

Artigo

Sistemas de Injeção em Fluxo e em Batelada com Detecção Eletroquímica Aplicados na Determinação de Fármacos

de Resende, M. A. C.; da Silva, D. N.; Pereira, A. C.*

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (5), 1186-1209. Data de publicação na Web: 7 de Agosto de 2020

<http://rvq.sbq.org.br>**Flow and Batch Injection Systems with Electrochemical Detection Applied in Drugs Determination**

Abstract: During the human development is common have an increase of medications consumption, in especial caused by new disease or complications, both in the health of the humans and animals. This may it turn a social problem because of no frequency on industrial or environmental control. In that context, exist a necessity of efficient methodologies to monitory the biochemistry composition of products or waste generated and in this perspective the electrochemistry has been so much studied. Any important characteristics of the electrochemistry methodologies need be highlight, such as portability, analytical speed, high sensibility and selectivity, besides of good results of detection and quantification of analyte. It can be further explored in terms of better robustness, velocity and analytical frequency when associated, for example, the flow or batch system of injection. Flow Injection Analysis (FIA) is an analytic system where the samples are moved in direction to the detection with a flow of solutions, while the Batch Injection Analysis is a system used to insert the samples mechanically into the work electrode surface, allowed to both successive analysis. These technologies are characterized by low consumption of solution, relative low cost of instrumentation and easy maintenance. Due it, the goal of this work is to do a review about the advantages of the electroanalytical methods when they are used with FIA and BIA system, highlight their assembly and application to detection of drugs.

Keywords: Electrochemical detection; determination of drugs; flow injection analysis; batch injection analysis.

Resumo

Com o passar do tempo o consumo de medicamentos tem se tornado excessivo, principalmente com o desenvolvimento de novas doenças ou complicações tanto na saúde de humanos como de animais, o que se torna um problema social devido à ausência frequente do controle industrial e ambiental. Nesse sentido, há uma demanda por metodologias eficientes para o monitoramento bioquímico dos produtos e resíduos gerados e, nessa perspectiva, destacam-se os métodos eletroanalíticos, já que estes apresentam portabilidade, rapidez analítica, alta sensibilidade e seletividade, além de bons resultados de limite de detecção e quantificação de vários desses fármacos. Essas metodologias podem ainda ser aprimoradas quanto à robustez, velocidade e frequência analítica por meio, por exemplo, da utilização dos sistemas de injeção em fluxo e em batelada. A Análise por Injeção em Fluxo (FIA) consiste de um sistema analítico no qual as amostras são carregadas e transportadas ao longo do sistema por um fluxo contínuo de soluções em direção ao detector, enquanto que na Análise por Injeção em Batelada (BIA) alíquotas das amostras são injetadas mecanicamente sobre a superfície do eletrodo de trabalho permitindo, em ambas, a realização de análises sucessivas. Estas tecnologias possibilitam então, um baixo consumo de soluções, são de fácil manuseio e manutenção, contando ainda com o custo moderado para a instrumentação necessária. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo revisar sobre as vantagens dos métodos eletroanalíticos acoplados aos sistemas FIA e BIA, destacando a montagem e a aplicação de tais sistemas na determinação de fármacos.

Palavras-chave: Detecção eletroquímica; determinação de fármacos; análise por injeção em fluxo; análise por injeção em batelada.

* Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Dom Bosco, Departamento de Ciências Naturais, Praça Dom Helvécio 74, Fábricas, CEP 36301-160, São João del-Rei-MG, Brasil.

 autor@gmail.com

DOI: [10.21577/1984-6835.20200095](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200095)

Sistemas de Injeção em Fluxo e em Batelada com Detecção Eletroquímica Aplicados na Determinação de Fármacos

Mayra A. C. de Resende, Daniela N. da Silva, Arnaldo C. Pereira* 

Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Dom Bosco, Departamento de Ciências Naturais, Praça Dom Helvécio 74, Fábricas, CEP 36301-160, São João del-Rei-MG, Brasil.

*arnaldocsp@yahoo.com.br

Recebido em 18 de Novembro de 2019. Aceito para publicação em 22 de Julho de 2020.

1. Introdução

2. Materiais e Métodos

3. Resultados e Discussões

3.1. Aspectos e definições do sistema FIA (Flow Injection Analysis)

3.2. Aplicações do sistema FIA com detecções eletroquímicas na determinação de fármacos

3.3. Aspectos e Definições do sistema BIA (Batch Injection Analysis)

3.4. Aplicações do sistema BIA com detecção eletroquímica na determinação de fármacos

3.5. Metodologias Eletroquímicas empregando sistemas FIA e BIA na Determinação de Fármacos

4. Considerações Finais

1. Introdução

A população brasileira se enquadra entre as nações que apresentam o maior consumo de medicamentos no mundo e que apesar disso, ainda possui grandes falhas no controle da produção, liberação e no descarte dos resíduos de fármacos. Nesse sentido, há uma crescente busca por metodologias que sejam eficientes para o controle das produções farmacêuticas, tanto para serem empregadas na manutenção da qualidade dos medicamentos antes de serem liberados pelas indústrias, assim como para monitorar os resíduos dessas indústrias, aqueles provindos das redes de saúde, e ainda originados do metabolismo humano ou animal.¹

Dentro desse contexto, a Química Analítica é uma área de pesquisa que praticamente domina as análises de controle de qualidade e dessa maneira, diversas subáreas da Química Analítica trazem propostas ainda mais inovadoras que conquistam

o mercado, com produtos mais baratos, eficientes e de fácil acesso. A Eletroanalítica se enquadra nas áreas de mais destaque nos últimos anos, isso devido aos resultados bastante promissores para análises de uma diversidade de espécies químicas muitas vezes de estruturas pouco triviais e que são difíceis de serem analisadas por outros métodos.²⁻⁶

O funcionamento básico da eletroanalítica está relacionado à movimentação de elétrons em meio a uma solução eletrolítica que seja capaz de estabelecer o equilíbrio da solução na célula eletroquímica junto à superfície do eletrodo de trabalho. Nesse sentido, as reações de oxidação ou redução das espécies químicas de interesse que ocorrem na interface eletrodo/solução são responsáveis pela geração do sinal elétrico que é captado pelo sistema de detecção e em seguida monitorado por meio de softwares.^{7,8}

Algumas vantagens da eletroanalítica que podem ser destacadas são: a elevada sensibilidade, um custo moderado, fácil manuseio dos equipamentos, boa seletividade e rapidez nas análises. Além disso,

também é possível fazer a miniaturização do sistema possibilitando métodos mais portáteis e de fácil acesso, principalmente devido ao fato de não necessitar de um preparo de amostras tão complexo para efetuar análises nesses sistemas.^{2,4,5,9,10} As eletroanálises, na sua maioria, também apresentam valores de limites de detecção e limites de quantificação comparáveis aos métodos padrão para testes analíticos variados, sem contar que também é possível fazer estudos comparativos desses parâmetros baseados nas diferentes técnicas eletroanalíticas disponíveis, dentre as quais as amperométricas e as voltamétricas tem maior relevância na literatura.^{8,11,12-14}

O aumento da robustez e da frequência analítica das metodologias também são considerados importantes, principalmente para análises de larga escala de amostras. Pensando nisso, existem sistemas de injeção que acoplados à eletroquímica promovem melhorias nos parâmetros citados e conduzem ao desenvolvimento de métodos mais vantajosos e aplicáveis no controle de qualidade. Dentre esses sistemas, o FIA (*Flow Injection Analysis*) e o BIA (*Batch Injection Analysis*) são bastante explorados tanto na área de pesquisa como em indústrias, pois apresentam além das vantagens citadas, vários outros fatores de grande interesse nesta área, como a simplicidade, portabilidade e automatização das análises, termos que serão melhor abordados nesse trabalho.^{7,10,15-18}

Visto que o foco deste artigo é em metodologias eletroanalíticas acopladas aos modelos de injeção FIA e BIA, vale ressaltar um pouco sobre as técnicas mais exploradas no uso desses sistemas: as amperométricas. A amperometria tem por princípio de funcionamento a aplicação de um degrau de potencial, ou seja, a resposta de corrente obtida com o potencial aplicado decai gradativamente com o tempo da análise. Essa característica define a amperometria convencional como uma técnica usada para medir um valor de corrente a partir de um único potencial constante fixado, e uma vantagem associada é a baixa corrente capacitiva gerada no processo, considerada muitas vezes zero devido a sua constância.^{7,8,19,20}

De maneira contrária, quando associada ao FIA ou BIA, a amperometria convencional apresenta a sua maior limitação quanto à passivação do eletrodo, justamente pela aplicação de potencial único e constante, o que compromete a repetibilidade do método. Nesse sentido existem duas outras modalidades de amperometrias que são a Detecção Amperométrica Pulsada (PAD) e a Amperometria

de Múltiplos Pulsos (MPA), de forma que em ambas é possível aplicação de dois ou mais pulsos de potencial. Estes potenciais podem ser usados tanto para limpeza da superfície do eletrodo como também para possíveis detecções simultâneas.^{7,8,19,20}

O que diferencia PAD e MPA são as possíveis aquisições de corrente gerada, o que significa que na PAD por mais que sejam aplicados mais de dois potenciais é possível medir e avaliar apenas a corrente gerada por um potencial selecionado. Já na MPA todos os potenciais aplicados podem ter suas correntes monitoradas durante o tempo de análise, aumentando as possibilidades de utilização da técnica. Além dessas características básicas, ao longo do texto serão abordados trabalhos diversos que irão permitir identificar e discutir sobre outras vantagens das técnicas amperométricas no uso conjunto das metodologias eletroanalíticas em fluxo e batelada.^{7,8,19,20}

É fundamental, na eletroanalítica, enfatizar pontos importantes sobre o uso dos Sensores Eletroquímicos, os quais são essenciais nesse tipo de metodologia. Estes dispositivos são formados por sensores base, capazes de “capturar” as informações químicas e convertê-las em sinais mensuráveis de interesse analítico. Uma das grandes vantagens dos sensores é a possibilidade de serem formados por diversos materiais e também aceitarem a deposição de modificações distintas em sua superfície, sendo possível então escolher características favoráveis desses materiais de acordo com a análise de interesse. Uma vez modificados, os eletrodos base passam a ser chamados Eletrodos Quimicamente Modificados (EQMs) e como consequência de uma modificação direcionada ao analito e também ao tipo de amostra a ser aplicado, os sensores desempenham seu papel de transdutor com maior sensibilidade e seletividade.^{5,13,14,21-23}

Apesar da diversidade nos modelos de eletrodos *design* do suporte ou materiais modificadores que constituem os sensores, os sistemas em fluxo ou em batelada são bastante versáteis quanto à adaptação do eletrodo, sendo necessário muitas vezes somente a alteração da célula de trabalho ou ainda pequenas modificações na estrutura física do próprio eletrodo, de forma que estes aspectos não são limitadores da expansão dos trabalhos abordando sobre o tema.^{5,17,18,21-23} O gráfico apresentado na Figura 1 mostra a evolução dos números de trabalhos publicados sobre os sistemas FIA e BIA nos últimos dez anos, a partir do qual é possível observar números bastante significativos de publicações, as quais mostram-se crescentes ao longo dos anos.

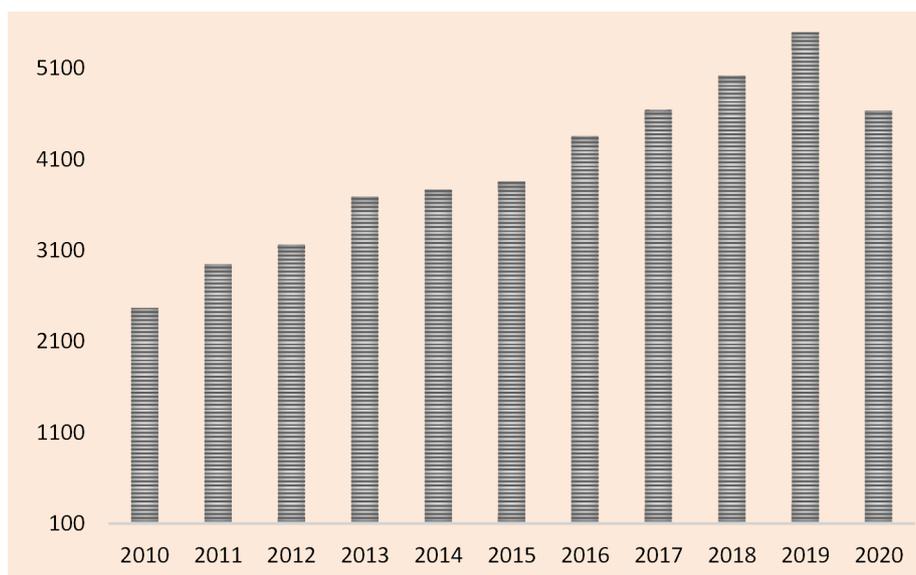


Figura 1. Gráfico representativo dos números de publicações anuais de FIA e BIA. Fonte: *Science Direct*. Acessado em 13/07/2020. Palavras chave utilizadas: *System of Flow and Batch Injection*

Nesse sentido, no desenvolvimento desse trabalho serão citadas referências que exemplificam a aplicação de alguns desses tipos de sensores usados em metodologias que empregam o FIA e o BIA, demonstrando suas características, entre vantagens e desvantagens de interesse na química analítica.

2. Materiais e Métodos

Para realização deste trabalho de revisão bibliográfica, tomou-se como fonte de pesquisa periódicos com o tema sistemas de injeção aplicados na determinação de fármacos. Priorizou-se estudos desenvolvidos com os sistemas de injeção em fluxo e em batelada, sendo usados livros e artigos de até os últimos dez anos para detalhar os conceitos básicos e artigos dos últimos cinco anos para exemplificar resultados e discutir as vantagens e desvantagens da metodologia. Dessa forma, totalizou-se um número correspondente a 96 trabalhos consultados com descrições tais como FIA, BIA e detecção eletroquímica.

