

A ANÁLISE POR INJEÇÃO SEQUENCIAL (SIA): VINTE ANOS EM UMA PERSPECTIVA BRASILEIRA**Allan Cezar Vieira dos Santos e Jorge Cesar Masini ***

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05513-970 São Paulo - SP, Brasil

Recebido em 19/3/10; aceito em 07/6/10; publicado na web em 17/9/10

SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS (SIA): TWENTY YEARS IN A BRAZILIAN PERSPECTIVE. The year of 2010 marks the 20th anniversary of the development of Sequential Injection Analysis (SIA) by Ruzicka and Marshall. Considered the second generation of the flow injection methods, this article briefly describes the history, the basic principles of the technique and reviews all papers developed by Brazilian scientists aiming the divulgation of this automation technique in Analytical Chemistry.

Keywords: sequential injection analysis; review; Brazilian research.

INTRODUÇÃO

A busca por métodos analíticos com alta frequência de amostragem, baixo consumo de amostra e reagentes e um mínimo de interferência humana teve seu primeiro passo somente na metade do século passado, com a introdução dos métodos em fluxo, especialmente após o trabalho de Skeggs.¹ Neste trabalho surgia a Análise em Fluxo Contínuo Segmentado (SCFA) com uma proposta inovadora: a análise química, normalmente empregada por via úmida, poderia ser realizada em um fluxo contínuo de amostra e reagentes, ao invés de discretamente (em batelada). Quase 20 anos depois, assessorando a instalação do Laboratório de Química Analítica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA-USP), o Dr. Jaromir Ruzicka trabalhou por um ano com pesquisadores brasileiros, a saber, Henrique Bergamin Filho, Elias Ayres Guidetti Zagatto, Francisco José Krug e Boaventura Freire dos Reis. Os resultados aqui obtidos foram cruciais para a criação de um novo método, a Análise por Injeção em Fluxo (FIA), os quais foram posteriormente complementados e publicados por Ruzicka² pouco depois de seu retorno à Europa. A coautoria dos pesquisadores brasileiros só foi apontada mais tarde.^{3,4}

A análise por injeção em fluxo tem como conceito básico a introdução da amostra em um fluido transportador (que pode ser uma solução reagente), cuja função é deslocar a zona de amostra introduzida ao longo de todo o sistema até o detector. Os primeiros sistemas FIA empregavam uma seringa para a introdução de amostra, daí derivando-se o termo “injeção” no nome.⁴ Dentro deste sistema, a amostra pode misturar-se aos reagentes e/ou passar por etapas de tratamento, tais como diálise ou pré-concentração do analito em suportes sólidos. Do ponto de vista evolutivo, três novos conceitos surgiram: 1 – a amostra deixava de ser continuamente aspirada para o sistema em fluxo (característica do SCFA), levando assim a um menor consumo da mesma; 2 – as bolhas de ar empregadas em SCFA para impedir a intercontaminação entre amostras foram dispensadas (desde que os volumes de reagentes, vazões e dimensões fossem devidamente otimizados). A remoção de bolhas permitiu não só um aumento na frequência de amostragem (pois as mesmas não necessitavam mais ser removidas antes da chegada da zona de reação ao detector), como também a exploração dos gradientes de concentração da zona de reação; 3 – passou-se a explorar a quantificação do analito antes mesmo que a reação entre amostra e reagente tivesse atingido o equilíbrio químico. A consequência imediata foi o aumento da frequência de

amostragem (número de determinações que um sistema operando continuamente pode realizar por unidade de tempo) e a possibilidade da exploração de aspectos cinéticos.

Em 1990, os sistemas FIA já se encontravam popularizados e largamente empregados em Química Analítica. Segundo Lenehan *et al.*,⁵ havia, porém, dois obstáculos para o emprego de FIA em monitoramento de processos: o primeiro estava relacionado com a necessidade de se reconfigurar todo o aparato para novas análises e, o segundo, com o custo relativamente alto de manutenção das bombas peristálticas. Particularmente discordamos do segundo fator, pois o custo operacional de uma bomba peristáltica é muito baixo, e essa premissa foi uma das principais para que a mesma se tornasse tão popular em sistemas FIA. Do ponto de vista de manutenção, é a simplicidade do sistema SIA, dotado de uma linha principal, que o torna economicamente atraente: sistemas com quatro ou mais linhas de transmissão (comuns em FIA) requerem atenção continuada do analista para a detecção de eventuais vazamentos ou variação de vazões operacionais. Buscando então por uma ferramenta projetada para o monitoramento de processos, Ruzicka e Marshall,⁶ a partir de pesquisas no Centro de Química Analítica de Processos da Universidade de Washington, publicaram o trabalho original sobre a análise por injeção sequencial (SIA) que posteriormente foi considerada a segunda geração dos métodos em fluxo. O emprego do termo “gerações” deve ser associado apenas com a cronologia na qual as variações para os sistemas de injeção surgiram, cuidando-se assim em evitar a ideia errônea de que o SIA, por se tratar de um equipamento de 2ª geração, seja instrumentalmente “superior” ao FIA. As técnicas são complementares e não excludentes entre si. Um comparativo entre ambas está disponível na Tabela 1.

Características e operação

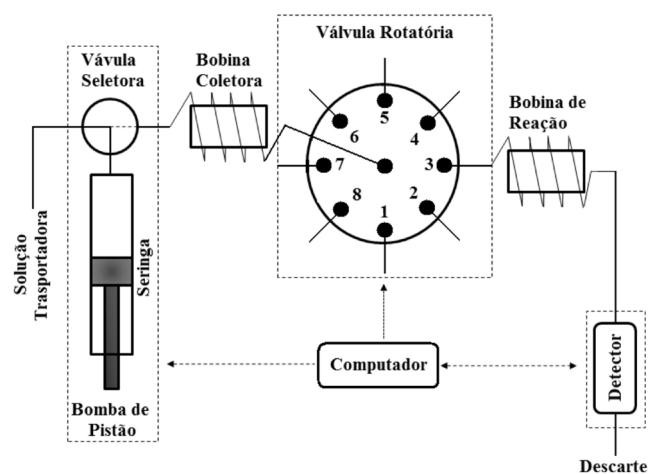
A Figura 1 demonstra as partes principais de um sistema SIA comum. Tal qual um sistema FIA, baseia-se nos mesmos princípios: injeção precisa de amostra, dispersão controlada e tempos de reação com alta repetibilidade.

