

Boaventura Freire dos Reis

Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo (CENA/USP) - Av. Centenário, 303 - CP 96 - 13416-000 - Piracicaba - SP

Recebido em 24/2/95; aceito em 10/8/95

CHEMICAL ANALYSIS BY FLOW INJECTION: TWENTY YEARS OF DEVELOPMENT. An historical view of the Flow Injection Analysis (FIA) development is presented. By turning over the pages of the Chemical Abstracts comprising the two last years, it was observed that this process spread about more than forty countries, diffusing into the several branches of analytical chemistry. It is not undertaken a critical analysis about its impact in the world of the analytical chemistry, but it was indubitable that this analytical process has undergone a vertiginous increasing, considering that more than 4,000 papers had been already published.

Keywords: flow injection analysis; historical view.

INTRODUÇÃO

A década de setenta foi muito fértil no lançamento de novas tecnologias, as quais influenciaram o modo de vida que temos atualmente. Produtos que hoje são lugar comum em nosso cotidiano, eram novidades naquela época, sendo que muitos eram protótipos de laboratório, tais como: calculadora de bolso; relógio digital; filme para fotografia colorida; vídeo cassete; microcomputadores; forno de microondas; comunicação por fibras ópticas; etc.

O processo de análise química por injeção em fluxo, foi proposto naquela década e guardadas as proporções, também alcançou grande sucesso. Recorrendo-se ao Chemical Abstracts, verificou-se que pesquisadores de mais de 40 países têm publicado artigos empregando este processo, abrangendo várias áreas da química analítica. O sucesso pode, também, ser aferido, considerando-se que têm sido organizadas duas conferências internacionais: "International Flow Conference", que tem sido promovida a cada 3 anos (a partir de 1979); e "Flow Winter Conference", realizada, anualmente nos Estados Unidos da América. Já foram publicados 5 livros e mais de 4.000 artigos.

Pesquisadores brasileiros tiveram participação no desenvolvimento deste processo desde o início, e consultando os livros de resumos da 16ª e 17ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), verifica-se que no Brasil, este processo é empregado em 10 institutos de pesquisa. Das comunicações em química analítica apresentadas nesta duas reuniões, 15% empregavam o processo de análise química em fluxo.

A análise química por injeção em fluxo, é a versão mais usual em português do título em Inglês "Flow Injection Analysis" de onde foi derivada a sigla FIA internacionalmente conhecida. Este processo de análise química foi proposto em 1975^{1,2} pelo Dr. Jaromir Ruzicka, natural da República Checa e radicado em Copenhague, onde era professor na Universidade Técnica da Dinamarca. Nesta época, o Dr. Ruzicka esteve no Brasil durante um ano, como perito da Agência Internacional de Energia Atômica, assessorando a instalação do laboratório de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP). A maior parte dos experimentos que resultaram nas primeiras publicações, foram realizados no CENA, embora a co-autoria de pesquisadores brasileiros só aparecesse a partir do terceiro artigo da série^{2,3}. Desde o início, houve a colaboração dos pesquisadores Henrique Bergamin Filho, Elias Ayres Guidetti Zagatto e Francisco José Krug. O contato deste autor com o

processo de análise química por injeção em fluxo, ocorreu em 1977 durante o desenvolvimento da pesquisa para preparar a dissertação de mestrado e desde então tornou-se o meu trabalho.

DESCRIÇÃO E EVOLUÇÃO DO PROCESSO

O principal objetivo pretendido ao decidir escrever esta monografia, foi passar uma visão histórica sobre o FIA, para aqueles que estão começando a trabalhar com este processo. Assim, para facilitar o entendimento, será apresentada uma descrição sucinta dos conceitos básicos que envolve a análise química por injeção em fluxo.

O processo de análise química por injeção em fluxo tem como conceito básico a inserção da amostra em um fluido carregador que transporta a mesma para o detector. Inicialmente, a injeção da amostra no fluxo de reagente era feita, empregando uma seringa hipodérmica¹, o que deu origem ao nome do processo. Ao longo destes 20 anos, outros dispositivos foram propostos para inserção da amostra no fluido carregador: injetor proporcional^{3,4}; válvula rotativa⁵; válvulas de 6 e 8 vias^{6,7}; etc.

O mais simples diagrama de fluxos é o de linha única, onde o fluido carregador é o reagente (Fig.1a). Em um módulo de análise com esta configuração, a mistura da amostra com o reagente ocorre exclusivamente por dispersão, enquanto a mesma é transportada em direção ao detector. A dispersão pode afetar a magnitude do sinal analítico⁸.

Quando a razão entre os volumes da alíquota de amostra e do percurso analítico é inadequada, o reagente pode não alcançar o centro da amostra, em quantidade suficiente, para satisfazer as condições para o desenvolvimento das reações químicas envolvidas. Esta limitação foi superada projetando-se os diagramas de fluxo para adição dos reagentes por confluência (Fig.1b), e empregando-se uma solução quimicamente inerte como carregador da amostra⁸. Este procedimento é empregado, atualmente, por grande quantidade de pesquisadores^{9,11}. Quando os reagentes são adicionados por confluência, cada fração da amostra recebe a mesma quantidade do reagente, portanto não se formam gradientes de concentração de reagentes dentro do percurso analítico¹². O volume da alíquota da amostra pode ser até maior que o do percurso analítico, recurso que pode ser adotado para melhorar o limite de detecção. Chama-se percurso analítico o espaço percorrido pela amostra do ponto de injeção até a cela de detecção. A reação química tem início a partir da confluência, em vista disso, o percurso analítico pode ser mais curto, tendo como resultado um aumento na velocidade analítica.

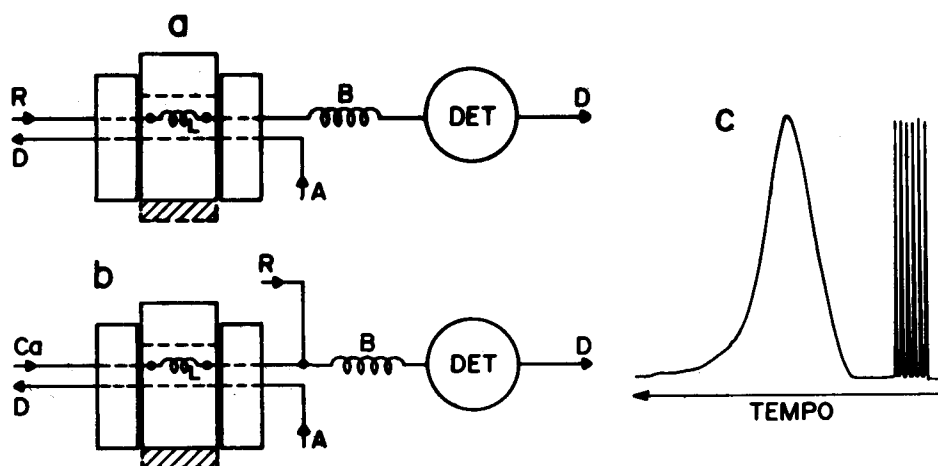


Figura 1. Diagrama de fluxo de um módulo de análise. a) módulo de análise em linha única; b) módulo de análise em confluência; c) registro do sinal analítico traçado em função do tempo. As 3 barras retangulares representam o injetor visto de cima e o registro da esquerda em c, mostra o perfil de distribuição do analito ao passar pelo detector. A= amostra, D= descarte, R= reagente, L= alça de amostragem, B= bobina de reação, Ca= fluido carregador e DET= detector. A área achurada indica a posição ocupada pela barra central durante a amostragem.