3. Resultados e Discussões

3.1. Aspectos e definições do sistema FIA (*Flow Injection Analysis*)

“Análise química por injeção em fluxo” é o termo mais utilizado para tradução em português

de FIA (*Flow Injection Analysis*), um sistema de injeção desenvolvido em 1975 por Ruzicka e Hansen.²⁴ Estes estudiosos propuseram uma inovação nos sistemas de análises químicas, para principalmente laboratórios clínicos de rotina visando a determinação automática de espécies em amostras biológicas para diagnóstico médico. Anterior à criação do FIA era utilizado um fluxo segmentado das amostras, as quais eram separadas entre si por bolhas após cada injeção sucessiva. O sistema de equipamentos era bem semelhante aos utilizados atualmente, com os quais foram feitas as primeiras análises com detecção por absorção molecular.^{24,25}

Apesar da função de reduzir a dispersão e impedir a contaminação entre amostras, as bolhas precisavam ser retiradas antes da detecção, o que dificultava o uso do sistema. Uma realização de maior número de análises em menor espaço de tempo e equipamentos mais simples seria conquistada com a retirada das bolhas durante o fluxo. Dessa forma, o método segmentado foi e vem sendo cada vez mais substituído por um fluxo contínuo ou até mesmo por sistemas discretos com base em robôs. O sistema FIA foi ocupando lugar de muitos métodos analíticos e juntamente com ele novas propostas de métodos e técnicas de detecção vem melhorando as características das análises em geral.²⁵⁻²⁸

Em termos básicos, o FIA tem como principal função impulsionar e carregar fluidos de uma análise dentro do sistema em direção a um

detector, promovendo melhores resultados por meio, por exemplo, da facilidade e da rapidez das análises. Esse sistema inicialmente tinha a injeção da amostra feita por uma seringa hipodérmica e posteriormente, com a evolução dos métodos e a sofisticação de materiais, a instrumentação desse sistema foi cada vez mais aprimorada.^{7,25,26,28}

A primeira das três partes básicas que compõem o sistema FIA de linha única é a propulsão (Figura 2A), na qual na maioria das vezes é utilizada uma bomba peristáltica que tem como função impulsionar o fluido e promover o fluxo contínuo de soluções. A bomba é um equipamento bastante eficiente que oferece velocidades bem controladas ao fluxo e isso facilita o procedimento por conta da mecanização do sistema. No entanto, existem dois obstáculos relevantes nessa bomba que são o alto custo desse equipamento e a grande geração de ruídos na linha base da análise devido aos pulsos gerados, de maneira que, novos tipos de equipamentos substituintes da bomba peristáltica têm sido ainda mais desenvolvidos e empregados.^{19,29}

Uma alternativa viável de substituição das bombas peristálticas foi proposta por Moreira *et al.* em 2014,¹⁹ na qual utilizaram bombas de aquário e alguns outros materiais alternativos, mostrando além de bons resultados, um baixo custo e fácil manuseio de equipamentos. O controle das vazões dos minicompressores de ar utilizados foi feito por meio da variação das pressões obtidas pelas diferentes alturas de colunas de água. Esses sistemas alternativos têm sido aplicados principalmente com funções didáticas e nesse artigo,¹⁹ foram feitos dois

estudos para validação. Primeiro avaliou-se o comportamento do ânion $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ que tem processo redox bem estabelecido e o segundo estudo foi avaliar a estequiometria do composto formado por Cu^{2+} e EDTA, onde ambos os estudos apresentaram resultados bastante satisfatórios, sem contar que a aquisição instrumental é de fácil acesso e possibilita aplicação desses tipos de métodos no Ensino de Química.¹⁹

Depois do sistema de propulsão que pode ser bastante alternado como exemplificado pelo trabalho citado,¹⁹ o segundo componente do sistema em fluxo é o injetor (Figura 2B), o qual tem como função a injeção da amostra ou solução padrão no fluxo de soluções, e que em relação ao uso direto de seringas, por exemplo, diminuem a contaminação da amostra ou do analista e também permitem um aumento da repetibilidade do sistema.^{24,25}

O injetor utilizado atualmente é um aparelho composto por três partes, sendo geralmente, duas fixas na base acrílica do injetor e uma com movimento para frente e para trás, chamada válvula, responsável por inserir o volume de amostra no “caminho” analítico. É possível preencher a alça de amostragem de maneira contínua utilizando-se a própria bomba peristáltica, na qual haverá um canal exclusivo para o analito que será bombeado até a alça de amostragem. Nesse caso, o gasto de reagentes é maior já que o analito deve passar por todo um percurso analítico até completar o volume de amostragem desejado. Além deste modo de injeção, é muito utilizada também uma seringa comum com função de preencher o volume da alça

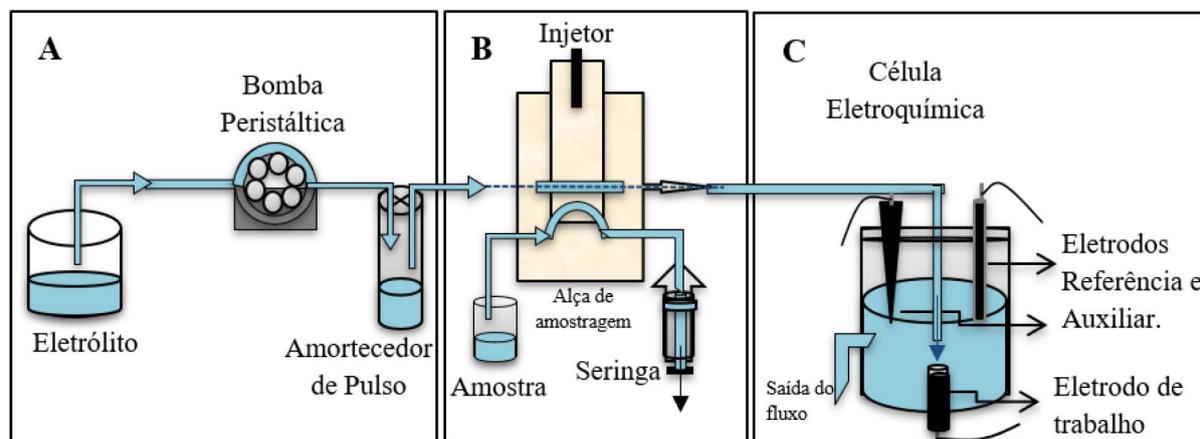


Figura 2. Esquema ilustrativo do Sistema por Injeção em Fluxo com carregamento da amostra realizada por seringa. A) Propulsão utilizando bomba peristáltica junto com amortecedor de pulsos; B) Injetor de acrílico com seringa para preenchimento da amostra; C) célula eletroquímica como modelo de detector (Fonte: próprio autor)

de amostragem e em seguida o injetor insere essa amostra no percurso analítico que será direcionada até a célula de análise (parte B da Figura 2).^{8,25}

Após a injeção da amostra no fluxo, ocorre o processo de dispersão do analito e de reação química no percurso analítico que é uma parte bastante simples em sistemas de linha única, sendo este o mais utilizado com detectores eletroquímicos. Além da injeção direta do analito, é possível gerar a espécie de interesse dentro do percurso analítico, podendo aumentar a versatilidade do sistema. Esses modos de produção do analito via reação no fluxo (indiretamente) são muito comuns quando se utilizam técnicas espectrofotométricas ou cromatográficas.²⁵

Por fim, o sistema é composto da parte de detecção, que é a responsável pela obtenção do sinal analítico. Como já citado, esse tipo de sistema permite uma aplicação variada de modos detectores sendo que neste trabalho será abordado sobre detecção eletroquímica. Dessa forma, após a inserção do analito pelo injetor, este juntamente com a solução suporte segue o fluxo de soluções em direção a uma célula eletroquímica como ilustrado na Figura 2. Nessa célula, um ganho de corrente promovido pela movimentação de elétrons entre a solução e o eletrodo de trabalho é medida e o sinal pode ser registrado por meio de programas de computador.

Após a identificação das partes do sistema, é possível avaliar as fases de carregamento da

solução de amostra injetada no fluxo carregador. No momento em que ocorre a injeção da amostra, ou seja, assim que o volume de amostra é inserido pelo injetor no fluxo, esta amostra ou o padrão encontra-se, instantaneamente, em um formato retangular de concentração (Figura 3). Assim que essa alíquota é carregada pelo eletrólito suporte em direção ao detector, ela se dispersa formando um fluxo denominado laminar, como se a velocidade do fluido fosse constante e sem que as camadas dispersas no sistema se misturem, mostrado também na Figura 3.³⁰

Essa dispersão ocorre como resultado da convecção do fluxo laminar, sendo que o centro do fluido se movimenta mais rápido que sua fração próxima às paredes dos tubos. Pode ocorrer também a difusão por concentração que altera o perfil de acordo com a alíquota injetada. No pontos marcados na Figura 3 observa-se o modelo de sinal obtido de acordo com cada fase da injeção, em I mostra-se um sinal constante de corrente correspondente à presença do eletrólito suporte, II é o sinal gerado pelo início do contato do fluxo da amostra com o eletrodo que segue em aumento brusco da concentração de fluido presente, assim como da corrente gerada. Logo, em III observa-se o ponto de aumento máximo da corrente que é relativo ao contato do centro do fluido com a superfície do eletrodo e por último, IV representa a queda brusca de corrente que acontece logo em seguida do ponto III, pois

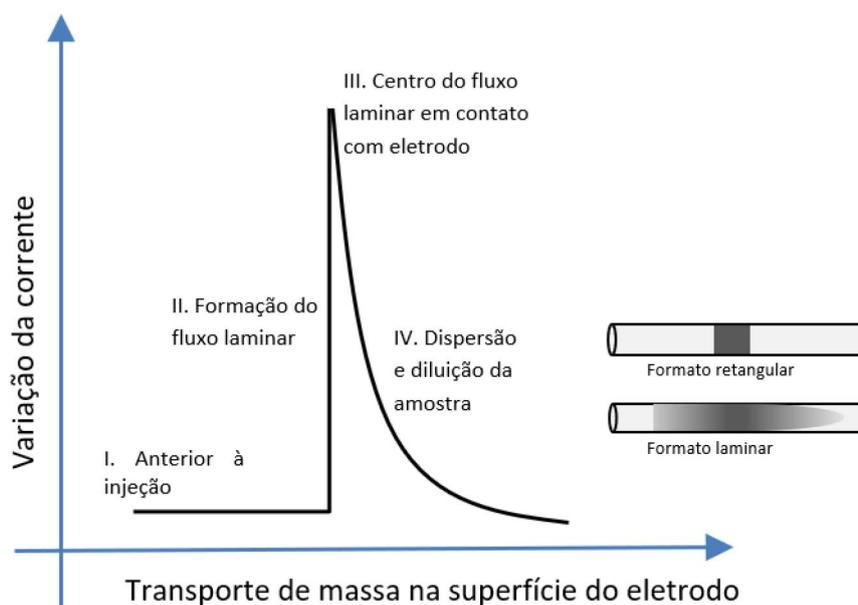


Figura 3. Esquema ilustrativo do sinal de corrente correlacionado com o transporte de massas devido ao fluxo contínuo de soluções do FIA (Fonte: próprio autor)

corresponde à rápida dispersão da amostra devido à velocidade com que o fluxo de soluções é mantido durante a análise.³⁰

É válido citar ainda que com a utilização do sistema FIA é necessário otimizar alguns parâmetros para a análise, tais como a alça de amostragem, que corresponde ao volume de amostra injetado a cada análise, o tamanho e o posicionamento do percurso analítico que corresponde ao caminho que a amostra e/ou reagentes percorrem até atingirem o detector e a vazão da bomba peristáltica que corresponde à quantidade de solução liberada pela bomba por unidade de tempo durante o fluxo. Esses parâmetros serão avaliados de acordo com a técnica aplicada ao sistema como, por exemplo, amperometria de múltiplos pulsos, voltametria de onda quadrada ou voltametria cíclica, de forma que para cada uma existe uma avaliação diferenciada do ganho de corrente e desvio padrão para a otimização do método.⁸

A partir dos conhecimentos sobre o funcionamento de cada componente do sistema em fluxo e sabendo-se como o sistema atua na construção de diversos métodos, é importante citar algumas vantagens que esse sistema oferece, sendo elas: (i) o baixo custo dos aparelhos utilizados, que além dos modelos originais são possíveis adaptações alternativas; (ii) a grande economia na quantidade de reagentes, pois são possíveis análises com pequenos volumes das amostras; (iii) aumento da sensibilidade devido ao incremento no transporte de massa gerado pelo fluxo no sistema; (iv) baixo risco de contaminações de amostras e também do analista, devido à mecanização do sistema evitando contato direto com o material de análise; (v) e pela automatização do sistema, ainda é possível aumentar a velocidade das análises e a frequência analítica do método.^{7,20}

3.2. Aplicações do sistema FIA com detecções eletroquímicas na determinação de fármacos

De forma geral, o uso das técnicas voltamétricas, tais como voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada, voltametria de pulso diferencial em trabalhos no modo estacionário é bem difundido e tem ganhado destaque na literatura³¹⁻³³ principalmente pela facilidade da análise. Além das voltametrias, métodos utilizando a amperometria também são apresentados em referências na literatura^{34,35} com muitas aplicações, por exemplo, dirigidas para a determinação de espécies

químicas complexas. Ambos os tipos de técnicas citados permitem utilização de diversos modelos de eletrodos base como, por exemplo, de ouro, carbono vítreo, pasta de carbono, diamante, entre outros vários modelos de eletrodos impressos. Outra prática relevante tem sido a modificação desses eletrodos para melhorar características como sensibilidade, seletividade e especificidade do método, podendo-se utilizar materiais variados como DNA, enzimas, materiais carbonáceos, nanomateriais, entre outros.

