

INFORMAÇÕES ESSENCIAIS PARA A CARACTERIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE EM FLUXO#

Marco Aurélio Zezzi Arruda* e Carol H. Collins

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13084-971 Campinas, São Paulo - SP

Recebido em 10/12/04; publicado na web em 28/2/05

INFORMATION ESSENTIAL FOR CHARACTERIZING A FLOW-BASED ANALYTICAL SYSTEM. Essential aspects for characterization of a flow-based analytical procedure or system are discussed in order to permit the composition of a checklist that will lead to a protocol for reporting results and systems in flow analysis. Aspects more related to chromatographic procedures are not considered. The intent is to present normalized proposals in the field of flow analysis for practitioners and developers.

Keywords: essential information; flow-based; characterization.

INTRODUÇÃO

Terminologias relacionadas à classificação e definição de métodos analíticos baseados em fluxo, bem como termos que descrevem os procedimentos analíticos ou sistemas baseados em fluxo e seus componentes já foram publicadas¹⁻³. Entretanto, a literatura também revela que um número de tais procedimentos analíticos e/ou da instrumentação relacionada é apenas parcialmente descrito. Considerando ser essencial a descrição apropriada de qualquer metodologia, o presente trabalho pretende complementar as recomendações já publicadas¹⁻³, levando em conta a evolução recente no campo da análise em fluxo.

Assim, o principal objetivo deste artigo é proporcionar um guia para a caracterização de um analisador em fluxo e/ou métodos relacionados a sistemas de fluxo, enfatizando informações essenciais, porém adequadas, que deveriam ser incluídas em artigos e relatórios científicos ou técnicos.

DESCRIÇÃO DO SISTEMA DE FLUXO

As técnicas analíticas baseadas em fluxo podem ser classificadas em uma das quatro categorias: segmentação por ar, fluxo contínuo não-segmentado, análise por injeção em fluxo e análise por injeção seqüencial. Em sistemas com segmentação por ar⁴, e em alguns sistemas de fluxo não-segmentado⁵⁻⁷, as amostras são aspiradas em um fluido carregador líquido a uma vazão fixa, e por um intervalo de tempo específico. Uma característica operacional de um analisador segmentado^{4,8,9} relaciona-se com as bolhas de ar que são usadas para segmentar porções da amostra e da mistura reagente, facilitando a mescla e minimizando a dispersão.

A análise por injeção em fluxo⁸⁻¹¹ envolve a injeção rápida de uma amostra em um fluxo contínuo de carregador não-segmentado. Uma ou mais soluções contendo reagentes confluem continuamente com o carregador, anteriormente à detecção. A zona de amostra injetada sofre dispersão, sendo misturada com as soluções

carregadora e reagente. O produto resultante é transportado em direção a um detector no qual ocorrerão as medidas e, daí então, para o descarte. A dispersão ou a diluição da zona de amostra pode ser controlada ou adaptada às análises requeridas pela otimização de vários fatores, tais como o volume injetado da amostra, as vazões do fluido carregador e dos reagentes, o comprimento da bobina de reação e o diâmetro interno da tubulação.

Em sistemas baseados em injeção seqüencial^{8,9,12-14}, uma quantidade de zonas não-segmentadas, bem definidas, é congregada em uma bobina com o emprego de uma bomba ou outro propulsor de líquidos, utilizando um dispositivo de seleção. Durante o transporte ao detector, estas zonas de amostras penetram umas nas outras, ocorrendo uma mistura de seus componentes, e dando origem a uma ou mais espécies detectáveis. Estes produtos são medidos enquanto estas zonas passam por um detector de fluxo adequado. Uma válvula de seleção de multi-posição possibilita que o sistema analítico de injeção seqüencial seja extremamente versátil e apresente muitas possibilidades de modificação de metodologias por meio de controle, por programação, dos parâmetros do sistema, em vez de mudanças físicas reais do "hardware". Cada posição da válvula pode ser dedicada a um propósito específico, e as combinações entre amostra, soluções de referência, reagentes e detectores, ao redor da válvula, são facilmente modificadas para permitir uma dada análise. Os componentes básicos do sistema são um direcionador líquido com um único fluido carregador, uma válvula de seleção multi-posição e um detector.

