

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS
ALIMENTOS

Keiti Oliveira Alessio

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS VERDES
EMPREGANDO ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO**

Santa Maria, RS
2018

Keiti Oliveira Alessio

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS VERDES EMPREGANDO
ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin

Co-orientador: Prof. Dr. Roger Wagner

Santa Maria, RS
2018

Keiti Oliveira Alessio

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS VERDES EMPREGANDO
ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Aprovado em 02 de março de 2018:

Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte (UFSM)

Prof. Dr. Adilson Ben da Costa (UNISC)

Santa Maria, RS
2018

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA) e ao Núcleo de Tecnologia dos Alimentos (NTA), pela possibilidade de execução desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo incentivo a pesquisa, em especial a CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin, pela orientação neste trabalho, pela confiança em meu trabalho, pela paciência e apoio. Obrigada por todos os ensinamentos que contribuíram para o meu crescimento profissional e também pessoal, pelo convívio e pela amizade.

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Roger Wagner, pela disponibilidade e colaboração durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos Profs. Drs. Adilson Ben da Costa e Fábio Andrei Duarte, pela participação na banca examinadora, e pelas contribuições realizadas para o aprimoramento deste trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pelo auxílio na elaboração deste trabalho, pela disponibilidade dos equipamentos e auxílio durante as análises.

À toda a equipe do Laboratório de Hidrologia da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), pelas contribuições a este trabalho, em especial ao Prof. Dr. Adilson Ben da Costa e ao Prof. Ms. Gilson Augusto Helfer, pela disponibilidade dos equipamentos e auxílio nas análises.

Aos colegas do NTA pelas contribuições, colaboração e amizade. Em especial aos meus colegas de grupo, que contribuíram e participaram diretamente para o desenvolvimento deste trabalho, me auxiliando ao longo de todas as etapas deste processo.

A minha colega e amiga Mônica Voss, por toda amizade, apoio e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho.

A minha família e amigos, por estarem presentes em todos os momentos da minha vida, me auxiliando, apoiando e por compreenderem os meus momentos de ausência. Em especial, agradeço aos meus pais Sergio e Rosangela, meus exemplos, por todo amor, incentivo, apoio, paciência e por me auxiliarem a vencer os meus desafios. Obrigada pela pessoa que sou hoje. E ao meu irmão Sergio Junior, por todo amor e apoio.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS VERDES EMPREGANDO ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO

AUTORA: Keiti Oliveira Alessio

ORIENTADOR: Juliano Smanioto Barin

Grande parte dos métodos utilizados para o controle de qualidade de alimentos e produtos farmacêuticos emprega a titulação como técnica de determinação. Em geral, as análises titulométricas requerem um grande volume de reagentes e geram considerável volume de resíduo. Além disso, algumas limitações relacionadas à baixa frequência de análise e dificuldades na determinação do ponto final da reação podem ser observadas. Assim, uma nova abordagem é proposta neste estudo, empregando entalpimetria no infravermelho (TIE, do inglês *Thermal Infrared Enthalpimetry*) para efetuar análises simples, rápidas, com a redução do uso de reagentes tóxicos, além da substituição destes reagentes por reagentes não tóxicos obtidos de fontes renováveis. Deste modo, primeiramente, foi construído um equipamento que utiliza um pirômetro de infravermelho para a realização de titulações termométricas de forma simples, rápida e de baixo custo. Para garantir as melhores condições analíticas, foi realizada uma prévia otimização dos parâmetros, como o volume total de solução, a distância do sensor da solução e a vazão do titulante. Os resultados para as reações de neutralização, oxirredução e complexação foram comparados com os compêndios oficiais (Farmacopeia Brasileira e Instituto Adolfo Lutz), sendo determinada acidez em molhos, além da determinação de ácido ascórbico e cálcio em produtos farmacêuticos. O método proposto apresentou boa concordância, variando de 97 a 104% para todas as amostras analisadas. Além disso, foi possível reduzir os volumes dos reagentes tóxicos empregados para as análises e o volume de resíduo gerado, seguindo alguns princípios da química analítica verde. Ainda nesse sentido, tendo como objetivo a substituição do uso de reagentes por outros obtidos de fontes renováveis, foi proposto também neste trabalho a combinação da TIE com microplacas de papel que foram utilizadas como reatores e o suco extraído da batata como reagente para a determinação de peróxido de hidrogênio em produtos farmacêuticos, alvejantes e enxaguante bucal. Os parâmetros experimentais como o pH das soluções, o tempo de estabilidade e a proporção dos reagentes foram avaliados para garantir as melhores condições experimentais. Os resultados obtidos pelo emprego de reatores de papel e TIE são promissores, pois foi obtida boa concordância (96 a 103%) para todas as amostras avaliadas, em comparação aos métodos oficiais (USP e ASTM D2180). Portanto, ambos os métodos propostos neste trabalho apresentaram excelente desempenho, mostrando-se uma alternativa adequada para aplicação em análise de rotina, devido ao baixo custo, elevada frequência de análise, simplicidade e principalmente por estarem de acordo com os princípios da química analítica verde.

Palavras-chave: termografia, entalpimetria, pirômetro infravermelho, microplaca de papel, química verde.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF GREEN ANALYTICAL METHODS USING THERMAL INFRARED ENTHALPIMETRY

AUTHOR: Keiti Oliveira Alessio

ADVISOR: Juliano Smanioto Barin

Several analytical methods used for quality control of food and pharmaceutical products are based on titrations. Generally, these methods require high amount of reagents leading to the generation of residues. Other drawbacks of titration methods are related to the low throughput and problems on the determination of the reaction end point. A new approach has been proposed in this study, using thermal infrared thermography (TIE) to perform simple and fast analysis including the reduction or substitution of toxic reagents for non toxic ones obtained from renewable sources. Firstly, an equipment was developed using an infrared pyrometer to perform thermometric titration. The optimization of parameters, such as the total volume of solution, sensor distance from the solution and titrant flow rate were performed. Neutralization, redox and complexation reactions were performed and the results were compared with those from official compendia (Brazilian Pharmacopeia and Adolfo Lutz Institute). Therefore, the determination of acidity of sauces, ascorbic acid and calcium content in pharmaceutical products was carried out. The proposed method presented good agreement with official methods ranging from 97 to 104% for all samples, allowing the reduction of the volume of reagents and the generation of residues in agreement to the principles of green analytical chemistry. Additionally, a combination of TIE with microplate paper as reactor it was also proposed. Potato juice was used as reagent for the determination of hydrogen peroxide in pharmaceutical products, bleaching and mouthwash solutions. The experimental parameters as pH of solutions, stability and proportion of reagents were evaluated to ensure the optimal experimental conditions. The results were promising reaching good agreement (96 to 103%) with conventional methods for all evaluated samples with official methods (USP and ASTM D2180). Therefore, both methods proposed in this work presented excellent performance, showing to be a suitable alternative for application in routine analysis. Low cost, high throughput and simplicity could be pointed out as features of these methods, which were in agreement to the green analytical chemistry principles.

Keywords: thermography, enthalpimetry, infrared pyrometer, paper microplate, green chemistry

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DA LITERATURA	10
2.1	TERMOGRAFIA NO INFRAVERMELHO	10
2.2	ENTALPIMETRIA.....	13
2.2.1	Métodos entalpimétricos clássicos	13
2.2.2	Entalpimetria no infravermelho térmico	15
2.3	DISPOSITIVOS DE PAPEL	18
3	DISCUSSÃO	20
4	DISCUSSÃO GERAL	67
5	CONCLUSÃO	68
	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

O controle de qualidade em diversos ramos industriais (p. ex., alimentício ou farmacêutico) se dá através de métodos oficiais para as análises, os quais requerem o uso de elevados volumes de solventes e reagentes, causando significativos impactos ambientais (ARMENTA; GARRIGUES; DE LA GUARDIA, 2015). Desta forma, torna-se importante o desenvolvimento de novos métodos de análise que sigam as orientações da química verde para promover a utilização de métodos mais sustentáveis (TOBISZEWSKI et al., 2015). A química verde está baseada em 12 princípios, que são orientações sobre ações que podem ser adotadas para tornar o uso de reagentes e processos químicos ambientalmente corretos (POLIAKOFF et al., 2002). Alguns dos princípios da química verde ressaltam a necessidade do emprego de solventes menos tóxicos ou da eliminação de solventes e da redução do uso de reagentes e outras substâncias químicas (TOBISZEWSKI, 2016; KIRCHOFF, 2003). A maioria dos métodos oficiais para o controle de qualidade de alimentos e de produtos farmacêuticos demandam um grande volume de reagentes, na maioria das vezes tóxicos, e conseqüentemente geram elevados volumes de resíduos. Pode-se mencionar, ainda, que grande parte dos métodos oficiais são morosos, requerem atenção integral por parte do analista e fazem uso de grande quantidade de amostra para as análises (ANVISA, 2010; ASTM D2180, 2017; IAL, 2005; USP, 2017). Deste modo, é necessário o desenvolvimento de métodos que possam superar essas limitações e que, ao mesmo tempo, sigam os princípios da química analítica verde.

Neste contexto, recentemente foi desenvolvida a técnica de entalpimetria no infravermelho (TIE, do inglês *Thermal Infrared Enthalpimetry*). A análise entalpimétrica pela TIE é realizada através do emprego de uma câmera de infravermelho, que permite o monitoramento da temperatura das reações dos analitos com uma solução contendo excesso estequiométrico de reagente, permitindo a realização de análises rápidas, simples e sem contato com a amostra. De acordo com Barin et al., (2015), a TIE permitiu a detecção de analitos de forma rápida, com elevada frequência de análise, além de reduzir o volume de reagentes e de amostras durante as análises. Apesar das inúmeras vantagens apresentadas pela técnica, alguns aspectos relevantes devem ser considerados, como o fato de ser empregado microplacas de poliestireno para as reações, visto que o poliestireno apresenta incompatibilidade com alguns reagentes e possui uma difícil degradação no meio ambiente (BARIN, et al., 2015; GALUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

Deste modo, uma alternativa viável e de baixo custo para a substituição das microplacas de poliestireno convencionais podem ser as microplacas de papel. A fabricação destes

dispositivos pode ser efetuada através da formação de uma barreira hidrofóbica no papel, de modo a estabelecer barreiras circulares com poços reacionais nas mesmas proporções das microplacas convencionais. Além disso, esses dispositivos apresentam um menor impacto ambiental relacionado a sua produção e disposição final (CHENG et al., 2010). Neste contexto, foi proposto por Ferreira (2016) o emprego de microplacas como reatores na TIE, para a determinação de acidez total em refrigerantes, bem como acidez total, fixa e volátil em vinho tinto, branco e espumante. Foram obtidos resultados promissores e com boa concordância com o método oficial, com uma boa frequência de análise e significativa redução no volume de reagentes e amostras (cerca de 200 vezes menor em relação ao método convencional), demonstrando potencial quanto à aplicação destes dispositivos de papel.

Outro desafio a ser superado pela TIE está relacionado ao custo de aquisição da câmera de infravermelho, bem como do software para tratamento dos dados. Deste modo, pode-se considerar que apesar do bom desempenho das câmeras de infravermelho na aplicação do monitoramento de variação de temperatura, estes dispositivos ainda apresentam um custo significativo para aquisição (ROGALSKI, 2011). Dessa maneira, uma alternativa viável de menor custo para a substituição das câmeras de infravermelho para a mensuração de temperatura são os pirômetros infravermelhos. Ao contrário das câmeras de infravermelho, os pirômetros infravermelhos não fornecem a distribuição da temperatura sobre uma superfície, mas a temperatura média dentro de um dado campo de visão. Esses sensores são usualmente empregados para controlar vários dispositivos de aquecimento, como por exemplo, equipamentos de climatização (GIRWIDZ & IRESON, 2011). Portanto, cabe destacar que o pirômetro é um dispositivo de baixo custo, de fácil manuseio e seus dados podem ser facilmente interpretados.

Nesse contexto de desenvolvimento de metodologias analíticas sustentáveis e ambientalmente corretas, o presente trabalho propõe métodos analíticos alternativos que visam o controle de qualidade de produtos farmacêuticos e de alimentos de acordo com os princípios da química analítica verde. No primeiro método proposto nesse trabalho, foi desenvolvido um equipamento de análise de baixo custo empregando um pirômetro infravermelho para a realização de titulações termométricas. No segundo método proposto, a TIE (com câmera de infravermelho) foi combinada ao uso de dispositivos de papel e reagentes não tóxicos provenientes de fonte renovável para a determinação “verde” de peróxido de hidrogênio em produtos farmacêuticos, cosméticos e desinfetantes.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TERMOGRAFIA NO INFRAVERMELHO

Muitos processos físicos e reações químicas apresentam troca de calor em que uma variação de entalpia pode estar associada, com valores característicos. Desta forma, o monitoramento desta variação de temperatura pode fornecer informações relevantes para o controle e conhecimento destes processos. No entanto, os principais instrumentos empregados para o monitoramento de temperatura, como termômetros, termopares, termistores e termorresistências precisam estabelecer contato direto com o material monitorado para medição da temperatura (VADIVAMBAL & JAYAS, 2011). O contato direto destes sensores com o material ou solução monitorada pode modificar ligeiramente a temperatura real, sendo este tipo de sensor classificado como invasivo (PEKALA, et al., 2010). Como alternativa a estes sensores, nas últimas décadas, o emprego da termografia no infravermelho (TI) vem crescendo substancialmente, sendo esta uma ferramenta que permite o mapeamento da temperatura de um objeto de modo não invasivo e não destrutivo (VADIVAMBAL & JAYAS, 2011; BAGAVATHIAPPAN et al., 2013; MEOLA & CARLOMAGNO, 2004; KIM, et al., 2014).

A TI está baseada no princípio de que todos os objetos em temperaturas acima do zero absoluto (0 K ou $-273,15\text{ }^{\circ}\text{C}$) emitem radiação infravermelha (MEOLA & CARLOMAGNO, 2004; BAGAVATHIAPPAN et al., 2013). A intensidade da radiação emitida por um objeto é proporcional a sua temperatura e, quanto maior a temperatura apresentada pelo objeto, maior será a intensidade da radiação infravermelha emitida por ele (GADE & MOESLUND, 2014). O comprimento de onda da radiação infravermelha compreende a faixa de 0,75 a 1.000 μm (BAGAVATHIAPPAN et al., 2013) e pode ser dividida em diferentes faixas: infravermelho próximo (0,75-3 μm), médio (3-6 μm), distante (6-15 μm) e extremo (15-1.000 μm) (MEOLA e CARLOMAGNO, 2004). As regiões do infravermelho médio e distante são as mais usadas na termografia, pois compreendem as faixas de emissões máximas de radiação. Além disso, estas regiões apresentam baixa absorção da radiação infravermelha pelo ar, permitindo, assim, que mais radiação atinja o sensor infravermelho (USAMENTIAGA et al., 2014).

A quantidade de radiação emitida por um objeto dependerá basicamente da sua temperatura e emissividade, sendo a emissividade um dos parâmetros mais importantes para a medição de temperatura no infravermelho (ŠVANTNER; VACÍKOVÁ; HONNER, 2013; USAMENTIAGA et al., 2014). A emissividade é definida como a dimensão da energia emitida por um objeto em relação a energia emitida por um corpo negro, ambos na mesma temperatura,

sendo a emissividade de um corpo negro igual 1 (GOWEN, et al., 2010). A emissividade da superfície de um objeto pode variar de 0 a 1, sendo esta dependente, principalmente, do tipo de material que compõe este objeto e das propriedades químicas e físicas da sua superfície (ŠVANTNER; VACÍKOVÁ; HONNER, 2013). Outros parâmetros também devem ser considerados para obtenção de medidas de temperatura confiáveis, tais como a temperatura ambiente e umidade relativa, sendo importante a realização das análises em ambiente controlado (GOWEN, et al., 2010).