O coração do sistema é dado por uma válvula seletora rotatória (multiportas) cuja finalidade é permitir a comunicação entre cada uma das portas (indicadas com a numeração 1-8) através da porta central; esta porta, por sua vez, está conectada a uma bobina coletora. O objetivo desta bobina é agrupar as zonas (também chamadas de plugues) de amostra e reagentes que são aspiradas através das diferentes portas, sem que estas zonas atinjam o sistema de propulsão. Cada uma das portas pode estar associada a reservatórios de reagentes/resíduos, bobinas auxiliares, câ-

*e-mail: jmasini@iq.usp.br

Tabela 1. Comparativo entre características básicas de SIA e FIA

Característica	SIA	FIA
Complexidade do sistema	Menor	Maior
Conhecimento mínimo em programação	Necessário	Opcional
Consumo de reagentes	Menor	Maior
Controle computadorizado	Presente	Opcional
Custo de aquisição	Maior	Menor
Adição de reagente por confluência	Ausente	Presente
Flexibilidade para a escolha de volumes de amostra e reagentes	Menor	Maior
Frequência de amostragem (valores típicos)	< 60 análises h ⁻¹	> 100 análises h ⁻¹
Linha de transmissão (injeção → detecção)	Única	Variável
Possibilidade de automação	Alta	Alta
Tempo de operação sem necessidade de ajuste de parâmetros como vazão (“robustez”)	Maior	Menor

**Figura 1.** Esquema típico de um sistema SIA

maras de mistura, detectores ou outros sistemas complementares. Uma seringa acoplada a uma bomba de pistão é o sistema de propulsão mais comumente empregado: através de uma válvula seletora, pode-se aspirar o fluido ou solução transportadora (posição de entrada, conforme mostrado na Figura 1) e, posteriormente, com a válvula seletora alternada para a posição de saída, realizar toda a movimentação bidirecional de fluidos necessária para o registro do sinal analítico. É importante ressaltar que há a parada automática da bomba quando a válvula rotatória / seletora se encontra em operação, evitando-se assim a pressurização do sistema.

Para a realização de uma análise, volumes pré-determinados de reagentes e amostra são aspirados sequencialmente para o interior da bobina coletora. Revertendo-se a direção do fluxo, as zonas são transportadas em direção ao detector através de uma bobina de reação, cuja função é garantir um percurso analítico mínimo para a sobreposição das zonas por efeitos de dispersão causados por difusão axial e radial, assim como da convecção. Um estudo sobre estes processos de dispersão e difusão foi detalhado por Gübeli *et al.*⁷ Toda a operação é controlada por um computador que disponha de programa específico para o SIA. As partes do sistema (indicadas pela linha tracejada na Figura 1) tornam-se então gerenciáveis pelo operador, exclusivamente através da interface computadorizada.

Para a otimização de um método em SIA devem ser considerados parâmetros físicos do reator, tais como diâmetro, comprimento e geometria do mesmo. Além disso, condições como grau de sobreposição das zonas de reagente e amostra, tempo de reação e concentração de reagentes também influenciam o resultado final.⁸ Não há em sistemas SIA o processo de mistura de reagentes por confluência; para métodos em que seja necessária a mistura de três ou mais zonas de reagentes, normalmente se empregam câmaras de mistura. Em alguns casos, devido às exigências do próprio trabalho, deve-se restringir a dispersão entre as zonas de reagentes e o fluido transportador; nestes casos, a introdução de duas bolhas de ar, uma imediatamente antes e outra logo após as zonas de reagentes pode ser empregada, explorando-se assim o conceito de análise em fluxo monossegmentado (MSFA).⁹

As variações do SIA: injeção de esferas (BI), laboratório em uma válvula (LOV) e a cromatografia por injeção sequencial (SIC)

O sistema de injeção de esferas (*Bead Injection – BI*) surgiu em 1999. Proposto por Ruzicka e Scampavia,¹⁰ o conceito baseia-se no uso de suspensões de materiais funcionais, tais como resinas de troca iônica, que são direcionados a uma linha específica do SIA. Em sua forma mais simples, esta linha possui um dispositivo, normalmente uma tela com abertura inferior ao diâmetro médio das partículas em suspensão, cuja finalidade é permitir o empacotamento das partículas à medida que a solução atravessa a mesma. Uma descrição detalhada sobre os diferentes dispositivos de empacotamento pode ser obtida no trabalho de Chandler e Brockman.¹¹ Assim, obtêm-se minicolunas empacotadas *in situ*, que podem ser empregadas como reagentes sólidos e posteriormente dispostas após cada ensaio, permitindo a renovação das superfícies reativas. A princípio, desde que não direcionadas para um sistema destrutivo de análise (tal como absorção atômica), é possível tratar e recuperar as esferas. O SIA é capaz de gerar estas colunas de forma repetitiva e reprodutiva desde que parâmetros, tais como a concentração da suspensão, o tamanho/comprimento da coluna a ser formada, volume de suspensão e vazão de transferência, sejam cuidadosamente avaliados. A escolha do material sólido deve restringir-se a materiais “macios”, impedindo assim que haja um desgaste rápido da válvula rotatória decorrente das constantes trocas de portas que a mesma executa durante o procedimento.

Pouco tempo depois, em 2000, surge o conceito de “Laboratório em uma válvula” (*Lab-On-Valve, LOV*). Proposto por Ruzicka,¹² trata-se da miniaturização da linha do sistema em fluxo que envolve o processamento de amostra em uma única placa (*chip*) acoplada na da válvula rotatória do SIA, onde operações como diluição, mistura de reagentes, incubação e detecção podem ser realizadas. A diminuição para apenas alguns microlitros do consumo de reagentes e amostras torna-a uma técnica atraente para experimentos envolvendo reagentes biológicos (enzimas ou imunoenaios), onde o custo ou a disponibilidade dos mesmos são restrições frequentes aos trabalhos dos pesquisadores nesta área.

A variante mais recente é a cromatografia por injeção sequencial (*Sequential Injection Chromatography – SIC*), proposta em 2003 por Huclová *et al.*;¹³ utilizando uma coluna monolítica de sílica porosa como fase estacionária acoplada a uma das portas do SIA, foi possível realizar a separação de ácido salicílico e metil-salicilato em preparações farmacêuticas em modo isocrático. Apesar de fases sólidas estacionárias terem sido empregadas anteriormente para a pré-concentração de analito ou para a eliminação de interferentes (via BI, por exemplo), somente neste artigo houve o interesse em se separar as espécies presentes em uma mistura, quantificando-as tal qual o processo cromatográfico propriamente dito.