A multi-comutação e a amostragem binária podem ser implementadas em ambos sistemas de fluxo: segmentado e não-segmentado. Suas potencialidades e limitações já foram assinaladas¹⁵.

Os diagramas esquemáticos básicos detalhados dos principais procedimentos encontram-se bem ilustrados^{4,7,9-11}, e não serão repetidos neste artigo. Para a descrição completa de um sistema de fluxo, os seguintes elementos deveriam ser considerados e apresentados:

Padrão de fluxo (técnica)

Considerando as técnicas de fluxo, os primeiros analisadores baseados no conceito de Skeggs⁴ exploraram fluxos segmentados por ar. Acreditava-se, naquele tempo, ser essencial a segmentação para minimizar a interpenetração de amostras ("carry-over"), melhorando as condições de mistura e provocando a limpeza das pa-

*e-mail: zezzi@iqm.unicamp.br

O presente artigo é uma tradução para o português (aprovada pelo Comitê Brasileiro para Assuntos de Química junto à IUPAC) do artigo "Information Essential for Characterizing a Flow-based Analytical System", de E. A. G. Zagatto; J. F. van Staden; N. Maniasso; R. I. Stefan e G. D. Marshall, publicado em *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 585.

redes internas das tubulações. Esta segmentação era obtida fazendo-se alternar o fluido contendo reagente e amostra com ar. Foram também apresentadas propostas explorando a segmentação por diferentes gases ou solventes. A viabilidade do emprego de um sistema de fluxo não-segmentado tornou-se evidente nos anos 70^{7,10,16-18}; os sistemas de fluxo sem segmentação apresentaram um aumento na versatilidade¹⁹, e o termo “análise por injeção em fluxo” (“flow injection analysis”) foi proposto por Ruzicka e Hansen¹⁰. Além dos analisadores baseados em injeção em fluxo, outros sistemas de fluxo baseados em fluidos não-segmentados têm sido propostos^{12,13,20-24} e a versatilidade é, em geral, uma consequência do fluxo não-segmentado. A mono-segmentação foi concebida²⁵ como uma alternativa para a obtenção de longos tempos de residência, associados à baixa dispersão da amostra.

Neste sentido, van der Linden apresentou um esquema lógico e descritivo de classificação, no intuito de comparar os vários sistemas analíticos¹. Assim, “análise por injeção em fluxo” poderia ser descrita como um *sistema de fluxo não-segmentado com a injeção de amostra-teste* ou *sistema de fluxo não-segmentado com injeção de reagentes*, enquanto que a “análise em fluxo contínuo” é um *sistema de fluxo segmentado com aspiração da amostra-teste*. Um sistema de fluxo baseado em confluência de zonas de soluções do analito e do reagente foi indicado como um *sistema de fluxo não-segmentado com a injeção de amostra-teste e reagente*. Um analisador de processo com velocidade constante de uma amostra-teste, e baseado no princípio de análise em fluxo contínuo, poderia ser indicado como um *sistema de fluxo segmentado com amostragem contínua*. Esta proposta de classificação e nomenclatura possui uma vantagem adicional: o de ser facilmente expandido. Assim, a natureza do meio que promove a segmentação pode também ser modificada facilmente (sistemas de fluxo segmentados por ar/nitrogênio/argônio...), sendo que a extração líquido/líquido pode ser também convenientemente incorporada, e.g., extração em fluxo segmentado por meio de tolueno com injeção de amostra. Na literatura são apresentados em detalhes alguns exemplos empregando ar²⁶ e solvente orgânico²⁷ como carregadores. A ausência de informação sobre a técnica de fluxo empregada implica em fluxos não-segmentados, e quando o segmentador não é especificado, assume-se que a segmentação foi implementada com ar.

