/23



Fonte: Fundecitrus, 2022.

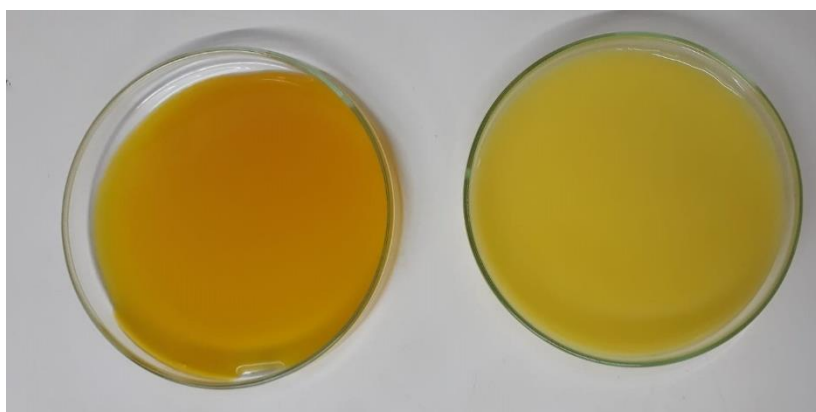
A produção destas milhões de caixas está concentrada majoritariamente no cinturão citrícola, localizado nas regiões que abrangem o triângulo mineiro e interior do estado de São Paulo. Os pomares de laranja, incluindo todas as variedades, sendo elas Hamlin, Westin, Rubi, Natal, Valência, Pera Rio, Folha Murcha e Precoces, representam atualmente 397.529 hectares. O estado de São Paulo vem liderando o ciclo logístico produtivo, e o setor sudoeste, que inclui as regiões de Avaré e Itapetininga, deverão apresentar o maior índice de produtividade do período com 1.107 caixas por hectare (**FUNDECITRUS, 2022**).

Neves et al. (2010) e Patto, Santos e Tavares (2019), constataram que a Europa é o principal destino das exportações do suco brasileiro, representando um mercado bastante tradicional e consolidado. Além deste, Estados Unidos (segundo maior comprador de suco de laranja nacional), Oriente médio (com alto poder aquisitivo e consumidores que culturalmente não consomem bebidas alcoólicas) e

Ásia (com uma grande população) representam mercados potenciais para o fornecimento e consumo de produtos citrícolas.

O suco que é exportado pode ser apresentado para o consumidor de duas formas (Figura 2): FCOJ (*Frozen Concentrate Orange Juice*), que é concentrado e congelado durante o processo produtivo, sendo retirada água até que atinja o equivalente a 66° Brix; e NFC (*Not-from-concentrate*), que é pasteurizado sem a retirada de água. Cada tipo de suco é armazenado de uma maneira, sendo o FCOJ mantido em tanques de inox comuns nas câmaras frias em temperaturas que vão de -10°C a -15°C, enquanto o NFC é estocado em tanques de inox com armazenamento antisséptico, mantido entre 0°C e -1°C (evitando congelamento).

Figura 2 - Comparativo da aparência e textura dos sucos do tipo FCOJ (esquerda) e NFC (direita)



Fonte: Acervo pessoal

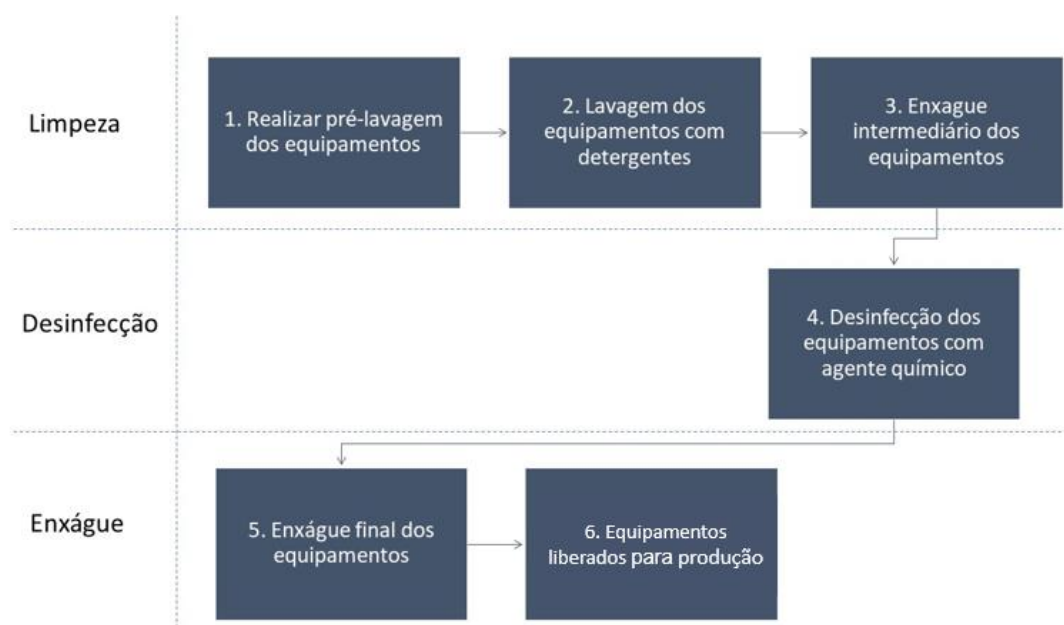
Para sucos do tipo NFC, é imprescindível a realização de uma boa pasteurização e posteriormente uma armazenagem correta, especialmente por este se configurar como um produto perecível e que tem sua conservação diretamente relacionada com a temperatura. A fim de evitar contaminações durante o transporte, também são utilizados tanques e contêineres isotérmicos e refrigerados que mantêm o produto nas temperaturas ideais até que seja descarregado nos terminais de exportação (**SANTOS et al., 2022**).

No que diz respeito as contaminações, estas são classificadas em três categorias: física, química e microbiológica. Configuram-se como riscos físicos: pedras, pedaços de vidro e acrílico, pregos, partículas de metal e qualquer material

sólido que possa causar ferimentos; como risco químico estão desinfetantes, inseticidas, resíduos de produto de limpeza, agrotóxicos e demais componentes químicos que podem ser prejudiciais à saúde; por último, o risco microbiológico abrange microrganismos como bactérias, fungos, vírus e parasitas (BERTI et al., 2016). O controle de qualidade é feito a partir do monitoramento dessas formas de contaminação e demais aspectos gerais relacionados a qualidade do suco. Todos estes fatores são acompanhados constantemente por meio de testes em laboratório e outros métodos especiais.

