



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALEGRE DE NASCIMENTO SANTANA CADEADO

DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS E APLICAÇÕES IoT
UTILIZANDO SENSORES ÓTICOS PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM
ALIMENTOS E CONTAMINAÇÃO DE ÁGUA

Tese de Doutorado

UBERLÂNDIA

2024

ALEGRE DE NASCIMENTO SANTANA CADEADO

DESENVOLVIMENTO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS E APLICAÇÕES IoT
UTILIZANDO SENSORES ÓTICOS PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM
ALIMENTOS E CONTAMINAÇÃO DE ÁGUA

Tese de Doutorado defendida no Programa
de Pós-Graduação em Química, no Instituto
de Química da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito final para
obtenção do título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Instrumentação
Analítica

Orientador: Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva

UBERLÂNDIA

2024

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C122	Cadeado, Alegre de Nascimento Santana, 1980-
2024	Desenvolvimento de procedimentos analíticos e aplicações IoT utilizando sensores ópticos para detecção de adulterações em alimentos e contaminação de água [recurso eletrônico] / Alegre de Nascimento Santana Cadeado. - 2024.
<p>Orientador: Sidnei Gonçalves da Silva. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.309 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p>	
<p>1. Química. I. Silva, Sidnei Gonçalves da,1980-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós- graduação em Química. III. Título.</p>	
CDU: 54	

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 51 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 157, PPGQUI				
Data:	Três de abril de dois mil e vinte e quatro	Hora de início:	8h	Hora de encerramento:	12:30h
Matrícula do Discente:	12113QMI012				
Nome do Discente:	Alegre de Nascimento Santana Cadeado				
Título do Trabalho:	“Desenvolvimento de procedimentos analíticos e aplicações IoT utilizando sensores ópticos para detecção de adulterações em alimentos e contaminação de água”				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Instrumentação Analítica e Preparo de Amostras				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	colocar o projeto				
<u>ODS</u> 6	Água potável e saneamento: garantir disponibilidade e manejo sustentável da água e saneamento para todos.				

Reuniu-se, por webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: **João Flávio da Silveira Petrucci**, da Universidade Federal de Uberlândia; **André Luiz dos Santos**, ICENP, Universidade Federal de Uberlândia; **Fabio Rodrigo Piovezani Rocha**, CENA, Universidade de São Paulo-USP; **Wendell Karlos Tomazelli Coltro**, da Universidade Federal de Goiás; e **Sidnei Gonçalves da Silva**, orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, **Dr. Sidnei Gonçalves da Silva**, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Sidnei Gonçalves da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/04/2024, às 12:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Flávio da Silveira Petrucci, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/04/2024, às 12:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andre Luiz dos Santos, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/04/2024, às 12:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fábio Rodrigo Piovezani Rocha, Usuário Externo**, em 03/04/2024, às 12:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wendell Karlos Tomazelli Coltro, Usuário Externo**, em 03/04/2024, às 12:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5186048** e o código CRC **D143AF5A**.

DEDICATÓRIA

Dedico este fruto investigativo para minha amada esposa Ivete Cadeado e para os meus preciosos filhos Hadassah Esperança, Yosef de Nascimento e Pollyanna Benilde, que me têm apoiado de uma forma carinhosa e incondicional, revelando muito amor e compreensão imensurável sobretudo durante esta importante etapa do meu percurso acadêmico.

Aos meus Pais, Paulino Cadeado e Esperança Santana, pela sabedoria que demonstraram durante a orientação e a educação que me deram em todas as fases da minha vida e por terem participado ativamente na formação da minha personalidade.

Às minhas queridas irmãs Pascoalina, Maria de Lurdes, Maria da Graça e Pléxedes, meus cunhados e sobrinhos, que directa e indirectamente contribuíram para esta conquista académica com conselhos, suporte financeiro e material à minha esposa e filhos, durante a minha ausência.

AGRADECIMENTOS

Em primeiríssimo lugar quero agradecer a Deus Vivo, Criador e Redentor, aquele que é Dono de tudo que sou e tudo que tenho. Obrigado Pai celestial, pela força, orientação e sabedoria que tens derramado na minha vida.

Ao Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva, vai o meu especial agradecimento pela forma sábia e inteligente com que conduziu os meus estudos e pela sua presença incondicional tanto no âmbito acadêmico, como no social. Agradeço pela sua compreensão e pela sábia interpretação dos meus anseios, dificuldades e limitações. Acima de tudo sou grato por me ensinar a ser um profissional que hoje sou, que Deus continue abençoando a sua vida.

Os meus agradecimentos são extensivos aos Professores do IQ-UFU, nomeadamente: Rodrigo Alejandro Muñoz, João Flávio Petrucci, Eduardo Mathias Richter, Waldomiro Borges Neto e Anizio Faria pelos ensinamentos e experiências transmitidos durante as aulas e que contribuíram para o meu crescimento científico e profissional.

Agradeço ao Geandre Carvalho e ao Caio Machado pelas experiências transmitidas e apoio prestado nos momentos iniciais do meu doutorado, o que contribuiu bastante na minha rápida adaptação e integração nos trabalhos do grupo de laboratório. E aos demais colegas do Smart – Laboratório de Análise Instrumental: Diogo, Mateus, Yugo, Cecília, Biatriz, Fillipe e Giovana pelas conversas, cada momento de descontração, cada conselho e cada momento que partilhamos.

Agradeço aos colegas e amigos que conquistei durante a formação, na pessoa de Carlos, Nélio, Anastácio, Mateus, Gonçalves, Assumane, Moisés, Ivo, Tassio, Daniel e Calton.

À minha esposa Ivete Pequita Cadeado, filhos Hadassah Esperança, Yosef de Nascimento e Pollyanna Benilde, pelo suporte no alcance desse nível académico. *Ebenezer (1 Samuel 7:12)*

A TODOS, MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS.

EPÍGRAFE

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”

José de Alencar

RESUMO

A prática DIY (*Do It Yourself*) está permitindo a construção de dispositivos analíticos personalizados, acessíveis, portáteis e fáceis de usar, adaptados para várias técnicas analíticas. Para potencializar as capacidades desses dispositivos, a integração de sistemas IoT (*Internet of Things*) permite que os dispositivos tenham conexão com a internet, podendo coletar e transmitir dados em tempo real, facilitando o monitoramento e a análise. Nesta perspectiva, foram construídos três dispositivos, para atender determinações específicas, não só em termos de exigências analíticas, mas também na perspectiva ambiental, obedecendo princípios da química verde. Primeiro foi construído um dispositivo portátil para a determinação colorimétrica de nitrito em águas, baseado no método de *Griess*. Neste trabalho, o sensor RGB APDS 9960 foi empregado como detector e um LED verde ($\lambda=530$ nm) como fonte de luz. Como microcontrolador foi uma placa ESP 32 alimentada por uma bateria de lítio recarregável, e também como roteador para transmissão de dados para o smartphone por Wi-Fi. Os sinais foram monitorados selecionando o canal verde. O procedimento alcançou um limite de detecção de $2 \mu\text{g L}^{-1}$, precisão intradia e interdia de 1,6 e 2,4 %, respectivamente. Comparado com o método UV-VIS, a utilização do LED verde apresentou maior sensibilidade e precisão. O dispositivo proposto tem uma autonomia de 7 h de trabalho, possibilitando assim uma alternativa viável para determinação de nitrito *in situ*. O segundo dispositivo visava determinação de formaldeído em leite, baseando-se na reação de *Hantzsch*, que consiste na reação de formaldeído com acetilacetona para formar 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina (DDL). O método empregou um sensor AS 7341 para fazer medidas simultâneas de refletância e de fluorescência do DDL a 415 nm e 515 nm, respectivamente. O procedimento apresentou alto coeficiente de correlação, limite de detecção de $27 \mu\text{g L}^{-1}$ e precisão de 0,12 % para medida de refletância. Enquanto para fluorescência, o limite de detecção foi de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ e 0,92 % de precisão. Esses resultados garantem confiabilidade e exatidão dessa abordagem, tornando-a uma ferramenta valiosa para a determinação de formaldeído em amostras de leite. Por fim, o terceiro trabalho apresentou um método para a quantificação de glicerol em amostras de vinho, empregando um dispositivo ótico portátil usando sensor AS 7341, como detector. A estratégia química envolveu a oxidação do glicerol usando periodato, seguida pela formação do DDL através da reação com acetilacetona. O procedimento otimizado demonstrou desempenho analítico adequado para a determinação de glicerol em amostras de vinho, apresentou alto coeficiente de correlação ($r = 0,998$), baixos limites de detecção ($0,050 \text{ mg L}^{-1}$) e boa precisão ($RSD = 0,1 \%$). Essas características o tornam adequado não apenas para a análise rotineira de glicerol na indústria do vinho, mas também para enfrentar desafios relacionados à adulteração e a falsificação do vinho. Esses estudos demonstraram a eficácia e versatilidade do uso de sensores de cores para diferentes aplicações analíticas, com vantagens de portabilidade, baixo custo e potencial para integração com tecnologias IoT.

Palavras-chave: Sensores ópticos, DIY, IoT, Nitrito, Formaldeído e Glicerol

ABSTRACT

DIY (*Do It Yourself*) practices have made possible to build personalized, affordable, portable, and easy-to-use analytical devices adapted to various analytical techniques. To improve the capabilities of these devices, IoT (*Internet of Things*) integration is taking place, making the devices internet-connected and able to collect and transmit data in real-time, facilitating remote monitoring and analysis. With this in mind, three devices were built to meet specific requirements regarding analytical demands and, from an environmental perspective, in line with the principle of green chemistry. Firstly, based on the Griess method, a portable device was built for the colorimetric determination of nitrite in water. An APDS 9960 RGB sensor was used as the detector, and a green LED ($\lambda=530$ nm) as the light source. An ESP 32 board powered by a rechargeable lithium battery was used as a microcontroller and a router for transmitting data to the smartphone by Wi-Fi. The signals were monitored by selecting the green channel. The procedure achieved a detection limit of $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, intra-day and inter-day precision of 1.6 and 2.4 %, respectively. The green LED showed greater sensitivity and precision compared to the UV-VIS method. The proposed device has a working autonomy of 7 hours, making it a viable alternative for *in situ* nitrite determination. The second device aimed to determine formaldehyde in milk, based on the Hantzsch reaction, which consists of formaldehyde reacting with acetylacetone to form 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine (DDL). The method used an AS 7341 sensor to take reflectance and fluorescence measurements of DDL at 415 nm and 515 nm, respectively. The procedure showed a high correlation coefficient, a limit of detection of $27 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ and a precision of 0.12 % for reflectance measurements. For fluorescence, the detection limit was $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, and the precision was 0.92 %. These results guarantee the reliability and accuracy of this approach, making it a valuable tool for analyzing formaldehyde in milk samples. Finally, the third paper presented a method for quantifying glycerol in wine samples, employing a portable optical device using the AS 7341 sensor as a detector. The chemical strategy involved the oxidation of glycerol using periodate, followed by the formation of DDL through a reaction with acetylacetone. The optimized procedure demonstrated adequate analytical performance for the determination of glycerol in wine samples, showed a high correlation coefficient ($r = 0.998$), low limit of detection (0.050 mg L^{-1}) and good precision ($\text{RSD} = 0.1 \text{ %}$). These characteristics make it suitable for routine glycerol analysis in the wine industry and tackling challenges related to wine adulteration and counterfeiting. These studies have demonstrated the effectiveness and versatility of using color sensors for different analytical applications, with the advantages of portability, low cost and potential for integration with IoT technologies.

Keywords: Optical sensors, DIY, IoT, Nitrite, Formaldehyde and Glycerol

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Percentagem de publicações sobre DIY por áreas científicas e evolução de publicações de artigos e citações referenciando a prática DIY na química analítica	19
Figura 2 - Evolução das publicações de artigos científicos e citações sobre IoT na área de química analítica	21
Figura 3 - Evolução de publicações de artigos científicos e citações referenciando o uso de Arduino, Raspberry, Bluetooth e Wi-Fi em dispositivos IoT empregues na química analítica.....	22
Figura 4 - Evolução de publicações referenciando o uso de sensores óticos em dispositivos empregues na química analítica	28
Figura 5 - Perfil espectral de sensibilidade de bastonete e os três tipos de cones presentes na retina do olho humano	31
Figura 6 - Esquema ilustrativo das conexões sensor RGB com microcontrolador Arduino	31
Figura 7 – Esquema ilustrando as relações espaciais entre o LED e o detector para o sensor RGB com LED embutido e sem LED embutido	32
Figura 8 - Desenho ilustrando a porta cubeta usada para a determinação de nitrito em amostras de água, em vista frontal, posterior e superior, assim como a tampa da porta cubeta na vista inferior, caixa para acomodar a placa ESP 32 na vista frontal e lateral	42
Figura 9 - Foto ilustrando a localização do LED e do sistema de detecção no sensor TCS 34725 e APDS 9960; representação esquemática da disposição da matriz de diodo 4x3 no detector dos sensores RGB	43
Figura 10 - Esquema de conexão da placa ESP 32 com o sensor RGB e LED verde; e	

Foto ilustrando o dispositivo montado	44
Figura 11 - Foto do dispositivo montado e ecrã do smartphone conectado ao dispositivo via navegador web, exibindo a interface gráfica dos comandos operacionais (on/off do LED e Measurements/ Medição) e dos resultados nos canais Red, Green e Blue.....	45
Figura 12: Desenho e foto ilustrando a caixa usada para a aquisição de imagens pela câmera digital de smartphone	46
Figura 13 - Mapeamento dos pontos de recolha de amostra de água: no Bairro Santa Mônica (coordenadas: -18.91226, -48.25382), no rio Uberabinha (coordenadas: -18.992437, -48.247994), no rio Uberabinha (coordenadas:-18.920358, -48.303056), no Bairro Roosevelt (coordenadas: -18.89781, -48.27866) e no comércio local de Uberlândia	47
Figura 14 - Esquema de reação do método de <i>Griess</i>	48
Figura 15 - Perfil espectral da resposta do sensor APDS 9960 e espectro de absorção do produto da reação de Griess; espectro de emissão do LED SMD, branco de alto brilho e verde	49
Figura 16 - Efeito da concentração de sulfanilamida, de N-(1-naftil) etilenodiamina - NED e tempo de reação no sinal analítico para 1,0 mg L ⁻¹ obtido pelo sensor RGB	51
Figura 17 - Curvas analíticas para soluções de nitrito obtidas pelo sensor TCS 34725 usando LED nativo posicionado 5° em relação ao detector e LED SMD externo posicionado 180° em relação ao detector	52
Figura 18 - Curvas analíticas para soluções de nitrito obtidas pelo sensor TCS 34725 usando LED SMD e LED branco; e sensor APDS 9960 usando LED SMD e LED branco	52
Figura 19 - Curvas analíticas para soluções de nitrito obtidas pelo sensor TCS 34725	

usando LED SMD e LED verde; e sensor APDS 9960 usando LED SMD e com LED verde 53

Figura 20 - Foto ilustrando tubos de ensaio contendo nitrito ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) e de nitrito na presença $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de íons de Zn^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Na^+ , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , NO_3^- e Cl^- 57

Figura 21 - Sinais do nitrito ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) e de nitrito na presença $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de íons de Zn^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Na^+ , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , NO_3^- e Cl^- , obtidos pelo dispositivo proposto 57

Figura 22 - Desenho ilustrando a porta cubeta usada para a determinação de formaldeído em leite, em vista frontal, posterior e superior; assim como a tampa da porta cubeta na vista inferior 65

Figura 23 - Fotografia do sensor AS 7341 com destaque para a localização do LED e dos detalhes do detetor, assim como a representação esquemática da disposição da matriz de diodo no detetor 66

Figura 24 - Esquema de conexão do Arduino com sensor AS 7341 e foto ilustrando o dispositivo montado 66

Figura 25 - Esquema da reação de derivatização do formaldeído para formar 3,5-diacetil-1,4-di-hidrolutidina (DDL) na Reação de *Hantzsch* 68

Figura 26 - Perfil espectral da resposta do sensor AS 7341 nos oitos canais da região do visível, espectro de excitação e emissão do 3,5-diacetil-1,4-di-hidrolutidina e perfil espectral do sensor AS7341 para os canais 415 e 515 nm 69

Figura 27 - Efeito da concentração de acetilacetona, concentração da solução tampão de acetato de amônio e do pH no sinal analítico de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de formaldeído para medida de reflectância, fluorescência e do branco obtidos do sensor AS 7341 70

Figura 28 - Efeito da temperatura de aquecimento e tempo de reação no sinal analítico de 2,0 mg L ⁻¹ de formaldeído para medida de reflectância, fluorescência e do branco obtidos do sensor AS 7341	71
Figura 29 - Efeito do ganho do sensor e corrente do LED no sinal analítico de 2,0 mg L ⁻¹ de formaldeído para medida de reflectância, fluorescência e do branco obtidos do sensor AS 7341	71
Figura 30 - Curvas analíticas para soluções de formaldeído obtidas pelo sensor AS 7341 para medidas de reflectância e fluorescência	72
Figura 31 - Curvas analíticas para medidas de reflectância e fluorescência para solução padrão em meio aquoso e na presença 100, 200, 250 e 300 µL de amostra de leite sem precipitação obtidas pelo sensor AS 7341	75
Figura 32 - Curvas analíticas para medidas de refletância e fluorescência para solução padrão em meio aquoso e na presença 200, 300, 400 e 500 µL de amostra de leite após a precipitação obtidas pelo sensor AS 7341	76
Figura 33 - Efeito da temperatura e do tempo de aquecimento no teor de formaldeído no leite fortificado com 1,0 mg L ⁻¹ , para medidas de reflectância, fluorescência obtidos do sensor AS 7341	78
Figura 34 - Esquema de reação de oxidação de glicerol com periodato e formação do 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina através da reação com acetilacetona	86
Figura 35 - Efeito da concentração de NaIO ₄ , do pH no sinal analítico de 3,0 mg L ⁻¹ de glicerol e do branco no canal 415 nm do sensor AS 7341	87
Figura 36 - Efeito da temperatura e do tempo de aquecimento no sinal analítico de 3,0 mg L ⁻¹ de glicerol e do branco no canal 415 nm do sensor AS 7341	88
Figura 37 - Efeito do ganho do sensor e corrente do LED no sinal analítico de 3,0 mg L ⁻¹ de glicerol e do branco no canal 415 nm do sensor AS 7341	89

Figura 38 - Curva analítica para soluções de glicerol obtida pelo sensor AS 7341 em 415 nm 89

Figura 39 - Sinais de glicerol e de glicerol na presença de etanol, ácido gálico, glicose, ácido tartárico e catequina, obtidos pelo dispositivo proposto 92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação entre as tecnologias Wi-Fi e Bluetooth	26
Tabela 2: Comparação entre sensores CCD e CMOS quanto ao consumo de energia, custo de fabricação, sensibilidade, qualidade e ruído	29
Tabela 3: Características dos sensores RGB usados nesse trabalho	43
Tabela 4: Custo por cada componente do dispositivo e valor total para montar o dispositivo portátil para determinação <i>in situ</i> de nitrito em água	45
Tabela 5: Características analíticas do procedimento proposto usando sensores RGB comparadas com as obtidas com câmera de smartphone e espectrofotômetro convencional	54
Tabela 6: Comparação do método proposto com outros procedimentos relatados para determinação de nitrito	56
Tabela 7: Resultados da determinação de nitrito em amostras de água	58
Tabela 8: Resultados do teste de adição e recuperação em amostras de água	59
Tabela 9: Custo por cada componente do dispositivo e valor total para montar o dispositivo para determinação de formaldeído em leite	67
Tabela 10: Características analíticas obtidas com sensor AS 7314 e espectrofotômetro convencional	72
Tabela 11: Comparação do método proposto com outros procedimentos relatados para determinação de formaldeído	74
Tabela 12: Resultados da determinação de formaldeído em amostras de leite	77

Tabela 13: Resultados do teste de adição e recuperação em amostras de leite	77
Tabela 14: Resultados da determinação de formaldeído análise de amostras de leite, antes e depois do aquecimento a 70 °C por 20 minutos	78
Tabela 15: Informações (variedade de uva, safra e País) das amostras de vinho analisadas	84
Tabela 16: Características analíticas do procedimento proposto comparadas com as obtidas com um espectrofotômetro convencional	90
Tabela 17: Comparação do método proposto com outros procedimentos relatados para determinação de glicerol.....	91
Tabela 18: Resultados da determinação de glicerol em amostras de vinho	93
Tabela 19: Resultados do teste de adição e recuperação em amostras de vinho	94

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC	do inglês, <i>Analog to Digital Converter</i> (Conversor analógico digital)
AuNPs	Nanopartículas de ouro
CCD	do inglês <i>Charge Coupled Device</i> (Dispositivo de carga acoplada)
C _{Formal.}	Concentração de formaldeído
CMOS	do inglês, <i>Complementary Metal Oxide Semiconductor</i> (Semicondutor de óxido metálico complementar)
DAC	do inglês, <i>Digital to Analog Converter</i> (Conversor digital analógico)
DDL	3,5-Diacetil-1,4-dihidrolutidina
Des.	Desnatado
DIY	do inglês, <i>Do It Yourself</i> (Faça você mesmo)
DNPH	2,4-Dinitrofenilidrazina
DQO	Demanda Química de oxigénio
EFSA	do inglês, European Food Safety Authority (Autoridade Europeia de segurança alimentar)
GC	do inglês, <i>Gas Chromatography</i> (Cromatografia gasosa)
GC-MS	do inglês, <i>Gas Chromatography coupled to mass spectrometry</i> (Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas)
GND	do inglês, <i>Ground</i> (Terra)
GPIO	do inglês, <i>General Purpose Input/Output</i> (Pinos de entrada e saída de uso geral)
HDMI	do inglês, <i>High Definition Multimedia Interface</i> (Interface multimídia de alta definição)
HPLC-UV	do inglês <i>High-performance liquid chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta eficiência) com deteção Ultravioleta
HPLC	do inglês <i>High-performance liquid chromatography</i> (Cromatografia líquida de alta eficiência)
HTML	do inglês, <i>Hyper Text Markup Language</i> (Linguagem de marcação de hipertexto)
I	Sinal obtido da amostra
I ₀	Sinal obtido do branco / água ultrapura
ICs	do inglês, <i>Integrated Circuits</i> (Circuitos integrados)
I2C	do inglês, <i>Inter-Integrated Circuit</i> (Circuito inter-integrado)

IDE	do inglês, <i>Integrated Development Environment</i> (Ambiente de desenvolvimento integrado)
IR	do inglês, <i>Infra-Red</i> (Infravermelho)
IoT	do inglês, <i>Internet of Things</i> (Internet das coisas)
LED	do inglês, <i>Light Emitting Diode</i> (Diodo emissor de luz)
LD	Límite de detenção
LDR	do inglês, <i>Light Dependent Resistor</i> (Resistor dependente de luz = fotoresistor)
LQ	Límite de quantificação
MeHb	Meta-hemoglobina
MQTT	do inglês, <i>Message Queue Telemetry Transport</i> (Transporte de telemetria de enfileiramento de mensagens)
NADH	Nicotinamida adenina
NED	N-(1-naftil) etilenodiamina
NFC	do inglês, <i>Near Field Comunication</i> (Comunicação de campo próximo)
NIR	do inglês, <i>Near Infra-Red</i> (Infravermelho próximo)
OLED	do inglês, <i>Organic Light Emitting Diode</i> (Diodo orgânico emissor de luz)
OxiHb	Oxi-hemoglobina
PAN	do inglês <i>Personal Area Network</i> (Redes de área pessoal sem fio)
Past.	Pasteurizado
R ²	Coeficiente de correlação linear
RAM	do inglês, <i>Random Access Memory</i> (Memória de acesso randômico)
RFID	do inglês, <i>Radio Frequency Identification</i> (Identificação por radiofrequência)
RGB	do inglês, <i>Red Green Blue</i> (vermelho, verde e azul)
ROM	do inglês, <i>Read Only Memory</i> (Memória somente de leitura)
RSD	do inglês, <i>Relative Standard Deviation</i> (Desvio padrão relativo)
SA	Sulfanilamida
SBCs	do inglês, <i>Single Board Computers</i> (Computadores de placa única)
SCL	do inglês, <i>Serial Clock</i>
SDA	do inglês, <i>Serial Data</i>

SMD	do inglês, <i>Surface Mounted Device</i> (Dispositivo montado em superfícies)
SPI	do inglês, <i>Serial Peripherical Interface</i> (Interface serial periférica)
TNT	2,4,6-Trinitrotolueno
UART	do inglês, <i>Universal Asynchronous Receiver Transmitter</i> (Transmissor-receptor universal assíncrono)
UE	União Europeia
UHT	do inglês, <i>Ultra High Temperature</i> (Temperatura ultra alta)
USB	do inglês, <i>Universal Serial Bus</i> (Porta serial universal)
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta visível
UV-Vis-NIR	Ultravioleta visível-infravermelho próximo
VIN	do inglês, <i>Voltage In</i> (Tensão de entrada)
WHO	do inglês, World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)
Wi-Fi	do inglês, <i>Wireless Fidelity</i> (Fidelidade sem fio)

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL	19
1.1 <i>DO IT YOURSELF (DIY)</i>	19
1.2 <i>INTERNET OF THINGS (IoT)</i>	20
1.3 COMPUTADORES DE PLACA ÚNICA.....	23
1.4 BLUETOOTH E Wi-Fi.....	26
1.5 SENSORES ÓTICOS	27
1.5.1 <i>Sensor RGB</i>	30
1.5.2 <i>Sensores multicanais de cor</i>	33
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS	36
2.1. OBJETIVO GERAL	36
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
CAPÍTULO 3 - DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO IoT PORTÁTIL PARA DETERMINAÇÃO COLORIMPETRICA DE NITRITO EM ÁGUA.....	37
3.1 INTRODUÇÃO.....	38
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.2.1 <i>Reagentes e soluções</i>	41
3.2.2 <i>Equipamentos e acessórios</i>	41
3.2.3 <i>Amostras e Procedimentos</i>	46
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.3.1 <i>Caracterização</i>	47
3.3.2 <i>Otimização</i>	49
3.3.3 <i>Características analíticas</i>	51
3.3.4 <i>Estudo de interferência</i>	57
3.3.5 <i>Determinação de nitrito em amostras de água</i>	58
3.4 CONCLUSÕES	60
CAPÍTULO 4 - MEDIDAS SIMULTÂNEAS DE REFLECTÂNCIA E FLUORESCÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE FORMALDEÍDO EM LEITE USANDO UM SENSOR MULTICANAL AS 7341	61
4.1 INTRODUÇÃO.....	62
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	64
4.2.1 <i>Reagentes e soluções</i>	64
4.2.2 <i>Equipamentos e acessórios</i>	64

4.2.3 Amostras e Procedimentos	67
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4.3.1 Caracterização	68
4.3.2 Otimização.....	69
4.3.3 Características analíticas	72
4.3.4 Estudo de efeito matriz	75
4.3.5 Determinação de formaldeído em amostras de leite	76
4.4 CONCLUSÕES	79
CAPÍTULO 5 - DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO ÓTICO PORTÁTIL COM SENSOR ESPECTRÔMETRO MULTICANAL PARA QUANTIFICAÇÃO DE GLICEROL EM VINHO: UMA ABORDAGEM MAKER PARA ANÁLISE IN SITU	81
5.1 INTRODUÇÃO.....	82
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS	84
5.2.1 Reagentes e soluções	84
5.2.2 Equipamentos e acessórios	84
5.2.3 Amostras e Procedimentos	84
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.3.1 Caracterização	85
5.3.2 Otimização.....	86
5.3.3 Características analíticas	89
5.3.4 Estudo de interferência	92
5.3.5 Determinação de glicerol em amostras de vinho	93
5.4 CONCLUSÕES	94
CAPÍTULO 6: CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
6.1 CONCLUSÕES	95
6.2 REFERÊNCIAS	96
6.3 APÊNDICE	117

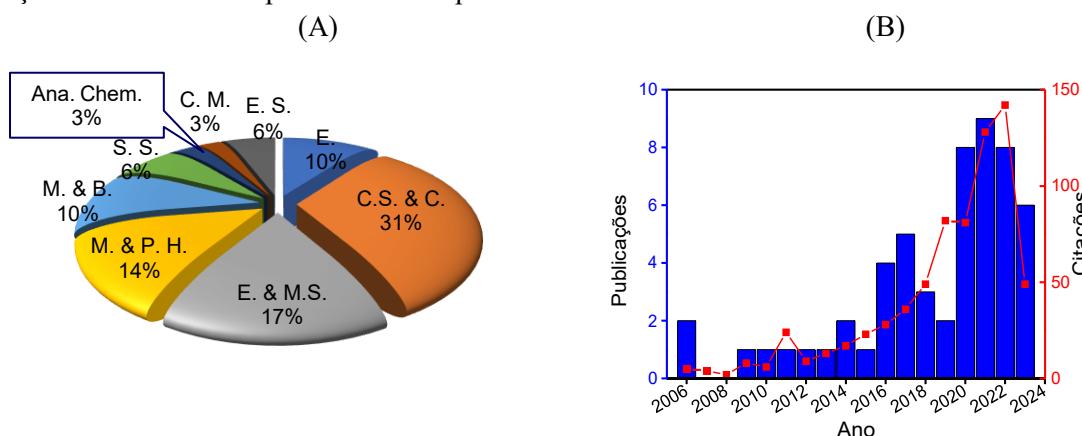
CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL

1.1 DO IT YOURSELF (DIY)

A prática *Do It Yourself* (DIY) ou faça você mesmo, envolve um conjunto de atividades criativas nas quais as pessoas usam, adaptam e modificam os materiais existentes para produzir alguma coisa (BUECHLEY et al., 2009). É uma prática antiga e bem ampla, envolvendo a capacidade do ser humano transformar o seu ambiente natural e adaptá-lo às suas necessidades, sem necessariamente que seja um *expert* no que está se propondo a fazer.

O termo DIY vem sendo associado aos consumidores desde 1912, inicialmente, era mais aplicado em atividades caseiras para a melhoria e a manutenção (GELBER, 1997). Esta prática está criando possibilidades de trabalho em várias áreas do conhecimento, onde em função das publicações pode se destacar as ciências da computação e comunicação (31%), educação e ciências multidisciplinares (17%), medicina e saúde pública (14%) e química analítica (3%) de um universo de mais de 30 mil publicações (Figura 1A). Verifica-se também um incremento do número de publicações e de citações de trabalhos que fazem referência ao termo DIY na química analítica nos últimos 8 anos (Figura 1B). Este fato deve estar associado ao aumento do uso e do acesso à internet, o que permite que mais pessoas compartilhem as suas ideias em várias plataformas ou sites, de modo que seja útil para outras pessoas.

Figura 1: (A) Percentagem de publicações sobre DIY por áreas científicas (E. = Engineering; C.S. & C. = Computer Science & Communications; E. & M. S. = Education & Multidisciplinary Sciences; M. & P. H. = Medicine & Public Health; M. & B. = Management & Business; S. S. = Social Sciences; Chem. Ana. = Analytical Chemistry; C. M. = Chemistry Multidisciplinar; E. S. = Environmental Sciences) e (B) Evolução de publicações de artigos e citações referenciando a prática DIY na química analítica.



Fonte: Web of Science (Fevereiro, 2024)

A primeira referência do termo DIY em um artigo científico de química analítica, foi em 2006, quando MOHANTY; KIM e BEEBE (2006) construíram um dispositivo de microeletroforese, usando a plataforma tectônica *mfluídica* (mFT) e uma inserção capilar removível (RCI) para facilitar a coleta de amostras após a separação. ALAGIRISAMY, HARDAS e JAYARAMAN (2010), referenciam, igualmente, o termo DIY quando construíram um dispositivo colorimétrico para detecção de compostos voláteis de sulfeto. O dispositivo consistia em um detector fotométrico e uma unidade de amostragem de gás para coleta de ar exalado pela boca, que continham compostos voláteis de enxofre como sulfeto de hidrogênio e dimetil sulfeto. O reagente era constituído por iodo e amido, e a diminuição da concentração de iodo na reação com sulfeto de hidrogênio foi detectada colorimetricamente. Os autores empregaram uma lâmpada com filamento de tungstênio como fonte de luz e um fotodiodo (PerkinElmer/N VTB 8441B) como detector.