O sistema de TI é composto por um equipamento com detector sensível ao infravermelho, uma unidade de processamento de sinal e um sistema de aquisição de imagem. Normalmente, para interpretação dos dados, é utilizado um computador (MEOLA & CARLOMAGNO, 2004). Os principais equipamentos empregados na TI são as câmeras de infravermelho (VADIVAMBAL & JAYAS, 2011). Os detectores infravermelho absorvem a energia térmica que é emitida pelo objeto e convertem em impulso elétrico, que é enviado para a unidade de processamento do sinal e que traduz a informação em imagem termográfica ou termogramas (SALES, et al., 2011). Os detectores das câmeras infravermelho são, normalmente, uma matriz de plano focal (FPA, do inglês *focal plane array*). Os detectores FPA apresentam uma resolução que pode variar de 120 x 140 a 1280 x 1024 pixels (USAMENTIAGA et al., 2014).

As tecnologias dos detectores FPA podem ser divididas em dois tipos: térmicos e quânticos (ROGALSKI, 2002; ROGALSKI, 2012). O tipo mais comum de detector térmico é o microbolômetro, que converte a radiação emitida por uma amostra (em uma determinada banda espectral) em um sinal elétrico que é processado em uma imagem. As imagens obtidas são compostas por uma matriz com diferentes níveis de cores (paletas), sendo cada cor referente a uma temperatura específica, demonstrando assim a distribuição de temperatura ao longo de um objeto (GOWEN, et al., 2010). Geralmente este tipo de sensor é mais barato, porém é menos sensível e apresenta aquisição de imagens de forma mais lenta quando comparado aos detectores quânticos (VADIVAMBAL e JAYAS, 2011). Os detectores quânticos possibilitam a obtenção mais rápida do sinal e seu funcionamento está fundamentado na mudança dos estado eletrônicos dos elétrons em uma estrutura cristalina devido a interação com a radiação incidente. Apresentam alta sensibilidade e resolução, sendo capazes de detectar diferenças menores que 0,1 °C, porém para isso é necessário resfriamento, tornando o dispositivo mais caro e de menor portabilidade (ROGALSKI, 2002; ROGALSKI, 2012).

As câmeras de infravermelho foram desenvolvidas, primeiramente, para uso militar dos Estados Unidos (MEOLA E CARLOMAGNO, 2004). Entretanto, com o aperfeiçoamento,

principalmente com relação às ferramentas de informática associadas a imagens digitalizadas de alta resolução, o emprego das câmeras de infravermelho vem se mostrando uma ferramenta eficaz para diferentes áreas como engenharia civil, manutenção industrial, aeroespacial, medicina, farmácia, veterinária e também com popularidade na agricultura e na indústria de alimentos (VADIVAMBAL & JAYAS, 201; MEOLA & CARLOMAGNO, 2004; GOWEN et al., 2010).

O emprego das câmeras de infravermelho no monitoramento de reações e processos têm apresentado grande potencial, porém a aquisição destes equipamentos ainda apresenta custo significativo, bem como a necessidade de aquisição do *software* para processamento dos dados (ROGALSKI, 2011). Com isso, o pirômetro infravermelho têm se tornado uma alternativa viável e de baixo custo, que pode ser empregada em substituição as câmeras infravermelho para a determinação de temperatura sem contato. Esses sensores são rotineiramente usados para controlar a temperatura em eletrodomésticos (p. ex., condicionadores de ar), bem como para o aquecimento em processos industriais (GIRWIDZ & IRESON, 2011).

O pirômetro infravermelho, assim como a câmera de infravermelho, possui um detector sensível à radiação infravermelha que converte a radiação emitida pelo objeto em sinal elétrico. Para minimizar a interferência das variações do ambiente, o sistema ajusta a emissividade para combinar a calibração do termômetro com as características específicas de emissividade do objeto. Os pirômetros podem medir especificamente a energia que está sendo irradiada de um objeto na faixa de comprimento de onda de 0,7 a 20 μm (OMEGA, 1998). Porém, ao contrário das câmeras de infravermelho, os pirômetros infravermelho não informam a distribuição de temperatura sobre uma superfície, mas uma temperatura média é registrada em seu campo de observação. O pirômetro infravermelho também têm sido empregado no monitoramento da temperatura em diferentes áreas, como na indústria metal mecânica, farmácia, polímeros, entre outras (LIN; LEE; WENG, 1992; KUS, et al., 2015; PAPALIODIS, et al., 2008; BENDADA & LAMONTAGNE, 2004). O emprego dos termômetros infravermelhos também têm ganho popularidade na indústria de alimentos (EDER; BECKER; DELGADO, 2009). Porém, mesmo que no ramo da química a maioria das reações apresentem relação com fenômenos térmicos, a técnica de TI ainda encontra-se muito pouco explorada. Algumas limitações quanto ao uso desta técnica na química são reportadas na literatura, na qual a maioria está relacionada com síntese, catálise e termodinâmica (LOSKYLL; STOEWEL; MAIER, 2012; CHARBONNEAU & OGILVIE, 2005; TRAFFANO-SCHIFFO et al., 2014). Alguns estudos recentes tem demonstrado que a TI pode ser uma ferramenta promissora no monitoramento de análises entalpmétricas, podendo ser empregada também na área da química analítica, de forma a

permitir a obtenção de resultados quantitativos de maneira simples, rápida e com elevada frequência de análise (ROMANO, et al., 2015; BARIN et al., 2015; COSTA et al., 2015). Neste contexto, a seguir são discutidos os métodos entalpimétricos clássicos, bem como a nova proposta empregando TI, de forma a permitir a identificação das principais vantagens e limitações associadas a cada técnica.

2.2 ENTALPIMETRIA

A entalpimetria ou análise entalpimétrica pertence a uma subárea da calorimetria, onde a determinação de uma espécie química envolvida em uma reação pode ser feita a partir da medida da variação de temperatura associada a reação (GRIME, 1981). Segundo a IUPAC, análise entalpimétrica é uma designação genérica para um grupo de métodos analíticos, no qual a mudança de entalpia de uma reação química é medida de forma direta ou indireta, tendo como objetivo realizar a determinação quantitativa de um reagente ou catalisador (STAHL, 1994). A análise entalpimétrica pode ser realizada pelos seguintes procedimentos clássicos, titulação termométrica (TT, do inglês *thermometric titration*), entalpimetria por injeção direta (DIE, do inglês *direct injection enthalpimetry*) e entalpimetria por injeção de fluxo (GRIME, 1981; JORDAN; GRIME; WAUGH, 1976; CARR & IZATT, 1971). A seguir, é realizada uma descrição dos principais métodos entalpimétricos utilizados, abordando as suas principais características.

2.2.1 Métodos entalpimétricos clássicos

A titulação termométrica (TT) consiste na adição contínua ou gradual do titulante sobre uma solução em condições adiabáticas. Desse modo, a variação da entalpia da reação resulta na mudança da temperatura da solução (negativa ou positiva) e, assim, pode-se determinar o ponto final da titulação a partir dessa variação de temperatura. Este método analítico tem como pré-requisito o conhecimento prévio da estequiometria da reação e o emprego de um reagente titulante que reaja instantaneamente com a amostra (STAHL, 1994; GRIME, 1981).

Em 1964, o método de entalpimetria por injeção direta (DIE) foi introduzido, onde até então a titulação termométrica era o único método entalpimétrico relatado na literatura (GRIME, 1981). A DIE consiste na adição de um volume de reagente em excesso estequiométrico sobre uma solução contendo o analito a ser quantificado. A variação de temperatura observada nessa reação é diretamente proporcional a quantidade de analito presente

na amostra (JORDAN; GRIME; WAUGH, 1976; STAHL, 1994; GRIME, 1981). A DIE apresenta como principais vantagens a rapidez na obtenção do sinal e a possibilidade de utilização de reagentes não padronizados, desde que sejam adicionados em excesso suficiente para reagir completamente com o analito (WASILEWSKI, et al., 1964). Inicialmente a DIE apresentou algumas limitações, como o emprego de termômetros de mercúrio para medida da temperatura e a conseqüente baixa sensibilidade. Avanços significativos na DIE foram observados em 1953, quando Linden e colaboradores (1953), introduziram o uso de termistores como sensores de temperatura. Os termistores apresentam como principais vantagens maior sensibilidade, respostas mais rápidas e capacidade calorífica desprezível. Com isso, o método DIE tornou-se mais adequado para análises quantitativas (WASILEWSKI et al., 1964).

Apesar dos avanços dos métodos entalpimétricos, surgiu a necessidade do desenvolvimento de métodos que permitissem análises mais rápidas e precisas, deste modo a automação dos procedimentos analíticos mostrou ser uma alternativa adequada. Esse importante avanço na química analítica possibilitou o desenvolvimento da entalpimetria por injeção em fluxo, que é considerada um grande avanço na área das análises entalpimétricas. Este método consiste na passagem de duas soluções (amostra e reagente em excesso) em fluxo constante através de uma câmara de mistura e o monitoramento contínuo da temperatura (JORDAN; GRIME; WAUGH, 1976; STAHL, 1994). Porém, apesar de todos os avanços e modificações incorporados aos métodos entalpimétricos, estes ainda são considerados alternativas pouco atraentes para serem empregados em análises de rotina, por apresentarem baixa frequência de análise e elevado custo, fazendo com que os métodos entalpimétricos fossem caindo em desuso (BARIN, et al., 2015; GRIME, 1981). Atualmente, já estão disponíveis equipamentos comerciais exclusivos para titulação termométrica (Figura 1). Porém, o sensor de temperatura utilizados nestes equipamentos necessitam estar em contato com a amostra, além de apresentarem elevado custo de aquisição (METROHM, 2017).



Figura 1. Sistema de titulação termométrica disponível comercialmente.

Fonte: (METROHM, 2017)

2.2.2 Entalpietria no infravermelho térmico

Uma nova abordagem para a DIE foi proposta por Barin e colaboradores (2015), sendo o novo método de determinação denominado como entalpietria no infravermelho térmico (TIE – do inglês *Thermal Infrared Enthalpimetry*). Este método permitiu a realização de análises de forma rápida, simples e o monitoramento simultâneo da temperatura de múltiplas reações de modo não invasivo, por meio da combinação de microplacas descartáveis, pipeta multicanal para a adição dos reagentes e uma câmara no infravermelho térmico para monitoramento de temperatura da reação, conforme mostrado na Figura 2. A execução da TIE é realizada de forma que a amostra é introduzida na microplaca com o auxílio de uma pipeta multicanal seguida do reagente em excesso estequiométrico que é injetado sobre a amostra. O monitoramento da temperatura é realizado antes, durante e após a injeção do reagente em excesso, onde a medida da temperatura (ΔT) é determinada com o uso do software da câmara de infravermelho. Os valores são obtidos da média da temperatura inicial e final, em um intervalo de 2 s antes e 2 s após a injeção, respectivamente, sendo a curva de calibração construída empregando soluções de referência para relacionar os valores de temperatura com a concentração dos analitos.

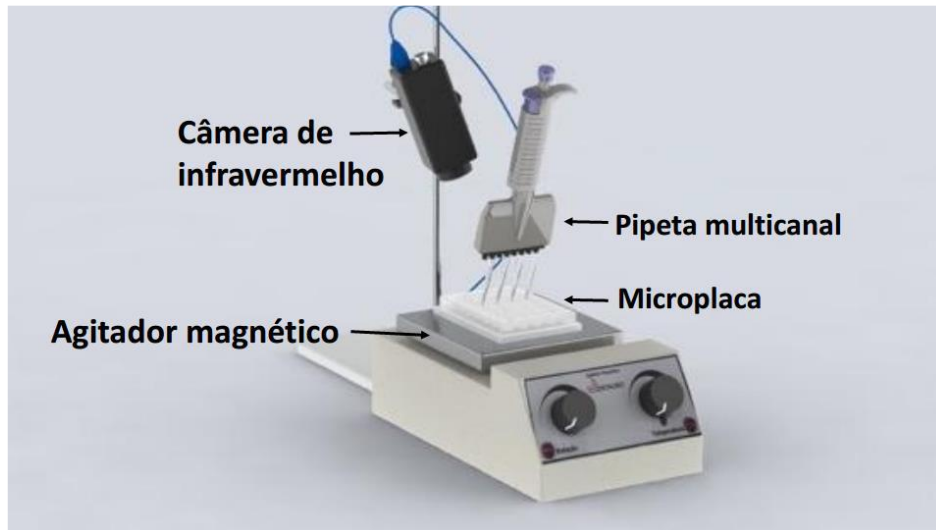


Figura 2. Arranjo experimental utilizado para análise por TIE.

Fonte: (BARIN et al., 2015)

O método proposto mostrou resultados promissores, podendo ser uma alternativa viável para reações de neutralização, precipitação, complexação e oxirredução, tendo os resultados obtidos a partir do método proposto apresentado uma boa concordância (entre 96 e 101%) com os métodos oficiais de titulação. Segundo os autores, a TIE apresenta algumas vantagens em relação aos métodos convencionais, como o uso de menor volume de reagentes e amostras e maior frequência de análise (24 amostras por minuto ou 1140 amostras por hora). Além disso, não foi observada interferência na determinação com relação à cor, turbidez ou outros componentes presentes na amostra, pois a reação não é monitorada pela mudança de cor, como pela titulação convencional, mas sim pela variação de temperatura.

Recentemente, Tischer et al. (2017a) empregou a TIE para determinação da acidez de vinagre (acidez volátil, fixa e de acidez total). Foram relatadas vantagens frente ao método convencional, como o preparo da amostra (evaporação do vinagre para a avaliação da acidez fixa) e as etapas de determinação foram realizadas em cada poço de uma microplaca, reduzindo o manuseio da amostra e melhorando a precisão. Outra aplicação recente da TIE foi a determinação do teor alcoólico em bebidas destiladas, que foi efetuada de maneira simples apenas pela adição de água às bebidas, explorando o calor de diluição. De acordo com este estudo, o método empregando a TIE apresentou uma boa concordância com o método oficial variando de 99 a 101%. Em relação ao impacto ambiental, o uso de TIE reduziu em 83 vezes a quantidade de amostra utilizada em comparação com o método oficial, além de não fazer uso de reagentes tóxicos. Cabe ressaltar que foi possível a redução do consumo de energia em três ordens de magnitude, considerando-se um grande diferencial deste estudo (OLIVEIRA, et al.,

2017). Tischer et al., (2017b), propôs outra aplicação empregando a TIE para a determinação simultânea do teor de sal e a acidez na salmoura de vegetais em conserva. Diferentemente dos demais métodos empregando a TIE, neste trabalho os reagentes (soluções de nitrato de prata e hidróxido de sódio) foram colocados na microplaca sendo adicionadas alíquotas das amostras sobre esses reagentes, permitindo a determinação simultânea de sal e da acidez das salmouras. Esse método mostrou-se adequado e apresentou boa concordância com o método oficial (94 a 103%). Além disso, foi possível uma maior frequência de análise, com a determinação simultânea de analitos, indo ao encontro dos princípios da química analítica verde quanto ao desenvolvimento de métodos de análises para mais de um analito ao invés de um único, o que contribui significativamente para a redução dos impactos ambientais.

Os volumes de amostra e reagentes utilizados para as análises por TIE são, em geral, menores (redução de até 200 vezes) em comparação com aqueles empregados nos métodos convencionais. No entanto, as medidas das temperaturas realizadas com a TIE abrangem apenas a temperatura da superfície das soluções, mostrando que é possível reduzir ainda mais os volumes de solução empregados. Outro aspecto importante que deve ser levado em consideração durante as análises é a incompatibilidade do poliestireno das microplacas com determinados reagentes e sua difícil degradação no meio ambiente (BARIN et al., 2015; THERMO FISHER, 2017; GALUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

Com o objetivo de contornar estas desvantagens e buscando uma alternativa para o problema de incompatibilidade das microplacas de poliestireno com alguns reagentes, uma nova alternativa foi proposta por Ferreira (2016). Neste trabalho, a determinação de acidez total em refrigerantes, bem como a acidez total, fixa e volátil em vinho tinto, branco e espumante foi proposta, substituindo as microplacas de poliestireno por microplacas de papel (filtro), simulando as mesmas dimensões apresentadas pelas microplacas convencionais. O método apresentou boa concordância (96 a 104%) com os métodos convencionais. Além disso, alta frequência de análise (480 amostras por hora para acidez total e 120 amostras por hora para acidez fixa) foram relatadas, permitindo a redução dos volumes de reagente e amostra de cerca de duzentas vezes em comparação com a titulação convencional. Deste modo, foi possível obter um método rápido e eficiente, com impacto ambiental reduzido, uma vez que a produção de resíduos foi minimizada, além de serem utilizados reatores biodegradáveis, estando de acordo com os princípios da química analítica verde. Dessa forma, os dispositivos de papel podem ser considerados reatores promissores para uso na TIE, sendo assim, a seguir será efetuada uma breve discussão sobre as principais características destes dispositivos.