Nas indústrias, o método CIP (*Cleaning in Place*) equivale a um método de limpeza com desmontagem mínima dos equipamentos e é um dos procedimentos mais utilizados para promover a higienização da planta industrial. Ele garante uma maior segurança operacional além de assegurar elevados níveis de segurança alimentar. Esse processo se dá pela passagem ou circulação dos produtos de limpeza no interior de equipamentos sem a necessidade de desmontagem prévia do maquinário (TAMANINI et al., 2022). No geral, o processo de CIP inclui: pré-lavagem para remoção da sujeira grossa; lavagem da planta com detergente alcalino, ácido ou enzimático; enxagues intermediários para remoção do detergente; aplicação de desinfetante para controle microbiológico e enxague final (Figura 3).

Figura 3 - Fluxograma das etapas do processo de CIP



Fonte: Adaptada, BERTI et al., 2016.

Além do CIP, nas indústrias de sucos de laranja são aplicados desinfetantes e detergentes em baixas concentrações nas mesas de lavagem das frutas para garantir que aquelas que entram para as extratoras estejam devidamente higienizadas. No geral, os detergentes industriais mais utilizados são alcalinos ou ácidos. Os alcalinos são constituídos por hidróxido de sódio em concentrações de 0,5% a 4%, sendo muito eficientes na remoção de gorduras, proteínas e demais compostos orgânicos. Já os ácidos possuem em sua constituição os ácidos fosfórico e nítrico em concentrações de 0,5% a 2%, utilizados para remoção de incrustações inorgânicas **(TAMANINI et al., 2022)**.

O uso de agentes químicos para limpeza industrial é uma ferramenta crucial para diminuição de contaminações, especialmente a microbiológica, contudo, se utilizados indevidamente podem acarretar características organolépticas indesejadas ou mesmo contaminações químicas no produto final. Segundo a *Food Safety Brasil* (2015), existem legislações que definem parâmetros de análises físico-químicas e biológicas, contudo, parece não haver uma legislação específica para análises de resíduos químicos pós processo de higienização.

No que diz respeito aos agentes microbiológicos, os principais responsáveis pela deterioração do suco são microrganismos tolerantes ao meio ácido, como bactérias lácticas (comumente do gênero *Lactobacillus*), leveduras e fungos. No geral estes microrganismos apresentam baixa resistência térmica, de forma que em produtos pasteurizados, sua presença é facilmente evitada **(CORRÊA NETO et al., 1999)**.

Em seus estudos, SANTOS (2016) e CORRÊA NETO (1999) relataram que degradação por bactérias lácticas resulta na produção de gás carbônico (CO₂), ácido láctico e diacetil. Por leveduras (causa mais comum da deterioração dos sucos de frutas) resulta em gás carbônico (CO₂), etanol (C₂H₅OH), α-acetolactato e em alguns casos acetaldeído. Por fungos, a degradação se manifesta pela produção de CO₂. O α-acetolactato (produzido de forma extracelular e essencial para o crescimento do microrganismo) pode sofrer ainda uma oxidação através de um processo lento, não-enzimático e dependente da temperatura, que resulta em uma descarboxilação, gerando o diacetil. A presença deste e dos compostos anteriormente citados pode causar: estufamento da embalagem, floculação, formação de películas que diminuem

a turbidez do suco, odor desagradável e fermentado, além de um sabor “amanteigado” ruim dependendo da concentração de diacetil presente.

Nota-se que a qualidade do suco é diretamente influenciada pela presença ou ausência de certos fatores (químicos, físicos e microbiológicos) que podem comprometer suas características organolépticas (aroma, sabor, cor, consistência) e nutricionais (vitaminas e sais minerais) (**CORRÊA NETO et al., 1999**). Nesse contexto, a química analítica se torna uma aliada fundamental para as indústrias, uma vez que fornece resultados qualitativos e quantitativos confiáveis a respeito dos parâmetros selecionados (**SKOOG, 2009**). Ter métodos eficientes, sejam eles clássicos ou instrumentais, de baixo custo e que atendam a rapidez com que os processos acontecem é essencial para um controle de qualidade eficaz.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo descrever e avaliar, a partir do embasamento teórico e empírico, dois dos principais métodos de análise utilizados pela indústria de sucos de laranja para monitoramento dos indicadores de contaminações químicas e microbiológicas em produtos do tipo NFC (*Not-from-concentrate*).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AGENTES SANITIZANTES UTILIZADOS NO CIP E NA LAVAÇÃO DE FRUTAS

Apesar dos diversos avanços tecnológicos associados aos processos industriais, nos laboratórios de controle de qualidade ainda são bastante utilizados métodos analíticos clássicos para determinação de certos analitos. O método volumétrico, também denominado titulação, é amplamente empregado para determinação da concentração dos agentes sanitizantes. Nele é medido o volume da solução contendo reagente em quantidade suficiente para reagir com todo o analito presente. Para obter o resultado, são utilizados os conceitos de reações químicas, equilíbrio químico e estequiometria. Se empregado corretamente, esse método garante resultados com elevado grau de exatidão e precisão, certas vezes superiores aos métodos instrumentais, embora possa ser mais demorado **(PASSOS, 2011)**.

Com relação aos sanitizantes, ácido peracético (APA) é o agente ativo de uma série de produtos desinfetantes comumente utilizados na indústria de alimentos, na área de assistência à saúde e na área ambiental. Ele se caracteriza como um agente oxidante cujo mecanismo de ação está associado a desnaturação de proteínas, alteração da permeabilidade da parede celular e oxidação das ligações sulfidrilas e sulfurosas em proteínas, enzimas e outros metabólitos **(RUTALA; WEBER, 2008)**.

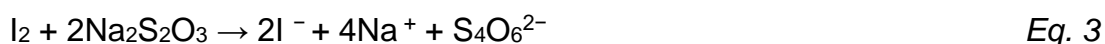
A produção do ácido peracético se dá pela reação entre ácido acético e peróxido de hidrogênio como mostra a equação 1. Por ser uma reação reversível, os reagentes são regenerados pela reação entre os produtos e quando o equilíbrio é atingido há a presença de ambas as espécies em solução **(RODRIGUES, 2018)**.