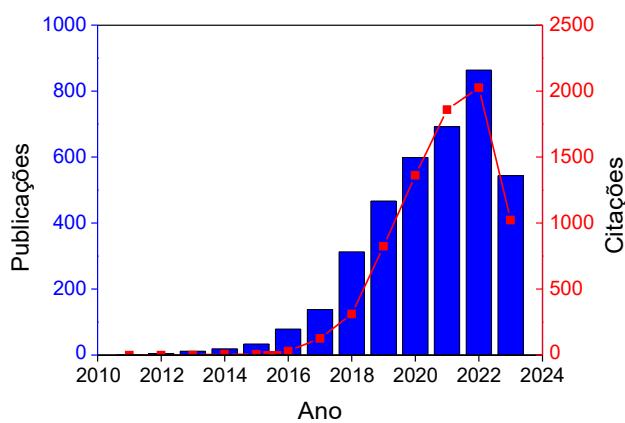
A prática DIY está permitindo a construção de dispositivos analíticos personalizados, acessíveis, portáteis e fáceis de usar, adaptados para várias técnicas, como por exemplo a técnica cromatográfica (MUCÉDOLA et al., 2017), espectrofotométrica (GRAZIOLI et al., 2020; SOUSA et al., 2023) e eletroanalítica (BROWN et al., 2022; POULLADOFONOU et al., 2022; SONIA; ZANHAL; PRASAD, 2020; SOUSA et al., 2023). Para melhorar as capacidades desses dispositivos analíticos DIY, está ocorrendo a integração da tecnologia de Internet das Coisas (IoT, do inglês *Internet of Things*), fazendo com que os dispositivos DIY tenham conexão com internet, podendo coletar e transmitir dados em tempo real, facilitando o monitoramento e a análise remota (CADEADO et al., 2022a; ELLIS et al., 2015; MAYER; BAEUMNER, 2019).

1.2 INTERNET OF THINGS (IoT)

Internet of Things é o conceito em que os objetos físicos interatuam entre si através da Internet e podendo identificar-se mutuamente (ASHOURI et al., 2019). A IoT possibilita a conexão de diversos dispositivos com a internet, dispondo-se de diversas tecnologias, protocolos e comunicações, de modo a proporcionar administração inteligentes, rastreamento e monitoramento (PATEL; PATEL; SALAZAR, 2016). A Internet das Coisas trata-se de um ecossistema que conecta objetos físicos, através de um endereço ou rede, para trocar, armazenar e coletar dados através de uma aplicação de software.

As publicações de artigos na área de IoT têm aumentado significativamente nos últimos 12 anos (Figura 2). Mais de 102 mil artigos foram publicados, dos quais 3,68 % em revistas sobre química analítica, com mais de 35 mil citações. No entanto, embora publicados em revistas de Química Analítica, muitos destes artigos não apresentam aplicações analíticas, visto que envolvem o desenvolvimento e a aplicações de sensores inteligentes para uso industrial e doméstico.

Figura 2: Evolução das publicações de artigos científicos e citações sobre IoT na área de química analítica.



Fonte: Web of Science (Fevereiro, 2024)

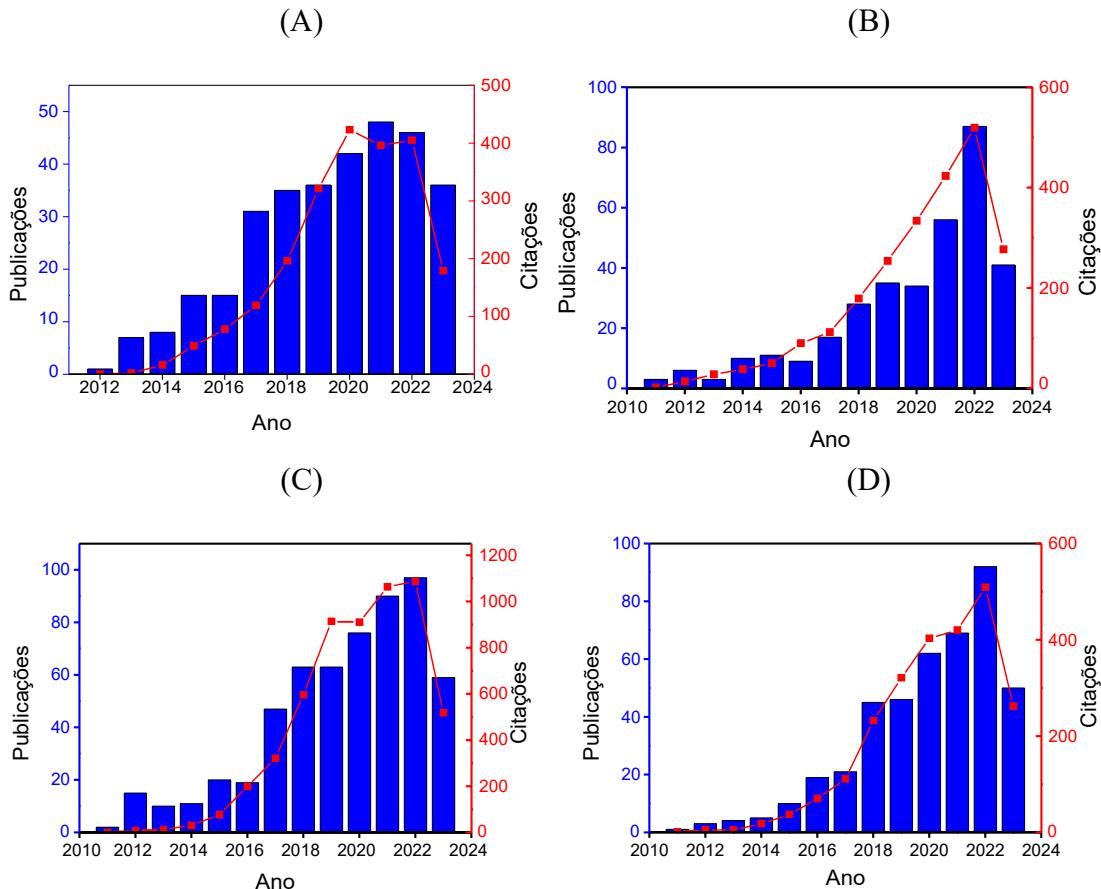
Para WANG et al. (2015) a tendência crescente de artigos sobre IoT está relacionada com o progresso da tecnologia e dos vários planos de ação sobre a IoT emitidos por algumas comunidades e países, tais como a União Europeia (UE) em 2009 e pela China de 2011 a 2015.

O termo “internet das coisas” foi citado pela primeira vez em aplicações analíticas no ano de 2013. Os autores desenvolveram um sensor potenciométrico sem fio para uso com eletrodos de pH e íon seletivos. O sensor foi capaz de medir de forma autônoma, armazenar o potencial do eletrodo e, em seguida, transferir os dados registrado, por RFID para um leitor próximo ou por comunicação de campo próximo (NFC, do inglês *Near Field Comunication*) para um smartphone (KASSAL; STEINBERG; STEINBERG, 2013).

As publicações de artigos e citações de dispositivos IoT baseados em placas

Arduino e/ou Raspberry Pi, assim como do uso de tecnologias sem fio tais como Bluetooth e Wi-Fi para aplicações analíticas aumentaram nos últimos 12 anos (Figura 3). Isso demonstra a popularidade e a facilidade de implementação dessas ferramentas em dispositivos IoT na química analítica.

Figura 3: Evolução de publicações de artigos científicos e citações referenciando o uso de Arduino (A), Raspberry (B), Bluetooth (C) e Wi-Fi (D) em dispositivos IoT empregues na química analítica.



Fonte: Web of Science (Março, 2024)

A arquitetura IoT mais utilizada apresenta três camadas, nomeadamente: percepção, rede e aplicação (AL-QASEEMI et al., 2017). A camada de percepção é constituída por sensores que coletam dados do ambiente e os enviam para a camada de rede. A camada de rede é responsável por coletar as informações provenientes da camada de percepção e enviá-las para a camada de aplicação, usando tecnologias de comunicação sem fio, tais como Wi-fi, Bluetooth e RFID. A camada de aplicação é responsável pela gestão e processamento dos dados, para tal são usados computadores de placa única, tais como Arduino, Raspberry e ESP 32.

1.3 COMPUTADORES DE PLACA ÚNICA

Os computadores de placa única, do inglês *Single-Board Computers* (SBCs), são dispositivos formados por uma única placa de circuito de memória e processador e têm a capacidade de adquirir informações por meio de sensores (ISIKDAG, 2015). SBCs contém todos os circuitos necessários para uma tarefa de controle útil: um microprocessador, circuitos de E/S (entrada/saída), um gerador de *clock*, memória RAM e ROM, e circuito integrado (ICs) de suporte.

Na química analítica os SBCs são utilizados para diversos fins, tais como para construção de fotômetro, aquisição de sinais analíticos e automação. Os SBCs mais populares são Arduino e Raspberry Pi. No entanto, ambos têm vantagens e desvantagens. Arduino é fácil de operar e programar, porém não é adequado para tarefas complexas e aplicativos que requerem interfaces gráficas (ARIZA; BAEZ, 2022). Raspberry Pi requer um conhecimento da linguagem de programação, o que torna a sua execução mais complexa do que o Arduino, porém é adequado para uma ampla variedade de aplicações, incluindo servidores e projetos complexos de IoT (ISIKDAG, 2015).

Arduino é uma plataforma eletrônica de código aberto, desenvolvida na Itália, que une hardware e software simples para uso. Pode ser programado usando as linguagens de programação C/C++ e usam o ambiente IDE. A placa de Arduino é constituída por um microprocessador da família ATmega328 que opera a 10 bits, tem 14 GPIO (*General-Purpose Input/Output*) digitais e analógicos, ADC (*Analog to Digital Converter*), memória FLASH, memória RAM e várias interfaces do tipo: SPI (*Serial Peripheral Interface*), I2C (*Inter-Integrated Circuit*) e UART (*Universal Asynchronous Receiver Transmitter*).

O emprego do Arduino em dispositivos IoT tem aumentado nos últimos 12 anos, resultando em mais de 10 mil publicações, das quais 3,12% estão relacionadas com a química analítica, como foi mostrado na Figura 3A. Este fato deve estar associado ao baixo custo de aquisição e simplicidade na execução e no desenvolvimento de programas. O primeiro uso de Arduino em dispositivo analítico foi em 2013, quando Anzalone e colaboradores (ANZALONE; GLOVER; PEARCE, 2013) construíram um colorímetro de código aberto impresso em 3D, usando um diodo emissor de luz (LED, do inglês *Light Emitting Diode*) com pico de emissão próximo a 606 nm, como fonte de luz, e um sensor

TSL 230R, como detector. O desempenho do dispositivo foi avaliado para determinação de demanda química de oxigênio (DQO).

A placa Arduino foi empregada para o desenvolvimento de vários dispositivos IoT aplicáveis para medidas fotométricas (BZURA; FIEDORUK-POGREBNIAK; KONCKI, 2018; GRAZIOLI et al., 2020; KHANFAR; AL-FAQHERI; AL-HALHOULI, 2017; MACHADO; PETRUCI; SILVA, 2021a; SANTOS; REIS, 2021), colorimétricas (DE MORAIS et al., 2015; MAEJIMA; HIRUTA; CITTERIO, 2020; SINGH et al., 2020a), fluorimétricas (GILLANDERS; SAMUEL; TURNBULL, 2017; GREENAWALD et al., 2017; HEO et al., 2019; HOSSAIN et al., 2017; KIRUBA DANIEL et al., 2019; NG et al., 2013; NGHIA; HUY; LEE, 2020), quimiluminescência (BRANDÃO; PERDIGÃO; REIS, 2021) e eletroquímicas (AGUSTINI et al., 2020; AINLA et al., 2018; GAO et al., 2021; KHAN et al., 2018; LIU et al., 2017; MELONI, 2016; MERCER et al., 2019a; SHEN et al., 2020; ZHANG et al., 2015).

Em 2016, surgiram as placas da família ESP 32 e ESP 8266. Com isso tornou-se mais fácil o processo de aquisição e envio de dados, assim como a utilização de recursos para visualização dos dados, como as ferramentas de MQTT (*Message Queue Telemetry Transport*). ESP 32 é um microcontrolador de baixo custo e que tem integrado interfaces Wi-Fi e Bluetooth. Além de permitir a alocação dos sensores nos pinos, os dados são enviados, por intermédio de um servidor, a uma nuvem, onde a saída pode ser monitorada por meio de um aplicativo, ou vista como uma página na Web.

A placa ESP 32 é constituída por microprocessador dual core *Tensilica Xtensa* 32-bit LX6, tem 36 GPIOs, 18 ADC, 2 DAC (*Digital Analog Converter*), memória FLASH (16MB), memória RAM (512kB), várias interfaces do tipo: SPI, I2C e UART, micro USB, dois botões (*Enable-En* e *Boot*) e possui uma saída de tensão em 3,3 volts. Também apresenta chip Wi-Fi embutido, que opera na faixa de 2.4 a 2.5 GHz e Bluetooth v4.2 (*Bluetooth Low Energy*). O primeiro relato na literatura sobre a utilização do ESP 32 em dispositivos na química analítica foi em 2019. Os autores (MERCER et al., 2019b) desenvolveram uma plataforma (iMED) integrada de biossensor para detecção de glicose. O dispositivo foi projetado para realizar medições de voltametria cíclica e amperometria. Um microcontrolador ESP 32 foi utilizado para controlar o potencióstatoe para aquisição de dados. O iMED foi programado através de uma rede sem fios Wi-Fi e

os dados dos processos eletroquímicos foram enviados para a nuvem.

Raspberry é um tipo de SBCs que se conecta a um monitor, usa um teclado e um *mouse* padrão. Foi desenvolvido no Reino Unido pela Fundação Raspberry-Pi. A placa é constituída por um microprocessador da família Broadcom BCM, tem memória FLASH e RAM, uma média de 40 GPIO em função da série e outros periféricos (USB, Ethernet, HDMI, áudio).

O emprego do Raspberry em dispositivos IoT na química tem aumentado nos últimos 12 anos, resultando em mais de 11 mil publicações, dos quais 2,88% estão relacionados com a química analítica, como foi mostrado na Figura 3B. Este fato deve estar associado ao baixo custo de aquisição e por ser adequado para o desenvolvimento de dispositivos IoT portáteis e complexos, com possibilidade de integrar aquisição de dados e controle de dispositivos em um único sistema.

O primeiro registro na literatura sobre o uso de Raspberry em química analítica foi em 2014. Os autores (TING et al., 2014) desenvolveram uma abordagem fácil para amostragem automatizada e posterior introdução de amostras em um aparelho de GC-MS (cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas), a fim de monitorar processos químicos dinâmicos em tempo real. O sistema proposto incorporou duas válvulas, uma bomba peristáltica, um agitador e Raspberry Pi, como unidade de controle eletrônico. Um programa em linguagem C foi usado para controlar o funcionamento da bomba (ligar/desligar, direção do fluxo), atuação das válvulas e início das execuções do GC-MS.

A placa raspberry Pi foi empregada para o desenvolvimento de vários dispositivos IoT aplicáveis para medida fotométrica (TONELLI et al., 2019), colorimétrica (BUENO; MANUEL, 2021; JANG; AHMED; NEETHIRAJAN, 2017; QI et al., 2021; TOK et al., 2019; TONELLI et al., 2021), fluorimétrica (BILLS et al., 2020; CHEN et al., 2019), de fosforescência (BUNGE et al., 2019) e electroanalítica (ALVAREZ et al., 2019; GEVAERD et al., 2021; JÄRVINEN et al., 2017), assim como para técnicas de separação (LAM et al., 2020; SCHADE et al., 2021; TING et al., 2014).

1.4 BLUETOOTH E Wi-Fi

Bluetooth é uma tecnologia de baixo custo para conexões sem fio entre dispositivos através de ondas de radiofrequência na faixa dos 2.4GHz. Segundo RUIZ-GARCIA et al. (2009) Bluetooth foi desenvolvido como um protocolo sem fio para comunicação de curto alcance em redes de área pessoal sem fio (PAN, do inglês *Personal Area Network*) como um substituto de cabo para dispositivos móveis.

O Wi-Fi surgiu no final da década de 1990, trazendo uma nova forma de conexão à Internet: sem fio. WiFi é um conjunto de especificação local sem fio, baseado no padrão IEEE 802.11. Sua abreviatura vem do termo em inglês *Wireless Fidelity*. Essas tecnologias diferem-se quanto à finalidade, alcance, velocidade de transmissão de dados e consumo de energia (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação entre as tecnologias Wi-Fi e Bluetooth

	Wi-Fi	Bluetooth
Finalidade	Fornecer acesso à internet e transferência de dados em redes locais	Conectar dispositivos pessoais em curtas distâncias,
Alcance	Geralmente abrange uma área maior (10 - 100 metros)	Tem um alcance mais curto (menos de 10 metros)
Velocidade de transmissão	Oferece velocidades de transmissão mais altas (6,75 Gb/s)	Possui velocidades de transmissão mais baixas (3 Mb/s)
Consumo de Energia	Maior	Menor

Fonte: Adaptado de ALVES et al. (2019)

A utilização dessas tecnologias em dispositivos IoT na química analítica tem aumentado nos últimos 12 anos, resultando em mais de 12 mil publicações, dos quais 4,54% (Bluetooth) e 3,18% (Wi-Fi), como foi ilustrado nas Figuras 3C e 3D.

A tecnologia Bluetooth foi usada pela primeira vez na química analítica em 2006, quando KIM et al. (2006) desenvolveram um sistema simples de análise de sabor usando um sistema sensorial baseado em um sensor eletroquímico e assistente digital pessoal (PDA) para análise visual e quantitativa de diferentes sabores de cervejas e chás utilizando técnicas de reconhecimento de padrões. O sistema sensorial se comunica com PDA, que possui diversos benefícios interessantes para análise e exibição de dados, via wireless utilizando Bluetooth. No trabalho, não se faz referência à microcontrolador usado, mostrando se apenas as suas características (8 bits, memória FLASH de 368 bytes,

memória RAM 256 bytes, ADC e SPI).

Em 2015, foi relatado pela primeira vez, o uso do Bluetooth acoplado a placa Arduino na química analítica. Os autores (ZHANG et al., 2015) desenvolveram uma plataforma portátil de biossensor baseada em smartphone usando eletrodos impressos para detecção de 2,4,6-trinitrotolueno (TNT). O dispositivo portátil possuía eletrodos modificados, analisador de rede/conversor de impedância (circuito AD5933 e LM358), microcontrolador (placa Arduino) e um módulo Bluetooth (HC-06). Um aplicativo foi projetado controlar as medidas de impedância e visualização dos dados em tempo real.

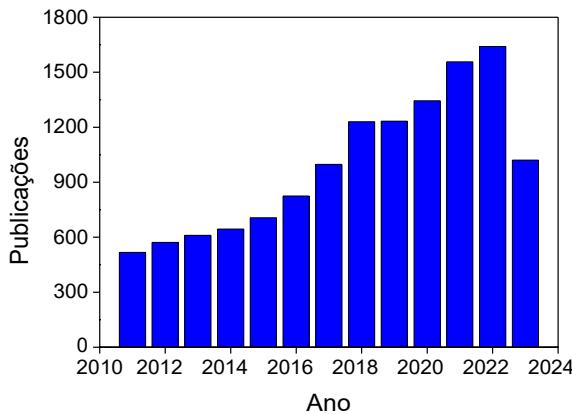
A tecnologia Wi-Fi foi referenciada pela primeira vez em trabalhos na química analítica em 2013, quando JANG et al. (2013) construíram uma plataforma sem fio para monitoramento remoto em tempo real de sensores de nanotubos de carbono. A plataforma foi constituída por três partes: detecção, processamento de sinal e roteador Wi-Fi. O monitoramento remoto foi aplicado para detecção de vapor de metanol.

1.5 SENSORES ÓTICOS

Os sensores químicos são usados para medir a presença de uma espécie em uma determinada amostra de interesse. Segundo HULANICKI, GLAB e INGMAN (1991), os sensores químicos podem ser classificados em função da variável a ser medida, podendo ser: ótico, eletroquímico, magnéticos e térmicos.

A utilização de sensores de baixo custo merece um destaque nos últimos anos, visando sempre à construção de dispositivos analíticos personalizados a uma espécie química de interesse. Dentre eles, se destacam os sensores óticos. A utilização de sensores óticos para a construção de dispositivos em várias áreas do conhecimento tem aumentado nos últimos 12 anos, resultando em mais de 112 mil publicações, dos quais 11,45% estão relacionados com a química analítica (Figura 4).

Figura 4: Evolução de publicações referenciando o uso de sensores óticos em dispositivos empregadas na química analítica.



Fonte: Web of Science (Março, 2024)

De acordo com a natureza do transdutor, os sensores óticos podem ser classificados em: fotoresistor, fotodiodo e fototransistor. Fotoresistor ou também chamado LDR (do inglês, *Light Dependent Resistor*) é um dispositivo cuja resistência depende da intensidade de luz que incide numa superfície sensível (SERGIYENKO; RODRIGUEZ-QUINONEZ, 2017). O LDR converte a intensidade de luminosa em valores de resistência elétrica, que é inversamente proporcional à intensidade da luz incidente.

O fotodiodo e o fototransistor são diodos semicondutores de junção PN que convertem luz em corrente elétrica (SERGIYENKO; RODRIGUEZ-QUINONEZ, 2017). Ao receber a radiação luminosa na junção, ocorre a produção de corrente que é proporcional a intensidade luminosa incidente. A diferença entre fotodiodo e fototransistor está no fato de que o fototransistor não só converte luz em corrente elétrica, mas também amplifica essa corrente.

O fotodetector é o componente principal de um sensor de imagem. O sensor de imagem é um sistema que captura a luz e a converte em um arquivo digital (BIGAS et al., 2006; EL GAMAL; ELTOUKHY, 2005). De acordo com a tecnologia usada, existem sensores CCD e CMOS. Sensor CCD (dispositivo de carga acoplada, do inglês *Charge Coupled Device*) é constituído por uma matriz de pixels sensíveis à luz, onde cada pixel pode ser considerado como um capacitor que converte fótons em carga elétrica. Assim como sensor CCD, o sensor CMOS (semicondutor de óxido metálico complementar, do inglês *Complementary Metal Oxide Semiconductor*) também é formado por elementos

sensíveis à luz, capazes de gerar um sinal elétrico ou carga proporcional à intensidade da luz que incide sobre eles. A diferença é que cada pixel no sensor CMOS inclui fotodiodo e transistor de leitura individuais para cada pixel.

Além da diferença estrutural e funcional, os sensores CCD e CMOS também se diferem quanto ao consumo de energia, custo de fabricação, sensibilidade, qualidade e ruído e aplicações (Tabela 2).

Tabela 2: Comparação entre sensores CCD e CMOS quanto ao consumo de energia, custo de fabricação, sensibilidade, qualidade e ruído.

	CCD	CMOS
Consumo de energia	Elevado	Baixo
Custo de fabricação	Caro	Barato
Sensibilidade	Alta	Reduzida
Qualidade e Ruído	Alta qualidade das imagens e baixo nível de ruído	A qualidade das imagens é reduzida, comparando com CCD. Geralmente é mais suscetível a ruídos

Fonte: Adaptado de (BIGAS et al., 2006)

Na literatura há relatos de utilização de sensores ópticos interfaceados com microcontroladores para desenvolvimento de procedimentos analíticos explorando medidas de reflectância (ANTELÀ et al., 2023; GRAZIOLI et al., 2022; GREENAWALD et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2022; PAZZI; PISTOIA; ALBERTI, 2022; SINGH et al., 2020a), absorbância (GRAZIOLI et al., 2020; MACHADO; PETRUCI; SILVA, 2021b; OTAL et al., 2021; YU et al., 2023), fluorescência (YU et al., 2023) e quimiluminescência (BRANDÃO; PERDIGÃO; REIS, 2021).

Nesse grupo de trabalhos, pode-se destacar a utilização dos sensores de cor (RGB e multicanal) e de luz para fins analíticos. Para os sensores de luz, pode se destacar o trabalho de MACHADO, PETRUCI e SILVA (2021), no qual os autores empregaram o sensor TSL 2591 e um LED amarelo com pico de emissão máximo em 590 nm, para construir um fotômetro IoT aplicado para a determinação de oxalato em infusões. Neste dispositivo foi usado o módulo Bluetooth HC-05 para conectar com um smartphone na transmissão de dados. O sensor TSL 230R, foi empregado por ANZALONE, GLOVER e PEARCE (2013) para construir um colorímetro de código aberto para a determinação

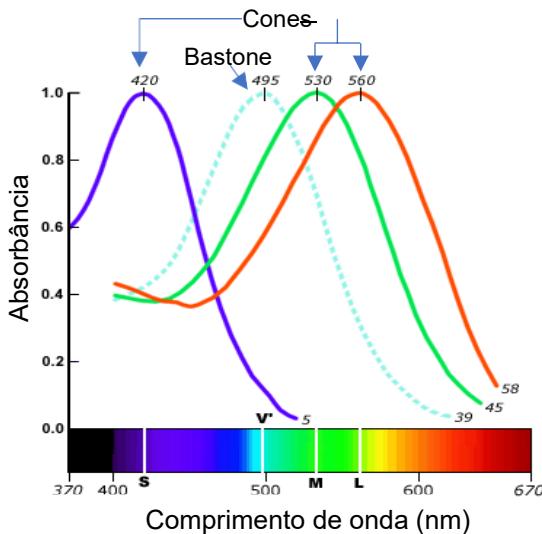
de DQO. Para tal usaram um LED vermelho com pico máximo de emissão 606 nm. GRAZIOLI et al. (2020), usaram cinco fotoresistores (LDR) e cinco LED para construir um dispositivo portátil impresso em 3D para monitorar a qualidade de alimentos. Este dispositivo foi aplicado à determinação da capacidade antioxidante de várias infusões de chá pelo método de Folin-Ciocalteu.

1.5.1 Sensor RGB

Sensor RGB é um dispositivo capaz de captar e detectar informações óticas sobre as cores de um objeto ou uma solução. A sigla RGB se refere as três cores vermelho (R, do inglês *Red*), verde (G, do inglês *Green*) e azul (B, do inglês *Blue*). Os sensores RGB são baseados em um *chip* para detectar a intensidade da cor vermelha, verde e azul. O *chip* é composto por uma matriz de fotodiodos 3x4, sendo que cada conjunto de 3 diodos apresenta filtros para a cor vermelha, verde e azul. Um terceiro conjunto de 3 diodos recebe a radiação não filtrada, designada de *clear*. Para além disso, no chip também é integrado um filtro de bloqueio do infravermelho (IR, do inglês *Infra-Red*) e conversores analógico-digital (ADC), podendo operar entre 8 a 10 bits, dependendo da especificidade do sensor RGB.

O funcionamento dos sensores RGB se assemelha ao olho humano, o qual percebe o espectro de cores da luz visível (400 – 700 nm). Para tal, o olho usa uma combinação da informação vinda de células específicas localizadas no olho, chamadas de cones e bastonetes (INGRAM; SAMPATH; FAIN, 2016; STABELL; STABELL, 1993). Enquanto os bastonetes detectam a intensidade da luz, os cones são capazes de discernir as cores que observamos. Existem três tipos de cones nos nossos olhos, cada um especializado em comprimentos de onda específicos: curtos (S) que correspondem à cor azul, médios (M) que correspondem à cor verde e longos (L) que correspondem à cor vermelha (BOWMAKER; HUNT, 2006). Cada tipo de célula não só acaba por ser especializada em uma cor, mas também possui níveis variáveis de sensibilidade ao longo de um comprimento de onda. Desta forma, as cores percebidas pelos animais são determinadas pela contribuição relativa de cada tipo de cone para o sinal na retina (CALDERONE; JACOBS, 1999; VENTURA et al., 1999), como ilustra a Figura 5.

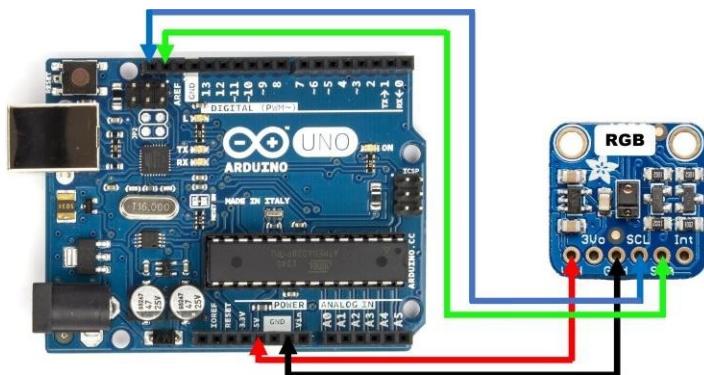
Figura 5: Perfil espectral de sensibilidade de bastonetes e dos três tipos de cones presentes na retina do olho humano



Fonte: Adaptado de AKINS (2014)

Em geral, para conectar o sensor RGB ao microcontrolador, conecta-se os pinos do sensor: VIN (tensão de entrada, do inglês *Voltage In*) com pino 3,3 ou 5,0 V do microcontrolador; GND (terra, do inglês *Ground*) com o pino GND do microcontrolador; SCL1 (do inglês *Serial Clock*) com o pino SCL ou A5 do microcontrolador e SDA2 (do inglês *Serial Data*) com o pino SDA ou A4 do microcontrolador, como está ilustrado na Figura 6.

Figura 6: Esquema ilustrativo das conexões sensor RGB com microcontrolador Arduino



1 SCL o sinal de clock é gerado pelo microcontrolador e é usado pelo sensor para saber quando transmitir ou receber dados.

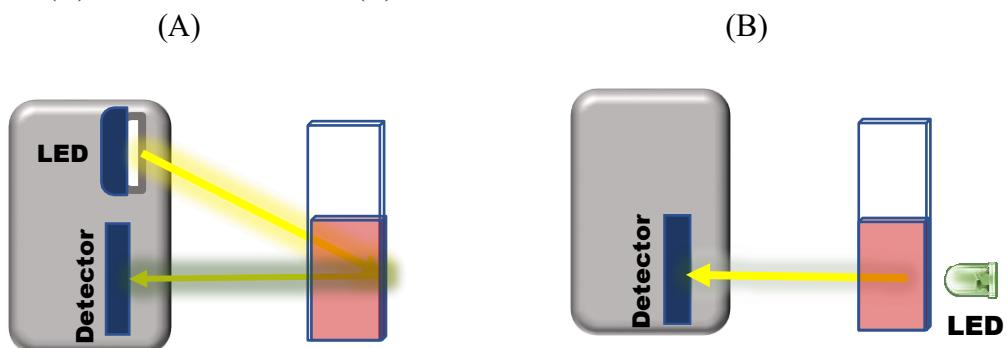
2 SDA é usado para a transmissão e recepção de dados entre o microcontrolador e o sensor.

A programação de sensores RGB é feita com base na plataforma Arduino IDE. A linguagem de programação usada é baseada em C/C++, com algumas bibliotecas e funções específicas do Arduino para interagir com o sensor e controlar os sinais. O sistema RGB combina valores de cores vermelha, verde e azul, os quais variam entre 0 e 255, ou seja, 256 variações de cores em cada canal, totalizando mais de 16 milhões (256^3) de combinações possíveis e um amplo espectro de cores diferentes. Desta forma é possível correlacionar a concentração de espécies coloridas com os sinais dos valores de RGB que, em certas condições experimentais, respondem linearmente à concentração do analito.

Os sensores RGB apresentam a capacidade de ajustes no nível de ganho e tempo de integração, o que possibilita a aquisição de dados de maior confiabilidade mesmo em diferentes níveis de iluminação. Porém existem dois grupos de sensores RGB: com LED embutido (exemplo do TCS 230, TCS3200 e TCS 34725) e sem LED embutido (exemplo do APDS 9950, APDS 9960 e ISL 29125).

O LED é responsável pela iluminação e é formado à base de nitreto de gálio-índio (InGaN), podendo emitir luz na faixa de 400 – 700 nm. Para os sensores RGB com LED embutido exploram-se as medidas de refletância, onde a luz emitida pelo LED incide sobre a cubeta contendo a amostra e, após sofrer reflexão, parte da radiação não absorvida alcança o detector (Figura 7A). Enquanto para os sensores RGB sem LED, é usado um LED externo posicionado a 180 graus em relação ao detector, direcionando a radiação emitida diretamente para o detector do sensor, explorando assim as medidas de absorbância (Figura 7B).

Figura 7: Esquema ilustrando as relações espaciais entre o LED e o detector para o sensor RGB (A) com LED embutido e (B) sem LED embutido



Os sensores de cores constituem uma classe de sensores óticos mais usados para fins analíticos. Nesta classe, podemos destacar os sensores RGB (por exemplo TCS 230, TCS 3200 e TCS 34725, ISL 29125). DE MORAIS et al. (2015) usaram o TCS 230 para construir um fotômetro controlado por arduino UNO para deteção de Pb^{2+} usando AuNPs (Nanopartículas de ouro). TCS 3200 foi usado por PAZZI, PISTOIA e ALBERTI (2022) e SINGH et al. (2020) explorando medidas de refletância para a medida de pH e determinação de cianetos, respectivamente.

O sensor TCS 34725 foi usado para a determinação de ferro em amostras de solo e suplementos por OLIVEIRA et al. (2022). E também foi usado para a deteção de gás cianeto de hidrogénio por GREENAWALD et al. (2017), assim como para o desenvolvimento de um colorímetro controlado automaticamente por Raspeberry Pi4 (ANTELA et al., 2023). ISL 29125 foi usado por OTAL et al. (2021) para construção de um dispositivo portátil para a determinação de flúor em água, usando um LED azul com um pico máximo de emissão de 470 nm, explorando medidas de absorbância.

