



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA-UFU

INSTITUTO DE QUÍMICA

LABORATÓRIO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL

ARTHUR LINS DE OMENA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PORTÁTIL DE
DETERMINAÇÃO DE FOSFATO UTILIZANDO ANÁLISE POR
INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO COLORIMÉTRICA**

Uberlândia – MG

Maio 2025

ARTHUR LINS DE OMENA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PORTÁTIL DE
DETERMINAÇÃO DE FOSFATO UTILIZANDO ANÁLISE POR
INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO COLORIMÉTRICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Química Industrial.

Área de concentração: Química Analítica

Orientação: Prof. Dr. Eduardo Mathias
Richter

Uberlândia – MG

Maio 2025

ARTHUR LINS DE OMENA

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PORTÁTIL DE
DETERMINAÇÃO DE FOSFATO UTILIZANDO ANÁLISE POR
INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO COLORIMÉTRICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Química da Universidade
Federal de Uberlândia como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Química Industrial.

Área de concentração: Química Analítica

Orientação: Prof. Dr. Eduardo Mathias
Richter

Uberlândia, Minas Gerais, 03 de maio de 2025.

Prof. Dr. Eduardo M. Richter

(Orientador)

Prof. Dr. Rodrigo Amorim B. da Silva

(Examinador)

Doutorando Caio Cesar S. Machado

(Examinador)



ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Química Industrial				
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso - GQB056				
Data:	07/05/2025	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	11:10
Matrícula do Discente:	12111QID012				
Nome do Discente:	Arthur Lins de Omena				
Título do Trabalho:	DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO PORTÁTIL DE DETERMINAÇÃO DE FOSFATO UTILIZANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA COM DETECÇÃO COLORIMÉTRICA				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?		(x) Sim () Não			

Reuniu-se no auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernandez Terrones da Pós-graduação em Química do IQUFU no Campus Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Coordenador do Curso de Graduação em Química Industrial, assim composta: Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter - **Orientador**; Doutorando Caio Cesar Souza Machado - Titular; Prof. Dr. Rodrigo Amorim Bezerra da Silva - Titular e Prof. Dr. João Flávio Petrucci - Suplente.

Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa, Dr. Eduardo Mathias Richter, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

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

(X) Aprovado(a) Nota: _100_ pontos
() Reprovado(a)

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Mathias Richter, Professor(a) do Magistério Superior**, em 07/05/2025, às 17:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Amorim Bezerra da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 07/05/2025, às 17:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Caio Cesar Souza Machado, Usuário Externo**, em 08/05/2025, às 10:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6263394** e o código CRC **0201A9DF**.

Referência: Processo nº 23117.024731/2025-03

SEI nº 6263394

Dedico este trabalho à minha mãe, pelo amor incondicional e incentivo aos estudos

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a minha mãe, Angélica, quem me deu a oportunidade e me incentivou a estudar. Obrigado por me dar liberdade e apoiar nos meus sonhos, independentemente de quais sejam.

Agradeço ao Paulo, por estar presente em todos os momentos desde pequeno, seja com danças para me fazer aprender matemática, um bom cuscuz recheado ou gargalhadas contagiantes. Você é muito importante para mim.

Agradeço a todos os professores e técnicos que passaram pela minha formação, todos foram essenciais para esse momento. Agradeço a banca examinadora por aceitarem o convite e participarem diretamente da minha formação.

Gostaria de agradecer especialmente ao meu orientador Eduardo Richter, que me incentivou neste projeto e procurou desenvolver o melhor de mim, tanto durante os experimentos quanto durante a exibição dos resultados, me fazendo amadurecer no quesito da pesquisa e da escrita, além de me incentivar à participação em congressos, experiências únicas para mim.

Agradeço ao meu coorientador Sidnei Gonçalves, por me acolher no laboratório e me dar a oportunidade de desenvolver minha pesquisa, além de me esclarecer dúvidas quando mais precisei, mesmo que na hora do café.

Agradeço muito a todos os colegas do Smart: Augusto, Diogo, Caio, Sarah, Felipe, Giovanna, Cecília e Yugo. Vocês são uma grande motivação durante a pesquisa e tornam os dias no laboratório melhores. Agradeço especialmente ao Diogo, meu parceiro de laboratório que me ajudou desde o início, desde preparo de soluções, tratamento de resultados, formas de pensar durante o trabalho até com fotos e vídeos presentes neste trabalho. Você é um exemplo de pesquisador para mim. Agradeço especialmente ao

Augusto, meu melhor amigo, que tive a oportunidade de fazer durante a realização deste trabalho. Sua companhia durante muitos dias do trabalho foi essencial durante o processo, obrigado por ser exatamente quem você é. Espero aproveitar ao máximo o tempo enquanto colegas dentro e fora do laboratório.

Um agradecimento aos órgãos de fomento FAPEMIG, CAPES e CNPq pelo apoio financeiro para o desenvolvimento da minha pesquisa durante a graduação.

Gostaria de agradecer a todos que passaram pela minha vida e que fizeram parte de quem sou hoje.

Às minhas gatas, Nininha e Astrid.

“Aquele que começa tem metade do feito alcançado: sapere aude!” - Horácio

RESUMO

A Análise por Injeção em Batelada (BIA) é uma plataforma analítica com características portáteis e com grande potencial para se tornar uma ferramenta analítica de rotina para a determinação de diferentes compostos, especialmente em laboratórios onde equipamentos sofisticados não estão disponíveis. No entanto, na maioria dos artigos publicados onde o sistema BIA foi utilizado, a detecção eletroquímica foi preferencialmente explorada. Nesse sentido, esse trabalho propõe o desenvolvimento de um sistema BIA com detecção colorimétrica (reflectância) para a determinação de fosfato em amostras de água. Assim, foi desenvolvida uma célula BIA por impressão 3D, com espaço para encaixe de tubos de uma minibomba peristáltica, responsável pela aspiração e renovação da solução. Além disso, foram otimizados parâmetros instrumentais como velocidade e volume de injeção, além da distância vertical e horizontal do ponto de injeção ao sensor colorimétrico. Com os parâmetros instrumentais otimizados, o método proposto demonstrou performance comparável com um espectrofotômetro comercial, apresentando resultados com 95% de confiança. O método produziu um coeficiente de determinação de 0,999 com uma faixa linear entre 0,1 e 1,5 mg L⁻¹ de fosfato. Foi obtida uma frequência analítica de 110 injeções h⁻¹, com um limite de detecção de 0,03 mg L⁻¹ de fosfato e valores de recuperação entre 97 % e 102%.

Palavras chave: Impressão 3D, análises *in situ*, reflectância, análise em fluxo.

ABSTRACT

Batch Injection Analysis (BIA) is an analytical platform with portable characteristics and great potential to become a routine analytical tool for the determination of different compounds, especially in laboratories where sophisticated equipment is not available. However, in most published articles where the BIA system was used, electrochemical detection was preferentially explored. In this sense, this work proposes the creation of a BIA system with colorimetric detection (reflectance) for phosphate determination in water samples. Therefore, a BIA cell was developed by 3D printing, with space for fitting tubes of a peristaltic pump, responsible for aspiration and renewal of the solution. In addition, instrumental parameters such as injection speed and volume, as well as the vertical and horizontal distance from the injection point to the colorimetric sensor, were optimized. With the optimized instrumental parameters, the proposed method demonstrated performance comparable to that of a commercial spectrophotometer, presenting results with 95% confidence. The method produced a coefficient of determination of 0.999 with a linear range between 0.1 and 1.5 mg L⁻¹ of phosphate. An analytical frequency of 110 injections h⁻¹ was obtained, with a detection limit of 0.03 mg L⁻¹ of phosphate and recovery values between 97% and 102%.

Key words: 3D- printing, *in situ* analysis, reflectance, flow analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografia do sistema BIA completo e compacto com detecção colorimétrica proposto neste estudo. (A) Pipeta eletrônica (Eppendorf Multipette® E3); (B) Célula BIA com sensor colorimétrico acoplado; (C) Microcontrolador Arduino Uno; (D) Minibomba peristáltica de 12 V; (E) Fonte de 12V Lacerda UPS-30; (F) Botão para desligamento e acionamento da bomba peristáltica; (G) Suporte para o sistema de análise; (H) Notebook.....	26
Figura 2. Sensor colorimétrico AS7341 utilizado como detector para medições colorimétricas, ao lado dos comprimentos de onda (canais) disponibilizados.....	27
Figura 3. (A) Corte transversal de uma célula BIA impressa em 3D, evidenciando a janela de vidro, o ponto de injeção e o canal interno; (B) Vista superior da célula BIA com o canal interno posicionado no interior da célula.....	28
Figura 4. Imagem lateral da célula BIA, com o canal interno posicionado e a janela de vidro contendo o espaço destinado ao acoplamento do sensor colorimétrico AS7341.....	28
Figura 5. Biagrama obtido com a célula BIA com detecção colorimétrica (AS7341 posicionado na parte inferior da célula – janela de vidro) para injeções em triplicata de soluções contendo concentrações crescentes de AM (0,7 – 38,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Volume de injeção: 150 μL ; Velocidade de injeção: 33 $\mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm.....	29
Figura 6. Avaliação da velocidade de aspiração da minibomba peristáltica em função do potencial aplicado.....	31
Figura 7. (A) Biagrama obtido utilizando a minibomba peristáltica com a aplicação de 8,4 V (150 $\mu\text{L s}^{-1}$); (B) Biagrama obtido utilizando a minibomba peristáltica com a	

aplicação de 12,0 V ($200 \mu\text{L s}^{-1}$). Volume de injeção: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm.....31

Figura 8. Comparação dos biagramas obtidos utilizando a minibomba peristáltica com aspiração contínua (**A**) e aspiração alternada (**B**). Volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm.....32

Figura 9. Anéis de diferentes espessuras utilizados para testar o efeito da distância (1,3 mm – 7,5 mm) do ponto de injeção até o sensor colorimétrico na sensibilidade da reflectância medida na célula BIA.....34

Figura 10. Representação de como foi realizado o estudo de otimização da distância vertical do ponto de injeção em relação ao sensor para o anel de menor espessura (**A**: 1,3mm) e o anel de maior espessura (**B**: 7,5mm).....34

Figura 11. Peças de diferentes larguras (8 mm, 10 mm e 19 mm) utilizadas para otimizar a distância horizontal (caminho ótico) do ponto de injeção ao sensor colorimétrico.....36

Figura 12. Resultados obtidos na otimização da largura do canal em frente ao sensor colorimétrico, com valores de reflectância obtidos pela média de injeções em triplicata de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AM. Volume de injeção: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm.....37

Figura 13. Otimização da velocidade de injeção: valores de reflectância obtidos pela média de injeções em triplicata de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AM, em diferentes velocidades de injeção da pipeta eletrônica ($17 \mu\text{L s}^{-1}$ – $333 \mu\text{L s}^{-1}$). Volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; λ de detecção: 630 nm.....37

Figura 14. Otimização do volume de injeção: valores de reflectância obtidos pela média de injeções em triplicata de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AM, com volumes de injeção variando entre $50\mu\text{L}$ e $200\mu\text{L}$. Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm	39
Figura 15. Biagrama obtido pela injeção sequencial de concentrações crescentes de AM ($0,3\mu\text{mol L}^{-1} - 10\mu\text{mol L}^{-1}$) com distância vertical de injeção de $7,5\text{mm}$, velocidade de injeção de $33\mu\text{L s}^{-1}$ e volume de injeção $100\mu\text{L}$	39
Figura 16. Curva de calibração obtida a partir de dados obtidos do biagrama da Figura 15	41
Figura 17. Biagrama obtido pela injeção sequencial de concentrações crescentes de fosfato ($0,15 \text{ mg L}^{-1} - 2,5 \text{ mg L}^{-1}$). Volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm	42
Figura 18. Curva de calibração obtida a partir de dados obtidos do biagrama da Figura 17	42
Figura 19. Sistema de análise utilizando duas minibombas peristálticas e um béquer externo para renovação da solução no interior da célula BIA. (A) Béquer com água ultrapura; (B) Bomba peristáltica para aspiração da solução para fora da célula BIA; (C) Célula BIA; (D) Microcontrolador Arduino Uno; (E) Bomba peristáltica para renovação da solução para dentro da célula BIA; (F) Botão para acionamento e desligamento da aspiração; (G) Suporte para o sistema de análise.....	43
Figura 20. Visão superior do sistema de análise utilizando um béquer externo para renovação da solução. Nos tubos ocorre (A) aspiração da solução que absorveu a coloração, (B) aspiração de nova solução de água ultrapura pela segunda bomba peristáltica, (C) renovação da solução pela segunda bomba de volta para a célula BIA...	44