2.3 DISPOSITIVOS DE PAPEL

Nos últimos anos, os dispositivos de papel tornaram-se uma alternativa simples, barata, de fácil manipulação, portáteis, além de apresentarem fácil descarte, para a construção de plataformas de análises em diversas áreas. A fabricação destas plataformas consiste na disposição de uma barreira hidrofóbica sobre o papel, que pode ser realizada por diferentes métodos (MARTINEZ et al., 2010). Das plataformas analíticas fabricadas em papel têm-se basicamente em dispositivos microfluídicos à base de papel (μ PADs, do inglês *microfluidic paper-based analytical device*) e as microplacas. Nos sistemas μ PADs têm-se a combinação de algumas das características dos dispositivos microfluídicos convencionais com a simplicidade do diagnóstico de fitas de teste. Estes dispositivos são empregados principalmente em ensaios biológicos, apresentando como principais características a sua portabilidade, baixo custo, além de permitirem diagnósticos rápidos (COSTA et al., 2014).

Os dispositivos de papel vêm sendo aplicadas como alternativa de menor custo e impacto ambiental para a substituição das placas de poliestireno, visto que as microplacas convencionais exigem o uso de maior volume de amostra e reagentes, quando comparados a estes dispositivos (CHENG, et al, 2010). Sua fabricação consiste no depósito de uma barreira hidrofóbica no papel de modo que sejam formadas barreiras circulares, nas mesmas proporções dos poços das placas convencionais (CHENG et al, 2010). Deste modo, as microplacas de papel oferecem sensibilidade e especificidade semelhantes aos convencionais, mas aliadas ao baixo custo e fácil disposição. (MARTINEZ, 2010). Assim, uma redução significativa dos impactos ambientais quando comparados às microplacas convencionais de poliestireno pode ser obtida (MARTINEZ, et al., 2010). O papel é inflamável, portanto, os dispositivos de papel podem ser descartados por incineração, com segurança e facilidade após o uso (CINTI, et al., 2017; MARTINEZ, et al., 2010).

Várias métodos vêm sendo aplicados para a determinação de diferentes analitos em dispositivos de papel, incluindo fluorescência, colorimetria, eletroquímica, condutividade (NERY e KUBOTA, 2013), eletroquimioluminescência e quimioluminescência (LI; BALLERINI; SHEN, 2012). No entanto, as aplicações relacionadas ao uso de medidas entalpimétricas não foram exploradas para análise química em tais dispositivos. Deste modo, apesar do potencial apresentado por estes dispositivos, principalmente por abranger os princípios da química verde, a maioria dos métodos oficiais ainda não empregam estes sistemas no controle de alimentos e produtos farmacêuticos (ANVISA, 2010; ASTM D2180, 2017; IAL, 2005; USP, 2017). Sendo assim, se torna importante o desenvolvimento de novos métodos

analíticos que empreguem técnicas que permitam a redução do custo, maior frequência de análise e que sigam os princípios da química verde.

Na maioria das vezes, os métodos empregados na química analítica demandam grande volume de solventes e reagentes, grande parte tóxicos, gerando um grande volume de resíduos. A eliminação e/ou substituição dessas substâncias vem se tornando uma tendência na química analítica verde, aumentando assim a busca por reagentes obtidos a partir de fontes renováveis (ABOLGHASEMI; SOBHI; PIRYAEI, 2016). Tendo em vista esta necessidade, umas das alternativas promissoras seria a utilização das enzimas presentes em vegetais, pois de acordo com Perone e colaboradores (2008), os vegetais constituem uma fonte inesgotável de enzimas para serem aplicadas nas mais diversas áreas do conhecimento. Peroxidase, polifenoloxidase, poligalacturonase e xilanase, são exemplos de enzimas presentes em alimentos. Dentre os alimentos que apresentam conteúdo enzimático apreciável, pode-se citar a uva, abacaxi, maçã e a batata (AMIOUR, 2016; MIZOBUTSI, 2010; KURNIK, 2015; LONČAR, 2012; MA, 2018; CARVALHO, 2015). Cabe ressaltar que parâmetros como pH e temperatura, afetam diretamente a estabilidade e reatividade destas enzimas, devendo ser considerados para aplicação adequada das mesmas (AMIOUR, 2016).

O emprego de enzimas obtidas a partir de alimentos em diversas áreas tem ganho atenção, principalmente, devido ao seu baixo custo de obtenção e pela grande disponibilidade de fontes para extração destas enzimas. Deste modo, unir as vantagens demonstradas pelo emprego dos dispositivos de papel, como a redução de reagentes e fácil descarte devido sua natureza biodegradável, com enzimas obtidas a partir de reagentes de fontes renováveis, pode ser uma excelente alternativa para o desenvolvimento de métodos analíticos “verdes”, satisfazendo assim um dos grandes desafios no desenvolvimento de métodos analíticos.

3 DISCUSSÃO

Neste item estão descritos, na forma de manuscritos, os experimentos realizados com base no enfoque do trabalho. O primeiro manuscrito consiste na aplicação de um pirômetro infravermelho para a determinação de cálcio e ácido ascórbico em produtos farmacêuticos e acidez em molhos empregando a titulação termométrica. No segundo manuscrito são mostrados os resultados referentes a determinação de peróxido de hidrogênio empregando um método analítico verde em dispositivos de papel.

Manuscrito 1: **Open Source, Low Cost Thermal Infrared Device for Thermometric Titrations**

Manuscrito formatado para submissão ao periódico *Analytical Chemistry*
(Fator de Impacto: 6.320, Estrato Qualis: B1)

1 **Open Source, Low Cost Thermal Infrared Device for**
2 **Thermometric Titrations**

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20 ABSTRACT

21 In this work, a simple and low cost device for infrared thermometric titration (TT-IR) using a
22 contactless sensor was proposed. An infrared pyrometer was adapted in a polystyrene cup for
23 monitoring the temperature and end point determination of neutralization, redox and
24 complexation titrations. The influence of sample solution volume, flow rate of titrant solution
25 and sensor distance from the solution were evaluated in order to provide low variation among
26 measurements. The parameters chosen were 10 mL of sample, 0.8 mL min⁻¹ of titrant solution
27 and 3 cm of distance of sensor to the solution. Preliminary results for the determination of the
28 acidity of sauces, ascorbic acid and calcium content in pharmaceuticals products were
29 compared with those from official compendia. The TT-IR method presented agreement with
30 the conventional methods ranging from 97 to 104%, with similar precision. It is important to
31 mention the cost of system (lower \$ 200) is an important feature to spread the use of
32 enthalpimetric analysis in several laboratories. According to these features, the proposed
33 method could be considered a promising alternative to perform enthalpimetric routine analysis,
34 allowing the reduction of the reaction consumption and residue generation in agreement with
35 the green analytical chemistry principles.

36

37 *Keywords:* infrared pyrometer, thermometric titration, green chemistry, low cost
38 instrumentation.

39

40

41

42

43

44 1. INTRODUCTION

45 Enthalpimetry or enthalpimetric analysis can be considered as a subset of the field
46 calorimetry, which is characterized by the measurement of temperature variations associated to
47 chemical reactions, making possible the determination of the quantity of chemical species.¹
48 According to IUPAC, enthalpimetric analysis is a generic designation for a family of analytical
49 methods where the temperature variation in chemical reactions is measured directly or
50 indirectly.² An enthalpimetric method can be performed by using three main approaches:
51 thermometric titrations (TT), direct injection enthalpimetry (DIE) and flow injection
52 enthalpimetry.^{1,3,4} In DIE, a solution with a reagent in stoichiometric excess is injected and the
53 difference of temperature before and after reaction with analyte is related to its concentration.
54 On the other hand, in TT the titrant solution was added continuously or stepwise to the sample
55 solution. The enthalpy of reaction results in temperature variation in the solution, which could
56 be used in TT for the determination of the titration end point.^{1,2,4}

57 An essential device to perform enthalpimetric analysis is the temperature measurement
58 sensor. In the beginning of the twentieth century, the thermometric titrations were performed
59 using a mercury thermometer.⁵ The modernization of enthalpimetric analysis in the middle of
60 the twentieth century allowed the use of thermistors for temperature measurement, enabling the
61 creation of automated systems, with smaller response times.⁶ Thermistors are still in use in
62 commercial equipment for TT and despite the useful results obtained using such devices, the
63 need of contact of sensor with the solution for temperature monitoring. Therefore, the
64 thermistor should be cleaned after each determination of different samples that makes the
65 analytical procedure time consuming.⁷ Furthermore, contact devices as thermistors present the
66 risk of corrosion when aggressive solvents are used, and also the risk of sample contamination.⁸

67 The infrared thermography (IRT) is a non-contact, non-invasive technique, which can
68 be also used for temperature monitoring. The IRT is based on the concept that an object at any

69 given temperature above absolute zero, emits electromagnetic radiation in the infrared range,
70 which could be related to its temperature.⁹ Recently, IRT was proposed as an alternative to
71 perform DIE for applications in the quality control of pharmaceuticals, food and beverages.¹⁰⁻
72 ¹³ The new method called thermal infrared enthalpimetry (TIE) was developed in order to
73 perform enthalpimetric analysis in a fast, simple and contactless way using an infrared
74 camera.¹⁰ Samples were introduced into disposable microplates with direct addition of reagent
75 in stoichiometry excess under stirring. The proposed TIE methods presented some advantages
76 in comparison with conventional ones, such as reduction sample and reagent volumes and the
77 time used to perform each analysis, being a suitable alternative to the volumetric methods.¹⁰
78 For TT, however, IRT was used in only one application for neutralization reaction related
79 mainly to educational purposes.⁷

80 A viable and low cost alternative to infrared cameras for temperature measurement are
81 the infrared pyrometers. However, the infrared pyrometers do not inform the temperature
82 distribution over a surface, but a mean temperature was informed within their field of view.
83 These sensors are routinely used control of several heating devices (e.g., air-conditioners) and
84 thus available anywhere, presenting a lower cost and easy interpretation of data.¹⁴ However,
85 infrared pyrometers have not yet been used for TT.

86 Therefore, the use of infrared pyrometer was proposed in the present work for
87 thermometric titration using a simple, low cost and open source device. An equipment was
88 manufactured to perform the thermometric titration with infrared pyrometer temperature
89 monitoring (TT-IR) and a free software was developed for automatic end point determination.
90 Some parameters that influence the measurements were evaluated as total volume of solution,
91 distance of sensor from the solution and the flow rate of titrant solution. Preliminary results for
92 neutralization, redox and complexation titrations were compared with those obtained from
93 official compendia for analysis of food and pharmaceutical products.

94 2. MATERIALS AND METHODS

95 2.1 Samples, standards, and reagents

96 Neutralization and redox titrations were used for the determination of total acidity of
97 sauces and ascorbic acid content of tablets (1000 mg), respectively. Calcium was determined
98 in tablets and sachets commercialized in different chemical forms (phosphate, carbonate and
99 citrate) using complexation titration. They presented calcium in different salts as calcium
100 carbonate (250 mg of calcium), calcium citrate (500 mg of calcium) and calcium phosphate
101 (600 mg of calcium). All samples were obtained from local market.

102 For total acidity determination, sodium hydroxide (Alphatec, Brazil), hydrochloric acid
103 (Vetec, Brazil) and phenolphthalein (Synth, Brazil) solutions were used. Iodine (Neon, Brazil),
104 potassium iodide (Dinâmica, Brazil), sulfuric acid (Vetec) and starch (Vetec) solutions were
105 used for the determination of ascorbic acid. For the determination of calcium, disodium
106 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (Dinâmica), tetrasodium EDTA (Vetec), blue
107 hydroxynaphthol (Dinâmica), eriochrome black T (Reagent, Brazil), sodium hydroxide
108 (Alphatec), hydrochloric acid (Vetec), ammonium hydroxide (Neon), ammonium chlorite
109 (Vetec) and zinc sulfate (Synth, Brazil) solutions were used. The solutions were standardized
110 as recommended in official compendia¹⁵⁻¹⁷.

111

112 2.2 Instrumentation

113 The proposed TT-IR method was performed using a 25 mL burette (± 0.05 mL). For
114 total acidity determination by conventional method a potentiometric titration with glass pH
115 electrode (Digimed, model DM-22, Brazil) was used. For weighing the samples, an analytical
116 balance (Shimadzu, A1Y220 model, Japan) was used. A Milli-Q system (Direct-Q 3 UV, 18.2
117 M Ω -cm, Millipore Corp., USA) was used to obtain ultrapure water and prepare all solutions
118 and reagents.

119 For temperature measurement an infrared pyrometer (model MLX90614xxA, Melexis,
120 Ypres, Belgium) was used. It presented a diameter of 9.12 mm and 4.10 mm of thickness, with
121 an operational range from -40 to 125 °C and temperature resolution of 0.02 °C. A Raspberry Pi
122 3 microcomputer (model B, Raspberry PI Foundation, Cambridgeshire, UK) was used to
123 control the pyrometer. It was equipped with a quad-core 1.2 GHz ARMv8 64-bit processor, 1
124 GB of RAM and 802.11n WiFi and bluetooth interfaces. The communication between the
125 Raspberry device and the infrared pyrometer was performed by the I2C interface. The system
126 was constructed on a circuit with 5 volts power supply.

127 For the addition of the titrant a 25 mL burette was used. The titrant was released from
128 burette through a silicon tube with internal diameter of 2 mm using a peristaltic pump (Ismatec,
129 Brazil). A closed polystyrene (PS) cup with internal volume of 100 mL was used for reaction.
130 A magnetic stirrer (Centauro, Brazil) and a polytetrafluoroethylene covered magnetic stir bar
131 (10 x 25 mm) were used to homogenize the solutions. The proposed device is shown in
132 Figure 1.

133

134 **2.3 Analysis by TT-IR**

135 Some parameters that influence the measurements such as titrant solution flow rate,
136 sample volume and distance between the infrared pyrometer and solutions were optimized. The
137 stirring was set at the maximum value without spill on the inside walls of the polystyrene cup
138 (250 rpm) in order to assure homogenization. The flow rate values evaluated were in the range
139 from to 0.8 to 2.0 mL min⁻¹ for sample solution volumes of 5, 10 and 15 mL. The distance of
140 temperature sensor from the sample was studied before the addition of titrant solution from 3.0
141 to 6.0 cm. In these experiments, a 0.5 mol L⁻¹ hydrochloric acid solution was used as sample
142 and 1 mol L⁻¹ sodium hydroxide solution as titrant. All determinations were performed in
143 triplicate.

144 Before determination, sample and titration solutions were stand alone at room
145 temperature to reach thermal equilibrium. Samples were transferred to PS cup and a magnetic
146 stir bar was added for stirring. After capping the vessel, the burette was filled with the titrant
147 solution, which was added to PS cup through the silicon tubing by means of peristaltic pump.
148 The starting time was synchronized with a chronometer and the volume of titrant solution
149 consumed was calculated considering the flow rate used and the end point time registered.
150 Temperature monitoring was performed using an infrared pyrometer and the maximum
151 temperature reached was used as the titration end point, taking into account that all reactions
152 studied were exothermic.

153 Total acidity was determined by back titration. A 1 mol L^{-1} sodium hydroxide solution
154 (5 mL) was added to the sample (5 g) in the PS cup and titrated with 1 mol L^{-1} hydrochloric
155 acid solution. Ascorbic acid determination was performed using a 0.1 mol L^{-1} iodine solution.
156 Tablets (approximately 1 g ascorbic acid) were solubilized with 1 mol L^{-1} sulfuric acid solution
157 and filled up to 50 mL with ultrapure water volumetric flasks. An aliquot of 7 mL was added
158 to PS cup and the final volume was adjusted to 10 mL with water followed by titration with 0.1
159 mol L^{-1} iodine solution.