Empregando-se a adição do reagente por confluência, a vazão do mesmo pode ser menor que a do carregador^{13,14}, o que leva a uma diminuição do consumo de reagente. Adotando-se este conceito, ocorre uma acentuada economia de reagente, mas o mesmo é bombeado continuamente, enquanto que a presença da amostra no percurso analítico ocorre de maneira intermitente. Tendo como objetivo minimizar o consumo de reagentes, foram propostos os processos de zonas coalescentes (Merging Zones)^{15,16} e de fluxo intermitente (Intermittent Flow)¹⁷, figura 2. No primeiro caso, o reagente é injetado em sincronismo com a amostra, empregando alças de amostragem. A razão entre os comprimentos das alças de amostragem do reagente e da amostra (L1/L2, Fig.2a) é igual a razão entre as vazões dos respectivos carregadores. Este arranjo evita o consumo de reagente na ausência da amostra. No caso do fluxo intermitente, economiza-se o reagente durante a etapa de amostragem, conforme mostra o diagrama de fluxos da figura 2b.

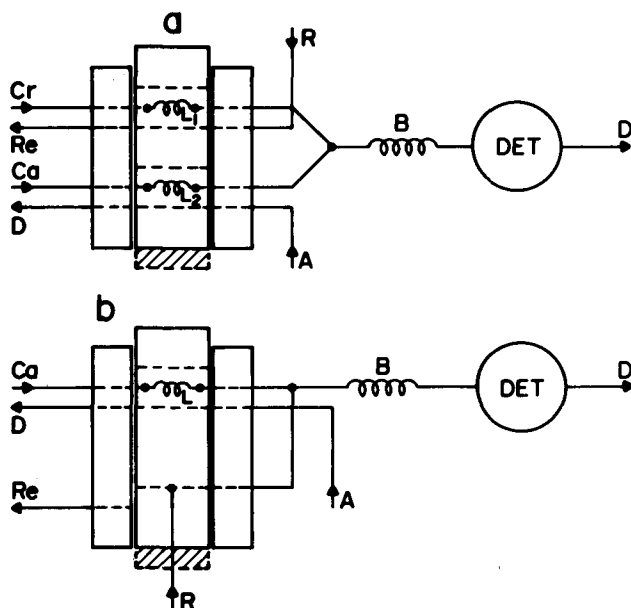


Figura 2. Diagrama de fluxo de um módulo de análise para economizar reagentes. a) módulo de análise com zonas coalescentes; b) módulo de análise com fluxo intermitente. Cr= fluido carregador do reagente, Re= recuperação do reagente, L, L1 e L2= alças de amostragem. Os demais símbolos já foram definidos na figura anterior.

A dispersão da amostra no fluido carregador depende das características físico-químicas das duas soluções, principalmente da viscosidade. O efeito da dispersão sobre a magnitude do sinal analítico, depende de parâmetros intrínsecos do módulo de análise: diâmetro interno do percurso analítico; tubo de parede interna lisa ou rugosa; tubo reto ou enrolado em espiral; e vazão do carregador.

Dentre estes parâmetros o que apresenta efeito mais acentuado, é a razão entre os comprimentos da alça de amostragem e do percurso analítico¹⁸. Em vista disso, quando pretendemos determinar um analito, cuja concentração é muito baixa, o comprimento da alça de amostragem deve ser igual ou maior que o percurso analítico. No outro extremo, quando as amostras são muito concentradas, podemos diminuir a razão entre alça de amostragem e o percurso analítico, impondo à amostra uma grande dispersão. Então, simplesmente diminuindo o comprimento da alça de amostragem, podemos ajustar a magnitude do sinal analítico, para situar dentro da faixa operacional do instrumento de detecção. A troca da alça de amostragem é uma operação muito simples, e nem é preciso desligar o equipamento. Empregando-se este recurso, atenuações da ordem de 1:10 são facilmente conseguidas.

Em espectrofotometria de absorção atômica ou de absorção molecular, a faixa de operação dinâmica dos instrumentos, em geral, situa-se em uma ordem de grandeza. Em vista disso, a faixa de concentrações das soluções padrões para levantar as curvas analíticas, também é estreita, sendo necessário, em muitos casos, diluir as amostras. Empregando-se um módulo de análise FIA, variando-se o comprimento da alça de amostragem, a faixa de concentrações pode ser facilmente estendida por mais de uma década. Entretanto, em um laboratório de análise química, ocorrem situações em que atenuações maiores do que 1:10 são necessárias. O comprimento da alça de amostragem não pode ser diminuído indefinidamente, sendo que nos injetores proporcionais^{4,18}, o menor volume que se consegue estabelecer, situa-se em torno de 20 microlitros. A atenuação obtida pode não ser suficiente para situar a leitura dentro da faixa de operação do instrumento. Esta era uma limitação dos primeiros sistemas FIA, mas foi superada com o desenvolvimento do processo de reamostragem (Sampling Zones)¹⁹. Na figura 3a é mostrada a estratégia empregada para implementá-lo, onde se pode observar que o mesmo tem como base o efeito da dispersão em função do volume injetado. A amostra se dispersa no primeiro percurso analítico, sofrendo uma atenuação de X% ($X\% = C_{\text{max}}/C_0 \times 100$). Amostrando-se nesta região uma alíquota com volume igual ao inicial e injetando-se no segundo

percurso analítico, ocorre processo análogo ao primeiro, portanto se invariavelmente a atenuação for de 1:10, o resultado final é atenuação de 1:100. Este efeito pode ser aumentado, efetuando-se a reamostragem em regiões de menores concentrações como assinalado na figura 3b.