Figura 21. (A) Ponteiras pintadas com esmalte preto e branco para investigação da influência da solução na ponteira antes da injeção. (B) Fotografia da célula BIA para evidenciar a influência da cor da ponteira em frente ao sensor.....	45
Figura 22. Biagrama obtido pela injeção sequencial de concentrações crescentes de fosfato ($0,15\text{mg L}^{-1} - 1,5\text{mg L}^{-1}$). Volume de injeção: $100\text{ }\mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33\text{ }\mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm	45
Figura 23. Curva de calibração obtida a partir de dados do biagrama da Figura 22	46
Figura 24. Biagrama obtido pela injeção sequencial de soluções de fosfato em concentrações crescentes e decrescentes, para avaliar o efeito de memória do sistema....	47
Figura 25. Comparação entre as curvas de calibração obtidas a partir do biagrama da Figura 24 . Em cinza são apresentados os valores de reflectância correspondentes à curva de calibração gerada pela injeção de concentrações crescentes de fosfato; em vermelho os valores de reflectância obtidos pela injeção de concentrações decrescentes de fosfato.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação dos parâmetros analíticos obtidos utilizando aspiração contínua e alternada da bomba peristáltica.....	33
Tabela 2. Comparação de parâmetros analíticos entre as distâncias utilizadas para otimização da distância vertical de injeção.....	35
Tabela 3. Comparação dos parâmetros analíticos da célula BIA com detecção colorimétrica e um espectrofotômetro comercial para determinação de fosfato.....	46
Tabela 4. Testes de adição e recuperação para amostras de água. A) água de lago, B) água de rio, C) água potável.....	49
Tabela 5. Concentrações de fosfato (mg L^{-1}) determinadas pelo método proposto e pelo espectrofotômetro em amostras de água a partir de curvas de calibração realizadas no mesmo dia. A) água de lago, B) água de rio, C) água potável.....	49

LISTA DE ABREVIACÕES

ABS - Acrilonitrila butadieno estireno (do inglês, *Acrylonitrile Butadiene Styrene*)

AM – Azul de metileno

Ard-IDE - Espaço de Desenvolvimento Integrado Arduino (do inglês, *Arduino Integrated Development Environment*)

BIA – Análise por injeção em batelada (do inglês, *Batch Injection Analysis*)

FDM – Modelagem por deposição fundida (do inglês, *Fused Deposition Modeling*)

FIA – Análise por injeção em fluxo (do inglês, *Flow Injection Analysis*)

LED – Diodo emissor de luz (do inglês, *Light Emitting Diode*)

LOD – Limite de detecção (do inglês, *Limit of detection*)

LOQ – Limite de quantificação (do inglês, *Limit of quantification*)

PCR – Reatores de cadeia de polimerase (do inglês, *Polimerase Chain Reactors*)

PLA – Ácido polilático (do inglês, *Polilactic acid*)

POCT – Testes no ponto de atendimento (do inglês, *Point of care tests*)

SM – Método padrão para análise de água e efluentes (do inglês, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*)

λ – Comprimento de onda

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 Detecção colorimétrica	18
1.2 Impressão 3D	21
1.3 Análise por Injeção em Batelada (BIA)	22
2. OBJETIVOS	24
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	24
3.1. Soluções e reagentes	24
3.2. Instrumentação.....	26
3.3. Construção da célula BIA com detecção colorimétrica.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Estudos de otimização da célula BIA com o corante azul de metileno	29
4.2. Estudos de otimização para quantificação de fosfato	41
5. CONCLUSÕES	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1. INTRODUÇÃO

1.1 Detecção colorimétrica

A espectrofotometria é uma técnica amplamente utilizada em análises quantitativas para diversas aplicações, incluindo o monitoramento ambiental, análise de alimentos, água e biomoléculas em amostras clínicas. No entanto, o espectrofotômetro comercial apresenta limitações, como custo relativamente elevado, grande volume e a necessidade de fornecimento contínuo de energia, o que limita seu uso em análises fora de ambientes de laboratório (POH, et al., 2021).

A fim de viabilizar o uso direto no local da análise, pesquisadores têm proposto a adoção de espectrofotômetros portáteis e fotômetros com tecnologia LED (do inglês, “*Light emitting diode*”) (DANCHANA; CERDÀ, 2020). Tais dispositivos destacam-se por sua fácil montagem, baixo custo e versatilidade, podendo ser empregados na análise de diversos parâmetros químicos e apresentando resultados promissores (LIMA, 2012). Essa diferença possibilitou algumas vantagens, como diagnósticos médicos no próprio local, conhecidos como POCT (do inglês, “*Point of care tests*”) (GAO et al., 2019), monitoramento ambiental (ZÁRATE; OLMOS; REIS, 2011), análises químicas de proteínas, ácidos nucleicos (POH, et al., 2021) e íons Fe^{2+} (DANCHANA, et al., 2021). Assim, esses dispositivos têm sido amplamente desenvolvidos e se tornaram uma tendência consolidada na química analítica.

Fotodiodos de tamanho reduzido atuam como detectores assim como espectrofotômetros estacionários tradicionais. No entanto, possibilitam a vantagem de serem utilizados fora do laboratório para análises no local, além de serem dispositivos de baixo custo, com alta sensibilidade e rápida detecção. A simplificação das etapas de preparo de amostras e reagentes, aliada a ausência da necessidade de transporte de

amostras até um centro de análise retira dificuldades enfrentadas por demais métodos que não podem ser utilizados fora do laboratório. Visto isso, todo o processo de coleta e quantificação do analito de interesse pode ser possível no próprio local de análise.

A detecção colorimétrica é uma técnica versátil, amplamente utilizada para essas aplicações. Seu princípio baseia-se na variação da absorbância de luz em função da concentração de um determinado composto em solução, sendo esta absorbância proporcional a concentração do analito, conforme descrito pela Lei de Lambert-Beer (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Essa característica torna a técnica adequada tanto para análises qualitativas quanto quantitativas. Além disso, trata-se de um método de baixo custo, de fácil utilização e que fornece resultados de maneira rápida, sem exigir instrumentação complexa.

A detecção colorimétrica também pode ser realizada a partir da mistura de reagentes que originam um reagente combinado, o qual promove maior detectabilidade do analito a partir da mistura de ambos para formação de um composto colorido. Um exemplo clássico é a formação do azul de molibdênio, utilizado na determinação de fosfato (RILEY e MURPHY, 1962). Portanto, quando associada a fotodiodos de dimensões reduzidas, a detecção colorimétrica torna-se altamente eficiente para a detecção de diversos analitos, uma vez que os fotômetros utilizados permitem medições em diferentes comprimentos de onda, caracterizando-se como dispositivos versáteis.

A quantificação de solutos em amostras pode ser realizada com base na lei de Lambert-Beer, desde que dentro da faixa linear da curva analítica. Na espectrofotometria, quando uma fonte de luz de intensidade inicial I_0 incide sobre uma solução que absorve radiação, a intensidade da luz transmitida é reduzida para I . A transmitância (T) descreve a capacidade de um material de permitir a passagem da luz, sem absorção significativa, a qual é dada pela **equação (1)**:

$$T = \frac{I}{I_0}, \quad (1)$$

Por outro lado, a absorbância representa a capacidade de um material de absorver radiação luminosa e possui relação logarítmica inversa com a transmitância, mostrada pela **equação (2)**:

$$A = -\log T, \quad (2)$$

A combinação das equações 1 e 2 fornecem uma equação linear (**equação 3**), conhecida como equação de Lambert-Beer:

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon cl, \quad (3)$$

Onde I_0 e I representam a intensidade da luz incidente e transmitida, respectivamente; ε é a absortividade molar da espécie; c , sua concentração molar (mol L^{-1}); e l , o caminho óptico da célula, o qual é tipicamente de 1 cm (POH, et al., 2021).

Sensores colorimétricos podem ser utilizados para medições de diferentes fenômenos envolvendo a luz, como absorbância, transmitância, reflectância ou fluorescência. O sinal analítico observado é baseado na quantidade de luz detectada pelo sensor. Desse modo, o sinal analítico é diretamente proporcional à quantidade de luz disponível. O arranjo entre o emissor de luz e o detector, assim como obstáculos entre o feixe luminoso e o detector influenciam diretamente qual dos fenômenos será mais pronunciado.

Neste trabalho, o sensor colorimétrico AS7341 utilizado integra o LED e o fotodiodo em um único dispositivo. Ademais, é utilizado uma célula fabricada por impressão 3D, a qual contém água ultrapura no seu interior. Essa configuração intensifica o fenômeno da reflectância, à medida que a luz é detectada após ser refletida pelo interior da célula de análise. Desse modo, foi utilizado um filamento branco para promover maior reflexão da luz incidente. Além disso, parte do feixe luminoso é difundido pela solução e refletido em

múltiplas direções. Portanto, a detecção do sensor utilizado é fundamentada no fenômeno da reflectância difusa, na qual parte da radiação incidente é absorvida pela solução e outra parte é refletida em múltiplas direções pelo material. Entretanto, visando a normalização dos resultados em curvas de calibração, como habitualmente descrito na literatura, utilizou-se o cálculo de absorbância conforme definido pela **equação (3)**.

1.2 Impressão 3D

Novas tecnologias, com destaque para impressão 3D, têm exercido um impacto significativo em diversos campos da ciência e tecnologia, incluindo a química. Tema de grande relevância em diversas áreas como na indústria farmacêutica, bioquímica, educação, sínteses orgânicas e química analítica (NESTERENKO, 2020), a impressão 3D é cada vez mais utilizada para facilitar trabalhos de pesquisa e melhorar a qualidade de vida das pessoas. Esse conjunto de tecnologias, também conhecida como manufatura aditiva, é baseada na produção de estruturas físicas tridimensionais a partir de arquivos digitais, pela deposição em camadas de materiais como filamentos poliméricos, metais ou cerâmicas (JADHAV, A; JADHAV, V, 2022). Seu uso está associado com a possibilidade de produção de dispositivos com geometrias complexas de forma simples, precisa e reprodutível.

Existem inúmeras técnicas de manufatura aditiva, sendo a mais acessível delas a modelagem por deposição fundida (FDM, do inglês, *Fused Deposition Modeling*). Essa técnica baseia-se na utilização de um filamento termoplástico, geralmente, ácido polilático (PLA), um polímero biodegradável, ou o acrilonitrila butadieno estireno (ABS) (RICHTER et al., 2019). Quando aquecido à temperatura apropriada, o filamento funde-se e é depositado camada por camada sobre o substrato, até a formação do objeto tridimensional. A impressão 3D se tornou parte fundamental em diversos estudos, sendo

responsável pela aplicação crescente de sistemas portáteis de análise que possibilitem rápida tomada de decisão em análises clínicas ou ambientais (VILA et al., 2016). Estruturas integradas, contendo todo o sistema de detecção em um pequeno compartimento obtido por impressão 3D, viabilizam análises *in situ*, aliadas a um baixo consumo de reagentes. Sendo assim, a impressão 3D é uma tecnologia que contribuiu para o desenvolvimento de instrumentos portáteis de análise (NESTERENKO, 2020).

