

MULTICOMUTAÇÃO E AMOSTRAGEM BINÁRIA EM ANÁLISE QUÍMICA EM FLUXO. DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE ORTOFOSFATO EM ÁGUAS NATURAIS

Eloisa Ap. Mocheuti Kronka, Boaventura Freire dos Reis*

Centro de Energia Nuclear na Agricultura - Universidade de São Paulo - Av. Centenário, 303, CP 96 - 13400-970 - Piracicaba - SP

Jonas A. Vieira, Telma Blanco e Ana Paula G. Gervasio

Instituto de Química de São Carlos - USP

Recebido em 20/6/96; aceito em 25/11/96

MULTICOMMUTATION AND BINARY SAMPLING IN CHEMICAL FLOW ANALYSIS. SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PHOSPHATE IN NATURAL WATERS. A flow system based on multicommutation and binary sampling process was developed to implement the sample zone trapping technique in order to increase the spectrophotometric analytical range and to improve sensitivity. The flow network was designed with active devices in order to provide facilities to determine sequentially analyte with a wide concentration range, employing a single pumping channel to propel sample and reagents solutions. The procedure was employed to determine orthophosphate ions in water samples of river and waste. Profitable features such as an analytical throughput of 60 samples determination per hour, relative standard deviation (r.s.d.) of 2% (n = 6) for a typical sample with concentration of 2.78 mg/L were achieved. By applying the paired *t*-test no significant difference at 95% confidence level was observed between the results obtained with the proposed system and those of the usual flow injection system.

Keywords: multicommutation; flow analysis; binary sampling; phosphate determination.

1. INTRODUÇÃO

O processo de análise química por injeção em fluxo (FIA) foi proposto em 1975¹. Ao longo destes anos tem demonstrado grande sucesso, considerando-se que mais de 4.000 artigos já foram publicados por pesquisadores de vários países^{2,3}.

A grande aceitação deste processo de análise química deve-se a simplicidade da instrumentação e a versatilidade do módulo de análise, possibilitando a implementação de procedimentos analíticos automáticos, utilizando instrumentos de baixo custo. Neste sistema, as condições de reação podem ser facilmente controladas e repetidas. Além disso, as reações químicas ocorrem em um ambiente fechado, o que é uma vantagem adicional, pois diminui os riscos de contaminação.

A análise química por injeção em fluxo tem como conceito básico a introdução da solução da amostra em um fluido carregador, que a transporta para o detector. Ao longo do percurso analítico pode receber reagentes e passar por etapas de processamentos, tais como: extração líquido-líquido⁴; pré-concentração⁵; geração de fase gasosa para separar o analito⁶; diluição em linha⁷; diálise por membrana permeável a gás⁸; etc.

A introdução reprodutível da alíquota da solução da amostra no fluido carregador, é um dos fatores básicos para garantir bom desempenho dos sistemas FIA. Nos primeiros trabalhos, foi empregada seringa hipodérmica⁹ e, com a evolução do processo, outros dispositivos foram propostos para esta finalidade, sendo empregados, em maior escala, o injetor comutador¹⁰ e as válvulas rotativas de 6 e 8 vias^{11,12}.

As válvulas solenóides de três vias também têm sido empregadas para este propósito, as quais oferecem como vantagem a possibilidade de um acionamento individual e sequencial, enquanto que os demais dispositivos possuem comutação solidária¹³. O emprego destas válvulas permite que se altere facilmente o funcionamento do módulo de análise sem alterar a configuração do mesmo.

A multicomutação em sistema FIA associada à amostragem binária foi introduzida recentemente¹⁴ e possibilita manipular,

com boa precisão, volumes da ordem de 5 µL. Este processo foi empregado para desenvolver um procedimento para a determinação sequencial de duas espécies químicas de interesse, utilizando o mesmo percurso analítico¹⁵.