A ANÁLISE POR INJEÇÃO SEQUENCIAL NO BRASIL

Conforme levantamento realizado na *Web of Science (WoS)* em 27/02/2010, foram observados 1276 artigos que se enquadravam nos critérios *Topic*=(“*sequential injection*”) *OR Topic*=(“*bead injection*”) *OR Topic*=(“*lab on valve*”), considerando-se todos os artigos publicados no período 1990-2010 e pertencentes à base de dados *Sci-expanded*.

O Brasil ocupa a quinta posição em número de publicações sobre o SIA, com um total de 97 publicações. Este número foi obtido a partir da restrição da pesquisa acima para *Countries/Territories*=(*Brazil*). Os maiores núcleos de pesquisa encontram-se na Universidade de São Paulo (Campus SP e CENA – Centro de Energia Nuclear na Agricultura), Universidade Federal de São Carlos, Universidade Estadual de Campinas e Universidade Federal da Bahia. Ainda com os dados obtidos nesta última restrição, a Figura 2 estabelece os países que mais desenvolveram pesquisas neste método em fluxo.

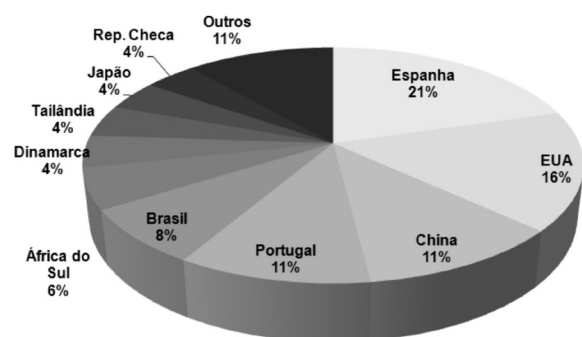


Figura 2. Países com maiores números de publicações em SIA no mundo

Com o surgimento do SIA em 1990, registra-se em 1995 a primeira publicação envolvendo brasileiros,¹⁴ mas apenas em 1997 surge o trabalho no qual uma instituição brasileira passa a fazer parte do grupo de trabalho.¹⁵ Através da análise dos 97 resultados, desenvolvemos a Tabela 2 contemplando 65 artigos^{8,14-77} que se enquadram no escopo desta revisão. É notório o trabalho conjunto entre brasileiros e o grupo de pesquisas da Universidade do Porto: os primeiros cinco trabalhos desenvolvidos no Brasil¹⁵⁻¹⁹ foram frutos dos esforços da equipe do CENA e do CEQUP. Desde então, as publicações envolvendo brasileiros têm apresentado uma frequência de aproximadamente cinco publicações por ano.

Outra característica marcante trata dos tipos de matrizes consideradas: em sua maioria estão relacionadas ao segmento agrícola, principalmente alimentos (industrialmente processados ou não) e defensivos agrícolas em amostras ambientais. Análises em vinho,^{15,18,19,28,42,60} leite e sucos^{19,22,25,30,42,68,74} são temas recorrentes: controlar o nível de determinadas substâncias é uma forma de garantir a qualidade e as características organolépticas dos alimentos, além de permitir o aprimoramento dos agroprodutos brasileiros, tornando-os ainda mais competitivos no mercado internacional. Um trabalho voltado ao desenvolvimento de software para SIA foi proposto por Neira *et al.*,²⁸ em 2000, para a determinação de Fe em amostras de vinho branco. Outras matrizes e analitos considerados por outros autores foram: silagem (nitrogênio em formas diversas),²⁴ digeridos de arroz, soja, café, citrinos, laranja e palmeiras (nitrogênio total),²⁹ cana-de-açúcar e milho (açúcares),³⁷ amostras de plantas, soro sanguíneo e fígado de boi (sulfato),³³ farináceos e grãos (ácido fítico)⁴⁰ e promotores de crescimento para agricultura (ácido giberélico).⁵² O trabalho de Grassi *et al.*⁵³ visou a determinação de zinco e fosfato em extratos de solo, sendo estes analitos também de interesse agrícola; neste estudo, o sistema procedia à determinação de zinco somente se os resultados

obtidos na determinação de fosfato ultrapassassem um certo valor limite (5,0 mg L⁻¹ P). Atrazina,^{54,56,73} paraquat,⁶² picloram,⁶⁴ metilparation,⁶⁵ e triazinas (simazina, atrazina e propazina)⁷³ foram os defensivos agrícolas estudados: a alta persistência destes compostos no meio ambiente, associados à toxicidade e fácil capacidade de percolação para lençóis freáticos os tornam importantes analitos para controle de culturas, servindo não apenas como parâmetros para o monitoramento ambiental mas também para o emprego racional destes compostos na lavoura.

Alguns trabalhos relacionados com a temática “água”, na verdade, destinaram-se a estudos físico-químicos ou para melhorias em processos analíticos ou industriais. Uma comparação entre diferentes formas de amostragens (binária, sanduíche e monossegmentada) foi realizada para a determinação espectrofotométrica de Fe(II).¹⁷ A determinação de carbaryl em água²¹ visou a comparação entre sistemas de multicomutação, amostragem binária⁷⁸ e SIA, através de figuras de mérito como limite de detecção, frequência de amostragem e consumo de reagentes. O uso de preparações aquosas foi empregado por Silva *et al.*⁴³ para a determinação de S²⁻ em fluxo monossegmentado; posteriormente, Silva e Masini⁴⁹ propuseram e aplicaram uma cela de difusão gasosa para a determinação deste mesmo analito. Aproveitando-se da frequência de amostragem superior dos métodos em fluxo frente a trabalhos em batelada, Abate *et al.*⁵⁹ realizaram estudos de monitoramento da adsorção de ácido fúlvico em vermiculita modificada. O trabalho proposto por Masini⁸ é um experimento didático para a demonstração de parâmetros importantes no desenvolvimento de novos procedimentos analíticos em SIA, em particular, a sobreposição das zonas de amostra e reagentes.