1.5.2 Sensores multicanais de cor

Os sensores multicanais são dispositivos de sensoriamento ótico que podem detectar e medir diferentes comprimentos de onda da luz em vários canais espectrais. Segundo SUDER et al. (2021), nesse grupo de módulos existem dispositivos que permitem medidas não só da luz visível, mas também no infravermelho (IR) e no ultravioleta (UV). Como exemplo disso, temos o módulo AS 7265x, que inclui três sensores interligados (AS 72651, AS 72652 e AS 72653), com 18 canais e permite medidas na faixa de 410 a 940 nm.

De igual modo, existem os sensores AS 7262 e AS 7341 que se diferem quanto ao número de canais na região do visível, onde AS 7262 apresenta seis canais, enquanto o sensor AS 7341, apresenta oito canais na região do visível e também permite a identificação da faixa NIR (infravermelho próximo, do inglês *Near Infra-Red*) (SUADER et al., 2021). Os dois sensores apresentam uma capacidade de ajustes tanto do ganho, assim como da corrente do LED, o que possibilita a aquisição de dados de maior confiabilidade. Na utilização desses sensores, podem ser exploradas várias medidas óticas, tais como reflectância (GRAZIOLI et al., 2022; KHAN et al., 2018; LIAO et al., 2020; SRIVASTAVA; VANI; SADISTAP, 2021), absorbância (YU et al., 2023) e

fluorescência (YU et al., 2023).

AS 7262 foi usado para construir dispositivos: i) DIY impresso em 3D para a determinação de nitrito em corantes alimentares (GRAZIOLI et al., 2022); ii) portátil para a deteção rápida de bactérias em água (LIAO et al., 2020); iii) IoT para determinação de metais tóxicos em amostras de água potável (SRIVASTAVA; SHARMA, 2021); iv) portátil baseado em smartphone para testes rápidos e não destrutivos (SRIVASTAVA; VANI; SADISTAP, 2021) e v) para determinação dos níveis de glicose na urina (YUDHANA et al., 2023).

O sensor AS 7341 foi usado na química analítica pela primeira vez por Yu et al. (2023), para construir um espectrômetro portátil de código aberto para medidas colorimétricas e de fluorescência. Este dispositivo se caracteriza pelo princípio IoT, para tal foi desenvolvido um aplicativo “*SpecAnalysis*” para conectar com um smartphone via Bluetooth.

O método de conexão destes sensores (AS 7262 e AS 7341) ao microcontrolador Arduino é o mesmo usado para o sensor RGB, já descrito e ilustrado na seção 1.5.1. A programação também ocorre na plataforma Arduino IDE usando a linguagem de C/C++ e bibliotecas específicas de cada sensor.

A utilização de sensores ópticos em vários dispositivos na química analítica mostrou boas características analíticas em termos sensibilidade e seletividade. Este fato torna-os ferramentas importantes para o desenvolvimento de procedimentos analíticos visando o controle de qualidade e monitoramento.

A combinação dos princípios DIY e IoT, permite a construção de dispositivos analíticos inteligentes, envolvendo sempre sensores e microcontroladores. Dispositivos analíticos portáteis baseados no conceito de Internet das Coisas estão se tornando uma alternativa considerável para muitos países em todo o mundo atualmente, contribuindo para o avanço da análise *in situ*.

A análise *in situ* de alimentos refere-se à análise de produtos alimentícios em seu ambiente natural, como fazendas, fábricas de processamento e lojas (BOUZEMBRAK et

al., 2019; ELLIS et al., 2015). Essa abordagem pode fornecer monitoramento em tempo real da qualidade e segurança dos alimentos, permitindo uma intervenção oportuna em caso de quaisquer problemas (ZHANG et al., 2022). O advento da IoT tornou a análise *in situ* de alimentos mais acessível e eficiente.

Os dispositivos IoT podem ser instalados em fábricas de processamento de alimentos e lojas, permitindo o monitoramento contínuo de parâmetros de qualidade de alimentos, como a composição química (GRAZIOLI et al., 2020, 2022; MACHADO; PETRUCI; SILVA, 2021b; OLIVEIRA et al., 2022; OTAL et al., 2021). A integração da IoT e da prática DIY no âmbito da química analítica apresenta algumas perspectivas vantajosas (CADEADO et al., 2022). Estes englobam o fornecimento de soluções personalizadas e econômicas para análises químicas, permitindo que os indivíduos adaptem os métodos analíticos às suas necessidades específicas. Além disso, promovem um ambiente propício para abordagens inovadoras e criativas no desenvolvimento de métodos, facilitando a exploração de novos caminhos em química analítica (CAPELLA et al., 2019; MAYER; BAEUMNER, 2019).

Estes dispositivos além de apresentar boa seletividade e sensibilidade, apresentam outras vantagens, tais como: i) simplicidade de uso; ii) baixo custo de aquisição; iii) portabilidade; e iv) facilidade de integração de tecnologias Bluetooth ou Wi-Fi para o monitoramento em tempo real. Ainda pode destacar-se como vantagens, a diminuição da geração de resíduos, pois trabalha com quantidades reduzidas de amostras e reagentes, constituindo assim, uma abordagem sustentável e amiga do ambiente.

CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver procedimentos analíticos portáteis empregando sensores óticos para a determinação de espécies de interesse ambiental e em alimentos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Construir dispositivos IoT, empregando sensores RGB e avaliar diferentes fontes de iluminação da amostra para a determinação de nitrito em águas
- b) Desenvolver um procedimento analítico para determinação de formaldeído em leite empregando o sensor AS 7341.
- c) Desenvolver um procedimento analítico para determinação de glicerol em vinho empregando o sensor AS 7341.

CAPÍTULO 3 -DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO IoT PORTÁTIL PARA DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE NITRITO EM ÁGUAS



3.1 INTRODUÇÃO

O íon nitrito (NO_2^-) é um ânion monovalente e molecular, uma base conjugada do ácido nitroso (HNO_2), um ácido fraco com $\text{pK}_a \sim 3,37$. Em pequenas quantidades, o nitrato e nitrito são importantes para manutenção da reserva de nutrientes essenciais para o crescimento de microrganismos aquáticos e preservação da vida nos corpos hídricos (FRONTMATTER, 2001).

O íon nitrito é formado pela oxidação do íon amônio, por ação das bactérias *Nitrosomonas* no solo, num processo conhecido como nitrificação. Este processo é representado pela seguinte equação química: $2\text{NH}_4^+ + 3\text{O}_2 \rightarrow 2\text{NO}_2^- + 4\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O} + 66 \text{ kcal}$. No meio ambiente, o nitrito é um intermediário importante no ciclo de Nitrogénio, visto que o processo de nitrificação fornece a energia necessária ao crescimento dos microrganismos do solo, assim como a formação de íon nitrato.

Em condições naturais, a concentração de nitrito em águas naturais é muito baixa e, raramente, é superior a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Entretanto, o íon nitrito é adicionado ao ambiente como consequência do lançamento de resíduos industriais e esgotos domésticos, assim como da decomposição de compostos orgânicos nitrogenados e uso de fertilizantes na adubação do solo. No Brasil, estabeleceu-se a concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, como limite máximo permitido de íon nitrito em águas doces (BRASIL, 2005, 2011). O consumo de água com níveis elevados de nitrito pode provocar problemas de saúde.

A principal preocupação com a ingestão de água com altos níveis de nitrito é o risco de metahemoglobinemia, isso porque quando atinge o estômago, o íon nitrito é absorvido para a corrente sanguínea, onde vai reagir com a OxiHemoglobina (OxiHb) oxidando-a a metahemoglobina (MeHb) (MCKNIGHT et al., 1999). Devido à incapacidade da MeHb se ligar de uma forma reversível ao oxigênio, ocorre uma diminuição drástica no transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos, provocando sintomas como falta de ar, cianose (coloração azulada da pele e mucosas), fadiga e confusão mental. Em casos graves, a metahemoglobinemia pode ser fatal, especialmente em crianças.

A literatura mostra que em 1945, nos EUA ocorreu a morte de vários recém-

nascidos por metahemoglobinemia como consequência da ingestão de fórmula alimentar infantil preparada com água de poços contaminadas com nitrato e bactérias redutoras de nitrato. Por causa da coloração azulada da pele e mucosas, a meta-hemoglobinemia também é conhecida como “síndrome do bebê-azul”. Devido à toxicidade, há uma necessidade de monitorar o teor de nitrito em águas naturais, constituindo assim um parâmetro de qualidade da água.

Na literatura existem inúmeras propostas de metodologias para a determinação de nitrito em amostras água e alimentos, envolvendo técnica espectrofotométrica (AYALA et al., 2012; AYDIN; ERCAN; TAŞCIOĞLU, 2005; BAEZA; BARTROLÍ; ALONSO, 2005; BAEZA et al., 2006; BAHADORAN et al., 2016; BUDANOVA; FOUREST; MASLENNIKOV, 2009; BURAKHAM et al., 2004; CZUGALA et al., 2013; ENSAFI; REZAEI; NOUROOZI, 2004; GIUSTARINI et al., 2004; HIRATA; KARTHIKEYAN; KAJIYA, 2004; JAWORSKA, 2005; KUZNETSOV; ZEMYATOVA; ERMOLENKO, 2005; LIN et al., 2018; LÓPEZ PASQUALI; FERNÁNDEZ HERNANDO; DURAND ALEGRÍA, 2007; MELCHERT; INFANTE; ROCHA, 2007; MERUSI et al., 2010; NAGARAJ et al., 2008; NAGARAJA et al., 2010; NGUYEN et al., 2018^a; OLIVEIRA; LOPES; RANGEL, 2004; PENA-PEREIRA et al., 2020; PUANGPILA et al., 2018; RAMOS; CAVALHEIRO; CAVALHEIRO, 2006; VIDAL et al., 2018; XIONG et al., 2016; ZHANG et al., 2014), fluorimétrica (FERNÁNDEZ-ARGÜELLES et al., 2004; HUANG et al., 2006; TAKAHAMA; HIROTA; ONIKI, 2006; ZHAN et al., 2001), eletroanalítica (BADEA et al., 2001; MANEA et al., 2010; SHARIAR; HINOUE, 2010), quimiluminescência (HE et al., 2007; NOROOZIFAR et al., 2007; RODRIGUES; LAPA, 2010; YUE; SONG, 2006) e cromatográfica (HELALEH; KORENAGA, 2000; ODAMATANI et al., 2011).

Os métodos espectrofotométricos são mais amplamente explorados, para a determinação de nitrito, devido aos baixos limites de detecção, rapidez, simplicidade e variedade de reagentes cromogênicos. A clássica reação de *Griess*, utilizando o ácido sulfanílico ou a sulfanilamida e o N-(1-naftil) etilenodiamina (NED), é a mais utilizada. O íon nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido formando um sal de diazônio que reage por acoplamento com cloridrato de NED formando um diazo composto, de coloração rosa avermelhada. O produto formado apresenta comprimento de onda de máxima absorção na faixa entre 500 e 600 nm (CZUGALA et al., 2013; NGUYEN et al.,

2018a; PUANGPILA et al., 2018; RAMOS; CAVALHEIRO; CAVALHEIRO, 2006; VIDAL et al., 2018).

Atualmente, além das características analíticas do procedimento desenvolvido, se exige igualmente que o método seja ambientalmente correto, seguindo o princípio da química verde. Tais exigências são alcançáveis pela redução do volume de amostra e reagente, assim como a redução da geração de resíduos químicos (ABDUSSALAM-MOHAMED; QASEM; ERRAYES, 2020; GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013; KOEL; KALJURAND, 2006). Para desenvolver um procedimento que atenda, não só às exigências analíticas, mas também a perspectiva ambiental, está ocorrendo a miniaturização dos instrumentos analíticos. Isso porque segundo AMOUZEGARA et al. (2022) os sistemas miniaturizados tornam a análise mais eficientes, portátil e de baixo custo. Com a redução do volume de amostras e reagentes, menos resíduos serão produzidos.

A miniaturização permite o desenvolvimento de dispositivos portáteis como espectrofotômetros UV-Vis, UV-Vis-NIR e IR (AMOUZEGARA et al., 2022). Os dispositivos miniaturizados para a técnica espectrofotométrica, em geral, são constituídos por três elementos: sistema de detecção, fonte de radiação e microcontrolador. Essa combinação permite o desenvolvimento de procedimentos simples e de baixo custo.

O surgimento de módulos *wi-fi* de baixo custo, fáceis de interagir com microcontroladores e sensores ópticos, está impulsionando o desenvolvimento de dispositivos analíticos portáteis (CADEADO et al., 2022; FITZPATRICK; BRIEN; LEY, 2020; MAYER; BAEUMNER, 2019; NGUYEN et al., 2018b). A integração da IoT nos dispositivos de química analítica catalisou um progresso considerável no monitoramento remoto e tempo real da qualidade ambiental e alimentar (MAYER; BAEUMNER, 2019). Foi na perspectiva de projetar e construir um dispositivo portátil sem fio, baseado no método de *Griess*, para determinação *in situ* de nitrito em águas que o presente trabalho foi desenvolvido. O dispositivo foi baseado na técnica colorimétrica e na utilização de um sensor RGB como detector e um LED verde foi selecionado como fonte de luz.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados neste trabalho possuem um elevado grau de pureza analítica e foram preparados empregando água ultrapura de resistividade de 18,2 MΩ.cm (sistema Milli-Q Direct-Q3, Millipore, MA, EUA).

A solução estoque contendo 1000 mg L⁻¹ de nitrito foi preparada dissolvendo quantidades apropriadas de nitrito de sódio (NaNO₂, Éxodo científica, Brasil). Esta solução foi posteriormente padronizada por meio de titulação permanganométrica. Foram preparadas soluções de referência de nitrito na faixa de 0,0 – 1200 ppb, por diluições sucessivas da solução estoque.

O reagente de *Griess* foi preparado pela adição de 10 mL de ácido fosfórico 85% (Vetec, Brasil) em 50 mL de água destilada em um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, 1,0 g de sulfanilamida (Vetec, Brasil) foi dissolvido completamente nessa solução. Posteriormente, 0,10 g de dicloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina (pureza >98%, Sigma-Aldrich, Alemanha) foi adicionado, completando o volume com água deionizada. É importante ressaltar que essa solução possui estabilidade de aproximadamente um mês e deve ser armazenada em um frasco âmbar, sob condições refrigeradas (BAIRD; EATON; RICE, 1990b).

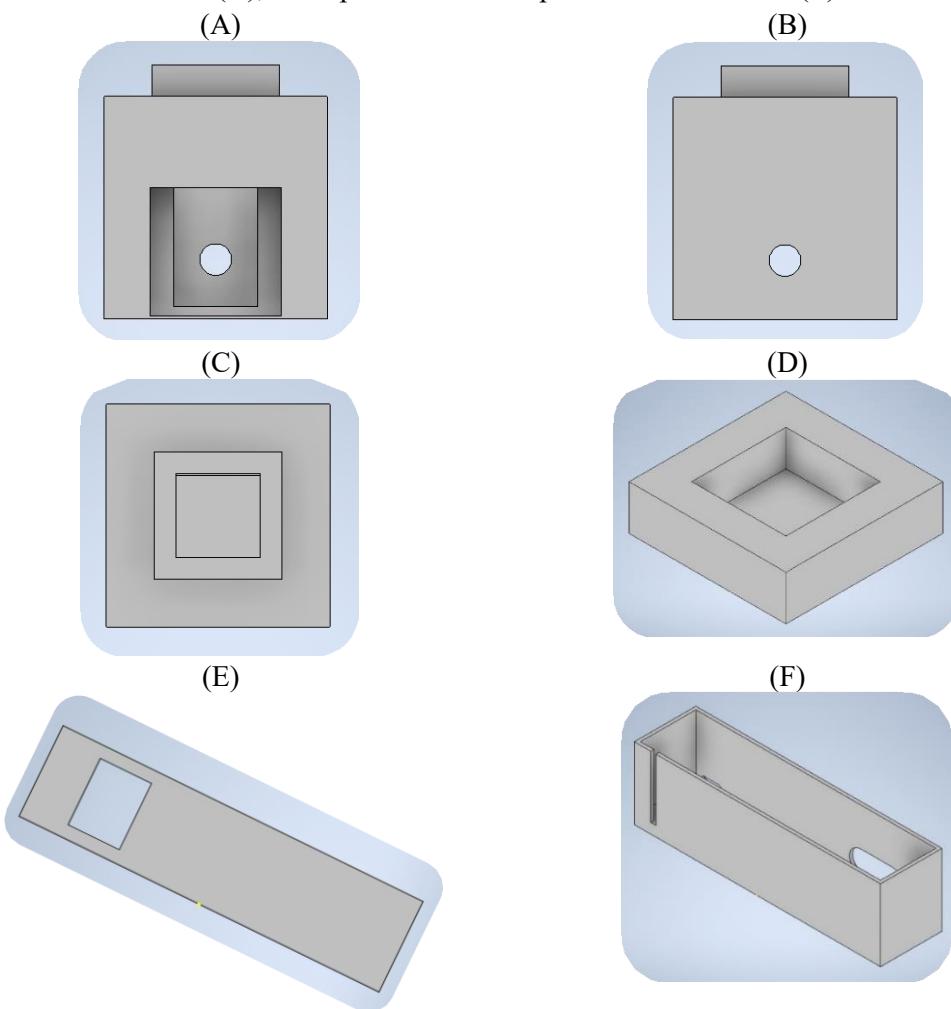
3.2.2 Equipamentos e acessórios

Os espectros de absorção do produto da reação de *Griess*, assim como os espectros de emissão dos LEDs foram obtidos empregando um sistema de detecção multicanal baseado em um arranjo de CCD (*Ocean Optics*, USB 2000). Foi usado também o espectrofotômetro convencional (FEMTO 600S), equipado com uma cela de vidro de 1,0 cm de caminho ótico, para medidas quantitativas envolvendo métodos espectrofotométricos de referência para comparação de exatidão dos procedimentos propostos.

Foi desenhado um suporte de cubetas utilizando o *software Autodesk Inventor*, com o objetivo de acomodar cada sensor utilizado no experimento, com as seguintes dimensões: 40 mm (altura) x 30 mm (comprimento) x 30 mm (largura), como ilustram as Figuras 8A até 8D. Esses suportes personalizados permitiram acomodar os sensores de

forma segura e adequada, garantindo uma correta medição e facilitando a realização dos experimentos. Também foi desenhada uma caixa para acomodar o ESP 32 conectado à bateria, com as seguintes dimensões: 30 mm (altura) x 120 mm (comprimento) x 35 mm (largura), como mostram as Figuras 8E e 8F. Estes desenhos foram fabricados utilizando uma impressora 3D (modelo A2 Core, GTMax, Brasil) e filamento de Ácido Poliláctico (PLA) de cor branca.

Figura 8: Desenho ilustrando o porta cubeta usado para a determinação de nitrito em amostras de águas, em vista (A) frontal, (B) posterior e (C) superior, assim como a tampa do porta cubeta na vista inferior (D), caixa para acomodar a placa ESP 32 na vista (E) frontal e (F) lateral.



Nesta pesquisa, dois sensores de cor RGB (TCS 34725 e APDS 9960) foram avaliados quanto à sua aplicabilidade em termos de sensibilidade e desempenho analítico. Ambos são baseados em matrizes de fotodiodos com filtros seletivos. Cada sensor é composto por uma matriz 4 x 3 de diodos que representam as cores vermelho, verde, azul e clean, sendo que este último fornece os sinais sem filtro, permitindo a captação não seletiva de radiação eletromagnética do espectro visível. Características detalhadas dos

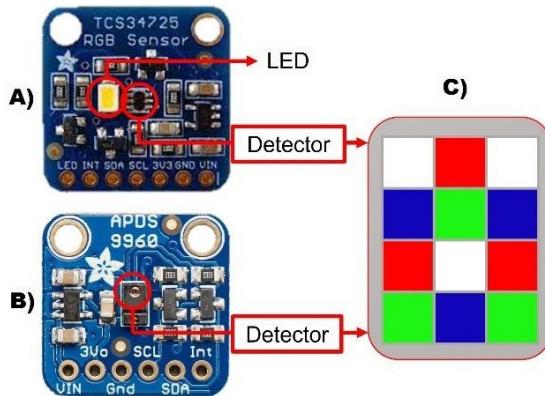
sensores RGB, como dimensões, ganho e tempo de integração, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Características dos sensores RGB usados nesse trabalho

Parâmetros	TCS 34725	APDS 9960
Dimensões	2,4 mm x 2,0 mm x 0,65 mm	3,94 mm x 2,36 mm x 1,35 mm
Ganho	1x, 4x, 16x e 60x	1x, 4x, 16x e 64x
Tempo de integração	2,4 ms – 614 ms	2,78 ms – 712,8 ms

O sensor TCS 34725 é um sensor RGB que apresenta um LED embutido (Figura 9A), podendo se explorar medidas de reflectância. No sensor APDS 9960 explora-se as medidas de absorbância porque este sensor não tem um LED embutido (Figura 9B), por isso, sempre se usa um LED externo. A Figura 9C mostra uma representação esquemática da disposição da matriz de diodo 4x3 no detector dos dois sensores RGB.

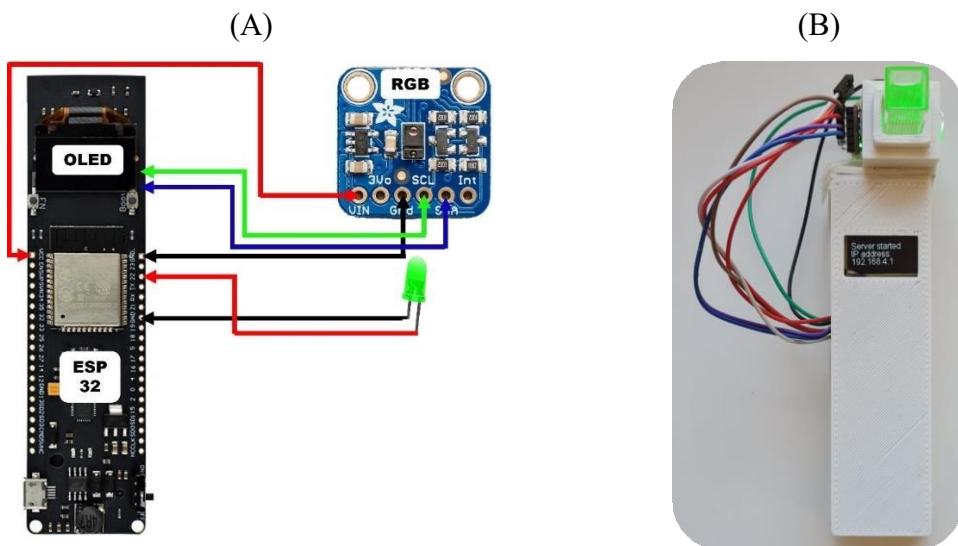
Figura 9: Foto ilustrando a localização do LED e do sistema de detecção no sensor (A) TCS 34725 e (B) APDS 9960; (C) representação esquemática da disposição da matriz de diodo 4x3 no detector dos sensores RGB.



As respostas dos sensores RGB (TCS 34725 e APDS 9960) foram obtidas empregando o espectrofotômetro FEMTO 600s, conforme previamente relatado por OLIVEIRA et al. (2022), que consiste em colocar o sensor diretamente no suporte de cubetas do espectrofotômetro, centralizando a radiação emitida do equipamento diretamente no detector do sensor, monitorando o sinal RGB pela variação do comprimento de onda de 400 à 700 nm.

Os sensores foram conectados a um microcontrolador ESP 32 (Filipeflop, Brasil), que atua como a unidade central de processamento para receber e executar comandos (Figura 10). Este microcontrolador apresenta um display OLED (do inglês, *Organic Light Emitting Diode*) e foi alimentado por uma bateria de íon de lítio 18650 (3,7 V, 4800 mAh), recarregável por um cabo micro USB. A plataforma Arduino IDE foi utilizada como ambiente de programação para o ESP 32 e dos sensores empregados neste trabalho. O Arduino IDE é um software gratuito que permite o desenvolvimento e a gravação de códigos utilizando a linguagem de programação C/C++.

Figura 10: (A) Esquema de conexão da placa ESP 32 com o sensor RGB e LED verde.
(B) Foto ilustrando o dispositivo montado.



Nesse trabalho foram avaliadas três diferentes fontes de iluminação: LED SMD, do inglês, *Surface Mounted Device*, LED Branco e LED verde. O LED foi posicionado a 180 graus em relação ao detector, direcionando a radiação emitida diretamente para o detector do sensor e foi alimentado através da conexão dos pinos GND e 3,3 V do ESP 32. O custo do dispositivo é de US\$ 53,7 como pode se verificar na Tabela 4.

Tabela 4: Custo por cada componente do dispositivo e valor total para montar o dispositivo portátil para determinação *in situ* de nitrito em água

Nome Componente	Quantidade	Valor (US\$)
Placa ESP 32 com OLED	1	30,0
Sensor TCS 34725	1	7,0
Sensor APDS 9960	1	8,0
Bateria de Li recarregável	1	6,2
LED branco SMD	1	0,1
LED branco alto brilho	1	0,2
LED verde alto brilho	1	0,2
Jumpers macho & fêmea	1 kit	2,0
Total		53,7

A placa ESP 32 foi configurada como ponto de acesso à rede Wi-Fi e conectada ao smartphone. Um software baseado em HTML e C/C++ foi desenvolvido para controlar as medições, exibindo os resultados em tempo real e transmitindo-os ao smartphone através do navegador web no endereço <http://192.168.4.1> (Figura 11). Com esse software, o usuário pode convenientemente selecionar ligar ou desligar o LED verde externo na interface gráfica e realizar as medições. Todas as medições dos três canais são registradas no display até que seja feito um novo click para realizar uma nova medição. O valor (S) de absorbância foi obtido pela seguinte relação matemática: $S = -\log I/I_0$, onde S é o valor de absorbância; I é sinal obtido da amostra e I_0 é o sinal obtido do branco.

Figura 11: Foto do dispositivo montado e tela do smartphone conectado ao dispositivo via navegador web, exibindo a interface gráfica dos comandos operacionais (on/off do LED e Measurements) e dos resultados nos canais Red, Green e Blue.



Também foi usada a câmera digital de smartphone (TECNO Spark4, Android 9 HiOS v6.2.0 Pie, com resolução de 13 MP) para a aquisição das imagens. Para tal, foi desenhada uma caixa (Figura 12) de cor preta, com as seguintes dimensões: 80 mm (altura) x 120 mm (comprimento) x 80 mm (largura). O ambiente foi iluminado com LEDs brancos e a distância focal foi de 80 mm. O processamento e análise das imagens foi feita com o *software ImageJ*.

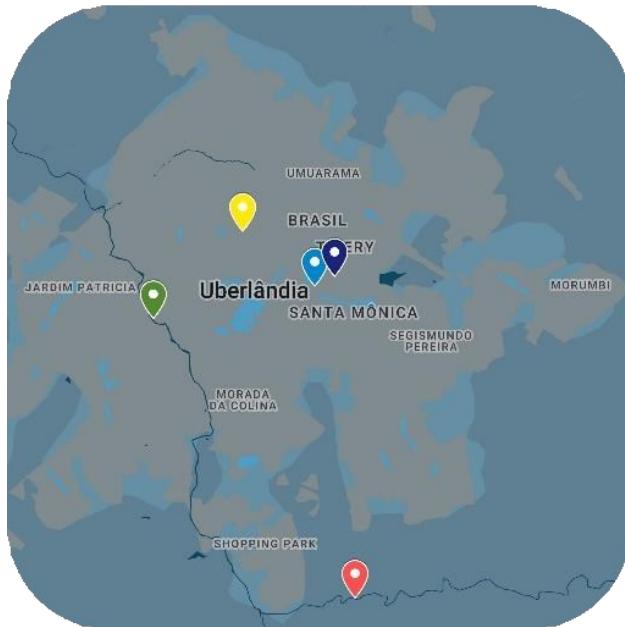
Figura 12: Desenho (A) e foto (B) ilustrando a caixa usada para a aquisição de imagens pela câmera digital de smartphone.



3.2.3 Amostras e Procedimentos

Foram coletadas nove amostras de água na cidade de Uberlândia, sendo cinco amostras de água de chuva, coletadas entre os dias 28/03/2022 e 08/04/2022 no Bairro Santa Mônica, duas amostras de água do rio Uberabinha, uma amostra de água mineral, adquirida no comércio local de Uberlândia, e uma amostra de água da torneira, coletada no dia 08/04/2022 no Bairro Roosevelt, como mostra o mapa na Figura 13. As amostras de água foram armazenadas sob refrigeração (4 °C) e foram analisadas após filtração.

Figura 13: Mapeamento dos pontos de coleta de amostras de água: ⬇️ no Bairro Santa Mônica (coordenadas: -18.91226, -48.25382), ⚡ no rio Uberabinha ponto 1 (coordenadas: -18.992437, -48.247994), ⬇️ no rio Uberabinha ponto 2 (coordenadas: -18.920358, -48.303056), ⚡ no Bairro Roosevelt (coordenadas: -18.89781, -48.27866) e ⬇️ no comércio local de Uberlândia.



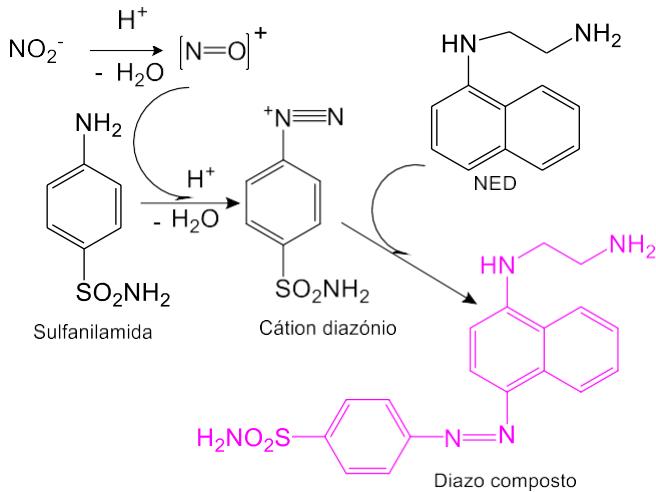
Para a determinação de nitrito foram adicionados 20 μL do reagente de *Griess* a um tubo de ensaio contendo 500 μL da amostra ou soluções de referência de nitrito e misturou se manualmente. Depois de 10 min, a solução foi transferida para uma cubeta semi-micro de poliestireno e fez se as medições.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Caracterização

A determinação do íon nitrito em água foi baseada no método de *Griess*, no qual o íon nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido, resultando na formação de um sal diazônio de coloração vermelha (RAMOS; CAVALHEIRO; CAVALHEIRO, 2006), segundo o esquema de reação na Figura 14. Esse método é amplamente explorado em diversos trabalhos na literatura para a determinação de nitrito em amostras de água (BAEZA; BARTROLÍ; ALONSO, 2005; CZUGALA et al., 2013; HIRATA; KARTHIKEYAN; KAJIYA, 2004; LIN et al., 2018; MELCHERT; INFANTE; ROCHA, 2007; NGUYEN et al., 2018a; PENA-PEREIRA et al., 2020; PUANGPILA et al., 2018; VIDAL et al., 2018; XIONG et al., 2016).

Figura 14: Esquema de reação do método de Griess



Fonte: Autor (2023)

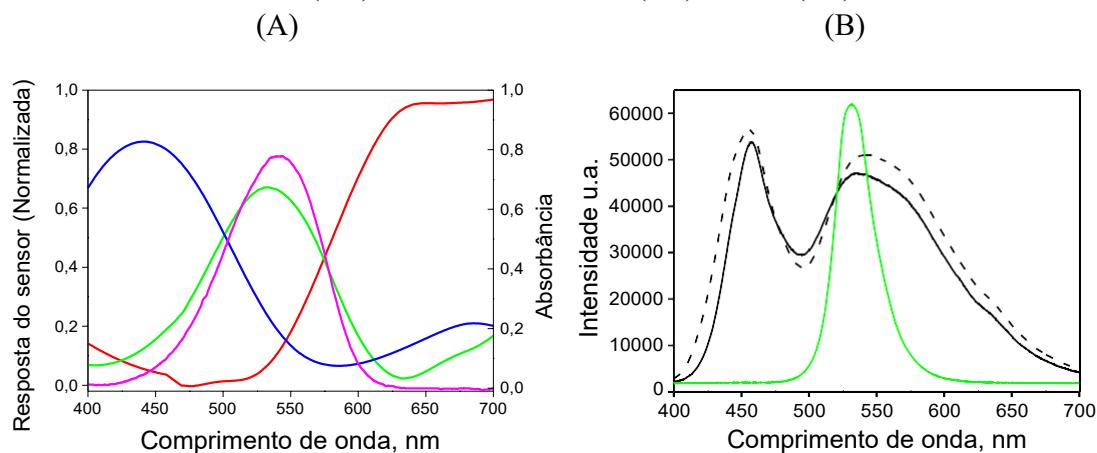
Foi feita uma avaliação comparativa de dois sensores RGB (TCS 34725 e APDS 9960). Em um trabalho anterior do grupo de pesquisa (*Smart UFU*) foi avaliada a resposta do sensor RGB TCS 34725. Para o sensor APDS 9960 não há dados na literatura sobre a sua utilização para fins analíticos. Usou-se um espectrofotômetro comercial (FEMTO 600) para avaliar a resposta do sensor APDS 9960.