O conceito básico de multicomutação e amostragem binária é a inserção sequencial, no percurso analítico, de pequenas alíquotas de amostra e dos reagentes. Assim, a reação química para produzir o composto a ser detectado, tem início durante a amostragem. Nos sistemas FIA usuais, o reagente é adicionado à amostra após a inserção no percurso analítico e portanto o intervalo de tempo da amostragem não é aproveitado para o desenvolvimento da reação. Em princípio, em um módulo de análise baseado no conceito de amostragem binária, tem-se um melhor aproveitamento do tempo, o que pode resultar em aumento da velocidade analítica.

O módulo de análise para implementar a amostragem binária, é constituído por um conjunto de válvulas solenóides de três vias, configuradas para efetuar a introdução da amostra e dos reagentes no percurso analítico, formando, a partir do ponto de inserção, uma sequência binária. Pequenas frações das soluções da amostra e do reagente são inseridas, alternadamente, no percurso analítico. O tempo de acionamento das válvulas e a vazão de bombeamento determinam o volume de cada alíquota. A inserção das soluções da amostra e dos reagentes no percurso analítico pode ser manipulada, empregando-se apenas um canal de bombeamento. Em um sistema FIA usual é necessário um canal de bombeamento para cada solução.

Em sistemas FIA, não é necessário completar a reação para se obter medidas com boa precisão. Esta característica pode ser empregada para ajustar a magnitude do sinal analítico à faixa operacional do detector, desde que o módulo de análise proporcione meios para este ajuste. Isto pode ser facilmente conseguido, empregando-se procedimentos analíticos baseados no processo de multicomutação¹⁴. Entretanto, quando a amostra é muito diluída, é necessário que a reação se complete, para que se possa alcançar um melhor limite de detecção. Quando fato desta natureza ocorre e a reação química possui cinética

lenta, deve-se aumentar o intervalo de tempo de residência da zona da amostra no percurso analítico. Um dos recursos usados para esta finalidade é a técnica de parada de fluxo^{16,17} (stopped flow).

A determinação de ortofosfato em águas de rios é muito importante em estudos envolvendo a qualidade da água, sendo que a faixa de concentração varia dependendo do índice de poluição. O método de determinação baseado na reação com molibdato de amônio e redução com ácido ascórbico ou cloreto estano, em geral, é o mais utilizado^{18,19}. Um intervalo de tempo, superior a 2 min, é necessário para completar a reação, portanto, para amostras muito diluídas, o módulo de análise deve proporcionar meios para que o tempo de residência da amostra no percurso analítico seja desta ordem.

Recorrendo-se aos recursos oferecidos pelo processo de multicomutação e amostragem binária, pretende-se desenvolver um módulo de análise em que se possa ajustar, por "software", o tempo de residência da amostra no percurso analítico. Assim, associando-se esta facilidade à cinética de reação do íon ortofosfato com molibdato de amônio, pretende-se desenvolver um procedimento automático, para determinar este analito em uma ampla faixa de concentrações. Espera-se determinar ortofosfato em águas naturais e águas poluídas com resíduos domésticos, sem modificar a estrutura do módulo de análise.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Soluções de reagentes e amostras

Todas as soluções foram preparadas a partir de reagentes de grau analítico usando água destilada-desionizada.

Solução de molibdato de amônio 1,0% (m/v) foi preparada, dissolvendo-se 5,0 g do composto em 500 mL de água.

Solução de ácido ascórbico 1,0% (m/v) foi preparada, dissolvendo-se 1,0 g do composto em 100 mL de água. Esta solução foi preparada diariamente.

Solução estoque de ortofosfato 1000 mg/L foi preparada, dissolvendo-se 1,098 g de KH_2PO_4 em 250 mL de água.

Soluções padrão de ortofosfato de 0,10; 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 e 1,00 mg/L e de 1,00; 2,00; 4,00; 6,00; 8,00 e 10,00 mg/L e 0,014 mol/L em HNO_3 , foram preparadas a partir da solução estoque de 1000 mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$.

As amostras de água foram coletadas em garrafas de polietileno e acidificadas, adicionando-se 1 mL de ácido nítrico concentrado, para ter concentração final em torno de 0,014 mol/L. A determinação do analito foi efetuada no dia da coleta. Foram selecionadas 02 áreas de coleta, sendo uma ao longo do rio Piracicaba a partir do ponto de despejo dos resíduos domésticos da cidade e a outra a partir do ponto de descarte de efluentes de uma usina de açúcar e álcool da região.