160 For calcium determination, 0.1 g of samples were weighed in PS cup and solubilized
161 with 1.0 mol L^{-1} HCl solution. After, the pH was adjusted to 9 using ammonium buffer, the
162 volume was filled up with ultrapure water and titrated with 0.3 mol L^{-1} tetrasodium EDTA
163 solution. All determinations were performed in triplicate using the volume of sample and flow
164 rate of titrant solution selected in previous optimizations.

165 Other relevant parameters evaluated were the limit of detection (LOD) and limit of
166 quantification (LOQ), according to Eurachem Guide¹⁹. The LOD and LOQ were calculated
167 considering the mean of 10 blank readings. The mean value of the readings and the standard
168 deviation (SD) were calculated, where the $LOD = 3\sigma$ and the $LOQ = 10\sigma$. For the sauce

169 acidity assay, where back titration was used, the determination of LOD and LOQ was performed
170 considering the mean and SD of 10 blank readings with water and sodium hydroxide solution
171 plus another 10 blank readings with sodium hydroxide solution alone. The LOD and LOQ were
172 determined by the square sum of the standard deviation of the two blank. The data was
173 evaluated using F-test and Student t-test in the software Statistica 5.1 (Statsoft, 2004, USA).

174

175 **2.4 Analysis by conventional methods**

176 Total acidity in sauces was determined by potentiometric titration with 0.1 mol L⁻¹
177 NaOH solution, according to official Brazilian compendium for food analysis.¹⁶ Ascorbic acid
178 content in tablets was determined by titration with 0.05 mol L⁻¹ iodine solution, according the
179 procedure described by the Brazilian Pharmacopoeia.¹⁷ Calcium determination was performed
180 in tablets and sachets dosage forms. The titration was carried out with 0.05 mol L⁻¹ disodium
181 EDTA solution for calcium citrate and calcium carbonate. For calcium phosphate, the titration
182 was performed with 0.1 mol L⁻¹ zinc sulfate solution according to the Brazilian
183 Pharmacopoeia.¹⁷ All determinations were performed in triplicate.

184

185 **3. RESULTS AND DISCUSSION**

186 **3.1 Evaluation of TT-IR device**

187 For the determination of the end point of thermometric titrations, the temperature
188 variation (positive or negative) associated with the stoichiometry of the reaction could be used
189 to monitor the titration end point.¹ An enthalpy curve (or thermometric titration curve) is
190 generally plotted as temperature versus volume of titrant. As described in experimental section,
191 the flow rate of titration and time of analysis is used to obtain the titration volume. Therefore,
192 the plot of temperature versus time was used as shown in Figure 2, with further conversion of
193 time to volume of titrant at the end point value.

194 A curvature is observed in the region of the equivalence point. According to Jordan et
195 al.³, this curvature may be caused by a slower conversion of the reagents into the products or
196 by the slow attainment of the titration equilibrium point. However, Piloyan & Dolinina²⁰
197 suggested that the relationship between temperature variation and volume of added titrant is not
198 linear, since heat transfer between the external medium and the reaction cell may occur. This is
199 especially true for the system used that is far from the performance of calorimetric type vessel
200 used in conventional enthalpimetry, and heat transfer with ambient occur. Therefore, the use of
201 appropriate calculations that correct these variations is suggested for the determination of the
202 end point, such as the application of the derivative of the data.³ Therefore, for the accurate
203 determination of the end point, a filter was applied to the data. The filter consists of moving the
204 average, which was followed by the second derivative to determine the titration end point.

205 The evaluation of some parameters that influence the measurements using the proposed
206 TT-IR device was performed, as sample volume, sensor distance and titrant solution flow rate.
207 The flow rate was controled by using a burette combined with peristaltic pump in order to reach
208 more accurate results for the consumed titration solution. If the flow rate of peristaltic pump is
209 considered as constant, the deviations for total acidity determination reached RSD of 5.56%.
210 These relatively high deviations among measurements is caused by pulsing of peristaltic pump
211 from intermittent pressure provided by the pump rollers, which do not maitain the flow rate
212 constant.¹⁸ In order to improve the accuracy, the total volume of solution released inside the
213 vessel was determined using the burette during the time of operation of peristaltic pump. In this
214 way, the flow rate was recalculated and the RSD among measurements fall to 1.07%. Therefore,
215 all measurements were performed considering the flow rate calculated using this approach.

216 The results for the sample volume and titrant flow rate are shown in Figure 3. All titrant
217 volumes used showed agreement with the conventional method from 98 to 106%, showing that
218 a reasonable accuracy of measurements could be reached changing the volume of sample.

219 However, increasing the flow rate, a proportional increasing of relative standard deviation
 220 (RSD) was observed, with values ranging from 0.43 to 3.00%. For lower flow rates (0.8 and
 221 1.0 mL min⁻¹) for all volumes, RSD values were lower than 2%. However, for the flow rate of
 222 0.8 mL min⁻¹ the lowest RSD was reached, probably to the better homogeneization provided by
 223 slowly dropping of titrant solution. A significant difference of results comparing to
 224 conventional titration was observed for the proposed TT-IR only when a volume of 5 mL of
 225 sample combined with a titrant flow rate of 2 mL min⁻¹ was used (Student's *t*-test, *p* > 0.05). As
 226 can be seen in the Figure 3, the use of 10 mL of the sample and flow rate of 0.8 mL min⁻¹ lead
 227 to the lowest RSD, with an agreement of 100% with the conventional method. Thus, this volume
 228 and flow rate were used in all subsequent experiments.

229 Regarding to sensor distance to the solution inside the vessel (Figure 4), it was observed
 230 that the increase of the distance increase the RSD value. The increasing can be explained by the
 231 influence of field of view (FOV) of infrared optical pyrometer used as detector. Thus, the FOV
 232 was determined using the angular extent of the observable object field. The FOV depends of
 233 the sensor lens and the detector dimensions. The FOV can be calculated using the information
 234 from the dimensional focal of detector (*b*) and the focal length (*f*) as follows (Eq. (1)):²¹

$$235 \quad FOV = 2 \arctan \left(\frac{b}{2f} \right) \quad (1)$$

236 The dimensions were obtained from the datasheet of sensor, were *b* and *f* values were
 237 3.5 and 1.74 mm, respectively. Thus, the FOV obtained for the sensor was 90°. After calculation
 238 of FOV value, it was possible to calculate the area of the object seen by the infrared pyrometer,
 239 according to the distance (*D*) of the object in relation to the pyrometer as follow (Eq. (2)):²¹

$$240 \quad x = 2D \tan \left(\frac{FOV}{2} \right) \quad (2)$$

241 Thus, it was possible to calculate the area of view (cm^2) of the sensor. For the distance
242 of 3 cm, the area of view of the sensor was 0.45 cm^2 . When increasing the distance to 6 cm, the
243 area increased to about 1 cm^2 . In Figures 1B and 1C, the PS cup used in the experiments is
244 shown and it is possible to observe the position of the magnetic stir bar used to homogenize the
245 solution. Therefore, it can be justified that the RSD increase for higher sensor distances
246 occurred because the FOV of the sensor embraced a larger area with some turbulence caused
247 by magnetic stirring. Consequently, there was higher temperature oscillation during the
248 readings which leads to an increase of the RSD values for higher FOV.

249 Despite the increase of RSD values for higher distances of sensor to solution, a good
250 agreement between the conventional titration and TT-IR methods was observed, with no
251 statistical difference (Student's *t*-test, $p > 0.05$). The distance of 3 cm was considered the best
252 value considering the lowest RSD. The precision was also evaluated between 3.0 and 6.0 cm of
253 distance (*F*-test, $p > 0.05$). Only the distance of 6.0 cm differed statistically from the 3.0 cm. It
254 is important to mention that lower distances (i.e. 2.0 cm) could not be evaluated, because the
255 solution would be in touch with the sensor.

256

257 **3.2 Quantitative analysis by TT-IR**

258 Neutralization, redox and complexation reactions were used for the determination of
259 total acidity, ascorbic acid and calcium content in food and pharmaceutical products by both
260 TT-IR and conventional method, as shown in Table 1. The results obtained by TT-IR and the
261 conventional method presented an agreement between 97 and 104%, with no statistical
262 difference between the results (Student's *t*-test, $p > 0.05$) for all applications. The deviations
263 among the measurements obtained by TT-IR were similar or lower than those by conventional
264 methods (titration). For the calculation of LOD and LOQ, the following values were obtained

265 for calcium 4.24 and 10.05 mg, ascorbic acid 22.1 and 55.1 mg and for total acidity 0.21 and
266 0.37% (g of acetic acid), respectively.

267 It is important to mention that the use of TT-IR method allowed the reduction of the
268 volume of residue generated during analysis comparing to conventional titration. For example,
269 the determination of calcium by the official method, in the form of tribasic calcium phosphate,
270 a volume of 656 mL of waste was generated. For the proposed TT-IR method 38 mL of residue
271 were produced. For the ascorbic acid determination, about 443 mL of residue is generated for
272 each sample in conventional method, which is reduced to 182 mL using TT-IR. For acidity
273 determination, about 1150 mL of residue is generated in conventional method, and with the
274 proposed TT-IR method this volume was reduced to 160 mL. Therefore, it is possible to state
275 that the use of TT-IR method reduced the residue generation in comparison official methods^{16,17}
276 going into direction of green analytical chemistry principles.^{22,23,24}

277

278 **3.3 Potential and Challenges of proposed TT-IR**

279 Despite the preliminary nature of the results obtained, it was possible to identify some
280 potentialities of TT-IR. The non-contact measurement was feasible with good results for dark,
281 colored and viscous samples as sauces, avoiding excessive dilution of samples and the need of
282 cleaning electrodes as required in conventional potentiometric titration. No damages were
283 observed on the sensor, which could be used for thousands of measurements. In addition, the
284 same sensor could be used for different reactions as neutralization, redox and complexation
285 ones, which is impossible to be performed in conventional methods.

286 The device proposed was designed to be constructed with low cost and less than \$200
287 were enough to buy the pieces (excluding the peristaltic pump), which could shows a spread
288 use. Obviously, other infrared pyrometers and volume dosing devices could be used in order to
289 increase the performance of TT-IR. For example, the infrared pyrometer used presented a

290 temperature resolution up to 0.02 °C, which is far from the best performance of these devices
291 that are commercialized with higher resolution (e.g., 0.0001 °C). The apparatus for titrant
292 solution introduction could be certainly improved and several devices could be used as syringe
293 pumps. Lastly, the reaction vessels could be also improved to avoid the losses of heat from
294 vessel walls. Therefore, it is expected that improvements could be performed in the proposed
295 approach for TT-IR with impact on the quality of analytical results, reducing uncertainties and
296 improving the sensitivity of measurements. However, the price of such improvement should be
297 considered. Other important aspect is the possibility of automation, which could improve
298 sample throughput and the quality of results.

299 Considering the good results obtained for TT, the use of infrared pyrometer could be
300 spread to perform the other types of enthalpimetric analysis, as direct injection and flow ones,
301 which were not yet performed using this device. In this way, it is expected that thermal infrared
302 enthalpimetry could be even more used due to the lower cost and the easiness processing and
303 interpretation of infrared pyrometer data in relation to the applications performed with infrared
304 cameras.

305

306 **4. CONCLUSION**

307 The use of infrared thermometer is a promising alternative to perform enthalpimetric
308 analysis in a simpler way with quantitative results that present good agreement with
309 conventional methods. The low cost and easy implementation could be highlighted. The
310 proposed method is a suitable alternative for routine analysis comprising some of the green
311 analytical chemistry features.

312

313

314

315 **Table 1.** Results (mean \pm standard deviation) for the total acidity, ascorbic acid and calcium
 316 determination using TT-IR (n=3) and conventional methods (n=3).

Sample	Analyte	Conv. Titration	TT-IR
Calcium carbonate tablets	Calcium (mg)	242 \pm 3	235 \pm 4
Calcium citrate sachets		491 \pm 8	483 \pm 11
Calcium phosphate tablets		586 \pm 9	602 \pm 13
Effervescent tablet 1	Ascorbic acid (mg)	970 \pm 13	948 \pm 13
Effervescent tablet 2		980 \pm 11	968 \pm 12
Effervescent tablet 3		1009 \pm 9	1010 \pm 8
English sauce	Total acidity (% acetic acid)	4.05 \pm 0.02	3.98 \pm 0.05
Garlic sauce		1.37 \pm 0.01	1.43 \pm 0.05
Ketchup sauce		2.07 \pm 0.01	2.06 \pm 0.04
Pepper sauce		2.19 \pm 0.02	2.25 \pm 0.05

317

318

319

320

321

322

323

324

325 **Figure Captions**

326 **Figure 1.** Device proposed for TT-IR system. **(A)** General view of system. **(B)** Side view of
327 reactor (polystyrene cup) with lid. **(C)** Top view of polystyrene cup.

328 **Figure 2.** Analytical signal obtained for neutralization reaction in back titration using 5 mL of
329 the sample and 1.0 mol L⁻¹ HCl titrant solution, flow rate 0.8 mL min⁻¹ and 3 cm of sensor
330 distance to solution; 1: sample alone inside the reactor; 2: starting of titrant solution addition;
331 3: maximum temperature (end point).

332 **Figure 3.** Influence of sample solution volume and flow rate of titrant solution on the
333 measurements (n=3); 1 mol L⁻¹ NaOH titrant solution and 5 mL of 0.5 mol L⁻¹ HCl solution as
334 the sample; flow rates 0.8; 1.0; 1.5 and 2.0 mol L⁻¹.

335 **Figure 4.** Influence of sensor distance to solution (n=3) using 1 mol L⁻¹ NaOH titrant solution
336 and 5 mL of 0.5 mol L⁻¹ HCl solution as the sample; flow rates 0.8 mL min⁻¹.