No entanto, um obstáculo enfrentado na maioria dos métodos de análise estacionários é a passivação da superfície do eletrodo, que corresponde ao acúmulo de espécies eletroativas ou produtos das reações redox na superfície do eletrodo durante a análise. Isso ocorre porque análises são feitas seguidamente, sem a limpeza do eletrodo nos intervalos entre injeções, já que em métodos estacionários isso demanda desmontagem do sistema, limpeza do eletrodo e nova preparação dessa superfície, aumentando o tempo do procedimento e então diminuindo a frequência analítica. Dessa forma, as espécies em excesso acabam sendo adsorvidas na superfície do eletrodo e dificultam uma nova análise, afetando principalmente a repetibilidade do método que é determinada pela possibilidade de realizar várias análises com resultados equiparáveis em um mesmo sistema. Para contornar esses problemas, existem algumas maneiras, tais como o emprego de compostos químicos como o EDTA no eletrólito suporte para retirada de íons interferentes na análise³⁴ ou também fazer a reativação on-line da superfície do eletrodo.³⁵

Nesse sentido, os sistemas de injeção em fluxo são também uma alternativa para contornar problemas como a contaminação da superfície do eletrodo de trabalho, pois o fluxo contínuo de soluções faz essa limpeza constante durante as análises. Além disso, é possível a adição de volumes específicos de reagentes direcionados à limpeza ou reativação do eletrodo nos intervalos das análises, sem que seja necessário interromper o fluxo ou desmontar o sistema. O fluxo pode ser utilizado ainda para aumentar a velocidade das análises, devido à automatização do sistema, sendo um sistema que confere menores gastos de amostras.⁷

No trabalho de Miranda,³⁶ foi realizada a determinação simultânea de aspirina e ácido ascórbico acoplado-se MPA com o sistema de injeção em fluxo. Esse tipo de metodologia

desenvolvida foi fundamental para contornar problemas como a passivação da superfície do eletrodo de trabalho, por meio da aplicação de vários pulsos associados ao fluxo constante de soluções. Com isso, além de possibilitar uma limpeza contínua no eletrodo, há baixo consumo de reagentes pelos pequenos volumes de analitos utilizados, fácil preparo das amostras e redução de resíduos gerados, tornando o método mais eficiente.³⁶

Existem vários trabalhos^{8,20,34,35} com a utilização de sistemas em fluxo sendo a maioria deles utilizando as técnicas amperométricas, principalmente direcionados à determinação de espécies químicas variadas como em amostras farmacêuticas e de águas residuais.

O trabalho desenvolvido por Lima *et al.*,³⁷ intitulado “Determinação de Nimesulida por análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos”,³⁷ também exemplifica a determinação de fármacos utilizando o sistema de injeção em fluxo acoplado à técnica amperométrica de múltiplos pulsos, no qual foi utilizado um eletrodo de Diamante Dopado com Boro (DDB) como eletrodo de trabalho. O sistema FIA-MPA, além de apresentar vantagens como baixo custo de instrumentação e rapidez das análises, pode adaptar-se muito bem a análises que possuem problemas com interferentes, por exemplo. Nesse trabalho,³⁷ foram utilizados três valores de potenciais para detecção, garantindo a determinação seletiva do analito desejado e aumentando os níveis de reprodutibilidade do método. O método proposto (FIA-MPA) apresentou limite de detecção para Nimesulida de 0,081 $\mu\text{mol L}^{-1}$ considerado um valor ótimo, pois é um valor menor comparado, por exemplo, ao método usando a amperometria convencional e eletrodo de carbono vítreo que apresentou limite de detecção de 3,100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, em testes de adição e recuperação feitos com amostras farmacêuticas de comprimidos de 100 mg foi obtido valor de recuperação de $103,5 \pm 0,6$ mg, considerado bom quando comparado a métodos espectrofotométricos, por exemplo (recuperação: $104,0 \pm 0,8$ mg).³⁷

Outra vantagem do FIA acoplado à MPA é a possibilidade de análise indireta de compostos eletroativos. Para isso, na análise de duas espécies, por exemplo, aplica-se um potencial no qual as duas espécies em estudo sofram processos redox e em seguida é aplicado outro potencial, no qual apenas o produto da primeira reação é reduzido ou oxidado novamente. Assim no processo indireto, o

analito será quantificado após duas reações redox ao contrário do que ocorre no método direto, no qual o analito é injetado para análise e por uma única reação redox permite determiná-lo. Dessa forma é possível, por exemplo, resolver problemas como a sobreposição de sinais eletroquímicos entre espécies diferentes as quais não apresentam as mesmas características acerca da reversibilidade ou não do sistema. O sistema FIA é fundamental nesse tipo de análise, pois permite injeções rápidas de amostras e de pequenos volumes, o que evita a contaminação da superfície do eletrodo e aumenta a frequência analítica do método.³⁸

O trabalho de Possari *et al.*³⁸ descreve a utilização do mesmo tipo de sistema em fluxo (FIA) acoplado à amperometria (MPA) utilizando eletrodo de ouro para a determinação de cisteína pelo método indireto. Nesse trabalho, foi aplicado um primeiro potencial de +0,10 V no tempo de 700 ms por meio do qual foi possível obter o sinal de corrente equivalente à oxidação da cisteína. O produto gerado da primeira oxidação do analito permaneceu adsorvido na superfície do eletrodo e foi levado à redução em potencial diferente do anterior (-0,60 V por 30 ms). Esse trabalho³⁸ apresentou frequência analítica de 23 injeções por hora e foi designado efetivo para determinação de cisteína em amostras de alimentos.

Outros autores³⁹ relataram o desenvolvimento de um método para determinação de penicilina usando o sistema FIA e eletrodo de Diamante Dopado com Boro (DDB). No sistema FIA acoplado à técnica de pulso foram obtidas boas respostas de estabilidade, com frequência analítica de 45 injeções por hora, e apenas 1,80 % de diferença no pico de corrente, valores justificados principalmente pela utilização do sistema de injeção que promove rapidez na análise, automatização do método e, portanto, redução de possíveis contaminantes das amostras. O limite de detecção apresentou-se com valores de concentrações abaixo de 10,0 nmol L^{-1} , sendo considerado um método sensível e reprodutível sem a necessidade de pré-tratamentos na superfície do eletrodo. Foram realizadas aplicações do método desenvolvido em amostras reais de cápsulas de penicilamina, e os resultados mostraram-se satisfatórios, sendo que nos testes de adição e recuperação realizados inter-dia foi possível observar um percentual de recuperação de 102,22 % da análise do comprimido. Isto indica que o método pode ser considerado eficiente para determinação do analito estudado.³⁹

O sistema FIA principalmente acoplado à MPA permite fazer análises simultâneas de compostos diversos. Esse método consiste em aplicar um potencial, no qual apenas um dos analitos apresenta sinal redox e um segundo pulso é aplicado com o objetivo de monitorar a corrente obtida pela resposta de ambos os compostos, podendo ser oxidação ou redução do analito. Fazendo-se a diferença do valor de corrente entre os dois picos do sinal, aquele obtido no segundo pulso menos o sinal obtido no primeiro pulso, é possível obter a resposta amperométrica do segundo composto, que apresentou pico redox apenas no segundo pulso de potencial. O uso do FIA nesse tipo de análise tem papel essencial, pois, por exemplo, entre uma aplicação e outra das amostras separadas de cada analito pode ser necessária a injeção de alíquotas de reagentes para limpeza ou reativação do eletrodo. Outra forma de se obter essa limpeza é por meio do fluxo constante do eletrólito suporte, impedindo então a passivação na superfície do eletrodo e tornando o método mais sensível e com boa repetibilidade.

No trabalho de Surareungchai, et al., intitulado "Quadruple-pulsed amperometric detection for simultaneous flow injection determination of glucose and fructose",⁴⁰ é descrita a determinação simultânea de glicose e frutose usando sistema FIA e detecção amperométrica pulsada (DPA) com válvula de injeção (modelo 7125, Rheodyne). Nesse trabalho foi empregado um eletrodo de ouro modificado com nafion e após a otimização de alguns parâmetros como os pulsos de potenciais de detecção, tempo de aplicação dos pulsos e melhor volume de amostra, foi definida a aplicação de um potencial de -0,45 V por 240 ms que permitiu identificar apenas oxidação da molécula de glicose, o que possibilita a quantificação deste analito sem interferência da frutose.⁴⁰ Em seguida foi aplicado outro potencial (+0,20 V por 180 ms) no qual ambos os analitos (glicose e frutose) apresentaram sinal de corrente, correspondendo à oxidação de grupos presentes em ambas as moléculas estudadas.

Como no primeiro potencial apenas a glicose apresentou resposta redox, por meio da diferença do valor de corrente obtido no potencial de +0,20 V pela corrente obtida no potencial de -0,45 V foi possível avaliar o sinal correspondente apenas à oxidação da frutose, sem interferência da glicose.⁴⁰ Diante disso, foi comprovada a eficiência desse método⁴⁰ fazendo-se aplicação em diferentes amostras de frutas para determinação tanto da

glicose como da frutose e também pela comparação com dados apresentados pelo método HPLC. Os dados de recuperação obtidos com uso do FIA, foram coerentes com aqueles apresentados pelo sistema HPLC, podendo-se ilustrar com dados de amostras de maçã, por exemplo. Para determinação de glicose foi obtido valor de 59,2 mg g⁻¹ de maçã com o sistema FIA-DPA enquanto que em HPLC foi de 59,6 mg g⁻¹ e para frutose obteve-se valor de 238,5 mg g⁻¹ em FIA-DPA enquanto que em HPLC foi de 232,2 mg g⁻¹. Esses dados mostram que o método eletroquímico com o FIA é viável para aplicação em amostras reais, pois além dos dados equiparáveis ao método oficial, o método com FIA apresenta instrumentação simples e fácil, o que leva a análises mais rápidas e permite a aplicação em escala industrial.⁴⁰

Gordito et al.⁴¹ publicaram o artigo intitulado "Flow-based amperometric detection of dopamine in an immobilized cell reactor", que aborda estudos neurais direcionados à investigação dos feitos em células PC 12 (células feocromocitoma de ratos) imobilizadas em tubos de microbore onde estas células foram responsáveis pela liberação de dopamina, que é o requisito chave para seu bom funcionamento como modelo mais completo de "Blood Brain Barrier" (BBB: sistemas desenvolvidos in vitro da barreira hematoencefálica). Para determinação da eficiência do método, foram realizadas medidas usando o FIA-MPA como forma de detecção da dopamina liberada, sendo feitas injeções sucessivas de 0,5 µL de dopamina 6,0 mmol L⁻¹. A partir disso foi obtido um valor de 2,3% correspondente ao desvio padrão relativo das amplitudes de pico referente às múltiplas injeções e ainda obtida uma sensibilidade de 2,13 nAL mol⁻¹. Essas medidas mostraram-se com bons valores e isso ilustra a precisão e a boa reprodutibilidade do método. Esta reprodutibilidade obtida está diretamente relacionada ao emprego do sistema em fluxo, pois esse tipo de injeção contínua e a quase total automatização do sistema permitem obter estabilidade, rapidez e menores riscos de contaminação nas análises.⁴¹

No artigo publicado por Akbari-adergani et al.,⁴² foi apresentada uma metodologia para determinação de histamina em amostras de atum, no qual foi utilizado o FIA com válvula injetora (modelo: Supelco Rheodyne Model 5020) e a detecção foi realizada por voltametria cíclica, utilizando eletrodo de ouro. Como pode ser observado no esquema ilustrativo da Figura 4, o

modelo de célula usado neste trabalho possui a entrada de solução de análise pela lateral esquerda, permitindo ver a posição dos três eletrodos como indicados, sendo o de referência posicionado na parte superior, na parte inferior à direita tem-se o eletrodo auxiliar e no final do tubo à direita o eletrodo de trabalho. As setas na imagem indicam a entrada da solução pela esquerda que segue até o eletrodo de trabalho e volta em direção ao canal de saída na parte inferior. Esse é um exemplo de célula eletroquímica que permite, portanto, o trabalho com o fluxo em diferentes tipos de eletrodos, que podem ser adaptados na estrutura dessa célula. Observou-se que o limite de detecção obtido foi menor que de outros métodos já descritos como, por exemplo, no trabalho também com sistema em fluxo de Takagi e Shikata⁴³ o qual apresentou o valor de $0,36 \mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto este trabalho⁴² apresentou valor de $1,90 \text{ pmol L}^{-1}$. Além disso, o método desenvolvido⁴² apresentou características ainda mais relevantes do sistema FIA tais como portabilidade do sistema e redução no volume de reagentes utilizados, devido ao tamanho da célula empregada no sistema o que ainda influencia no aumento da reprodutibilidade e estabilidades adquiridas pela automatização do sistema.

Da Silva⁴⁴ desenvolveu um trabalho para determinação de paracetamol e cafeína em formulações farmacêuticas, o qual também fez uso do sistema por injeção em fluxo acoplado à MPA como forma alternativa de determinação simultânea. Os analitos foram quantificados aplicando-se três potenciais durante a análise. Primeiramente, em potencial igual a $+1,20 \text{ V}$ aplicado por 50 ms , foi feita uma injeção de $100 \mu\text{L}$ de solução de paracetamol,

$100 \mu\text{L}$ de solução de cafeína e em seguida $100 \mu\text{L}$ de uma solução contendo cafeína e paracetamol. Nesse primeiro valor de potencial, apenas o paracetamol sofreu oxidação, demonstrado pelo pico de corrente obtido quando a solução de somente paracetamol foi injetada e outro pico de corrente quando a solução contendo os dois analitos foi injetada, já que foi comprovada a seletividade nesse potencial apenas para o paracetamol visto que quando injetada a solução somente da cafeína, não foi observado nenhum processo eletroativo. Em seguida aplicou-se um potencial de $+1,55 \text{ V}$ por 50 ms que promoveu a oxidação de ambos os analitos, observada por conta do pico de corrente obtido nos três tipos de injeções (solução de paracetamol, solução de cafeína e solução de paracetamol + cafeína), demonstrando que no potencial de $+1,55 \text{ V}$ foi possível determinar os dois analitos. Um ponto de destaque nesse tipo de determinação simultânea é que os valores de corrente observados para o paracetamol nos diferentes pulsos não foram exatamente os mesmos, então para fazer a diferença do sinal e obter o valor de corrente somente da cafeína foi necessária aplicação de um fator de correção.