2.2. Equipamentos

Espectrofotômetro Femto 432 equipado com cela de fluxo com volume interno de 180 μL e passo ótico de 13 mm.

Microcomputador 386, equipado com uma interface PCL 711 - S (American Advantech Corp).

Bomba peristáltica Ismatec, modelo MP 13 R, equipada com tubos de tygon e interface para controle externo de rotação por "loop" de corrente.

Interfaces eletrônicas para controle da velocidade da bomba peristáltica, sincronização da amostragem com a pulsação da bomba e acionamento das válvulas solenóides¹⁴.

Módulo de análise constituído por 5 válvulas solenóides de 3 vias, bobinas de reação feitas de tubo de polietileno, tendo cada uma 100 cm de comprimento e diâmetro interno de 0,8 mm.

3. Descrição do módulo de análise.

O módulo de análise foi desenvolvido, levando-se em consideração as características da reação química envolvida e o

diagrama de fluxo é mostrado na figura 1. Inicialmente, todas as válvulas estão desligadas e o fluido carregador está passando continuamente pelo percurso analítico, através de B_1 . O ciclo de análise inicia-se quando o microcomputador aciona as válvulas V_1 , V_2 , V_3 e V_4 , de acordo com o diagrama de tempo mostrado nesta figura. Estas válvulas ao serem acionadas, permitem a introdução de pequenas frações das soluções da amostra e dos reagentes no percurso analítico, formando a partir do ponto de junção (x), uma sequência ternária, que corresponde às alíquotas das soluções da amostra, do molibdato de amônio e do ácido ascórbico (R_1 , A, R_2), conforme indicado no modelo da figura 2.

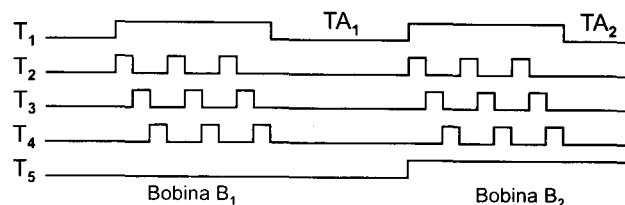
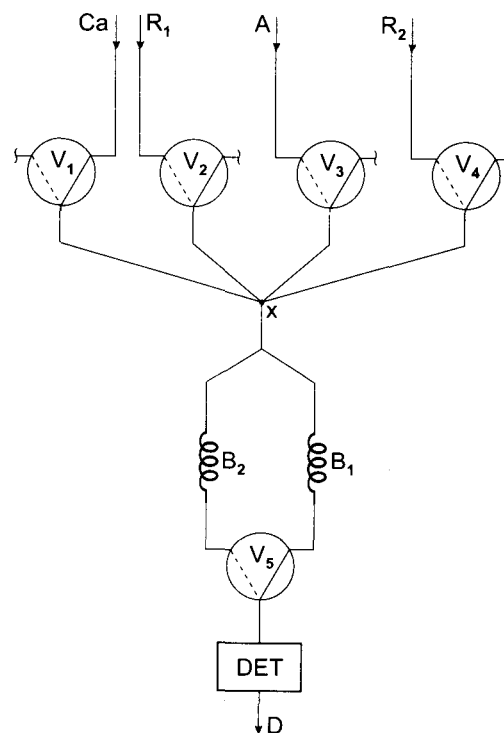


Figura 1. Diagrama de fluxo do módulo de análise. Ca = carregador da amostra; A = amostra; R_1 = molibdato de amônio 1,0% (m/v); R_2 = ácido ascórbico 1,0% (m/v); B_1 e B_2 = bobinas de reação de tubo de polietileno, 100 cm de comprimento, 0,8 mm de diâmetro interno; DET = espectrofotômetro (640nm); D = descarte; V_1 , V_2 , V_3 , V_4 e V_5 = válvulas solenóides de 3 vias. T_1 , T_2 , ..., T_5 = intervalos de tempo de acionamento das válvulas V_1 , V_2 , ..., V_5 ; TA_1 e TA_2 = intervalos de tempo para leitura dos sinais correspondente às zonas de amostras dos percursos analíticos B_1 e B_2 , respectivamente.