A Figura 15A ilustra as respostas RGB para cada comprimento de onda avaliado (incremento de 1 nm). O perfil espectral da resposta do sensor APDS 9960 foi normalizado em função do *Clear* e é similar ao perfil obtido pelo sensor TCS 34725, obtido por OLIVEIRA et al. (2022). Essas similaridades nas respostas dos sensores TCS 34725 e APDS 9960 constituem um indicativo de que ambos apresentam um desempenho equivalente, o que valida a utilização do sensor APDS 9960 como uma alternativa viável para a aplicação proposta. O produto formado na reação de *Griess* apresenta um espectro com pico máximo de absorção em 540 nm (BAIRD; EATON; RICE, 1990a), sobrepondo assim a melhor resposta do sensor do canal G, como mostra a Figura 15A.

Também fez se a caracterização dos LEDs usados nesse trabalho. O LED SMD foi escolhido por ser similar ao LED utilizado no sensor TCS 34725 (GREENAWALD et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2022). O LED branco de alto brilho é semelhante aos que são embutidos nos sensores de cor TCS 230 e TCS 3200 empregue por DE MORAIS et al. (2015), PAZZI, PISTOIA e ALBERTI (2022) e SINGH et al. (2020) para fins analíticos. Enquanto o LED verde foi selecionado como fonte de luz no trabalho, por ser

a cor complementar do produto formado na reação entre o nitrito e o reagente de *Griess*, o que potencializa a sensibilidade da detecção. Os espectros de emissão dos LEDs foram obtidos usando um sistema de detecção multicanal baseado em um arranjo de CCD (*Ocean Optics*, USB 2000), abrangendo a faixa de comprimento de onda visível, situada entre 400 e 700 nm (Figura 15B).

Figura 15: (A) Perfil espectral da resposta do sensor APDS 9960 para canal R (—), G (—) e B (—); e espectro de absorção do produto da reação de *Griess* (—); (B) espectro de emissão do LED SMD (---), branco de alto brilho (—) e verde (—).



De acordo com o observado na Figura 15B, o LED SMD branco e o LED branco de alto brilho mostraram-se praticamente idênticos em termos espetrais, exibindo emissão de luz em toda faixa da região de visível. Enquanto o LED verde, emite na faixa de 500 – 570 nm e tem um pico máximo de emissão em 530 nm. Com isso pode ver-se que o espectro de emissão do LED verde se sobrepõe com o espectro de absorção do produto azo, que seu pico de absorção máxima está em 540 nm, o que corresponde à resposta do sensor do canal G. A partir deste momento escolheu-se monitorar apenas o sinal no canal G.

3.3.2 Otimização

Empregando o sensor APDS 9960 como detector e o LED verde como fonte de luz, fez-se a otimização do procedimento, usando o método univariado com vista a alcançar melhores respostas analíticas, como sensibilidade e precisão. Esse processo consistiu em avaliar o efeito de condições químicas e instrumentais no sinal analítico.

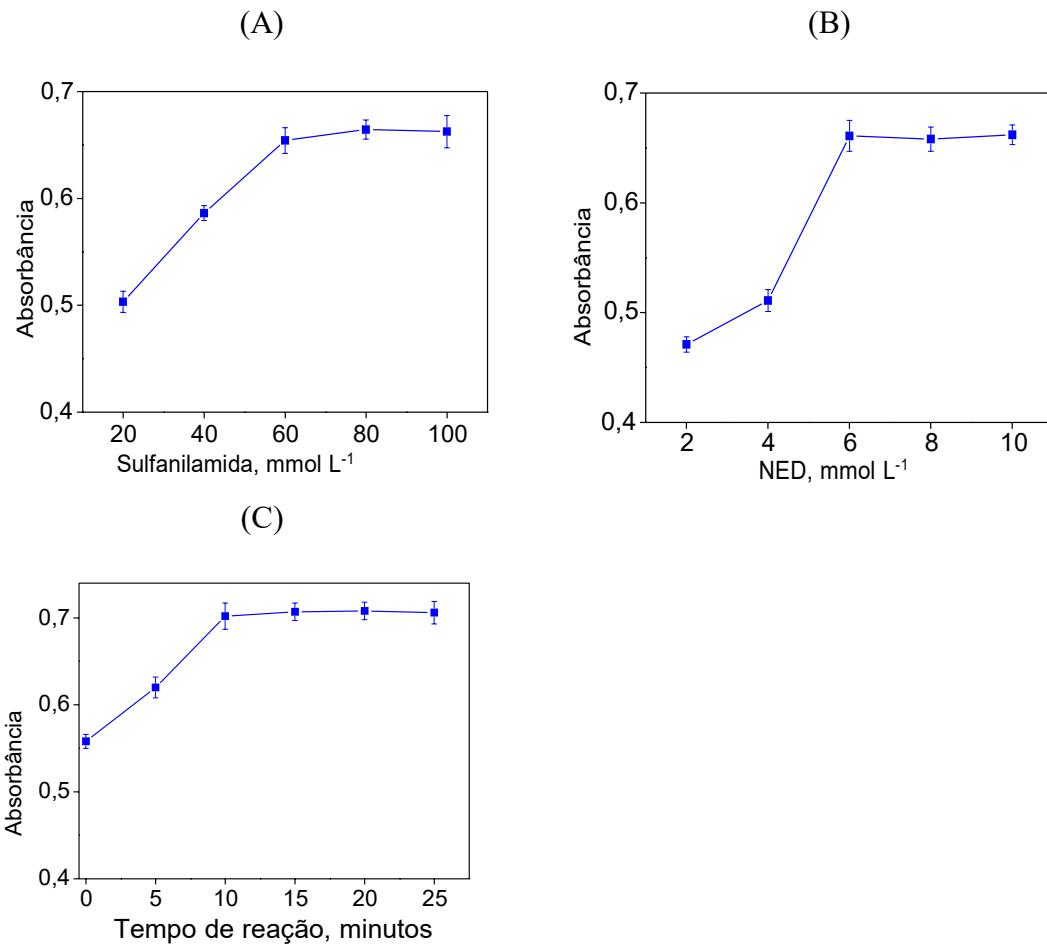
A concentração dos reagentes e o tempo de reação foram as condições químicas avaliadas nesse trabalho. Estudou-se o efeito de sulfanilamida (SA) no sinal analítico de

uma solução padrão de nitrito ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$). A faixa de avaliação foi de 20 a 100 mmol L^{-1} . Verificou-se que o sinal analítico aumentava, com o aumento da concentração até 60 mmol L^{-1} e depois manteve-se constante (Figura 16A). Esses resultados são similares aos obtidos por BAEZA, BARTROLI e ALONSO (2005), CZUGALA et al. (2013), LIN et al. (2018), MELCHERT, INFANTE e ROCHA (2007), MIRANDA, ESPEY e WINK (2001). Definiu-se como a condição ótima de SA para estudos posteriores 80 mmol L^{-1} (BAIRD; EATON; RICE, 1990a).

A outra condição química foi a concentração de NED. Para tal, fez-se a medida do sinal analítico de uma solução padrão de nitrito ($1,0 \text{ mg L}^{-1}$) na faixa de 2 a 10 mmol L^{-1} de NED. Constatou-se que o sinal analítico aumentava com a concentração até 6 mmol L^{-1} e, depois manteve-se constante (Figura 16B). Escolheu-se como concentração ótima 6 mmol L^{-1} para estudos posteriores. Esses dados são idênticos aos obtidos por AYALA et al. (2012), BAEZA, BARTROLI e ALONSO (2005), CZUGALA et al. (2013), MELCHERT, INFANTE e ROCHA (2007), MIRANDA, ESPEY e WINK (2001) e PUANGPILA et al. (2018) e estão de acordo BAIRD, EATON e RICE (1990). Também foi feito o estudo cinético da reação para avaliar o efeito do tempo de reação no sinal analítico, do qual verificou-se que os maiores sinais analíticos foram obtidos a partir de 10 min de reação (Figura 16C). Assim, definiu-se este como o tempo ótimo para os estudos subsequentes, concordando com BAIRD, EATON e RICE (1990), NGUYEN et al. (2018), PUANGPILA et al. (2018) e VIDAL et al. (2018).

De forma similar, estudou-se o efeito das condições instrumentais: ganho do sensor e tempo de integração, tendo se verificado que os maiores sinais foram obtidos no ganho de 16x e 700 ms de tempo de integração. Acima deste ganho, o sinal analítico saturava, atingindo 255 da escala RGB.

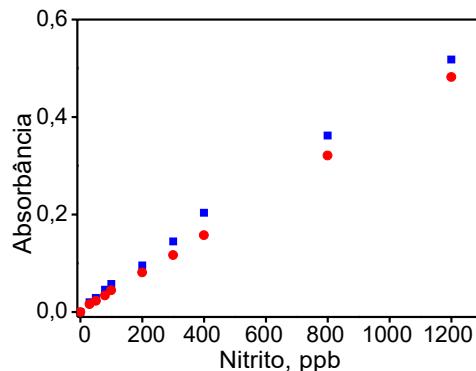
Figura 16: Efeito (A) da concentração de sulfanilamida, (B) de N-(1-naftil) etilenodiamina - NED e (C) tempo de reação no sinal analítico para $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ obtido pelo sensor RGB



3.3.3 Características analíticas

O desempenho analítico dos sensores foi avaliado utilizando os três LEDs como fonte de luz. Para essa análise, foram construídas curvas de calibração de nitrito utilizando o método de *Griess*. O sensor APDS 9960 não possui um LED embutido e pela dificuldade de inserir um LED no sensor no mesmo plano que do sensor TCS 34725, optamos por fazer um estudo inicial para verificar o efeito da posição do LED nas características analíticas. Para tal, usou-se o sensor TCS 34725 e duas fontes de iluminação, nomeadamente o LED nativo do sensor que está posicionado a 5° em relação ao detector e um LED SMD externo, posicionado a 180° em relação ao detector. As curvas analíticas obtidas empregando tanto o LED nativo quanto o LED SMD externo estão ilustradas na Figura 17.

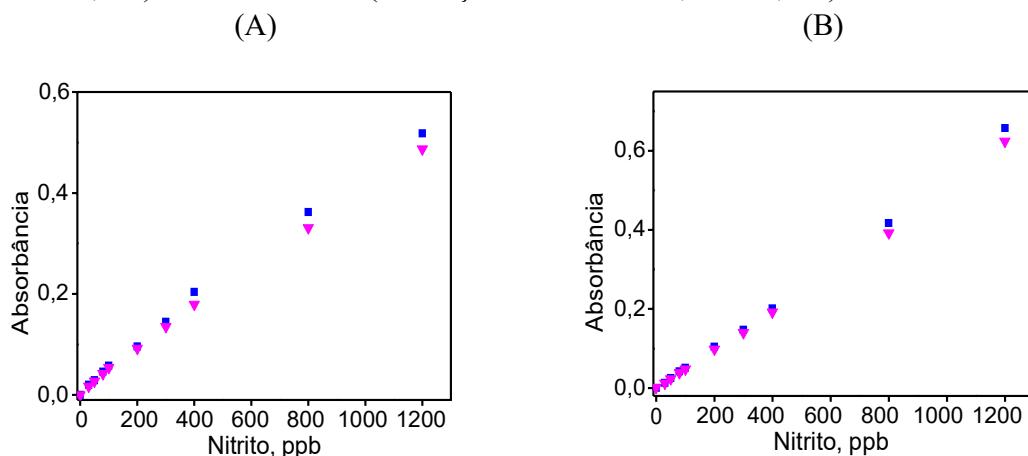
Figura 17: Curvas analíticas para soluções de nitrito obtidas com o sensor TCS 34725 usando ● LED nativo posicionado 5° em relação ao detector (inclinação da curva: $a = 0,399 \pm 0,005$) e ■ LED SMD externo posicionado 180° em relação ao detector (inclinação da curva: $a = 0,431 \pm 0,009$)



Os resultados obtidos para ambas as posições (5° e 180°) do LED foram concordantes, com diferenças inferiores a 8% no valor da inclinação da curva analítica, indicando que ambas as estratégias são satisfatórias para promover iluminação adequada. Com esses resultados, definimos o uso do LED externo posicionado a 180°, como uma condição uniforme para comparar o desempenho dos sensores RGB (TCS 34725 e APDS 9960).

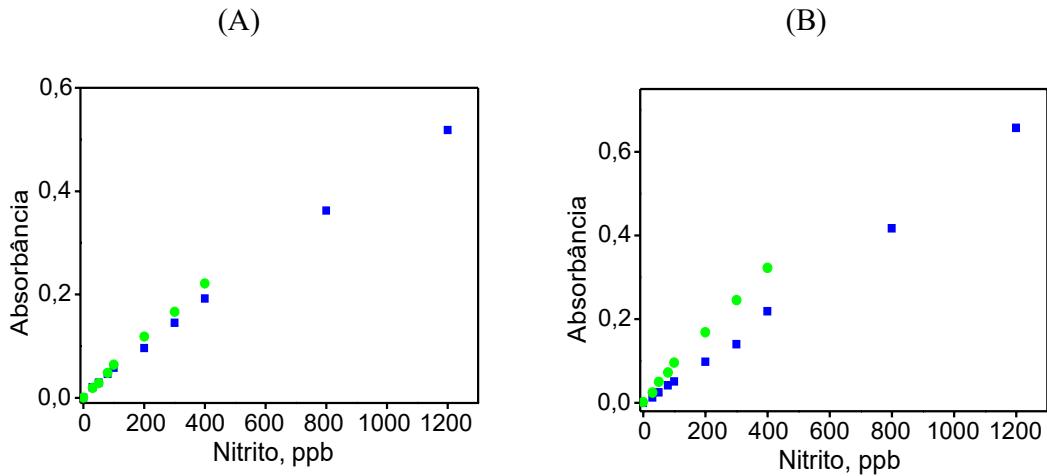
Os LEDs SMD e branco de alto brilho apresentaram características espectrais idênticas, como foi mostrado na Figura 15B. Devido a essas similaridades, comparou-se as características analíticas dos dois sensores usando esses LEDs externos como fonte de luz. As curvas analíticas obtidas empregando tanto o LED SMD, como LED branco para dois sensores estão ilustradas na Figura 18.

Figura 18: Curvas analíticas para soluções de nitrito obtidas com o sensor (A) TCS 34725 usando ■ LED SMD (inclinação da curva: $a = 0,431 \pm 0,009$) e ▼ LED branco (inclinação da curva: $a = 0,402 \pm 0,007$) e (B) APDS 9960 usando ■ LED SMD (inclinação da curva: $a = 0,543 \pm 0,016$) e ▼ LED branco (inclinação da curva: $a = 0,514 \pm 0,011$)



As curvas analíticas obtidas tanto com sensor TCS 34725, como com APDS 9960 não apresentaram diferenças significativas. Esses dados evidenciam a similaridade entre o uso de LED SMD e o LED branco nas características analíticas deste procedimento. Na etapa seguinte, fez-se o comparativo entre as características obtidas nos dois sensores usando o LED SMD, com as características obtidas usando o LED verde. As curvas analíticas obtidas para dois sensores estão na Figura 19. Observou-se que o uso do LED verde permitiu melhorar a sensibilidade em 46% para o sensor APDS 9960 e 27% para o sensor TCS34725 em comparação com a curva em que usou o LED branco.

Figura 19: Curvas analíticas para soluções de nitrito obtidas com o sensor (A) TCS34725 usando ■ LED SMD (inclinação da curva: $a = 0,431 \pm 0,009$) e ● com LED verde (inclinação da curva: $a = 0,549 \pm 0,001$) e (B) APDS 9960 usando ■ LED SMD (inclinação da curva: $a = 0,543 \pm 0,016$) e ● com LED verde (inclinação da curva: $a = 0,796 \pm 0,002$)



As características analíticas dos sensores RGB com dois tipos de iluminação, LED branco e verde, foram comparadas com os resultados obtidos por meio de uma câmera de smartphone e um espectrofotômetro convencional, como mostrado na Tabela 5.

Tabela 5: Características analíticas do procedimento proposto usando sensores RGB (TCS 34725 e APDS 9960) comparadas com as obtidas com câmera de smartphone e espectrofotômetro convencional. Faixa linear e LD em $\mu\text{g L}^{-1}$

Detector	LED	Equação da curva	Faixa Linear	RSD ^{a)} (%)	R^2	LD ^{b)}
APDS 9960	Branco	$y = 0,543C_{\text{NO}_2^-} + 5,5 \times 10^{-3}$	30 - 1200	0,57	0,998	10
	Verde	$y = 0,796C_{\text{NO}_2^-} + 6,9 \times 10^{-3}$	6 - 400	0,45	0,997	2
TCS34725	Branco	$y = 0,431C_{\text{NO}_2^-} + 1,1 \times 10^{-2}$	30 - 1200	0,98	0,997	9
	Verde	$y = 0,549C_{\text{NO}_2^-} + 3,4 \times 10^{-2}$	20 - 400	1,07	0,998	7
Smartphone	Branco	$y = 0,450C_{\text{NO}_2^-} + 2,6 \times 10^{-2}$	60 - 1200	0,76	0,998	20
Espectrofotômetro		$y = 0,715C_{\text{NO}_2^-} + 2,3 \times 10^{-3}$	10 - 1000	0,41	0,999	4

a) n = 10 de 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^- ; b) LD = Limite de detecção

O uso do LED verde com o sensor APDS 9960 apresentou maior sensibilidade, um baixo limite de detecção ($2,0 \mu\text{g L}^{-1}$) e boa precisão (0,45 %). O LD foi determinado pelo desvio padrão das medidas em branco (σ) pela inclinação da curva analítica (a), segundo a equação: $\text{LD} = 3,3 \sigma/a$. Esses resultados fornecem informações valiosas para a seleção adequada de fonte de luz e sensor para futuras aplicações analíticas.

Avaliou-se a precisão intra e inter-dia do procedimento proposto. Para tal, foram feitas leituras do sinal em intervalos de 5 minutos até a descarga total da bateria que alimentava a placa ESP 32. Os valores de desvio padrão relativo (RSD) variaram de 1,6% a 2,5% para a precisão intra-dia e de 2,4% a 2,7% para a precisão inter-dia, quando os LEDs verde e branco foram utilizados, respectivamente. Esses dados, indicam que o método desenvolvido apresenta uma alta precisão analítica. Também se verificou que o dispositivo é capaz de operar por 7 horas contínuas, sem a necessidade de recarregar a bateria, o que confere ao método uma maior autonomia e praticidade em sua aplicação.

Na Tabela 6, é apresentada uma comparação entre algumas características do método proposto e as de diferentes procedimentos colorimétricos relatados na literatura para a determinação de nitrito. Observa-se que o procedimento proposto, demonstrou características analíticas comparáveis à maioria dos procedimentos baseados no método de Griess (AYALA et al., 2012; AYDIN; ERCAN; TAŞCIOĞLU, 2005; BAEZA; BARTROLÍ; ALONSO, 2005; CZUGALA et al., 2013; HATAMIE et al., 2018a; HIRATA; KARTHIKEYAN; KAJIYA, 2004; HUANG et al., 2006; KADOWAKI;

NAKANO; KAWASHIMA, 1999; LIN et al., 2018; MELCHERT; INFANTE; ROCHA, 2007; NGUYEN et al., 2018a; PENA-PEREIRA et al., 2020; POURREZA; FAT’HI; HATAMI, 2012; PUANGPILA et al., 2018; VIDAL et al., 2018; XIONG et al., 2016; YUE; ZHANG; YAN, 2004) e, além disso, apresentou um limite de detecção ligeiramente inferior. Esses resultados ressaltam a viabilidade do método proposto para a determinação de nitrito, oferecendo uma opção confiável para futuras aplicações em análises químicas.

Tabela 6: Comparação do método proposto com outros procedimentos relatados para determinação de nitrito.

Método/detecção	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Referência
Métodos baseados em Griess				
Sensor RGB (APDS 9960) com LED verde	6 - 400	2	0.45	Este método
Imagen digital (Smartphone)	50 - 10000	30	5.8	(VIDAL et al., 2018)
Imagen digital (Smartphone)	90 - 1800	30	<1	(PUANGPILA et al., 2018)
Imagen digital (Scanner)	-	55	5.9	(PENA-PEREIRA et al., 2020)
Microfluídico e Espectrofômetro	-	34	1.9	(CZUGALA et al., 2013)
Fibra óptica microfluídica	20 - 1800	7	0.37	(XIONG et al., 2016)
Sensor e Espectrofômetro	10 - 200	10	11.7	(LIN et al., 2018)
Espectrofômetro	40 - 1100	3.79	-	(NGUYEN et al., 2018a)
Espectrofômetro	70 - 5000	7	4.5	(HIRATA; KARTHIKEYAN; KAJIYA, 2004)
Espectrofômetro	0 - 3000	48	0.88	(BAEZA; BARTROLÍ; ALONSO, 2005)
Espectrofômetro	10 - 420	2.2	0.46	(AYALA et al., 2012)
Espectrofômetro	100 - 1000	8	0.8	(MELCHERT; INFANTE; ROCHA, 2007)
Outros métodos colorimétricos				
Reação com Iodeto em meio ácido	100 - 2000	25	0.6	(MELCHERT; INFANTE; ROCHA, 2007)
Reação de nitrito com nanopolímeros Zein	5 - 1000	2.3	-	(HATAMIE et al., 2018b)
Oxidação-redução por iodeto em meio ácido	8 - 120	6	3.4	(POURREZA; FAT'HI; HATAMI, 2012)
Reação redox com KBrO_3 e cristal violeta em meio ácido	30 - 300	0.3	<2	(YUE; ZHANG; YAN, 2004)
Reação de N-fenil-p-fenilenodiamina com N,N-dimetilanilina	2 - 100	0.6	2.4	(KADOWAKI; NAKANO; KAWASHIMA, 1999)
Reação com ácido barbitúrico em meio ácido	0 - 322	-	0.5	(AYDIN; ERCAN; TAŞCIOĞLU, 2005)
Reação com sal monossódico do ácido 4-amino-5-hidroxinaftaleno-2,7-sulfônico	100 - 1600	6.9	0.46	(NAGARAJA et al., 2010)
Reação com dapsona (DAP) e α -naftol	50 - 800	1.12	0.0017	
Reação com dapsona (DAP) e sal monossódico do ácido 4-amino-5-hidroxinaftaleno-2,7-sulfônico	200 - 1400	82	0.1687	(NAGARAJ et al., 2008)

3.3.4 Estudo de interferência

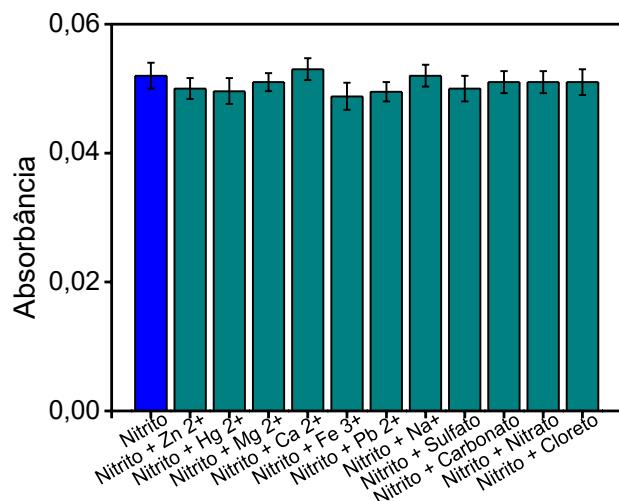
O estudo de interferência consistiu em medir o sinal de nitrito na presença de outros íons, como possíveis interferentes de acordo com a matriz. Para tal, adicionou-se os íons na proporção de 1:20, isto é, $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^- para $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ íon interferente (Figura 20). Depois de 10 min fez-se a leitura do sinal no dispositivo proposto e obteve-se os resultados apresentados na Figura 21.

Figura 20: Foto ilustrando tubos de ensaio contendo $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^- (tubo 1) e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de NO_2^- na presença de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de: Zn^{2+} (tubo 2), Hg^{2+} (tubo 3), Mg^{2+} (tubo 4), Ca^{2+} (tubo 5), Fe^{3+} (tubo 6), Pb^{2+} (tubo 7), Na^+ (tubo 8), SO_4^{2-} (tubo 9), CO_3^{2-} (tubo 10), NO_3^- (tubo 11) e Cl^- (tubo 12).



Fonte: Autor (2023)

Figura 21: Sinais de nitrito ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) e de nitrito na presença $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de íons de Zn^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Na^+ , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , NO_3^- e Cl^- obtidos pelo dispositivo proposto



Comparando os sinais na Figura 21, observam-se pequenas variações do sinal analítico (menor que 5,5 %). Isso evidencia que esses íons não interferem significativamente nesse procedimento de determinação de nitrito em amostras de água. Este resultado mostra que o procedimento proposto apresenta boa seletividade.

3.3.5 Determinação de nitrito em amostras de água

A fim de avaliar a aplicabilidade do procedimento proposto, o método otimizado foi aplicado para a determinação de nitrito em diversas amostras de água (água de chuva, água de rio, água mineral e água de torneira). Para essa análise, foram utilizados dois LEDs distintos como fonte de luz: um branco e outro verde. Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos por meio de espectrofotometria UV-vis e utilizando uma câmera de smartphone para a detecção do nitrito (Tabela 7).

Tabela 7: Resultados da determinação de nitrito em amostras de água (valores médios e incertezas, n = 3).

Amostra	Sensor APDS 9960		Smartphone	UV-Vis
	LED branco	LED verde		
	NO ₂ ⁻ ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
Água chuva 1	32 ± 5	33 ± 4	< LQ	35 ± 3
Água chuva 2	50 ± 4	39 ± 4	< LQ	41 ± 2
Água chuva 3	109 ± 3	100 ± 2	117 ± 4	103 ± 3
Água chuva 4	113 ± 4	107 ± 2	115 ± 6	108 ± 2
Água chuva 5	40 ± 2	37 ± 4	< LQ	39 ± 2
Água rio 1	62 ± 3	56 ± 2	63 ± 4	56 ± 2
Água rio 2	170 ± 2	172 ± 1	173 ± 4	174 ± 3
Água mineral	< LQ	7 ± 1	< LQ	8 ± 2
Água torneira	< LQ	9 ± 1	< LQ	10 ± 2

Os dados apresentados na Tabela 7 evidenciam a viabilidade do procedimento proposto, destacando suas vantagens em relação à espectrofotometria UV-vis e à câmera de smartphone. Quando o LED branco foi escolhido como fonte de luz, observou-se uma interferência positiva nas amostras de água de chuva (amostras 2, 3 e 4) e no rio (amostra 1). Essas interferências podem ser atribuídas a sobreposições espetrais entre as respostas do sensor RGB, especialmente no canal verde, conforme observado em estudos anteriores de determinação de ferro (OLIVEIRA et al., 2022). Além disso, as concentrações de nitrito nas amostras de água doce e de torneira estiveram abaixo do limite de detecção do sensor quando utilizado o LED branco. Nos demais casos, os resultados obtidos e o valor de t calculado a 95% de nível de confiança, evidenciam que não existem diferenças

significativas para procedimento proposto.

Através dessa comparação, é possível verificar a eficiência e o desempenho do método proposto, bem como sua capacidade de oferecer resultados precisos e confiáveis em diferentes tipos de amostras. O uso de duas fontes de luz distintas permitiu avaliar o impacto da intensidade luminosa na determinação do nitrito, fornecendo informações sobre a importância da seleção adequada da fonte de luz para diferentes cenários analíticos.

Um estudo de adição e recuperação foi realizado para avaliar possíveis efeitos da matriz. Amostras de água foram fortificadas com 25 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de nitrito. Os valores de recuperação para as amostras fortificadas estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8: Resultados do teste de adição e recuperação em amostras de água (valores médios e incertezas, $n = 3$).

Amostras	NO_2^- adicionado		Recuperação (%)
	($\mu\text{g L}^{-1}$)	LED branco	
Água da chuva 2	25	94 \pm 2	101 \pm 1
	50	104 \pm 1	94 \pm 1
Água da chuva 4	25	84 \pm 1	97 \pm 1
	50	97 \pm 1	87 \pm 2
Água da chuva 5	25	99 \pm 2	99 \pm 2
	50	101 \pm 2	102 \pm 2
Água do rio 2	25	96 \pm 1	95 \pm 1
	50	90 \pm 1	99 \pm 1

Os resultados obtidos foram satisfatórios, com recuperações variando de 84 a 104 %, demonstrando que a matriz amostral não influenciou significativamente o método proposto. Esses resultados reforçam a confiabilidade do método desenvolvido para a determinação de nitrito em diferentes tipos de amostras. A utilização do LED verde como fonte de luz mostrou-se vantajosa em relação ao LED branco, proporcionando maior sensibilidade, bem como evitando interferências espectrais. A capacidade do método de apresentar recuperações satisfatórias também atesta sua aplicabilidade em amostras ambientais complexas, garantindo a confiabilidade dos resultados analíticos.

3.4 CONCLUSÕES

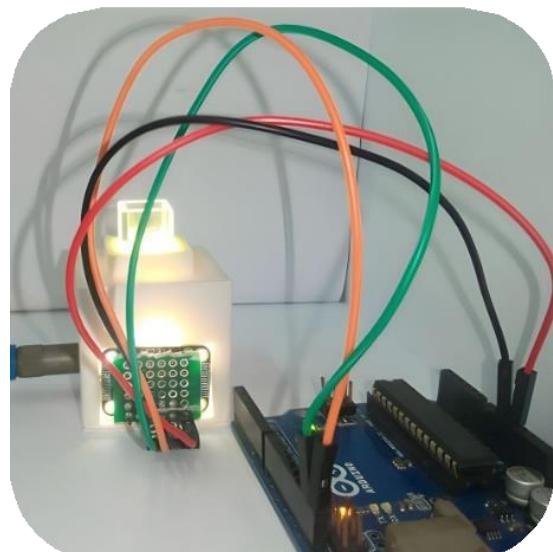
Neste estudo mostramos um dispositivo miniaturizado do tamanho da palma de uma mão para a determinação de nitrito que permite controlar e compartilhar dados de forma rápida e fácil para qualquer smartphone ou computador sem o uso de cabos, tornando o método mais prático e conveniente. Um sensor RGB foi utilizado como detector e um LED verde como fonte de luz, com uma bateria recarregável autônoma funcionando até 7 horas com bateria.

Foi demonstrado através deste trabalho que o LED verde pode ser utilizado com sucesso como fonte de luz para realizar um ensaio, e a plataforma foi aplicada à determinação de nitrito em amostras de água. Como resultado, obteve-se dispositivo portátil e barato, comprovando-se um método miniaturizado e de baixo custo para determinação *in situ* de nitrito em águas, com respostas analíticas semelhantes quando comparado ao espectrofotômetro comercial, porém a um custo significativamente menor.

Além disso, com a utilização do dispositivo proposto não há necessidade de software ou aplicativo para converter imagens digitais em valores RGB, tornando a análise mais acessível e rápida.

Tal como referenciamos anteriormente, o custo do dispositivo é de cerca US\$ 53, por isso, é barato. E é mais barato do que um smartphone médio, geralmente empregado para análise colorimétrica de imagens digitais.

CAPÍTULO 4 - MEDIDAS SIMULTÂNEAS DE REFLECTÂNCIA E FLUORESCÊNCIA PARA DETERMINAÇÃO DE FORMALDEÍDO EM LEITE USANDO UM SENSOR MULTICANAL AS 7341



4.1 INTRODUÇÃO

O leite e os seus derivados constituem alimentos muito importantes na dieta humana, visto que são fonte de nutrientes essenciais, como proteínas, lipídios, minerais e vitaminas (COLLARD; MCCORMICK, 2021; HAUG; HØSTMARK; HARSTAD, 2007; JENKINS; MCGUIRE, 2006). No entanto, a fim de prolongar a vida útil do leite, certos produtos químicos perigosos têm sido usados como aditivos no leite (GRASSI et al., 2023; QIN et al., 2022). Dentre eles, formaldeído, ácido salicílico, ácido benzoico e peróxido de hidrogênio são comumente adicionados de uma forma ilícita, aumentando assim o tempo de vida do leite (NASCIMENTO et al., 2017).