A química analítica representa 51% dos trabalhos com aplicação da tecnologia de impressão 3D em publicações científicas. Esse número pode chegar a 80% quando se consideram áreas correlatas, como bioensaios, reatores de amplificação por cadeia de polimerase (PCR) e triagem de medicamentos na química farmacêutica, que também se enquadram no escopo da química analítica (NESTERENKO, 2020). Visto isso, o uso das facilidades da tecnologia de impressão 3D é essencial no desenvolvimento de instrumentos analíticos para análise *in situ*, possibilitando a criação de suportes capazes de compactar todo o método de análise em um único dispositivo.

1.3 Análise por Injeção em Batelada (BIA)

Análise por injeção em batelada (BIA, do inglês “*Batch Injection Analysis*”) é um sistema portátil de análise reportado pela primeira vez na literatura em 1991 (WANG e TAHA, 1991). Os resultados obtidos com sistemas BIA são conceitualmente semelhantes aos da análise por injeção em fluxo (FIA), porém, geralmente uma micropipeta eletrônica alimentada por bateria é utilizada para controlar com precisão a velocidade e o volume de injeção. A BIA foi proposta para superar algumas desvantagens da FIA, como o consumo contínuo de reagentes, a necessidade de reconfiguração física do sistema para diferentes metodologias, a falta de portabilidade e a formação acidental de bolhas em tubulações que podem causar flutuações no sinal analítico, interferências na detecção,

descontinuidade no fluxo do reagente ou amostra e comprometimento da reprodutibilidade do sistema FIA (MESQUITA e RANGEL, 2009). Desde seu primeiro relato na literatura associado à detecção eletroquímica (WANG e TAHA, 1991), os sistemas BIA, integrados a sensores eletroquímicos, tornaram-se a abordagem de BIA mais utilizada, nos quais pode-se relatar a determinação de metais (TORMIN et al., 2015), antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2016), pesticidas (SANTOS; INFANTE; MASINI, 2010) e ingredientes ativos de fármacos (ROCHA et al., 2018).

Comparado a dispositivos portáteis para detecções amperométricas *in situ* (CRUZ et al., 2014), os fotodiodos de tamanho reduzido possuem vantagens na medida em que possibilitam a quantificação de forma não invasiva, sem o contato direto com a amostra e sem perder a integridade da análise. Ademais, os sensores ópticos são menos suscetíveis à contaminação e aos processos de passivação, fatores que representam grandes limitações para os sensores eletroquímicos sólidos (VILA et al., 2016).

Até onde sabemos, a detecção espectrofotométrica em sistemas BIA foi demonstrada apenas uma vez (WANG e ANGNES, 1993). Neste modelo, as medidas foram realizadas em um espectrofotômetro modificado, no qual o compartimento de amostra foi transformado em um grande reservatório contendo a solução do branco. O grande fator de diluição associado ao arranjo de feixe duplo utilizado possibilitou uma alta frequência analítica sem efeito de memória observável. Em contrapartida, tal sistema possuía limitações quanto a portabilidade, sendo necessário seu uso dentro do laboratório. Nesse contexto, considerando as vantagens dos dispositivos portáteis de análise, sistemas alternativos aos métodos tradicionais têm surgido como uma estratégia promissora para a associação de técnicas analíticas abordadas na literatura, visando quantificações com exatidão e precisão.

2. OBJETIVOS

Neste trabalho, propõe-se o desenvolvimento de um método portátil de análise, de fácil utilização e adequado para análises *in situ*. Para isso, estudos foram realizados visando a combinação de um sensor óptico e um dispositivo de processamento e registro de sinal, além de suportes fabricados por impressão 3D. O objetivo é propor uma alternativa aos métodos analíticos convencionais por meio de um sistema BIA acoplado a detecção espectrofotométrica, demonstrado para a quantificação de fosfato em amostras de água.

Para atingir os objetivos propostos, diversos parâmetros analíticos, como velocidade e volume de injeção, distância entre o ponto de injeção e o sensor óptico (tanto verticalmente quanto horizontalmente), modo de operação da bomba peristáltica e estrutura da célula BIA foram otimizados, com o objetivo de alcançar parâmetros analíticos comparáveis aos de um espectrofotômetro comercial.

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Soluções e reagentes

Todos os reagentes utilizados neste estudo são de pureza analítica e foram preparados por diluição em água ultrapura de resistividade $\geq 18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ (sistema Milli-Q Direct-Q3, Millipore, MA, EUA). Foram utilizados como reagentes ácido sulfúrico (95%, Dinâmica Química, Uberlândia), molibdato de amônio (98%, VETEC QUÍMICA, Rio de Janeiro), tartarato de antimônio e potássio (99%, Lafan, Várzea Paulista, SP) e ácido ascórbico (99%, Êxodo Científica, Sumaré, SP). Soluções estoque de ácido sulfúrico, Molibdato de amônio, tartarato de antimônio e potássio e ácido ascórbico foram preparadas diluindo-se as quantidades apropriadas dos reagentes em água ultrapura. A

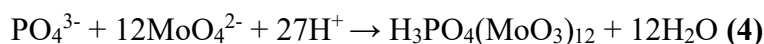
solução estoque de azul de metileno ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi preparada ao solubilizar a quantidade requerida do padrão em água ultrapura. Soluções padrão de azul de metileno foram preparadas por meio da diluição da solução estoque em água ultrapura a fim de realizar testes iniciais de reprodutibilidade.

A determinação de fosfato foi realizada conforme o procedimento descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (SM), 4500-P E., publicado pela APHA. A solução estoque de ácido sulfúrico foi preparada dissolvendo 70 mL de ácido sulfúrico concentrado em 500 mL de água ultrapura. Em um béquer foram dissolvidos 0,2743 g de tartarato de antimônio e potássio em 100 mL de água e transferidos para um balão volumétrico. A solução de molibdato de amônio foi preparada dissolvendo 4,0 g do reagente em 100 mL de água. A solução estoque de ácido ascórbico foi preparada dissolvendo 1,76 g de ácido ascórbico em 100 mL de água ultrapura. A solução estoque de fosfato foi preparada dissolvendo 0,10975 g de KH_2PO_4 em 500 mL de água ultrapura.

As três amostras de água analisadas no presente trabalho foram coletadas no Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, no rio Uberabinha e no parque do Sabiá. Considerando que a exatidão do método pode ser verificada por meio de estudos de adição e recuperação, a determinação de fosfato nas amostras de água foi realizada antes e após adição de concentrações conhecidas de fosfato nas amostras analisadas. A quantidade de fosfato foi determinada pelo método de calibração externa, por meio da equação linear obtida a partir da curva analítica.

No método de detecção colorimétrica de fosfato, o fosfato reage com o molibdato de amônio em meio ácido, numa reação catalisada pelo tartarato de antimônio e potássio, na qual é formado o fosfomolibdato de amônio, um complexo amarelo (**equação [4]**). O

ácido ascórbico atua como um agente redutor, reduzindo o Mo(VI) para Mo(V), formando o azul de molibdênio (**equação [5]**) (NAGUL et al., 2015).



3.2. Instrumentação

A **Figura 1** mostra uma imagem do sistema completo de análise produzido via impressão 3D proposto neste estudo.

Figura 1. Fotografia do sistema BIA completo e compacto com detecção colorimétrica proposto neste estudo. **(A)** Pipeta eletrônica (Eppendorf Multipette® E3); **(B)** Célula BIA com sensor colorimétrico acoplado; **(C)** Microcontrolador Arduino Uno; **(D)** Minibomba peristáltica de 12 V; **(E)** Fonte de 12V Lacerda UPS-30; **(F)** Botão para desligamento e acionamento da bomba peristáltica; **(G)** Suporte para o sistema de análise; **(H)** Notebook.

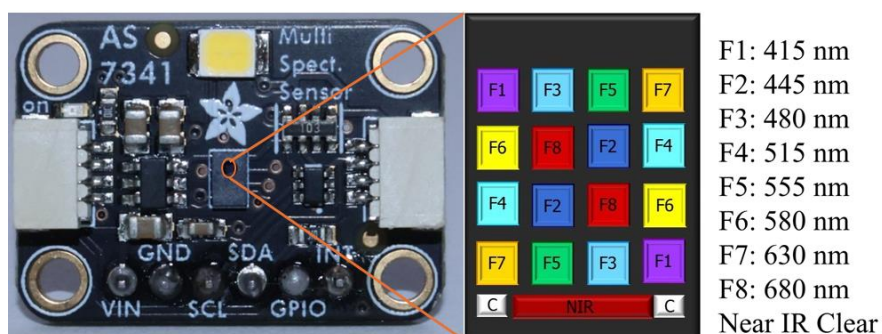


O sensor colorimétrico (**Figura 2**) usado nos estudos possui 8 canais para medições dos comprimentos de onda de 415 nm a 680 nm, além dos canais infravermelho próximo e Clear, canal utilizado para detecção de luz branca. Dois fotodiodos são

utilizados para medição do mesmo comprimento de onda em posições opostas, de modo a compensar possíveis desvios da luz. A média dos valores detectados por ambos os fotodiodos permite corrigir essas variações, resultando em uma estimativa mais precisa da intensidade luminosa detectada.

Para detecção do corante modelo azul de metileno (AM) ($\lambda_{\text{ABSMáx}} = 665\text{nm}$) e do azul de molibdênio ($\lambda_{\text{ABSMáx}} = 880\text{nm}$), foi utilizado o canal de detecção em 630nm. Essa escolha se baseou na ausência de diferenças significativas de sensibilidade e linearidade em relação ao canal de 680 nm, além da obtenção de resultados satisfatórios com o canal de 630 nm.

Figura 2. Sensor colorimétrico AS7341 utilizado como detector para medições colorimétricas, ao lado dos comprimentos de onda (canais) disponibilizados.



O programa Arduino Integrated Development Environment (Ard-IDE) foi utilizado para desenvolver e compilar o firmware, exibir os valores brutos recebidos e realizar a devida organização sistemática de cada sinal fornecido. Os dados experimentais foram tratados utilizando o software Origin Pro 2018. As análises usando os métodos espectrofotométricos de referência (FEMTO 600S) foram realizadas utilizando os equipamentos do laboratório de análise instrumental do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (Smart – IQUFU), sendo utilizado o comprimento

de onda 630nm para medição do AM, assim como no sensor colorimétrico, e 880 nm para medição do azul de molibdênio, comprimento de onda estabelecido pelo SM.

3.3. Construção da célula BIA com detecção colorimétrica

A estrutura da célula BIA foi modelada utilizando o software Autodesk Inventor (**Figura 3**), sendo posteriormente exportada e produzida por impressão 3D. Nesse processo, utilizou-se a FDM, empregando o filamento ABS e impressora modelo GTMax3D Core A2v2. A **Figura 4** mostra a célula BIA impressa com capacidade interna por volta de 100 mL.

Figura 3. (A) Corte transversal de uma célula BIA impressa em 3D, evidenciando a janela de vidro, o ponto de injeção e o canal interno; (B) Vista superior da célula BIA com o canal interno posicionado no interior da célula.