Parâmetros de fluxos

Vários parâmetros de fluxo são críticos quando se define um procedimento analítico particular baseado na análise em fluxo. Estes incluem a vazão, os volumes e a composição. Se o mecanismo de propulsão dos fluidos for relevante, deve ser descrito.

As vazões também deveriam ser especificadas, bem como as suas variações temporais inerentes a um dado sistema, incluindo a parada da amostra²⁸, fluxo com variação senoidal²⁹, fluxo intermitente³⁰, inversão da direção do fluxo^{9,12,13,31}, fluxos em gradiente³² ou a combinação de vazões (e.g., mais rápido antes da amostra atingir o detector e mais lento durante a medida). Entretanto, não é recomendada a indicação de vazões menos críticas, tais como a de aspiração da amostra, a qual é geralmente um parâmetro irrelevante.

O volume de amostra e o tamanho de diferentes zonas de reagentes possuem um impacto direto sobre o desempenho de um procedimento baseado em fluxo. Assim sendo, se requer uma descrição clara desses aspectos. O tamanho das zonas de reagentes é freqüentemente dependente da composição e da concentração do reagente empregado. Portanto, além do volume, devem ser também especificadas a composição e a concentração do reagente.

A composição de fluxos é, em geral, estreitamente dependente da constituição e das vazões das soluções bombeadas, e do manu-

seio da amostra. Este último parâmetro é fortemente relacionado à dispersão envolvida. Assim, é importante especificar como a amostra, bem como as soluções carregadoras e reagentes, foram preparadas.

É importante também descrever como os fluidos são propelidos. Os principais meios de propulsão, tais como bomba peristáltica⁴, bomba de pistão¹², propulsor à gás³³, ou outras possibilidades, tais como aquelas envolvendo fluxos eletro-osmótico³⁴ ou gravitacional⁷, devem ser claramente especificados. A bomba peristáltica é o equipamento mais comumente empregado na propulsão de fluidos. Desta forma, a ausência de informação implica que foi empregada tal forma de propulsão. As características dos tubos de bombeamento são mencionadas em muitas publicações, mas esta informação não é necessária, exceto quando existe incompatibilidade entre o fluido propelido e os tubos de bombeamento.

Introdução de amostras (com possibilidade de introdução de reagentes)

O tipo de introdução de amostras deveria ser sempre claramente especificado⁹. Nos sistemas segmentados por ar¹⁴, e em alguns não-segmentados⁵⁻⁷, as amostras são aspiradas para o sistema a uma vazão fixa e por um período de tempo específico. Nos sistemas de injeção em fluxo^{10,11}, são injetados volumes específicos dentro de um fluxo carregador não-segmentado. Neste sistema, o volume da amostra injetado deveria ser sempre mencionado, independentemente se foi empregada injeção baseada em alça de amostragem ou por tempo³⁵. As dimensões do elemento de injeção (e.g.: comprimento de uma alça externa), tempo de injeção e outras características específicas de injeção (simultânea^{36,37}, seqüencial^{38,39}, com divisão de amostra³⁶, múltipla⁴⁰, tandem⁴¹⁻⁴⁴, hidrodinâmica⁴⁵, “nested”⁴⁶ [n.t.: injeção baseada em várias seqüências (volume) ou intervalos (tempo). Cada seqüência injetada (por volume ou tempo) tende a zero, e o número destas seqüências tende ao infinito.], também deveriam ser especificadas. Nos sistemas baseados em injeção seqüencial^{9,12-14}, as amostras são aspiradas por um período específico de tempo e a uma vazão fixa para uma corrente não-segmentada com o emprego de um sistema de seleção. Alguns cuidados devem ser tomados para que não ocorra engano, ao se distinguir entre a determinação de amostras empregando uma série de injeções de amostras e reagentes^{38,39} e um sistema de análise baseado em injeção seqüencial^{9,12-14}. Se possível, tanto a determinação empregando uma série de injeções seqüenciais, bem como o sistema de fluxo empregado deveria ser especificado. A ausência de informação implica no uso da análise por injeção seqüencial. Quando necessário, deveria ser também descrita a natureza do sistema de injeção e qualquer amostrador automático usado também deveria ser especificado. O volume de amostra é uma das variáveis críticas no projeto de sistemas de injeção em fluxo ou em sistemas de injeção seqüencial. Existem métodos simples⁴⁷ de medição de volume injetado em análise em fluxo ou do volume aspirado em sistemas de injeção seqüencial.