O formaldeído é um conservante adicionado ao leite para prolongar a vida útil e evitar a deterioração, é amplamente utilizado na indústria de alimentos devido às suas fortes propriedades antimicrobianas (NOWSHAD; ISLAM; KHAN, 2018). Foi demonstrado que o formaldeído inibe o crescimento de microrganismos e retarda a deterioração de produtos alimentares, incluindo o leite (NOWSHAD; ISLAM; KHAN, 2018). Além disso, é um conservante relativamente barato e fácil de usar, tornando-se uma opção atraente para os produtores de leite.

Apesar de sua eficácia como conservante, o formaldeído é um perigo potencial à saúde e pode representar riscos significativos para a saúde humana (DELIKHOON et al., 2018; ROVIRA et al., 2016; SOLTANPOUR; MOHAMMADIAN; FAKHRI, 2022). A exposição ao formaldeído tem sido associada a vários problemas de saúde, incluindo irritação respiratória e da pele, asma e câncer (REINGRUBER; PONTEL, 2018). Como resultado disso, a adição de formaldeído é considerada fraudulenta segundo BRASIL (2017), pois é proibido o emprego de substâncias químicas na conservação do leite. O uso de formaldeído como conservante de alimentos é estritamente regulamentado por agências governamentais, e a ingestão máxima aceitável para os consumidores é fixada em 3,0 mg kg⁻¹ conforme recomendado pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (*European Food Safety Authority - EFSA*, 2014a, 2014b).

A detecção e a quantificação dos níveis de formaldeído no leite é um aspecto crucial para garantir a segurança para o consumo. Diferentes técnicas foram desenvolvidas para a determinação de formaldeído em amostras de leite, incluindo

espectrofotométrica (MOLDOVAN et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2015; SARACOGLU; HAYBER, 2016; SILVA; GONÇALVES; ROCHA, 2021; SOUSA et al., 2009; VERÍSSIMO et al., 2020a), eletroquímica (XI et al., 2020) e cromatográfica (BORGES et al., 2017; JEONG et al., 2015; KIM; KIM, 2005; SEBAEI et al., 2018; WAHED et al., 2016).

Usualmente, a cromatografia tem sido empregada para a determinação dos níveis de formaldeído no leite, embora seja um processo demorado e dispendioso (FAPPIANO et al., 2022; NASCIMENTO et al., 2017). Entretanto, as técnicas óticas e espectrofotométricas têm sido introduzidas como métodos alternativos, que apresentam múltiplos benefícios sobre as metodologias cromatográficas. As técnicas óticas são amplamente utilizadas para a detecção de formaldeído em leite devido à simplicidade, baixo custo e rápido tempo de análise (FAPPIANO et al., 2022; NAGRAIK et al., 2021; NASCIMENTO et al., 2017). Um desses métodos é o método do ácido cromotrópico, que reage com formaldeído para produzir um produto roxo que pode ser medido espectrofotometricamente (GIGANTE et al., 2004; SINGH; GANDHI, 2015). As principais desvantagens deste método são a toxicidade do ácido cromotrópico, uso de ácido sulfúrico a altas temperaturas, o que levanta preocupações sobre a segurança do método para a determinação de formaldeído no leite.

Portanto, é importante explorar métodos alternativos que sejam mais seguros e sensíveis. Métodos espectrofotométricos, baseados na reação de *Hantzsch* que consiste na reação de formaldeído com acetilacetona tem a vantagem de serem altamente sensíveis e selectivos (KOCHEKOVA; TIMOFEEVA; BULATOV, 2021; NASCIMENTO et al., 2015; PÉREZ-RUÍZ et al., 2003; PINTO et al., 2019; VERÍSSIMO et al., 2020a). Esta reação é amplamente utilizada para determinação espectrofotométrica de formaldeído devido à sua alta seletividade (TEERASONG et al., 2010). O produto gerado, 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina (DDL), pode ser medido por espectrofotometria e/ou espectrofluorimetria, com alta sensibilidade para a determinação de baixas concentrações de formaldeído. Esses métodos fornecem um meio confiável para a detecção e quantificação de formaldeído no leite e outros produtos alimentícios.

Nesta perspectiva, foi desenvolvido um método para a determinação de formaldeído em leite, baseado na reação de *Hantzsch*. O método foi desenvolvido

utilizando um sensor multicanal AS 7341, capaz de determinar simultaneamente o teor de formaldeído através de fluorimetria e espectrofotometria.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados neste trabalho possuem grau de pureza analítica e foram preparados empregando água ultrapura. Solução estoque contendo 100 mg L^{-1} de formaldeído foi preparada solubilizando quantidades apropriadas do reagente (37%, m/v, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha). Esta solução foi posteriormente padronizada por meio de titulação iodométrica. As soluções de referência de formaldeído foram preparadas por diluições sucessivas da solução estoque.

Solução de ácido tricloroacético (Sigma-Aldrich) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo quantidades apropriadas do reagente em água. Tampão acetato de amônio $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich) foi preparado dissolvendo quantidades apropriadas do reagente em água e o pH desta solução foi ajustado para 5,5, usando o ácido acético. O reagente de *Nash* foi preparado a partir da solução de acetilacetona $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ em meio tampão acetato de amônio. Essa solução foi armazenada na geladeira e utilizada após um período de 2 horas, tempo necessário para a formação do Fluoral P, que é um precursor importante na reação de *Hantzsch* (PINHEIRO et al., 2004; SILVA et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2004).

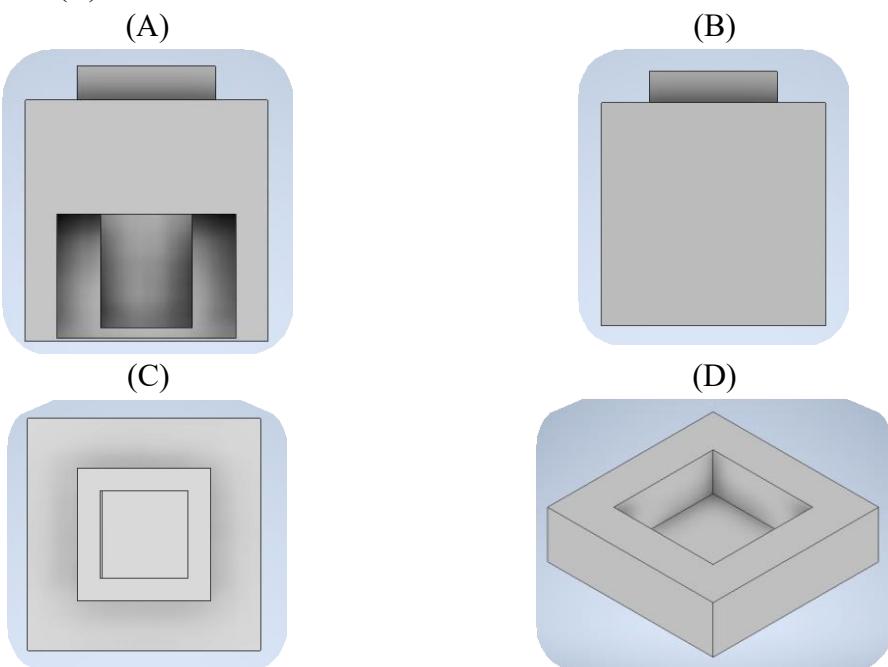
4.2.2 Equipamentos e acessórios

Espectros de excitação e emissão do 3,5-diacetil-1,4-di-hidrolutidina (DDL) foram obtidos empregando um espectrofluorímetro (Fluoromax-4 da Horiba Scientific). O equipamento foi operado com um tempo de integração de 0,1 s e fenda de entrada e saída de 5,0 nm. Foi usado também um espectrofômetro convencional (FEMTO 600S), equipado com uma cela de vidro de 1,0 cm de caminho óptico, para obter a resposta do sensor AS 7341 e fazer medidas quantitativas envolvendo métodos espectrofotométricos de referência para comparação da exatidão do procedimento proposto.

Foi desenhado um suporte de cubetas utilizando o *software Autodesk Inventor*, com o objetivo de acomodar o sensor utilizado (Figuras 22A até 22D). O porta cubeta

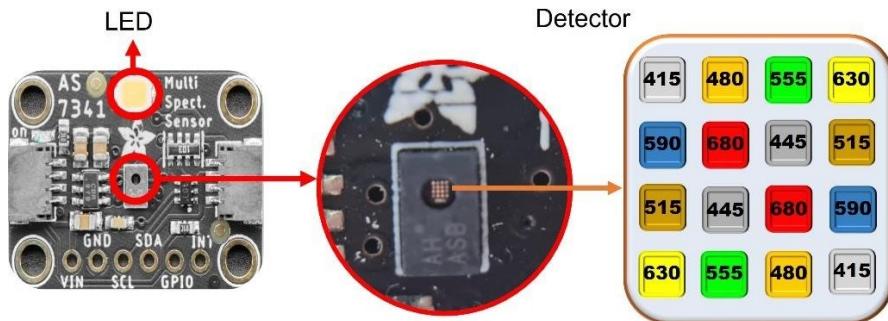
apresentava as seguintes dimensões: 40 mm (altura) x 30 mm (comprimento) x 30 mm (largura). Esse suporte personalizado permitiu acomodar o sensor de forma segura e adequada, garantindo uma correta medição e facilitando a realização dos experimentos. Estes desenhos foram fabricados utilizando uma impressora 3D (modelo A2 Core, GTMax, Brasil) e filamento de Ácido Poliláctico (PLA) de cor branca.

Figura 22: Desenho ilustrando o porta cubeta usada para a determinação de formaldeído em leite, em vista (A) frontal, (B) posterior e (C) superior; assim como a tampa da porta cubeta na vista inferior (D)



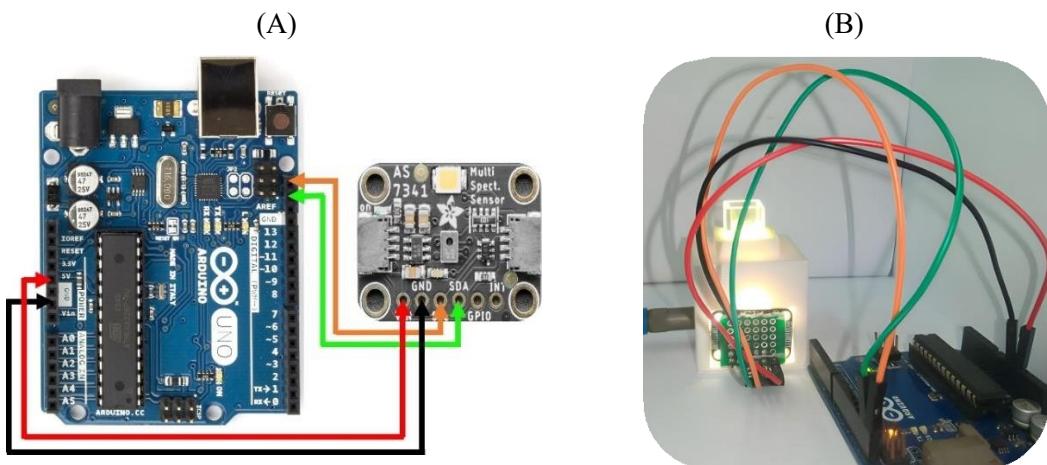
O sensor AS 7341 foi empregado neste trabalho para realizar medidas simultâneas de reflectância e fluorescência. Esse sensor é composto por oito canais de comprimentos de ondas específicos, na região do espectro visível (415, 445, 480, 515, 555, 590, 630 e 680 nm). Além disso, o sistema de detecção do sensor inclui um canal para medidas no infravermelho (730 e 760 nm) e um canal sem filtro (clean). A Figura 23, ilustra o sensor AS 7341, mostrando a posição do LED e a disposição dos fotodiodos dentro do sensor. Os valores numéricos atribuídos a cada fotodiodo representam seus respectivos comprimentos de onda de medição. Este sensor oferece uma ampla gama de valores de ganho, que varia de 1x até 512x, e a corrente do LED também pode ser ajustada de 2 a 100 mA. Isso permite o ajuste da sensibilidade do sensor à luz, assim como a intensidade da luz emitida.

Figura 23: Fotografia do sensor AS 7341 com destaque para a localização do LED e dos detalhes do detector, assim como a representação esquemática da disposição da matriz de diodo no detector.



A resposta do sensor AS 7341 foi obtida empregando o espectrofotômetro FEMTO 600s, conforme previamente relatado OLIVEIRA et al. (2022), assim como foi descrito na seção 3.2. O sensor foi conectado a um microcontrolador Arduino Uno (Arduino®, Itália), utilizando o protocolo de comunicação I2C para aquisição de dados, como mostra a Figura 24A. A corrente do LED, assim como o ganho do sensor foram controlados por meio da programação do dispositivo no ambiente de desenvolvimento Arduino IDE, o código pode ser encontrado no apêndice.

Figura 24: (A) Esquema de conexão do sensor AS 7341 com Arduino; (B) Foto ilustrando o dispositivo montado.



O custo do dispositivo está em torno de US\$ 31,0 como pode ser verificado na Tabela 9. Os parâmetros do sensor AS 7341 foram otimizados visando à determinação simultânea de formaldeído por fluorescência e reflectância, considerando condições

compromissadas. Os valores de reflectância foram determinados utilizando a equação: $S = -\log I/I_0$, onde I é o sinal obtido da amostra, I_0 é o sinal obtido da água ultrapura e S é o valor resultante da refletância. O valor de fluorescência foi determinado, subtraindo-se o sinal de emissão da amostra pelo sinal obtido da água ultrapura.

Tabela 9: Custo por componente do dispositivo e valor total para montar o dispositivo para determinação de formaldeído em leite

Nome Componente	Quantidade	Valor (US\$)
Arduino UNO + Cabo USB	1	13,0
Sensor AS 7341	1	16,0
Jumpers macho & fêmea	1 kit	2,0
Total		31,0

4.2.3 Amostras e Procedimentos

Em supermercados locais, foram adquiridas 10 amostras de leite de várias marcas, nomeadamente: Leite UHT (do inglês, *Ultra High Temperature*) 3,0 % de gordura (2 amostras), Leite UHT com no mínimo 3,1 % de gordura (2 amostras), Leite UHT desnatado (1 amostra), Leite UHT fortificado (2 amostras) e Leite pasteurizado e integral (3 amostras).

Antes da análise, todas as amostras de leite foram submetidas à extração proteica. A extração das frações proteicas do leite foi realizada conforme descrito por NASCIMENTO et al. (2015). Para isso, 2,0 mL de amostra de leite foram agitadas com 2,0 mL de ácido tricloroacético em um tubo côncico, seguido de centrifugação por 5 min a 3000 rpm.

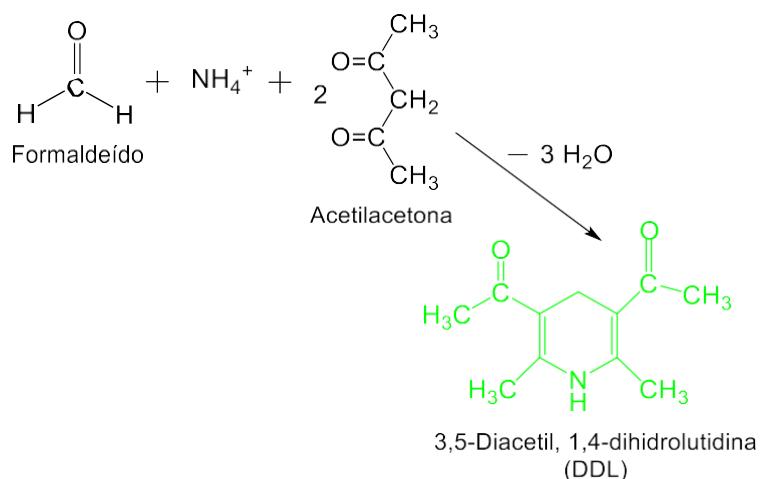
Para a determinação do formaldeído, foram adicionados 200 μ L do reagente de *Nash* a 350 μ L da fase aquosa do leite ou soluções padrão de formaldeído e a mistura foi ajustada para um volume final de 1,0 mL com água antes de ser aquecida a 70° C por 20 min. Após o aquecimento, as soluções foram resfriadas em bêquer contendo água à temperatura ambiente e, em seguida, foram medidas pelo método proposto. Os resultados foram comparados com a técnica espectrofotométrica como referência (NASH, 1953).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Caracterização

Neste estudo, foi proposto um procedimento para a determinação de formaldeído em amostras de leite, baseado na reação de *Hantzsch* (Figura 25) amplamente empregada para a detecção espectrofotométrica ou fluorométrica de formaldeído em amostras de alimentos (NASCIMENTO et al., 2015; PÉREZ-RUÍZ et al., 2003; VERÍSSIMO et al., 2020a). O método adotou uma abordagem dinâmica com medidas simultâneas de reflectância e fluorescência, utilizando um sensor AS 7341. Este estudo representa um trabalho pioneiro, no emprego de um sensor de cores para medidas simultâneas de reflectância e fluorescência.

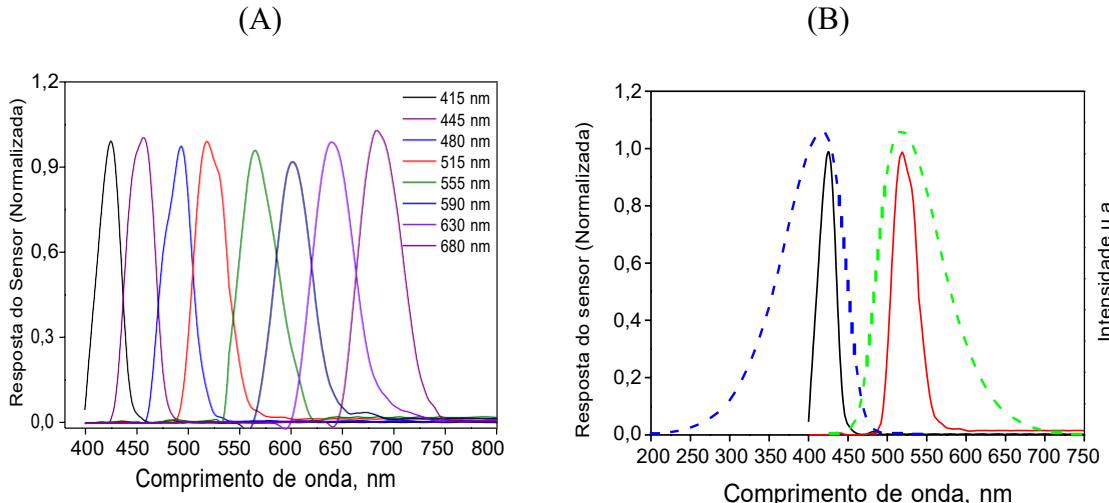
Figura 25: Esquema da reação de derivatização do formaldeído para formar 3,5-diacetil-1,4-di-hidrolutidina (DDL) na Reação de *Hantzsch*.



Para o desenvolvimento do procedimento proposto, iniciamos os experimentos obtendo as características espectrais do sensor AS 7341, bem como do produto formado pela reação do formaldeído com o reagente de *Nash*. O objetivo principal desses experimentos era identificar os melhores canais do sensor para monitorar tanto a fluorescência quanto a reflectância do produto formado. Essa análise foi conduzida com a finalidade de desenvolver um método eficiente para a determinação de formaldeído em amostras de leite, considerando a combinação ótima de canais para obter sinais analíticos maiores e precisos. A caracterização espectral do sensor AS 7341 está ilustrada na Figura 26A, onde é possível ver o perfil de resposta para os oitos canais da região do visível. O espectro de excitação do DDL variou de 300 a 470 nm, enquanto o de emissão ocorreu entre 450 e 650 nm. Os espectros de absorção e emissão sobrepunderam-se aos canais 415

e 515 nm do sensor, respectivamente (Figura 26B).

Figura 26: (A) Perfil espectral da resposta do sensor AS 7341 nos oitos canais da região do visível, (B) Espectro de excitação (—) e emissão (---) do 3,5-diacetil-1,4-di-hidrolutidina (DDL) e perfil espectral do sensor AS 7341 para os canais 415 (—) e 515 nm (—).



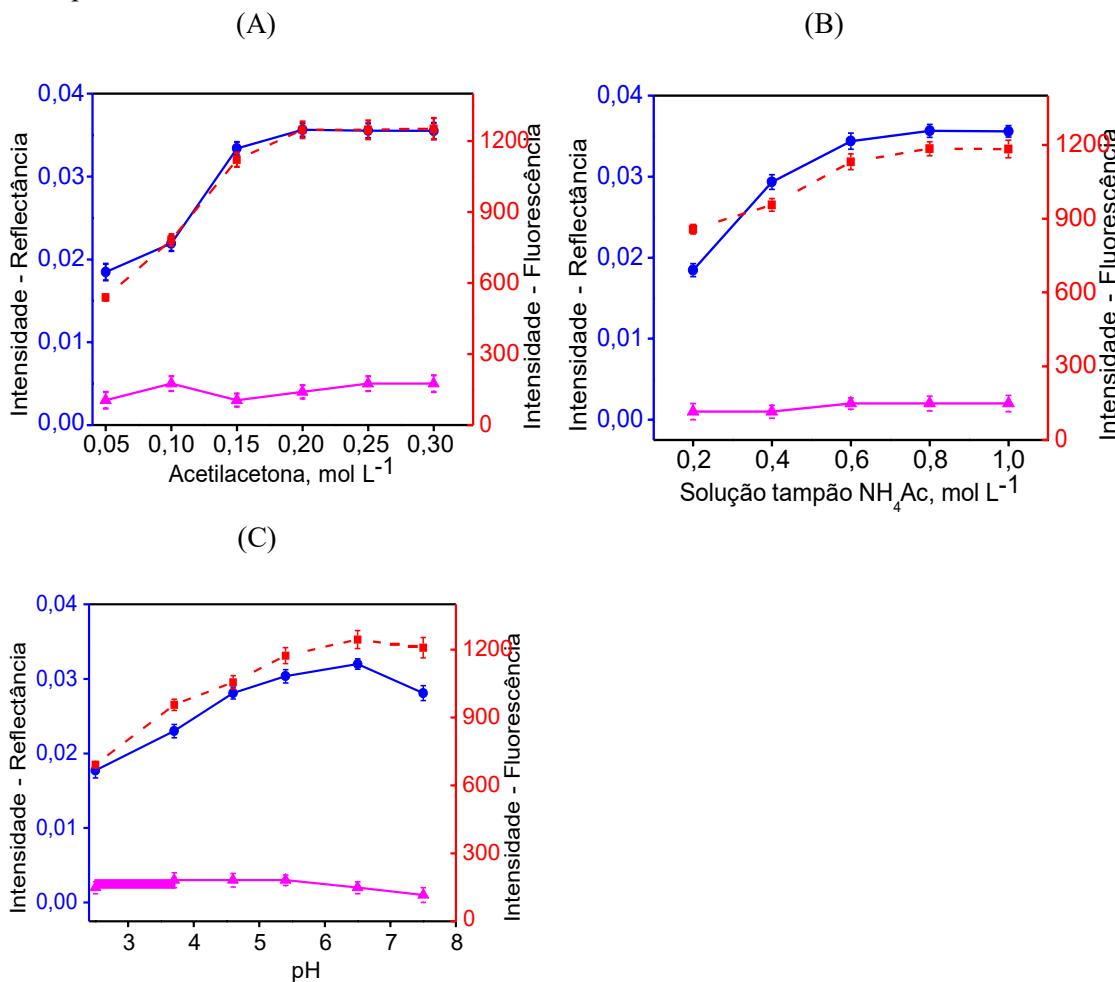
4.3.2 Otimização

Para a determinação do formaldeído, foram selecionados dois canais, 415 nm e 515 nm. Os ajustes ópticos foram escolhidos com base na determinação simultânea por refletância e fluorescência do DDL em condições compromissadas. Em seguida, foram realizados experimentos para avaliar a influência das variáveis instrumentais, como ganho e corrente do LED, além das condições químicas, como concentrações de reagentes, pH, temperatura e tempo de reação, usando o método univariado. Durante o processo de otimização, foram considerados parâmetros como sensibilidade, precisão e consumo de reagentes.

As concentrações de acetilacetona e acetato de amônio foram avaliadas. A concentração de acetilacetona foi avaliada na faixa de 0,05 a 0,30 mol L⁻¹ e a concentração de 0,25 mol L⁻¹ foi determinada como sendo a condição ótima (Figura 27A). Esta condição foi diferente da condição obtida por KOCHETKOVA, TIMOFEEVA e BULATOV (2021), SILVA et al. (2011), SILVA e ROCHA (2010), porém apresentou sinais maiores e precisos, a semelhança de NASCIMENTO et al. (2015). A concentração de acetato de amônio avaliada foi de 0,2 a 1,0 mol L⁻¹ e a concentração de 0,8 mol L⁻¹ foi identificada como condição ótima (Figura 27B), a semelhança de SILVA e ROCHA (2010). Também foi avaliado o efeito de pH, verificou-se que os maiores sinais foram obtidos na faixa de 5,0 a 6,5 (Figura 27C) e escolhemos trabalhar nas etapas subsequentes

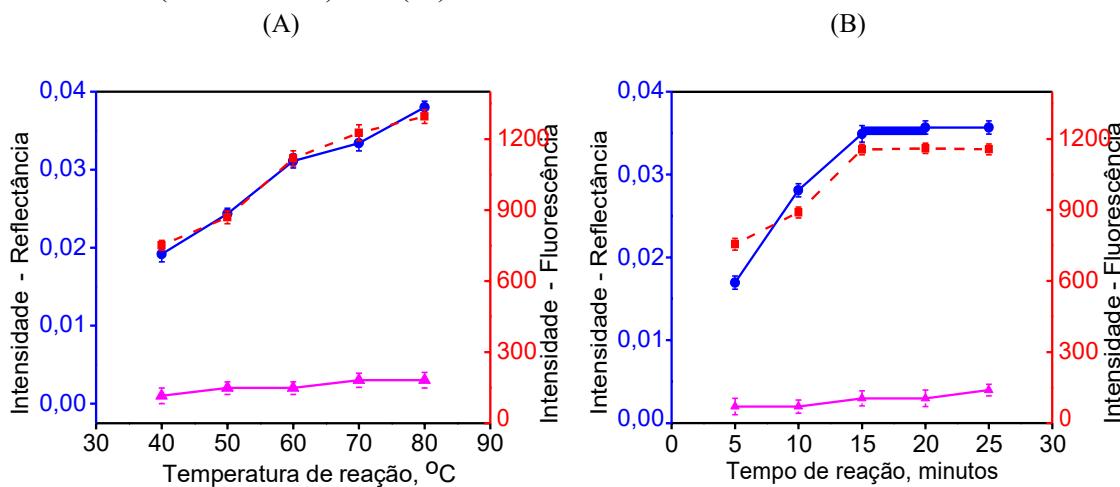
com 5,5. Esses resultados são similares aos obtidos por PINTO et al. (2018 e 2019). Os resultados mostram que os sinais de reflectância apresentam comportamento similar aos observados nas medidas de fluorescência.

Figura 27: Efeito (A) da concentração de acetilacetona, (B) da concentração da solução tampão de acetato de amônio e (C) do pH no sinal analítico de 2,0 mg L⁻¹ de formaldeído para medida de (●) reflectância (canal 415 nm), (-■-) fluorescência (canal 515 nm) e do (▲) branco obtidos pelo sensor AS 7341



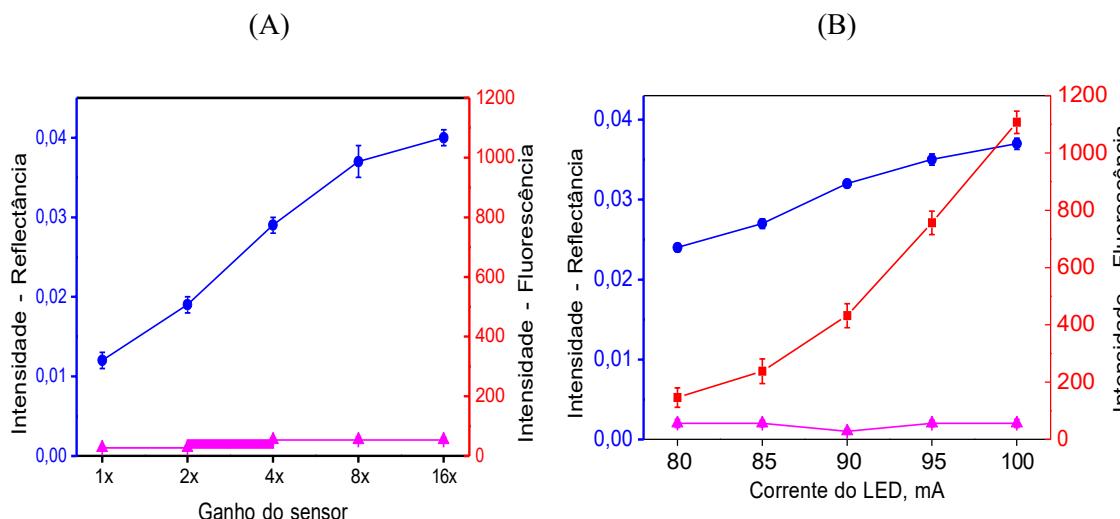
Por ser uma reação lenta, foi necessário implementar uma etapa de aquecimento à formação do DDL. A influência da temperatura de aquecimento e do tempo de reação foi avaliada em uma faixa de 40 a 80 °C e de 5 a 25 min, respectivamente. Após a realização dos experimentos, a resposta ótima foi alcançada quando a temperatura de aquecimento foi fixada em 70 °C por 20 min, conforme mostra a Figura 28. Esses parâmetros demonstraram-se mais adequados para proporcionar a maior eficiência na conversão do analito, resultando em uma resposta mais alta e precisa no procedimento analítico proposto.

Figura 28: Efeito da temperatura de aquecimento (A) e tempo de reação (B) no sinal analítico de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de formaldeído para medida de (●) reflectância (canal 415 nm), (-■-) fluorescência (canal 515 nm) e do (▲) branco obtidos do sensor AS 7341



Nesta etapa de otimização dos parâmetros instrumentais, foram avaliados o efeito do ganho e a corrente do LED nos sinais analíticos. A Figura 29A ilustra os resultados obtidos, revelando uma notável melhoria nos sinais de reflectância e fluorescência ao variar o ganho de 1x a 16x. No entanto, verificou-se que os sinais atingiram um ponto de saturação quando o ganho ultrapassou 16x. De maneira semelhante, o aumento da corrente do LED também demonstrou uma tendência similar (Figura 29B). Os sinais mais favoráveis foram obtidos na corrente máxima do LED, que foi fixada em 100 mA, mantendo um ganho de 16x.

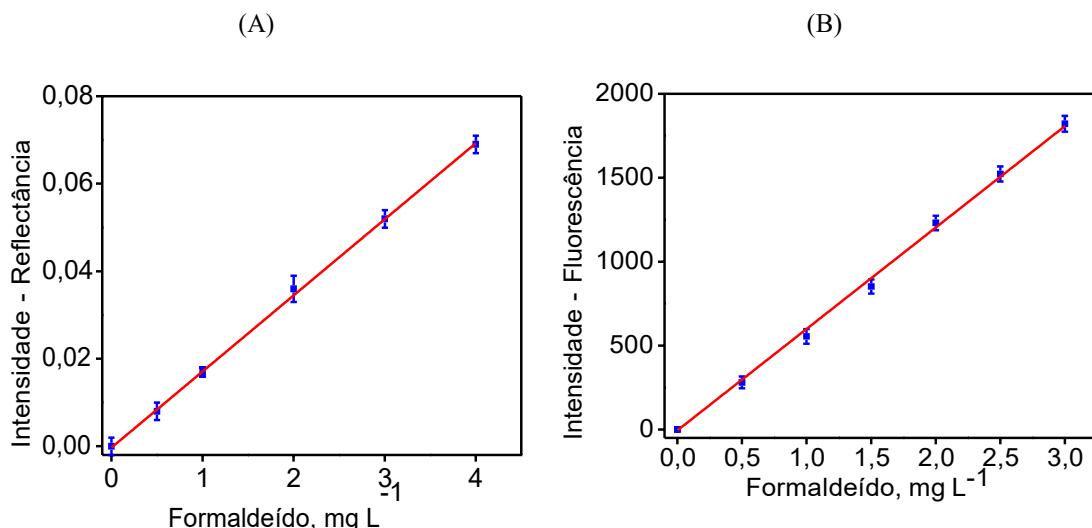
Figura 29: Efeito do ganho do sensor (A) e corrente do LED (B) no sinal analítico de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de formaldeído para medida de (●) reflectância (canal 415 nm), (-■-) fluorescência (canal 515 nm) e do (▲) branco obtidos do sensor AS 7341



4.3.3 Características analíticas

As características analíticas do procedimento foram obtidas e uma resposta linear foi observada na faixa de 0,1 a 4,0 mg L⁻¹ e 0,1 a 3,0 mg L⁻¹ para medidas de refletância e fluorescência, respectivamente (Figura 30).