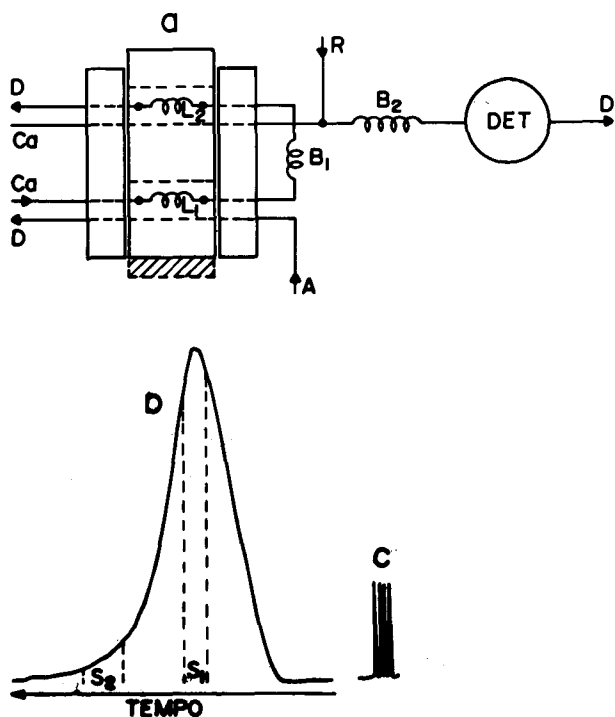


Figura 3. Diagrama de fluxo de um módulo de análise para efetuar diluição por reamostragem. L_2 = alça de amostragem, L_1 = alça de reamostragem, B_1 = bobina de dispersão, B_2 = bobina de reação. b) registro do perfil de distribuição do analito quando a bobina B_1 é conectada ao detector, c) registro do sinal analítico obtido efetuando-se a comutação do injetor quando a fração volumétrica S_1 está contida na alça de reamostragem L_1 . S_2 indica a posição de reamostragem para conseguir diluição mais acentuada.

A adição de soluções padrões é uma técnica usada em química analítica, tendo como finalidade, corrigir efeito de matriz. Em cada amostra é preciso adicionar, pelo menos, duas soluções padrões, o que torna esse processo inviável, quando o número de amostras a ser analisadas é muito grande. No caso do processo de reamostragem¹⁹, em cada região amostrada tem-se uma concentração diferente, que é equivalente a diferentes diluições da solução padrão inicial. Lançando-se mão desse recurso, associado ao processo de zonas coalescentes^{18,19}, foi possível automatizar o método das adições de padrões, usando somente uma solução padrão concentrada para gerar, em linha, os padrões adicionados à amostra²⁰.

Em parágrafos anteriores foi abordado o emprego do processo FIA para diluir amostras muito concentradas, entretanto há muitas situações em que a concentração do analito está abaixo do limite de detecção. A solução para esse tipo de problema tem sido encontrada recorrendo-se aos processos de pré-concentração em linha, sendo que a extração líquido-líquido, ou a extração sólido-líquido têm sido os mais empregados.

Na extração líquido-líquido, em geral, produz-se com o analito um composto cuja solubilidade em fase orgânica é bem maior do que em fase aquosa. Sendo o volume da fase orgânica menor do que o da fase aquosa, tem-se um bom fator de pré-concentração. Este processo foi implementado em sistemas FIA^{4,21}, empregando um módulo de análise idêntico aos projetados para determinação em fase aquosa. Após completar-se a reação química para

formar o composto a ser extraído, era adicionado por confluência um fluxo do solvente orgânico apropriado, passava por uma bobina de extração, onde o composto formado pelo analito passava da fase aquosa para a fase orgânica. A bobina de extração era conectada a uma câmara de extração, onde a separação das duas fases ocorria por diferença de densidade. A fase orgânica era bombeada para a cela de fluxo de um espectrofotômetro e a fase aquosa dirigida para o descarte. O fator de pré-concentração era proporcional ao volume da alça de amostragem e à razão entre os fluxos da solução carregadora e da fase aquosa.

A separação da fase orgânica é a etapa mais importante do processo, diversos autores têm empregado câmaras de separação com membrana de PTFE (Teflon)²². Em função das propriedades hidrofóbicas do teflon, somente a fase orgânica atravessa a membrana para o lado do fluido receptor.

Na pré-concentração por extração da fase líquida para fase sólida, o meio mais empregado têm sido as resinas de troca iônica. As mais empregadas nos sistemas FIA tem sido: AG50W-X8, catiônica forte²³; Chelex-100, catiônica fraca²⁴; e AG1-X8 aniônica forte²⁵. O emprego de resinas de troca iônica no FIA foi proposto em 1980, para efetuar pré-concentração de amônio em águas naturais e determinação por espectrofotometria de absorção molecular²⁶. Desde então, seu emprego foi estendido para pré-concentração de ânions^{27,28} e de cátions metálicos^{29,30}. Como detectores têm sido empregados espectrofotômetro de absorção atômica³⁰, espectrofotômetro de emissão atômica com plasma³¹ e espectrofotômetro de absorção molecular³².

Neste processo de pré-concentração, o fator de enriquecimento é função do volume de amostra bombeado através da coluna de resina. Este volume pode ser definido pelo comprimento da alça de amostragem ou pelo tempo de bombeamento. Para se implementar a pré-concentração por tempo, o módulo de análise deve ser constituído necessariamente por um injetor automático. Adotando-se a pré-concentração por tempo, o diagrama de fluxos é mais simples e oferece uma maior maleabilidade no ajuste das variáveis. O acoplamento da coluna de resina tem sido efetuado no injetor, substituindo a alça de amostragem, ou intercalando a mesma no percurso analítico³³. O acoplamento da coluna no injetor apresenta como vantagem a possibilidade de efetuar a eluição em sentido reverso, evitando que os constituintes da amostra que não são adsorvidos pela resina alcancem o detector. Este recurso é muito importante quando a amostra tem alta concentração salina, por exemplo água de mar³⁰. Além das resinas de troca iônica citadas, outros materiais têm sido usados para este fim, tais como octadecil³⁴ e sílica gel³⁵.

Precipitação e redissolução são processos empregados em química analítica para se efetuar separação dos constituintes da amostra, possibilitando ao mesmo tempo efetuar pré-concentração do analito. Quando implementado com o processo FIA, o precipitado formado pelo analito é retido no percurso analítico, sendo posteriormente dissolvido e transportado para o detector^{36,37}.