Dessa forma, com o primeiro potencial ($+1,20 \text{ V}$) foi possível identificar e quantificar o paracetamol separadamente e com a aplicação do segundo potencial ($+1,55 \text{ V}$) foi permitida a quantificação somente da cafeína por meio da diferença de corrente obtida deste pulso com o primeiro ($+1,20 \text{ V}$) que era referente somente ao paracetamol. A aplicação de um terceiro potencial ($+0,40 \text{ V}$ por 50 ms) foi feita visando a limpeza eletroquímica na superfície do eletrodo de trabalho, eliminando os possíveis produtos das oxidações anteriores.

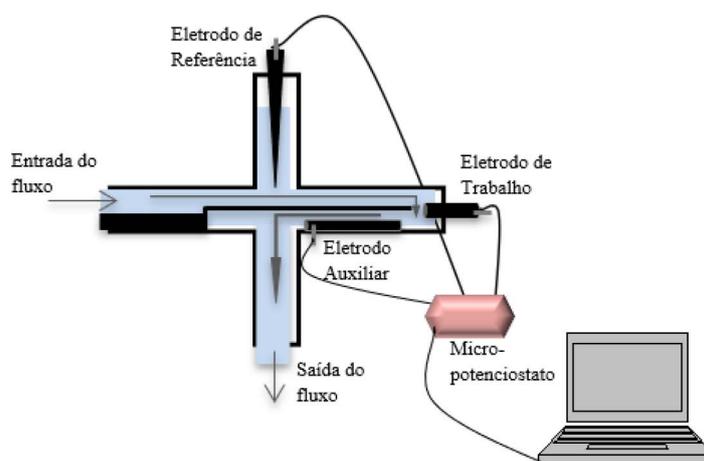


Figura 4. Esquema ilustrativo de modelo de célula eletroquímica de volume reduzido e com adaptações diferentes para os eletrodos, utilizada no trabalho acima referenciado⁴² (Fonte: próprio autor)

Vale ressaltar que esse potencial de limpeza é fundamental para eliminar espécies químicas restantes como subprodutos da reação na superfície do eletrodo. Além disso, um dos papéis de destaque do sistema FIA nesse método é permitir a inserção de variadas configurações das amostras (com ambos os analitos ou separadamente) em tempos desejados durante a análise, sem necessidade de desmontar o sistema ou de mudar o eletrodo, não comprometendo a frequência analítica das análises.⁴⁴

Trabalhos com a determinação de apenas um ou de dois analitos independentemente¹⁵ também são empregados utilizando o sistema FIA, como, por exemplo, no trabalho de Palaharn *et al.*⁴⁵ Nesse trabalho,⁴⁵ foi estudado um sistema para determinação de tetraciclina pelo método FIA-MPA sob um eletrodo de disco rotatório de ouro. Foi avaliado um potencial de oxidação e outro de redução para o analito, e este método apresentou-se aplicável devido aos bons resultados obtidos, tais como a ampla faixa de resposta (de 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 0,6 mmol L^{-1}) e sensibilidade de 13,7 mAL mol^{-1} . A aplicação do método em formulações farmacêuticas apresentou boa resposta de recuperação, sendo recuperado $254,3 \pm 9,3$ mg do antibiótico por

cápsula indicada de 250 mg. Dessa forma, o método foi validado podendo ser considerado como aplicável para determinação de tetraciclina em formulações farmacêuticas apresentando ainda algumas vantagens como a fácil instrumentação do sistema, alta velocidade de análise e menores riscos de contaminação correspondentes ao uso do FIA.^{45,46}

Avalia-se, portanto, que o sistema de injeção em fluxo é bem vantajoso e que acoplado a algumas técnicas eletroquímicas com boas características torna-se um sistema de análise ainda mais promissor. Na Tabela 1 estão apresentadas outras aplicações de métodos usando o FIA. Os trabalhos com o FIA apresentam algumas vantagens como a limpeza da superfície do eletrodo durante a análise, a facilidade no manuseio dos equipamentos, o baixo custo desses equipamentos e a possível aplicação direta da amostra, ou seja, sem preparos de amostras demorados ou de alto gasto de reagentes, que impulsionam cada vez mais as pesquisas na área de eletroanálises. Além disso, o FIA agrega principalmente uma grande funcionalidade em termos do aumento da frequência analítica do método e também na redução de contaminantes por causa da quase total automatização do método.^{12,36}

Tabela 1. Aplicações eletroquímicas usando sistema FIA descritas na literatura

| Técnica – Eletrodo | Analito | Amostra | LD (mol L^{-1}) | Volume da amostra (μL) | FA (h^{-1}) | Ref. |
|-----------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|------|
| AMP – ECV | Dopamina | Formulações farmacêuticas | $0,05 \times 10^{-6}$ | 20 | --- | 47 |
| VOQ – ECV | Nimesulida | Formulações farmacêuticas | $3,20 \times 10^{-6}$ | 50 | --- | 48 |
| AMP – EDDB | Ivermectina Levamisol | Formulações farmacêuticas e Urina | $0,30 \times 10^{-6}$ $1,00 \times 10^{-9}$ | 350 450 | --- | 49 |
| AMP- ECV/NT | Salbutamol | Formulações farmacêuticas | $1,00 \times 10^{-6}$ | 15 | 60 | 50 |
| AMP- ECV/AP+ BCTA+LO | L-lactato | Amostras de sangue | $0,84 \times 10^{-6}$ | 50 | 200 | 51 |
| AMP- SPE/ RuOx-CoOx | Xantina Hipoxantina Ácido Úrico | Soro sanguíneo/ Urina | $5,00 \times 10^{-8}$ $5,00 \times 10^{-7}$ $5,00 \times 10^{-8}$ | 500 | 360 | 52 |
| AMP - Au _{nano} @ CNF-CHIT/SPE | Isoniazida | Formulações farmacêuticas | $1,72 \times 10^{-7}$ | 20 | --- | 53 |
| VPD- EDDB | Cefalosporinas | Água de rio, urina e formulações farmacêuticas | $3,47 \times 10^{-5}$ | 50 | --- | 54 |
| AMP- EDDB | Hidroclorotiazida Enalapril | Formulações farmacêuticas | $0,20 \times 10^{-6}$ $0,01 \times 10^{-6}$ | 20 | 89 | 55 |

*FA: Frequência analítica; LD: Limite de Detecção; VOQ: Voltametria de Onda Quadrada; ECV: Eletrodo de Carbono Vítreo; AMP: Amperometria de Múltiplos Pulsos; SPE: *Screen Printed Electrode*; SnO₂: dióxido de Estanho; GO: Glicose Oxidase; NT: Nanotubo de Carbono; AP: Azul da Prússia; BCTA: Brometo de Cetil Trimetil Amônio; LO: Lactato Oxidase; RuOx–CoOx: Compósito à base de óxido de rutênio e óxidos de cobalto; Au_{nano}: nanopartícula de ouro; CNF: Nanofibras de carbono; CHIT: quitosana; VPD: Voltametria de Pulso Diferencial; EDDB: Eletrodo de Diamante Dopado com Boro

3.3. Aspectos e Definições do sistema BIA (Batch Injection Analysis)

Também conhecido como BIA ou Análise por Injeção em Batelada, esse sistema consiste em uma forma de injeção da amostra ou solução de analito diretamente na superfície do eletrodo, e este modo de injeção é denominado “*wall jet*”. Foi criado em 1991 por Wang e Taha e proporcionou principalmente a utilização de quantidades mínimas de solução de amostra para as análises. Nesse sistema, a amostra é injetada por meio de uma seringa ou micropipeta automática onde são gerados sinais transientes correspondentes às injeções, bem semelhantes aos obtidos quando se usa sistema em fluxo, como no trabalho de Stefano⁵⁶. No primeiro trabalho realizado por Wang e Taha⁵⁷ com o sistema BIA, utilizou-se uma célula eletroquímica, associada à técnica amperometria. Diferentemente das células mais atuais, esta célula possuía um dreno na posição lateral baixa que permitia esvaziar a célula quando necessário e também um orifício superior indicado que permitia o preenchimento contínuo da célula sem ter que desmontá-la para descartar o volume de solução em excesso.³⁰

As células eletroquímicas mais atuais para o BIA (Figura 5), contém os eletrodos de referência e auxiliar ambos na mesma direção de inserção da amostra e o eletrodo de trabalho encontra-se em direção oposta à seringa ou micropipeta, de modo que o analito seja injetado na superfície do eletrodo de trabalho e ambos os três eletrodos estejam submersos em solução de eletrólito suporte. Esse modelo de célula permite a adaptação de diversos tipos de eletrodos sem grandes dificuldades, necessitando de pequena alteração do modelo da célula ou adaptação do próprio eletrodo dependendo da necessidade do sistema. O

emprego de volume elevado de eletrólito na célula foi destacado na literatura como necessidade de diluição da amostra após a sua inserção para análise, de forma que novas alíquotas possam ser injetadas sem a interferência dos volumes já analisados.^{58,59}

Em relação ao volume de eletrólito usado nas análises eletroquímicas com o BIA, tem sido retratado na literatura^{30,60} que grandes volumes não são mais priorizados. Apesar do objetivo do uso de grandes volumes de soluções ser evitar também efeitos de memória na superfície do eletrodo, há trabalhos que demonstram a utilização de pequenos volumes de solução obtendo-se a mesma eficiência da análise.^{57,61} Dessa forma as células maiores entraram em desuso principalmente pelo grande gasto com reagentes e também porque as células menores fornecem ainda mais portabilidade ao sistema.

No início do desenvolvimento do sistema BIA as pipetas utilizadas para injeção da amostra eram pipetas manuais e isso fazia o método muitas vezes pouco preciso, pois dependia da habilidade do analista. Para minimizar esse tipo de obstáculo, novos modelos de pipeta foram desenvolvidos e a partir da aplicação das pipetas automáticas, características como a velocidade da injeção, controle da vazão e reprodutibilidade do método tornaram-se melhores.⁵⁹

O sistema de injeção em batelada é basicamente a célula eletroquímica modificada com o modo de injeção da amostra denominado “*wall jet*”. A pipeta automática é o ponto chave do sistema BIA de forma que o contato elétrico estabelecido entre o sistema, computador e o potenciostato permanecem os mesmos em relação a um sistema eletroquímico usual. Como observado na Figura 5, não existe qualquer válvula ou sistema de propulsão para a amostragem e também não existem canais de descarte das soluções que constantemente

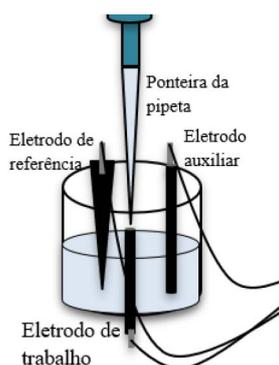


Figura 5. Esquema ilustrativo de célula para utilização em sistema em batelada (Fonte: próprio autor)

acumulam-se na célula. Esse sistema gera um interesse muito grande principalmente pela sua portabilidade, variedade de eletrodos que podem ser aplicados na determinação de espécies químicas, e facilidade da utilização do sistema.⁵⁸

Como já mencionado, os sinais obtidos da injeção de analito são transientes, por meio dos quais se obtém uma resposta proporcional de altura do pico de acordo com a concentração da amostra, que pode ser explicada a cada etapa da injeção do analito. No primeiro momento, antes da injeção do analito, a presença do eletrólito suporte de caráter inerte apresenta resposta constante de corrente formando uma linha base, que é indicativa de que não há troca ou transferência eletrônica entre o eletrodo e a solução (em I na Figura 6). Na segunda fase, durante a injeção do analito ocorre o transporte das espécies de interesse até a superfície do eletrodo e há um ganho elevado de corrente relacionado às reações redox que ocorrem no sistema; o transporte pode ser mecânico ou auxiliado por processos de convecção no sistema (em II na Figura 6).^{56,58,62}

Em seguida, na etapa de término da injeção da amostra ou até que todo o analito seja transferido para a superfície do eletrodo, como ilustrado em III na Figura 6, a corrente gerada por meio das reações redox é constante, enquanto acontecerem oxidação ou redução de espécies químicas. Ao fim da injeção da amostra, quando apenas os produtos da reação

redox estiverem presentes na interface eletrodo/solução, estas espécies entram em um processo de transporte por difusão para o seio da solução até que o equilíbrio inicial seja atingido e isso promove a queda brusca da corrente medida, indicado em IV na Figura 6. Quando o equilíbrio é atingido, a corrente se estabiliza novamente até que outra alíquota de amostra ou padrão seja depositada sobre a superfície do eletrodo, restando apenas uma corrente residual no sistema.^{56,58,62} Para que o equilíbrio seja estabelecido mais rapidamente, geralmente é utilizada agitação mecânica da solução, o que induz ainda um aumento da frequência analítica do método por permitir outra injeção de amostra em intervalo de tempo menor.⁵⁹

Como já descrito, além da instrumentação simples empregada para o BIA, são destacadas em trabalhos na literatura^{30,56,63} algumas outras vantagens, tais como boa sensibilidade, rapidez, simplicidade, boa repetibilidade e aplicação de baixos volumes de amostra o que reduz, portanto, o gasto de reagentes e a geração de resíduos. Este sistema permite alta frequência analítica, a obtenção de baixos limites de detecção e um custo reduzido.⁶³

Além disso, o fenômeno da passivação do eletrodo ou sensor, que é bem recorrente principalmente em análises feitas no método estacionário também é praticamente eliminado com a utilização do BIA, pois como demonstrado na Figura 6, novas soluções de amostra são injetadas na superfície do