Figura 30: Curvas analíticas para soluções de formaldeído obtidas pelo sensor AS7341 para medidas de (A) reflectância (canal 415 nm) e (B) fluorescência (canal 515 nm)



As características foram comparadas com os resultados obtidos por um espectrofotômetro convencional, como mostrado na Tabela 10. Os limites de detecção foram de 27 e 30 µg L⁻¹ para medidas de refletância e fluorescência, respectivamente. No geral, o procedimento otimizado utilizando o sensor AS 7341 para medidas simultâneas demonstrou boa sensibilidade e precisão na determinação de formaldeído em amostras de leite, fornecendo uma resposta linear em uma ampla faixa de concentração. A excelente linearidade e baixa variabilidade dos resultados garantem a confiabilidade dessa abordagem analítica, tornando-a uma ferramenta valiosa para a determinação de formaldeído em amostras de leite.

Tabela 10: Características analíticas obtidas usando sensor AS 7341 e espectrofotômetro convencional. (Faixa linear e LD em µg L⁻¹)

	Equação da curva	Faixa Linear	RSD ^{a)} (%)	R ²	LD ^{b)}
AS 415 nm	y = 0,01739C _{Formal.} - 2,9 x 10 ⁻⁴	100 - 4000	0,12	0,999	27
7314 515 nm	y = 604,00C _{Formal.} - 4,86	100 - 3000	0,92	0,998	30
UV-VIS	y = 0,145C _{Formal.} + 0,013	70 - 6000	0,76	0,998	17

C_{Formal.} = Concentração de formaldeído; a) n = 10 de 2 mg L⁻¹ Formaldeído; b) LD = Limite de detecção

As características analíticas do método proposto foram comparadas com outros métodos relatados na literatura para a determinação de formaldeído e estão apresentadas na Tabela 11. Os métodos que empregam a reação de *Hantzsch* com detecção espectrofotométrica (NASCIMENTO et al., 2015; VERÍSSIMO et al., 2020b) e fluorimetria (PÉREZ-RUÍZ et al., 2003) apresentaram limite de detecção superior ao obtido pelo procedimento proposto.

O estudo conduzido por KOCHETKOVA, TIMOFEEVA e BULATOV (2021) atingiu um limite de detecção aproximadamente duas vezes menor do que o obtido neste trabalho. No entanto, é importante notar que a sua metodologia envolveu uma etapa adicional de extração e pré-concentração. Esta distinção enfatiza a sensibilidade superior e a potencial aplicabilidade do método atual, que oferece a vantagem de monitoramento direto sem a necessidade de procedimentos complexos de preparação de amostras.

Além disso, a integração desse método com sistemas IoT pode permitir o monitoramento remoto e em tempo real, abrindo portas para recursos analíticos aprimorados e melhor acessibilidade de dados em diversas aplicações. A capacidade de análise direta, aliada à sensibilidade competitiva e às possibilidades de monitoramento remoto, torna o método proposto altamente atraente e promissor para aplicações em diversos campos, incluindo o controle de qualidade de produtos lácteos, análises ambientais e outras áreas da química analítica.

Tabela 11 - Comparação do método proposto com outros procedimentos relatados para determinação de formaldeído (Faixa linear e LD em $\mu\text{g L}^{-1}$)

Método / Reação		Faixa Linear	LD	RSD (%)	Referência
Espectrofotométrico (AS7341 415nm)	Reação de Hantzsch	100 - 4000	27	0,12	Este método
Espectrofotométrico (AS7341 515nm)		100 - 3000	30	0,92	Este método
Espectrofluorimetrico	Reação de Hantzsch	45 - 500	15	< 9	(KOCHEKOVA; TIMOFEEVA; BULATOV, 2021)
Espectrofotométrico	Reação de Hantzsch	500 - 5000	100	3,1	(NASCIMENTO et al., 2015)
Espectrofotométrico	Reação polioxometalato	0,0 - 6000	200		(VERÍSSIMO et al., 2020a)
Fluorimétrico	Reação bromato acridina	$1 \times 10^3 - 56 \times 10^3$	200	2,1	(PÉREZ-RUÍZ et al., 2003)
Fotométrico (Smartphone)	Reação Schiff	125 - 1250	120	?	(SILVA; GONÇALVES; ROCHA, 2021)
Outros métodos					
HPLC-UV	Reação com DNPH	10 - 400	3	2,5	(BORGES et al., 2017)
HPLC-UV	Reação com DNPH	100 - 1000	10	3	(SEBAEI et al., 2018)
Cromatografia de coluna líquida	Reação com DNPH	13 - 57	9	0,0098	(KAMINSKI; ATWAL; MAHADEVAN, 1993)
HPLC - com espectrometria de massas	Reação de Girard P	3,12 - 200	1	2,84	61(SHETTY; RANGIAH, 2020)
Cromatografia gasosa	Reação com DNPH		26		(BUCLEY; FICHER, 1986)
Electroquímico (Eletrodo modificado de AuNPs@PPy)		$12 \times 10^4 - 36 \times 10^4$	12×10^3	4,7	(XI et al., 2020)

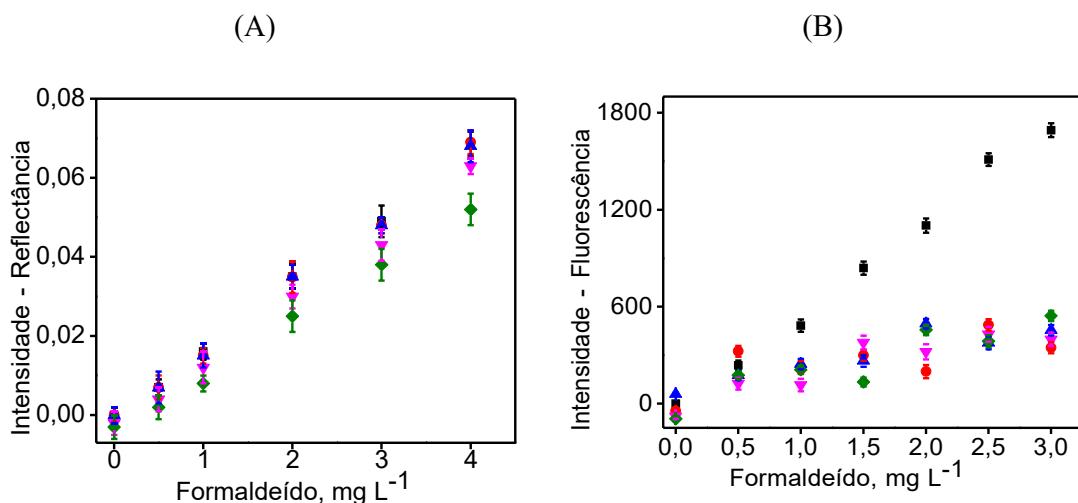
Onde: HPLC-UV = do inglês *High-performance liquid chromatography* (Cromatografia líquida de alta eficiência) com deteção Ultra violeta; DNPH = 2,4-Dinitrofenilidrazina

4.3.4 Estudo de efeito matriz

Com o objetivo de investigar possíveis efeitos de matriz, curvas analíticas foram obtidas na presença de amostra, tanto com a precipitação proteica quanto com a análise direta, sem nenhum preparo de amostra. As curvas de análise direta foram avaliadas empregando volumes de 100, 200, 250 e 300 μL de leite, para tal uma amostra de leite sem a presença de formaldeído foi selecionada para este experimento.

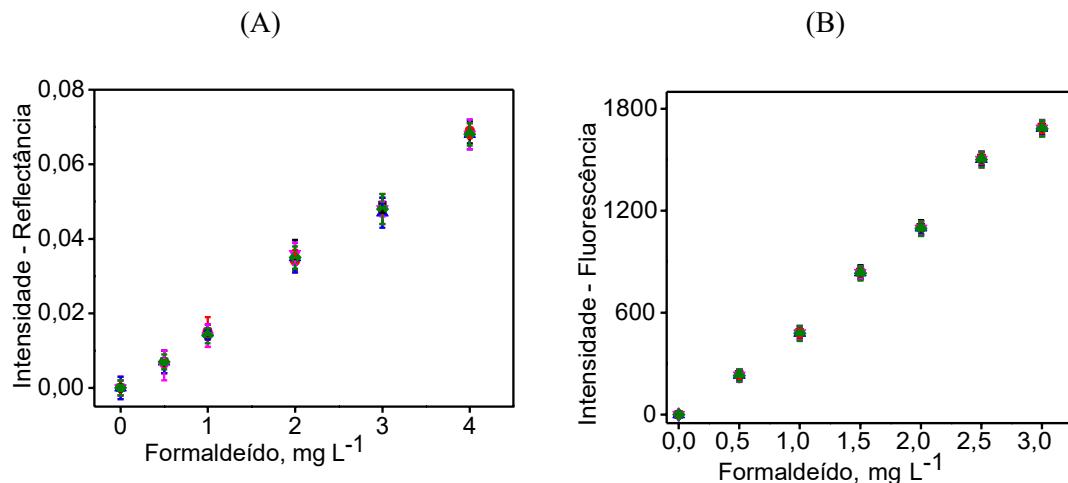
As inclinações das curvas de calibração obtidas após a adição de leite foram comparadas com as obtidas com solução padrão em meio aquoso. Para as medidas de reflectância, o efeito matriz foi notório a partir da adição de 250 μL de leite, visto que as curvas analíticas apresentam diferenças significativas (Figura 31A). Para as medidas de fluorescência, o efeito de matriz foi mais acentuado, visto que não houve uma tendência uniforme e linear da curva quando se adicionou a amostra de leite, como se pode ver na Figura 31B. A presença de partículas sólidas pode ocasionar fenômenos de espalhamento e absorção, resultando em variações nos sinais de reflectância e fluorescência obtidos. Essas partículas, especialmente gorduras e proteínas, podem contribuir significativamente para o efeito de matriz, interferindo no sinal do analito. Os resultados indicam que, para a medida de reflectância, seria possível a determinação direta do formaldeído desde que fossem utilizados volumes inferiores a 250 μL .

Figura 31: Curvas analíticas para medidas de (A) reflectância no canal 415 nm e (B) fluorescência no canal 515 nm, para solução padrão (■) em meio aquoso e na presença de (●) 100 μL , (▲) 200 μL , (▼) 250 μL e (◆) 300 μL de amostra de leite sem precipitação proteica obtidas usando o sensor AS 7341



Para minimizar o efeito de matriz, um procedimento de preparação da amostra que envolveu a remoção das proteínas por meio de precipitação proteica por acidificação foi avaliado. Esse tratamento da amostra visava garantir a exatidão dos resultados analíticos. Após a preparação das amostras, as curvas analíticas obtidas a partir do soro do leite não apresentaram diferenças significativas em relação às curvas obtidas a partir de soluções-padrão em meio aquoso (Figura 32). Esse estudo minimizou o efeito de matriz, demonstrando a eficácia do procedimento de preparação da amostra na remoção de interferentes. Esses resultados reforçam a confiabilidade do método proposto para a determinação de formaldeído em amostras de soro de leite, abrindo possibilidades para sua aplicação.

Figura 32: Curvas analíticas para medidas de (A) reflectância no canal 415 nm e (B) fluorescência no canal 515 nm, para solução padrão (■) em meio aquoso e na presença de (●) 200 μL , (\blacktriangle) 300 μL , (\blacktriangledown) 400 μL e (\blacklozenge) 500 μL de amostra de leite após a precipitação proteica obtidas usando o sensor AS 7341



4.3.5 Determinação de formaldeído em amostras de leite

O procedimento proposto foi aplicado à determinação de formaldeído em 10 amostras de leite e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 12. Os resultados obtidos com o procedimento proposto foram concordantes com os obtidos pelo procedimento de referência, com nível de confiança de 95%. O formaldeído foi detectado em cinco amostras de leite.

Tabela 12: Resultados da determinação de formaldeído em amostras de leite (valores médios e incertezas, n = 3).

Amostra de Leite	AS 7341 (415 nm)	AS 7341 (515 nm)	UV-VIS
	$C_{\text{Formal.}} (\mu\text{g L}^{-1})$		
UHT A1	< LD	< LD	< LD
UHT A2	< LQ	< LQ	< LQ
UHT A3	< LQ	< LQ	< LQ
UHT A4	< LD	< LD	< LD
Des. A5	< LD	< LD	< LD
For. A6	< LD	< LD	< LD
For. A7	< LD	< LD	< LD
Past. A8	< LQ	< LQ	78 ± 2
Paste. A9	115 ± 1	113 ± 2	115 ± 1
Past. A10	100 ± 1	101 ± 1	101 ± 1

$C_{\text{Formal.}}$ = Concentração de formaldeído; UHT = Ultra-high temperature; Des. = Desnatado; For.= Fortificado; Past. = Pasteurizado

Para avaliar a exatidão do método, quatro amostras foram fortificadas com 300 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de solução estoque de formaldeído. Os resultados das recuperações, variaram entre 94 e 105 %, como pode ver se na Tabela 13. Esses dados indicam a ausência de efeitos de matriz na determinação do formaldeído e demonstram a confiabilidade e a exatidão do método desenvolvido, validando sua aplicabilidade para determinações de formaldeído em amostras de leite.

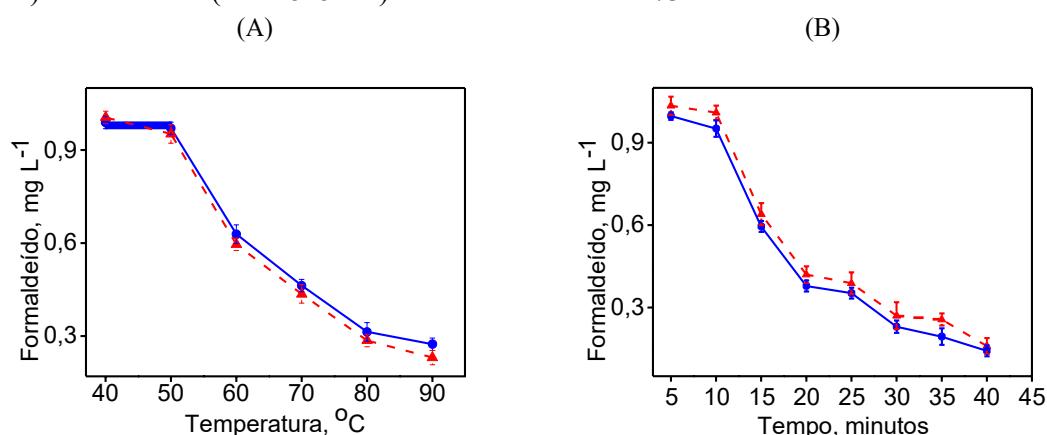
Tabela 13: Resultados do ensaio de adição e recuperação em amostras de leite (valores médios e incertezas, n = 3).

Amostra	Formaldeído ad. ($\mu\text{g L}^{-1}$)	AS 7341 (415 nm)	AS 7341 (515 nm)
		%	%
A1	300	101 ± 2	102 ± 1
	500	102 ± 1	102 ± 0
A5	300	101 ± 1	102 ± 1
	500	97 ± 1	101 ± 1
A8	300	99 ± 1	99 ± 1
	500	104 ± 0	101 ± 1
A10	300	105 ± 0	98 ± 1
	500	94 ± 1	101 ± 0

Onde: **ad** = adicionado

Foi realizado um estudo para avaliar a volatilidade do formaldeído no leite. Nesse experimento, uma amostra de leite fortificada com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de formaldeído foi submetida a um tratamento térmico em diferentes temperaturas e tempos. Os níveis de formaldeído foram determinados, e os resultados são ilustrados na Figura 33. Observou-se que o teor de formaldeído apresentou redução conforme a temperatura de aquecimento aumentou, e o mesmo comportamento foi observado em relação ao tempo de aquecimento. Quando as amostras foram aquecidas a 70°C por 20 min, o teor de formaldeído foi reduzido em aproximadamente 60% nessa condição.

Figura 33: Efeito da temperatura (A) e do tempo de aquecimento (B) no teor de formaldeído no leite fortificado com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, para medida de (●) reflectância (canal 415 nm), (-▲-) fluorescência (canal 515 nm) obtidos do sensor AS 7341



Em uma etapa subsequente, três amostras de leite pasteurizado (designadas como A8, A9 e A10) exibindo maiores concentrações de formaldeído foram submetidas a tratamento térmico a 70°C por 20 min. Verificou-se uma redução das concentrações de formaldeído para níveis detectáveis, mas não quantificáveis (abaixo do LQ, limite de quantificação) pelo método proposto, como pode ver se na Tabela 14. Isso mostra a aplicabilidade do método analítico proposto em determinar de forma confiável os níveis de formaldeído em amostras de leite.

Tabela 14: Resultados da análise de amostras de leite, antes e depois do aquecimento a 70°C por 20 min.

Amostra	C _{Formaldeído} ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	415 nm		515 nm	
	Antes	Depois	Antes	Depois
A8	< LQ	< LQ	< LQ	< LD
A9	115 ± 1	< LQ	113 ± 2	< LQ
A10	100 ± 1	< LQ	101 ± 1	< LQ

O aquecimento do leite é essencial para garantir sua segurança e preservar sua qualidade nutricional, considerando seu amplo consumo. O tratamento térmico adequado elimina eficazmente os microrganismos nocivos, reduzindo assim o risco potencial de doenças transmitidas por alimentos. Segundo CLAEYS et al. (2013), o aquecimento do leite é uma prática recomendada para proteger a saúde pública e otimizar os benefícios nutricionais derivados dessa valiosa fonte de nutrientes.

4.4 CONCLUSÕES

Este estudo propõe uma abordagem nova de medição ótica para determinar os níveis de formaldeído em amostras de leite, envolvendo medições simultâneas de refletância e fluorescência.

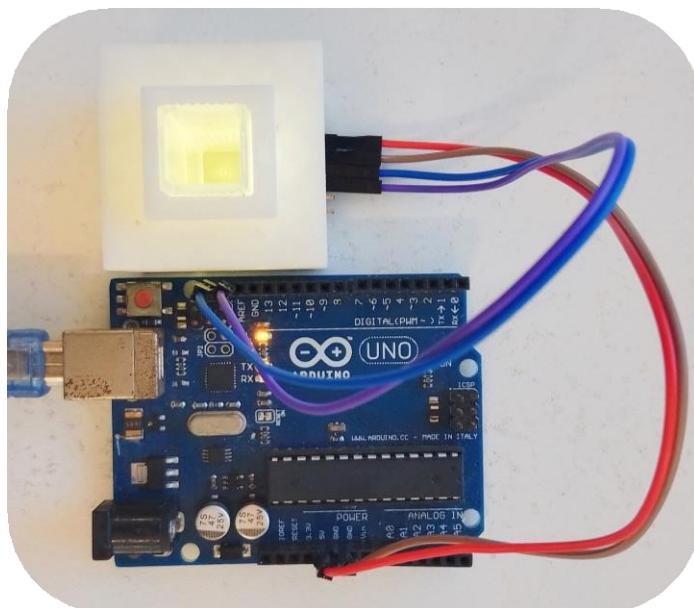
A utilização do sensor multicanal AS 7341 que tem a possibilidade de ajustes e otimização dos sinais, permitiu que o método proposto apresentasse excelentes características analíticas, ampla faixa linear, baixo limite de detecção e boa precisão. A análise comparativa com os outros métodos espectrofotométricos e fluorimétricos destaca o baixo LD e a aplicabilidade potencial da abordagem proposta.

A eficácia do procedimento foi demonstrada através da análise bem-sucedida de várias amostras de leite, incluindo leite UHT, leite fortificado, leite desnatado e leite pasteurizado. Os resultados obtidos são equiparáveis com os obtidos usando o procedimento de referência, e os experimentos de recuperação confirmam a exatidão do método. Além disso, um estudo sobre a volatilidade do formaldeído no leite revelou uma redução substancial após tratamento térmico a 70°C por 20 min. Esse resultado corrobora com as práticas estabelecidas para garantir a segurança do leite e preservar a sua qualidade nutricional.

A construção do dispositivo, que inclui o sensor AS 7341, porta cubeta impresso em 3D, cabos e placa Arduino, tem um custo estimado em US\$ 31. Isso demonstra que esta é uma alternativa viável em termos econômicos, acessibilidade e a praticidade. Este dispositivo tem a possibilidade de integração do sistema IoT, o que poderá permitir o monitoramento remoto em tempo real, aumentando a eficiência analítica e o acesso aos dados da qualidade alimentar.

De um modo geral, o método proposto apresenta uma valiosa contribuição em comparação com outros métodos para o campo do controle de alimentos, oferecendo uma solução prática, sensível e amiga do ambiente para a determinação dos níveis de formaldeído em amostras de leite.

**CAPÍTULO 5 - DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO ÓTICO PORTÁTIL
COM SENSOR MULTICANAL PARA QUANTIFICAÇÃO DE GLICEROL EM
VINHO: UMA ABORDAGEM DIY PARA ANÁLISE *IN SITU***



5.1 INTRODUÇÃO

A produção de vinho tem uma importância econômica significativa a nível mundial, contribuindo significativamente para o Produto Interno Bruto (PIB) de muitos países (OBUĆINSKI; PUŠARA; RADULOVIĆ, 2023). A produção de vinho envolve a fermentação do suco de uva por leveduras, resultando na produção de vários compostos, incluindo o glicerol (ZHAO; PROCOPIO; BECKER, 2015). A gestão cuidadosa dos parâmetros de fermentação, incluindo a produção de glicerol, permite que os enólogos possam alcançar uma qualidade de vinho consistente e oferecer características e sabores distintos que fazem de cada garrafa de vinho uma experiência sensorial única.

O glicerol é formado como um produto da fermentação de carboidratos catalisada por levedura e desempenha um papel significativo nas propriedades sensoriais e na qualidade do vinho (ALAÑÓN; PÉREZ-COELLO; MARINA, 2015; ZHAO; PROCOPIO; BECKER, 2015). Avaliação precisa dos níveis de glicerol no vinho é crucial para detectar possíveis adulterações ou desvios dos padrões de qualidade esperados. Práticas antiéticas, como a adição de glicerol para melhorar a doçura e a sensação bucal, minam a integridade da indústria do vinho (GAWEL; VAN SLUYTER; WATERS, 2007). A ocorrência de eventos de adulteração e contaminação de alimentos destaca a necessidade de métodos analíticos rápidos e fáceis de usar para detectar fraudes e garantir a segurança alimentar (ELLIS et al., 2015). Abordagens portáteis, juntamente com os avanços nas ciências computacionais e da Internet das Coisas, oferecem soluções promissoras para coleta de dados no local e de uma forma rápida (CADEADO et al., 2022; MAYER; BAEUMNER, 2019).

Na literatura estão descritos vários métodos para a determinação de glicerol, incluindo métodos óticos (BONDIOLI; BELLA, 2005; CAÑIZARES; LUQUE DE CASTRO, 1995; DE SOUZA et al., 2013; NUNES FERNANDES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2006), eletroquímicos (MONOŠÍK et al., 2012; POP et al., 2012; YAN et al., 2022) e cromatográficos (CASTELLARI et al., 2001; CHINNICI; SPINABELLI; AMATI, 2002; FALQUÉ LÓPEZ; FERNÁNDEZ GÓMEZ, 1996; HÁJEK; SKOPAL; MACHEK, 2006).

O glicerol pode ser determinado em bebidas usando métodos enzimáticos que dependem da formação de NADH após a oxidação do glicerol. A determinação pode ser

realizada por detecção espectrofotométrica (NUNES FERNANDES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2006) ou fluorimétrica (MATAIX; LUQUE DE CASTRO, 2000). A determinação enzimática do glicerol pode ser afetada pela instabilidade da enzima. Essa instabilidade pode resultar na diminuição da atividade enzimática ao longo do tempo, comprometendo a acurácia e a confiabilidade da determinação do glicerol. Adicionalmente, a presença de outros compostos na matriz da amostra, como açúcares ou álcool, pode introduzir interferências que impactam a reação enzimática, afetando a seletividade do método (LAPENAITE; RAMANAVICIENE; RAMANAVICIUS, 2006).

Alternativamente, o glicerol pode ser determinado indiretamente em amostras de vinho através de sua oxidação com íons periodato, enquanto monitora o consumo de periodato usando potenciometria (LUCA et al., 1998). Além disso, a determinação de glicerol pode ser realizada explorando a reação de oxidação de glicerol com periodato que leva à formação de formaldeído, que pode então sofre a reação de *Hantzsch* para produzir um composto conhecido como 3,5-diacetyl-1,4-dihidrolutidina (SILVA et al., 2011; SILVA; ROCHA, 2010). A formação de DDL pode ser quantificada usando várias técnicas analíticas, como espectrofotometria (SILVA; ROCHA, 2010) ou fluorimetria (SILVA et al., 2011). Esses métodos permitem a mensuração dos níveis de glicerol em uma amostra, fornecendo informações valiosas sobre sua composição.

Esta abordagem tem sido amplamente empregada na determinação do glicerol em diferentes matrizes, incluindo bebidas alcoólicas (KUHN et al., 2015), no entanto, é importante notar que a implementação desses métodos pode ser desafiadora devido à necessidade de habilidades avançadas, materiais e equipamentos especializados. Face a isso, e ao surgimento de microcontroladores e sensores ópticos, que estão impulsionando o desenvolvimento de dispositivos analíticos portáteis (CADEADO et al., 2022; FITZPATRICK; BRIEN; LEY, 2020; MAYER; BAEUMNER, 2019; NGUYEN et al., 2018), propusemos nesse trabalho desenvolver um procedimento para a determinação de glicerol em amostras de vinho usando um dispositivo portátil, de baixo custo. O método envolve a oxidação do glicerol pelo periodato, seguida da reação de *Hantzsch*, com a determinação realizada utilizando um sensor multicanal AS 7341, monitorando o sinal em 415 nm.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados neste trabalho possuem um grau de pureza analítica e foram preparados empregando água ultrapura. Solução estoque contendo 100 mg L⁻¹ de glicerol foi preparada solubilizando quantidades apropriadas do reagente (99%, m/v, Sigma-Aldrich). As soluções de referência de glicerol foram preparadas por diluições sucessivas da solução estoque.

Solução de periodato 10 mmol L⁻¹ foi preparada dissolvendo quantidade apropriadas de periodato de sódio (Vetec, Brasil) em água ultrapura. E o reagente de *Nash* foi preparado conforme descrito previamente na seção 4.2.1.

5.2.2 Equipamentos e acessórios

Foi usado um espectrofluorímetro (Fluoromax-4 da Horiba Scientific) para obter o espectro de absorção do DDL, como está descrito na seção 4.2.2. O dispositivo usado é o mesmo descrito na seção 4.2.2, monitorando apenas o canal 415 nm medidas de reflectância.

5.2.3 Amostras e Procedimentos

Em supermercados locais foram adquiridas amostras de vinho, englobando uma variedade de vinhos em termos de tipo de uva, safra e País de origem (Tabela 15).

Tabela 15: Informações (variedade de uva, safra e País) das amostras de vinho analisadas

Amostra	Variedade de Uva	Safra/Ano	País
A1	Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon	2020	Uruguai
A2	Cabernet Sauvignon	2021	Chile
A3	Cabernet Sauvignon e Carménère	Não identificado	Chile
A4	Carménère	2019	Chile
A5	Carménère	Não identificado	Chile
A6	Merlot	2020	Chile
A7	Merlot	2018	Chile
A8	Malbec	2019	Argentina
A9	Verdelho, Antão Vaz	2019	Portugal
A10	Tempranillo garnacha	2019	Espanha
A11	Touriga Franca, Tinta Roriz	Não identificado	Portugal

As amostras de vinho antes de serem analisadas foram diluídas na proporção 1:400. Para a determinação do glicerol, foram misturados 350 µL de amostras de vinho ou soluções padrão de glicerol com 200 µL de periodato e 200 µL de reagente de *Nash*. A mistura foi ajustada para um volume final de 1,0 mL antes de ser aquecida a 60° C por 15 min. Após o aquecimento, as soluções foram resfriadas em um bêquer contendo água à temperatura ambiente e, em seguida, foram submetidas às medidas pelo método proposto.

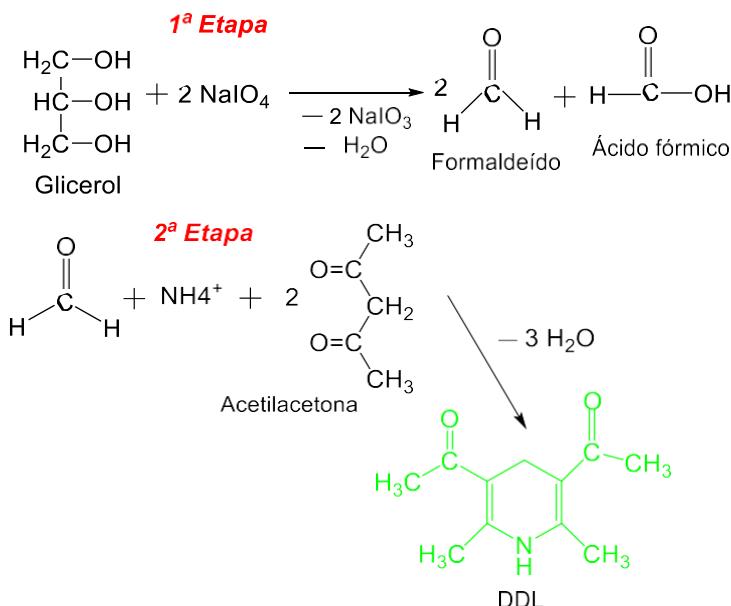
O método proposto por BONDIOLI e BELLA (2005) foi utilizado como referência para a determinação espectrofotométrica do glicerol. Após a diluição, 2 mL da amostra de vinho foram adicionados a um tubo graduado de 15 mL. Em seguida, 1,2 mL de solução de periodato de sódio 10 mmol L⁻¹ foi adicionado e a mistura foi agitada por 30 s. Em seguida, 1,2 mL de solução de reagente de *Nash* foi adicionado e o tubo foi colocado em banho termostatizado a 70° C por 1 min com agitação manual. Após a reação, a amostra foi imediatamente resfriada imergindo o tubo em um copo preenchido com água da torneira.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Caracterização

Neste estudo, foi desenvolvido um procedimento para a determinação do teor de glicerol em vinho utilizando a reação de oxidação do glicerol com periodato, seguida da formação do composto DDL por meio da reação de *Hantzsch* (Figura 34).

Figura 34: Esquema de reação de oxidação de glicerol com periodato (1^a etapa) e formação do 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidina através da reação com acetilacetona (2^a etapa).



O procedimento envolveu a utilização de um sensor multicanal AS 7341 como detector, monitorando o sinal no canal 415 nm para medidas de reflectância. A caracterização do sensor e do DDL foi descrita na seção 4.3.1, assim como a sobreposição do espectro de absorção do DDL e a resposta do sensor no canal 415.

5.3.2 Optimização

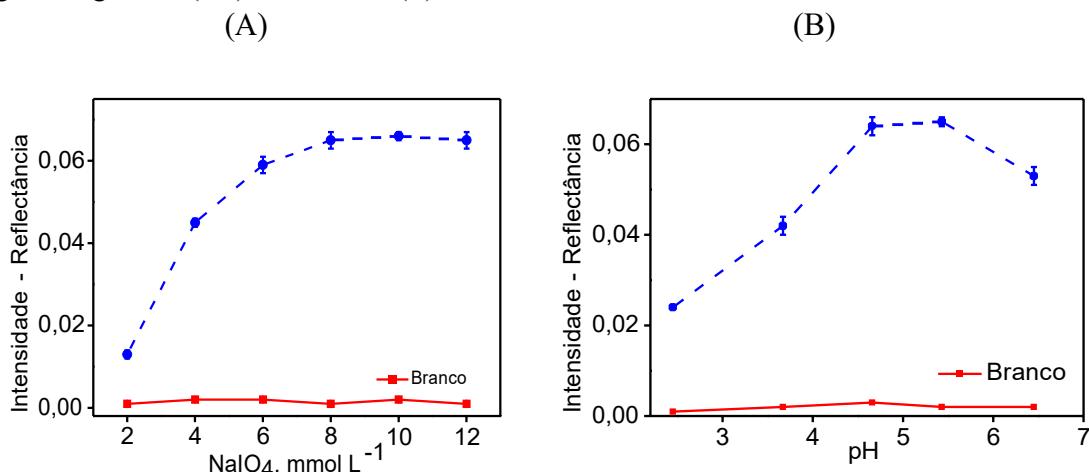
Foi feita a optimização pelo método univariado de variáveis instrumentais, assim como as condições químicas das reações, considerando parâmetros como sensibilidade, precisão e consumo de reagentes. Além disso, o processo de optimização incluiu o ajuste do pH do meio de reação para suportar tanto a oxidação do glicerol quanto a formação do composto DDL.

A concentração de periodato foi avaliada na faixa de 2 a 12 mmol L⁻¹ (Figura 35A) e, com base nos resultados obtidos, foi selecionada uma concentração de 10 mmol L⁻¹. Esta concentração demonstrou a maior resposta para a oxidação do glicerol, garantindo eficiente conversão ao formaldeído para posterior formação do composto DDL, como também foi demonstrado por SILVA et al. (2011). Nessas condições, obteve-se um excesso molar de aproximadamente 87 vezes.