A tubulação

As tubulações empregadas na construção de um sistema devem ser especificadas. Entretanto, deveria ser dada menor ênfase às partes que não compõem o percurso analítico. Existem diferentes tipos de reatores¹, sendo que os mesmos deveriam ser indicados. Como os reatores helicoidais são os mais empregados, se não existir qualquer especificação neste sentido, se concluirá que este tipo de reator foi empregado. Deveriam ser também especificados o comprimento e o diâmetro interno da tubulação, bem como o diâmetro efetivo do reator helicoidal.

O tipo de material usado nos tubos também deveria ser especificado, já que sua natureza pode afetar a aderência dos fluidos em um analisador, de tal forma que este pode exercer um efeito pronunciado.

Deveriam também ser descritos de maneira minuciosa os acessórios que compõem o percurso analítico, tais como câmaras de mistura, mini-colunas com resina, enzimas imobilizadas, conectores etc., sempre quando estes aparecessem pela primeira vez no texto.

O diagrama de fluxo deveria ser claro e completamente descrito, incluindo, por ex., a representação do esquema completo, as posições relativas dos componentes, as dimensões relativas das tubulações, as vazões, o volume de amostra, etc. Apesar de ser fortemente desencorajado o uso de ícones para representar alguns componentes, se forem empregados, estes deveriam ser descritos claramente na legenda da figura ou no texto.

A literatura indica que um grande número de acrônimos e/ou abreviações têm sido propostos para caracterizar os analisadores em fluxo, freqüentemente com mínimas diferenças entre si. Nesse sentido, o uso da nomenclatura proposta pela IUPAC deveria ser fortemente recomendado.

Processamento das amostras

É muito importante enfatizar o(s) processo(s) ao(s) qual(is) a amostra é submetida, sendo que se deveria informar também o tempo médio de residência da amostra no sistema e as vazões empregadas. Em situações especiais, por ex., quando se emprega um método catalítico, deveria ser informado, também, o tempo de residência da amostra em cada porção específica do sistema.

É recomendável relatar a dispersão da amostra, especialmente em relação aos sistemas de injeção em fluxo, apesar da contribuição para a dispersão de diversos componentes, tais como válvulas e cela de detecção. Neste sentido, têm-se usado o coeficiente de dispersão¹¹. A fração volumétrica⁴⁸ é um índice prático para estimar a composição de qualquer elemento de fluxo do sistema, em qualquer parte do mesmo e a qualquer tempo, após a introdução da amostra.

Algumas informações adicionais podem incluir o grau de finalização dos processos físico-químicos envolvidos. Este aspecto é freqüentemente omitido, já que a maioria dos analisadores em fluxo opera em modo transiente, não sendo necessário que se atinja o equilíbrio químico. Em algumas aplicações, tais como aquelas baseadas em reações químicas relativamente lentas, recomenda-se que seja indicado quão completamente elas ocorrem.