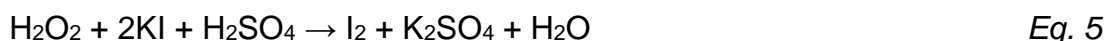
Por esse motivo, comercialmente o APA é apresentado como uma mistura em equilíbrio de ácido peracético, peróxido de hidrogênio, ácido acético e água, podendo conter também alguns estabilizantes e surfactantes associados à formulação **(BARROS, 2019; ECOLAB, 2022)**.

Diversos trabalhos relatam que o APA tem atuação rápida contra vários microrganismos como: bactérias, fungos, vírus e esporos, mesmo em baixas concentrações (<0,3%). Sua desvantagem é que pode ser corrosivo a alguns materiais (como cobre, latão e aço liso) e seu principal risco à saúde humana se dá pela irritação dos olhos, pele e mucosas (sintomas que podem aparecer mesmo após a uma curta exposição) (**BARROS, 2019**).

A determinação do teor de APA é feita a partir de titulações de oxidação-redução também chamadas de titulação redox do tipo: permanganométrica, cerimétrica e iodométrica, muitas vezes combinadas entre si. A abordagem mais comum é a iodométrica e nela o ácido peracético (agente oxidante), oxida o iodeto (agente redutor) a iodo como demonstrado na equação 2. O iodo formado é titulado com uma solução de tiosulfato de sódio na presença de um indicador a base de amido (equação 3), sendo este adicionado por último ao meio reacional próximo ao ponto de equivalência. O ponto final da titulação é dado pelo desaparecimento da coloração azul do complexo amido-iodo (equação 4).



O peróxido de hidrogênio também é um oxidante capaz de oxidar o iodeto a iodo como mostra a equação 5 e por estar presente na solução pode agir como interferente no resultado final da titulação. Por esse motivo, é necessário eliminá-lo antes da determinação do teor de ácido peracético. Comumente isto é feito utilizando-se de uma titulação redox com: sulfato de cério (IV) como agente redutor; solução de ferroína como indicador e íon molibdato como catalisador (equação 6). Essa reação pode ser feita em meio ácido, com concentração de 0,5 mol/L ou superiores, a fim de evitar precipitação do hidróxido de cério (**BARROS, 2019; RODRIGUES, 2018**).



Atualmente podem ser encontrados no mercado kits de análise bastante práticos e com rápido resultado para determinação de vários parâmetros. Especialmente para o ácido peracético, existem dois tipos de kit: o conta-gotas, no qual a concentração do analito é determinada através da quantidade de gotas de titulante gastas até o ponto de viragem; e as fitas teste que se utilizam da comparação da coloração obtida ao mergulhar a fita na solução, com a faixa de cores (características para cada concentração) apresentada na embalagem do teste (Figura 4). A depender do kit, podem ser detectadas concentrações que variam de 0 a 1000 mg/L para o conta-gotas e de 0 a 160 mg/L para o de fitas (RODRIGUES, 2018).

Figura 4 - Tipos de kits para determinação da concentração de ácido peracético



Fonte: Acervo pessoal

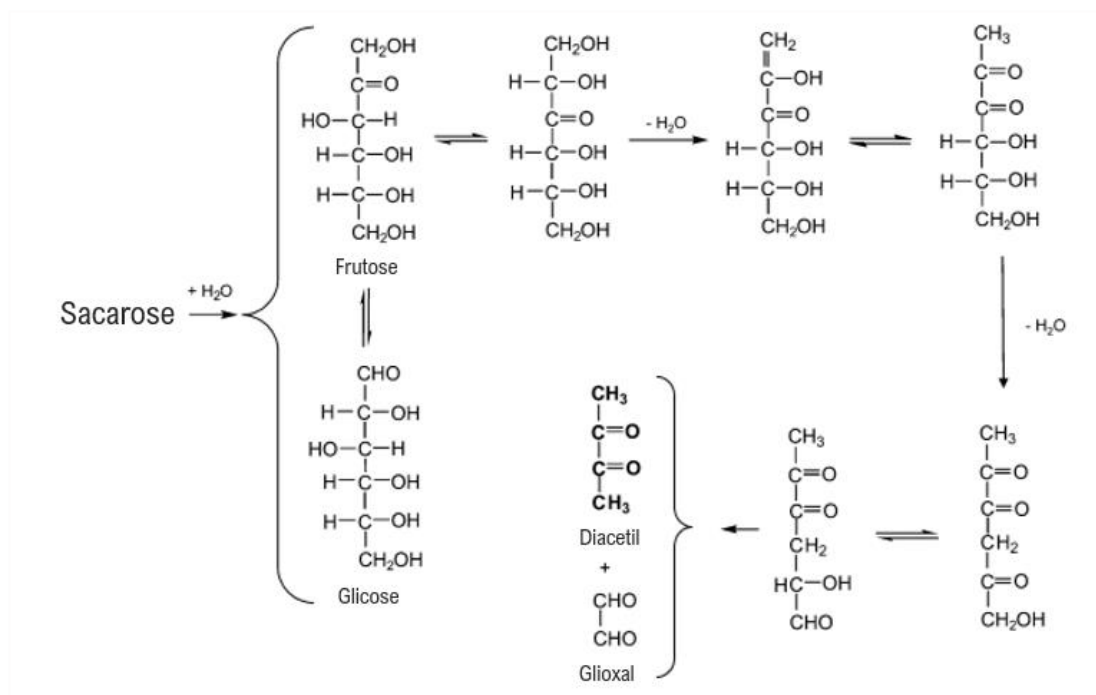
3.2 APLICAÇÃO DO MÉTODO COLORIMÉTRICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DIACETIL

O diacetil é comumente encontrado em muitos alimentos e bebidas, especialmente em produtos lácteos ou oriundos de processos fermentativos. Sua formação se dá a partir da degradação de diversos componentes presentes nos alimentos, incluindo ácidos graxos, triglicerídeos, açúcares, proteínas e aminoácidos (SHIBAMOTO, 2014).