As concentrações de acetilacetona e acetato de amônio também foram avaliadas.

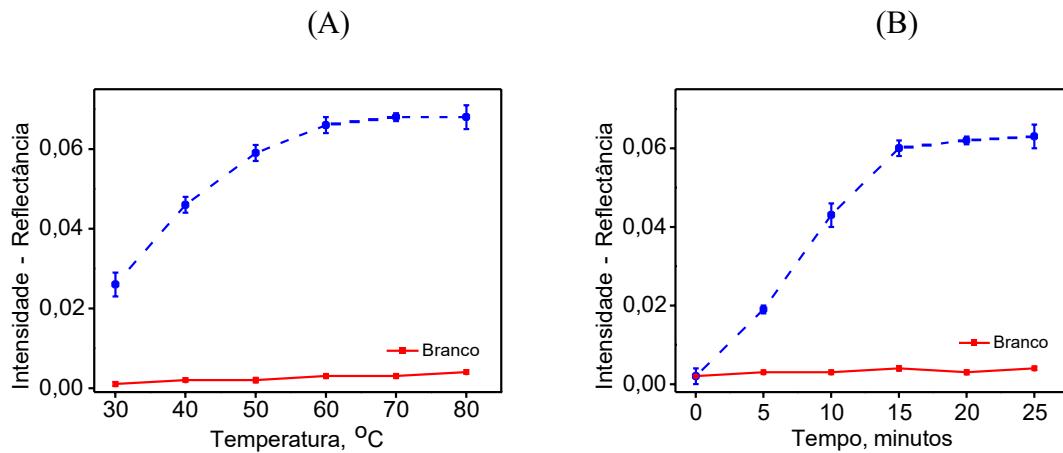
As condições ótimas obtidas são idênticas às obtidas no experimento anterior (seção 4.3.2), que são $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ para acetilacetona e $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ para acetato de amônio. A oxidação do glicerol é favorecida em meio ácido (LUCA et al., 1998), enquanto a formação do composto DDL com formaldeído é favorecida sob meio neutro ou alcalino (PINTO et al., 2019; SILVA et al., 2011; SILVA; ROCHA, 2010). O efeito do pH na determinação de glicerol foi avaliado na faixa de 2,5 a 6,5 (Figura 35B). A faixa de pH de 4,5 e 5,5 forneceu melhores respostas analíticas, à semelhança da condição ótima obtida por SILVA e ROCHA (2010) e SILVA et al. (2011).

Figura 35: Efeito (A) da concentração de NaIO_4 e (B) do pH no sinal analítico de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de glicerol (-●-) e do branco (■) no canal 415 nm do sensor AS 7341



A Figuras 36A e B mostram o efeito da temperatura e do tempo de aquecimento na formação do composto DDL, onde o tempo de aquecimento variou de 0 a 25 min e a temperatura variou de 30 a 80°C. Observou-se que o aumento do tempo de aquecimento e da temperatura levou a uma maior resposta analítica para uma solução de glicerol, com o sinal máximo observado aos 15 min e 60°C. Essas condições ótimas foram selecionadas com base em considerações de sensibilidade e precisão.

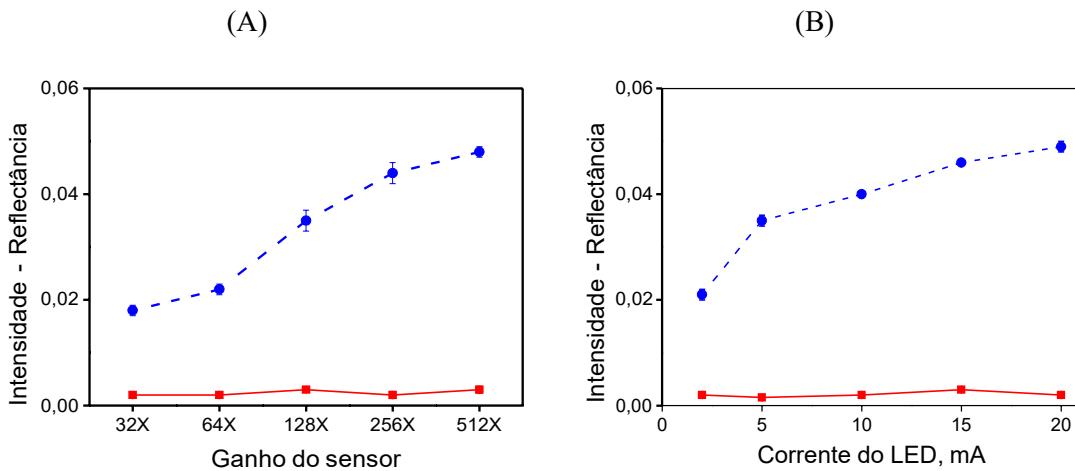
Figura 36: Efeito (A) da temperatura e (B) do tempo de aquecimento no sinal analítico de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de glicerol (●-·-) e do branco (■) no canal 415 nm do sensor AS 734



Após a otimização dos parâmetros químicos para a determinação de glicerol, o próximo passo consistiu na otimização dos parâmetros instrumentais do sensor AS 7341. A configuração adequada desses parâmetros é de extrema importância para obter maiores sinais analíticos e precisos.

Nesse contexto, centramos nossa atenção no canal de 415 nm do sensor, que é essencial para a análise do composto DDL formado após a reação de oxidação do glicerol. Primeiramente, foi avaliado o efeito do ganho do sensor no sinal analítico (Figura 37A). Verificou-se que a configuração de ganho de 512x produziu os melhores resultados. Além disso, foi investigada a influência da corrente do LED no desempenho do sensor (Figura 37B). A corrente de 20 mA proporcionou melhores condições para a obtenção de sinais analíticos confiáveis. Valores de corrente acima de 20 mA levaram a saturação do sinal atingindo 65535 para o canal 415 nm.

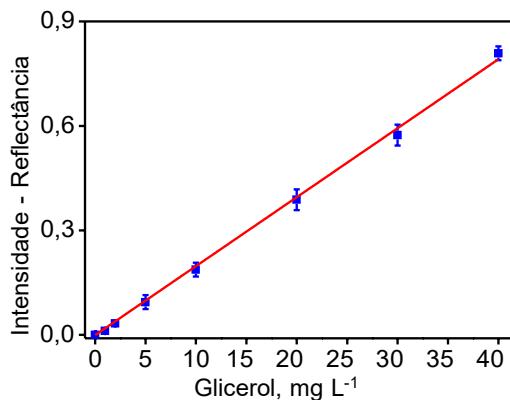
Figura 37: Efeito (A) do ganho do sensor e (B) corrente do LED no sinal analítico de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de glicerol (●) e do branco (■) no canal 415 nm do sensor AS 7341



5.3.3 Características analíticas

As características analíticas do procedimento foram obtidas e uma resposta linear foi observada na faixa de $0,5$ a $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ (Figura 38). Esta ampla faixa linear permite a determinação de glicerol em amostras de vinho, seguindo um processo de diluição simples. Essa característica mostra-se particularmente vantajosa quando se analisam matrizes complexas como o vinho, que apresentam variações consideráveis nos níveis de glicerol devido a fatores como variedade de uva, métodos de vinificação e processos de envelhecimento.

Figura 38: Curva analítica para soluções de glicerol obtida pelo sensor AS7341 em 415 nm



Essas características, foram comparadas com os resultados obtidos com um espectrofotômetro convencional, como mostrado na Tabela 16. O limite de detecção foi de $0,050 \text{ mg L}^{-1}$, calculado pelo desvio padrão das medidas em branco (σ) pela inclinação

da curva analítica (a), segundo a equação: $LD = 3,3 \sigma/a$. O coeficiente de variação foi estimado em 0,1 % para 10 medidas independentes de uma solução de 20 mg L⁻¹. No geral, o procedimento otimizado utilizando o sensor AS 7341 no canal 415 nm demonstrou boas características analíticas, tais como, ampla faixa linear, alto coeficiente de correlação, baixos limites de detecção e quantificação e excelente precisão. Estas características validam a confiabilidade do método proposto para a determinação de glicerol em amostras de vinho.

Tabela 16: Características analíticas do procedimento proposto comparadas com as obtidas com um espectrofotômetro convencional (Faixa linear e LD em mg L⁻¹)

	Equação da curva	Faixa Linear	RSD^{a)} (%)	R²	LD^{b)}
Sensor AS 7341	$y = 0,0198C_{\text{Glicerol}} + 1,7 \times 10^{-4}$	0,5 - 40	0,1	0,998	0,050
Espectrofotômetro	$y = 0,0199C_{\text{Glicerol}} - 1,3 \times 10^{-3}$	0,4 - 40	0,11	0,994	0,124

a) n = 10 de 20 mg L⁻¹ Glicerol; b) LD = Limite de detecção

Essas características do método proposto foram comparadas com outros procedimentos descritos na literatura para a determinação de glicerol em vinhos (Tabela 17). Estes procedimentos abrangiam técnicas espectrofotométricas, voltamétricas, amperométricas e cromatografia líquida. O método proposto apresenta similaridades com outras técnicas espectrofotométricas, eletroquímicas e cromatográficas em termos de suas capacidades analíticas. No entanto, o diferencial do método proposto é sua adequação para ser implementado com dispositivos de DIY e IoT, com potencialidade para análises *in-situ*. Além disso, a utilização de um sensor de 10 canais proporciona maior selectividade à abordagem proposta, permitindo a medição simultânea de múltiplas variáveis e a obtenção de resultados mais confiáveis. Essa característica única oferece oportunidades para aprimorar a aplicação do método em diversas áreas da química analítica.

Tabela 17: Comparação do método proposto com outros procedimentos relatados para determinação de glicerol

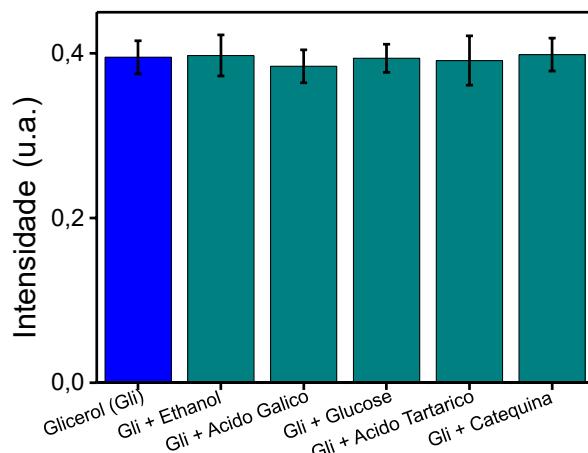
Técnica	Faixa linear (mg L ⁻¹)	LD (mg L ⁻¹)	RSD (%)	Referência
Fotometria (Reflectância)	0,5 – 40	0,05	0,1	Este método
Espectrofotometria	2000 – 10000	6	1,8	(NUNES FERNANDES et al., 2004)
Espectrofotometria	28 – 276		3,6	(OLIVEIRA et al., 2006)
Espectrofotometria	0,37 – 5,5	0,092	-	(DE SOUZA et al., 2013)
Espectrofluorimetria	0,3 – 5	0,1	2,0	(CAÑIZARES; LUQUE DE CASTRO, 1995)
Voltametria	4 – 21	-	1,5	(POP et al., 2012)
Voltametria	9,2 – 460	7,1	2,48	(YAN et al., 2022)
Amperometria	0,46 – 52	0,20	5,67	(MONOŠÍK et al., 2012)
HPLC	0,3 - 10	0,003	0,98	(CHINNICI; SPINABELLI; AMATI, 2002)
HPLC	10 - 2003	2,6	-	(CASTELLARI et al., 2001)
HPLC	440-8820	162	0,90	(FALQUÉ LÓPEZ; FERNÁNDEZ GÓMEZ, 1996)

HPLC = do inglês *High-performance liquid chromatography* (Cromatografia líquida de alta eficiência)

5.3.4 Estudo de interferência

A interferência de espécies concomitantes na reação de *Hantzsch* foi avaliada na literatura, e verificou-se que não há interferência de vários compostos, incluindo acetona, etanol, metanol, ácido acético, ácido fórmico, acetaldeído, gliceraldeído e gioxal. Assim como também não foi observada interferência de espécies inorgânicas, mesmo em concentrações mais elevadas (DONG; DASGUPTA, 1987; HORSTKOTTE et al., 2006). O efeito de espécies concomitantes na determinação de glicerol em amostras de vinho foi investigado em concentrações 20% de etanol, 6,0 g L⁻¹ de ácido gálico e 9,0 g L⁻¹ de ácido tartárico, glicose e catequina. As concentrações desses concomitantes foram escolhidas com base nos principais constituintes tipicamente encontrados em amostras de vinho (GAWEL et al., 2018), incluindo ácido carboxílico (ácido gálico), etanol, ácidos orgânicos (ácido tartárico), flavonoides (catequina) e açúcares (glicose). Os sinais analíticos de glicerol (6,0 g L⁻¹) e de glicerol na presença de cada concomitante estão ilustrados na Figura 39.

Figura 39: Sinais de glicerol (6,0 g L⁻¹) e de glicerol na presença de etanol (20 %), ácido gálico (6,0 g L⁻¹), glicose (9,0 g L⁻¹), ácido tartárico (9,0 g L⁻¹) e catequina (9,0 g L⁻¹), obtidos pelo dispositivo proposto



A variação do sinal foi de + 0,5 % (etanol), - 2,9 % (ácido gálico), - 0,3 % (glicose), - 1,0 % (ácido tartárico) e + 0,8 % (catequina). Com esses resultados pode ver se que as espécies concomitantes não apresentaram interferências significativas na determinação do glicerol pelo método proposto, visto que para todas as espécies avaliadas a variação de sinal foi inferior a ± 3%. O estudo demonstrou que esses componentes não interferiram na determinação do glicerol, ressaltando a boa seletividade do procedimento proposto.

5.3.5 Determinação de glicerol em amostras de vinho

Após a otimização química e instrumental, 11 amostras de vinho foram analisadas usando o método proposto e os resultados foram comparados com aqueles obtidos usando um procedimento de referência UV-VIS (BONDIOLI; BELLA, 2005). Todas as amostras foram analisadas após diluição simples (1:400) em água. Os resultados da Tabela 18 concordaram ao nível de confiança de 95% com aqueles obtidos com o método espectrofotométrico de referência.

Tabela 18: Resultado da determinação de glicerol em amostras de vinho (valores médios e incertezas, n = 3).

Amostra	AS 7341 (415 nm)	UV-VIS
	C _{Glicerol} (g L ⁻¹)	
A1	11,0 ± 0,1	10,9 ± 0,1
A2	5,4 ± 0,1	5,4 ± 0,1
A3	7,7 ± 0,2	7,7 ± 0,1
A4	10,6 ± 0,1	10,6 ± 0,1
A5	11,6 ± 0,1	11,6 ± 0,1
A6	10,3 ± 0,1	10,3 ± 0,1
A7	13,6 ± 0,1	13,7 ± 0,1
A8	9,3 ± 0,1	9,4 ± 0,1
A9	12,6 ± 0,1	12,5 ± 0,1
A10	14,6 ± 0,1	14,6 ± 0,1
A11	12,3 ± 0,1	12,2 ± 0,1

Uma concentração conhecida de 5 mg L⁻¹ de glicerol foi adicionada às amostras de vinho, e os resultados de recuperação demonstraram uma taxa de 94,7 à 104,4 % (Tabela 19). Os valores mostram a ausência de efeitos de matriz na determinação de glicerol utilizando o método proposto. Isso fortalece a adequação do método para análises de rotina na indústria do vinho, proporcionando confiança em sua capacidade de determinar com exatidão o teor de glicerol em amostras de vinho.

Tabela 19: Resultados do ensaio de adição e recuperação em amostras de vinho (valores médios e incertezas, n = 3).

Amostra	Recuperação (%)
A 1	104,4 ± 1,2
A 2	101,5 ± 0,8
A 3	94,7 ± 1,2
A 4	99,8 ± 2,0
A 5	102,0 ± 0,5
A 6	97,1 ± 0,9
A 7	98,5 ± 1,3
A 8	99,3 ± 0,7
A 9	96,9 ± 2,2
A 10	102,4 ± 0,8
A 11	99,4 ± 1,1

5.4 CONCLUSÕES

Nesse trabalho desenvolveu-se um método para quantificação de glicerol em amostras de vinho, empregando o sensor AS 7341. A natureza portátil e econômica do dispositivo oferece uma solução prática e conveniente para determinação de glicerol em amostras de vinho, permitindo medições rápidas e precisas no local de produção. Com um custo de aproximadamente US\$ 31.0, o método torna-se acessível à indústria vinícola.

Além do baixo custo, o método também oferece outras vantagens alinhadas aos princípios da química verde. Requer consumo mínimo de reagentes e amostras, reduzindo a geração de resíduos e promovendo a sustentabilidade. Ao minimizar a utilização de recursos, o método contribui para a eficiência geral e a compatibilidade ambiental da análise do glicerol.

Esta abordagem promissora fornece uma alternativa viável aos métodos tradicionais de análise laboratorial, tornando a detecção de glicerol mais acessível e eficiente para a indústria do vinho. Embora apresente limitações relacionadas ao aquecimento durante o processo, a integração do sensor com dispositivos IoT amplia as suas capacidades analíticas.

CAPÍTULO 6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 CONCLUSÕES GERAIS

Nesta tese foram desenvolvidos dispositivos analíticos miniaturizados personalizados, portáteis, fáceis de usar e de baixo custo para o monitoramento preciso da qualidade ambiental e alimentar. As propostas apresentaram boas características analíticas em termos de sensibilidade e seletividade. Para o desenvolvimento desses dispositivos, fez-se uso das vantagens da prática DIY e do sistema IoT. Isso tornou-os adequados para análise *in situ* e forneceram soluções personalizadas e econômicas para análises químicas específicas.

Os métodos propostos demonstram semelhanças com outras técnicas espectrofotométricas. O uso de sensores ópticos apresentou desempenho analítico comparável com espectrofômetros comerciais, tornando-se assim em alternativas confiáveis para a determinação de nitrito, formaldeído e glicerol em amostras de água, leite e vinho, respectivamente. Além disso, a integração dos sensores ópticos nesses dispositivos aprimorou ainda mais os recursos dos métodos desenvolvidos, em relação aos princípios de custo-benefício e química verde (redução do consumo de amostras e reagentes). Isso tornou uma ferramenta valiosa para fins de análise de qualidade Ambiental e alimentar, permitindo práticas eficientes e sustentáveis.

Em geral, as vantagens dos métodos baseados em sensores de cores incluem baixo custo, portabilidade, eficiência analítica, possibilidade de integração do sistema IoT para monitoramento e acesso dos dados em tempo real. Além disso, foram desenvolvidas abordagens inovadoras e criativas no desenvolvimento de métodos em química analítica.

6.2 REFERÊNCIAS

ABDUSSALAM-MOHAMMED, W. et al. Green Chemistry: Principles, Applications, and Disadvantages. **Chemical Methodologies**, v. 4, n. 4, p. 408-423, 2020. <https://doi.org/10.33945/SAMI/CHEMM.2020.4.4>

AGUSTINI, D. et al. A low cost, versatile and chromatographic device for microfluidic amperometric analyses. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 304, n. July 2019, p. 127117, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127117>

AINLA, A. et al. Open-Source Potentiostat for Wireless Electrochemical Detection with Smartphones. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 10, p. 6240-6246, 2018.

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00850>

AKINS, K. Black and White and Colour, 2014.

https://doi.org/10.1007/978-94-007-6001-1_16

ALAGIRISAMY, N. et al. Novel colorimetric sensor for oral malodour. **Analytica Chimica Acta**, v. 661, n. 1, p. 97-102, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.064>

ALAÑÓN, M. E. et al. Wine science in the metabolomics era. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 74, p. 1-20, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.006>

AL-QASEEMI, S. A. et al. IoT architecture challenges and issues: Lack of standardization. **FTC 2016 - Proceedings of Future Technologies Conference**, n. December, p. 731-738, 2017. <https://doi.org/10.1109/FTC.2016.7821686>

ALVAREZ, C. S. et al. Detection of Volatile Compounds Emitted by Bacteria. **Sensors (Switzerland)**, V Apr; 19(7): 1523. 2019. <https://doi.org/10.3390/s19071523>

ALVES, L. et al. A Mesh Sensor Network based on Bluetooth: Comparing Topologies to Crop Monitoring. p. 125-130, 2019. https://doi.org/10.5753/sbesc_estendido.2019.8647

AMOUZEGAR, Z. et al. Spectrometric miniaturized instruments, Micro- and Nanotechnology Enabled Applications for Portable Miniaturized Analytical Systems, p. 17–40, 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823727-4.00016-X>

ANTELÀ, K. U. et al. Development of an automated colorimeter controlled by Raspberry Pi4. **Analytical Methods**, v. 15, n. 4, p. 512-518, 2023.

<https://doi.org/10.1039/D2AY01532C>

ANZALONE, G. et al. Open-source colorimeter. **Sensors (Switzerland)**, v. 13, n. 4, p.

5338-5346, 2013. <https://doi.org/10.3390/s130405338>

ARIZA, J.; BAEZ, H. Understanding the role of single-board computers in engineering and computer science education: A systematic literature review. **Computer Applications in Engineering Education**, v. 30, n. 1, p. 304-329, 2022.
<https://doi.org/10.1002/cae.22439>

ASHOURI, M. et al. Edge computing simulators for iot system design: An analysis of qualities and metrics. **Future Internet**, v. 11, n. 11, p. 1-12, 2019.
<https://doi.org/10.3390/fi11110235>

AYALA, A. et al. Multiparametric automated system for sulfate, nitrite and nitrate monitoring in drinking water and wastewater based on sequential injection analysis. **Microchemical Journal**, v. 100, n. 1, p. 55-60, 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2011.09.004>

AYDIN, A. et al. A novel method for the spectrophotometric determination of nitrite in water. **Talanta**, v. 66, n. 5, p. 1181-1186, 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.01.024>

BADEA, M. et al. New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 509, n. 1, p. 66-72, 2001.
[https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(01\)00358-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(01)00358-8)

BAEZA, M. D. M. et al. Microflow injection system based on a multicommutation technique for nitrite determination in wastewaters. **Analyst**, v. 131, n. 10, p. 1109-1115, 2006. <https://doi.org/10.1039/b605043c>

BAEZA, M. et al. Autoadaptive sequential injection system for nitrite determination in wastewaters. **Talanta**, v. 68, n. 2, p. 245-252, 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.07.038>

BAHADORAN, Z. et al. Nitrate and nitrite content of vegetables, fruits, grains, legumes, dairy products, meats and processed meats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 51, p. 93-105, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.06.006>

BAIRD, R. B. et al. Standard methods: For the examination of water and waste water. **Analytical Biochemistry**, v. 186, n. 1, p. 183, 1990.
[https://doi.org/10.1016/0003-2697\(90\)90598-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(90)90598-4)

BEYAZ, A. Comparison of Arduino Based Inexpensive Colorimeter's Effectiveness At Some Agricultural Products. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 26, n. 11, p. 6457-6469, 2017. Disponível em: [FEB_11_2017_Pp_6303-6973 \(researchgate.net\)](https://www.researchgate.net/publication/318307002) Acessado em 23 de setembro de 2023.

BIGAS, M. et al. Review of CMOS image sensors. **Microelectronics Journal**, v. 37, n. 5, p. 433-451, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.mejo.2005.07.002>

BILLS, M. V. et al. Handheld UV fluorescence spectrophotometer device for the classification and analysis of petroleum oil samples. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 159, n. March, p. 112193, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112193>

BLASCO, J. et al. Computer vision detection of peel defects in citrus by means of a region oriented segmentation algorithm. v. 81, p. 535-543, 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.12.007>

BONDIOLI, P.; BELLA, L. D. An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n. 3, p. 153-157, 2005. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200401054>

BORGES, F. et al. Determination of formaldehyde in bovine milk using a high sensitivity HPLC-UV method. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 383-389, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.07.003>

BOUZEMBRAK, Y. et al. Internet of Things in food safety: Literature review and a bibliometric analysis. **Trends in Food Science and Technology**, v. 94, n. April, p. 54-64, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.002>

BOWMAKER, J. K.; HUNT, D. M. Evolution of vertebrate visual pigments. **Current biology : CB**, v. 16, n. 13, p. 484-489, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.06.016>

BRANDÃO, E. G.; PERDIGÃO, S. R. W.; REIS, B. F. A new flow cell design for chemiluminescence detection using an improved signal transduction network. Determination of hydrogen peroxide in pharmaceuticals. **Microchemical Journal**, v. 171, n. August, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106789>

BROWN, E. W. et al. ACEstat: A DIY Guide to Unlocking the Potential of Integrated Circuit Potentiostats for Open-Source Electrochemical Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 94, n. 12, p. 4906-4912, 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c04226>

BUCKLEY, K. E. ; FICHER, L. J. . Electron Capture Gas Chromatographic Determination of Traces of Formaldehyde in Milk as the 2,4-Dinitrophenylhydrazone. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 69, n. 4, p. 543-572, 1986. <https://doi.org/10.1093/jaoac/69.4.655>

BUDANOVA, N.; FOUREST, B.; MASLENNIKOV, A. Capillary electrophoresis determination of nitrate and nitrite in high-salt perchlorate solutions for the UC dissolution study. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 281, n. 3, p. 597-602, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10967-009-0002-1>

BUECHLEY, L. et al. DIY for CHI: Methods, communities, and values of reuse and customization. **Conference on Human Factors in Computing Systems - Proceedings**, p. 4823-4826, 2009. <https://doi.org/10.1145/1520340.1520750>

BUENO, D.; MANUEL, J. Electronic Eye Based on RGB Analysis for the Identification of Tequilas. **Biosensors**, v 11(3). 2021. <https://doi.org/10.3390/bios11030068>

BUNGE, F. et al. Microfluidic oxygen sensor system as a tool to monitor the metabolism of mammalian cells. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 289, n. October 2018, p. 24-31, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.03.041>

BURAKHAM, R. et al. Simple flow-injection system for the simultaneous determination of nitrite and nitrate in water samples. **Talanta**, v. 64, n. 5 SPEC. ISS., p. 1259-1265, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.03.059>

BZURA, J.; FIEDORUK-POGREBNIAK, M.; KONCKI, R. Photometric and fluorometric alkaline phosphatase assays using the simplest enzyme substrates. **Talanta**, v. 190, n. July, p. 193-198, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.052>

CADEADO, A. N. S. et al. Internet of Things as a Tool for Sustainable Analytical Chemistry: A Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 33, p. 681-692, jun. 2022. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20220048>

CALDERONE, J. B.; JACOBS, G. H. Cone receptor variations and their functional consequences in two species of hamster. **Visual Neuroscience**, v. 16, n. 1, p. 53-63, 1999. <https://doi.org/10.1017/S0952523899161029>

CAÑIZARES, P.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Flow-through spectrofluorimetric sensor for the determination of glycerol in wine. **Analyst**, v. 120, n. 12, p. 2837-2840, 1995. <https://doi.org/10.1039/AN9952002837>

CAPELLA, J. V. et al. A new application of internet of things and cloud services in analytical chemistry: Determination of bicarbonate in water. **Sensors**, v. 19, n. 24, p. 1-13, 2019. <https://doi.org/10.3390/s19245528>

CASTELLARI, M. et al. Determination of carboxylic acids, carbohydrates, glycerol, ethanol, and 5-HMF in beer by high-performance liquid chromatography and UV-refractive index double detection. **Journal of Chromatographic Science**, v. 39, n. 6, p. 235-238, 2001. <https://doi.org/10.1093/chromsci/39.6.235>

CHEN, W. et al. Assembly of a UV-LED induced fluorescence system for rapid determination of amiloride in pharmaceutical tablet and human serum. **Talanta**, v. 203, n. April, p. 77-82, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.010>

CHINNICI, F.; SPINABELLI, U.; AMATI, A. Simultaneous determination of organic acids, sugars, and alcohols in musts and wines by an improved ion-exclusion HPLC method. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 25, n. 16, p. 2551-2560, 2002. <https://doi.org/10.1081/JLC-120014274>

CLAEYS, W. L. et al. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 251-262, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.035>

COLLARD, K. M.; MCCORMICK, D. P. A Nutritional Comparison of Cow's Milk and Alternative Milk Products. **Academic Pediatrics**, v. 21, n. 6, p. 1067-1069, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.acap.2020.12.007>

CZUGALA, M. et al. Portable integrated microfluidic analytical platform for the monitoring and detection of nitrite. **Talanta**, v. 116, p. 997-1004, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.07.058>

DE MORAIS, C. L. M. et al. A low-cost microcontrolled photometer with one color recognition sensor for selective detection of Pb²⁺ using gold nanoparticles. **Anal** 7, 2015.
<https://doi.org/10.1039/C5AY01762A>

DE SOUZA, F. C. et al. Simple enzymatic methods for glycerol analysis in commercial beverages. **CYTA - Journal of Food**, v. 11, n. 3, p. 270-276, 2013.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2012.732613>

DELIKHOON, M. et al. Characteristics and health effects of formaldehyde and acetaldehyde in an urban area in Iran. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 938-951, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.037>

DONG, S.; DASGUPTA, P. K. Fast Fluorometric Flow Injection Analysis of Formaldehyde in Atmospheric Water. v. 2, n. 6, p. 581-588, 1987.
<https://doi.org/10.1021/es00160a009>

EFSA (European Food Safety Authority). Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources. **EFSA J.** 2014a.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3550>

EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on the safety and efficacy of formaldehyde for all animal species based on a dossier submitted by Adiveter S.L. **EFSA J.** 2014b. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3562>

EL GAMAL, A.; ELTOUKHY, H. CMOS image sensors. **IEEE Circuits and Devices Magazine**, v. 21, n. 3, p. 6-20, 2005. <https://doi.org/10.1109/MCD.2005.1438751>

ELLIS, D. I. et al. Point-and-shoot: Rapid quantitative detection methods for on-site food fraud analysis-moving out of the laboratory and into the food supply chain. **Analytical Methods**, v. 7, n. 22, p. 9401-9414, 2015. <https://doi.org/10.1039/C5AY02048D>

ENSAFI, A. A.; REZAEI, B.; NOUROOZI, S. Simultaneous spectrophotometric determination of nitrite and nitrate by flow injection analysis. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 12, p. 1749-1753, 2004. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.1749>

FALQUÉ LÓPEZ, E.; FERNÁNDEZ GÓMEZ, E. Simultaneous determination of the major organic acids, sugars, glycerol, and ethanol by HPLC in grape musts and white wines. **Journal of Chromatographic Science**, v. 34, n. 5, p. 254-257, 1996.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/34.5.254>

FAPPIANO, L. et al. A Review on Recent Sensing Methods for Determining Formaldehyde in Agri-Food Chain: A Comparison with the Conventional Analytical Approaches. **Foods**, v. 11, n. 9, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11091351>

FERNÁNDEZ-ARGÜELLES, M. T. et al. Flow injection determination of nitrite by fluorescence quenching. **Talanta**, v. 62, n. 5, p. 991-995, 2004.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2003.10.031>

FITZPATRICK, D. E.; BRIEN, M. O.; LEY, S. V. Reaction Chemistry & Engineering board computers and their applications to monitor and control chemical reactions †. p. 201-220, 2020. <https://doi.org/10.1039/C9RE00407F>

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78-84, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>

GAO, W. et al. Development of an arduino-based integrated system for sensing of hydrogen peroxide. **Sensors and Actuators Reports**, v. 3, p. 100045, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.snr.2021.100045>

GAWEL, R. et al. The mouthfeel of white wine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 17, p. 2939-2956, 2018.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1346584>

GAWEL, R.; VAN SLUYTER, S.; WATERS, E. J. The effects of ethanol and glycerol on the body and other sensory characteristics of Riesling wines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 13, n. 1, p. 38-45, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2007.tb00070.x>

GELBER, S. M. Do-It-Yourself: Constructing, Repairing and Maintaining Domestic Masculinity. **American Quarterly**, v. 49, n. 1, p. 66-112, 1997.
<https://doi.org/10.1353/aq.1997.0007>

GEVAERD, A. et al. A complete lab-made point of care device for non-immunological electrochemical determination of cortisol levels in salivary samples. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 332, n. August 2020, p. 129532, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129532>

GIGANTE, A. C. et al. Spectrophotometric determination of formaldehyde with chromotropic acid in phosphoric acid medium assisted by microwave oven. **Microchemical Journal**, v. 77, n. 1, p. 47-51, 2004.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2003.12.002>

GILLANDERS, R. N.; SAMUEL, I. D. W.; TURNBULL, G. A. A low-cost, portable optical explosive-vapour sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 245, p. 334-340, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.01.178>

GIUSTARINI, D. et al. Adaptation of the griess reaction for detection of nitrite in human plasma. **Free Radical Research**, v. 38, n. 11, p. 1235-1240, 2004.
<https://doi.org/10.1080/10715760400017327>

GRASSI, S. et al. How Chemometrics Can Fight Milk Adulteration. **Foods**, v. 12, n. 1, p. 1-28, 2023. <https://doi.org/10.3390/foods12010139>

GRAZIOLI, C. et al. 3D printed portable instruments based on affordable electronics, smartphones and open-source microcontrollers suitable for monitoring food quality. **Microchemical Journal**, v. 159, n. September, p. 3-9, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105584>

GRAZIOLI, C. et al. A 3D printed Do-It-Yourself miniaturized device with a sensor responsive at six different wavelengths for reflectance measurements on paper-based supports. **Microchemical Journal**, v. 182, n. August, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107857>

GREENAWALD, L. A. et al. Development of an Inexpensive RGB Color Sensor for the Detection of Hydrogen Cyanide Gas. **ACS Sensors**, v. 2, n. 10, p. 1458-1466, 2017.
<https://doi.org/10.1021/acssensors.7b00396>

HÁJEK, M.; SKOPAL, F.; MACHEK, J. Determination of free glycerol in biodiesel. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 108, n. 8, p. 666-669, 2006.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.200600004>

HATAMIE, A. et al. Trace analysis of nitrite ions in environmental samples by using in-

situ synthesized Zein biopolymeric nanoparticles as the novel green solid phase extractor. **Talanta**, v. 176, p. 156-164, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.023>

HAUG, A.; HØSTMARK, A. T.; HARSTAD, O. M. Bovine milk in human nutrition - A review. **Lipids in Health and Disease**, v. 6, p. 1-16, 2007. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>

HE, D. et al. Chemiluminescence microflow injection analysis system on a chip for the determination of nitrite in food. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 667-672, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.024>

HELALEH, M. I. H.; KORENAGA, T. Ion chromatographic method for simultaneous determination of nitrate and nitrite in human saliva. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 744, n. 2, p. 433-437, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00264-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00264-4)

HEO, G. et al. Developing an RGB - Arduino device for the multi-color recognition, detection and determination of Fe(III), Co(II), Hg(II) and Sn(II) in aqueous media by a terpyridine moiety. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 297, n. January, p. 126723, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126723>

HIRATA, S.; KARTHIKEYAN, S.; KAJIYA, T. Portable Flow-Injection Analyzer for Nitrite and Nitrate in Natural Water. **Analytical Sciences**, v. 20, n. 3, p. 567-569, 2004. <https://doi.org/10.2116/analsci.20.567>

HORSTKOTTE, B. et al. At-line determination of formaldehyde in bioprocesses by sequential injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 559, n. 2, p. 248-256, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.11.085>

HOSSAIN, M. A. et al. Time-resolved and temperature tuneable measurements of fluorescent intensity using a smartphone fluorimeter. **Analyst**, v. 142, n. 11, p. 1953-1961, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7AN00535K>

HU, X. et al. Automatic Detection of Small Sample Apple Surface Defects Using ASDINet. 2023. <https://doi.org/10.3390/foods12061352>

HUANG, K. J. et al. Spectrofluorimetric determination of trace nitrite in food products with a new fluorescent probe 1,3,5,7-tetramethyl-2,6-dicarbethoxy-8-(3',4'-diaminophenyl)-difluoroboradiaz-a-s-indacene. **Talanta**, v. 69, n. 1, p. 73-78, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.08.062>

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247-1250, 1991. <https://doi.org/10.1351/pac199163091247>

INGRAM, N. T.; SAMPATH, A. P.; FAIN, G. L. Why are rods more sensitive than cones? **Journal of Physiology**, v. 594, n. 19, p. 5415-5426, 2016.