Os artigos relacionados com amostras de águas (ou extratos de sedimentos) abordaram cátions de metais alcalinos terrosos (cálcio e magnésio),¹⁶ ferro,³⁴ manganês,⁴⁴ além de metais pesados, tais como cobre^{23,51} e mercúrio.^{45,51} Um dos trabalhos²⁶ demonstrou a determinação simultânea de Cu²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺ e Zn²⁺ em extratos de sedimentos de rios. Os ânions estudados foram fosfato e silicato,²⁷ sulfeto,³¹ nitrato,^{34,47} nitrito³⁴ e cloreto.⁴⁷

Considerando-se o campo de aplicação industrial, podem-se ressaltar os trabalhos relacionados ao controle de etanol^{55,57,66} combustível. Com o surgimento recente da frota de veículos automotores bicombustíveis, novos processos analíticos certamente se farão necessários nesta área em franca expansão. Há ainda trabalhos visando a determinação de etanol em bebidas alcoólicas e em bioprocessos.^{63,66} Considerando-se metais na área industrial, foram realizados trabalhos envolvendo a determinação dos mesmos em banhos de eletrodeposição (Cr⁶⁺, Ni²⁺)^{20,46} e aço (Cr⁶⁺)³² ou latão (Cu²⁺, Zn²⁺, Pb²⁺).⁴⁸ Um destes trabalhos⁴⁶ é um dos poucos (dentro os apontados na Tabela 2) a tratar da determinação de mais de uma característica da amostra por mais de um sistema de detecção distinto (potenciometria para pH e Cl⁻ e espectrofotometria para Ni²⁺). Considerando a determinação de Ni²⁺ em aço, Vieira *et al.*⁵⁸ propuseram um sistema em fluxo capaz de operar em quatro “modalidades” distintas, a saber: FIA-MSFA (análise em fluxo monossegmentado), FIA-MBS (multicomutação e amostragem binária), FIA-SS (amostragem sanduíche⁷⁹) e SIA, permitindo assim a comparação de cada um destes sistemas através de suas figuras de mérito.

Os pesquisadores brasileiros também têm se dedicado a estudar os efluentes da indústria, notoriamente os gerados na produção de tintas, visando a determinação de metais pesados⁶¹ ou buscando alternativas para o tratamento da carga orgânica através de processos oxidativos avançados (POA's), principalmente pela reação de Fenton⁷² e foto-Fenton.^{75,77}

No campo da indústria farmacêutica, há trabalhos focados na determinação de vitamina B₆,³⁵ Fe²⁺,^{36,41} Cl⁻,⁵⁰ metoprolol, acebutolol e propranolol,⁶⁷ além de midazolam e diazepam.⁷¹ Um destes trabalhos⁵⁰

Tabela 2. Resumo dos artigos em SIA com pesquisadores brasileiros (em ordem de publicação)

Análito	Matriz	Frequência de amostragem (ht ⁻¹)	Faixa linear de trabalho	Limite de Detecção	Deteção	Ref.
PO ₄ ³⁻	Meio aeróbico de fermentação de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25	0,1 – 30 mmol L ⁻¹	-	Espectrofotometria	14
L(+)-Lactato	Vinho	14	0,25 – 2,5 g L ⁻¹	0,074 g L ⁻¹	Espectrofotometria	15
Ca ²⁺ / Mg ²⁺	Água mineral	122 / 116 (Ca ²⁺) 135 / 114 (Mg ²⁺)	0,03 – 10,00 / 0,58 – 200 mg L ⁻¹ (Ca ²⁺) 0,03 – 1,5 / 0,8 – 50 mg L ⁻¹ (Mg ²⁺)	0,03 / 0,58 mg L ⁻¹ (Ca ²⁺) 0,03 / 0,8 mg L ⁻¹ (Mg ²⁺)	Absorção atômica em chama	16
Fe (total)	Água natural	-	-	-	Espectrofotometria	17
Glicerol e 2,3-butanodiol	Vinho	33	-	220 mg L ⁻¹	Potenciometria	18
P	Vinho, suco de laranja, leite e vegetais	16	20,0 – 400,0 mg L ⁻¹ (P - PO ₄)	-	Espectrofotometria	19
C ⁶⁺	Banho de eletrodeposição e aço	80 (c/ diluição) 120 (s/ diluição)	0,2 – 2 mg L ⁻¹ podendo ser ampliado até 100 mg L ⁻¹ por diluição	0,045 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	20
Carbaryl	Água	20 – SIA 70 – Multicomut. 90 – FIA	-	40 µg L ⁻¹ (SIA) 26 µg L ⁻¹ (FIA e Multicomutação)	Espectrofotometria	21
Cl ⁻	Leite	-	-	0,71x10 ³ mol L ⁻¹	Condutimetria	22
Cu ²⁺	Água (de abastecimento)	45 / 70	-	0,5 / 1,2 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	23
N (total, volátil e insolúvel detergente ácido)	Silagem	30	-	3,0 mg L ⁻¹	Potenciometria	24
Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Fe ²⁺	Cenoura, leite, água de côco	-	5,0 – 50 mg L ⁻¹ Mg ²⁺ 15,0 – 150 mg L ⁻¹ Ca ²⁺ 2,0 – 20,0 mg L ⁻¹ Fe ²⁺	-	Espectrofotometria	25
Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺	Sedimento de rio	30 - 45	0,01 – 0,2 mg L ⁻¹ Cu 0,01 – 0,4 mg L ⁻¹ Pb 0,01 – 0,05 mg L ⁻¹ Cd 0,05 – 0,4 mg L ⁻¹ Cd 0,05 – 0,2 mg L ⁻¹ Zn	0,012 mg L ⁻¹ Cu 0,026 mg L ⁻¹ Pb 0,0084 mg L ⁻¹ Cd 0,037 mg L ⁻¹ Cd 0,042 mg L ⁻¹ Zn	Voltametria de redissolução anódica	26
PO ₄ ³⁻ , SiO ₃ ²⁻	Água, sedimento de rio, meio de cultura de algas	75 (PO ₄ ³⁻) 40 (SiO ₃ ²⁻)	0,2 – 7,0 mg L ⁻¹ (PO ₄ ³⁻) 5 – 50 mg L ⁻¹ (SiO ₃ ²⁻)	0,1 mg L ⁻¹ (PO ₄ ³⁻) 1 mg L ⁻¹ (SiO ₃ ²⁻)	Espectrofotometria	27
Fe (total)	Vinho	10	2 – 14 mg L ⁻¹	0,6 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	28
N (total)	Digeridos de arroz, soja, café, citrinos, laranja e palmeira	14	1 – 6% N (base seca)	-	Espectrofotometria	29
Uréia	Leite e fertilizante	20	1x10 ⁻³ – 1x10 ⁻² mol L ⁻¹	6x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	Potenciometria	30
S ²⁻ volátil	Sedimento de rio	60	0,05 – 2 mg L ⁻¹ , podendo chegar a até 32 mg L ⁻¹ por diluição <i>in-line</i>	40 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	31
C ⁶⁺	Amostras de aço certificadas	80	1,0 – 10,0 mg L ⁻¹	-	Espectrofotometria	32
SO ₄ ²⁻	Amostras de plantas, soro sanguíneo e fígado de boi	30 – SIA 40 – MSFA 40 – FIA-MBS 40 – FIA-SS	40 – 200 mg L ⁻¹ – SIA 20 - 125 mg L ⁻¹ – MSFA 40 - 200 mg L ⁻¹ – FIA-MBS 40 - 200 mg L ⁻¹ – FIA-SS	33 mg L ⁻¹ – SIA 15 mg L ⁻¹ – MSFA 30 mg L ⁻¹ – FIA-MBS 29 mg L ⁻¹ – FIA-SS	Turbidimetria	33