Estudos de Zalán et al. (2011), propuseram a formação do diacetil a partir de duas rotas. A primeira se dá pela tautomerização (em meio ácido ou alcalino) de um açúcar livre, seguida da clivagem de uma ligação cetoenólica que leva à formação do diacetil e do glicoxal (Figura 5). Já a segunda se dá pela formação de radicais (como $\bullet\text{CH}_3$, $\bullet\text{C}=\text{O}$ e $\bullet\text{C}=\text{O}(\text{CH}_3)$) oriundos das moléculas de lipídios ou açúcares, que

reagem entre si podendo formar uma série de compostos, entre eles o diacetil. Isso ocorre quando essas moléculas absorvem altos níveis de energia ao serem submetidas a altas temperaturas, como na pasteurização ou na foto irradiação.

Figura 5 - Mecanismo proposto para formação do diacetil a partir da sacarose



Fonte: Adaptada, SHIBAMOTO, 2014.

Estudos mais recentes relatam que a ação de bactérias lácticas ou de outros microrganismos associados a fermentação também são capazes de gerar esse composto (**SHIBAMOTO, 2014**). As bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Leuconostoc* tem o diacetil como um dos seus metabólitos (**GOMES, 2006**).

A Lei Federal Estadunidense de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos (FDA) inclui o diacetil na listagem GRAS (*Generally Recognized As Safe*), classificando-o como um aditivo seguro. Por conferir sabor “amanteigado” e odor característico aos produtos, ele é amplamente utilizado na produção de manteigas, cervejas e outros alimentos relacionados. Contudo, quando se trata de sucos cítricos, ele se torna um componente indesejável uma vez que sua presença confere características organolépticas desagradáveis aos consumidores (**SHIBAMOTO, 2014; GOMES, 2006**).

A Tabela 1 demonstra alguns dos métodos analíticos mais utilizados para a quantificação dessa substância em alimentos e bebidas.

Tabela 1 - Presença do diacetil em diversos alimentos e bebidas

Amostra	Quantidade	Objetivo da análise	Método analítico
Leite pasteurizado	0,005 – 0,38 µg/g	voláteis	GC-MS, direto
Vinho	0,5 – 10 mg/L	α-dicarbocarbonílicos	Quinoxalina/HPLC-UV, GC-MS
Queijo	4,52 µg/g	ácidos orgânicos, diacetil	HPLC-UV
Suco de laranja	<0,10 µg/g	diacetil	Colorimétrico
Cerveja	0,034 – 0,110 µg/g	diacetil	6-Nitroquinoxalina/HPLC-UV

Fonte: Adaptada, SHIBAMOTO, 2014.

Por ser um composto bastante reativo e solúvel em água, realizar as determinações do diacetil pode ser uma tarefa difícil. Por esse motivo, a maior parte dos métodos se utiliza de um derivado apropriado desse composto para proceder sua determinação quantitativa. A 2,3-dimetilquinoxalina, produto do diacetil com a 2,3-fenilenediamina é um dos derivados mais utilizados na quantificação via HPLC. Ao analisar compostos voláteis por cromatografia a gás, especialmente por GC-MS, é possível identificar o diacetil diretamente, sem a necessidade de derivados (SHIBAMOTO, 2014).

O método colorimétrico, comumente utilizado para o suco de laranja, envolve a formação de um complexo rosa/avermelhado entre o diacetil e um reagente preparado com creatina, hidróxido de potássio e α ou β-naftol. A concentração do diacetil é determinada medindo a intensidade da cor da solução em um espectrofotômetro de absorção UV. Esse método quantifica não somente o diacetil como também compostos como o acetilmetilcarbinol e o 2,3-butileno glicol. Estes compostos também são resultados da ação de microrganismos, sendo que o primeiro também atribui sabor “amanteigado” aos alimentos e o segundo é um metabólito expressivo de bactérias aeróbicas durante o processo de fermentação (SHIBAMOTO, 2014; LABORCLIN, 2018).

Apesar do método colorimétrico ser o menos exato para quantificação do diacetil, ele é um dos mais atrativos justamente por ser de fácil execução e necessitar de equipamentos e técnicas menos robustas para apresentar o resultado desejado. Nota-se, portanto, que esse método é uma ferramenta importante para as indústrias, pois além de prever os aspectos sensoriais do suco também podem indicar possíveis contaminações microbiológicas rapidamente.

3.3 APLICAÇÃO DO MODELO ESTATÍSTICO t – STUDENT PARA DETERMINAÇÃO DE ERROS EXPERIMENTAIS

Utilizar-se de modelos estatísticos (constituídos de um conjunto de ferramentas, descrições e suposições para o tratamento de dados) têm sido de muita utilidade quando se trata de gerar informações relevantes em um número mínimo de experimentações possíveis. Esses modelos, derivados das observações empíricas e de cálculos dos parâmetros estatísticos, são bastante utilizados para caracterizar as relações entre as respostas de diferentes variáveis e estimar com precisão a influência dos fatores estudados.

De modo geral, os dados experimentais estão sujeitos a diversos tipos de observações, medidas e erros. Nota-se, portanto, que os valores de cálculos estatísticos descritivos (que sumarizam o conjunto de dados) e as medidas de dispersão, desvios e variâncias representam ferramentas úteis na interpretação dos mesmos.

Segundo Mainard e Bidoia (2020), para amostragens pequenas (tamanho amostral $n < 30$), é comum o uso da distribuição t de *Student* para inferir estatisticamente a probabilidade da ocorrência de eventos, também chamados de frequências probabilísticas. Esse modelo ajusta o número de observações independentes através do grau de liberdade e com base nele, é possível inferir os limites superior e inferior para o intervalo de precisão.

Associado ao intervalo de precisão está o nível de confiança, cuja amplitude determina a frequência em que o valor de um parâmetro estaria incluso em infinitas repetições hipotéticas. Comumente utiliza-se o intervalo de confiança de 95%

associado ao modelo estatístico, obtendo assim estimativas mais precisas em relação a ocorrência dos eventos e as respostas experimentais.

A equação 7 refere-se ao valor da estatística para aplicação do teste seguindo a distribuição *t* de *Student*.

$$t_{calc} = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}} \quad Eq.7$$

onde, \bar{x} corresponde à média amostral, μ a média populacional, n o número de observações independentes e s ao desvio padrão amostral (**MAINARDI; BIDOIA, 2020**).