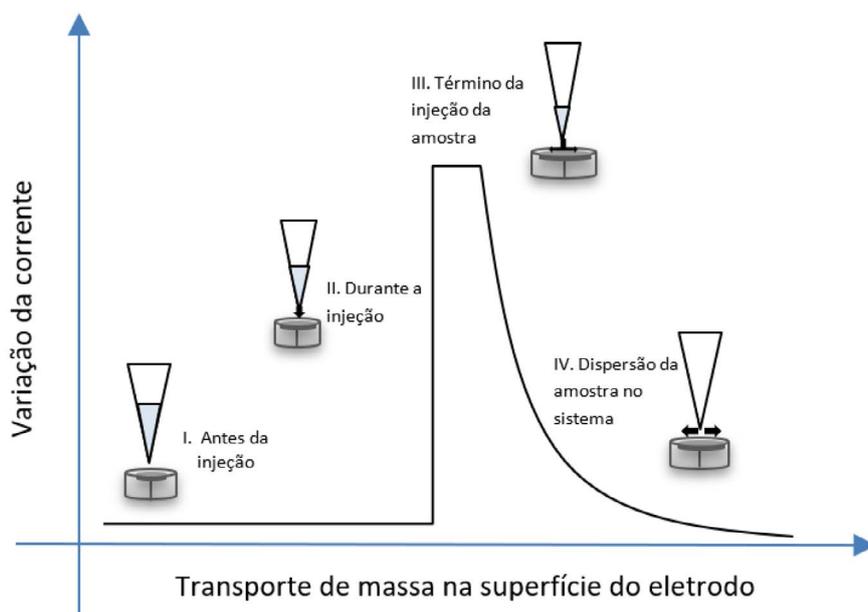


Figura 6. Ilustração do processo de injeção do analito no sistema BIA mostrando as fases de variação de corrente em relação à presença de amostra na superfície do eletrodo (Fonte: próprio autor)

eletrodo, de forma a reduzir essa contaminação.^{30,58} O controle das adsorções na superfície do eletrodo também pode ser feito pela utilização de métodos de padrão interno⁶⁴ ou ainda com a adaptação de técnicas como a amperometria de múltiplos pulsos que superam esse obstáculo fazendo, por exemplo, a limpeza on-line da superfície do eletrodo.⁶⁵

Um fator, porém, que limita a utilização do BIA pode ser a necessidade em alguns estudos de derivatização da amostra on-line, ou seja, “produção” do analito por meio de uma reação dentro da célula em contato com outros reagentes. Esse processo tem sua limitação no BIA porque a distância entre a seringa ou pipeta de injeção e a superfície do eletrodo é mínima e não permite um bom tempo de contato entre o reagente e o analito para boa resposta analítica. Esse fator também acaba impedindo a realização de pré-tratamentos on-line e de diluição das amostras, processos que podem ser adaptados, com pouca confiabilidade, caso a distância entre a seringa e a superfície do eletrodo seja modificada e também o volume de solução utilizado na célula seja aumentado.⁶⁵

Outra possível limitação da utilização do sistema BIA, é a aquisição das pipetas automáticas que geralmente possuem custo elevado e não são facilmente encontradas em laboratórios de pesquisa. No entanto, seringas manuais ou pipetas comuns podem também ser adaptadas para realização do método.^{30,57}

Em comparação ao sistema FIA, o sistema de injeção em batelada (BIA) tem algumas vantagens

como, por exemplo, a redução da quantidade de instrumentos para construção do sistema, como bombas e válvulas, equipamentos estes que muitas vezes não são acessíveis e ainda possuem a geração de ruídos, geração de bolhas e muitas vezes vazamentos constantes. Além disso, o BIA é um sistema que apresenta menores problemas com a lixiviação do analito ou de materiais modificadores na superfície do eletrodo como geralmente ocorre no FIA, pois não existem soluções carregadoras continuamente passando por esse eletrodo. Isto ainda contribui para a melhora na sensibilidade, pois há um menor efeito de dispersão da amostra.^{30,66}

O trabalho realizado por Da Silva,⁶⁷ que possui como título “Caracterizações e aplicações analíticas de eletrodos compósitos modificados com Azul da Prússia e determinações simultâneas em sistemas de análise por injeção em batelada empregando somente um eletrodo de trabalho”, utiliza uma micropipeta automática, a qual é um modelo de micropipeta que possui 10 velocidades diferentes de injeção da amostra. Esses tipos de micropipetas apresentam vantagens como os bons valores de frequência analítica aumentando a robustez do método, além de diminuir a contaminação da amostra e do analista pela automatização do sistema.⁶⁷ Na Figura 7 é possível observar uma representação esquemática do sistema BIA completo, na presença de uma micropipeta automática, podendo-se ressaltar a portabilidade e redução do número de equipamentos que constituem o sistema.⁶⁸

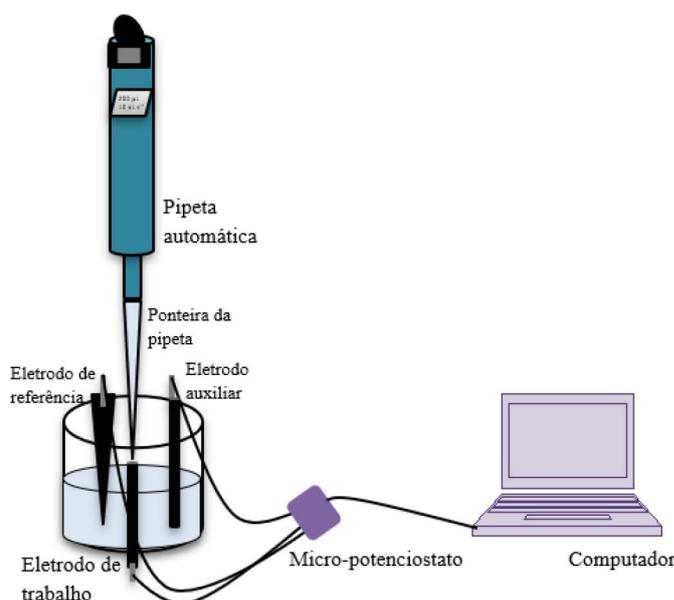


Figura 7. Ilustração do sistema de Análise por Injeção em Batelada (BIA) (Fonte: próprio autor)

Para estudos, no entanto, nos quais pipetas manuais são usadas na aplicação do BIA, o método de adição de padrão interno é descrito na literatura⁶² como uma alternativa para contornar os problemas com a precisão do método comprometida na velocidade de injeção e volume de amostra injetado, mostrando-se ser efetivo e promissor também na utilização de seringas descartáveis para a injeção da amostra.⁶²

Um dos parâmetros necessários de avaliação do sistema BIA, é a avaliação da velocidade de injeção, uma vez que quando se utiliza uma pipeta automática é possível obter os valores já estabelecidos de velocidade de injeção e quando são usadas pipetas manuais, é preciso fazer a medida do tempo ao se injetar determinada quantidade da amostra. O fato da pipeta nem sempre ser automática, faz com que o sistema seja menos favorável em algumas propriedades como reprodutibilidade, precisão e repetibilidade do método. É fundamental também, assim como nos sistemas FIA, fazer a otimização do volume de amostra injetado por essa pipeta, que estará inteiramente ligado à velocidade de injeção.^{59,62}

No trabalho de Gimenes, *et al.*⁶⁸ foram determinados captopril (CAP) e hidroclorotiazida (HTC) por meio de uma metodologia desenvolvida com o uso do sistema BIA e da técnica amperométrica pulsada, os quais permitiram a determinação simultânea dos analitos sem interferência entre eles. Esse tipo de análise simultânea de compostos de interesse é muito comum em sistemas como o BIA, devido à facilidade de aplicação paralela à técnica de pulsos, permitindo melhores precisões nas análises. Com o sistema utilizado nesse trabalho⁶⁸, foram otimizados dois potenciais principais, sendo o primeiro referente à determinação seletiva do CAP (+1,4 V) e o segundo pulso de potencial para detectar os dois analitos, CAP e HTC simultaneamente (+1,8 V).⁶⁸

Para essa determinação,⁶⁸ foi usada também uma micropipeta automática que evidenciou melhorias na velocidade de injeção e na praticidade do método, de forma que foi necessária apenas uma etapa de injeção com um volume de amostra correspondente a 150 µL para a determinação dos analitos. As amostras nesse caso, passaram por processos simples de preparo, correspondentes à dissolução e diluição das mesmas em eletrólito. O método mostrou-se viável para aplicação em fármacos, pois além da frequência analítica de 100 injeções por hora, foi comparado à eletroforese e

apresentou resultados semelhantes a um nível de 95 % de confiança.⁶⁸

Além desse parâmetro em sistemas BIA também é possível avaliar a distância na qual se posiciona a pipeta (ou a ponteira) em relação à superfície do eletrodo de trabalho, o que pode melhorar ou não características analíticas como reprodutibilidade e sensibilidade do método desenvolvido. Em um estudo apresentado na literatura⁶³ foram avaliadas algumas distâncias da pipeta à superfície do eletrodo e observou-se que o aumento da distância da pipeta gerou uma redução no sinal de corrente obtido e uma diminuição da reprodutibilidade do sistema. Esses fatos podem ser explicados por uma provável dispersão da zona de amostra quando a pipeta é posicionada a distâncias maiores ou também pelo fato de a amostra poder voltar da superfície do eletrodo para a pipeta se a distância entre ambos for muito pequena.^{59,67}

Por último, pode-se citar a escolha de realizar ou não a análise com ação de processos de agitação mecânica no sistema e ainda, fazer uma otimização da resposta analítica em função dessa intensidade de agitação. Observa-se na literatura⁶⁹ que a agitação mecânica pode influenciar na velocidade de remoção dos produtos de reação que ficam adsorvidos na superfície do eletrodo, aumentando a frequência analítica do sistema. Dados de um trabalho⁶⁹ mostraram que com agitação mecânica da solução em análise é possível obter uma frequência de cerca de 360 injeções por hora, enquanto que na ausência dessa agitação a frequência diminui para 48 injeções por hora. Isso se explica porque a agitação ou processo de convecção gerado no sistema faz com que a remoção do material eletroativo da interface eletrodo/solução seja mais rápida, de forma que o pico transiente retorne à linha base também com maior velocidade e isso promove a próxima análise em menor tempo. Além disso, é justamente por conta dessa remoção rápida da espécie em análise da superfície do eletrodo que se consegue outra vantagem relacionada à limpeza dessa superfície, evitando a passivação e a contaminação do eletrodo.⁶⁹

A partir, portanto, das propriedades mencionadas sobre o sistema BIA, algumas características devem ser destacadas, tais como o custo razoável dos equipamentos (considerando adaptações para as micropipetas automáticas), geração de um sistema de alta frequência analítica e que é um sistema portátil, permitindo análises em campo. Por fim, em termos de sustentabilidade

é um método que consegue reduzir o gasto de reagentes, pois não há necessidade de processos complexos envolvendo o preparo de amostras, o que ainda agrega na redução do tempo de análise, e também permite a obtenção de bons resultados com pequenos volumes do analito.⁷⁰

3.4. Aplicações do sistema BIA com detecção eletroquímica na determinação de fármacos

Assim como no FIA a técnica eletroquímica que tem mais repercussão na literatura^{56,59,62} aplicada junto ao BIA é a amperometria, tanto a convencional como principalmente a de múltiplos pulsos, pois agrega outras vantagens ao método desenvolvido como, por exemplo, limpeza do eletrodo pela aplicação dos potenciais e a geração de boas metodologias de determinação simultânea. Um aspecto que é mais comum no sistema BIA é a utilização de eletrodos quimicamente modificados, pois nesse tipo de sistema, ao contrário do que pode ocorrer no FIA, não há fluxo contínuo de solução passando sobre o eletrodo e isso evita lixiviação dos materiais modificadores.⁵⁹ Nesse sentido há uma aplicação maior em relação ao FIA dos diferentes tipos de eletrodo de trabalho considerando também a mais fácil adaptação do sistema apenas pela mudança na célula eletroquímica sem possíveis problemas com vazamento de soluções ou ruídos como no FIA, o que tem repercutido na maior produção de trabalhos relacionados a esse sistema, com equipamentos mais baratos, práticos, de fácil acesso e portáteis.^{5,71}

No trabalho de Stefano, *et al.*⁶⁵ foram realizadas análises para a determinação de naproxeno usando eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho acoplado ao sistema BIA com detecção amperométrica pulsada. Dessa forma, foram otimizados dois pulsos de potenciais, o primeiro para determinação do naproxeno (+1,5 V durante 200 ms) e o segundo para eliminação dos produtos adsorvidos na superfície do eletrodo (+1,0 V durante 100 ms). Alguns dados obtidos de destaque no trabalho foram a alta frequência analítica do método sendo o valor otimizado de 90 injeções por hora e também um limite de detecção de 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ considerado baixo e satisfatório para determinação do analito. Além disso, foi feita comparação entre este método e determinação do naproxeno com espectrofluorometria e o trabalho com

BIA demonstrou valores comparáveis para essa determinação, boa estabilidade da análise, baixo custo relativo dos equipamentos e praticidade das análises, o que leva à conclusão de que o método é aplicável em análises de rotina de amostras farmacêuticas.⁶⁵

O sistema de injeção em batelada é muito favorável em determinações de mais de um analito, tal como apresentado no trabalho de Pereira *et al.*,⁷² o qual propõe o método para determinação de fenazopiridina (FZP), sulfametoxazol (SMX) e trimetoprima (TMP) em uma mesma amostra. Foi utilizado o eletrodo de diamante dopado com boro como eletrodo de trabalho e a técnica amperometria de múltiplos pulsos para determinação dos analitos. As três espécies foram quantificadas por meio do monitoramento de reações de oxidação eletroquímica utilizando os potenciais +0,75 V, +1,00 V e +1,30 V e em ambos os potenciais foram feitas adições das soluções dos analitos separadamente (FZP, SMX, TMP) e em seguida uma injeção de uma mesma solução contendo os três analitos. Na primeira aplicação de potencial (+0,75 V) o único analito que apresentou resposta foi o FZP, tanto em solução separada como na solução contendo os três fármacos. Na segunda aplicação de potencial (+1,00 V), observou-se o pico referente ao ganho de corrente da injeção da solução contendo apenas SMX, da injeção de solução apenas de FZP e também da solução contendo os três compostos. Por último, na aplicação do potencial de +1,30 V, foi observada resposta eletroativa dos três fármacos tanto nas soluções separadas como simultaneamente injetados, lembrando que nesse potencial é a primeira vez que o fármaco TMP é oxidado.