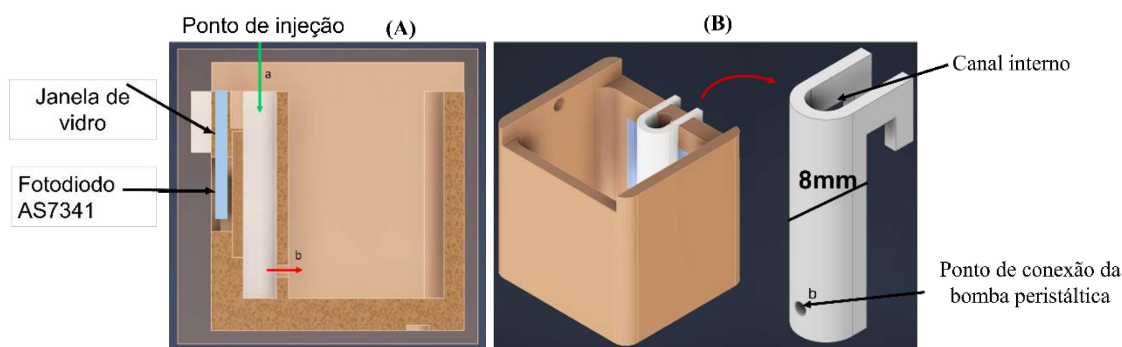
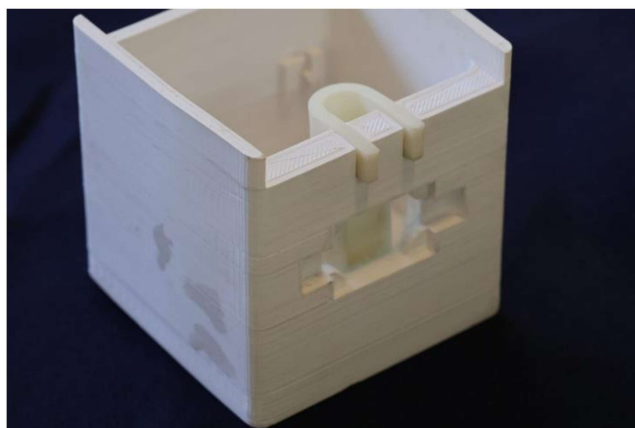


Figura 4. Imagem lateral da célula BIA, com o canal interno posicionado e a janela de vidro contendo o espaço destinado ao acoplamento do sensor colorimétrico AS7341.



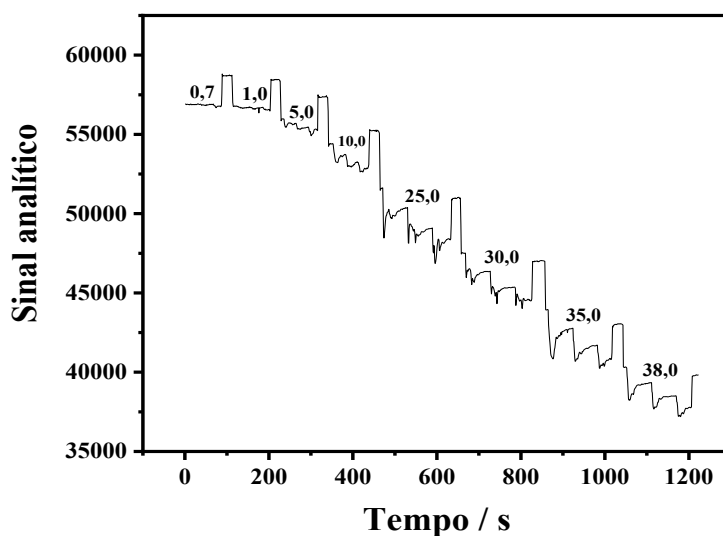
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudos de otimização da célula BIA com o corante azul de metileno

Na versão inicial da célula BIA, impressa em 3D e projetada para detecção colorimétrica, o sensor colorimétrico AS7341 foi posicionado na parte inferior da célula. A célula foi fabricada com um filamento ABS branco a fim de promover maior reflexão da luz incidente. Essa estrutura foi adotada visando reproduzir células eletroquímicas já relatadas na literatura e utilizadas no Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NuPE), as quais possuem o eletrodo de trabalho na parte inferior da célula, juntamente com espaço projetado para a barra magnética usada na agitação magnética. Na avaliação do desempenho desta versão da célula BIA, foram realizados testes com injeções em triplicata de soluções contendo concentrações crescentes de azul de metileno (AM), utilizado como corante modelo (**Figura 5**). No entanto, o posicionamento do sensor colorimétrico na parte inferior da célula BIA tornou a quantidade de luz refletida muito pequena, conforme pode ser visto na **Figura 5**. Além disso, o sinal da linha base, nestas condições, não se manteve constante.

Ademais, devido ao posicionamento do sensor na parte inferior da célula, o espaço para a agitação magnética não era centralizado, o que impedia a homogeneização rápida e completa das alíquotas de soluções injetadas na célula BIA. Assim, parte da luz era absorvida pela solução de AM, e, conseqüentemente, uma quantidade menor era refletida. Portanto, esta versão de célula BIA não se mostrou viável.

Figura 5. Biagrama obtido com a célula BIA com detecção colorimétrica (AS7341 posicionado na parte inferior da célula – janela de vidro) para injeções em triplicata de soluções contendo concentrações crescentes de AM ($0,7 - 38,0 \mu\text{mol L}^{-1}$). Volume de injeção: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm .

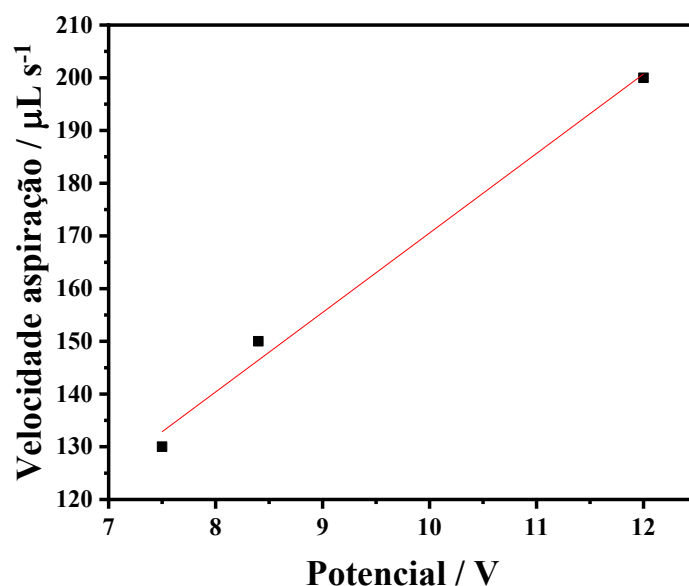


Em função do mau funcionamento da célula BIA com o sensor colorimétrico posicionado na parte inferior da célula, um novo modelo da célula BIA foi produzido. Nesta célula, o sensor foi posicionado na parede lateral, de modo que a agitação magnética centralizada fosse possível. Esse modelo foi desenvolvido com o objetivo de aprimorar o desempenho da agitação magnética na remoção da zona da amostra — após sua difusão na solução — da região de detecção. Entretanto, neste formato, a agitação magnética também não se mostrou eficiente, visto que a remoção do AM após a realização das injeções não era eficiente. Isso ocorreu, possivelmente, devido a distância da agitação magnética da região de detecção, fator que prejudicou a retirada da zona de amostra.

Em seguida, uma nova célula foi projetada com orifícios na tampa superior, permitindo a conexão de tubos a uma minibomba peristáltica responsável por aspirar a solução e, assim, acelerar a remoção do AM injetado da região de detecção do sensor. Tal arranjo foi avaliado com o objetivo de substituir a agitação magnética previamente utilizada sem sucesso. Diferentes velocidades de aspiração foram testadas com a minibomba peristáltica por meio da aplicação de diferentes potenciais: 7,5 V, 8,4 V e 12,0 V. A **Figura 6** mostra a variação da velocidade de aspiração da minibomba peristáltica

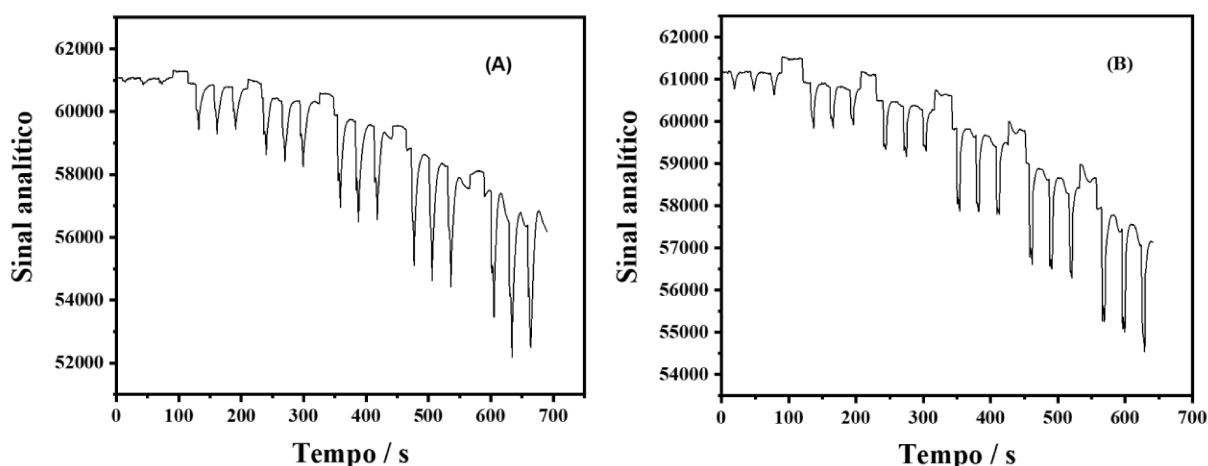
em função dos potenciais aplicados. Conforme pode ser observado, o potencial e a vazão da minibomba peristáltica são diretamente proporcionais.

Figura 6. Avaliação da velocidade de aspiração da minibomba peristáltica em função do potencial aplicado.



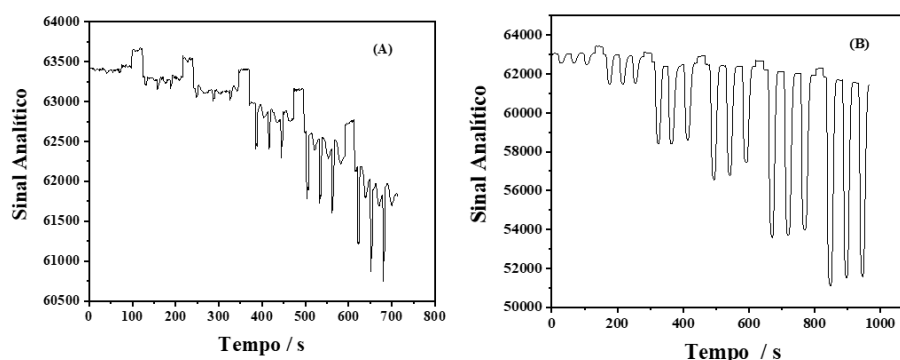
A aplicação de 12,0 V na minibomba peristáltica, como esperado, aumentou a velocidade de aspiração, o que acelerou a estabilização da linha de base, embora ainda de forma insatisfatória (**Figura 7**).

Figura 7. (A) Biograma obtido utilizando a minibomba peristáltica com a aplicação de 8,4 V ($150 \mu\text{L s}^{-1}$); (B) Biograma obtido pelo uso da minibomba peristáltica com a aplicação de 12,0 V ($200 \mu\text{L s}^{-1}$). Volume de injeção: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm.



O aumento do sinal analítico entre cada triplicata de injeções ocorre devido a retirada da pipeta eletrônica do ponto de injeção, o que aumenta a quantidade de luz disponível ao sensor colorimétrico. Visando a portabilidade do método, a introdução da fonte de 12,0 V para controle da minibomba peristáltica mostrou-se eficiente para análises *in situ*, uma vez que seu tempo de funcionamento nas condições avaliadas é de 5 horas. Com a introdução da minibomba para aspiração da solução, investigou-se também seu modo de uso com o objetivo de maximizar os valores de reflectância. Para isso, foram obtidos dois biagramas diferentes, nos quais a aspiração da minibomba ocorreu de forma contínua ou alternada (desligamento da bomba alguns segundos antes da injeção e seu religamento após a injeção), visando uma rápida estabilização da linha de base, como mostrado na **Figura 8**.

Figura 8. Comparação dos biagramas obtidos utilizando a minibomba peristáltica com aspiração contínua (A) e aspiração alternada (B). Volume de injeção: 100 μL ; Velocidade de injeção: 33 $\mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm.