Tabela 2. Continuação

Análito	Matriz	Frequência de amostragem (h ⁻¹)	Faixa linear de trabalho	Limite de Detecção	Deteção	Ref.
Fe ²⁺ , Fe ³⁺ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻	Água natural e efluente	20	0,010 – 1,0 mg L ⁻¹ N (NO ₂ ⁻) 0,02 – 2,0 mg L ⁻¹ N (NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻) 0,050 – 6,0 mg L ⁻¹ (Fe ²⁺ + Fe ³⁺)	6 µg L ⁻¹ (NO ₂ ⁻) 8 µg L ⁻¹ (NO ₃ ⁻) 0,02 mg L ⁻¹ (Fe ²⁺) 0,03 mg L ⁻¹ (Fe ²⁺ + Fe ³⁺)	Espectrofotometria	34
Vitamina B ₆	Polivitamínicos	-	5x10 ⁻⁵ – 1x10 ⁻² / 1x10 ⁻⁴ – 1x10 ⁻² mol L ⁻¹ ,	-	Potenciometria	35
Fe ²⁺	Antianêmicos	100	5,0 – 40,0 mg L ⁻¹	0,97 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	36
Sacarose, frutose, glicose	Cana-de-açúcar, milho	24	-	0,13% m v ⁻¹ sacarose	Potenciometria	37
PO ₄ ³⁻ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻	Meio de cultura da alga marinha <i>Tetraselmis gracilis</i> e meio de fermentação da <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	80 PO ₄ ³⁻ 40 NO ₃ ⁻ 72 NO ₂ ⁻	8 – 65 / 80 – 968 µmol L ⁻¹ PO ₄ ³⁻ 18 – 430 µmol L ⁻¹ NO ₃ ⁻ 1 – 30 µmol L ⁻¹ NO ₂ ⁻	-	Espectrofotometria	38
Pd	Urina humana	10	30-200 ng L ⁻¹	9 ng L ⁻¹	Absorção atômica (eletrotérmica)	39
Ácido fítico	Aveia, arroz, trigo, milho, mandioca, feijão, lentilha, ervilha e soja	60	50,0 – 200,0 mg L ⁻¹	3,5 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	40
Fe ²⁺	Antianêmicos	30	0,06 – 2,20 mg L ⁻¹ para diluição <i>in line</i> , sem remoção de bolhas do monossedimento	25 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	41
Cl ⁻	Vinho e leite	8 (leite) 10 (vinho)	-	-	Potenciometria (titulação)	42
S ²⁻	Água	38	0,17 – 1,0 mg L ⁻¹	0,040 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	43
Mn	Água	-	4,50 – 200,0 µg L ⁻¹	-	Absorção atômica em chama	44
Hg	Água de rio	20	2,5 – 30 µg L ⁻¹	0,9 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	45
H ⁺ (pH), Cl ⁻ , Ni ²⁺	Banho eletrolítico	40	1 – 5 (pH) 0,1 – 1,0 (Cl ⁻) 0,1 – 1,6 (Ni ²⁺)	-	Potenciometria (pH) Potenciometria (Cl ⁻) Espectrofot. (Ni ²⁺)	46
Cl ⁻ , NO ₃ ⁻	Águas naturais	-	-	-	Potenciometria	47
Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	Latão	20	15 – 75 mg L ⁻¹ (Cu ²⁺) 10 – 50 mg L ⁻¹ (Zn ²⁺) 2 – 10 mg L ⁻¹ (Pb ²⁺)	1% (m m ⁻¹ , para os três íons)	Espectrofotometria	48
S ²⁻	Água	20	0,10 – 4,0 mg L ⁻¹	60 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	49
Cl ⁻	Preparações farmacêuticas	60 (potenciom.) 14 (espectrof.)	1,00x10 ⁻⁵ – 1,00x10 ⁻² mol L ⁻¹ (potenciom.) 1,00x10 ⁻³ – 1,00 mol L ⁻¹ (espectrof.)	-	Potenciometria Espectrofotometria	50
Cu ²⁺ , Hg ²⁺	Água de rio	45 (Cu ²⁺) 20 (Hg ²⁺)	5,0 – 500,0 µg L ⁻¹ (Cu ²⁺) 2,5 – 30,0 µg L ⁻¹ (Hg ²⁺)	0,63 µg L ⁻¹ (Cu ²⁺) 0,25 µg L ⁻¹ (Hg ²⁺)	Espectrofotometria	51
Ácido giberélico	Promotores de crescimento para agricultura	30	5x10 ⁻⁴ – 8x10 ⁻³ mol L ⁻¹	3x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹	Potenciometria	52
PO ₄ ³⁻ , Zn ²⁺	Extratos de solo	30	-	-	Espectrofotometria	53