Para identificação quantitativa dos fármacos é preciso fazer uma diferença dos sinais de correntes obtidos de um potencial para outro em relação a cada injeção de analito, com a qual (usando fator de correção) é possível a identificação do sinal correspondente a cada um dos fármacos separadamente. Se no primeiro potencial apenas um deles sofre oxidação e fornece ganho de corrente esse será o sinal correspondente ao FZP. Com a análise dos picos correspondentes ao segundo potencial (+1,00 V) pode-se fazer a diferença de corrente para o primeiro e conseguir o valor correspondente somente ao segundo analito (SMX). Logo, da mesma forma pode ser feito para

o terceiro analito, se os valores de correntes para os outros compostos (FZP e SMX) já tiverem sido mensurados anteriormente, o restante do valor de corrente será correspondente ao terceiro analito (TMP) seletivamente. Dessa forma, nesse tipo de metodologia o uso do sistema BIA proporciona melhores condições devido à facilidade de injeção das amostras, melhorando principalmente as condições de amostragem para testes em diferentes configurações e isso conduz um método mais rápido, reproduzível e confiável.⁷²

O trabalho desenvolvido por Brett *et al.*⁷³ também foi utilizando o sistema de injeção em batelada para determinação de ácido ascórbico e foram obtidos resultados que comprovaram a facilidade e a qualidade do método. Neste trabalho foi usado eletrodo de disco rotatório e o principal ponto destacado pelo autor é a variação das técnicas eletroanalíticas em uso com o sistema BIA para avaliar suas potencialidades, como a voltametria cíclica, a voltametria de onda quadrada e a amperometria. As variações das técnicas de detecção influenciam diretamente na otimização da vazão da pipeta, da velocidade de injeção da amostra e também da concentração do analito o que acaba por afetar, por exemplo, os valores de sensibilidade e frequência analítica obtidos. É descrito no trabalho⁷³ que o uso da voltametria de onda quadrada apresentou sensibilidade de $0,001 \text{ AL mol}^{-1}$ valor que indica quatro vezes mais sensibilidade do que no método com a amperometria, além de demonstrar também maior precisão e menor limite de detecção.⁷³

Abreu *et al.*⁷⁴ desenvolveram o artigo intitulado “*Detection of the damage caused to DNA by niclosamide using an electrochemical DNA-biosensor*”, no qual utilizou-se o sistema BIA com detecção feita por voltametria de onda quadrada. O sistema foi montado utilizando-se célula apropriada acoplada a uma micropipeta automática com volume máximo de $100,0 \mu\text{L}$ de amostra. Obteve-se valores otimizados de velocidade de injeção da pipeta de $24,0 \mu\text{L s}^{-1}$ e do volume injetado de $50,0 \mu\text{L}$ da amostra. De acordo com Abreu *et al.*⁷⁴ resultados como o de limite de detecção e a correlação da curva analítica mostraram valores melhores que aqueles já estudados em métodos como os espectroscópicos. Isso pode ser justificado pelas condições hidrodinâmicas favoráveis que o BIA fornece como, por exemplo, um menor

tempo de contato entre analito e eletrodo de trabalho evitando sua contaminação pela possível adsorção de espécies na superfície do eletrodo, o que poderia dificultar a sensibilidade do método.

Além disso, o método é aplicável em amostras reais, por exemplo, na determinação da niclosamida em água corrente de rios, nos quais o controle é muito importante, visto que testes realizados anteriormente demonstraram a interação do analito com o material genético podendo modificar a estrutura do sensor.⁷⁴ O trabalho de Abreu *et al.*⁷⁴ exemplifica também que, o uso do BIA não é necessariamente feito com detecção amperométrica como é feito, por exemplo, na maioria das análises com FIA e sim pode ser bem adaptado à uma variedade de técnicas eletroquímicas de detecção e aplicados a diversos tipos de analitos, como na maioria dos sistemas eletroanalíticos, permitindo determiná-los em diferentes amostras: biológicas, ambientais, farmacológicas, minerais entre outras.⁷⁵⁻⁸⁰

Sobre a utilização do BIA-MPA, o trabalho de Silva⁸¹ relata a determinação simultânea de Propifenazona (PRO), Paracetamol (PAR) e Cafeína (CAF) destinada a amostras farmacêuticas com a presença desses três analitos, os quais possuem princípios ativos semelhantes. Nesse sistema, a influência da agitação foi estudada e verificou-se que, quando se utiliza a agitação mecânica, a linha base do sistema é estabelecida mais rapidamente, aumentando a frequência analítica do método. O aumento da convecção no sistema ainda permitiu que os produtos das reações redox fossem retirados mais rapidamente da superfície do eletrodo, evitando efeitos de passivação da superfície do eletrodo com uso seguido de potencial de limpeza. O método desenvolvido neste trabalho⁸¹ é comparável com a determinação feita por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector Ultravioleta (HPLC-UV). Alguns valores obtidos foram de (i) Limite de Quantificação de $0,70 \text{ mg L}^{-1}$ com o método BIA-MPA e com HPLC-UV foi obtido valor de $4,60 \text{ mg L}^{-1}$, ambos correspondente à determinação de paracetamol; (ii) Limite de Detecção de $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ com BIA-MPA e usando HPLC-UV valor correspondente a $2,20 \text{ mg L}^{-1}$ para amostras de paracetamol; entre outros dados tais como frequência analítica de 75 amostras por hora com uso do BIA enquanto que com o HPLC-UV foi obtida frequência de 5 amostras por hora. Logo, o método utilizando BIA-MPA apresentou alta

frequência analítica, baixa geração de resíduos, preparo de amostras simplificado e portabilidade do sistema, sendo ainda justificado pelo autor que limites de detecção e quantificação muito baixos para amostras farmacêuticas não são tão necessários, e por isso esse método pode ser bem aplicado em amostras reais.⁸¹

De maneira geral, o BIA apresenta vantagens bem relevantes e por meio dos trabalhos discutidos foi possível comprovar sua validade na aplicação em amostras reais diversas. Além disso, é um sistema de injeção que promove robustez ao método e permite ser acoplado a diversas técnicas eletroquímicas. Na Tabela 2 estão representadas outras aplicações com uso do BIA. Apesar dos bons resultados mostrados, não é um sistema tão explorado e a quantidade de trabalhos publicados não é tão relevante, o que acredita ser devido à dificuldade de aquisição de equipamentos, gerando improvisações ou mesmo desenvolvimento do trabalho como ocorre na ausência da micropipeta automática, devido ao alto custo. É importante destacar ainda que o uso de métodos padrão, como espectroscopia ou cromatografia, são mais difundidos principalmente pela alta precisão e robustez dos aparelhos empregados os quais já estão no mercado há anos e geram confiança a quem trabalha com os mesmos, o que provavelmente ainda gera um empenho ao uso do BIA na prática cotidiana.

3.5. Metodologias Eletroquímicas empregando sistemas FIA e BIA na Determinação de Fármacos

Trabalhos com aplicações de sistemas FIA e BIA para caracterização e avaliação de um único método são também empregados de forma comparativa, permitindo ampliar os parâmetros de avaliação de um método para determinação de analitos de interesse, com sistemas que podem ser muitas vezes utilizados com instrumentações similares como é o caso de muitas células eletroquímicas no BIA e FIA reduzindo, portanto, gastos com grandes aparelhos e técnicas que exigem instrumentação robusta para comparação e validação da metodologia desenvolvida.

No trabalho de Selegi *et al.*⁹⁰ foram construídos biosensores usando materiais com base de silicatos e na presença de glicose oxidase na superfície de um eletrodo de carbono vítreo visando a determinação de glicose em amostras reais. Neste trabalho foram usados os sistemas BIA e FIA para otimização de alguns parâmetros analíticos que permitem a caracterização do método. No respectivo trabalho⁹⁰ são apresentados dados analíticos que comparam o método desenvolvido com outros descritos na literatura,^{91,92} podendo-se citar dentre eles que o limite de detecção com o uso do BIA foi mais baixo demonstrando ser mais amplo na análise de amostras em relação ao uso do FIA. Um exemplo de aplicação do sensor foi na determinação de glicose em amostras de vinho,

Tabela 2. Aplicações eletroquímicas usando sistema BIA descritas na literatura

| Técnica-Eletrodo | Analito | Amostra | LD (mol L ⁻¹) | Volume da amostra (µL) | FA (h ⁻¹) | Ref. |
|---------------------|----------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------|------|
| AMP-ECV/ Co(TRP) | Acetoaminofeno | Formulações Farmacêuticas | 1,10 × 10 ⁻⁷ | 100 | 120 | 82 |
| AMP-SPE/NC | Omeprazol | Formulações Farmacêuticas | 0,90 × 10 ⁻⁸ | 40 | 100 | 83 |
| AMP- ECV | Salbutamol | Formulações Farmacêuticas | 2,50 × 10 ⁻⁷ | 100 | 60 | 84 |
| AMP-EDDB | Besilato de Amlodipina e Atenolol | Formulações Farmacêuticas | 7,40 × 10 ⁻⁸ | 150 | 70 | 85 |
| AMP- EIS | Ácido Acetilsalicílico | Formulações farmacêuticas | 7,50 × 10 ⁻³ | --- | 90 | 86 |
| AMP- EDDB | Difenidramina, 8-cloroteofilina e Piridoxina | Formulações farmacêuticas | 0,18 × 10 ⁻⁶ 0,19 × 10 ⁻³ 0,54 × 10 ⁻³ | 150 | 60 | 87 |
| AMP-EDDB | Propranolol e Hidroclorotiazida | Formulações farmacêuticas | 0,17 × 10 ⁻⁶ 1,90 × 10 ⁻⁶ | 150 | 130 | 88 |
| AMP- EDDB+MIP | Sulfato de Gentamicina | Formulações farmacêuticas | 8,10 × 10 ⁻⁷ | 60 | 90 | 89 |

*FA: Frequência Analítica; LD: Limite de Detecção; AMP: Amperometria de Múltiplos Pulsos; ECV: Eletrodo de Carbono Vítreo; Co(TRP): Porfirina de Cobalto TetraRutenada; SPE: *Screen Printed Electrode*; NT: Nanotubo de Carbono; EDDB: Eletrodo de Diamante Dopado com Boro; EIS: Eletrodo de íon seletivo; MIP: Polímero Molecularmente Impresso

que apresentou bons resultados comparados ao HPLC.

Trabalhos com emprego dos sistemas BIA e FIA também têm ganhado destaque com a utilização dos eletrodos impressos.^{75,81} Esse tipo de eletrodo tem sido muito explorado e encontrado na literatura⁹³⁻⁹⁶ principalmente por estarem acoplados a sistemas miniaturizados ganhando vantagens como fácil manuseio, economia de reagentes e menores gerações de resíduos. A utilização de eletrodos descartáveis na determinação de espécies químicas é uma área de inovação da eletroanalítica que acoplada a sistemas que automatizam as metodologias desenvolvidas, como os sistemas de injeção tornam os métodos cada vez mais rápidos e aplicáveis em grande escala.

Backes *et al.*⁹⁷ desenvolveram um trabalho para determinação de citrato de sildenafil (Viagra) com a utilização de um eletrodo impresso (SPE - *Screen Printed Electrode*) empregando o sistema BIA e o sistema FIA de injeção de amostras acoplados à detecção amperométrica. Em ambos os sistemas, BIA-SPE e FIA-SPE foi utilizado o mesmo modelo de célula eletroquímica no modo “*wall jet*”, o que permite aplicação das amostras em dois tipos de análises de forma comparativa. Alguns parâmetros analisados e apresentados no trabalho de referência⁹⁷ mostram a viabilidade dos métodos. Para a sensibilidade, por exemplo, foi observado maior valor com o sistema BIA-SPE (0,188 $\mu\text{AL mmol}^{-1}$) do que usando o FIA-SPE (0,108 $\mu\text{AL mmol}^{-1}$), o que provavelmente está relacionado à maior faixa de vazões permitidas pelo uso da pipeta automática no BIA em relação ao uso da bomba peristáltica no FIA. Além disso, a maior sensibilidade em BIA também se relaciona à menor dispersão das amostras nesse sistema, o qual apresenta um contato direto do analito com eletrodo, ao contrário do FIA, que por sua vez sofre dispersão do analito no carregamento da amostra com o eletrólito. A frequência analítica também é um parâmetro de interesse para a comparação, visto que devido ao uso da pipeta automática no sistema BIA, obteve-se maior número de injeções por hora (360 h^{-1}) do que com o uso do FIA (170 h^{-1}), ou seja, há um aumento significativo na velocidade das análises com o uso do sistema BIA.⁹⁷

Stefano⁵⁶ desenvolveu um método para determinação eletroquímica de ciprofloxacina utilizando os sistemas FIA e BIA acoplados a eletrodos impressos com uso de detecção amperométrica. No caso do sistema BIA, utilizou-

se micropipeta eletrônica, a qual permitiu ganhos em frequência analítica em relação ao sistema FIA que, por sua vez, conduz a injeção de analito manualmente e devido a isso apresentou menores velocidades de injeção, menor precisão, sensibilidade e estabilidade do método. Por meio da comparação entre as duas metodologias apresentadas com uso do FIA e BIA pode-se observar que enquanto o BIA apresentou melhor limite de detecção (0,030 $\mu\text{mol L}^{-1}$), com o sistema FIA foi possível obter melhor sensibilidade (0,077 $\mu\text{AL } \mu\text{mol}^{-1}$). Além disso, com o sistema BIA também se obteve maior velocidade de injeção do analito (143,0 $\mu\text{L s}^{-1}$) em relação ao FIA (42,0 $\mu\text{L s}^{-1}$), sendo obtido ainda um menor volume de amostragem no BIA (50,0 μL) do que no FIA (250,0 μL). Mesmo com as diferenças nos parâmetros de ambos os métodos propostos, em comparação a uma metodologia de referência como o HPLC, o autor do trabalho³⁰ ressalta que os métodos são aplicáveis a análises de amostras reais.⁵⁶

De forma geral, o uso dos sistemas FIA e BIA juntamente a eletrodos impressos são sistemas capacitados para aplicação em análises diversas contando com a facilidade e portabilidade de manuseio dos equipamentos constituintes, assim como exemplificado pelos trabalhos apresentados.^{56,97} Levando em conta os dois sistemas, o sistema BIA possui vantagens na redução de instrumentos devido à ausência de, por exemplo, bombas peristálticas, injetor e tubulações para os fluxos de soluções que são empregadas no sistema FIA. Por outro lado, o sistema FIA possibilita a automatização do método por meio da injeção direta e fluxo contínuo de reagentes, sem necessidade de desmontar o sistema para mudança da vazão ou troca da amostra e, portanto, evita maiores contaminações do analista e das amostras.