Uma das características importantes do processo FIA, principalmente quando empregamos espectrofotometria de absorção molecular, é que a leitura da absorbância pode ser feita sem que a reação tenha sido completada. Entretanto, quando a concentração do analito é baixa, é necessário que a reação química se complete. Esta condição tem sido alcançada aumentando-se o comprimento do percurso analítico ou diminuindo-se a vazão do fluido carregador. Em ambos os casos, ocorre diminuição da velocidade analítica. Tendo como objetivo minimizar este efeito, foram propostas as técnicas "Stopped flow"³⁸ e "Zone trapping"³⁹. No primeiro caso, o diagrama de fluxos foi arranjado de modo que, após a amostra ter sido injetada e misturada com os reagentes, os fluxos eram interrompidos por um intervalo de tempo suficiente para completar a reação, e então, eram restabelecidos novamente. Este processo também tem sido empregado em estudos de cinética reacional⁴⁰.

No segundo caso, após a adição dos reagentes, a bobina de reação contendo a zona da amostra, era removida do percurso analítico. Após decorrer um intervalo de tempo suficiente para completar a reação, a mesma era inserida novamente no percurso analítico e o composto formado era deslocado para a cela de detecção. Nas duas propostas, a vazão do carregador é alta, sendo o percurso analítico da mesma ordem dos sistemas usuais. Assim, diminui-se o tempo necessário para transportar a zona da amostra para a cela de detecção e desta para o descarte, o que resulta em aumento na velocidade analítica.

A dispersão do analito no fluido carregador, ocorre em vista da miscibilidade das duas soluções. Para se evitar que isso ocorra, Pasquine *et al* propuseram o processo de fluxo monosegmentado por bolhas de ar⁴¹. A zona de amostra e de reagentes é inserida no percurso analítico entre duas bolhas, formando uma interface de fase gasosa entre a amostra e a solução carregadora. Não havendo contato entre as duas soluções, não ocorre dispersão. Quando a detecção é efetuada por espectrofotometria de absorção molecular, as bolhas de ar devem ser removidas antes da cela de fluxo⁴¹. Entretanto, em espectrofotometria de absorção atômica não é necessário removê-las, desde que o comprimento da bolha de ar inserida no percurso analítico, não exceda 5 cm⁴². Este processo pode ser empregado para se aumentar o tempo de residência da amostra no percurso analítico, sem diminuir taxa de amostragem. Nesse caso a dispersão é baixa, mesmo quando o volume da alíquota de amostra injetado é muito menor que o do percurso analítico. O módulo de análise pode ser projetado, aproveitando-se esses recursos, possibilitando que várias amostras sejam enfileiradas no percurso analítico, separadas por bolhas de ar e sem o risco de contaminação entre as amostras.

A determinação conjunta de mais de um analito por amostra sempre foi um desejo acalentado pelos químicos analíticos, o qual tem sido procurado realizar com o processo FIA. Assim, já no V artigo da série FIA, foi proposto um módulo de análise para determinação espectrofotométrica de amônio e ortofosfato em digeridos de material vegetal⁴³. Após a injeção, a zona da amostra era dividida em duas partes, cada uma seguia um percurso analítico distinto, onde eram adicionados os reagentes apropriados. A evolução do processo levou a concepção de diagramas de fluxos, para determinar NO_2^- e NO_3^- pela conversão em linha do nitrato a nitrito, empregando uma coluna de limalhas de cádmio recobertas com uma fina camada de cobre⁴⁴.

Os módulos de análise propostos para detecção multielementar, são baseados em diagramas de fluxos com um ou com dois percursos analíticos. No primeiro caso, a determinação de cada analito é feita sequencialmente e pode ser classificada em duas categorias: conversão de uma espécie química para a outra e determinação usando o mesmo reagente cromogênico⁴⁴; ou usando reagentes cromogênicos distintos, cujos compostos formados com os analitos absorvem radiação eletromagnética na mesma faixa de comprimentos de onda⁴⁵. No segundo caso, a determinação pode ser feita com o mesmo detector, quando absorção ocorre na mesma faixa de comprimentos de onda⁴⁶, ou empregando detectores distintos⁴⁷.

A determinação de multicomponentes por amostra empregando o processo FIA, apesar do esforço que tem sido feito desde o início^{43,44}, o número de analitos determinado, na maioria das propostas, tem sido apenas dois. Somente quando foi empregado espectrofotômetro de emissão atômica com plasma⁴⁸, ou um conjunto de eletrodos íon-seletivos⁴⁹, um maior número de analitos foi determinado. Dentre as causas limitantes, podemos citar duas de grande importância: na determinação sequencial empregando-se o mesmo percurso analítico, o maior impedimento está na incompatibilidade dos reagentes para cada analito; e na determinação simultânea empregando um percurso analítico para cada espécie química de interesse, é necessário um detector para cada analito. Neste caso, o emprego de eletrodos íon-seletivos de geometria tubular^{50,51},

apresenta um grande potencial, pois os mesmos podem ser distribuídos em série no percurso analítico, e acoplados ao mesmo instrumento de condicionamento de sinal.

Algumas espécies químicas podem ser convertidas para fase gasosa, por meio de reações químicas apropriadas. Esta característica pode ser aproveitada para separar o analito da matriz, eliminando-se, assim, os efeitos de possíveis interferentes. O primeiro método proposto com processo FIA, baseado neste princípio, destinava-se à determinação espectrofotométrica de amônio em digeridos de material vegetal⁵². Baseado neste princípio foram desenvolvidos métodos para determinação de amônio e uréia empregando condutometria como técnica de detecção^{53,54}. Em todos estes casos, o analito era convertido em linha para uma espécie gasosa, a qual atravessava uma membrana permeável a gás, em geral teflon, sendo coletado por um fluido apropriado, onde o gás era convertido a uma espécie química detectada por condutometria. Este procedimento apresenta como grande atração a simplicidade dos diagramas de fluxo e o emprego de instrumentação de baixo custo.

Espécies químicas tais como bismuto, arsênio, selênio, etc, podem gerar hidretos ao reagir em meio ácido com borohidreto de sódio (NaBH_4). Baseado nesta propriedade, foram desenvolvidos métodos para determinação de arsênio⁵⁵ e selênio⁵⁶ por espectrofotometria de absorção ou emissão atômica.

Uma característica importante do processo FIA, é que o módulo de análise é um sistema fechado e, uma vez introduzida a alíquota da amostra no percurso analítico, as reações químicas e a detecção ocorrem sem nenhum contato externo. Essa característica é de suma importância, quando o processo analítico é baseado na geração de uma espécie gasosa, pois evita perda do analito para o ambiente.

A detecção potenciométrica empregando eletrodos íon-seletivo é um procedimento muito atrativo em química analítica, principalmente por empregar equipamento de baixo custo. Seu emprego como detector em sistemas FIA foi proposto por Ruzicka *et al* no VII artigo da série FIA⁵⁷. Hoje o emprego de eletrodos íon-seletivo no FIA é bastante difundido, estendendo-se à determinação de cátions e ânions⁵⁸. Nos primeiros trabalhos com eletrodos no FIA, empregavam-se eletrodos construídos para detecção em situação estática, sendo necessário acoplar ao percurso analítico, uma câmara onde o eletrodo indicador e o eletrodo de referência eram instalados⁵⁷.