337

338

339

340

341

342

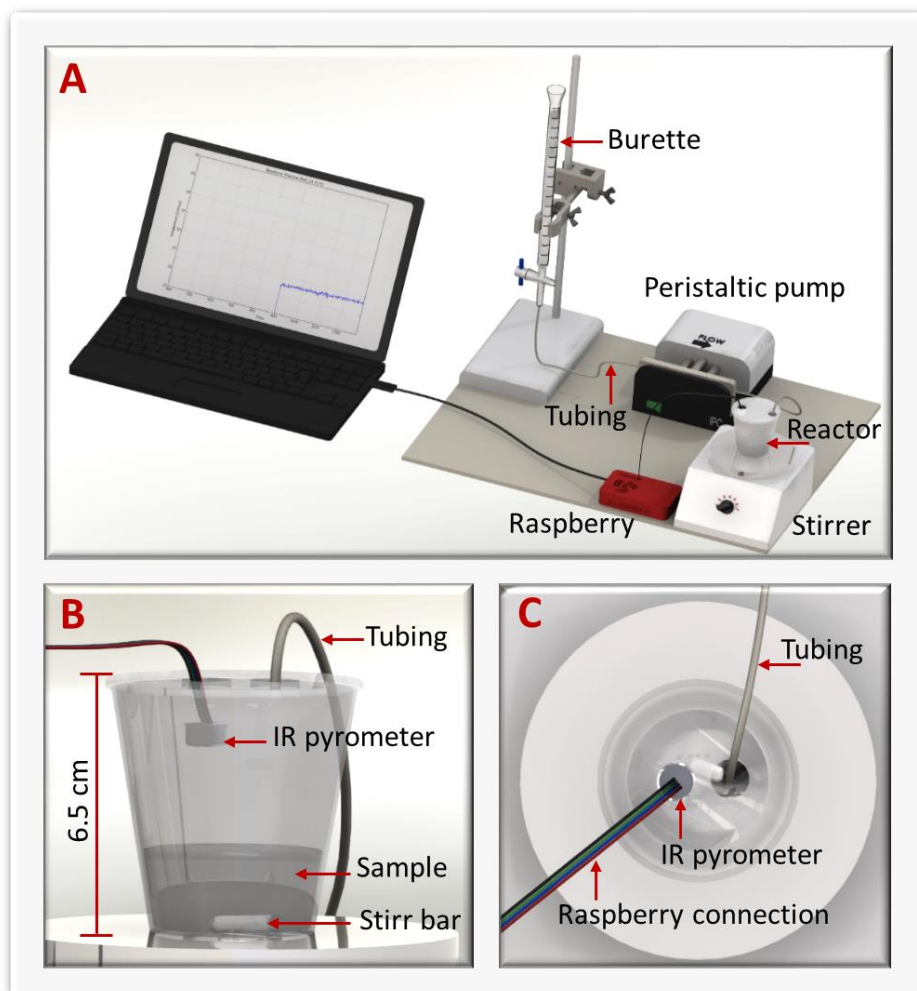
343

344

345

346 **Figure 1.**

347



348 **Figure 2.**

349

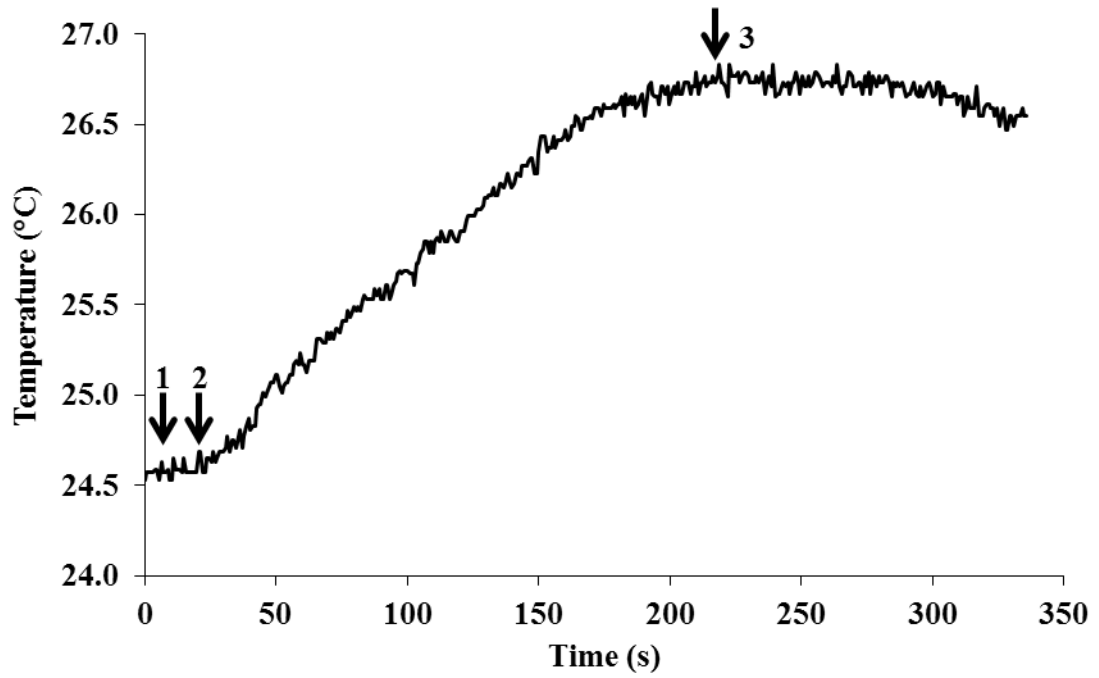
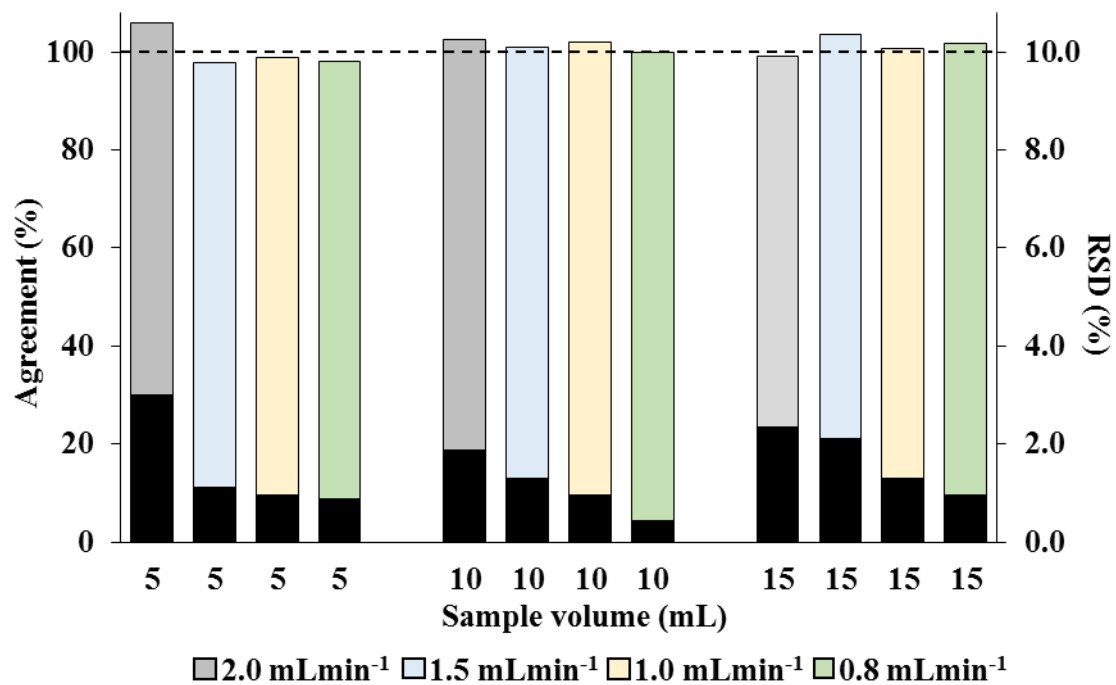


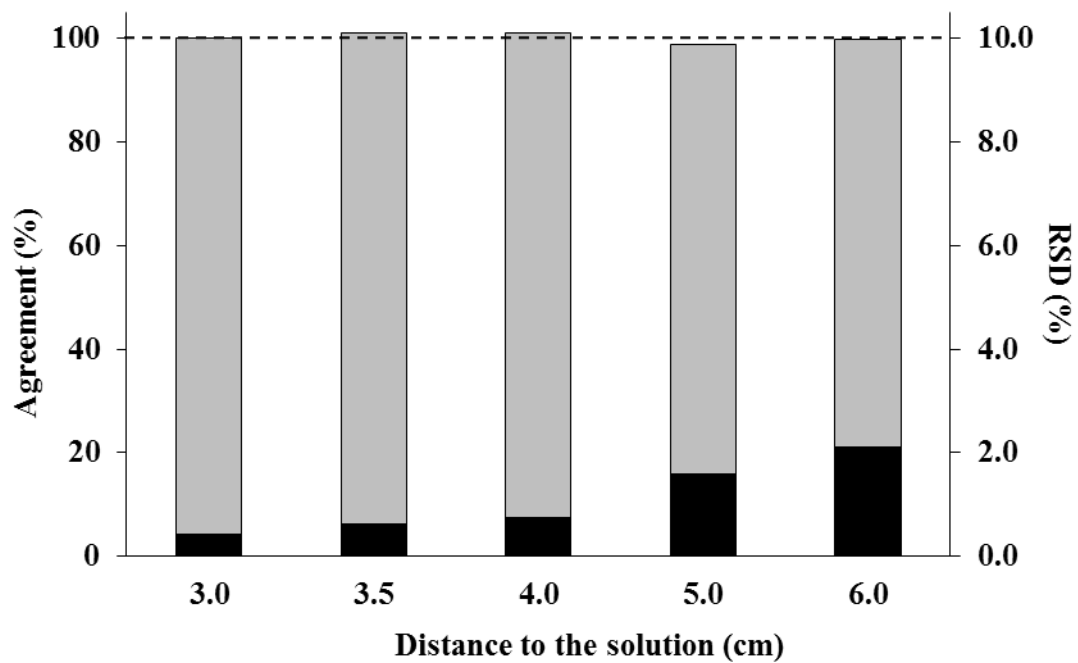
Figure 3.

350



351 **Figure 4.**

352



REFERENCES

- (1) Grime, J. K. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **1981**, *1*, 22-28.
- (2) Stahl, J. W. In *Pure and Applied Chemistry*, 1994, p 2487.
- (3) Jordan, J.; Grime, J. K.; Waugh, D. H.; Miller, C. D.; Cullis, H. M.; Lohr, D. *Analytical Chemistry* **1976**, *48*, 427A-439A.
- (4) Carr, P. W.; Izatt, R. M. *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry* **1971**, *2*, 491-557.
- (5) Bell, J. M.; Cowell, C. F. *Journal of the American Chemical Society* **1913**, *35*, 49-54.
- (6) Linde, H. W.; Rogers, L. B.; Hume, D. N. *Analytical Chemistry* **1953**, *25*, 404-407.
- (7) Costa, A. B. d. C.; da Cruz, D. R. N.; Alessio, K. O.; Garcia, A. D.; Rothmund, K.; de Carvalho, F. S.; Barin, J. S.; Tedesco, L. P. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry* **2015**, *7*, 196-201.
- (8) Eder, C.; Becker, T.; Delgado, A. *Food Control* **2009**, *20*, 1119-1126.
- (9) Meola, C.; Carlomagno, G. M. *Measurement Science and Technology* **2004**, *15*, R27.
- (10) Barin, J. S.; Tischer, B.; Oliveira, A. S.; Wagner, R.; Costa, A. B.; Flores, E. M. M. *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 12065-12070.
- (11) Tischer, B.; Oliveira, A. S.; Costa, A. B.; Cichoski, A. J.; Barcia, M. T.; Wagner, R.; Barin, J. S. *Journal of Food Composition and Analysis* **2017**, *63*, 34-37.
- (12) Tischer, B.; Oliveira, A. S.; Ferreira De, F.; Menezes, C. R.; Duarte, F. A.; Wagner, R.; Barin, J. S. *Food chemistry* **2017**, *215*, 17-21.
- (13) Oliveira, A. S.; Nora, F. M. D.; Mello, R. O.; Mello, P. A.; Tischer, B.; Costa, A. B.; Barin, J. S. *Talanta* **2017**, *171*, 335-340.
- (14) Girwidz, R.; Ireson, G. *Physics Education* **2011**, *46*, 64.
- (15) Morita, T.; Assunção, R. M. V. *Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação, indicadores de segurança, descarte de produtos químicos*; E. Blucher, 2007; Vol. 2.

- (16) *IAL*, 4rd ed.; Instituto Adolfo Lutuz: Métodos físico-químicos de análise de alimentos: São Paulo, SP, Brazil, 2005.
- (17) *Brazilian Pharmacopeia*, 5th ed.; Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA: Brasilia, DF, Brazil, 2010.
- (18) Matos, R. C.; Gutz, I. G. R.; Angnes, L.; Fontenele, R. S.; Pedrotti, J. J. *Química Nova* **2001**, *24*, 795-798.
- (19) Magnusson, B.; Örnemark, U. 2nd ed, Eurachem Guide: A laboratory guide to method validation and related topics, 2014.
- (20) Piloyan, G. O.; Dolinina, Y. V. *Talanta* **1974**, *21*, 975-978.
- (21) Vollmer, M.; Möllmann, K.-P. In *Infrared Thermal Imaging*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010, pp 73-155.
- (22) Poliakoff, M.; Fitzpatrick, J. M.; Farren, T. R.; Anastas, P. T. *Science* **2002**, *297*, 807-810.
- (23) Tobiszewski, M. *Analytical Methods* **2016**, *8*, 2993-2999.
- (24) Kirchhoff, M. M. *Environmental Science & Technology* **2003**, *37*, 5349-5353.

**Manuscrito 2: Infrared Thermal Imaging Combined
With Paper Microzone Plates and Potato Juice for
Simple, Fast and Green Enthalpimetric Analysis**

Manuscrito formatado para submissão ao periódico *Analytical Chemistry*

(Fator de Impacto: 6.320, Estrato Qualis: B1)

1 Infrared Thermal Imaging Combined With Paper Microzone Plates and
2 Potato Juice for Simple, Fast and Green Enthalpimetric Analysis

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21 **ABSTRACT**

22 A rapid and effective green analytical method has been proposed in this work for the
23 determination of hydrogen peroxide in pharmaceuticals, bleaching and toiletries products. This
24 method employed the combination of paper microplates, thermal infrared enthalpimetry (TIE)
25 and potato juice as reagent from renewable source. The determination was performed using
26 paper microplates fabricated by the wax printing method, multichannel pipette for reagent
27 addition and an infrared camera for temperature monitoring. In order to provide low variation
28 of measurements, the analytical parameters were optimized such as pH, reagents volume and
29 stability. Results of peroxide hydrogen contents in all samples were compared with those
30 obtained by official compendia (United States Pharmacopeia and ASTM D2180–17). The
31 proposed method showed an agreement with the conventional methods from 96 to 103%. It is
32 important to mention that using this system was possible to reduce significant the waste
33 generation when compared with conventional methods, besides the absence of toxic reagents.
34 Another important issue to consider is that paper microplates can be directly discarded after
35 analysis, since the final product of the reaction between hydrogen peroxide and the enzyme
36 from potato juice are O₂ and water. Thereby this method follows the green analytical chemistry
37 principles. According to these features, the proposed method could be considered a promising
38 alternative to routine analysis.

39

40 *Keywords:* hydrogen peroxide content, green solvent, enthalpimetry, paper microplates.

41

42

43

44 1. INTRODUCTION

45 Currently, the impact caused by human action has accelerated the search for
46 sustainability, where the environmental effects generated by chemical activities have received
47 great attention.¹ The green analytical chemistry has become a tool to advance sustainable
48 development in chemical analysis for both academic and industries laboratories.² Most of green
49 analytical chemistry efforts emphasized the need for safe, less toxic solvents (or their
50 elimination) and the reduction of the use of reagents and other chemicals.^{3,4} Other actions
51 included the reduction of energy consumption, avoiding derivatization and giving preference
52 of using substrates based on renewable sources.⁵ Therefore, the elimination and/or replacement
53 of toxic reagents has become a trend in green analytical chemistry, thus increasing the search
54 for reagents obtained from renewable sources.⁶ However, this task could be considered a
55 challenge in the green chemistry segment.⁷ Vegetables are an inexhaustible source of enzymes
56 (e.g., peroxidase, polyphenol oxidase, pectinmethylesterase) that can be applied in several
57 fields. Different plants (e.g., litchi and date fruits, yellow mombin and apple) can provide the
58 enzyme peroxidase, which can be used for quick and selective reaction with hydrogen peroxide,
59 including potatoes that present features with regard to availability and cost.⁸⁻¹³

60 Paper-based devices have been used as alternative reaction platforms for reducing
61 reagent consumption and residue generation. Paper microzone plates are a low cost alternative
62 to conventional used polystyrene microplates, and require low volume of sample and reagents.
63 These devices could be manufactured from the deposition of a hydrophobic barrier on the paper
64 so that circular barriers could be formed in the same proportions of the wells of the conventional
65 plates.^{14,15} The manufacturing and disposal of these paper devices could reduce the
66 environmental impacts when compared to conventional polystyrene microplates.¹⁵ The paper
67 is flammable, and if the direct disposal is not possible, the devices can be incinerated in a safely
68 and easy way after use.^{15,16} Several sensing approaches have been used for the determination

69 of different analytes in paper-based analytical devices, including fluorescence, colorimetry,
70 electrochemical, conductivity¹⁷, electrochemiluminescence and chemiluminescence ones.¹⁸
71 However, applications related to the use of enthalpimetric measurements in paper devices have
72 not been explored for chemical analysis.