Verificou-se que ao desligar a aspiração segundos antes de cada injeção (**Figura 8B**) foram obtidos maiores sinais analíticos, além de maior repetibilidade. Isso ocorre porque no caso da aspiração contínua, antes de todo o volume ser injetado, parte é rapidamente removido pela minibomba peristáltica da zona de detecção, o que diminui o tamanho do pico observado e, portanto, o valor do sinal detectado. Em contrapartida, com a aspiração alternada, a zona de amostra permanece na região de detecção até o acionamento da aspiração novamente entre cada injeção, o que aumenta o sinal analítico. Um vídeo demonstrativo do funcionamento do sistema com a minibomba realizando a aspiração alternada da solução é disponibilizado a seguir: <https://youtu.be/sAUkvwVM3qM>. Os valores dos parâmetros analíticos obtidos pelos dois modos de uso da minibomba peristáltica, como intercepto e os coeficientes angular (sensibilidade do método) e de determinação (R^2) fornecidos por curvas de calibração são mostrados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Comparação dos parâmetros analíticos obtidos utilizando aspiração contínua e alternada da minibomba peristáltica.

Parâmetros analíticos	Aspiração contínua	Aspiração alternada
R^2	0,867	0,995
Coefficiente angular	$0,00063 \pm 0,00012$	$0,00815 \pm 0,00030$
Coefficiente linear (intercepto)	$0,00019 \pm 0,00014$	$0,00262 \pm 0,00044$
Faixa de trabalho* / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,1 – 10,0	0,1 – 10,0

*Faixa de trabalho avaliada

Ao analisar os dados da **Tabela 1**, percebe-se um grande aumento da linearidade com o uso da aspiração alternada da bomba peristáltica, além de maior sensibilidade, sendo este modo de uso mantido para os estudos posteriores.

Em seguida, foram otimizados alguns parâmetros experimentais a fim de maximizar a resposta em reflectância do método. O primeiro parâmetro otimizado foi a distância vertical da ponteira da pipeta eletrônica em relação ao sensor colorimétrico por meio do uso de anéis de diferentes espessuras. Inicialmente, a ponta da ponteira encontrava-se em frente ao sensor colorimétrico. A **Figura 9** mostra uma imagem dos anéis impressos em 3D e a **Figura 10** a forma como estes anéis foram usados neste estudo.

Figura 9. Anéis de diferentes espessuras utilizados para testar o efeito da distância (1,3 mm – 7,5 mm) do ponto de injeção até o sensor colorimétrico na sensibilidade da reflectância medida na célula BIA.

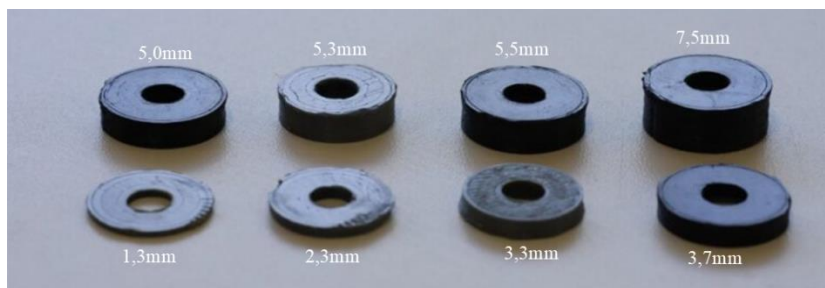
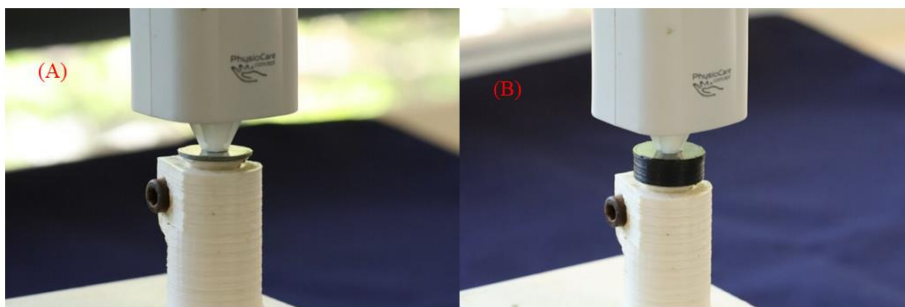


Figura 10. Representação de como foi realizado o estudo de otimização da distância vertical do ponto de injeção em relação ao sensor para o anel de menor espessura (A: 1,3mm) e o anel de maior espessura (B: 7,5mm).



Diferentes curvas de calibração foram obtidas, as quais foram comparadas de modo a selecionar a distância que forneceu maior sensibilidade nas curvas analíticas (**Tabela 2**).

Tabela 2. Comparação de parâmetros analíticos obtidos em diferentes distâncias entre o ponto de injeção e o sensor colorimétrico.

Parâmetro analítico	5,5 mm	7,5 mm	9,0 mm*
R^2	0,972	0,999	0,977
Coefficiente angular	$0,00283 \pm 0,00028$	$0,00352 \pm 0,00009$	$0,00083 \pm 0,00006$
Coefficiente linear	$0,00239 \pm 0,00174$	$-0,00033 \pm 0,00082$	$0,00075 \pm 0,00045$
Faixa de trabalho** / $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,0 – 38,0	1,0 – 15,0	1,0 – 25,0

*Distâncias diferentes das espessuras dos anéis foram medidas com o uso de um paquímetro; **Faixa de trabalho avaliada

A distância vertical de 7,5 mm do ponto de injeção ao sensor forneceu maiores valores de reflectância, sensibilidade e linearidade. Isso ocorreu porque para distâncias verticais muito baixas, o volume injetado passa rapidamente pelo fotodiodo, de forma que não é detectado adequadamente. Enquanto isso, para distâncias verticais muito altas, ocorre uma maior difusão axial e radial da solução antes de ser detectada pelo fotodiodo, diminuindo a sensibilidade do método. Sendo assim, distâncias intermediárias, como 7,5 mm, passam pelo detector em uma velocidade que promove melhor detecção e sem sofrer dispersões significativas, sendo essa distância escolhida para a realização dos demais testes.

Ademais, ainda foram observadas dificuldades na reprodutibilidade dos resultados, atribuídas à variação horizontal no posicionamento da pipeta eletrônica, influenciada pela posição da tampa da célula BIA. Desse modo, pequenas variações na posição da tampa da célula resultavam em diferentes respostas de reflectância. Devido a

isso, foi produzido, por meio de impressão 3D, um canal que diminuía o espaço para dispersão/diluição das soluções na região do caminho ótico.

No estudo da influência deste parâmetro, um novo modelo da célula BIA foi impresso com a possibilidade de acoplar canais com diferentes larguras de caminho ótico junto ao sensor colorimétrico. Três larguras distintas foram testadas (**Figura 11**) para avaliar a influência desse parâmetro no sinal analítico. Os resultados de reflectância em função da largura do canal estão apresentados na **Figura 12**. A fixação dessa largura de caminho ótico também contribuiu para reduzir a diluição da amostra, concentrando-a na região de detecção e aumentando o sinal analítico.

Inicialmente, o canal foi produzido para definir o caminho ótico apenas em frente ao sensor, sem contato com o fundo da célula BIA. Em seguida, foram realizados ajustes para que o canal tocasse o fundo da célula, o que resultou em um aumento do sinal analítico, atribuído à redução do fator de diluição. Por fim, um orifício foi adicionado na extremidade do canal para permitir a conexão de um tubo e a aspiração da amostra pela bomba peristáltica, possibilitando a remoção mais rápida da zona de detecção e promovendo maior estabilidade da linha de base após cada injeção.

Figura 11. Peças de diferentes larguras (8 mm, 10 mm e 19 mm) utilizadas para otimizar a distância horizontal (caminho ótico) do ponto de injeção ao sensor colorimétrico.

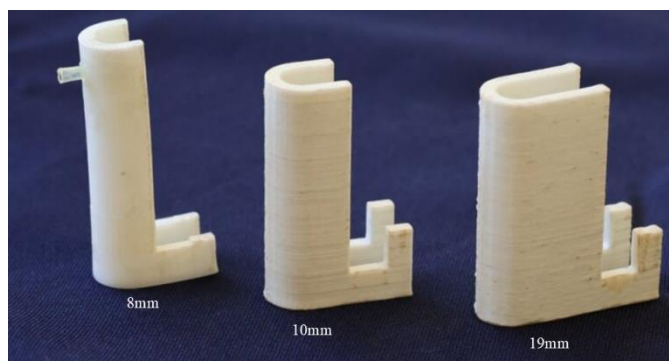
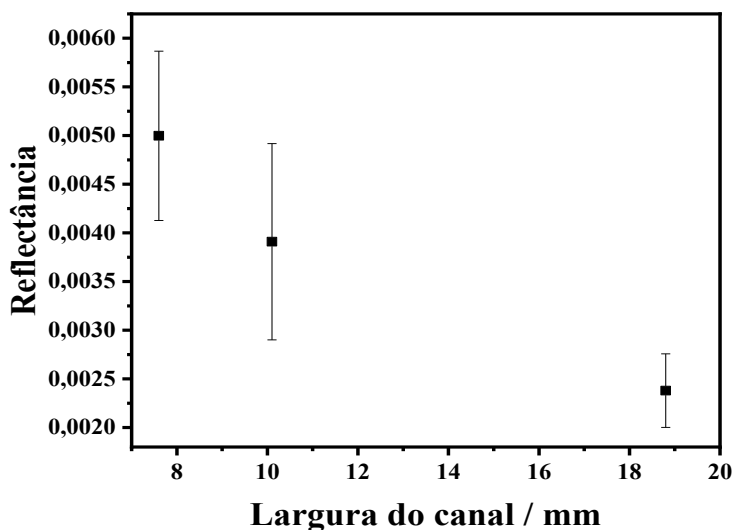
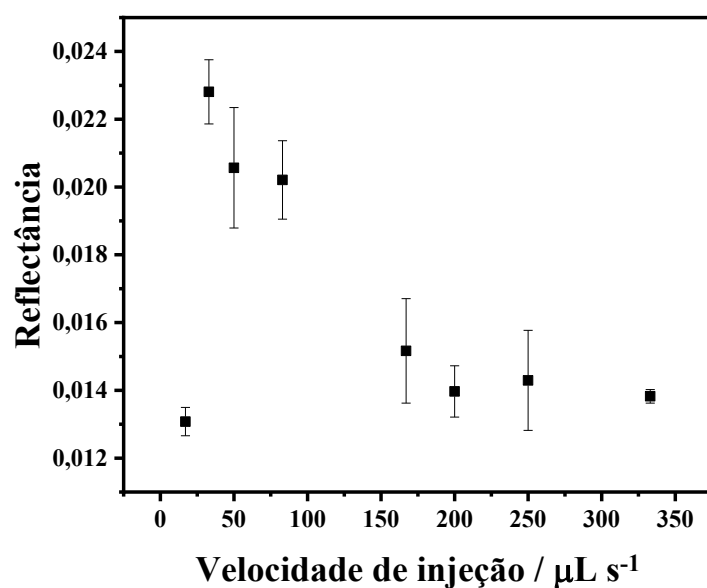


Figura 12. Resultados obtidos na otimização da largura do canal em frente ao sensor colorimétrico, com valores de reflectância obtidos pela média de injeções em triplicata de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AM. Volume de injeção: $150 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm .



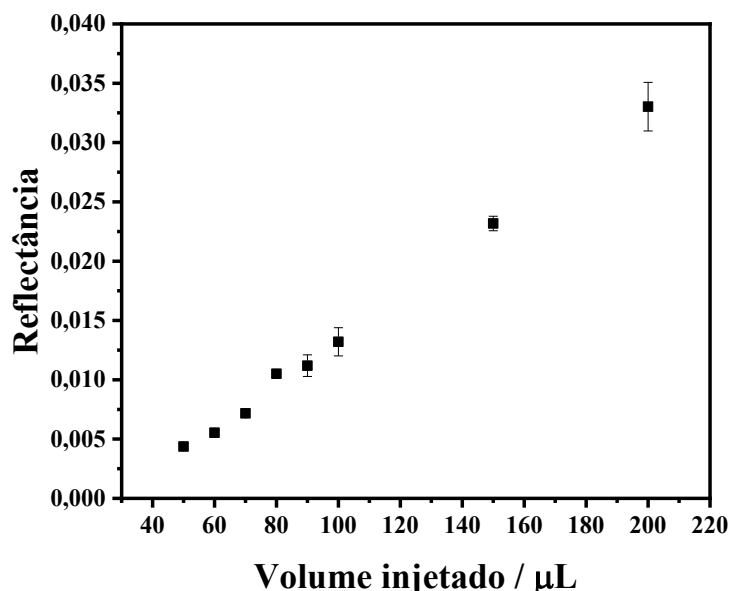
O canal de menor largura, com 8 mm, apresentou os maiores sinais de reflectância, sendo selecionado para etapas subsequentes de otimização. Esse resultado deve-se ao fato de que larguras menores reduzem o fator de diluição, permitindo maior concentração da amostra na zona de detecção e, conseqüentemente, um sinal mais intenso detectado pelo sensor colorimétrico. Em seguida, foram realizados testes para investigar a influência da velocidade de injeção no sinal analítico. A **Figura 13** apresenta os valores de reflectância obtidos em função das diferentes velocidades de injeção testadas.