Figura 2. Modelo da dispersão mútua na interface das alíquotas das soluções. Em a, A, R_1 e R_2 = alíquotas da solução da amostra, molibdato de amônio e ácido ascórbico, respectivamente, representando um ciclo de amostragem. Em b, é representado dois ciclos de amostragem efetuados na mesma sequência de a, sendo o volume de cada alíquota metade do volume do caso anterior.

A implementação de um sistema com estas características, requer o emprego de um programa dedicado, desenvolvido considerando-se as características da reação química envolvida e do módulo de análise. O programa para executar este processo, foi escrito em Quick BASIC 4.5, seguindo a lógica de execução mostrada na figura 3. Quando o mesmo é inicializado, o microcomputador solicita os valores correspondentes às variáveis de controle: duração dos acionamentos das válvulas envolvidas no ciclo de inserção; número de repetições do ciclo de inserção; número de replicatas; vazões de bombeamento; e o intervalo de tempo de residência da zona da amostra em cada bobina de reação (B_1 , B_2). Além disso, pergunta se o início da etapa de amostragem, deve ser sincronizado com a pulsação da bomba peristáltica¹⁴. Uma vez fornecidos estes dados, o microcomputador assume o controle do processo analítico, efetuando a sequência de acionamentos das válvulas de acordo com o diagrama de tempo mostrado na figura 1.

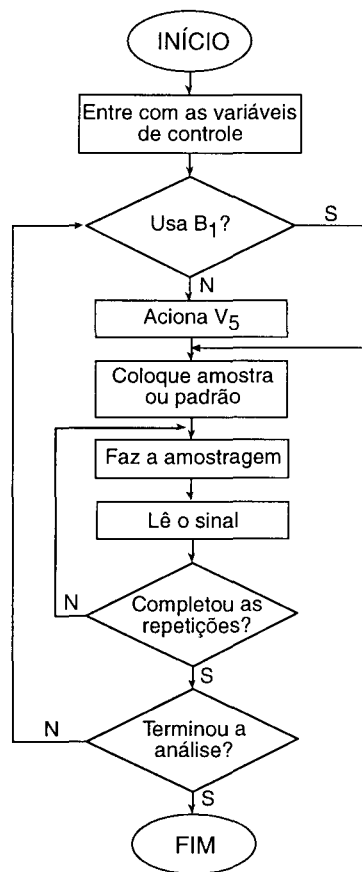


Figura 3. Fluxograma do "software" controle do módulo de análise.

O volume de cada fração das soluções inserido no percurso analítico é proporcional à vazão de bombeamento e ao tempo de acionamento das respectivas válvulas. O número destas frações define o volume da alíquota das soluções da amostra e dos reagentes utilizados em cada ciclo de análise.

Uma vez terminada a etapa de inserção das alíquotas das soluções da amostra e dos reagentes, espera-se um intervalo de tempo pré-determinado para que a zona da amostra esteja contida na bobina B_1 . Em seguida, aciona-se a válvula V_5 , desviando o fluxo carregador (C_d) através da bobina B_2 e, em consequência, a zona da amostra permanece em repouso na bobina B_1 .

Mantendo-se a válvula V_5 ligada e acionando-se, novamente, as válvulas V_1 , V_2 , V_3 e V_4 , obedecendo a sequência anterior, insere-se na bobina B_2 uma zona da amostra e reagentes

semelhante ao descrito para o ciclo de amostragem anterior. Desligando-se estas válvulas e mantendo V_5 acionada, a solução carregadora transporta esta mistura para a cela de fluxo, onde é efetuada a detecção espectrofotométrica. Após o registro do sinal, desliga-se a válvula V_5 , a solução carregadora volta a fluir através da bobina B_1 . A zona da amostra que estava em repouso nesta bobina, é transportada para a cela de fluxo, onde é efetuada a detecção. Nesta etapa, a velocidade de rotação da bomba peristáltica foi aumentada de 2 para 3 mL/min, para diminuir o intervalo de tempo necessário ao deslocamento da zona da amostra para o descarte (D). Em seguida, é restabelecida a vazão inicial (2 mL/min) e as válvulas V_1 , V_2 , V_3 e V_4 são acionadas novamente, iniciando-se outro ciclo de análise.