Nesse sentido, tanto o sistema em fluxo com em batelada acoplados às técnicas eletroanalíticas apresentam ótimas características para as metodologias desenvolvidas, além de fácil adaptação para células eletroquímicas variadas, sendo as mesmas mais portáteis, de custo relativamente baixo, fácil manuseio dos equipamentos e também automatização das análises. As características apresentadas fornecem algumas vantagens aos sistemas tais como maior robustez nas análises, melhora na sensibilidade, na reprodutibilidade dos métodos, alta estabilidade e boa frequência analítica.

4. Considerações Finais

Os sistemas BIA e FIA são excelentes opções para aumentar a potencialidade eletroquímica principalmente buscando aplicações em maiores escalas, aumentando a produtividade do sistema eletroanalítico. Esses sistemas apresentam ainda vantagens como baixo custo, boa sensibilidade das análises, baixa geração de resíduos, facilidade de utilização, possibilidade de automatização dos métodos, grande frequência analítica e boas respostas dos parâmetros como limite de detecção, limites de quantificação e faixa linear de trabalho, sendo esses sistemas empregados principalmente para microanálises de amostras biológicas, ambientais e industriais.

Nesse sentido, devido à demanda por materiais e equipamentos mais portáteis, de baixo custo e acessíveis, destaca-se como perspectiva futura para o FIA e BIA o desenvolvimento de sistemas associados com os eletrodos impressos, que tem sido uma das tecnologias em maior desenvolvimento dentro da eletroanalítica. Dentre esses eletrodos impressos, tem surgido uma grande variedade de materiais e modelos de eletrodos, muitas vezes descartáveis e que podem ser facilmente acoplados aos sistemas de injeção. As vantagens associadas desses tipos de eletrodos com sistemas de injeção são, por exemplo, a alta repetibilidade e reprodutibilidade dos sistemas, além de facilidade de manuseio e custo relativamente baixo. Nesse contexto, há uma sequência de possíveis aplicações, tais como de produção seriada industrial, de análise de amostras de produtos agrícolas e também na área da saúde para emprego das metodologias com uso do FIA e BIA.

Vale ressaltar também que possíveis alterações inovadoras nos sistemas de injeção FIA e BIA, por exemplo para associação com eletrodos impressos descartáveis podem ser de grande interesse. Exemplos de modificações que podem ser feitas no FIA, é a utilização de bombas propulsoras mais portáteis, com custo mais baixo e que já sejam redutoras dos ruídos gerados pelo fluxo de bombas peristálticas, retirando a necessidade de um amortecedor de pulso no sistema. Para o BIA, uma modificação que se considera vantajosa é a maior acessibilidade econômica às pipetas automáticas, aumento das possibilidades de programação das velocidades e volume de injeção

de amostras e também permitir injeção paralela de soluções de limpeza, para melhorar efeitos de memória no sensor e aumentar a repetibilidade dos sistemas.

Dessa forma, considera-se a importância desse trabalho no sentido de unir informações que caracterizem a vantagem do desenvolvimento de métodos eletroanalíticos, como estes citados, de maneira a promover maiores pesquisas e incentivar a aplicação de eletroanálises para melhoria da qualidade de vida, uma vez que estes métodos se destacam pela implementação de dispositivos cada vez mais simples nas análises, proporcionando diversas vantagens dentro da sociedade principalmente quando se trata de custo e sustentabilidade.

Referências Bibliográficas

- ¹Gomes, V. P.; Silva, M. T.; Galvão, T. F.; Prevalence of medicine use among Brazilian adults: a systematic review. *Ciência & Saúde Coletiva*, **2017**, *22*, 2615. [CrossRef]
- ²Comba, F. N.; Rubianes, M. D.; Cabrera, L.; Gutiérrez, S.; Herrasti, P.; Rivas, G. A.; Highly Sensitive and Selective Glucose Biosensing at Carbon Paste Electrodes Modified with Electrogenated Magnetite Nanoparticles and Glucose Oxidase. *Electroanalysis* **2010**, *22*, 1566. [CrossRef]
- ³Andrade, G. A. R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil, 2016. [Link]
- ⁴Giarola, J. de F.; Development and application of a sensor based on carbonaceous materials and cobalto phthalocyanine composite for electrochemical determination of uric acid. *Electroanalysis* **2016**, *28*, 1348. [CrossRef]
- ⁵Lowinsohn, D.; Bertotti, M.; Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambiente microscópicos. *Química Nova* **2006**, *29*, 1318. [CrossRef]
- ⁶Lawal, A. T.; Synthesis and utilisation of graphene for fabrication of electrochemical sensors. *Talanta* **2015**, *131*, 424. [CrossRef]
- ⁷Dos Santos, W. T. P.; Gimenes, D. T.; Richter, E. M.; Angnes, L.; Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: potencialidades e aplicações. *Química Nova* **2011**, *34*, 1753. [CrossRef]
- ⁸Moreira, D. A. R.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil, 2015. [Link]

- ⁹ Backes, R. S.; Guedes, T. J.; dos Santos, W. T. P.; da Silva, R. A. B.; Determinação rápida e simples de citrato de sildenafil (viagra e genéricos) empregando eletrodo impresso de carbono em sistemas FIA e BIA com detecção amperométrica. *Química Nova* **2017**, *40*, 752. [[CrossRef](#)]
- ¹⁰ Stefano, J. S.; Tormin, T. F.; da Silva, J. P.; Richter, E. M.; Munhoz, R. A.A.; Amperometric determination of omeprazole on screen-printed electrodes using batch injection analysis. *Revista Microchemical* **2017**, *133*, 398. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Holler, F. J.; Skoog, D. A.; Crouch, S. R.; *Princípios de Análise Instrumental*, 6a. ed., Bookman: Porto Alegre, 2009.
- ¹² Gugoasa, L. A. D.; Electrochemical Sensors for Determination of the Endocrine Disruptor, Bisphenol A. *Journal of the Electrochemical Society* **2020**, *167*, 037506. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Beitollahi, H.; Safaei, M.; Tajik, S.; Electrochemical deduction of levodopa by utilizing modified electrodes: A review. *Microchemical Journal* **2020**, *152*, 104287. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Lawal, A. T.; Synthesis and utilisation of graphene for fabrication of electrochemical sensors. *Talanta* **2015**, *131*, 424. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵ Lima, A. B.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil, 2016. [[Link](#)]
- ¹⁶ Oliveira, G. K. F.; Tormin, T. F.; Sousa, R. M. F.; Oliveira, A.; Morais, S. A. L.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidante capacity. *Food Chemistry* **2016**, *192*, 691. [[CrossRef](#)]
- ¹⁷ Elsuccary, S.A.A.; Salem, A. A.; Novel flow injection analysis methods for the determination of total iron in blood serum and water. *Talanta* **2015**, *13*, 108. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Kivirand, K.; Floren, A.; Kagan, M.; Avarmaa, T.; Rinken, T.; Jaaniso, R.; Analyzing the biosensor signal in flows: studies with glucose optodes. *Talanta* **2015**, *131*, 74. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Moreira, B. C. S.; Takeuchi, R. M.; Richter, E. M.; Santos, A. L.; Desenvolvimento de um sistema de análise por injeção em fluxo utilizando materiais alternativos de baixo custo para fins didáticos. *Química Nova* **2014**, *37*, 1566. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Santos, W. T. P. dos; Gimenes, D. T.; Almeida, E. G. N. de; Eiras, S. de P.; Albuquerque, Y. D. T.; Richter, E. M. Simple flow injection amperometric system for simultaneous determination of dipyrone and paracetamol in pharmaceutical formulations. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2009**, *20*, 1249. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Prado, T. M.; Carrico, A.; Cincotto, F. H.; Fatibello-filho, O.; Moraes, F. C. Bismuth vanadate/graphene quantum dot: A new nanocomposite for photoelectrochemical determination of dopamine. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2019**, *285*, 248. [[CrossRef](#)]
- ²² Moreira, J.; Lima, V. B.; Goulart, L. A.; Lanza, M. R. V.; Electrosynthesis of hydrogen peroxide using modified gas diffusion electrodes (MGDE) for environmental applications: Quinones and azo compounds employed as redox modifiers. *Applied Catalysis B-Environmental* **2019**, *248*, 95. [[CrossRef](#)]
- ²³ Baccarin, M.; Santos, F. A.; Vicentini, F. C.; Zucolotto, V.; Janegitz, B. C.; Fatibello-filho, O.; Electrochemical sensor based on reduced graphene oxide/carbon black/chitosan composite for the simultaneous determination of dopamine and paracetamol concentrations in urine samples. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2017**, *799*, 436. [[CrossRef](#)]
- ²⁴ Ruzicka, E. H. J.; Hansen; Flow injection analyses. Part I. A new concept of fast 426 continuous flow analysis. *Analytica Chimica Acta* **1975**, *78*, 145. [[CrossRef](#)]
- ²⁵ Dos Reis, B. F.; Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. *Química Nova* **1995**, *19*, 51. [[Link](#)]
- ²⁶ Trojanowicz, M.; Kozminski, P.; Dias, H.; Brett, C. M. A.; Batch-injection stripping voltammetry (tube-less flow-injection analysis) of trace metals with on-line sample pretreatment. *Talanta* **2005**, *68*, 394. [[CrossRef](#)]
- ²⁷ Agustini, D.; Bergamini, M. F.; Marcolino-junior, L. H.; Characterization and optimization of low cost microfluidic thread based electroanalytical device for micro flow injection analysis. *Chimica Acta* **2017**, *951*, 108. [[CrossRef](#)]
- ²⁸ Augustini, D.; Bergamini, M. F.; Marcolino-junior, L. H.; Tear glucose detection combining microfluidic thread based device, amperometric biosensor and microflow injection analysis. *Biosensors and Bioelectronics* **2017**, *98*, 161. [[CrossRef](#)]
- ²⁹ Soares, F. S. C.; Vieira, A. L.; Soares, M. S.; Sant'anna, M. V.; Nascentes, R.; Bossu, C. M.; Construção de uma bomba peristáltica e de um sistema de detecção utilizando um hardware de código fonte aberto "arduino" para análise em fluxo. *Química Nova* **2018**, *41*, 1196. [[CrossRef](#)]
- ³⁰ Quintino, M. D. S. M., *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 2003. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Avramovic, M. L.; Petrovic, S. D.; Mijin, D. Z.; Zivkovic, P. M.; Kosovic, I. M.; Drjevic, K. M.; Jovanovic, M. B. "Studies on electrochemical oxidation of azithromycin and Hemomycin® at gold electrode in neutral electrolyte". *Electrochimica Acta* **2006**, *51*, 2407. [[CrossRef](#)]