73 Recently, infrared thermal imaging was combined with polystyrene microplates to
74 perform chemical analysis based on the temperature change during a reaction¹⁹. The called
75 thermal infrared enthalpimetry (TIE) method was performed by addition of a solution
76 containing a stoichiometric excess of a reagent to sample solution. The temperature was
77 determined before and after injection, and it was directly related to the amount of the limiting
78 reagent (usually the analyte). Several advantages have been reported by the use of TIE, as the
79 speed up of analysis (reaching hundreds of measurements per hour) and the reduction of the
80 amount of reagents and residues generated.¹⁹⁻²² In some cases, only water could be used as
81 reagent for analysis and a reduction in energy consumption of three orders of magnitude in
82 relation to conventional method has been reported as for the determination of alcoholic content
83 of beverages.²²

84 Therefore, a novel approach is proposed for paper-based analytical devices based on the
85 green the determination of hydrogen peroxide provided by the reaction of samples with potato
86 juice and temperature monitoring by using an infrared camera. The analytical parameters were
87 optimized regarding to the suitable conditions for reaction (e.g., total volume, proportion of
88 reactants, time, pH) and the stability of potato juice. The method was applied for
89 pharmaceutical, cleaning and toiletries products without the need of any sample preparation.

90

91 **2. MATERIALS AND METHOD**

92 **2.1 Samples, standards, and reagents**

93 Samples of potatoes (*Solanum tuberosum L.*) of varieties *Ágata* and *Asterix* were
94 purchased in local market. Hydrogen peroxide (4.25 mol L⁻¹) (Vetec, Brazil) was used for
95 preparation of reference solutions and construction of the calibration curve. Potassium
96 permanganate (Vetec, Brazil), sodium oxalate (Synth, Brazil) and sulfuric acid (Vetec, Brazil)
97 were used for determination of hydrogen peroxide by the conventional method (redox titration
98 using potassium permanganate). The solutions were standardized and used for the
99 determination of hydrogen peroxide in solutions, creams and mouthwash as recommended in
100 United States Pharmacopeia.²³ For hydrogen peroxide determination in bleaching solutions the
101 recommendations of ASTM D2180-17²⁴ were followed. Accuracy was evaluated by comparing
102 results obtained using the proposed method with those obtained by official methods (Student's
103 t-test).

104

105 **2.2 Instrumentation**

106 A Milli-Q system (Direct-Q 3 UV, 18.2 MΩ·cm, Millipore Corp., USA) was used to
107 obtain ultrapure water to prepare all solution and reagents. A long wave infrared camera (8.5-
108 13.0 μm, E60 model, FLIR, USA), which provided images of 320 x 240 pixels at a frame rate
109 of 30 Hz was used. Images were processed using ResearchIR software (version 3.5, FLIR). The
110 reactions were performed in disposable paper 24-well microplates, which were prepared using
111 a solid jet printer (ColorQube, 8870, Xerox, USA) and after conditioned in an oven (MA
112 033/100, Marconi, Brazil). Electronic multichannel pipette (8 channels, 15 to 300 μL, Xplorer,
113 Eppendorf, Germany) was used for simultaneous injection of reagents. For the determination
114 of peroxide hydrogen content according to official methods a burette (25 mL ± 0.05 mL) was
115 used for titration.

116

117 **2.3 Analysis by conventional method**

118 The determination of hydrogen peroxide in solutions, creams and mouthwash was
119 carried out according to method of United States Pharmacopeia.²³ Samples (2 mL) were inserted
120 in a suitable flask containing 20 mL of water and 20 mL of 1 mol L⁻¹ sulfuric acid. After, the
121 solution was titrate with 0.02 mol L⁻¹ potassium permanganate solution. The hydrogen peroxide
122 in bleaching solution was determined according to method ASTM D2180-17.²⁴ Samples (5 mL)
123 were diluted in a 500 mL volumetric flask, using 250 mL of water and completed to the mark
124 with sulfuric acid (1:9) solution. After, a 25 mL aliquot was titrated with 0.02 mol L⁻¹ potassium
125 permanganate solution.

126

127 **2.4 Analysis by TIE**

128 For the production of potato juice, the vegetables were washed, peeled and crushed
129 using a kitchen mixer (Philips Walita, model RI1366), and the potato juice was filtered using
130 filter paper of 80 g m⁻² grammage (J. Prolab, Brazil). The pH of extracts and hydrogen peroxide
131 solutions were adjusted using 2 mol L⁻¹ sodium hydroxide solution. The paper microzone plates
132 were prepare using the same size of the polystyrene microplates used in TIE (24 wells, 1.6 cm
133 diameter in each well). The microplates were designed for a negative configuration, i.e. the test
134 zones were wax-delimited throughout the paper area. Using a wax printer the image of the plate
135 was printed directly onto a sheet of filter paper with dimensions 60 × 60 cm, 14 μm of porosity
136 and 80 g m⁻² grammage (J. Prolab, Brazil). Subsequently, the printed-paper was heated in an
137 oven at 105 °C for 5 min to obtain the hydrophobic barrier. In order to avoid the contact of
138 paper microzone plates with other materials, they were adapted to a plastic box with the same
139 size. The procedure used in the proposed method is shown in Figure 1.

140 The software of camera was used for monitoring the temperature of each well and the
141 average of these temperatures was plotted forming an enthalpogram.¹⁹ The characteristic signal
142 of the reaction is shown in Figure 2. The difference of temperature (ΔT) was obtained from

143 equation $\Delta T = T_f - T_i$, where T_f and T_i are the final and initial temperatures, respectively.¹⁹
144 The T_i values were obtained using the mean of temperature obtained after the addition of potato
145 juice over the paper microplates previously charged with hydrogen peroxide solutions. Four
146 wells were used for in all experiments (n=4).

147

148 **2.5 Optimization of proposed TIE method**

149 Preliminary experiments were realized to determine the potato variety (*Asterix* and
150 *Ágata*) which had the better stability during of analyzes. The calibration curve was constructed
151 in three different days using two varieties of potato, and the sensibility of calibration curve was
152 evaluated to choose the best variety for development of experiments.

153 The influence of pH, volume and ratio of solutions, and stability of potato juice were
154 evaluated. The pH of potato juice and hydrogen peroxide solutions from 6.0 to 8.0 were tested,
155 including also the test without pH adjustment (the pH of potato juice and hydrogen peroxide
156 solution was 6.15 and 4.23, respectively). For evaluation of the behavior of results using potato
157 juice from different sources, the determination of hydrogen peroxide was performed in two
158 pharmaceutical samples (solution and cream) during five days. The agreement with the
159 conventional method and the parameters of calibration curve were evaluated. Other relevant
160 parameters as the limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ), were calculated
161 according to the Eurachem Guide²⁵ considering the mean of 10 blank readings. The mean value
162 of the readings and the standard deviation (SD) were calculated, where the $LOD = 3\sigma$ and the
163 $LOQ = 10\sigma$, where S'_0 is the SD of the blank readings. The data were evaluated using analysis
164 of variance (ANOVA) followed by Tukey's test using Statistica 5.1 (Statsoft, 2004, USA).

165

166 **3. RESULTS AND DISCUSSION**

167 **3.1 Evaluation of the parameters for TIE analysis**

168 The results of stability evaluation of potatoes varieties are shown in Table 1. The *Ágata*
169 potato variety, in the three calibration curve constructed by three different days of analysis,
170 obtained the coefficient of determination higher than 0.99. Therefore, the *Ágata* was the variety
171 with the better stability, and then all the experiments were realized using this variety.

172 The experimental conditions were optimized to reach a suitable reaction of peroxidase
173 with hydrogen peroxide solutions. The influence of pH was evaluated and the results are shown
174 in Figure 3. The lowest activity was observed to pH 6.0 and also for solution without pH control.
175 On the other hand, the maximum enzyme activity was observed in pH 7 with no significant
176 differences to pH 7.5 (Tukey test, $p > 0.05$).

177 According to the literature, the peroxidase activity is pH-dependent. Studies about pH
178 influence to peroxidase activity in potato pulp exhibited results of stability around pH 4 to 8.¹⁰
179 For other vegetables, such as varieties of date fruit (*Phoenix dactylifera L.*) highest activity was
180 achieved between pH 5.6 and 6.2.⁸ In Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.), the values of highest
181 activity were obtained close to pH 6.5.⁹ Thus, the results observed for the influence of pH on
182 peroxidase activity is in agreement with results reported in literature.

183 The ratio between the potato juice and hydrogen peroxide solution was also evaluated
184 (Figure 4). No significant differences were observed when the ratio of 80:60, 90:50 and 100:40
185 μl of potato juice and hydrogen peroxide solution were used, respectively (Tukey test, $p > 0.05$).
186 However, the 100:40 ratio was chosen, because a lower sample volume could be used. For
187 lower potato juice volumes, the results presented lower ΔT probably due to the low amount of
188 enzyme available for reaction with the hydrogen peroxide solution.

189 The evaluation of stability of potato juice over the time is shown in Figure 5. There was
190 no significant difference in the ΔT up to 300 minutes after potato juice extraction (Tukey test,
191 $p > 0.05$). Therefore, 300 minutes was chose as the maximum stability time of potato juice. In
192 addition to potato juice stability, the parameters related to TIE can also influence the results.

193 Therefore, the pixels (pix) number used to extract temperature values from images was
194 evaluated (Figure 6). The deviations among measurements could be considered relatively low
195 up to 129 pix, because once the solution reach the analytical zone edge, the contact with the
196 wax occurs and could lead to heat dissipation. Although no significant differences were
197 observed using 37 to 129 pixels, a RSD increase was observed and 61 pixels were considered
198 the more suitable number to perform experiments.

199

200 **3.2 Determination of hydrogen peroxide in pharmaceutical, cleaning and toiletries** 201 **products**

202 After experimental conditions evaluation, the behavior of results using potato juice from
203 different sources for hydrogen peroxide determination in two samples (solution and cream) in
204 five days. Therefore, a calibration curve was constructed in each analysis day and samples were
205 evaluated. The agreement with the conventional method and the linearity of curve calibration
206 were considered and the results are shown in Table 2.

207 The calibration curves obtained in different days of analysis showed good linearity (R^2
208 > 0.99). As expected, a variation in the sensitivity could be observed, since the reagent used
209 (potato juice) came from vegetables that present variability in their peroxidase content.
210 However, good agreement (from 98 to 102%) with the official method was observed even with
211 this variability of potato juice, without statistical differences between the proposed and official
212 method (Student's t-test, $p > 0.05$). These results showed that potato juice presented a suitable
213 performance and could be used for hydrogen peroxide determination.

214 The results for determination of hydrogen peroxide in pharmaceutical products creams
215 and solutions and mouthwash are shown in Table 3. All values obtained by proposed method
216 for the hydrogen peroxide content of four samples presented a good agreement (from 96 to
217 103%) with the official methods; no significant differences were observed between these

218 methods (Student's t-test, $p > 0.05$). The LOD and LOQ obtained to method were 0.36 and
219 0.49%, respectively.

220

221 **3.3 Green aspects of the proposed method**

222 Using the proposed method it was possible to determine the hydrogen peroxide content
223 with a significant reduction of residue generation. The conventional method generated a volume
224 of residue after analysis of samples near to 3.45 L, being composed by around 985 mL of
225 potassium permanganate 0.02 mol L^{-1} (3.16 grams) and about 100 mL of H_2SO_4 . With the
226 proposed method, only 0.325 L were generated, containing 5.5 mL of $\text{NaOH } 2 \text{ mol L}^{-1}$ (0.44
227 grams) used in adjusting of pH and samples, 30 mL of potato juice and 175 mL of hydrogen
228 peroxide solution (used in the construction of the calibration curve). The residue amount was
229 calculated considering reagents used since the dilution step until the determination one.

230 It is important to mention that the reaction between hydrogen peroxide and the
231 peroxidase enzyme (from potato juice) has as final product the formation of O_2 and water.
232 Therefore, the disposal of the paper microplates can be performed easily and safely, without
233 incineration, since the paper is biodegradable. Another important factor is that the residue
234 generated in the proposed method (potato juice and hydrogen peroxide solutions) could be
235 mixed and can react generating O_2 and water, allowing a sustainable disposal according to green
236 chemistry principles.

237

238 **4 CONCLUSION**

239 The use of paper devices combined with TIE allowed the development of the simple
240 and fast method for hydrogen peroxide determination, according to principles of green
241 analytical chemistry. The replacement a toxic reagent with a low-cost renewable source reagent
242 was feasible and the results were obtained with a good agreement with conventional methods.

243 The volume of sample and reagents was reduced and the residue generated can be disposed in
244 a simple way. Significant reduction in the environmental impacts generated by the chemical
245 analysis were observed when compared to the conventional technique. Taking into account all
246 advantages of the proposed methods, the combination of the TIE, paper microplates and potato
247 juice as a renewable source reagent, can be a suitable alternative for routine analysis.

248

249

250

251

252

253

254

255

256

257

258

259

260

261

262 **Table 1.** Results of potato variety stability (*Asterix and Ágata*) using potato juice from different
 263 sources and three different days of analysis (n = 4). Measurements were performed using pH
 264 7.0, reagent to sample ratio 100:40 and 61 pixels for temperature measurement.

Potato varieties	Equation	R ²
Ágata	$y = 0.3557x + 0.0644$	0.9947
Ágata	$y = 0.4031x + 0.0651$	0.9937
Ágata	$y = 0.5635x - 0.0111$	0.9925
Asterix	$y = 0.2089x + 0.1396$	0.9674
Asterix	$y = 0.3071x + 0.1174$	0.9645
Asterix	$y = 0.1664x + 0.1128$	0.8775

265

266

267

268

269

270

271

272

273

274

275

276 **Table 2.** Results (mean \pm standard deviation, % v/v) for the determination of hydrogen peroxide
 277 in two pharmaceutical samples (solution and cream) using potato juice from different sources
 278 and different days of analysis (n = 4). Measurements were performed using pH 7.0, reagent to
 279 sample ratio 100:40 and 61 pixels for temperature measurement.

Equation	R ²	Sample 1 (% H ₂ O ₂)	Agreement (%)	Sample 2 (% H ₂ O ₂)	Agreement (%)
$y = 0.3557x + 0.0644$	0.9947	3.01 ± 0.06	98.5	8.90 ± 0.26	100.4
$y = 0.4031x + 0.0651$	0.9937	2.99 ± 0.06	97.9	9.00 ± 0.39	101.5
$y = 0.5635x - 0.0111$	0.9925	3.00 ± 0.07	98.1	8.93 ± 0.15	100.8
$y = 0.4775x + 0.1617$	0.9922	3.04 ± 0.05	99.5	9.08 ± 0.27	102.4
$y = 0.8139x + 0.0249$	0.9941	3.05 ± 0.05	99.8	8.97 ± 0.34	101.2

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290 **Table 3.** Results (mean \pm standard deviation) obtained using the TIE (n=4) in the analysis of
 291 the hydrogen peroxide content of pharmaceuticals products (creams and solution), mouthwash
 292 and bleaching solutions (% , v/v) and comparison with data obtained by conventional methods
 293 (n=3). Measurements were performed using pH 7.0, reagent to sample ratio 100:40 and 61
 294 pixels for temperature measurement.

Sample	Manufacturer	Conv. Method	TIE
Solution	A	2.99 \pm 0.07	3.06 \pm 0.01
	B	2.80 \pm 0.04	2.76 \pm 0.02
	C	3.12 \pm 0.09	3.03 \pm 0.01
Cream	A	9.08 \pm 0.27	8.87 \pm 0.16
	B	9.21 \pm 0.12	9.02 \pm 0.16
	C	8.61 \pm 0.07	8.49 \pm 0.10
Bleaching	A	5.09 \pm 0.07	5.00 \pm 0.03
	B	7.65 \pm 0.15	7.50 \pm 0.06
	C	5.46 \pm 0.16	5.28 \pm 0.02
Mouthwash	A	2.57 \pm 0.03	2.60 \pm 0.02
	B	1.96 \pm 0.07	2.04 \pm 0.01

295

296

297

298 **Figure Captions**

299 **Figure 1.** Procedures used for that determination of hydrogen peroxide by the proposed TIE
300 method.

301 **Figure 2.** Analytical signal obtained from reaction of hydrogen peroxide and potato juice,
302 where T_i is initial temperature and T_f is final temperature.