Empregando esta estratégia, obtêm-se duas leituras da mesma amostra, cuja diferença em magnitude é função do tempo de residência da zona da amostra no percurso analítico estabelecido em cada ciclo de análise. Então, para estudar o efeito do tempo de repouso da zona da amostra no desenvolvimento da reação, o tempo de residência da amostra em B_2 foi mantido em 50 s e variou-se o tempo de residência em B_1 de 50 a 160 s.

Após terminar o número de replicatas estabelecido, o microcomputador pergunta se deseja trocar de amostra, caso afirmativo, aciona as válvulas V_1 e V_2 pelo tempo programado para trocar de amostra, iniciando em seguida novo ciclo analítico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formação do ácido molibdofosfórico e sua redução com ácido ascórbico requer um intervalo de tempo de torno de 140 s para completar a reação^{18,19}. Em sistemas FIA este intervalo de tempo pode ser considerado longo, pois o tempo de residência da amostra no percurso analítico, em geral, é menor que 60 segundos. Entretanto, quando a amostra é muito diluída, é necessário que a reação se complete, então para aumentar o tempo de residência da amostra no percurso analítico, foram propostos as técnicas de parada de fluxo e fluxo intermitente^{20,21}. Muitas vezes, a faixa de concentração das amostras é muito variada, necessitando que algumas sejam analisadas novamente, estabelecendo-se outro tempo de residência no percurso analítico.

O módulo de análise proposto neste trabalho compreende dois percursos analíticos e possibilita que se estabeleça, por software, o intervalo de tempo de residência da amostra em cada um dos percursos analíticos^{20,21}.

A vazão do carregador foi estabelecida em 2 mL/min e as bobinas de reação foram fixadas em 100 cm (0,5 mL), portanto o tempo de trânsito da zona da amostra era 15 s. Em um módulo de análise baseado no processo de amostragem binária, o tempo de trânsito é praticamente igual ao tempo de residência da parte central da zona da amostra, portanto apenas um pequeno percentual da reação se completa até alcançar a cela de fluxo.

No módulo de análise da figura 1, o tempo de residência da amostra pode ser maior do que o tempo de trânsito, acionando-se a válvula V_5 em intervalos de tempo pré-estabelecidos. Testes preliminares indicaram que um tempo de residência de 50 s, possibilitava que aproximadamente 50% da reação se completasse, sendo suficiente para trabalhar com amostras na faixa de 1 a 10 mg/L de fosfato. Este intervalo de tempo foi mantido constante para o percurso analítico definido pela bobina de reação B_2 (Fig.1). No caso do percurso analítico compreendido pela bobina B_2 , o fluxo era mantido durante 50 s para garantir que toda zona da amostra fosse descartada, antes que se iniciasse o deslocamento da amostra retida em B_1 . Nestas condições, o sinal analítico correspondia aproximadamente a 50% do valor obtido quando a reação se completava. Manteve-se fixo este valor para a bobina B_2 e variou-se os tempos de residência em B_1 de 50 até 160 s e os resultados são mostrados na figura 4.