Tabela 2. Continuação

Análito	Matriz	Frequência de amostragem (h ⁻¹)	Faixa linear de trabalho	Limite de Detecção	Deteção	Ref.
Atrazina	Água de rio	37 - 42	$1,16 \times 10^7 - 2,32 \times 10^6$ mol L ⁻¹	$2,1 \times 10^{-8}$ mol L ⁻¹	Voltagem de onda quadrada	54
Aldeídos totais	Etanol (combustível)	10	0,3 - 6 mg L ⁻¹	60 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	55
Atrazina	Solo tropical	190	1,16 - 18,5 µmol L ⁻¹	0,18 - 0,48 µmol L ⁻¹ , dependendo do meio de preparação dos extratos	Voltagem de onda quadrada	56
SO ₄ ²⁻	Etanol (combustível)	27	-	0,27 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	57
Ni ²⁺	Ligas de aço	30 - SIA 40 - MSFA 40 - FIA-MBS 40 - FIA-SS	-	3,3 mg L ⁻¹ - SIA 1,0 mg L ⁻¹ - MSFA 2,5 mg L ⁻¹ - FIA-MBS 2,7 mg L ⁻¹ - FIA-SS	Espectrofotometria	58
Ácido fúlvico	Água	72	0,10 - 10,0 mg L ⁻¹	0,020 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	59
Glicerol	Vinho e cerveja	54	0,3 - 3,0 mmol L ⁻¹	-	Espectrofotometria	60
Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Cu ²⁺	Efluente da indústria de tintas	30	0,20 - 9,0 µmol L ⁻¹	0,06 µmol L ⁻¹ (Cd ²⁺), 0,09 µmol L ⁻¹ (Pb ²⁺), 0,16 µmol L ⁻¹ (Cu ²⁺)	Voltagem	61
Paraquat	Água	102	0,1 - 20 mg L ⁻¹	0,039 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	62
Etanol	Amostras de bioprocessos e bebidas alcoólicas	7	0,005 - 0,04 g L ⁻¹	$2,1 \times 10^{-3}$ g L ⁻¹	Espectrofotometria	63
Picloram	Água natural	37 - 41	0,10 - 2,50 mg L ⁻¹	0,036 mg L ⁻¹	Voltagem de onda quadrada	64
Metil-paration	Água natural	25 - 61	0,010 - 0,50 mg L ⁻¹	2 µg L ⁻¹	Voltagem de onda quadrada adsortiva	65
Etanol	Gasool, bebidas alcoólicas e meio de fermentação	7	0,005 - 0,04 g L ⁻¹	$2,1 \times 10^{-3}$ g L ⁻¹	Espectrofotometria	66
Metoprolol, acebutolol e propranolol	Preparações farmacêuticas	14	40,52 - 250 mg L ⁻¹ metoprolol 32,85 - 140 mg L ⁻¹ acebutolol 16,58 - 120 mg L ⁻¹ propranolol	12,16 mg L ⁻¹ metoprolol 9,86 mg L ⁻¹ acebutolol 4,97 mg L ⁻¹ propranolol	Espectrofotometria	67
PO ₄ ³⁻	Água e refrigerantes	70	-	4 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	8
Mn	Farinhas de arroz e milho e leite para crianças	48	1,7 - 150,0 µg L ⁻¹	0,5 µg L ⁻¹	Absorção atômica em chama	68
Aminoácidos	Extratos de <i>Tetrase/imis gracilis</i>	-	1 - 25 µmol L ⁻¹ para Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, Gly, Orn e Lys 0,5 - 10 µmol L ⁻¹ para Thr, Ctr, Arg, Ala, Tyr, e Phe	0,092 - 0,51 µmol L ⁻¹ (dependente do aminoácido determinado)	Fluorimetria	69
Cocaína	Amostras de cocaína apreendidas	12	100 - 1000 mg L ⁻¹	29,4 mg L ⁻¹	Espectrofotometria	70
Midazolam e diazepam	Preparações farmacêuticas	-	-	$1,2 \times 10^{-3}$ g L ⁻¹ midazolam $6,8 \times 10^{-2}$ g L ⁻¹ diazepam	Potenciometria	71
Vermelho de alizarina S	Água	-	-	-	Espectrofotometria	72

Tabela 2. Continuação

Analito	Matriz	Frequência de amostragem (h ⁻¹)	Faixa linear de trabalho	Limite de Detecção	Detecção	Ref.
Simazina, atrazina e propazina	Água natural	27	0,050 – 0,50	10 µg L ⁻¹	Espectrofotometria	73
Sn	Sucos de frutas (enlatados)	70	1 – 10 mg L ⁻¹	0,38 mg L ⁻¹	Fluorimetria	74
Sal de ftalocianina de cobre	Água	-	-	-	Espectrofotometria	75
As ³⁺ , As ⁵⁺ , ácido monometilarsônico e ácido dimetilarsínico	Camarão e urina liofilizada	-	-	-	ICP-SFMS	76
Sal de ftalocianina de cobre	Água	-	-	-	Espectrofotometria	77

é o único a empregar dois meios de detecção (espectrofotometria e potenciometria) para a determinação de um único analito; esta abordagem, segundo os autores, permite uma estimativa com maior exatidão da concentração do analito na amostra.

Há, finalmente, os trabalhos que não se enquadram nas classes anteriores. Três artigos tratam do monitoramento de meios de cultura de algas marinhas ou de fermentação através da determinação de fosfato,^{14,38} nitrato e nitrito³⁸ e aminoácidos.⁶⁹ Um único trabalho tem foco em análise forense, visando a determinação do teor de cocaína em amostras apreendidas pela polícia, o que permite traçar possíveis rotas de tráfico.⁷⁰ Dois artigos tratam da determinação de espécies em urina: o primeiro³⁹ descreve a quantificação de Pd e o segundo, de compostos de arsênio⁷⁶ (é também o único a empregar o sistema de ICP-MS para a confirmação das espécies estudadas).

Para leitores interessados em se aprofundar no tema são indicados alguns artigos de revisão geral ou envolvendo aspectos específicos sobre SIA,^{5,80-95} além de trabalhos como o de Zagatto *et al.*⁹⁶ no qual se apresenta uma revisão sobre câmaras de mistura, ou ainda os de Arruda e Collins⁹⁷ e Zagatto *et al.*⁹⁸ que descrevem informações essenciais para a caracterização de um sistema analítico em fluxo.