303 **Figure 3.** Influence of pH on the reaction of peroxidase with hydrogen peroxide solution (6%
304 H_2O_2 , v/v). Bars followed by the same letters do not differ ($P > 0.05$) by Tukey test ($n=4$).
305 Measurements performed at pH 7.0, reagent to sample ratio 100:40, 61 pixels for temperature
306 measurement.

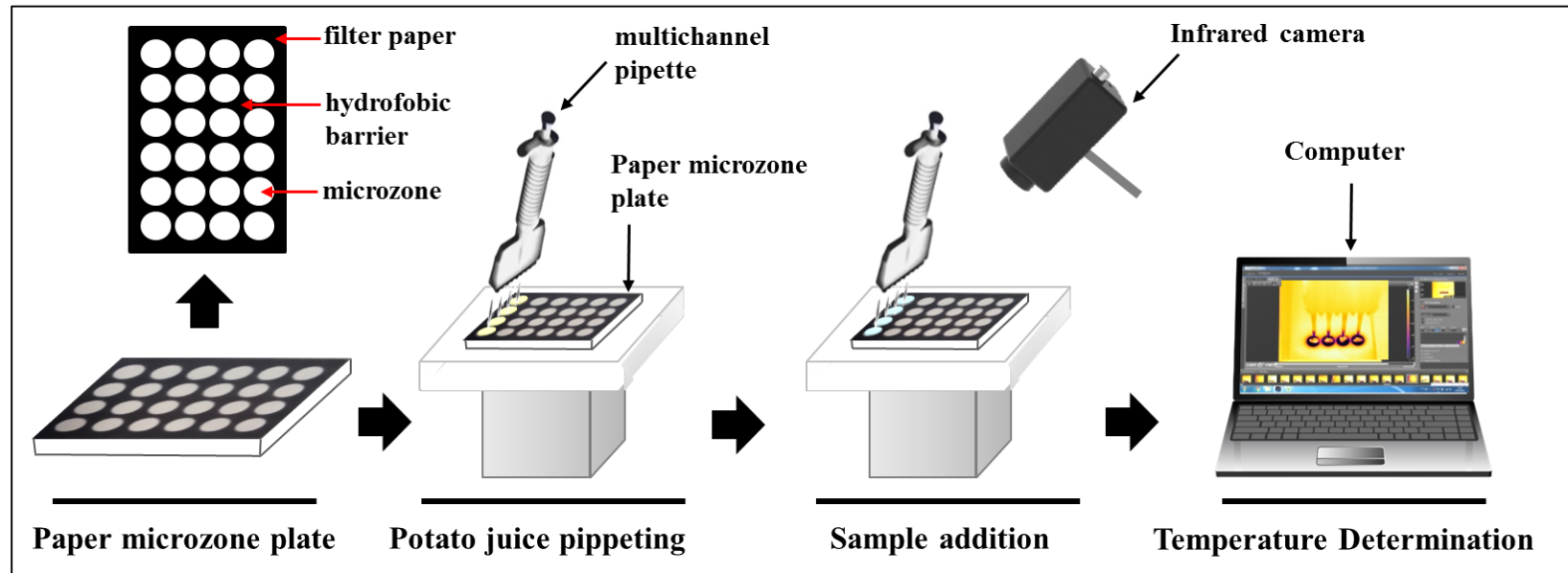
307 **Figure 4.** Influence of potato juice/hydrogen peroxide solution ratio on the reaction of
308 peroxidase with hydrogen peroxide solution (6% H_2O_2 , v/v). Bars followed by the same letters
309 do not differ ($P > 0.05$) by Tukey test ($n = 4$). Measurements performed using pH 7.0, reagent
310 to sample ratio 100:40, 61 pixels for temperature measurement.

311 **Figure 5.** Stability of potato juice for reaction with hydrogen peroxide solution (6% H_2O_2 , v/v).
312 Bars followed by the same letters do not differ ($P > 0.05$) by Tukey test ($n=4$). Measurements
313 performed using pH 7.0, reagent to sample ratio 100:40, 61 pixels for temperature
314 measurement.

315 **Figure 6.** Evaluation of pixels number used in images treatment for temperature measurement.
316 Bars followed by the same letters did not differ ($P > 0.05$) by Tukey test
317 ($n = 4$).

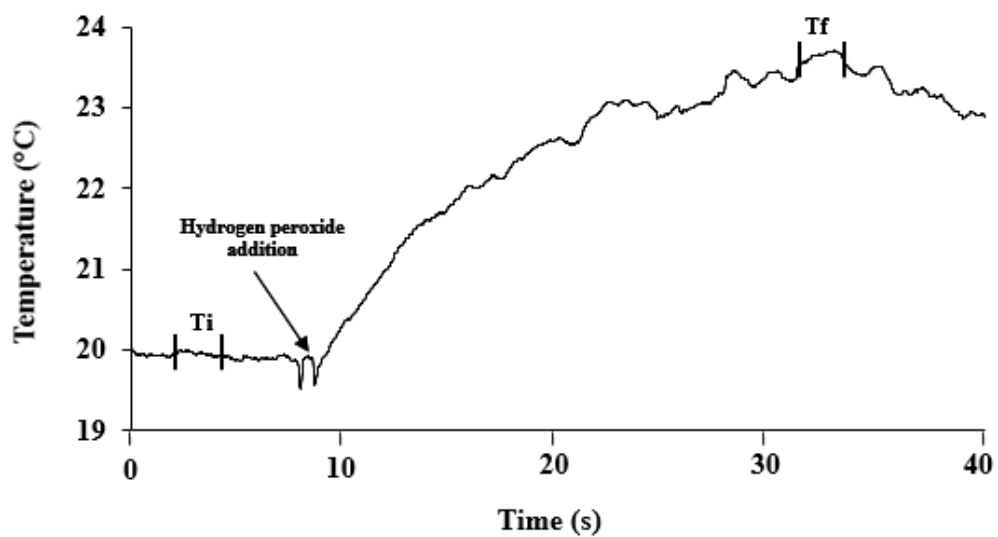
318 **Figure 1.**

319



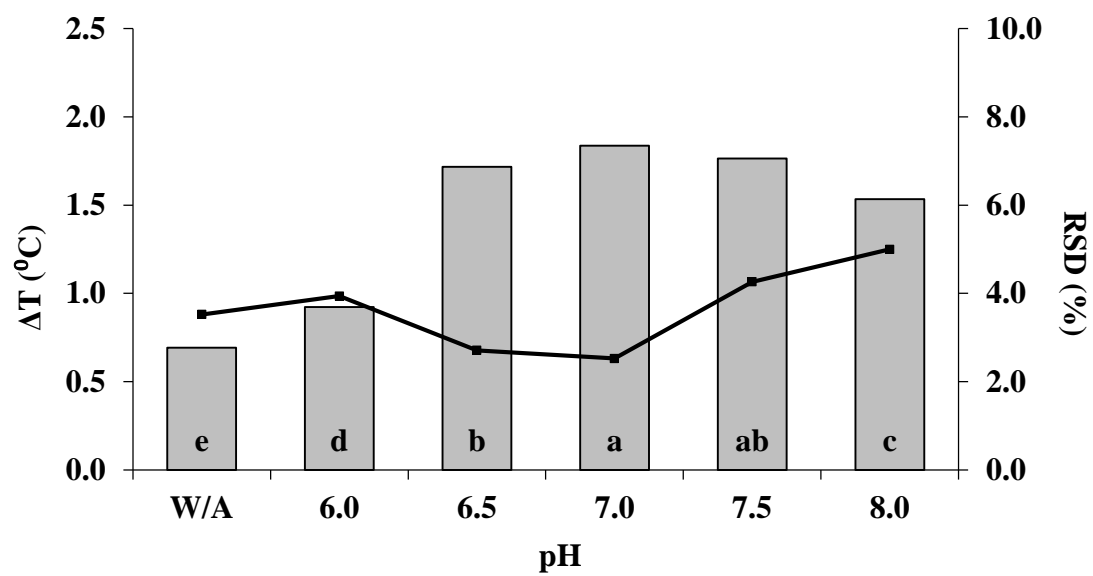
320 **Figure 2.**

321



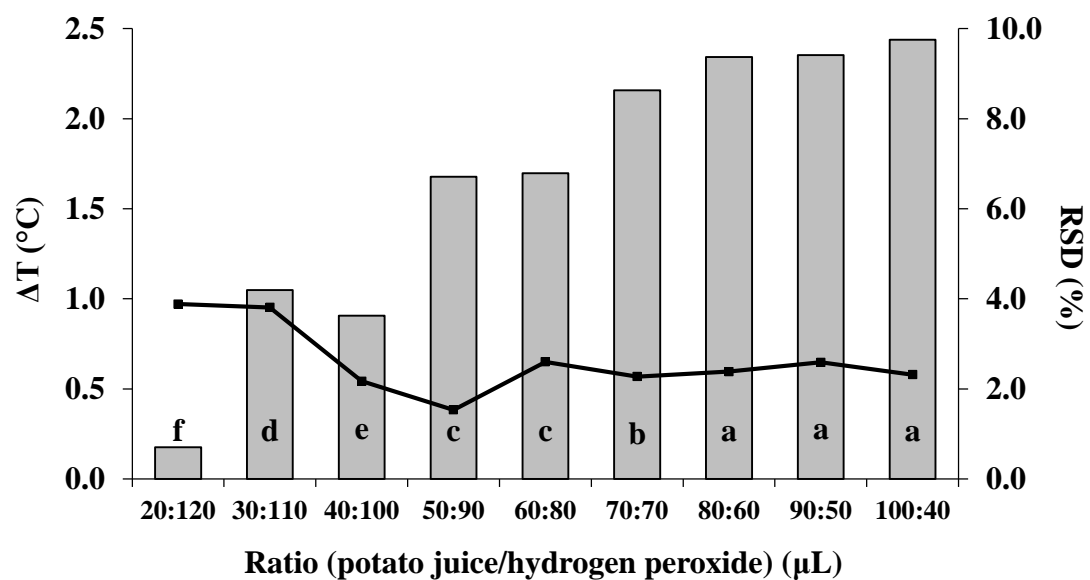
322 **Figure 3.**

323



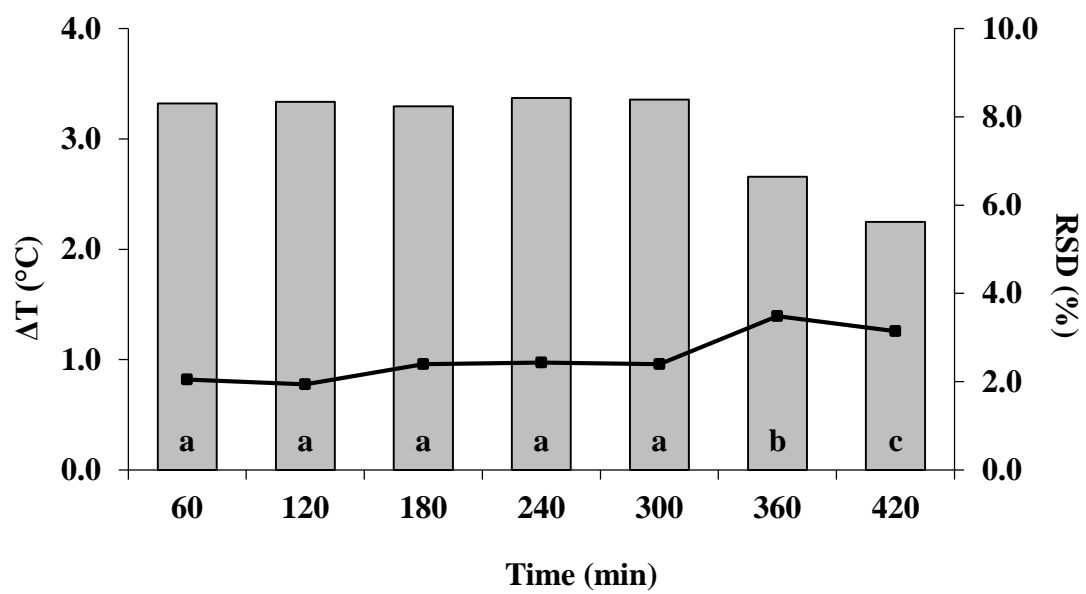
324 **Figure 4.**

325



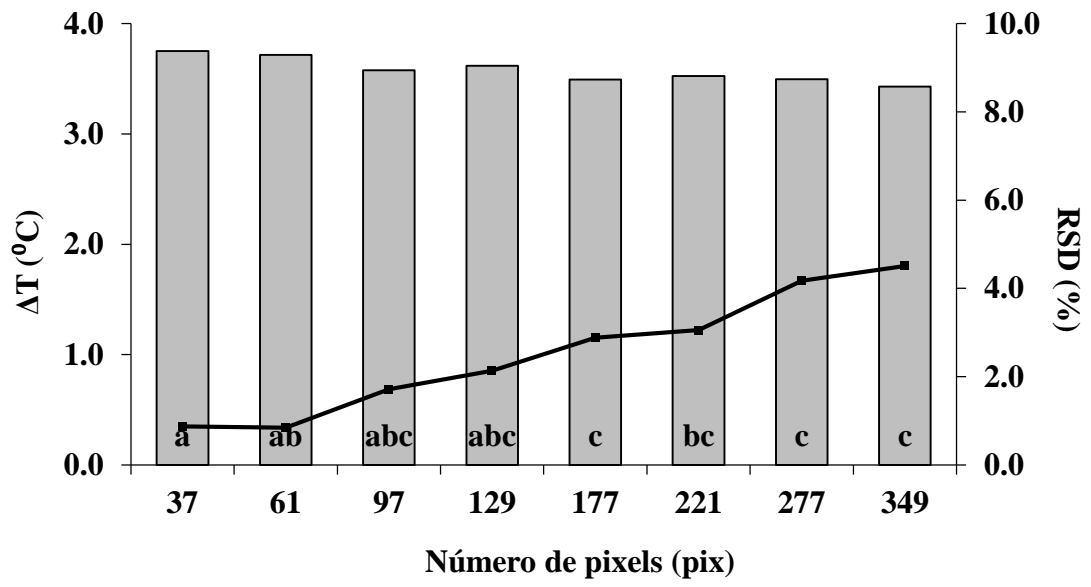
326 **Figure 5.**

327



328 **Figure 6.**

329



REFERENCES

- (1) Armenta, S.; Garrigues, S.; de la Guardia, M. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2015**, *71*, 2-8.
- (2) Tobiszewski, M.; Marć, M.; Gałuszka, A.; Namieśnik, J. *Molecules* **2015**, *20*, 10928.
- (3) Tobiszewski, M. *Analytical Methods* **2016**, *8*, 2993-2999.
- (4) Kirchhoff, M. M. *Environmental Science & Technology* **2003**, *37*, 5349-5353.
- (5) Horváth, I. T.; Anastas, P. T. *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 2169-2173.
- (6) Abolghasemi, M. M.; Sobhi, M.; Piryaeei, M. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *224*, 391-395.
- (7) Poliakoff, M.; Fitzpatrick, J. M.; Farren, T. R.; Anastas, P. T. *Science* **2002**, *297*, 807-810.
- (8) Daas Amiour, S.; Hambaba, L. *Postharvest Biology and Technology* **2016**, *111*, 77-82.
- (9) Mizobutsi, G. P.; Finger, F. L.; Ribeiro, R. A.; Puschmann, R.; Neves, L. L. d. M.; Mota, W. F. d. *Scientia Agricola* **2010**, *67*, 213-217.
- (10) Kurnik, K.; Treder, K.; Skorupa-Kłaput, M.; Tretyn, A.; Tyburski, J. *Water, Air, and Soil Pollution* **2015**, *226*.
- (11) Lončar, N.; Janović, B.; Vujčić, M.; Vujčić, Z. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2012**, *72*, 42-45.
- (12) Ma, L.; He, J.; Liu, H.; Zhou, H. *Journal of Phytopathology* **2018**, *166*, 206-215.
- (13) de Carvalho, J. M.; Maia, G. A.; da Fonseca, A. V.; de Sousa, P. H.; Rodrigues, S. *Journal of food science and technology* **2015**, *52*, 1182-1187.
- (14) Cheng, C.-M.; Martinez, A. W.; Gong, J.; Mace, C. R.; Phillips, S. T.; Carrilho, E.; Mirica, K. A.; Whitesides, G. M. *Angewandte Chemie International Edition* **2010**, *49*, 4771-4774.
- (15) Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Whitesides, G. M.; Carrilho, E. *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 3-10.
- (16) Cinti, S.; Basso, M.; Moscone, D.; Arduini, F. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *960*, 123-130.