A aplicação desse modelo estatístico pode ser feita utilizando-se do programa *Excel*, aplicando as fórmulas disponíveis no *software* juntamente dos conceitos associados a distribuição *t*. O primeiro passo se dá pelo cálculo da média amostral utilizando-se a fórmula =MÉDIA, em seguida calcula-se o desvio padrão associado com a fórmula =DESVPAD. Para uma amostragem pequena ($n < 30$) com um intervalo de confiança de 95%, têm-se a um nível de confiança de 5% e graus de liberdade calculados por $(n - 1)$. O cálculo do valor (t) da distribuição é feito partir da fórmula =INVT aplicando os valores associados ao nível de confiança e graus de liberdade encontrados. Os limites superior e inferior associados a distribuição são calculados pela: média + ou - ($t \times$ desvio padrão / raiz quadrada das observações). Já o erro associado pode ser calculado por: valores do limite (superior ou inferior) menos o valor da média amostral (**SCARPIN, 2013**).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO PERACÉTICO NOS SANITIZANTES POR TITULAÇÃO IODOMÉTRICA

Além do embasamento teórico, também foram considerados neste trabalho os resultados de análise obtidos pelo Laboratório NFC e Processo de uma empresa produtora de sucos de laranja do interior do estado de São Paulo. Na empresa em questão, o sanitizante denominado como agente VX é utilizado para desinfecção das frutas que passam pelas mesas de lavação e em limpezas gerais das tubulações e

estruturas. Sua formulação é composta por: ácido acético (20 – 25%), peróxido de hidrogênio (5 – 10%), ácido peracético estabilizado (1 – 5%), alcanossulfonados secundários (1 – 5%) e ácido octanóico (1 – 5%) **(ECOLAB, 2022)**. A faixa de concentração ótima determinada para sua utilização varia de 800 a 1300 mg/L e está associada ao teor de ácido peracético também presente nesse sanitizante. O monitoramento da concentração geralmente é feito 2 vezes por turno de produção com duração de aproximadamente 8 horas.

Além do agente VX, o ácido peracético é outro sanitizante bastante utilizado por diversos setores da empresa. Especialmente no *CIP*, ele é aplicado a fim de promover a desinfecção das linhas de extração do suco e máquinas relacionadas. A faixa de concentração ótima determinada para sua utilização varia de 250 a 300 mg/L e a verificação desta é feita antes de dar início ao ciclo de limpeza.

Ambas as concentrações são determinadas utilizando-se de um kit conta-gotas fornecido pela distribuidora dos sanitizantes. Os reagentes utilizados para essa análise são: Iodeto de Potássio 10%; Ácido Fosfórico 72,7%, Molibdato de Amônio 7,1% (catalisador), Amido 1,0% (indicador); Tiosulfato de Sódio Pentahidratado 0,1 N (2,482%) para determinar a concentração do VX e Tiosulfato de Sódio Pentahidratado 1,0 N (2,482%) para determinar o teor de APA. As porcentagens apresentadas estão expressas em peso/volume **(ECOLAB, 2022)**.

Para a titulação, adiciona-se em um béquer 20 mL de amostra, 10 gotas de Iodeto de Potássio 10%, 10 gotas de Ácido Fosfórico 72,7%, 5 gotas de catalisador, 5 gotas de indicador amido e a depender do analito utiliza-se a solução de Tiosulfato de Sódio 0,1 N ou 1,0 N até que a coloração marrom-azulada da solução desapareça (Figura 6).

Figura 6 - Determinação dos teores de ácido peracético e agente VX antes (a) e após (b) o ponto de viragem



Fonte: Acervo pessoal

As equações 8 e 9 demonstram como é obtida a concentração de cada sanitizante a partir da quantidade de gotas utilizadas na titulação. O método de cálculo é pré-determinado pela fornecedora dos reagentes. Nota-se que é necessário apenas uma operação de multiplicação para obtenção dos resultados. Isto é relevante justamente por se tratar de um kit de uso rotineiro e que demanda praticidade e rapidez para execução e obtenção dos resultados.

$$[\text{agente VX}] = n^{\circ} \text{ de gotas} \times 30 \quad \text{Eq. 8}$$

$$[\text{ácido peracético}] = n^{\circ} \text{ de gotas} \times 27 \times 0,15 \quad \text{Eq. 9}$$

Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados os resultados obtidos da concentração de cada sanitizante durante um período de 3 dias de produção de suco NFC. Os valores destacados em vermelho indicam concentrações destoantes da faixa ótima de utilização desses agentes. Como medida protetiva às contaminações e desperdício, a empresa estipula em seu plano de amostragem uma correção desta concentração. São alterados (quando possível) os parâmetros de dosagem e vazão dos sanitizantes e, após 30 minutos, uma nova análise é feita. É bastante comum que concentrações próximas aos limites superiores do uso dos desinfetantes não sejam corrigidas, poupando tempo dos colaboradores e analistas envolvidos.

Tabela 2 - Concentrações do agente VX obtidas no monitoramento do processo produtivo do suco NFC

Data	Hora	Nº de gotas	Concentração agente VX (mg/L)	Concentração após correção
7/8/2022	14:30	26	780	1050
7/8/2022	20:00	41	1230	
7/8/2022	23:00	40	1200	
8/8/2022	04:00	41	1230	
8/8/2022	06:10	20	600	1380*
8/8/2022	17:20	27	810	1290
8/8/2022	20:15	61	1830	1260
8/8/2022	23:10	51	1530	930
9/8/2022	03:30	48	1440	900
9/8/2022	06:30	43	1290	
9/8/2022	12:00	32	960	
9/8/2022	15:00	26	780	1080

*Embora destacado em vermelho, esse valor está próximo ao limite superior aceitável, portanto, não houve nova correção.