- ³² Oliveira, S. N.; Ribeiro, F. W. P.; De Lima, J. E. S.; Suffredini, H. B.; Becker, H.; Lima-neto, P.; Correia, A. N.; *Resumo da 33ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia, Brasil, 2010. [[Link](#)]
- ³³ Pacheco, W. F.; Seamaan, F. S.; de Almeida, V. G. K.; Ritta, A. G. S. L.; Aucélio, R. Q.; Voltametrias: uma breve revisão sobre os conceitos. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 516. [[CrossRef](#)]
- ³⁴ Carvalho, R. M. de; Freire, R. S.; Rath, S.; Kubota, L. T.; Effects of EDTA on signal stability during electrochemical detection of acetaminophen. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2004**, *34*, 871. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Catarino, R. I. L.; Conceição, A. C. L.; Garcia, M. B. Q.; Gonçalves, M. L. S.; Lima, J.; dos Santos, M. M. C.; Flow amperometric determination of pharmaceuticals with on-line electrode surface renewal; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2003**, *33*, 571. [[CrossRef](#)]
- ³⁶ de Miranda, J. A. T.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2011. [[Link](#)]
- ³⁷ Lima, A. B.; Chaves, S. C.; da Silva, L. M.; Pereira, P. F.; Richter, E. M.; dos Santos, W. T. P.; Determinação de nimesulida por análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos. *Química Nova* **2013**, *36*, 1296. [[CrossRef](#)]
- ³⁸ Possari, R.; Carvalhal, R. F.; Mendes, R. K.; Kubota, L. T.; Electrochemical detection of cysteine in a flow system based on reductive desorption of thiols from gold. *Analytica Chimica Acta* **2006**, *575*, 172. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Wangfuengkanagul, N.; Chailapakul, O.; Electrochemical analysis of D-penicillamine using a borondoped diamond thin film electrode applied to flow injection system. *Talanta* **2002**, *58*, 1213. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁰ Surareungchai, W.; Deepunya, W.; Tasakorn, P. Quadruple-pulsed amperometric detection for simultaneous flow injection determination of glucose and fructose. *Analytica Chimica Acta* **2001**, *488*, 215. [[CrossRef](#)]
- ⁴¹ Gordito, M. P.; Kotsis, D. H.; Minter, S. D.; Spence, D. M.; Flow-based amperometric detection of dopamine in an immobilized cell reactor. *Journal of Neuroscience Methods* **2003**, *124*, 129. [[CrossRef](#)]
- ⁴² Akbari-adergani, B.; Noruzi, P.; Ganjali, M. R.; Dinarvand, R.; Ultrasensitive flow-injection electrochemical method for determination of histamine in tuna fish samples. *Food Research International* **2010**, *43*, 1116. [[CrossRef](#)]
- ⁴³ Takagi, K.; Shikata, S.; Flow injection determination of histamine with a histamine dehydrogenase-based electrode. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *505*, 189. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁴ Da Silva, W. C.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2011. [[Link](#)]
- ⁴⁵ Palaharn, S.; Charoenraks, T.; Wangfuengkanagul, N.; Grudpan, K.; Chailapakul, O.; Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection. *Analytica Chimica Acta* **2003**, *499*, 191. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁶ Sultan, S. M.; Suliman, F. E. O.; Duffuaa, S. O.; Abu-abdou, I. I.; Simplex-optimized and flow injection spectrophotometric assay of tetracycline antibiotics in drug formulations. *Analyst* **1992**, *117*, 1179. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁷ Yeh, W.; Kuo, Y.; Cheng, S.; Voltammetry and flow-injection amperometry for indirect determination of dopamine. *Electrochemistry Communications* **2008**, *10*, 66. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁸ DA Silva, I. S.; Capovilla, B.; Freitas, K. H. G.; Angnes, L.; Strategies to avoid electrode fouling for nimesulide detection using unmodified electrodes. *Analytical Methods* **2013**, *5*, 3546. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁹ Lourenco, B. C.; Medeiros, R. A.; Thomasi, S. S.; Ferreira, A. G.; Rocha-filho, R. C.; Fatibello-filho, O.; Amperometric flow-injection determination of the anthelmintic drugs ivermectin and levamisole using electrochemically pretreated boron-doped Diamond electrodes. *Sensors and actuators B: Chemical* **2016**, *222*, 181. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁰ Karuwan, C.; Wisitsoraat, A.; Maturros, T.; Phokharatkul, D.; Sappat, A.; Jaruwongrunsee, K.; Lomas, T.; Tuantranont, A.; Flow injection based microfluidic device with carbon nanotube electrode for rapid salbutamol detection. *Talanta* **2009**, *79*, 995. [[CrossRef](#)]
- ⁵¹ Lowinsohn, D. e BERTOTTI, M.; Flow injection analysis of blood L-lactate by using a Prussian Blue-based biosensor as amperometric detector. *Analytical Biochemistry* **2007**, *365*, 260. [[CrossRef](#)]
- ⁵² Shaidarova, L. G.; Chelnokava, I. A.; Il' Ina, M. A.; Gedmina, A. V.; Budnikov, H. C.; Amperometric Detection of Hydroxypurines at an Electrode Modified with a Composite Based on Mixed-Valence Ruthenium and Cobalt Oxides in Flow Injection Analysis. *Journal of Analytical Chemistry* **2017**, *72*, 107. [[CrossRef](#)]
- ⁵³ Nellaiappan, S.; Kumar, A. S.; Electrocatalytic oxidation and flow injection analysis of ionized drug using a gold nanoparticles decorated carbon nanofiberschitosan modified carbon screen printed electrode in neutral pH. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2017**, *801*, 171. [[CrossRef](#)]

- ⁵⁴ Feier, B.; Gui, A.; Cristea, C.; Sandulescu, R.; Electrochemical determination of cephalosporins using a bare boron-doped diamond electrode. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *976*, 25. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁵ Lourencao, B. C.; Medeiros, R. A.; Fatibello-filho, O.; Simultaneous determination of antihypertensive drugs by flow injection analysis using multiple pulsed amperometric detection with a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2015**, *754*, 154. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁶ Stefano, J. S.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2016. [[Link](#)]
- ⁵⁷ Wang, J.; Taha, Z.; Batch injection analysis. *Analytical Chemistry* **1991**, *63*, 1053. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Quintino, M. S. M.; Angnes, L.; Batch Injection Analysis: An Almost Unexplored Powerful Tool. *Electroanalysis* **2004**, *16*, 513. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁹ Pereira, P. F.; Marra, M. C.; Lima, A. B.; Dos Santos, W. T. P.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Fast and simultaneous determination of nimesulide and paracetamol by batch injection analysis with amperometric detection on bare boron doped Diamond electrode. *Diamond and Related Materials* **2013**, *39*, 41. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁰ Baio, J. A. F.; Ramos, L. A.; Cavalheiro, E. T. G.; Construction of graphite electrode removed from common batteries: didactic applications. *Química Nova* **2014**, *37*, 1078. [[CrossRef](#)]
- ⁶¹ Gunasingham, H.; Analytical applications of the wall-jet detector. *Trends in Analytical Chemistry* **1988**, *7*, 217. [[CrossRef](#)]
- ⁶² Gimenes, D. T.; *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2013. [[Link](#)]
- ⁶³ Wang, J.; Injection analysis from flow-injection analysis to batch-injection analysis. *Microchemical Journal* **1992**, *45*, 219. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁴ Silva, R. A. B.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2012. [[Link](#)]
- ⁶⁵ Stefano, J. S.; Lima, A. P. D.; Montes, R. H.; Richter, E. M.; Muñoz, R. A.; Fast determination of naproxen in pharmaceutical formulations by batch injection analysis with pulsed amperometric detection. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2012**, *23*, 1834. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁶ Brett, C. M. A.; Fungaro, D. A.; Morgado, J. M.; Gil, M. H.; Novel polymer-modified electrodes for batch injection sensors and application to environmental analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1999**, *468*, 26. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁷ Silva, R. A. B.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2012. [[Link](#)]
- ⁶⁸ Gimenes, D. T.; Marra, M. C.; De Freitas, J. M.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide on boron-doped Diamond electrode by batch injection analysis with multiple pulse amperometric detection. *Sensors and actuators B: Chemical* **2015**, *212*, 411. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁹ Gimenes, D. T.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2013 [[Link](#)]
- ⁷⁰ Pereira, P. F.; da Silva, W. P.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Determinação rápida e simultânea de sulfametoxazol e trimetoprima utilizando análise por injeção em batelada com detecção amperométrica e eletrodo de diamante dopado com boro. *Química Nova* **2015**, *38*, 663. [[CrossRef](#)]
- ⁷¹ Pacheco, B. D.; Angnes, L.; Pedrotti, J. J.; *Resumo da 32ª Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química*, Fortaleza, Brasil, 2009. [[Link](#)]
- ⁷² Pereira, P. F.; Da Silva, W. P.; Muñoz, R. A. A.; Richter, E. M.; A simple and fast batch injection analysis method for simultaneous determination of phenazopyridine, sulfamethoxazole, and trimethoprim on boron-doped Diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2016**, *766*, 87. [[CrossRef](#)]
- ⁷³ Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O.; Mitoseriu, L. C.; Amperometric and Voltametric Detection in Batch Injection Analysis. *Analytical Chemistry* **1994**, *66*, 3145. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁴ Abreu, F. C.; Goulart, M. O. F.; Oliveira Brett, A. M.; Detection of the damage caused to DNA by niclosamide using an electrochemical DNA-biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **2002**, *17*, 913. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁵ Trojanowicz, M.; Kozminski, P.; Dias, H.; Brett, C. M. A.; Batch-injection stripping voltammetry (tube-less flow-injection analysis) of trace metals with on-line sample pretreatment. *Talanta* **2005**, *68*, 394. [[CrossRef](#)]
- ⁷⁶ Brett, A. M. O.; Matysik, F. M.; Vieira, M. T.; Thin-film Gold Electrodes Produced by magnetron Sputtering: Voltametric Characteristics and Application in Batch Injection Analysis with Amperometric Detection. *Electroanalysis* **1997**, *9*, 209 [[CrossRef](#)]
- ⁷⁷ Gil, M. H.; Sardinha, J. P.; Vieira, M. T.; Vivan, M.; Costa, D.; Rodrigues, Matysik, F. M.; Brett, A. M. O.; Immobilization of glucose oxidase on thin-film gold electrodes produced by magnetron sputtering and their application in an electrochemical biosensor. *Biotechnology Techniques* **1999**, *13*, 595. [[Link](#)]
- ⁷⁸ Brett, C. M. A.; Fungaro, D. A.; Poly (ester sulphonic acid) coated Mercury thin film electrodes: characterization and application in batch injection analysis stripping voltammetry of heavy metal ions. *Talanta* **2002**, *50*, 1223. [[CrossRef](#)]

- ⁷⁹ Mohammadi, H.; Rhazi, M. El.; Amine, A.; Brett, A. M. O.; Brett, C. M. A.; Determination of Mercury (II) by invertase enzyme inhibition coupled with batch injection analysis. *Analyst* **2002**, *127*, 1088. [CrossRef]
- ⁸⁰ Tormin, T. F.; Cunha, R. R.; Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection. *Talanta* **2009**, *99*, 527. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸¹ da Silva, R. A. B.; Backes, R. S.; Guedes, T. J.; dos Santos, W. T. P.; Determinação rápida e simples de citrato de sildenafil (viagra e genéricos) empregando eletrodo impresso de carbono em sistemas FIA e BIA com detecção amperométrica. *Química Nova* **2017**, *40*, 752. [CrossRef]
- ⁸² Quintino, A. S.; Araki, K.; Toma, H. E.; Angnes, L.; Batch Injection Analysis Utilizing Modified Electrodes with Tetra-ruthenated Porphyrin Films for Acetaminophen Quantification. *Electroanalysis* **2002**, *14*, 1629. [CrossRef]
- ⁸³ Stefano, A. S.; Tormin, T. F.; Da Silva, J. P.; Richter, E. M.; Munhoz, R. A. A.; Amperometric determination of omeprazole on screen-printed electrodes using batch injection analysis. *Microchemical Journal* **2017**, *133*, 398. [CrossRef]
- ⁸⁴ Quintino, M. S. M.; Angnes, L.; Bia-amperometric quantification of salbutamol in pharmaceutical products. *Talanta* **2004**, *62*, 231. [CrossRef]
- ⁸⁵ Da Silva, A. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, 2015. [Link]
- ⁸⁶ Fernandes, J. C. B.; Garcia, C. A. B.; Grandin, L. A.; Oliveira Neto, G. de, Godinho, O. E. S.; Determination of acetylsalicylic acid in tablets with salicylate ion selective electrode in a Batch Injection Analysis system. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **1998**, *9*, 249. [CrossRef]
- ⁸⁷ Freitas, J. M.; Oliveira, T. C.; Gimenes, D. T.; Munoz, R. A. A.; Richter, E. M.; Simultaneous determination of three species with a single-injection step using batch injection analysis with multiple pulse amperometric detection. *Talanta* **2016**, *146*, 670 [CrossRef]
- ⁸⁸ Gimenes, D. T.; Marra, M. C.; Abarza Muñoz, R. A.; Angnes, L.; Richter, E. M.; Determination of propranolol and hydrochlorothiazide by batch analysis with amperometric detection and capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 3261. [CrossRef]
- ⁸⁹ Almeida, J. M. S.; Toloza, C. A. T.; Machado, B. S.; Da Silva, A. R.; Aucelio, R. Q.; Determination of gentamicin sulfate by batch-injection amperometry after solid-phase extraction using a kanamycin-template imprinted polymer. *Microchemical Journal* **2019**, *145*, 187. [CrossRef]
- ⁹⁰ Seleci, M.; Didem, A.G.; Yalcinkaya, E. E.; Demirkol, D. O.; Gulerb, C.; Timur, S.; Amine-intercalated montmorillonite matrices for enzyme immobilization and biosensing applications. *Royal Society of Chemistry Advances* **2012**, *2*, 2112. [CrossRef]
- ⁹¹ Liang, P. Y.; Chang, P. W.; Wang, C. M.; Can clay emit light? Ru(bpy)₃²⁺ modified clay colloids and their application in the detection of glucose. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2003**, *560*, 151. [CrossRef]
- ⁹² Lei, C.; Zhang, Z.; Liu, H.; Deng, J.; Studies on employing tetrathiafulvalene as an electron shuttle incorporated in a montmorillonite-modified immobilization matrix for an enzyme electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1996**, *419*, 93. [CrossRef]
- ⁹³ Cinti, S.; Santella, F.; Moscone, D.; Arduini, F.; Hg²⁺ detection using a disposable and miniaturized screen-printed electrode modified with nanocomposite carbon black and gold nanoparticles. *Environmental Science and Pollution Research* **2016**, *23*, 8192. [CrossRef]
- ⁹⁴ Freitas, J. M.; Ramos, D. L.; Sousa, R. M.; Paixão, T. R.; Santana, M. H.; Muñoz, R. A.; Richter, E. M.; A portable electrochemical method for cocaine quantification and rapid screening of common adulterants in seized samples. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2017**, *243*, 557. [CrossRef]
- ⁹⁵ Hernández-ibáñez, N.; García-cruz, L.; Montiel, V.; Foster, C. W.; Banks, C. E.; Iniesta, J.; Electrochemical lactate biosensor based upon chitosan/carbon nanotubes modified screen-printed graphite electrodes for the determination of lactate in embryonic cell cultures. *Biosensors and Bioelectronics* **2016**, *77*, 1168. [CrossRef]
- ⁹⁶ Jaiswal, N.; Tiwari, I.; Foster, C. W.; Banks, C. E.; Highly sensitive amperometric sensing of nitrite utilizing bulk-modified MnO₂ decorated Graphene oxide nanocomposite screen-printed electrodes. *Electrochimica Acta* **2017**, *227*, 255. [CrossRef]
- ⁹⁷ Backes, R. S.; Guedes, T. J.; dos Santos, W. T. P.; da Silva, R. A. B.; Determinação rápida e simples de citrato de sildenafil (viagra e genéricos) empregando eletrodo impresso de carbono em sistemas FIA e BIA com detecção amperométrica. *Química Nova* **2017**, *40*, 752. [CrossRef]