O sucesso do emprego de eletrodos como sensor no FIA, levou ao desenvolvimento dos eletrodos tubulares, os quais podem ser acoplados no módulo de análise como parte do percurso analítico⁵⁹. O emprego de eletrodos tubulares melhora o desempenho do módulo de análise, pois tendo o diâmetro interno da mesma dimensão do diâmetro do percurso analítico, o volume interno do mesmo não atua como diluidor. Em consequência, melhora a resposta do sinal analítico gerado, apresenta menor tempo para o sinal transiente retornar à linha de base, resultando em velocidade analítica mais alta.

Além da detecção potenciométrica adotada em maior escala⁵⁹, métodos analíticos baseados em detecção amperométrica empregando o processo FIA, também têm sido propostos^{60,61}. Diagramas de fluxos bastante engenhosos têm sido apresentados, permitindo colocar em série dois eletrodos, possibilitando efetuar detecção amperométrica ou biamperométrica⁶². Outros arranjos têm sido propostos, empregando reatores com enzima imobilizada, produzindo assim, em linha, transformações do analito, que possibilitam a detecção amperométrica^{63,64}.

A determinação de mais de um analito por amostra, empregando o processo FIA, tem sido objeto de pesquisa desde o início⁴³. Embora a maioria dos artigos publicados envolvendo a determinação de multicomponentes sejam baseados na detecção espectrofotométrica, também em amperometria, foram propostos módulos de análise para efetuar a determinação de dois analitos por amostra. Assim, empregando injeção sequencial com dois injetores independentes⁶⁵, ou efetuando uma bifurcação da

zona da amostra após a injeção, foi possível processar cada zona da amostra de forma diferente⁶⁶. Empregando estas estratégias foi possível determinar, sequencialmente, sucrose e glucose em suco de beterraba⁶⁵, sulfito e fosfato em vinhos⁶⁶.

O desenvolvimento de métodos catalíticos empregando o processo FIA, abrange principalmente, a espectrofotometria de absorção molecular. Nos métodos propostos, na maioria dos casos, o analito é o catalizador^{67,68,69}. Assim, foram desenvolvidos métodos para determinação de sulfato em águas naturais⁷⁰ e cobalto em fígado⁷¹.

A conversão da espécie química de interesse em outra que apresenta propriedades mais favoráveis à detecção, tem sido incorporada ao processo FIA, principalmente em espectrofotometria de absorção molecular^{44,70,73}. Também, com esta finalidade, a técnica de enzima imobilizada tem sido adotada^{74,75}. A enzima imobilizada é incorporada no percurso analítico, e além de apresentar ótimo desempenho, necessita apenas de uma pequena massa de enzima, o que é muito importante, considerando-se o custo deste material.

A turbidimetria é um procedimento pouco empregado em determinações quantitativas, por causa das dificuldades de ordem prática. Por exemplo, é muito difícil manter o sólido formado em suspensão, por um tempo suficiente para se efetuar a leitura da turbidez. Empregando o processo FIA, tem-se eficiente controle sobre o tempo entre a injeção da amostra, adição dos reagentes, e o desenvolvimento da reação. Além disto, a detecção é feita com a amostra em movimento, o que evita a precipitação das partículas formadas. Considerando-se estas características, foram desenvolvidos métodos para a determinação de sulfato em digeridos de material vegetal e águas de represa^{27,76}. Também têm sido apresentados métodos para a determinação turbidimétrica de outros analitos, em diferentes tipos de matrizes⁷⁷.

Titulação usando um indicador visual para encontrar-se o ponto de equivalência, é um procedimento analítico que, embora tenha sido proposto há mais de um século, ainda é muito usado. Ao longo do tempo foram feitas tentativas de automatização⁷⁸, e neste sentido no IX artigo da série FIA, Ruzicka et al apresentaram um sistema para efetuar titulações com detecção espectrofotométrica⁷⁹. Ao longo destes anos, outros procedimentos têm sido propostos, procurando-se melhorar o desempenho dos módulos de análise. Enquanto na proposta de Ruzicka uma câmara de diluição era empregada para gerar um gradiente de concentração da espécie titulada, outros autores têm preferido empregar um módulo de análise com configuração em confluência. Variando-se a razão entre as vazões das soluções do titulando e do titulador, encontram-se os pontos de equivalência^{80,81}. Empregando-se câmara de diluição, gera-se um gradiente ascendente e um descendente, apresentando como resultado dois pontos de equivalência⁷⁹. O intervalo de tempo decorrido entre os registros dos dois pontos de equivalência, é tomado como parâmetro de medida para determinar-se a concentração do analito. Quando é empregada a variação das vazões, somente um ponto de equivalência é detectado^{80,81}. Este procedimento pode ser mais rápido, mas para implementá-lo, é preciso dispor de duas bombas peristálticas com controle automático de velocidade. Mais recentemente, foi proposto para titulação fotométrica o conceito de procura binária⁸². É um procedimento de aproximação sucessiva, sendo que após cada tentativa, varia-se a razão entre a alíquota da amostra e do titulante para efetuar-se a etapa seguinte. É um processo completamente automático, de modo que a ordem em que deve variar o volume das alíquotas das soluções é decidida por "software" a partir da leitura do sinal analítico, gerado na tentativa anterior. É implementado, empregando-se apenas um canal de bombeamento, sendo que pode executar uma titulação a cada 3 min, com erro menor do que 1%, e gastando um volume de titulante da ordem de 1ml.

Desde a proposta inicial, o processo FIA trazia embutido no

seu conceito a idéia de automatização da análise química. O injetor automático foi proposto em 1980²⁶ e evoluiu dos injetores comutadores com estrutura solidária⁸³, para os sistemas de injeção formados por válvulas solenóides⁸⁴, que são dispositivos de acionamento discreto. O módulo de análise construído com válvulas solenóides, confere maior autonomia ao operador, tornando possível escolher a ordem de adição dos reagentes⁴⁵. Entretanto, o injetor comutador tem uma estrutura mais compacta, inclusive superior às válvulas de 6 e 8 vias. São necessários 3 válvulas solenóides de 3 vias para formar uma unidade de injeção. Têm sido propostos módulos de análise em que são necessárias 3 unidades distintas, as quais são acomodadas facilmente em um injetor proporcional⁸³. Em um projeto deste tipo, empregando válvulas solenóides de 3 vias, seriam necessárias 9 unidades para implementá-lo.