Figura 13. Otimização da velocidade de injeção: valores de reflectância obtidos pela média de injeções em triplicata de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AM, em diferentes velocidades de injeção da pipeta eletrônica ($17 \mu\text{L s}^{-1}$ – $333 \mu\text{L s}^{-1}$). Volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; λ de detecção: 630 nm .



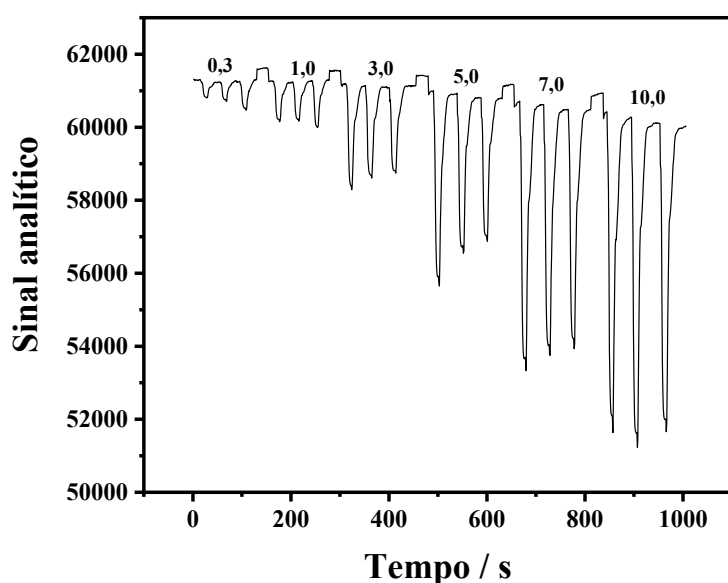
Com base na otimização realizada, verificou-se que a velocidade de injeção de $33\mu\text{L/s}$ proporcionou os maiores valores de reflectância, aliada a um desvio relativamente baixo, o que justificou sua escolha para os testes subsequentes. Isso ocorreu pois, para velocidades muito baixas de injeção, como $17\mu\text{L s}^{-1}$, prevalece a difusão axial e radial da solução antes de ser detectada pelo fotodiodo, comprometendo a intensidade do sinal. A difusão axial é o processo de dispersão vertical da solução, enquanto a difusão radial é o processo de dispersão lateral da solução. Em contrapartida, velocidades mais altas reduzem o tempo de passagem da amostra pela zona de detecção, dificultando a captação adequada do sinal. Desse modo, a velocidade de injeção de $33\mu\text{L s}^{-1}$ promoveu uma detecção mais eficiente, com menor dispersão da amostra e, consequentemente, maior reflectância. Em seguida, investigou-se a influência do volume injetado no sinal detectado pelo sensor. Os valores de reflectância em função do volume de injeção são exibidos na **Figura 14**.

Figura 14. Otimização do volume de injeção: valores de reflectância obtidos pela média de injeções em triplicata de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de AM, com volumes de injeção variando entre $50 \mu\text{L}$ e $200 \mu\text{L}$. Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm .



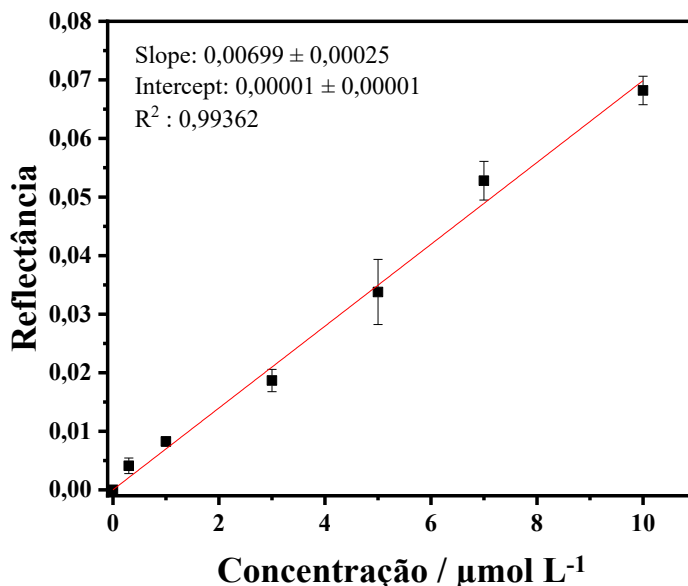
Por meio da análise dos dados da **Figura 14**, o volume de $150 \mu\text{L}$ foi inicialmente selecionado por apresentar alto valor de reflectância e baixo desvio padrão. No entanto, esse valor foi posteriormente modificado para $100 \mu\text{L}$, devido à ocorrência de picos duplos observados em volumes maiores, como $150 \mu\text{L}$ e $200 \mu\text{L}$. Estes picos duplos foram atribuídos a efeitos difusionais, que causam um gradiente de concentração durante a detecção, e, para volumes muito grandes, a fragmentação da zona de amostra. Assim, um novo biograma foi obtido (**Figura 15**) com o corante modelo AM, já com os parâmetros otimizados.

Figura 15. Biograma obtido pela injeção sequencial de concentrações crescentes de AM ($0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ – $10 \mu\text{mol L}^{-1}$) com distância vertical de injeção de $7,5 \text{ mm}$, velocidade de injeção de $33 \mu\text{L s}^{-1}$ e volume de injeção $100 \mu\text{L}$.



Em comparação com a **Figura 5**, o biograma apresenta melhoras significativas na manutenção da linha de base, assim como no sinal analítico para cada concentração, tendo em vista as otimizações realizadas na estrutura da célula BIA e nos parâmetros de análise. A partir do biograma apresentado na **Figura 15**, elaborou-se a curva de calibração correspondente (**Figura 16**), com o intuito de verificar a sensibilidade e a linearidade da curva analítica. A curva de calibração é dada em reflectância, fenômeno presente na célula utilizada neste trabalho. Os valores de reflectância foram obtidos após tratamento matemático, utilizando a **equação (3)**, das intensidades de luz incidente e de luz transmitida de cada injeção, sendo estas fornecidas pelo sinal analítico detectado pelo sensor colorimétrico. Desse modo, foi calculada a média dos valores de reflectância de cada triplicata para obtenção da reflectância de cada concentração.

Figura 16. Curva de calibração obtida a partir de dados obtidos do biograma da **Figura 15**.



A partir da **Figura 16**, conclui-se que foi obtida linearidade satisfatória para a faixa linear analisada ($0,1 - 10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$), além de baixo desvio padrão para as concentrações de AM dentro da faixa linear.

4.2. Estudos de otimização para quantificação de fosfato

Após os testes iniciais utilizando o analito modelo AM, os parâmetros otimizados foram utilizados e avaliados para determinação de fosfato, a partir da reação de formação do azul de molibdênio (MURPHY e RILEY, 1962). Neste estudo, a reação foi realizada externamente e posteriormente o azul de molibdênio foi adicionado por meio do uso de uma pipeta eletrônica na célula BIA contendo 100 mL de água ultrapura. Desse modo, foram realizados testes de proporcionalidade com o fosfato para verificação de sua faixa linear. Para isso, foram obtidos biogramas com concentrações crescentes de fosfato

(Figura 17), assim como curvas de calibração referentes aos biagramas para verificação dos parâmetros analíticos (Figura 18).

Figura 17. Biagrama obtido pela injeção sequencial de concentrações crescentes de fosfato ($0,15 \text{ mg L}^{-1}$ – $2,5 \text{ mg L}^{-1}$). Volume de injeção: $100 \mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33 \mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm .

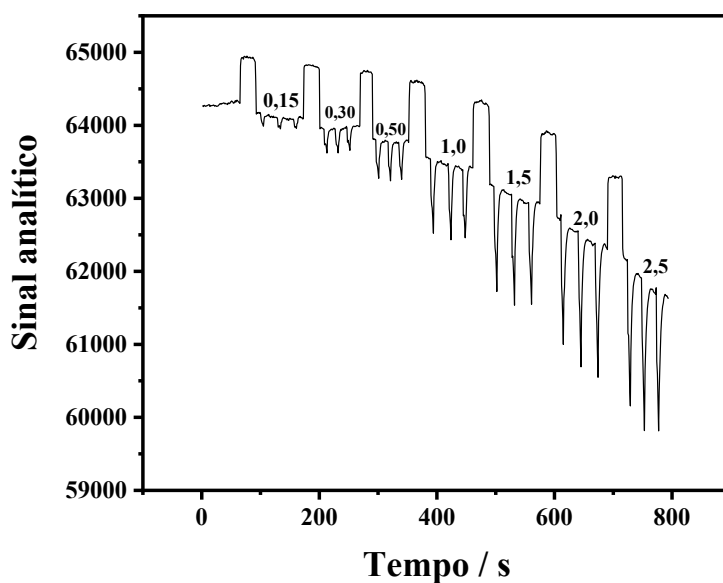
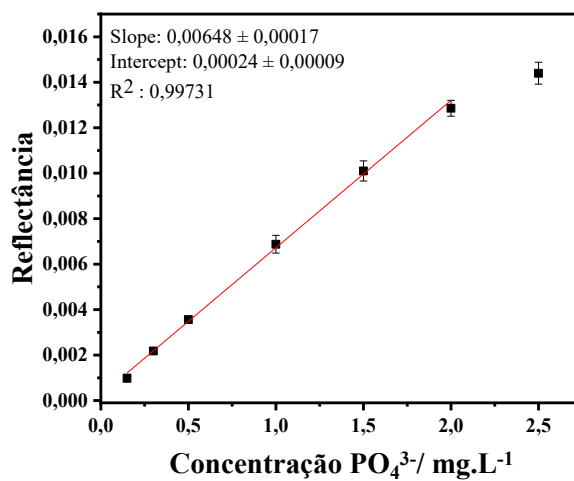


Figura 18. Curva de calibração obtida a partir de dados obtidos do biagrama da Figura 17.



Durante os primeiros testes, obteve-se a faixa linear de $0,1 - 2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de fosfato. No entanto, pelo biagrama mostrado na **Figura 17**, é possível verificar que a linha de base do sinal analítico não se manteve estável como observado no último teste com o AM, indicando efeito de memória. Desse modo, visando minimizar a deriva da linha de base, foi adicionado um béquer externo com água ultrapura para renovação da solução de água ultrapura usando outra bomba peristáltica (**Figura 19**). Em comparação com a estrutura previamente utilizada, essa alteração evita a recirculação de parte da solução colorida para o interior da célula BIA, direcionando-a completamente para fora da célula. A **Figura 20** mostra a visão superior da nova estrutura do sistema, agora com duas minibombas peristálticas.

Figura 19. Sistema de análise utilizando duas minibombas peristálticas e um béquer externo para renovação da solução no interior da célula BIA. (A) Béquer com água ultrapura; (B) Bomba peristáltica para aspiração da solução para fora da célula BIA; (C) Célula BIA; (D) Microcontrolador Arduino Uno; (E) Bomba peristáltica para renovação da solução para dentro da célula BIA; (F) Botão para acionamento e desligamento da aspiração; (G) Suporte para o sistema de análise.