Fonte: Elaborado pela autora

Tabela 3 - Concentrações de ácido peracético obtidas no monitoramento do processo produtivo do suco NFC

Data	Hora	Nº de gotas	Concentração ácido peracético (mg/L)	Concentração após correção
7/8/2022	16:15	9	306*	
7/8/2022	23:45	8	272	
8/8/2022	06:10	9	306*	
8/8/2022	14:40	7	238	306*
8/8/2022	23:00	8	272	
9/8/2022	07:00	9	306*	
9/8/2022	15:30	8	272	

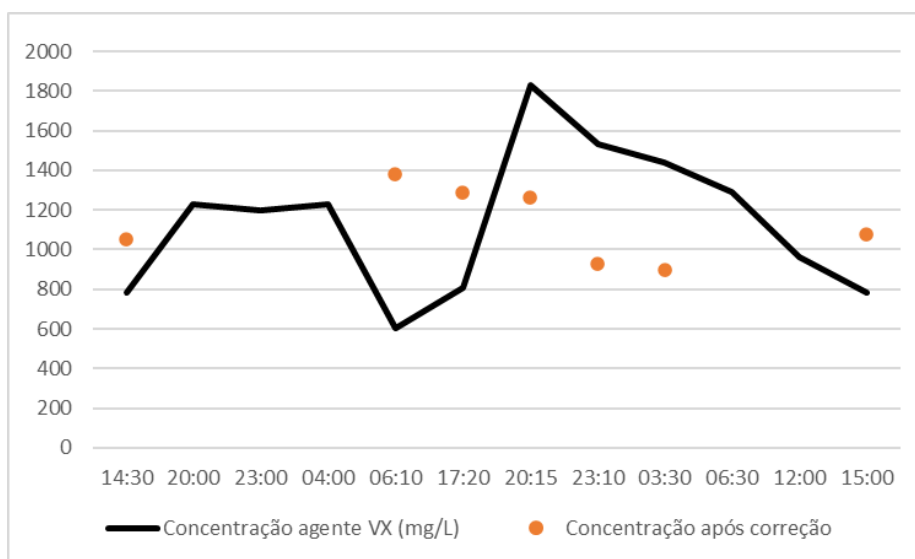
*Embora destacado em vermelho, esse valor está próximo ao limite superior aceitável, portanto, não houve nova correção.

Fonte: Elaborado pela autora

Verifica-se que a concentração do agente VX oscilou mais durante o período, especialmente pelo fato de envolver bombas dosadoras que operam constantemente para seu preparo e distribuição. Além de uma maior amostragem, também se fez necessário um maior número de correções desse sanitizante com intuito de garantir

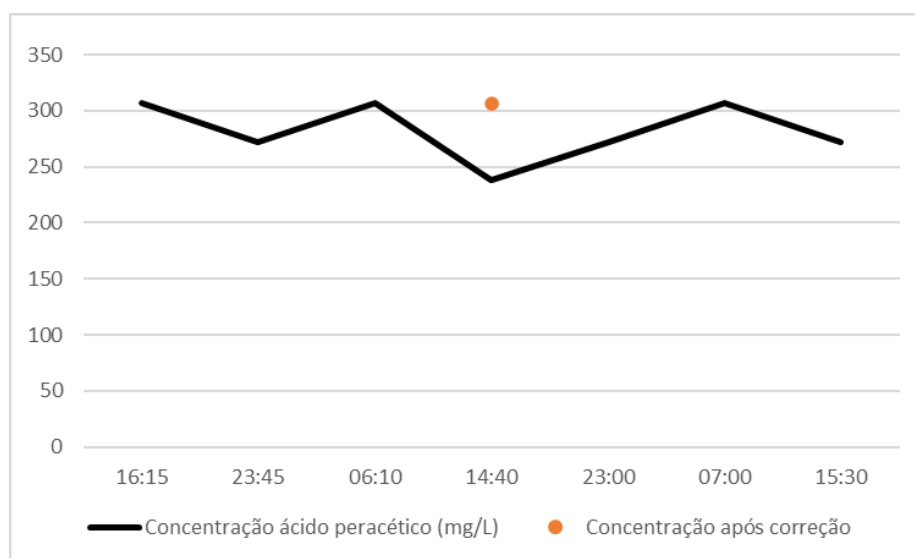
uma desinfecção eficiente das frutas. Já o ácido peracético, por outro lado, demonstrou uma maior constância nos valores de concentração, isto porque ele é preparado em tanque por batelada, com dosagem facilmente ajustável à faixa desejada para uso. Os gráficos 1 e 2 apresentados na sequência indicam o padrão de concentrações obtidas para cada sanitizante.

Gráfico 1 - Concentração do agente VX (mg/L) *versus* horários de monitoramento da produção



Fonte: Elaborado pela autora

Gráfico 2 - Concentração do ácido peracético (mg/L) *versus* horários de monitoramento da produção



Fonte: Elaborado pela autora

A média de concentração do agente VX no período foi de 1135 mg/L e considerando um intervalo de confiança de 95%, têm-se um erro associado de 121 mg/L. Já o ácido peracético apresentou uma média de 285 mg/L, considerando o mesmo intervalo de confiança têm-se um erro de 17 mg/L. Desse modo, verifica-se que o kit de análise se mostrou eficiente no monitoramento das concentrações e de maneira geral os processos de desinfecção foram executados com os agentes expressos dentro das faixas ótimas de ação.

4.2 DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE DIACETIL EM SUCOS DE LARANJA NFC

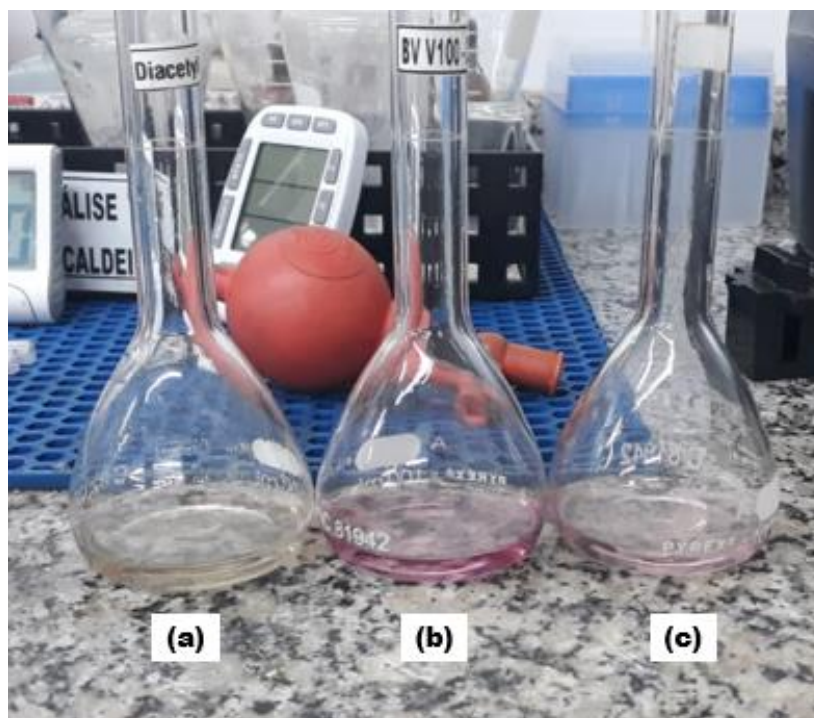
O método colorimétrico para determinação de diacetil foi estudado e adaptado por uma série de autores no decorrer dos últimos anos. O método de Christensen e Pederson (1958) baseado no de Hill et al. (1954) é o que mais se aproxima da adaptação feita pela empresa para proceder com tal experimento.