Associando-se no mesmo módulo de análise o injetor comutador automático e válvulas solenóides, pode-se obter ótimo desempenho, tirando vantagem das facilidades que esta associação oferece. Aproveitando estas facilidades, foram propostos módulos de análise para diluição programada em espectrofotometria de absorção atômica^{85,86} e para implementar a técnica de adição de padrões em espectrofotometria de emissão atômica com plasma, gerando em linha os padrões a serem adicionados à amostra⁸⁷.

O universo dos métodos de análise baseados no processo FIA, foram desenvolvidos para se trabalhar com amostras em solução aquosa. Conseqüentemente, amostras sólidas necessitam passar por uma etapa de solubilização. A dissolução das amostras, em geral, é uma etapa demorada constituindo-se a pedra angular em controle de processos na indústria metalúrgica. Considerando-se que ligas metálicas podem ser dissolvidas rapidamente por processos eletroquímicos, foram desenvolvidos módulos de análise em que uma célula para dissolução eletrolítica, foi incorporada ao percurso analítico. A amostra sólida formava o ânodo da célula eletroquímica, e fazendo-se passar uma corrente elétrica através da célula, dissolvia-se uma fração da amostra, que era dirigida para o detector⁸⁸.

Em publicação recente, Ruzicka faz uma apreciação retrospectiva sobre os 20 anos do processo FIA, e menciona que mais de 4.000 artigos já foram publicados⁸⁹, e apresenta especulação sobre o futuro do mesmo. De acordo com sua visão, nessas duas décadas de existência deste processo de análise química, nada de substancial foi acrescentado ao mesmo. Por fim, o autor apresenta como única nova concepção um processo que ele chamou "Sequential Injection Analysis", identificado pela sigla SIA^{90,91}, que o mesmo considera a vanguarda do processo de análise química em fluxo. Assemelha-se à visão do pai, encantado com o sucesso do filho, a ponto de esperar que o caçula tenha o mesmo desempenho do primogênito, até mesmo não considerando a influência do meio. Neste caso, o meio é constituído pelas centenas de pesquisadores espalhados pelo mundo, os quais contribuíram para o desenvolvimento deste processo, estendendo-o aos vários ramos da química analítica. Assim, além das técnicas espectrofotométricas e eletroquímicas mais usuais citadas ao longo desta monografia, outras técnicas de detecção têm sido empregadas com processo FIA: polarimetria⁹²; fluorimetria⁹³; quimioluminescência^{94,95}; transformada de fourier⁹⁶; e etc.

Há um dito popular que diz: "se um sujeito desconhece a sua própria origem e tornar-se um cidadão de mau comportamento, a sociedade o enxotará. Mas se ele tornar-se um cidadão proeminente, muitos dirão que são seus parentes". Ruzicka, em parte, viveu algo semelhante. Inicialmente sustentou uma discussão com o diretor de uma grande companhia, que tentava mostrar que o FIA era algo sem futuro. Mas Ruzicka respondeu que era injusto uma empresa de grande porte, querer comparar o desempenho do melhor equipamento que ela tinha no mercado com o FIA, que ainda era um protótipo de laboratório⁸⁷. Com o sucesso inegável do FIA, surgiu na literatura um questionamento

quanto a paternidade do processo, argumentando-se que anterior ao artigo do Ruzicka, já havia um trabalho de E. Pungor⁹⁸. Entretanto, ninguém discorda, que a expressão "Flow Injection Analysis" foi "cunhada" por Ruzicka e foi ele que, ao publicar uma série de 10 artigos, despertou a atenção de outros pesquisadores para as potencialidades do processo.

Novos conceitos e procedimentos que alargam os horizontes do processo, continuam aparecendo na literatura, além da injeção seqüencial^{90,91}, entre os quais podemos citar: extração por solvente em fluxo mono-segmentado⁹⁹; relocação de detector¹⁰⁰; técnica de sanduiche¹⁰¹ e amostragem binária¹⁰². A relocação do detector possibilita que se empregue um módulo de análise, tendo dois percursos analíticos com um único detector. Quando é empregado em espectrofotometria de absorção molecular, a célula de fluxo é acoplada ao injetor comutador. Ao deslocar o injetor da posição de injeção para a de amostragem, e vice-versa, desloca-se solidariamente a célula de fluxo de um percurso analítico para outro¹⁰⁰. A técnica de sanduiche permite a determinação seqüencial de dois analitos, usando reagentes cromogênicos distintos, empregando o mesmo percurso analítico¹⁰¹. A amostragem binária tem, como conceito básico, empregar apenas um canal de bombeamento para selecionar as alíquotas da amostra e dos reagentes, introduzi-las no percurso analítico e transportar para o detector. Pode coletar alíquotas de amostra e de reagentes com volume de 3 µl com boa precisão, o que resulta em um baixo consumo de reagentes¹⁰².

O caráter modular implícito na proposta inicial, manteve-se ao longo destes 20 anos. Também desde o início, o FIA foi considerado um meio de processamento semi-automático da análise química. A evolução do processo levou ao emprego de injetores automáticos¹⁰³, aquisição e processamento de dados^{104,105}, determinação multiementar^{106,107}. Apesar da sofisticação apresentada em termos de recurso de informática por alguns autores^{108,109}, encontram-se ainda muitos artigos na literatura em que são empregados injetores manuais. O sinal transiente gerado pelo detector é monitorado com registrador potenciométrico, tal com se fazia há 20 anos atrás^{110,111}.

Esta é uma virtude do processo, onde o fator mais importante é o conhecimento das reações químicas envolvidas. O módulo de análise é desenvolvido a partir deste domínio, então investiga-se a otimização das variáveis envolvidas, afim de que se obtenha o melhor desempenho. Esta é a essência do processo e a causa maior do seu sucesso. O desempenho depende, exclusivamente, da competência do pesquisador e não dos milhares de dólares investidos em equipamentos.

E, por último, convém chamar atenção para algumas peculiaridades do processo FIA, que o torna muito atraente em laboratório de análise química em larga escala. Pode ser implementado com instrumentação de baixo custo, mesmo quando empregamos microcomputador para efetuar controle e aquisição de dados. Necessita pouca vidraria e apresenta baixo consumo de reagentes. Este último item é de suma importância, pois, quando é inevitável o uso de um reagente poluente, o emprego deste processo de análise química, diminui o impacto ambiental que pode ser causado pelo mesmo.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Elias Ayres Guidetti Zagatto pela colaboração na revisão do manuscrito e ao CNPq, FAPESP e FINEP pelo apoio recebido ao longo destes anos.