Em sistemas de injeção seqüencial, o requisito fundamental é promover o máximo de interpenetração das zonas, por meio de um aumento deliberado da dispersão axial. Isto é conseguido por inversão do fluxo ou pelo projeto do diagrama^{12,14,49-52}. Desta forma, torna-se importante fornecer toda a seqüência^{13,14,53} para um ciclo do sistema de injeção seqüencial, incluindo o tempo exato de cada etapa do processo, com a descrição das funções do propulsor dos líquidos e os dispositivos de seleção. A seqüência de operação pode ser apresentada na forma de uma tabela, com os seguintes parâmetros (utilize todos os que forem aplicáveis): tempo, número da porta ou corrente da válvula que será acionada e etapa de operação da bomba ou do direcionador do líquido (avança/retrocede/pára) ou, alternativamente, a direção do fluxo (aspira/propela/pára), detector, volume, vazão, etc.

Detecção

O volume interno da cela de detecção em fluxo deveria ser especificado com a descrição de sua geometria. Na maioria das

aplicações, o volume morto do detector (o volume equivalente à obtenção de cerca de 67% do sinal no estado estacionário após uma variação gradual de concentração⁵⁴) e/ou o tempo de resposta (relacionado à habilidade do detector no monitoramento completo de uma variação transiente de concentração⁵⁵) não são críticos para caracterizar um sistema de fluxo. Esses parâmetros deveriam ser especificados somente se forem relevantes no registro do perfil do sinal. É aconselhável a inclusão de outros parâmetros relacionados ao detector, tais como comprimento de onda, tamanho do eletrodo, taxa de varredura, comprimento de onda de excitação, etc.

O processamento de sinal^{3,11,56} é uma parte importante em sistemas de injeção em fluxo ou sistemas de injeção seqüencial, e o perfil e a qualidade do sinal obtido pode influenciar acentuadamente o desempenho de um analisador. Para a interpretação do sinal analítico, é importante especificar como este é adquirido (e.g.: estado estacionário, altura do pico, área do pico ou largura do pico em uma altura definida). Uma característica importante, que sempre deveria ser especificada, é o processamento/aquisição/tratamento do sinal. Deveria ser detalhada a descrição do "software" para a aquisição dos dados (incluindo os tipos de filtros empregados), mecanismos de retro-alimentação, e/ou algoritmos de cálculo empregados, se estes são originais. Caso contrário, incluir a devida citação.

DESEMPENHO DO SISTEMA EM FLUXO

Além dos aspectos essenciais já mencionados, é importante também apresentar as principais figuras de méritos para uma descrição apropriada de um procedimento baseado em fluxo.

Freqüência de amostragem

Deveria ser estimado o número de amostras-teste processadas por unidade de tempo, juntamente com a especificação do nível de interpenetração ("carry-over") específico. A ausência desta informação significa que este parâmetro não é mensurável. É também recomendável especificar o volume consumido de amostra e/ou reagente(s) quando é apresentada a freqüência analítica, especialmente quando são empregados reagentes menos comuns ou potencialmente prejudiciais ao ambiente.

Características analíticas

Características como exatidão, sensibilidade, limite de detecção, seletividade, faixa dinâmica e precisão devem ser calculadas de acordo com as recomendações da IUPAC³. O sistema deveria ser validado com o emprego de método padrão, com limites de confiança e testes de significância^{3,57}. Existem procedimentos distintos para reportar limites de detecção. Portanto, é importante especificar claramente qual fórmula foi empregada para o seu cálculo³.

As matrizes das amostras são de fundamental importância para qualquer analisador baseado em análise em fluxo. Desta forma, torna-se importante especificar o máximo de tolerância de todos os possíveis interferentes em qualquer procedimento analítico dedicado à análise em fluxo.

Robustez

Sistemas robustos⁵⁸ podem ser discutidos sob dois pontos de vista. Primeiramente, a dependência entre o sinal analítico e as variações dos parâmetros do sistema, que compreende como o procedimento é afetado por pequenas variações em certos parâmetros, tais como vazão, temperatura, concentração de reagentes, etc. O segundo, relaciona a robustez com a estabilidade instrumental,

manifestando-se como uma mudança e/ou flutuação da linha-base e/ou do sinal analítico. Também deveria ser apresentada a estabilidade da curva analítica com o tempo, bem como os custos e as necessidades de manutenção do sistema.