Inicialmente, são transferidos 300 mL de suco NFC medidos em proveta graduada para um balão de fundo chato próprio para destilação. Com o auxílio de um sistema montado com curva de destilação de 1 prato, manta aquecedora e 3 béqueres para coleta, a amostra é então destilada até que se obtenha 3 frações de 30 mL denominadas como primeiro, segundo e terceiro destilado.

Para realização da análise são utilizadas apenas as frações do primeiro e do terceiro destilado, isto porque o segundo destilado, quando obtido por uma destilação branda, pode conter quantidades significativas de acetilmetilcarbinol. Por ser similar ao diacetil e por poder também ocorrer naturalmente no suco, esse composto se torna um interferente na análise, fazendo-se necessário a correção do resultado.

Das frações 1 e 3 são retiradas cuidadosamente alíquotas de 10 mL, inserindo a pipeta volumétrica calibrada abaixo da superfície do líquido, a fim de evitar interferências dos traços de óleo de casca presente na parte menos densa da amostra (**CHRISTENSEN et al., 1958**). As alíquotas são transferidas para balões volumétricos e posteriormente adicionam-se 5 mL de α -naftol (5%) em álcool isopropílico e 2 mL de hidróxido de potássio (40%) com 0,3% de creatina, agitando vigorosamente a solução obtida por 20 segundos (Figura 7).

Figura 7 - Coloração dos complexos formados pelo diacetil e os reagentes creatina, hidróxido de potássio e α -naftol nas amostras (a) branco, (b) primeiro destilado obtido do suco e (c) terceiro destilado obtido do suco



Fonte: Acervo pessoal.

Verte-se a solução em cubeta de quartzo e mantém-se a mesma em repouso por 60 segundos no interior do equipamento com ausência de luz. Ao final do tempo, realiza-se a medida de absorbância no comprimento de onda de 530 nm, utilizando um espectrofotômetro modelo DR 2800 da marca Hach, previamente zerado com o branco (água destilada e reagentes).

A curva de calibração utilizada no espectrofotômetro é preliminarmente construída utilizando soluções de diacetil em água destilada que vão de 0,0 a 2,0 mg/L, conforme indicado na Tabela 4. Os valores de leitura de cada uma das soluções são obtidos pelo mesmo método de análise das frações destiladas, com o diferencial de preparo de um branco para cada diluição **(BRUSTELLO, 2020)**.

Tabela 4 - Concentrações das soluções para preparo da curva de calibração do espectrofotômetro

Nº Tubo	Volume Solução padrão (10 mg/L)	Volume água destilada	Nova concentração (mg/L)
0	-	10 mL	branco
1	0,1 mL	9,9 mL	0,1
2	0,2 mL	9,8 mL	0,2
3	0,3 mL	9,7 mL	0,3
4	0,4 mL	9,6 mL	0,4
5	0,6 mL	9,4 mL	0,6
6	0,8 mL	9,2 mL	0,8
7	1,0 mL	9,0 mL	1,0
8	1,2 mL	8,8 mL	1,2
9	1,6 mL	8,4 mL	1,6
10	2,0 mL	8,0 mL	2,0

Fonte: Adaptada, BRUSTELLO, 2020.

A concentração do diacetil é determinada pela medida da intensidade da cor da solução obtida. O valor final de diacetil presente no suco, denominado “diacetil corrigido”, é dado pela diferença entre as concentrações obtidas no primeiro e no terceiro destilado.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados da análise de diacetil obtidos de 5 sucos do tipo NFC, coletados logo após a passagem pelo pasteurizador. As primeiras duas coletas referentes aos horários das 15:00 e 23:00 horas do dia 07/08/2022 correspondem a sucos que foram obtidos de frutas com mais tempo de armazenamento e que foram extraídos em uma linha de extração que já apresentava 25 horas trabalhadas (período estipulado entre um processo CIP e outro). A terceira coleta referente às 2:00 horas do dia 09/08/2022 foi feita logo após uma parada de fábrica (momento no qual é feita uma limpeza geral das instalações e equipamentos antes do retorno da produção). As duas últimas foram feitas no decorrer da operação normal de produção do suco.

Tabela 5 - Concentrações de diacetil obtidas para 5 sucos NFC coletados logo após o processo de pasteurização

Data	Hora	Diacetil 1º destilado	Diacetil 3º destilado	Diacetil Corrigido
		Máx. 0,035 mg/L		
7/8/2022	15:00	0,049	0,023	0,026
7/8/2022	23:00	0,025	0,023	0,002
9/8/2022	02:00	0,037	0,035	0,002
9/8/2022	06:00	0,014	0,001	0,013
9/8/2022	15:00	0,025	0,013	0,012

Fonte: Elaborado pela autora

No geral, as concentrações de diacetil corrigido obtidas se mostraram inferiores ao máximo de 0,035 mg/L estipulados pela empresa, demonstrando que não houve indícios de contaminações microbiológicas alarmantes nem a redução evidente das características organolépticas pela presença desse composto. Nota-se que a concentração do diacetil é influenciada diretamente pela quantidade de horas trabalhadas dos equipamentos e pelo tempo de armazenamento das matérias-primas, aumentando proporcionalmente com o aumento desses fatores.

5 CONCLUSÃO

Nota-se que suco de laranja brasileiro é e continuará sendo destaque no comércio nacional e internacional enquanto as indústrias continuarem se dedicando a produzir um produto seguro, de alta qualidade e que não apresente contaminações.