REFERÊNCIAS

1. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1975**, *78*, 145.
2. Stewart, J. W. B.; Ruzicka, J.; Bergamin F^o, H.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1976**, *81*, 371.

3. Ruzicka, J.; Stewart, J. W. B.; and Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1976**, *81*, 387.
4. Bergamin F^o, H.; Medeiros, J. X.; Reis, B. F. and Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, *101*, 9.
5. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Mosback, E. A.; Krug, F. J.; *Anal. Chem.* **1977**, *49*, 1958.
6. Muraki, H.; Higuchi, K.; Sasaki, M.; Korenaga, T.; Tôei, K.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 345.
7. Alonso-Chamorro, J.; Bartrolí, J.; Barber, R.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 219.
8. Bergamin F^o, H.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, *97*, 427.
9. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*; 2nd., Wiley-Interscience; New York, 1988.
10. Valcárcel, M.; Luque de Castro, M. D.; *Flow-Injection Analysis. Principles and Applications*; Horwood. Chichester, 1st edn., 1987.
11. Hansen, E.H.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 125.
12. Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Martinelli, M.; Krug, F. J.; Bergamin F^o, H.; Giné, M. F.; *Anal. Chim. Acta*, **1987**, *198*, 153.
13. Nóbrega, J. A.; Fatibello F^o, O.; Vieira, I. C.; *Analyst* **1994**, *119*, 2101.
14. Tanaka, A.; Deguchi, K.; Deguchi, T.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 281.
15. Bergamin F^o, H.; Zagatto, E. A. G.; Krug, F. J.; Reis, B. F.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, *101*, 17.
16. Jacintho, A. O.; Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Pessenda, L. C. R.; Krug, F. J.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *130*, 361.
17. Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Mortatti, J.; Bergamin F^o, H.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, *120*, 399.
18. Reis, B. F.; Giné, M. F.; Kronka, E. A. M.; *Quím. Nova* **1989**, *12*, 82.
19. Reis, B. F.; Jacintho, A. O.; Mortatti, J.; Krug, F. J.; Zagatto, E. A. G.; Bergamin F^o, H.; Pessenda, L. C. R.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *123*, 221.
20. Giné, M. F.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Krug, F. J.; Jacintho, A. O.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, *155*, 131.
21. Karlber, B.; Thelander, S.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, *98*, 1.
22. Saki, T.; Ohno, N.; *J. Flow Anal.* **1993**, *10*, 2.
23. AG50W-X8 Cation Exchange Resin Instruction Manual, Bio-Rad Laboratories, Richmond, Harbour Way South, Richmond, CA, 94440.
24. Chelx-100 and Chelex-20 Chelating Ion Exchange Resin Instruction Manual, BIO-RAD Laboratories, Richmond, Harbour Way South, Richmond, CA, 94440.
25. Strong anion exchange resin instruction manual, Bio-Rad Laboratories, 1414 Harbour Way South, Richmond, CA, 94440.
26. Bergamin F^o, H.; Reis, B. F.; Jacintho, A. O. and Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, *117*, 81.
27. Santos F^a, M. M.; Reis, B. F.; Krug, F. J.; Collins, C. H.; Baccan, N.; *Talanta* **1993**, *40*, 1529.
28. Ferreira, J. R.; Zagatto, E. A. G.; Arruda, M. A. Z.; Brienza, S. M. B.; *Analyst* **1990**, *115*, 779.
29. Liu, Y.; Ingle Jr., J. D.; *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 525.
30. Olsen, O.; Pessenda, L. C. R.; Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Analyst* **1984**, *108*, 905.
31. Shabani, M. B.; Masuda, A.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 315.
32. Santos F^a, M. M.; Reis, B. F.; Bergamin F^o, H.; Baccan, N.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 339.
33. Zagatto, E. A. G.; Brienza, S. M. B.; Arruda, M. A. Z.; Jacintho, A. O.; *Quím. Nova* **1993**, *16*, 130.
34. Fang, Z.; Sperling, M.; Weltz, B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1990**, *5*, 639.
35. Ishizuki, T.; Matsumoto, K.; Yuchi, A.; Ozawa, T.; Yamada, H.; Wada, H.; *Talanta* **1994**, *41*, 799.