Portabilidade

Uma outra característica que poderia ser discutida a respeito de um sistema de fluxo se relaciona-se com sua portabilidade para aplicações em campo e, conseqüentemente, se é apropriado para análises *in situ*, *in vivo* ou "on-site", como analisador de processos ou para monitoramentos em linha².

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a caracterização do sistema em fluxo é recomendável fornecer algumas informações adicionais. Estas deveriam estar principalmente relacionadas às características ou potencialidades, tais como, por ex., amostragem de zonas dispersas⁵⁹, confluência de zonas e como elas são implementadas³⁵, dissolução eletrolítica de amostras⁶⁰, amostragem em linhas de gases⁶¹, multi-comutação⁴³, etc., bem como sua compatibilidade com modalidades da análise em fluxo, tais como fluxo contínuo, injeção em fluxo, injeção seqüencial¹ e outros.

Os aspectos aqui mencionados podem constituir uma lista ou um guia. Uma vez que estes aspectos levam à descrição de novas metodologias baseadas em análise em fluxo, espera-se maior consistência e homogeneidade no projeto de sistemas desenvolvidos. Vislumbra-se, ainda, o estabelecimento de um protocolo para análise em fluxo.

REFERÊNCIAS

- van der Linden, W. E.; *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 2493; Zagatto, E. A. G.; Oliveira, C. A.; Collins, C. H.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 143.
- van Staden, J. F.; *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 2303.
- Inczyedy, J.; Lengyel, T.; Ure, A. M.; *Compendium of Analytical Nomenclature. Definitive rules 1997*, "The Orange Book", Blackwell Science, Oxford, 1998.
- Skeggs, L. T.; *Am. J. Clin. Pathol.* **1957**, *13*, 451.
- Kadish, A. H.; Hall, D. A.; *Clin. Chem.* **1965**, *11*, 869.
- Brown, G. M.; Zachwieja, A.; Stancer, H. C.; *Clin. Chim. Acta* **1966**, *14*, 369.
- Nagy, G.; Feher, Z.; Pungor, E.; *Anal. Chim. Acta* **1970**, *52*, 47.
- van Staden, J. F.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* **1995**, *352*, 271.
- van Staden, J. F.; *Curr. Trends Anal. Chem.* **1998**, *1*, 89.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1975**, *78*, 145.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*, Wiley Interscience, New York, 1988.
- Ruzicka, J.; Marshall, G. D.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *237*, 329.
- Marshall, G. D.; van Staden, J. F.; *Anal. Instrum.* **1992**, *20*, 79.
- Marshall, G. D.; van Staden, J. F.; *Process Control Qual.* **1992**, *3*, 251.
- Reis, B. F.; Giné, M. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. F. L. C.; Lapa, R. A. S.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 129.
- White, V. R.; Fitzgerald, J. M.; *Anal. Chem.* **1972**, *44*, 1267.
- Bergmeyer, H. U.; Hagan, A. Z.; *Anal. Chem.* **1972**, *261*, 333.
- Stewart, K. K.; Beecher, G. R.; Hare, P. E.; *Anal. Biochem.* **1976**, *70*, 167.
- Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Oliveira, C. C.; Sartini, R. P.; Arruda, M. A. Z.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *400*, 249.
- van Staden, J. F.; *Symposium on flow injection and other unsegmented continuous-flow sample processing systems*, Paper N^o 23, 182nd ACS National Meeting, New York, August 1981, Div. Anal. Chem.
- van Staden, J. F.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1987**, *326*, 754.
- Petsul, P. H.; Greenway, G. M.; Haswell, S. J.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *428*, 155.
- Bogue, R.; *Lab. Equip. Dig.* **1995**, *33*, 16.
- Cardwell, T. J.; Cattral, R. W.; Cross, J. G.; O'Connell, G. R.; Petty, J. D.; Scollary, G. R.; *Analyst* **1991**, *116*, 1051.