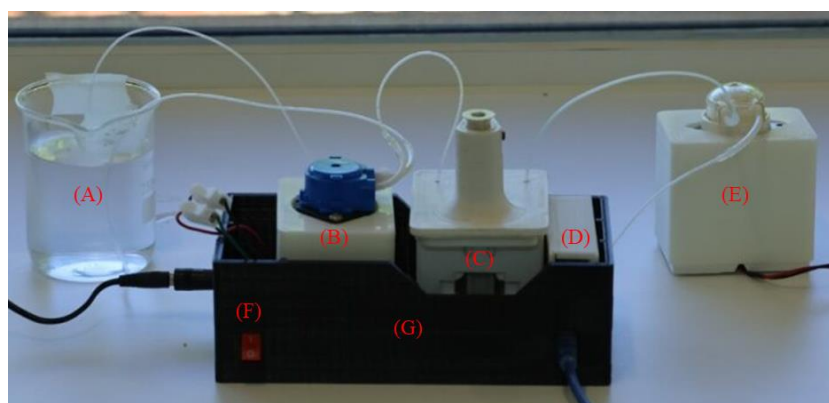
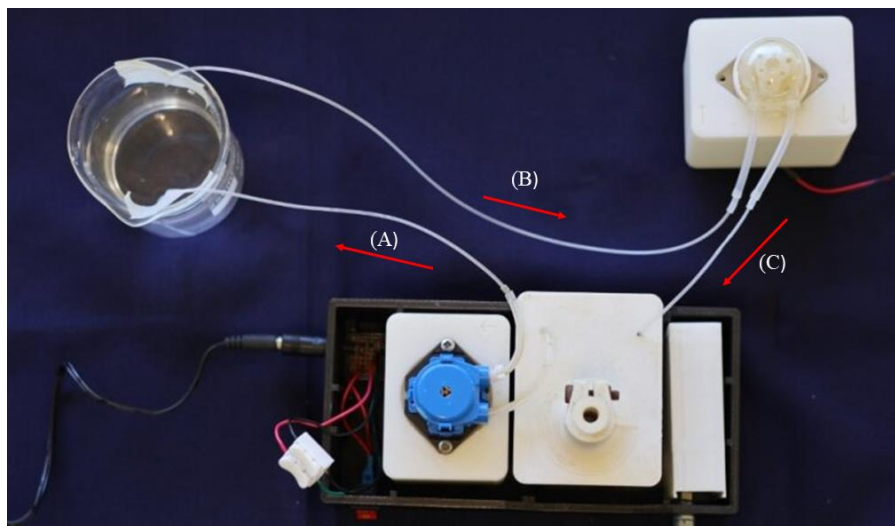
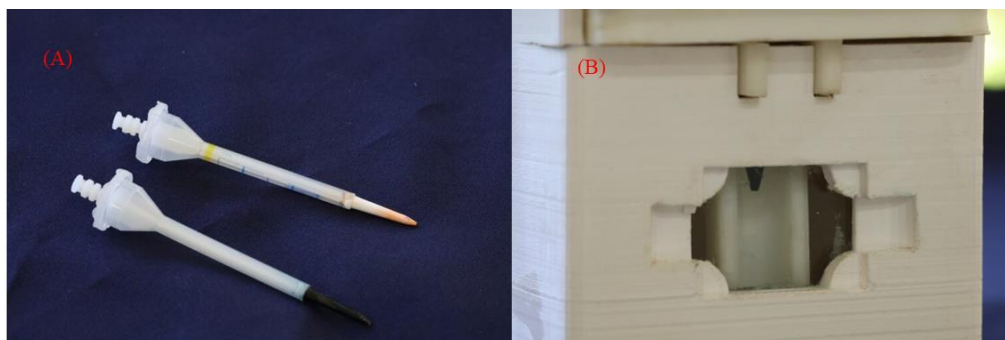


Figura 20. Visão superior do sistema de análise utilizando um béquer externo para renovação da solução. Nos tubos ocorre (A) aspiração da solução que absorveu a coloração, (B) aspiração de nova solução de água ultrapura pela segunda bomba peristáltica, (C) renovação da solução pela segunda bomba de volta para a célula BIA.



Para evitar a deriva da linha de base, uma modificação adicional implementada foi pintar a ponta da ponteira utilizada para as injeções com esmalte, visto que, devido ao grande número de análises, houve impregnação da coloração do azul de molibdênio na ponteira, o que resultou na diminuição do sinal analítico. Foram testados esmaltes de cores preto e branco (**Figura 21A**). Isso foi necessário porque, na distância vertical utilizada entre o ponto de injeção e o sensor, parte da coloração presente na ponteira era detectada pelo sensor, como mostrado na **Figura 21B**. Logo, para soluções mais concentradas de fosfato, de coloração mais intensa, a linha de base era desestabilizada antes da realização da injeção. Nesse sentido, o uso da ponteira preta manteve a linha de base semelhante independente da concentração injetada, reduzindo interferências na análise, enquanto a ponteira branca sofreu alterações ao longo do tempo, sendo descartado seu uso.

Figura 21. (A) Ponteiros pintados com esmalte preto e branco para investigação da influência da solução na ponteira antes da injeção. (B) Fotografia da célula BIA para evidenciar a influência da cor da ponteira em frente ao sensor.



Com a modificação na estrutura do sistema de análise, foi obtido um biagrama para quantificação de fosfato (**Figura 22**), no qual se verificou uma pequena melhora na estabilidade da linha de base. Uma curva de calibração (**Figura 23**) para fosfato foi obtida a partir de dados da **Figura 22**, na qual foi observada ótima linearidade na faixa de $0,15\text{mg L}^{-1} - 1,5\text{mg L}^{-1}$.

Figura 22. Biagrama obtido pela injeção sequencial de concentrações crescentes de fosfato ($0,15\text{mg L}^{-1} - 1,5\text{mg L}^{-1}$). Volume de injeção: $100\text{ }\mu\text{L}$; Velocidade de injeção: $33\text{ }\mu\text{L s}^{-1}$; λ de detecção: 630 nm .

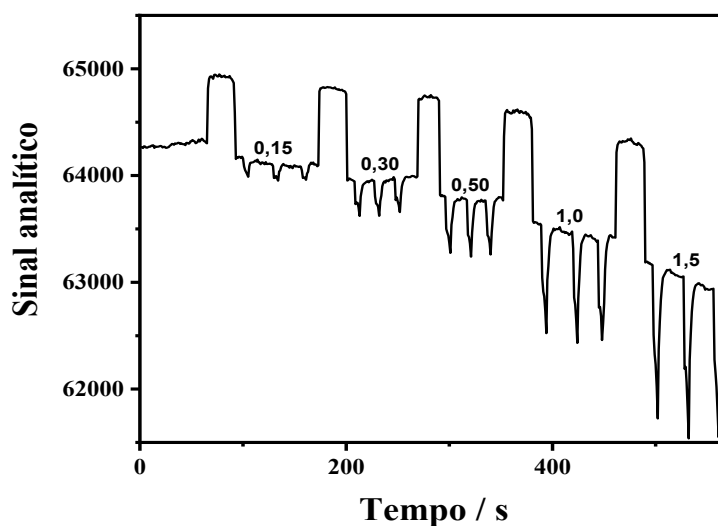
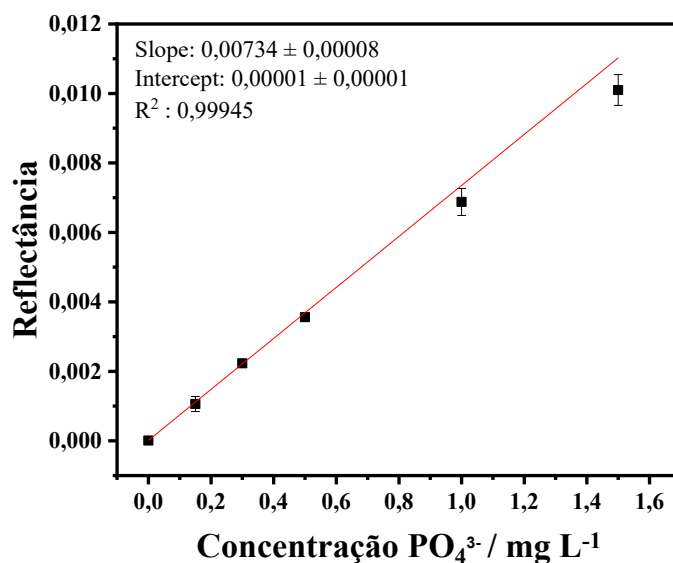


Figura 23. Curva de calibração obtida a partir de dados do biograma da **Figura 22**.



Os parâmetros analíticos obtidos com o sistema portátil proposto foram comparados aos obtidos com um espectrofotômetro comercial (**Tabela 3**).

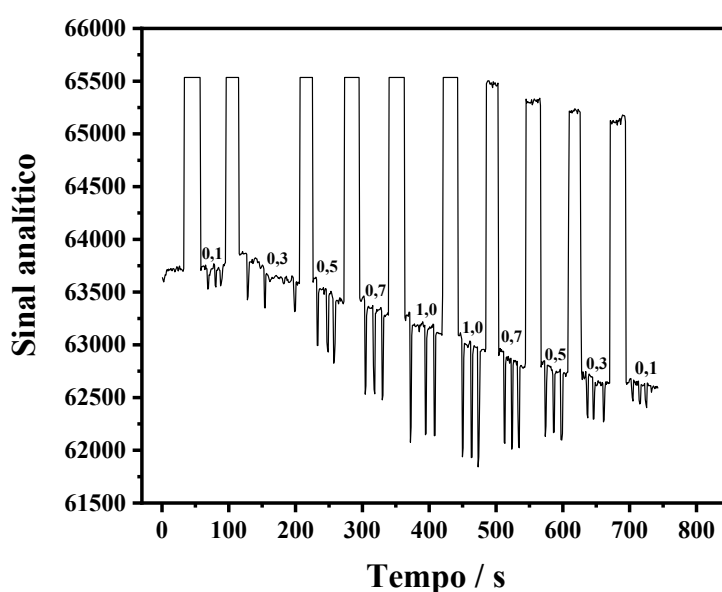
Tabela 3. Comparação dos parâmetros analíticos da célula BIA com detecção colorimétrica e um espectrofotômetro comercial para determinação de fosfato.

Método	LOD (mg L^{-1})	LOQ (mg L^{-1})	Faixa linear (mg L^{-1})	R^2
Célula BIA	0,03	0,11	0,15 – 1,5	0,999
Espectrofotômetro	0,04	0,14	0,15 – 1,0	0,998

Os parâmetros analíticos da célula BIA com detecção colorimétrica foram semelhantes aos obtidos com o espectrofotômetro comercial, o que evidencia a consistência do desempenho do método proposto frente a uma técnica consagrada. Tanto os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados de acordo com definições da IUPAC (MOCÁK et al., 1997). O método proposto permitiu a obtenção de

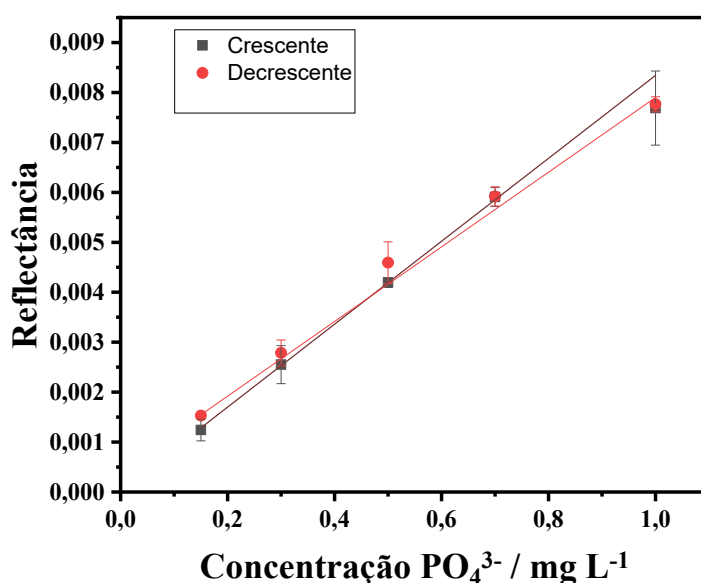
boa frequência analítica ($110 \text{ injeções h}^{-1}$). Adicionalmente, foram realizados testes com soluções padrões de fosfato para avaliar a presença do efeito de memória (**Figura 24**). A **Figura 25** mostra uma comparação entre as equações de reta obtidas a partir do biagrama da **Figura 24**.