- (17) Nery, E. W.; Kubota, L. T. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2013**, *405*, 7573-7595.
- (18) Li, X.; Ballerini, D. R.; Shen, W. *Biomicrofluidics* **2012**, *6*, 11301-1130113.
- (19) Barin, J. S.; Tischer, B.; Oliveira, A. S.; Wagner, R.; Costa, A. B.; Flores, E. M. M. *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 12065-12070.
- (20) Tischer, B.; Oliveira, A. S.; Costa, A. B.; Cichoski, A. J.; Barcia, M. T.; Wagner, R.; Barin, J. S. *Journal of Food Composition and Analysis* **2017**, *63*, 34-37.
- (21) Tischer, B.; Oliveira, A. S.; Ferreira Dde, F.; Menezes, C. R.; Duarte, F. A.; Wagner, R.; Barin, J. S. *Food Chem* **2017**, *215*, 17-21.
- (22) Oliveira, A. S.; Nora, F. M. D.; Mello, R. O.; Mello, P. A.; Tischer, B.; Costa, A. B.; Barin, J. S. *Talanta* **2017**, *171*, 335-340.
- (23) USP, The United States Pharmacopeia. Pharmacopoeia Forum 40, **2017**, p. 4525, 2017
- (24) ASTM D2180-17, Standard Test Method for Active Oxygen in Bleaching Compounds, ASTM International, West Conshohocken, PA, **2017**. Available from: www.astm.org.
- (25) Magnusson, B.; Örnemark, U. 2nd ed, Eurachem Guide: A laboratory guide to method validation and related topics, **2014**.

4 DISCUSSÃO GERAL

Os resultados obtidos no presente trabalho, demonstraram que os métodos entalpimétricos são alternativas viáveis, que apresentam grandes vantagens para o desenvolvimento de métodos analíticos que estejam em acordo com os princípios da química analítica verde. Sendo assim, os métodos entalpimétricos demonstram ser uma alternativa promissora para a substituição dos métodos convencionais. Cabe ressaltar que os métodos empregados diminuíram significativamente o volume de resíduo gerado, bem como o volume de amostra e reagentes empregados, sendo possível a eliminação dos reagentes tóxicos comumente empregados nos métodos convencionais. A substituição das microplacas de poliestireno por microplacas de papel, possibilitou a redução dos impactos ambientais quando comparados os impactos gerados para a produção e descarte destes os dispositivos. Deste modo, o descarte dos dispositivos de papel puderam ser realizados de forma simples e fácil, uma vez que o papel é um material biodegradável. Essas vantagens citadas fazem com que os métodos propostos estejam em concordância com os princípios da química analítica verde.

De modo a obter as melhores condições de análise, métodos estatísticos foram empregados de modo a avaliar os melhores parâmetros para cada ensaio no Manuscrito 1. Foram avaliados a proporção de reagente, pH, vazão da solução titulante, e estabilidade de solução. Com base nos resultados obtidos foi possível ajustar as condições de análise de modo a obter os menores desvio entre as medidas. Cabe ressaltar que as condições analíticas podem ser melhoradas, com o emprego de sensores com uma resolução maior, além de contribuir para uma menor variação dos resultados.

Outro aspecto relevante a ser considerado é com relação às oscilações da bomba peristáltica na vazão dos reagentes, que pode contribuir para um aumento nos desvios entre as medidas. Porém, o uso de bombas de seringa, que apresentam um excelente estabilidade no controle da vazão, podem contribuir para uma menor variação dos resultados. Além disso, os métodos propostos apresentaram como desvantagem o tempo de estabilização da temperatura das soluções anteriormente à mistura. Para a realização das análises por entalpimetria no infravermelho, faz-se necessário que ambas as soluções estejam na mesma temperatura, para que não ocorra leitura equivocada das temperaturas geradas. Parâmetros relacionados as condições atmosféricas, como umidade relativa, temperatura ambiente e fluxo de ar, também podem interferir nos efeitos das medidas de temperatura realizadas, tornando-se importante a realização das medidas em ambiente controlado (GOWEN et al., 2010). Portanto, essas

modificações nos métodos desenvolvidos, podem contribuir para a obtenção de menores variações nas medidas, permitindo a obtenção de resultados mais precisos.

5 CONCLUSÃO

Os métodos de análise desenvolvidos podem ser considerados uma alternativa viável e promissora para aplicação em análises de rotina no controle de qualidade de alimentos e produtos farmacêuticos, visto que obteve-se uma boa precisão e exatidão dos resultados frente aos métodos convencionais. O uso do pirômetro infravermelho permitiu a criação de um sistema de análise de baixo custo e com bom desempenho, demonstrando características promissoras para sua aplicação em outros tipos de análises entalpimétricas.

A combinação da TIE como método de detecção para as reações em dispositivos de papel, apresentou resultados promissores e vai de acordo com os princípios da química verde, podendo ser considerado um método de análise verde. Deste modo, alguns dos grandes desafios da química analítica verde puderam ser superados, com o emprego de um reagente de fonte renovável, não tóxico e de baixo custo, bem como a diminuição significativa no uso de reagentes e amostras.

Ao longo de ambos os experimentos a otimização dos parâmetros de análise se mostrou ser uma etapa imprescindível para obter uma melhor resposta e melhorar a precisão dos resultados. Bons resultados foram obtidos a partir do emprego de sistemas de baixo custo, com reatores mais ambientalmente corretos, permitindo a determinação de analitos com uma resposta rápida e de forma integrada a sistemas que permitiram análise dos dados de forma simplificada e de fácil operação. Assim, pode se dizer que os dispositivos empregados possibilitaram o desenvolvimento de métodos adequados para análises de rotina, além de atenderem de modo satisfatório aos princípios da química analítica verde.

REFERÊNCIAS

- ABOLGHASEMI, M. M.; SOBHI, M.; PIRYAEI, M. Preparation of a novel green optical pH sensor based on immobilization of red grape extract on bioorganic agarose membrane. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 224, p. 391–395, 2016.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. 2010.
- ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 02-08, 2015.
- ASTM, American Society for Testing and Materials. **ASTM D2180** – Standard Test Method for Active Oxygen in Bleaching Compounds, 2017.
- BAGAVATHIAPPAN, S. et al. Infrared thermography for condition monitoring - A review. **Infrared Physics and Technology**, v. 60, p. 35–55, 2013.
- BARIN, J. S. et al. Infrared Thermal Imaging: A Tool for Simple, Simultaneous and High Throughput Enthalpimetric Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 87, p. 12065-12070, 2015.
- BENDADA, A.; LAMONTAGNE, M. A new infrared pyrometer for polymer temperature measurement during extrusion moulding. **Infrared Physics & Technology**, v. 46, p. 11–15, 2004.
- CARR, P. W.; IZATT, R. M. analytical and measurement aspects of thermometric titrimetry. **Analytical Chemistry**, v. 2, p. 491-557, 1971.
- CARVALHO, J. M. et al., Effect of processing on physicochemical composition, bioactive compounds and enzymatic activity of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) tropical juice. **J Food Science and Technology**, v. 52, p. 1182-1187, 2015.
- CHARBONNEAU, V.; OGILVIE, W. W. High Throughput Screening Methods for Asymmetric Synthesis. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 2, p. 313–332, 2005.
- CHENG, C.-M. et al. Paper-Based ELISA. **Clinical Analytics**, v. 49, p. 4771–4774, 2010.
- CINTI, S. et al. A paper-based nanomodified electrochemical biosensor for ethanol detection in beers. **Analytica Chimica Acta**, v. 960, p. 123-130, 2017.
- COSTA, A. B. et al. Aplicação da Termografia por Infravermelho para Titulações Termométricas. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 2, p.196-201, 2015.
- COSTA, M.N. et al. A low cost, safe, disposable, rapid and self-sustainable paper-based platform for diagnostic testing: lab-on-paper. **Nanotechnology**, v. 25, 094006, 2014.
- EDER, C.; BECKER, T.; DELGADO, A. Four-channel sensor-array for the non-contact temperature measurement of liquids in hermetically closed systems. **Food Control**, v. 20, p. 1119–1126, 2009.

FERREIRA, D. **Análise rápida da acidez de bebidas em dispositivos de papel empregando entalpimetria no infravermelho**. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2016.

GADE, R.; MOESLUND, T. B.; Thermal cameras and applications: a survey. **Machine Vision and Applications**, v. 25, p. 245–262, 2014.

GALUSZKA, 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.

GIRWIDZ, R.; IRESON, G. The infrared thermometer in school science: teaching physics with modern technologies. **Physics Education**, v. 46, p. 64-72, 2011.

GOWEN, A. A. et al. Applications of thermal imaging in food quality and safety assessment. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 190-200, 2010.

GRIME, J. K. Enthalpimetry - a change of emphasis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 1, p. 22–28, 1981.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **IAL 016/IV – Determinação acidez**. 4.ed. São Paulo, 2005.

JORDAN, J. J.; GRIME, J. K.; WAUGH, D. H. Enthalpimetric Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 48, p. 427-439, 1976.

KIM, G. et al. Application of infrared lock-in thermography for the quantitative evaluation of bruises on pears. **Infrared Physics & Technology**, v. 63, p. 133–139, 2014.

KIRCHOFF, M. M. Promoting Green Engineering through Green Chemistry. **Environmental Science & Technology**, v. 37, p. 5349–5353, 2003.

KUS, A. et al. Thermocouple and Infrared Sensor-Based Measurement of Temperature Distribution in Metal Cutting. **Sensors**, v. 15, p. 1274-1291, 2015.

KURNIK, K. et al., Removal of Phenol from Synthetic and Industrial Wastewater by Potato Pulp Peroxidases. **Water Air Soil Pollut**, v. 226, p. 18-19, 2015.

LI, X.; BALLERINI, D. R.; SHEN, W. A perspective on paper-based microfluidics: Current status and future trends. **Biomicrofluidics**, v. 6, p. 011301, 2012.

LIN, J.; LEE, S. L.; WENG, C. I. Estimation of cutting temperature in high speed machining. **International Journal of Materials and Product Technology**, v. 114, p. 289–296, 1992.

LINDEN, H. W.; ROGERS, L. B.; HUME, D. N. Some applications of enthalpimetric detection in flow injection analysis. **Analytical Chemistry**, v. 25, p. 2131-2133, 1953.

LONČAR, N. et al. Decolorization of textile dyes and effluents using potato (*Solanum tuberosum*) phenoloxidase. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 72, p. 42-45, 2012.

LOS KYLL, J.; STOEWE, K.; MAIER, W. F. Infrared Thermography as a High-Throughput Tool in Catalysis Research. **ACS Combinatorial Science**, v. 14, p. 295-303, 2012.

MA, L.; The phenylpropanoid pathway affects apple fruit resistance to *Botrytis cinerea*. **Journal of phytopathology**, v.166, p. 206-215, 2018.

MARTINEZ, A.W. et al. Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices. **Analytical Chemistry**, v. 82, p. 3–10, 2010.

MEOLA, C.; CARLOMAGNO, G.M. Recent advances in the use of infrared thermography. **Measurement Science and Technology**, v. 15, p. R27–R58, 2004.

METROHM. Thermometric titration – the ideal complement to potentiometric titration. 2017. Disponível em: < file:///C:/Users/Usuario/Downloads/918545_88595004EN.pdf>. Acessado em: 15 de março de 2017.

MIZOBUTSI, G. P. et al. Effect of pH and temperature on peroxidase and polyphenoloxidase activities of litchi pericarp. **Scientia Agricola**, v.67, p.213-217, 2010.

NERY, E.W.; KUBOTA, L.T. Sensing approaches on paper-based devices: A review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, p. 7573–7595, 2013.

OLIVEIRA, A. S. et al. One-Shot, reagent-free determination of the alcoholic content of distilled beverages by thermal infrared enthalpimetry. **Talanta**, v. 171, 335–340, 2017.

OMEGA. Transactions in measurements and control. In: **Non-Contact Temperature Measurement**, vol.1, 2nd ed., 1998.

PAPALIODIS, D. et al. The flavonoid luteolin inhibits niacin-induced flush. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, p. 1382–1387, 2008.

PEKALA, K. et al. Monitoring of Spatiotemporal Patterns in the Oscillatory Chemical Reactions with the Infrared Camera: Experiments and Model Interpretation. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 114, p.7903–7911, 2010.

PERONE, A. P. S.; CAPOBIANCO, M. P.; JUNIOR, S. P. Kinetic characterization of enzyme *polyphenol oxidase*, utilizing crude of extract of pell of stunded banana (*Musa acuminata*). **J. Health Sci. Inst.** v. 26, n. 2, p.201-206, 2008

POLIAKOFF, M. et al. Green Chemistry: Science and Politics of Change. **Green Chemistry**, v. 297, p. 808-810, 2002.

ROGALSKI, A. Infrared detectors: an overview. **Infrared Physics & Technology**, v. 43, p. 187–210, 2002.

ROGALSKI, A. Progress in focal plane array technologies. **Progress in Quantum Electronics**, v. 36, p. 342–473, 2012.

ROGALSKI, A. Recent progress in infrared detector technologies. **Infrared Physics & Technology**, v. 54, p. 136–154, 2011.

ROMANO, M. et al. Quantitative kinetics and enthalpy measurements of biphasic underflow chemical reactions using infrared thermography. **Experimental Thermal and Fluid Science**, v. 67, p. 14–17, 2015.

SALES, R. B. C. et al. Concrete Study Using Infrared Thermography and Forced Resonant Frequency. **Advanced Materials Research**, v. 168, p. 778-786, 2011.

STAHL, J. W. Nomenclature of thermometric and enthalpimetric methods in chemical analysis. **Pure and Applied Chemistry**. v. 66, p. 2487-2492, 1994.

ŠVANTNER, M.; VACÍKOVÁ, P.; HONNER, M. Non-contact charge temperature measurement on industrial continuous furnaces and steel charge emissivity analysis. **Infrared Physics & Technology**, v. 61, p. 20–26, 2013.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. Labwarechemical resistance table. 2017. Disponível em: <<http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/D20480.pdf>>. Acessado em 18 de maio de 2017.

TISCHER, B. et al. Rapid and simultaneous determination of acidity and salt content of pickled vegetable brine by using thermal infrared enthalpimetry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 34–37, 2017b.

TISCHER, B. et al., Rapid microplate green method for high-throughput acidity evaluation of vinegars using thermal infrared enthalpimetry. **Food Chemistry**, v. 215, p. 17-21, 2017a.

TOBISZEWSKI, M. et al. Green Chemistry Metrics with Special Reference to Green Analytical Chemistry. **Molecules**, V. 20, p. 10928-10946, 2015.

TOBISZEWSKI, M. Metrics for green analytical chemistry. **Analytical Methods**, v. 8, p. 2993-2999, 2016.

TRAFFANO-SCHIFFO, M. V. et al. Thermodynamic model of meat drying by infrared thermography. **Journal of Food Engineering**, v. 128, p. 103–110, 2014.

USAMENTIAGA, R. et al. F. Infrared Thermography for Temperature Measurement and Non-Destructive Testing. **Sensors**, v. 14, p. 12305–12348, 2014.

USP, **The United States Pharmacopeia**. Pharmacopoeia Forum 40, p. 4525, 2017.

VADIVAMBAL, R.; JAYAS, D. S. Applications of Thermal Imaging in Agriculture and Food Industry—A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 186–199, 2011.

WASILEWSKI, J. C.; PEI, P. T-S.; JORDAN, J. Direct Enthalpimetry. A New Thermochemical Approach to Quantitative Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 36, p. 2131–2133, 1964.