- Pasquini, C.; Oliveira, W. A.; *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 2575.
- Attiyat, A. S.; Christian, G. D.; *Talanta* **1984**, *31*, 463.
- Attiyat, A. S.; Christian, G. D.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 439.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, *99*, 37.
- Ruzicka, J.; Christian, G. D.; *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 1861.
- Zagatto, E. A. G.; Jacintho, A. O.; Mortatti, J.; Bergamin Filho, H.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, *120*, 399.
- Tôei, J.; *Analyst* **1988**, *113*, 475.
- Rios, A.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Talanta* **1985**, *32*, 845.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Ramsing, A. U.; *Anal. Chim. Acta* **1982**, *134*, 55.
- Andreev, V. P.; Ilyina, N. B.; Holman, D. A.; Scampavia, L. D.; Christian, G. D.; *Talanta* **1999**, *48*, 485.
- Krug, F. J.; Bergamin Filho, H.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *179*, 103.
- Basson, W. D.; van Staden, J. F.; *Fresenius' Z. Anal. Chem.* **1980**, *302*, 370.
- Slanina, J.; Bakker, F.; Bruyn-Hes, A.; Möls, J. J.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, *113*, 331.
- Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Analyst* **1984**, *109*, 413.
- Masoom, M.; Townshend, A.; *Anal. Chim. Acta* **1985**, *171*, 185.
- Zagatto, E. A. G.; Giné, M. F.; Fernandes, E. A. N.; Reis, B. F.; Krug, F. J.; *Anal. Chim. Acta* **1985**, *173*, 289.
- Malcolme-Lawes, D. J.; Meyers, J.; Pasquini, C.; *Lab. Microcomputer* **1989**, *7*, 89.
- Israel, Y.; Laszity, A.; Barnes, R. M.; *Analyst* **1989**, *114*, 1259.
- Reis, B. F.; Giné, M. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Lapa R. A. S.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 129.
- van Staden, J. F.; *S. Afr. J. Chem.* **1996**, *49*, 53.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, *145*, 1.
- Dasgupta, P. K.; Hwang, H.; *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 1009.
- van Staden, J. F.; Malan, D.; *Anal. Commun.* **1996**, *33*, 339.
- Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Bergamin Filho, H.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *226*, 129.
- Ruzicka, J.; Gübeli, T.; *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1680.
- Gübeli, T.; Christian, G. D.; Ruzicka, J.; *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 2407.
- Guzman, M.; Pollema, C.; Ruzicka, J.; Christian, G. D.; *Talanta* **1993**, *40*, 81.
- van Staden, J. F.; du Plessis, H.; Linsky, S. M.; Taljaard, R. E.; Kremer, B.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *354*, 59.
- van Staden, J. F.; Taljaard, R. E.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, *323*, 75.
- Spence, D. M.; Crouch, S. R.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *366*, 305.
- Meyerhoff, J. B.; Ewing, M. A.; Ewing, A. G.; *Electroanalysis* **1999**, *11*, 308.
- van Staden, J. F.; *S. Afr. J. Chem.* **1995**, *48*, 8.
- Christian, G. D.; *Analytical Chemistry*, 5^a ed., Wiley: New York, 1994.
- Burguera, J. L.; Burguera, M.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1995**, *10*, 473.
- Reis, B. F.; Jacintho, A. O.; Mortatti, J.; Krug, F. J.; Zagatto, E. A. G.; Bergamin Filho, H.; Pessenda, L. C. R.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *123*, 221.
- Bergamin Filho, H.; Krug, F. J.; Zagatto, E. A. G.; Arruda, E. C.; Coutinho, C. A.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *190*, 177.
- Baadenhuijsen, H.; Seuren-Jacobs, H. E. H.; *Clin. Chem.* **1979**, *25*, 443.