Empregando os métodos analíticos apresentados neste estudo é possível obter resultados satisfatórios no controle de qualidade, pois estes se mostram eficientes para o monitoramento dos indicativos de contaminações químicas e microbiológicas no suco natural de laranja.

Mesmo sendo técnicas analíticas clássicas, elas atendem à necessidade de frequência de amostragem e precisão de resultados, o que reforça a efetividade do controle de qualidade e também contribui para manter o produto dentro das especificações.

6 REFERÊNCIAS

BARROS, A L. **Estudo do ácido peracético utilizado para desinfecção no ambiente hospitalar**. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

BERTI, RC; SANTOS, DC. **Importância do controle de qualidade na indústria alimentícia: prováveis medidas para evitar contaminação por resíduos de limpeza em bebida UHT**. Atas de Ciência da Saúde, vol. 4, nº. 1, pág. 23-38. São Paulo, 2016

CARRIZO, A. **Proposta para integrar os sistemas de gestão da qualidade, das boas práticas de fabricação e da appcc em uma pequena empresa de sucos de frutas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) – Universidade Federal de São Carlos. São Carlos – São Paulo, 2005.

CHRISTENSEN, M. D.; PEDERSON, C. S. **Factors Affecting Diacetyl Production by Lactic Acid Bacteria**. Journal Paper New York State Agricultural Experiment Station, v. 6, n. 5, p. 319–322, Geneva, New York, 1958.

CITRUSBR. **Exportações Brasileiras de Suco de Laranja**. Disponível em: <<https://citrusbr.com/estatisticas/exportacoes/>>. Acesso em: 30 out. 2022.

CORRÊA NETO, R. DA S.; FARIA, J. DE A. F. **Fatores que influem na qualidade do suco de laranja**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 19, n. 1, p. 153–161, jan. 1999.

ECOLAB. **SAFETY DATA SHEET VORTEXX**. Brasil, 2022. Disponível em: <https://assets.pim.ecolab.com/media/Original/10001/CT-Z8-923318-04VORTEXX.PDF?_ga=2.15832182.1537933491.16613501331993140704.1661350133>. Acesso em: 6 jan. 2023.

FERNANDEZ-FLORES, E.; KLINE, D.; JOHNSON, A.; LEBER, H. **Quantitative and Qualitative GLC Analysis of Free Amino Acids in Fruits and Fruit Juices**. Journal of AOAC INTERNATIONAL, v. 53, n. 6, p. 1203–1208, 1 Nov. 1970.

FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura. **Inventário de árvores e estimativa de safra de laranja do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste mineiro.** Araraquara, 2022. Disponível em: <https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/Apresenta%C3%A7%C3%A3o_Estimativa_Safra_Laranja_2022-23.pdf>. Acesso em: 15 ago.2022.

FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura. **Inventário de árvores e estimativa de safra de laranja do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste mineiro.** Araraquara, 2022. Disponível em: https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/2022_07_01_Inventario_e_Estimativa_do_Cinturao_Citricola_2022-2023.pdf>. Acesso em: 17 ago.2022.

GOMES, M. S. **Estudo da Pasteurização de suco de laranja utilizando ultrafiltração.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre – Rio Grande do Sul, 2006.

LABORCLIN. **Alfa Naftol.** Pinhais, 2018. Disponível em: https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/Alfa_Naftol_880101.pdf. Acesso em: 25 nov. 2022.

MAINARDI, P. H.; BIDOIA, E. D. **Modelos estatísticos fatoriais: conceitos e aplicações.** Exatas Online, v. 11, n. 1, p. 32-49, 2020. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/214146>>. Acesso em: 06 jan. 2023.

NEVES, M. F; TROMBIN, V. G.; LOPES, F. F; KALAKI, R; MILAN, P. **O retrato da citricultura brasileira.** São Paulo, 2010.

PASSOS, E. A. **Métodos instrumentais de análise.** Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão – SE. CESAD, 2011. Disponível em: https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/18024916022012Metodos_Instrumentais_de_Analise_-_Aula_01.pdf. Acesso em: 25 nov. 2022.

PATTO, N; SANTOS; E. S.; TAVARES, D. T.; **Exportação do suco de laranja pelo porto de Santos.** São Paulo, 2019.

QUINTINO, S.; RODOLPHO, D. **Um estudo sobre a importância do appcc - análise de perigos e pontos críticos de controle - na indústria de alimentos.** Disponível em:

<<https://revista.fatectq.edu.br/interfacetecnologica/article/view/452/310>>. Acesso em: 20 out. 2022.

RODRIGUES, A. **Desenvolvimento de Métodos de Análise Simples para Otimizar o Doseamento dos Produtos Mistolin em Lavandarias**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) – Universidade de Aveiro. Portugal, 2018.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. **Guideline for disinfection and sterilization in health care facilities**. Atlanta, 2008. Disponível em: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines-H.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2023.

SANTOS, A.; RODRIGUES, G. **Sistema agroindustrial citrícola: Exportação do suco laranja**. Logística e Gestão da Cadeia de Suprimentos na Área Portuária, v. 1, cap. 8, p. 81 - 91. Belo Horizonte - MG. Poisson, 2022.

SANTOS, K. [et al.]. **Produção da enzima alfa-acetolactato descarboxilase por fermentação microbiana: análise da eficiência de etapas de pré- purificação do extrato enzimático**. COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Fortaleza, 2016.

SCARPIN, J. E. **Distribuição *t* de Student – Intervalo de Confiança**. Youtube, 2013. Disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=AscXljl9dKQ&t=530s&ab_channel=JorgeEduardoScarpin. Acesso em: 06 fev. 2023.

SHIBAMOTO, T. **Diacetyl: Occurrence, Analysis, and Toxicity**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 62, n. 18, p. 4048–4053, 25 abr. 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. **Fundamentos de química analítica**. 8 ed. São Paulo: Cengage Learning , 2009. 999 p.

TAMANINI, C; DRUZIAN, G. **O que é o Sistema CIP de limpeza - Portal de Inovação - BTA Aditivos - Add Innovation**. Março, 2022. Disponível em: <<https://www.btaaditivos.com.br/br/blog/o-que-e-o-sistema-cip-de-limpeza/179/>>. Acesso em: 25 nov. 2022.