CONCLUSÕES

Este artigo de revisão buscou mostrar o desenvolvimento da análise por injeção sequencial e suas variações dentro da área de métodos de análise em fluxo, bem como suas aplicações. Destaque especial foi dado a trabalhos desenvolvidos no Brasil. Espera-se com isso contribuir para a popularização desta técnica de análise em fluxo, chamando a atenção para sua potencialidade de aplicação em monitoramento, otimização e controle de processos. Esses campos de aplicação deram origem à técnica de SIA, mas a maior parte das publicações até o momento descreve análises seriais em bancada de laboratório, condições nas quais não existem vantagens significativas desta técnica sobre outras modalidades de análise em fluxo, especialmente devido a sua menor frequência de amostragem. Existe, portanto, um vasto campo de pesquisa a ser explorado em desenvolvimentos tecnológicos nos quais as potencialidades da análise por injeção sequencial poderiam ser melhor aproveitadas, exercendo um importante papel na automação do monitoramento e do controle de processos.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro e bolsas.

REFERÊNCIAS

- Skeggs Jr., L. T.; *Am. J. Clin. Pathol.* **1957**, 28, 311.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1975**, 78, 145.
- Stewart, J. W. B.; Ruzicka, J.; Bergamin Filho, H.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1976**, 81, 371.
- dos Reis, B. F.; *Quim. Nova* **1996**, 19, 51.
- Lenehan C. E.; Barnett, N. W.; Lewis, S. W.; *Analyst* **2002**, 127, 997.
- Ruzicka, J.; Marshall, G. D.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 237, 329.
- Gübeli, T.; Christian, G. D.; Ruzicka, J.; *Anal. Chem.* **1991**, 63, 2407.
- Masini, J. C.; *Quim. Nova* **2008**, 31, 704.
- Pasquini, C.; de Oliveira, W. A.; *Anal. Chem.* **1985**, 57, 2575.
- Ruzicka J.; Scampavia, L.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 257A.
- Chandler, D. P.; Brockman, F. J.; *Trends Anal. Chem.* **2000**, 19, 314.
- Ruzicka, J.; *Analyst* **2000**, 125, 1053.
- Huclová, J.; Šatínský, D.; Karlík, R.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, 494, 133.
- Masini, J. C.; Baxter, P. J.; Detwiler, K. R.; Christian, G. D.; *Analyst* **1995**, 120, 1583.
- Araújo, A. N.; Lima, J. L. F. C.; Saraiva, M. L. M. F. S.; Zagatto, E. A. G.; *Am. J. Enol. Vitic.* **1997**, 48, 428.
- Araújo, A. N.; Costa, R. C. C.; Lima, J. L. F. C.; Reis, B. F.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 358, 111.
- Vieira, J. A.; Raimundo, I. M.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 366, 257.
- Luca, G. C.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Conceição, M.; Montenegro, B. S. M.; Araújo, A. N.; Lima, J. L. F. C.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 366, 193.
- Oliveira, C. C.; Zagatto, E. A. G.; Araújo, A. N.; Lima, J. L. F.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 371, 57.
- Oliveira, P. C. C.; Masini, J. C.; *Analyst* **1998**, 123, 2085.
- Reis, B. F.; Morales-Rubio, A.; de la Guardia, M.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, 392, 265.
- Silva, F. V.; Souza, G. B.; Ferraz, L. F. M.; Nogueira, A. R. A.; *Food Chem.* **1999**, 67, 317.
- Oliveira, C. C.; Zagatto, E. A. G.; Ruzicka, J.; Christian, G. D.; *Anal. Lett.* **2000**, 33, 929.
- Silva, F. V.; Nogueira, A. R. A.; Souza, G. B.; Cruz, G. M.; *Anal. Sci.* **2000**, 16, 361.
- Oliveira, C. C.; Sartini, R. P.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, 413, 41.
- da Silva, C. L.; Masini, J. C.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 367, 284.
- Galhardo, C. X.; Masini, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, 417, 191.
- Neira, J. Y.; Reyes, N.; Nóbrega, J. A.; *Lab. Robot. Autom.* **2000**, 12, 246.
- Carneiro, J. M. T.; Honorato, R. S.; Zagatto, E. A. G.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 368, 496.
- Silva, F. V.; Nogueira, A. R. A.; Souza, G. B.; Reis, B. F.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. M. B. S.; Lima, J. L. F. C.; *Talanta* **2000**, 53, 331.
- Silva, M. S. P.; da Silva, I. S.; Abate, G.; Masini, J. C.; *Talanta* **2001**, 53, 843.
- de Oliveira, P. C. C.; Gouveia, V. J. P.; Masini, J. C.; *Quim. Nova* **2001**, 24, 399.
- Vieira, J. A.; Raimundo, I. M.; Reis, B. F.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, 438, 75.
- Galhardo, C. X.; Masini, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, 438, 39.
- Fernandes, R. N.; Sales, M. G. F.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2001**, 25, 713.