36. Pei, S.; Fang, Z.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 294, 185.
37. Santelli, R. E.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Anal. Chem.* **1989**, 61, 1427.
38. Christian, G. D.; Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 11.
39. Krug, F. J.; Reis, B. F.; Giné, M. F.; Ferreira, J. R.; Jacintho, A. O.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta.* **1983**, 151, 39.
40. Chung, S.; Wen, X.; Vilholm, K.; DeBang, M.; Christian, G.; Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta.* **1991**, 249, 77.
41. Pasquini, C.; Oliveira, W. A.; *Anal. Chem.* **1985**, 57, 2575.
42. Reis, B. F.; Arruda, M. A. Z.; Zagatto, E. A. G.; Ferreira, J. R.; *Anal. Chim. Acta.* **1988**, 206, 253.
43. Ruzicka, J.; Stewart, J. W. B.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta.* **1976**, 81, 387.
44. Giné, M. F.; Bergamin F^o, H.; Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; *Anal. Chim. Acta.* **1980**, 114, 181.
45. Kang, S. W.; Sakai, T.; Ohno, N.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 197.
46. Stewart, J. W. B.; Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta.* **1976**, 82, 137.
47. Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Pessenda, L. C. R.; Krug, F. J.; Reis, B. F.; Bergamin F^o, H.; *Anal. Chim. Acta.* **1981**, 125, 37.
48. Jacintho, A. O.; Zagatto, E. A. G.; Bergamin F^o, H.; Krug, F. J.; Reis, B. F.; Bruns, R. E.; Kowalski, B. R.; *Anal. Chim. Acta.* **1981**, 130, 243.
49. Najin, F. M.; Othman, S.; *Talanta* **1992**, 39, 1259.
50. Gomes Neto, J. A.; Nogueira, A. R.; Bergamin F^o, H.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, C. B. S.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 285, 293.
51. Figuerola, E.; Florido, A.; Aguilar, M.; Pablo, J.; Alegret, S.; *Anal. Chim. Acta.* **1989**, 215, 283.
52. Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Bergamin F^o, H.; Krug, F. J.; *Anal. Chim. Acta.* **1979**, 109, 41.
53. Faria, L. C.; Pasquini, C.; *Anal. Chim. Acta.* **1991**, 193, 183.
54. Faria, L. C.; Pasquini, C.; Oliveira Neto, G.; *Analyst* **1991**, 116, 357.
55. Liversage, R. R.; van Loon, J. C.; de Andrade, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 161, 275.
56. Coelho, N. M. M.; Baccan, N.; 17^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química 1994, QA79.
57. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; and Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta.* **1977**, 88, 1.
58. Ferreira, I. M. P. L. O.; Lima, J. L. F. C.; *J. Flow Anal.* **1993**, 10, 17.
59. Montenegro, M. C. B. S.; Lima, J. L. F. C.; Mattos, I. L.; Oliveira Neto, G.; Gomes, J. A.; Zagatto, E. A. G.; *Talanta* **1993**, 40, 1563.
60. Nóbrega, J. A.; Capelato, M. D.; Gama, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1994**, 5, 91.
61. Trojanowicz, M.; Matuszewski, W.; Szostek, B.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 391.
62. Favaro, G.; Sacchetto, G. A.; Pastore, P.; Fiorani, M.; *Anal. Chim. Acta.* **1993**, 273, 457.
63. Neumary, M.; Fridrich, O.; Sontag, G.; *Anal. Chim. Acta.* **1993**, 273, 460.
64. Raba, J.; Motola, H. A.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1485.
65. Michalowshi, J.; Kojlo, A.; Trojanowicz, M.; Szostek, B.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta.* **1993**, 271, 239.
66. Yau, T.; Sotamura, M.; Nakahara, T.; *Talanta* **1994**, 41, 2113.
67. Kiba, N.; Suguki, H.; Goto, E.; Furusawa, M.; *Talanta* **1993**, 40, 405.
68. Jiahua, W.; Ronghuan, H.; *Anal. Chim. Acta.* **1995**, 303, 241.
69. Kawakuba, S.; Fukasawa, T.; *I*, **1993**, 282, 389.
70. Maniasso, N.; Jacintho, A. O.; Giné, M. F.; *Quim. Nova* **1995**, 18, 147.
71. Arruda, M. A. Z.; Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Brienza, S. M. B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1991**, 2, 47.
72. Ruz, J.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Talanta* **1986**, 33, 199.
73. Saratonis, E. G.; Towshend, A.; *Anal. Chim. Acta.* **1986**, 184, 311.
74. Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 125.
75. Benthin, S.; Nielsen, J.; Villadsen, J.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 145.
76. Krug, F. J.; Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Bahia F^o, O.; Jacintho, A. O.; Jorgensen, S. S.; *Anal. Chim. Acta.* **1983**, 145, 179.
77. Brienza, S. M. B.; Krug, F. J.; Gomes Neto, J. A.; Zagatto, E. A. G.; *J. Flow Anal.* **1993**, 10, 187.
78. Ziegel, H.; *Z. Anal. Chem.* **1914**, 53, 755.
79. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Mosback, H.; *Anal. Chim. Acta.* **1977**, 92, 235.
80. Marcos, J.; Ríos, A.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 489.
81. Yarnitzky, C. H.; Klein, N.; Cohen, O.; *Talanta* **1993**, 40, 1937.
82. Korn, M.; Gouveia, L. F. B. P.; Oliveira, E.; Reis, B. F.; *Anal. Chim. Acta. Submitted.*
83. Giné, M. F.; Reis, B. F.; Bergamin F^o, H.; Tuon, R. L.; *Anal. Chim. Acta.* **1990**, 234, 207.
84. Pasquini, C.; Faria, L. C.; *J. Autom. Chemistry* **1991**, 13, 143.
85. Reis, B. F.; Martelli, P. B.; Menegário, A. A.; Giné, M. F.; *Quim. Nova* **1993**, 16, 109.
86. Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Martelli, P. B.; Brienza, S. M. B.; *Analyst* **1993**, 118, 719.
87. Reis, B. F.; Giné, M. F.; Krug, F. J.; Bergamin F^o, H.; *J. A. Atom. Spectrometry.* **1992**, 7, 865.
88. Souza, I. G.; Bergamin F^o, H.; Krug, F. J.; Nobrega, J. A.; Oliveira, P. V.; Reis, B. F.; Giné, M. F.; *Anal. Chim. Acta.* **1991**, 245, 211.
89. Ruzicka, J.; *Analyst* **1994**, 119, 1925.
90. Liu, S.; Dasgupta, K.; *Talanta* **1994**, 41, 1903.
91. Ruzicka, J.; Marshall, G. D.; *Anal. Chim. Acta.* **1990**, 237, 329.
92. Goss, C. A.; Wilson, D. C.; Welser, W. E.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 3093.
93. Laasis, B.; Aaron, J. J.; Mahedero, M. C.; *Talanta* **1994**, 41, 1985.
94. Suzuki, S.; Nakazawa, H.; Fugita, M.; Ono, S.; Suzuki, M.; Takitani, S.; Sonoda, M.; Sakagishi, Y.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 261, 39.
95. Edwards, R.; Townshend, A.; Stoddart, B.; *Analyst* **1994**, 120, 117.
96. Gallignani, N.; Garrigues, S.; de la Guardia, M.; Burguera, J. L.; Burguera, M.; *Talanta* **1994**, 41, 739.
97. Ruzicka, J.; *Chemtech* Abril **1980**, 202.
98. Fehér, Z.; Pungor, E.; *Anal. Chim. Acta.* **1974**, 71, 425.
99. Facchin, I.; Martins, J. W.; Zamora, P. G. P.; Pasquini, C.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 285, 287.
100. Zagatto, E. A. G.; Bergamin F^o, H.; Brienza, S. M. B.; Arruda, M. A. Z.; Nogueira, A. R. A.; Lima, J. L. F. C.; *Anal. Chim. Acta.* **1992**, 261, 9.
101. Araújo, A. N.; Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; Alonso, J.; Bartolf, J.; Barber, R.; *Analyst* **1998**, 114, 1465.
102. Reis, B. F.; Giné, M. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Lapa, R. A.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 293, 129.
103. Reis, B. F.; Bergamin F^o, H.; *Quim. Nova* **1993**, 16, 570.
104. Norgaard, L.; Ridder, C.; *Talanta* **1994**, 41, 59.
105. Spohn, U.; Eberhardt, R.; Joksche, B.; Wandrey, Ch.; *Anal.*

- Chim. Acta.* **1994**, 292, 281.
106. Ríos, A.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Analyst* **1985**, 110, 277.
107. Narusawa, Y.; *Anal. Chim. Acta.* **1988**, 204, 53.
108. Poppi, R. J.; Pasquini, C.; *Chemometrics and Intelligent Laboratory System* **1993**, 19, 243.
109. Betteridge, D.; Sly, T. J.; Wade, A. P.; Porter, D. G.; *Anal. Chem.* **1986**, 58, 2258.
110. Cosano, J. S.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *J. Automatic Chemistry* **1993**, 15, 141.
111. Pedrotti, J. J.; Angnes, L.; Gutz, I. G. R.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 298, 393.

Publicação financiada pela FAPESP