Figura 24. Biagrama obtido pela injeção sequencial de soluções de fosfato em concentrações crescentes e decrescentes, para avaliar o efeito de memória do sistema.



A partir da **Figura 24**, é observado efeito de memória por meio da deriva da linha base do sinal analítico. Entretanto, como mostrado na **Figura 25**, o efeito observado não interfere na quantificação de fosfato realizada nesse trabalho.

Figura 25. Comparação entre as curvas de calibração obtidas a partir do biagrama da **Figura 24**. Em cinza são apresentados os valores de reflectância correspondentes à curva de calibração gerada pela injeção de concentrações crescentes de fosfato; em vermelho os valores de reflectância obtidos pela injeção de concentrações decrescentes de fosfato.



As equações das curvas de calibração apresentadas na **Figura 25** — em ordem crescente ($y = 0,00830x + 0,00004 - R^2 = 0,997$) e ordem decrescente ($y = 0,00747x + 0,00042 - R^2 = 0,998$) — exibem coeficientes angular, linear e de determinação semelhantes, o que indica que o efeito de memória, apesar de perceptível, não interfere na quantificação. Ademais, as medidas obtidas forneceram um desvio padrão de 2,23% para a concentração intermediária da curva analítica (0,5 mg L⁻¹), contribuindo para a precisão do método.

Como etapa final do estudo, foram realizados testes para quantificação de fosfato em três amostras de água, bem como ensaios de adição e recuperação (**Tabela 4**). Para os testes de adição e recuperação, foram coletadas três amostras de água em três locais diferentes, sendo estas amostras de água de lago, rio e de água potável. A efeito de comparação com o método padrão de análise, os testes também foram realizados no espectrofotômetro.

Tabela 4. Testes de adição e recuperação para amostras de água. A) água de lago, B) água de rio, C) água potável.

Amostra	Concentração (mg L ⁻¹)		Adição (mg L ⁻¹)	Recuperação (mg L ⁻¹)		Recuperação (%)	
	Célula	Espectrofotômetro		Célula	Espectrofotômetro	Célula	Espectrofotômetro
	BIA			BIA		BIA	
A	<LOD	<LOD	0,5	0,486	0,451	97	94
B	<LOD	<LOD	0,5	0,522	0,502	104	101
C	<LOD	<LOD	0,5	0,511	0,493	102	99

Ao analisar os dados da **Tabela 4**, verifica-se que os valores de recuperação obtidos pela célula BIA variaram entre 97% e 102%, além de serem semelhantes aos fornecidos pelo espectrofotômetro, o que confirmou a exatidão do método e, por meio de valores próximos a uma recuperação de 100%, baixo efeito de matriz. Adicionalmente, foi realizada uma adição de 1,0 mg L⁻¹ nas amostras de água coletadas e os valores de concentração recuperados nos dois métodos foram comparados pelo teste-t emparelhado (HARRIS,2017, p.75). A **Tabela 5** fornece os valores obtidos.

Tabela 5. Concentrações de fosfato (mg L⁻¹) determinadas pelo método proposto e pelo espectrofotômetro em amostras de água a partir de curvas de calibração realizadas no mesmo dia. A) água de lago, B) água de rio, C) água potável.

Amostra	Célula BIA (mg L ⁻¹)	Espectrofotômetro (mg L ⁻¹)
A	0,65	0,84
B	0,85	0,97
C	1,05	1,10

Os resultados obtidos ($t_{\text{calc}} = 2,921$ e $t_{\text{tab}} = 4,303$; $n = 3$) para o teste-t emparelhado com 95% de confiança atestam a confiabilidade do método proposto, de modo que, estatisticamente, as médias das concentrações não são significativamente diferentes. Portanto, é possível confirmar a capacidade do método proposto de fornecer resultados exatos para a determinação de fosfato em amostras de água.

5. CONCLUSÕES

A célula BIA obtida por impressão acoplada à um fotodiodo de baixo custo demonstrou resultados comparáveis a um espectrofotômetro convencional para determinação de fosfato. Assim, o estudo de parâmetros como velocidade e volume de injeção e distância de injeção, além de diferentes estruturas para a célula de análise aumentou a sensibilidade e linearidade do método proposto. Ademais, todos os componentes utilizados como a pipeta eletrônica, as minibombas peristálticas, fotodiodo e a célula BIA possuem características portáteis, podendo ser acomodados em uma única estrutura para suporte do método de análise. Por isso, o sistema apresentou uma determinação espectrofotométrica confiável, de fácil uso e adequada para análises *in situ* de fosfato, integrando fotodiodos e microcontroladores a sistemas BIA de forma portátil, aplicação não relatada previamente na literatura. Por fim, o sistema possui aplicabilidade não só para quantificações de fosfato, mas para demais analitos sujeitos a detecções colorimétricas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baird, R. & Bridgewater, L. *Standard methods for the examination of water and wastewater* (23rd ed.). American Public Health Association (APHA), 2017.

Coltro, W. K. T.; Piccin, E., Carrilho, E.; de Jesus, D. P.; Fracassi Da Silva, J. A.; da Silva, H. D. T. & do Lago, C. L. Microssistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. *Química Nova*, 30(8), 1986–2000, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000800034>. Acesso em: 11 abr. 2025.

Cruz, A. F. D.; Norena, N.; Kaushik, A. & Bhansali, S. A low-cost miniaturized potentiostat for point-of-care diagnosis. *Biosensors and Bioelectronics*, 62, 249–254, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2014.06.053>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Danchana, K. & Cerdà, V. Design of a portable spectrophotometric system part II: Using a digital microscope as detector. *Talanta*, 216, 120977, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2020.120977>. Acesso em: 11 abr. 2025.

de Lima, K. M. G. A portable photometer based on LED for the determination of aromatic hydrocarbons in water. *Microchemical Journal*, 103, 62–67, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.01.003>. Acesso em: 11 abr. 2025.

dos Santos, L. B. O.; Infante, C. M. C. & Masini, J. C. Development of a sequential injection-square wave voltammetry method for determination of paraquat in water samples employing the hanging mercury drop electrode. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(5), 1897–1903, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00216-009-3429-X/TABLES/4>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Gao, R.; Wu, Y.; Huang, J.; Song, L.; Qian, H.; Song, X.; Cheng, L.; Wang, R.; Luo, L. bao; Zhao, G. & Yu, L. Development of a portable and sensitive blood serum test system using LED-based absorption photometry and pump-free microfluidic technology. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 286, 86–93, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2019.01.065>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Harris, D. C. & Lucy, C. *Análise Química Quantitativa*. 9ed. LTC, 2017.

Jadhav, A. & Jadhav, V. S. A review on 3D printing: An additive manufacturing technology. *Materials Today: Proceedings*, 62, 2094–2099, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2022.02.558>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Masini, J. C. Demonstrando os fundamentos, potencialidades e limitações da análise por injeção seqüencial. *Química Nova*, 31(3), 704–708, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000300040>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Mesquita, R. B. R. & Rangel, A. O. S. S. A review on sequential injection methods for water analysis. *Analytica Chimica Acta*, 648(1), 7–22, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2009.06.030>. Acesso em: 11 abr. 2025.

Mocak, J.; Bond, A. M.; Mitchell, S.; Scollary, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques. *Pure and Applied Chemistry*, [S. l.], v. 69, n. 2, p. 297–328, 1997. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/pac199769020297/html>. Acesso em: 18 abr. 2025.

Murphy, J. & Riley, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27(C), 31–36, 1962. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5). Acesso em: 11 abr. 2025.

Nagul, E. A.; McKelvie, I. D.; Worsfold, P. & Kolev, S. D. The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: Opening the black box.

Analytica Chimica Acta, 890, 60–82, 2015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/J.ACA.2015.07.030>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Nesterenko, P. N. 3D printing in analytical chemistry: Current state and future. *Pure and Applied Chemistry*, 92(8), 1341–1355, 2020. Disponível em:

<https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/pac-2020-0206/html>. Acesso em: 11 abr. 2025.

Oliveira, G. K. F.; Tormin, T. F.; Sousa, R. M. F.; de Oliveira, A.; de Moraes, S. A. L.; Richter, E. M. & Munoz, R. A. A. Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 192, 691–697, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.07.064>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Omena, A. L. Interior Célula BIA. Produção do autor, 2025. Disponível em:

<https://youtu.be/sAUkvwVM3qM>. Acesso em: 02 mai. 2025.

Poh, J. J.; Wu, W. L.; Goh, N. W. J.; Tan, S. M. X. & Gan, S. K. E. Spectrophotometer on-the-go: The development of a 2-in-1 UV–Vis portable Arduino-based spectrophotometer. *Sensors and Actuators A: Physical*, 325, 112698, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNA.2021.112698>. Acesso em: 11 abr. 2025.

Pujol-Vila, F.; Giménez-Gómez, P.; Santamaria, N.; Antúnez, B.; Vigués, N.; Díaz-González, M.; Jiménez-Jorquera, C.; Mas, J., Sacristán, J. & Muñoz-Berbel, X. Portable and miniaturized optofluidic analysis system with ambient light correction for fast in situ determination of environmental pollution. *Sensors and Actuators B: Chemical*,

222, 55–62, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2015.07.095>. Acesso em: 11 abr. 2025.

Richter, Eduardo M.; Rocha, Diego P.; Cardoso, Rafael M.; Keefe, Edmund M.; Foster, Christopher W.; Munoz, Rodrigo A. A.; Banks, Craig E. Complete Additively Manufactured (3D-Printed) Electrochemical Sensing Platform. *Analytical Chemistry*, [S. l.], v. 91, n. 20, p. 12844–12851, 2019. a. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Acesso em: 17 abr. 2025.

Rocha, D. P.; Cardoso, R. M.; Tormin, T. F.; de Araujo, W. R.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M. & Angnes, L. Batch-injection Analysis Better than ever: New Materials for Improved Electrochemical Detection and On-site Applications. *Electroanalysis*, 30(7), 1386–1399, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ELAN.201800042>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Skoog; Holler & Crouch. *Princípios de Análise Instrumental*. 6ed. Bookman, 2009.

Tormin, T. F.; Oliveira, G. K. F.; Richter, E. M. & Munoz, R. A. A. Voltammetric Determination of Pb, Cu and Hg in Biodiesel Using Gold Screen-printed Electrode: Comparison of Batch-injection Analysis with Conventional Electrochemical Systems. *Electroanalysis*, 28(5), 940–946, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ELAN.201501012>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Vargas-Muñoz, M. A.; Danchana, K.; Cerdà, V. & Palacio, E. Field-deployable method for iron analysis using a simple preconcentration procedure and a 3D portable spectrophotometric system. *Microchemical Journal*, 170, 106774, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MICROOC.2021.106774>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Wang, J. & Angnes, L. Batch Injection Spectroscopy. *Analytical Letters*, 26(11), 2329–2339, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00032719308017473>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Wang, J. & Taha, Z. Batch Injection Analysis. *Analytical Chemistry*, 63(10), 1053–1056, 1991. Disponível em: https://doi.org/10.1021/AC00010A025/ASSET/AC00010A025.FP.PNG_V03. Acesso em: 11 abr. 2025.

Zárate, N.; Pérez-Olmos, R. & dos Reis, B. F. Turbidimetric determination of sulfate in rainwater employing a LED based photometer and multicommutated flow analysis system with in-line preconcentration. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22(6), 1009–1014, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000600002>. Acesso em: 14 abr. 2025