36. Oliveira, P. C. C.; Masini, J. C.; *Anal. Lett.* **2001**, *34*, 389.
37. Silva, F. V.; Souza, G. B.; Nogueira, A. R. A.; *Anal. Lett.* **2001**, *34*, 1377.
38. Masini, J. C.; Rigobello-Masini, M.; Salatino, A.; Aidar, E.; *Latin Am. Appl. Res.* **2001**, *31*, 463.
39. Costa, R. C. C.; Almeida, A. A.; Araújo, A. N.; Silva, V. L.; *Ar. Spectrosc.* **2002**, *23*, 17.
40. Sartini, R. P.; Oliveira, C. C.; *Anal. Sci.* **2002**, *18*, 675.
41. Silva, M. S. P.; Masini, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *466*, 345.
42. Vieira, J. A.; Raimundo Jr., I. M.; Reis, B. F.; Montenegro M. C. B. S. M.; Araújo, A. N.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 259.
43. Silva, M. S. P.; Galhardo, C. X.; Masini, J. C.; *Talanta* **2003**, *60*, 45.
44. Costa, R. C. C.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Pimentel, M. F.; Silva, V. L.; *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* **2003**, *48*, 320.
45. Sartini, R. P.; Vidotti, E. C.; Oliveira, C. C.; *Anal. Sci.* **2003**, *19*, 1653.
46. da Silva, J. E.; Pimentel, M. F.; da Silva, V. L.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Araújo, A. N.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *506*, 197.
47. Santos, E.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Couto, C.; Araújo, A. N.; Pimentel, M. F.; da Silva, V. L.; *Talanta* **2004**, *63*, 721.
48. Dias, A. C. B.; Carneiro, J. M. T.; Grassi, V.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *514*, 253.
49. Silva, M. S. P.; Masini, J. C.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 545.
50. Pimenta, A. M.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Pasquini, C.; Rohwedder, J. J. R.; Raimundo Jr, I. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *36*, 49.
51. Vidotti, E. C.; Almeida, V. C.; Oliveira, C. C.; *Talanta* **2004**, *64*, 993.
52. Santos, E. M. G.; Couto, C. M. C. M.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Reis, B. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 701.
53. Grassi, V.; Dias, A. C. B.; Zagatto, E. A. G.; *Talanta* **2004**, *64*, 1114.
54. dos Santos, L. B. O.; Silva, M. S. P.; Masini, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *528*, 21.
55. de Oliveira, F. S.; Leite, B. C. O.; de Andrade, M. V. A. S.; Korn, M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 87.
56. dos Santos, L. B. O.; Abate, G.; Masini, J. C.; *Talanta* **2005**, *68*, 165.
57. de Oliveira, F. S.; Korn, M.; *Talanta* **2006**, *68*, 992.
58. Vieira, J. A.; Raimundo Jr., I. M.; Rohwedder, J. J. R.; Reis, B. F.; *Microchem. J.* **2006**, *82*, 56.
59. Abate, G.; dos Santos, L. B. O.; Colombo, S. M.; Masini, J. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 491.
60. Oliveira, H. M.; Segundo, M. A.; Lima, J. L. F. C.; Grassi, V.; Zagatto, E. A. G.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 4136.
61. dos Santos, A. C. V.; Masini, J. C.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *385*, 1538.
62. Infante, C. M. C.; Masini, J. C.; *Spectrosc. Lett.* **2007**, *40*, 3.
63. Alhadeff, E. M.; Salgado, A. M.; Cos, O.; Pereira Jr, N.; Valdman, B.; Valero, F.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2007**, *137*, 17.
64. dos Santos, L. B. O.; Masini, J. C.; *Talanta* **2007**, *72*, 1023.
65. dos Santos, L. B. O.; Masini, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *606*, 209.
66. Alhadeff, E. M.; Salgado, A. M.; Cós, O.; Pereira Jr., N.; Valero, F.; Valdman, B.; *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2008**, *146*, 129.
67. Passos, M. L. C.; Saraiva, M. L. M. F. S.; Lima, J. L. F. C.; Korn, M. G. A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, *19*, 563.
68. Lemos, V. A.; Baliza, P. X.; de Carvalho, A. L.; Oliveira, R. V.; Teixeira, L. S. G.; Bezerra, M. A.; *Talanta* **2008**, *77*, 388.
69. Rigobello-Masini, M.; Pentead, J. C. P.; Liria, C. W.; Miranda, M. T. M.; Masini, J. C.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *628*, 123.
70. da Silva, M. J.; dos Anjos, E. V.; Honorato, R. S.; Pimentel, M. F.; Paim, A. P. S.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *629*, 98.
71. Amorim, C. G.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Silva, V. L.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2008**, *48*, 1064.
72. dos Santos, A. C. V.; Masini, J. C.; *Talanta* **2009**, *77*, 1081.
73. dos Santos, L. B. O.; Infante, C. M. C.; Masini, J. C.; *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 494.
74. Morte, E. S. B.; Korn, M. G. A.; Saraiva, M. L. M. F. S.; Lima, J. L. F. C.; Pinto, P. C. A. G.; *Talanta* **2009**, *79*, 1100.
75. dos Santos, A. C. V.; Masini, J. C.; *Microchem. J.* **2009**, *93*, 110.
76. Suárez, C. A.; Araújo, G. C. L.; Giné, M. F.; Kakazu, M. H.; Sarkis, J. E. S.; *Spectrosc. Lett.* **2009**, *42*, 376.
77. dos Santos, A. C. V.; Masini, J. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 1800.
78. Reis, B. F.; Giné, M. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Lapa, R. A.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 129.
79. Alonso, J.; Bartoli, J.; del Vale, M.; Escalada, M.; Barber, R.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, *199*, 191.
80. Burakham, R.; Grudpan, K.; *J. Chromatogr. Sci.* **2009**, *47*, 631.
81. Kubá, P.; Karlberg, B.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *648*, 129.
82. Mesquita, R. B. R.; Rangel, A. O. S. S.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *648*, 7.
83. Anthemidis, A. N.; Miró, M.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2009**, *44*, 140.
84. Hansen, E. H.; Miró, M.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2008**, *43*, 335.
85. Mervartová, K.; Poláček, M.; Calatayud, J. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *45*, 367.
86. Chen, X. W.; Wang, J. H.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *602*, 173.
87. Economou, A.; Tzanavaras, P. D.; Themelis, D. G.; *Curr. Pharm. Anal.* **2007**, *3*, 249.
88. Chen, M. L.; Zou, A. M.; Yu, Y. L.; He, R. H.; *Talanta* **2007**, *73*, 599.
89. Hansen, E. H.; Miró, M.; Long, X.; Petersen, R.; *Anal. Lett.* **2006**, *39*, 1243.
90. Pimenta, A. M.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Araújo, A. N.; Calatayud, J. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, *40*, 16.
91. Pérez-Olmos, R.; Soto, J. C.; Zárata, N.; Araújo, A. N.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *554*, 1.
92. Pérez-Olmos, R.; Soto, J. C.; Zárata, N.; Araújo, A. N.; Lima, J. L. F. C.; Saraiva, M. L. M. F. S.; *Food Chem.* **2005**, *90*, 471.
93. Fang, Z. L.; Fang, Q.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **2001**, *370*, 978.
94. Taljaard, R. E.; van Staden, J. F.; *Lab. Robot. Autom.* **1998**, *10*, 325.
95. Baxter, P. J.; Christian, G. D.; *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 515.
96. Zagatto, E. A. G.; Carneiro, J. M. T.; Vicente, S.; Fortes, P. R.; Santos, J. L. M.; Lima, J. L. F. C.; *J. Anal. Chem.* **2009**, *64*, 524.
97. Arruda, M. A. Z.; Collins, C. H.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 739.
98. Zagatto, E. A. G.; van Staden, J. F.; Maniasso, N.; Stefan, R. I.; Marshall, G. D.; *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 585.