<https://doi.org/10.1111/JP272556>

ISIKDAG, U. Using IoT services and integration patterns. Enhanced Building Information Models: Using IoT Services and Integration Patterns, p. 1-121, 2015.

https://doi.org/10.1007/978-3-319-21825-0_1

JANG, C. W. et al. A wireless monitoring sub-nA resolution test platform for nanostructure sensors. **Sensors (Switzerland)**, v. 13, n. 6, p. 7827-7837, 2013.

<https://doi.org/10.3390/s130607827>

JANG, H.; AHMED, S. R.; NEETHIRAJAN, S. GryphSens : A Smartphone-Based Portable Diagnostic Reader for the Rapid Detection of Progesterone in Milk. 2017.

<https://doi.org/10.3390/s17051079>

JARIMOPAS, B.; JAISIN, N. An experimental machine vision system for sorting sweet tamarind. v. 89, p. 291-297, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.05.007>

JÄRVINEN, T. et al. Portable cyber-physical system for indoor and outdoor gas sensing. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 252, p. 983-990, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.06.102>

JAWORSKA, G. Content of nitrates, nitrites, and oxalates in New Zealand spinach. **Food Chemistry**, v. 89, n. 2, p. 235-242, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.030>

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1302-1310, 2006.

[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72198-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1)

JEONG, H. et al. Validation and Determination of the Contents of Acetaldehyde and Formaldehyde in Foods. v. 31, n. 3, p. 273-278, 2015.

<https://doi.org/10.5487/TR.2015.31.3.273>

KADOWAKI, R.; NAKANO, S.; KAWASHIMA, T. Sensitive flow injection colorimetry of nitrite by catalytic coupling of N-phenyl-p-phenylenediamine with N,N-dimethylaniline. **Talanta**, v. 48, n. 1, p. 103-107, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(98\)00227-6](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(98)00227-6)

KAMINSKI, J.; ATWAL, A. S.; MAHADEVAN, S. Determination of formaldehyde in fresh and retail milk by liquid column chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 76, n. 5, p. 1010-1013, 1993. <https://doi.org/10.1093/jaoac/76.5.1010>

KASSAL, P.; STEINBERG, I. M.; STEINBERG, M. D. Wireless smart tag with potentiometric input for ultra low-power chemical sensing. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 184, p. 254-259, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.04.049>

KHAN, M. S. et al. Detection of prostate specific antigen (PSA) in human saliva using an ultra-sensitive nanocomposite of graphene nanoplatelets with diblock- Co -polymers and Au electrodes. **Analyst**, v. 143, n. 5, p. 1094-1103, 2018.
<https://doi.org/10.1039/C7AN01932G>

KHANFAR, M. F.; AL-FAQHERI, W.; AL-HALHOULI, A. Low cost lab on chip for the colorimetric detection of nitrate in mineral water products. **Sensors (Switzerland)**, v. 17, n. 10, p. 1-9, 2017. <https://doi.org/10.3390/s17102345>

KIM, J. DO et al. A simple taste analyzing system design for visual and quantitative analysis of different tastes using multi-array chemical sensors and pattern recognition techniques. **Talanta**, v. 70, n. 3, p. 546-555, 2006.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.01.020>

KIM, S.; KIM, H. Comparison of standard methods and gas chromatography method in determination of formaldehyde emission from MDF bonded with formaldehyde-based resins. v. 96, p. 1457-1464, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.12.003>

KIRUBA DANIEL, S. C. G. et al. Handheld, low-cost electronic device for rapid, real-time fluorescence-based detection of Hg^{2+} , using aptamer-templated ZnO quantum dots. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 290, n. March, p. 73-78, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.03.113>

KOCHETKOVA, M.; TIMOFEEVA, I.; BULATOV, A. A derivatization and microextraction procedure with organic phase solidification on a paper template: Spectrofluorometric determination of formaldehyde in milk. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 263, p. 120160, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120160>

KOEL, M.; KALJURAND, M. Application of the principles of green chemistry in analytical chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 1993-2002, 2006.
<https://doi.org/10.1351/pac200678111993>

KUHN, J. et al. A rapid method for an offline glycerol determination during microbial fermentation. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 3, p. 252-255, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.01.005>

KUZNETSOV, V. V.; ZEMYATOVA, S. V.; ERMOLENKO, Y. V. Flow-injection determination of nitrites based on their reaction with thiocyanates. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 60, n. 3, p. 289-296, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10809-005-0086-x>

LAM, S. C. et al. Ultraviolet absorbance detector based on a high output power 235 nm surface mounted device-type light-emitting diode. **Journal of Chromatography A**, v. 1631, p. 461540, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461540>

LAPENAITE, I.; RAMANAVICIENE, A.; RAMANAVICIUS, A. Current trends in enzymatic determination of glycerol. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 13-25, 2006. <https://doi.org/10.1080/10408340500451973>

LEEMANS, V.; MAGEIN, H.; DESTAIN, M. Defects segmentation on 'Golden Delicious' apples by using colour machine vision. v. 20, p. 117-130, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0168-1699\(98\)00012-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1699(98)00012-X)

LEEMANS, V.; MAGEIN, H.; DESTAIN, M. F. On-line Fruit Grading according to their External Quality using Machine Vision. v. 83, p. 397-404, 2002. <https://doi.org/10.1006/bioe.2002.0131>

LIAO, Y. H. et al. Portable device for quick detection of viable bacteria in water. **Micromachines**, v. 11, n. 12, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.3390/mi11121079>

LIMING, X.; YANCHAO, Z. Automated strawberry grading system based on image processing. p. 32-39, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2009.09.013>

LIN, B. et al. Low-Cost Automatic Sensor for in Situ Colorimetric Detection of Phosphate and Nitrite in Agricultural Water. **ACS Sensors**, v. 3, n. 12, p. 2541-2549, 2018. <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b00781>

LIU, L. et al. Smartphone-based sensing system using ZnO and graphene modified electrodes for VOCs detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 93, n. June 2016, p. 94-101, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.09.084>

LÓPEZ PASQUALI, C. E.; FERNÁNDEZ HERNANDO, P.; DURAND ALEGRIÁ, J. S. Spectrophotometric simultaneous determination of nitrite, nitrate and ammonium in soils by flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 600, n. 1-2 SPEC. ISS., p. 177-182, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.03.015>

LÓPEZ-GARCÍA, F. et al. Automatic detection of skin defects in citrus fruits using a multivariate image analysis approach. v. 71, p. 189-197, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2010.02.001>

LUCA, G. C. et al. Development of a potentiometric procedure for determination of glycerol and 2,3-butanediol in wine by sequential injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, n. 1-3, p. 193-199, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00103-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00103-2)

MACHADO, C.; PETRUCI, J. F. DA S.; SILVA, S. G. An IoT optical sensor for photometric determination of oxalate in infusions. **Microchemical Journal**, v. 168, n. April, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106466>

MAEJIMA, K.; HIRUTA, Y.; CITTERIO, D. Centrifugal Paperfluidic Platform for Accelerated Distance-Based Colorimetric Signal Readout. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 7, p. 4749-4754, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05782>

MANEA, F. et al. Simultaneous electrochemical determination of nitrate and nitrite in aqueous solution using Ag-doped zeolite-expanded graphite-epoxy electrode. **Talanta**, v. 83, n. 1, p. 66-71, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.08.042>

MATAIX, E.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Simultaneous determination of ethanol and glycerol in wines by a flow injection-pervaporation approach with in parallel photometric and fluorimetric detection. **Talanta**, v. 51, n. 3, p. 489-496, 2000.

[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(99\)00297-0](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(99)00297-0)

MAYER, M.; BAEUMNER, A. J. A Megatrend Challenging Analytical Chemistry: Biosensor and Chemosensor Concepts Ready for the Internet of Things. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 13, p. 7996-8027, 2019.

<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00719>

MCKNIGHT, G. M. et al. Dietary nitrate in man: Friend or foe? **British Journal of Nutrition**, v. 81, n. 5, p. 349-358, 1999. <https://doi.org/10.1017/S000711459900063X>

MELCHERT, W. R.; INFANTE, C. M. C.; ROCHA, F. R. P. Development and critical comparison of greener flow procedures for nitrite determination in natural waters. **Microchemical Journal**, v. 85, n. 2, p. 209-213, 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.05.010>

MELONI, G. N. Building a microcontroller based potentiostat: A inexpensive and versatile platform for teaching electrochemistry and instrumentation. **Journal of Chemical Education**, v. 93, n. 7, p. 1320-1322, 2016.

<https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00961>

MERCER, C. et al. Glucose biosensor based on open-source wireless microfluidic potentiostat. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 290, n. January, p. 616-624, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.031>

MERUSI, C. et al. Determination of nitrates, nitrites and oxalates in food products by capillary electrophoresis with pH-dependent electroosmotic flow reversal. **Food Chemistry**, v. 120, n. 2, p. 615-620, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.035>

MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric Oxide - Biology and Chemistry, v. 5, n. 1, p. 62-71, 2001. <https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319>

MOHANTY, S. K.; KIM, D.; BEEBE, D. J. Do-it-yourself microelectrophoresis chips with integrated sample recovery. **Electrophoresis**, v. 27, n. 19, p. 3772-3778, 2006. <https://doi.org/10.1002/elps.200600238>

MOLDOVAN, Z. et al. Simple and Sensitive Kinetic Spectrometric Methods for Determination of Formaldehyde in Rainwater Samples. p. 19-29, 2018. <https://doi.org/10.2174/1573411012666160901113620>

MONOŠÍK, R. et al. Multienzymatic amperometric biosensor based on gold and nanocomposite planar electrodes for glycerol determination in wine. **Analytical Biochemistry**, v. 421, n. 1, p. 256-261, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.10.020>

MUCÉDOLA, V. et al. Thermal desorption modulation for comprehensive two-dimensional gas chromatography using a simple and inexpensive segmented-loop fluidic interface. **Talanta**, v. 164, n. September 2016, p. 470-476, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.005>

NAGARAJ, P. et al. Sensitive spectrophotometric methods for the assessment of nitrite in water sample. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 147, n. 1-3, p. 235-241, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10661-007-0115-3>

NAGARAJA, P. et al. A simple and sensitive spectrophotometric method for the determination of trace amounts of nitrite in environmental and biological samples using 4-amino-5-hydroxynaphthalene-2,7-disulphonic acid monosodium salt. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 75, n. 5, p. 1411-1416, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.01.010>

NAGRAIK, R. et al. Milk adulterant detection: Conventional and biosensor-based approaches: A review. **Sensing and Bio-Sensing Research**, v. 33, n. March, p. 100433, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2021.100433>

NASCIMENTO, C. F. et al. Exploitation of pulsed flows for on-line dispersive liquid-liquid microextraction: Spectrophotometric determination of formaldehyde in milk. **Talanta**, v. 144, p. 1189-1194, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.076>

NASCIMENTO, C. F. et al. Recent advances on determination of milk adulterants. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1232-1244, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.034>

NASH, T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. **Biochemical Journal**, 55(3), 416-417.1953. <https://doi.org/10.1042/bj0550416>

NG, S. M. et al. Integrated miniature fluorescent probe to leverage the sensing potential of ZnO quantum dots for the detection of copper (II) ions. **Talanta**, v. 116, p. 514-519, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.07.031>

NGHIA, N. N.; HUY, B. T.; LEE, Y. I. Highly sensitive and selective optosensing of quercetin based on novel complexation with yttrium ions. **Analyst**, v. 145, n. 9, p. 3376-3384, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0AN00117A>

NGUYEN, H. T. et al. Gries - Illosvay Spectrophotometry for Determination of Nitrite in Water and Vegetables in Vietnam. **Asian Journal of Chemical Sciences**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2018a. <https://doi.org/10.9734/AJOCs/2018/45514>

NGUYEN, T. et al. From lab on a chip to point of care devices: The role of open source microcontrollers. **Micromachines**, v. 9, n. 8, 2018. <https://doi.org/10.3390/mi9080403>

NOROOZIFAR, M. et al. Application of manganese(IV) dioxide microcolumn for determination and speciation of nitrite and nitrate using a flow injection analysis-flame atomic absorption spectrometry system. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 359-364, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.04.009>

NOWSHAD, F.; ISLAM, M. N.; KHAN, M. S. Concentration and formation behavior of naturally occurring formaldehyde in foods. **Agriculture and Food Security**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2018. <https://doi.org/10.1186/s40066-018-0166-4>

NUNES FERNANDES, E. et al. Automatic flow procedure for the determination of glycerol in wine using enzymatic reaction and spectrophotometry. **Microchemical Journal**, v. 77, n. 2, p. 107-112, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.02.003>

OBUĆINSKI, D.; PUŠARA, N.; RADULOVIĆ, J. Analysis and Impact of Factors Influencing Supply and Demand of Wine. v. 6, n. 2, p. 893-901, 2023. <https://doi.org/10.55817/EWNV9422>

ODAMATANI, H. K. et al. Rapid Method for Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate in Water Samples Using Short-Column Ion-Pair Chromatographic Separation , Photochemical Reaction , and Chemiluminescence Detection. v. 27, n. February, p. 187-192, 2011. <https://doi.org/10.2116/analsci.27.187>

OLIVEIRA, G. DE C. et al. RGB color sensor for colorimetric determinations: Evaluation and quantitative analysis of colored liquid samples. **Talanta**, v. 241, n. January, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123244>

OLIVEIRA, H. M. et al. Kinetic enzymatic determination of glycerol in wine and beer using a sequential injection system with spectrophotometric detection. **Journal of**

Agricultural and Food Chemistry, v. 54, n. 12, p. 4136-4140, 2006.
<https://doi.org/10.1021/jf060229j>

OLIVEIRA, S. M.; LOPES, T. I. M. S.; RANGEL, A. O. S. S. Spectrophotometric determination of nitrite and nitrate in cured meat by sequential injection analysis. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 9, p. 690-695, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09917.x>

OTAL, E. H. et al. Open-Source Portable Device for the Determination of Fluoride in Drinking Water. **ACS Sensors**, v. 6, n. 1, p. 259-266, 2021.
<https://doi.org/10.1021/acssensors.0c02273>

PAZZI, B. M.; PISTOIA, D.; ALBERTI, G. RGB-Detector: A Smart, Low-Cost Device for Reading RGB Indexes of Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. **Micromachines**, v. 13, n. 10, 2022. <https://doi.org/10.3390/mi13101585>

PENA-PEREIRA, F. et al. A paper-based gas sensor for simultaneous noninstrumental colorimetric detection of nitrite and sulfide in waters. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 9-10, p. 1908-1914, 2020. <https://doi.org/10.1002/jssc.201901339>

PÉREZ-RUÍZ, T. et al. Spectrofluorimetric determination of formaldehyde by a flow-injection method based on its catalytic effect on the acridine yellow-bromate reaction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 5, p. 661-665, 2003.
<https://doi.org/10.1007/s00216-003-1763-y>

PINHEIRO, H. L. C. et al. Spectrofluorimetric determination of formaldehyde in air after collection onto silica cartridges coated with Fluoral P. **Microchemical Journal**, v. 78, n. 1, p. 15-20, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.02.017>

PINTO, G. F. et al. A multicommutated flow system for spectrophotometric determination of formaldehyde in Mushroom. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 7, p. 1400-1405, 2018. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180002>

PINTO, G. F. et al. Indirect determination of formaldehyde by square-wave voltammetry based on the electrochemical oxidation of 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine using an unmodified glassy-carbon electrode. **Talanta**, v. 198, p. 237-241, jun. 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.108>

POP, A. et al. Non-enzymatic electrochemical detection of glycerol on boron-doped diamond electrode. **Analyst**, v. 137, n. 3, p. 641-647, 2012.
<https://doi.org/10.1039/C2AN15645H>

POULLADOFONOU, G. et al. Wearable Electronic Finger for Date Rape Drugs Screening: From "do-It-Yourself" Fabrication to Self-Testing. **Analytical Chemistry**, v.

94, n. 9, p. 4087-4094, 2022. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c00015>

POURREZA, N.; FATHI, M. R.; HATAMI, A. Indirect cloud point extraction and spectrophotometric determination of nitrite in water and meat products. **Microchemical Journal**, v. 104, p. 22-25, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.03.026>

PUANGPILA, C. et al. Mobile-phone-based colourimetric analysis for determining nitrite content in water. **Environmental Chemistry**, v. 15, n. 7, p. 403-410, 2018. <https://doi.org/10.1071/EN18072>

QI, W. et al. A microfluidic biosensor for rapid and automatic detection of *Salmonella* using metal-organic framework and Raspberry Pi. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 178, p. 113020, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113020>

QIN, C. et al. Advancement of omics techniques for chemical profile analysis and authentication of milk. **Trends in Food Science and Technology**, v. 127, n. May, p. 114-128, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.001>

RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CAVALHEIRO, É. T. G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1114-1120, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000500037>

REINGRUBER, H.; PONTEL, L. B. Formaldehyde metabolism and its impact on human health. **Current Opinion in Toxicology**, v. 9, p. 28-34, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2018.07.001>

RODRIGUES, E. R. G. O.; LAPA, R. A. S. CMOS arrays as chemiluminescence detectors on microfluidic devices. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 1, p. 381-388, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3518-x>

ROVIRA, J. et al. Human health risks of formaldehyde indoor levels: An issue of concern. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 51, n. 4, p. 357-363, 2016. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.1109411>

RUIZ-GARCIA, L. et al. A review of wireless sensor technologies and applications in agriculture and food industry: State of the art and current trends. **Sensors (Switzerland)**, v. 9, n. 6, p. 4728-4750, 2009. <https://doi.org/10.3390/s90604728>

SANTOS, G. F.; REIS, F. B. Automated analytical procedure using multicommutated flow analysis and organic solvent extraction controlled by an Arduino Due board for photometric determination of zinc in water. **Microchemical Journal**, v. 163, n. January, p. 105918, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.105918>

SARACOGLU, O. G.; HAYBER, S. E. Bent Fiber Sensor for Preservative Detection in Milk. **Sensors**, v. 16, n. 12, 2016. <https://doi.org/10.3390/s16122094>

SCHADE, F. et al. Open-source all-in-one LabToGo Office Chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 1174, p. 26-32, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338702>

SEBAEI, A. S. et al. Determination of formaldehyde by HPLC with stable precolumn derivatization in egyptian dairy products. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2018, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2757941>

SERGIYENKO, O.; RODRIGUEZ-QUINONEZ, J. C. Developing and Applying Optoelectronics in Machine Vision. 2016. <http://dx.doi.org/10.4018/978-1-5225-0632-4>

SHAHIN, M. A. et al. Apple Classification Based on Surface Bruise Using Image Processing and Neural Networks. v. 45, n. 5, p. 1619-1627, 2002.
<https://doi.org/10.13031/2013.11047>

SHARIAR, S. M.; HINOUE, T. Simultaneous voltammetric determination of nitrate and nitrite ions using a copper electrode pretreated by dissolution/redeposition. **Analytical Sciences**, v. 26, n. 11, p. 1173-1179, 2010. <https://doi.org/10.2116/analsci.26.1173>

SHEN, X. et al. Smartphone-based electrochemical potentiostat detection system using pedot: Pss/chitosan/graphene modified screen-printed electrodes for dopamine detection. **Sensors (Switzerland)**, v. 20, n. 10, 2020. <https://doi.org/10.3390/s20102781>

SHETTY, S. A.; RANGIAH, K. Simple click chemistry-based derivatization to quantify endogenous formaldehyde in milk using ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry in selected reaction monitoring mode. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 34, n. 19, p. 1-9, 2020.
<https://doi.org/10.1002/rcm.8865>

SILVA, A. F. S.; GONÇALVES, I. C.; ROCHA, F. R. P. Smartphone-based digital images as a novel approach to determine formaldehyde as a milk adulterant. **Food Control**, v. 125, n. November 2020, p. 1-7, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107956>

SILVA, S. G. et al. Sequential spectrofluorimetric determination of free and total glycerol in biodiesel in a multicommutted flow system. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 1, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5058-4>

SILVA, S. G.; ROCHA, F. R. P. A flow injection procedure based on solenoid micro-pumps for spectrophotometric determination of free glycerol in biodiesel. **Talanta**, v. 83, n. 2, p. 559-564, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.061>

SINGH, H. et al. A low-cost device for rapid 'color to concentration' quantification of cyanide in real samples using paper-based sensing chip. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 322, n. July, p. 128622, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128622>

SINGH, P.; GANDHI, N. Milk Preservatives and Adulterants: Processing, Regulatory and Safety Issues. **Food Reviews International**, v. 31, n. 3, p. 236-261, 2015. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.994818>

SOLTANPOUR, Z.; MOHAMMADIAN, Y.; FAKHRI, Y. The exposure to formaldehyde in industries and health care centers: A systematic review and probabilistic health risk assessment. **Environmental Research**, v. 204, n. PB, p. 112094, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112094>

SONIA, J.; ZANHAL, G. K. M.; PRASAD, K. S. Low cost paper electrodes and the role of oxygen functionalities and edge-plane sites towards trolox sensing. **Microchemical Journal**, v. 158, n. March, p. 105164, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105164>

SOUSA, E. T. . et al. A Semi-Continuous Analyzer for the Fluorimetric Determination of Atmospheric Formaldehyde. v. 20, n. 2, p. 259-265, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532009000200010>

SOUSA, L. R. et al. "Do it yourself" protocol to fabricate dual-detection paper-based analytical device for salivary biomarker analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 415, n. 18, p. 4391-4400, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00216-023-04581-2>

SRIVASTAVA, S.; SHARMA, V. Ultra-portable, smartphone-based spectrometer for heavy metal concentration measurement in drinking water samples. **Applied Water Science**, v. 11, n. 11, p. 1-8, 2021. <https://doi.org/10.1007/s13201-021-01519-w>

SRIVASTAVA, S.; VANI, B.; SADISTAP, S. Handheld, smartphone based spectrometer for rapid and nondestructive testing of citrus cultivars. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 1, p. 892-904, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00693-w>

STABELL, B.; STABELL, U. Rod-cone interaction in form detection. **Vision Research**, v. 33, n. 2, p. 195-201, 1993. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(93\)90157-R](https://doi.org/10.1016/0042-6989(93)90157-R)

SUDER, J. et al. Spectrum sensors for detecting type of airport lamps in a light photometry system. **Opto-Electronics Review**, v. 29, n. 4, p. 133-140, 2021. <https://doi.org/10.24425/opelre.2021.139383>

SURYANARAYANAN, V.; WU, C. T.; HO, K. C. Molecularly imprinted

electrochemical sensors. **Electroanalysis**, v. 22, n. 16, p. 1795-1811, 2010.
<https://doi.org/10.1002/elan.200900616>

TAKAHAMA, U.; HIROTA, S.; ONIKI, T. Thiocyanate cannot inhibit the formation of reactive nitrogen species in the human oral cavity in the presence of high concentrations of nitrite: Detection of reactive nitrogen species with 4,5-diaminofluorescein. **Chemical Research in Toxicology**, v. 19, n. 8, p. 1066-1073, 2006.
<https://doi.org/10.1021/tx060038a>

TEERASONG, S. . et al. Notes A Multiple Processing Hybrid Flow System for Analysis of Formaldehyde Contamination in Food. v. 26, n. May, 2010.
<https://doi.org/10.2116/analsci.26.629>

TEIXEIRA, L. S. G. et al. Determination of formaldehyde in Brazilian alcohol fuels by flow-injection solid phase spectrophotometry. **Talanta**, v. 64, n. 3, p. 711-715, 2004.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.03.047>

TING, H. et al. A pinch-valve interface for automated sampling and monitoring of dynamic processes by gas chromatography-mass spectrometry. p. 4652-4660, 2014.
<https://doi.org/10.1039/c4ay00637b>

TOK, S. et al. Early detection of E. coli and total coliform using an automated, colorimetric and fluorometric fiber optics-based device. 2019.
<https://doi.org/10.1039/C9LC00652D>

TONELLI, A. et al. Sensing Optimum in the Raw : Leveraging the Raw-Data Imaging Capabilities of Raspberry Pi for Diagnostics Applications. n. i, 2021.
<https://doi.org/10.3390/s21103552>

TONELLI, A. et al. The geek and the chemist : Antioxidant capacity measurements by DPPH assay in beverages using open source tools , consumer electronics and 3D printing. **Sensors & Actuators: B. Chemical**, v. 282, n. October 2018, p. 559-566, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.11.019>

VENTURA, D. F. et al. UV responses in the retina of the turtle. **Visual Neuroscience**, v. 16, n. 2, p. 191-204, 1999. <https://doi.org/10.1017/S0952523899162011>

VERÍSSIMO, M. I. S. . et al. A new formaldehyde optical sensor: Detecting milk adulteration. **Food Chemistry**, v. 318, n. August 2019, p. 126461, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126461>

VIDAL, E. et al. Micropaper-based analytical device (μ PAD) for the simultaneous determination of nitrite and fluoride using a smartphone. **Microchemical Journal**, v. 143, n. August, p. 467-473, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.08.042>

WAHED, P. et al. Determination of formaldehyde in food and feed by an in-house validated HPLC method. **Food Chemistry**, v. 202, p. 476-483, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.136>

WANG, J. et al. The evolution of the Internet of Things (IoT) over the past 20 years. **Computers and Industrial Engineering**, v. 155, n. June 2020, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.cie.2021.107174>

WATSON, A. et al. Lumos: An Open-Source Device for Wearable Spectroscopy Research. **Proceedings of the ACM on Interactive, Mobile, Wearable and Ubiquitous Technologies**, v. 6, n. 4, 2023. <https://doi.org/10.1145/3569502>

WHO (World Health Organization). Biochemical aspects. Guidelines for Drinking-Water Quality. 2017. https://doi.org/10.5005/jp/books/11431_8

XI, H. et al. Electrochemical determination of formaldehyde via reduced AuNPs @ PPy composites modified electrode. **Microchemical Journal**, v. 156, n. December 2019, p. 104846, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104846>

XIONG, Y. et al. A miniaturized fiber-optic colorimetric sensor for nitrite determination by coupling with a microfluidic capillary waveguide. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 13, p. 3413-3423, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9415-1>

YAN, C. et al. Electrochemical Biosensor Based on Chitosan-and Thioctic-Acid-Modified Nanoporous Gold Co-Immobilization Enzyme for Glycerol Determination. **Chemosensors**, v. 10, n. 7, 2022. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10070258>

YU, Z. et al. An open-source handheld spectrometer for colorimetric and fluorescence analyses. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 287, n. P2, p. 122072, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.122072>

YUDHANA, A. et al. Identification of glucose levels in urine based on classification using k-nearest neighbor algorithm method. **Sciendo International Journal on Smart Sensing and Intelligent Systems**, v. 16, 2023. <https://doi.org/10.2478/ijssis-2023-0006>

YUE, Q.; SONG, Z. Assay of femtogram level nitrite in human urine using luminol-myoglobin chemiluminescence. **Microchemical Journal**, v. 84, n. 1-2, p. 10-13, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.03.005>

YUE, X. F.; ZHANG, Z. Q.; YAN, H. T. Flow injection catalytic spectrophotometric simultaneous determination of nitrite and nitrate. **Talanta**, v. 62, n. 1, p. 97-101, 2004. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00421-1](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00421-1)

ZHAN, X. Q. et al. A sensitive fluorimetric method for the determination of nitrite and nitrate in seawater by a novel red-region fluorescence dye. **Analytical Letters**, v. 34, n. 15, p. 2761-2770, 2001. <https://doi.org/10.1081/AL-100108421>

ZHANG, D. et al. Smartphone-based portable biosensing system using impedance measurement with printed electrodes for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 70, p. 81-88, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.03.004>

ZHANG, J. et al. Intelligent biosensing strategies for rapid detection in food safety: A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 202, n. September 2021, p. 114003, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114003>

ZHANG, Y. et al. Analysis of nitrites and nitrates in hams and sausages by open-tubular capillary electrochromatography with a nanolatex-coated capillary column. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 15, p. 3400-3404, 2014.
<https://doi.org/10.1021/jf500020w>

ZHAO, X.; PROCOPIO, S.; BECKER, T. Flavor impacts of glycerol in the processing of yeast fermented beverages: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 12, p. 7588-7598, 2015. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1977-y>

APÊNDICE: Código do sensor AS 7341

```
#include <Adafruit_AS7341.h>
Adafruit_AS7341 as7341;
void setup() {
Serial.begin(115200);
while (!Serial) {
delay(1);
}
if (!as7341.begin()){
Serial.println("Could not find AS7341");
while (1) { delay(10); }
}
as7341.setATIME(100);
as7341.setASTEP(999);
as7341.setGain(AS7341_GAIN_512X); //Adjust the gain to the allowable values (refer to
the specifications).
}
void loop() {
if (!as7341.readAllChannels()){
Serial.println("Error reading all channels!");
return;
}
Serial.print("F1 415nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_415nm_F1));
Serial.print("F2 445nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_445nm_F2));
Serial.print("F3 480nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_480nm_F3));
Serial.print("F4 515nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_515nm_F4));
Serial.print("F5 555nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_555nm_F5));
Serial.print("F6 590nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_590nm_F6));
Serial.print("F7 630nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_630nm_F7));
Serial.print("F8 680nm : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_680nm_F8));
Serial.print("Clear : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_CLEAR));
Serial.print("Near IR : ");
Serial.println(as7341.getChannel(AS7341_CHANNEL_NIR));
Serial.println("");
Serial.println("0 mA LED blink");
as7341.setLEDCurrent(20); // The number in parentheses determines the LED current, in this
case, it is 20 mA.
as7341.enableLED(true);
}
```