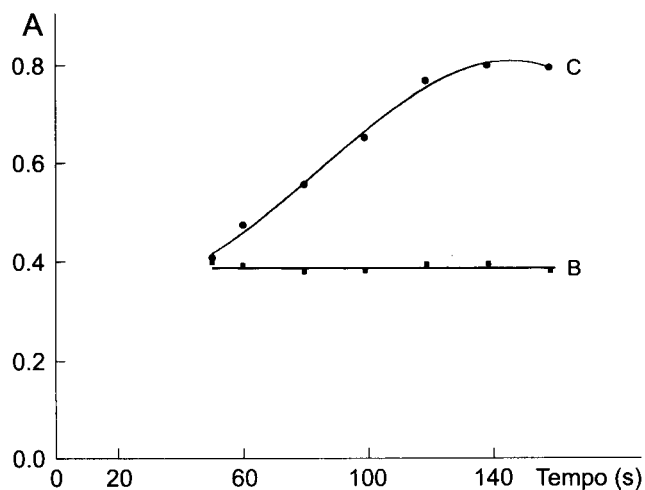


Figura 4. Efeito do tempo de residência da amostra na magnitude do sinal. A= absorvância. Curva B obtida com a bobina de reação B₂ (Fig.1) com tempo de residência de 50 s. Curva C obtida com a bobina de reação B₁ variando-se o tempo de residência. Vazão = 33,3 µL/s; tempos de amostragem = 0,4 s para as soluções da amostra e do molibdato de amônio; e 0,2 s para a solução de ácido ascórbico. Foi usada uma solução 10 mg/L do ortofosfato.

Analisando-se esta figura, observa-se que no intervalo de 50 a 140 s, obteve-se uma resposta praticamente linear em função do tempo, sendo que a magnitude do sinal analítico teve um aumento em torno de 100%. Portanto, pode-se aproveitar este recurso para ajustar a magnitude do sinal à faixa operacional do instrumento em função da concentração das amostras.

Nos sistemas FIA usuais, em geral, o reagente é adicionado à zona da amostra por confluência, enquanto no sistema proposto as alíquotas de amostra e do reagente são inseridas sequencialmente, portanto as condições de mistura são completamente distintas. As bobinas de reação B₁ e B₂ tinham diâmetro interno de 0,8 mm, assim cada microlitro de solução ocupava um espaço de 2 mm. Portanto, o volume das alíquotas da amostra e dos reagentes pode ter um efeito marcante sobre a homogeneização da mistura, afetando as condições de reação e a estabilidade do sinal analítico. O melhor resultado foi encontrado com tempos de amostragem de 0,5; 0,5; 0,2 s para amostra e para os reagentes R₁ e R₂, respectivamente. A vazão de bombeamento foi fixada em 33,3 µL/s, então, em cada ciclo de acionamento das válvulas V₁, V₂, V₃, e V₄, alíquotas de soluções com volumes de 16,7 µL da amostra e do reagente R₁ e de 6,7 µL do reagente R₂, eram inseridos no percurso analítico (B₁ ou B₂).

Para amostras tendo concentrações na faixa de 0,1 a 1,0 mg/L, o intervalo de tempo de residência no percurso analítico foi estabelecido em 120 s e foram programados 12 ciclos consecutivos de amostragem. Assim, o volume da zona de amostra foi de 481 µL, preenchendo praticamente toda a bobina de reação (500 µL). Com este recurso, a perda de sinal causada pela dispersão da amostra no carregador foi minimizada. Para a faixa de concentração de 1 a 10 mg/L, diminuiu-se pela metade o volume da zona da amostra (240 µL), programando-se 6 ciclos de amostragem, sendo que o respectivo tempo de residência foi mantido em 50 s na bobina B₂.

No presente trabalho, para amostras na faixa de concentrações de 0,1 a 1,0 mg/L, a zona da amostra compreendia um volume de 480 µL (200 µl de amostra, 200 µL de molibdato de amônio e 80 µL de ácido ascórbico) e era inserida no percurso analítico em um intervalo de tempo de 14,4 s. Assim, a reação química no interior da primeira alíquota de amostra inserida no percurso analítico, estava se desenvolvendo há 14 s, quando a etapa de amostragem era encerrada. Em um sistema

FIA usual, somente após a injeção, o reagente é adicionado à amostra. Considerando-se o intervalo de tempo para encher a alça de amostragem, então se a amostra tivesse um tempo de residência de 120 s, o período de análise seria superior a 130 s. Deve-se considerar que a alça de amostragem precisa ser lavada com a solução da amostra e, que para alcançar alta sensibilidade, o comprimento deve ser igual ou maior que o do percurso analítico.

Uma vez definidos os parâmetros de operação das duas faixas de concentrações, foi determinado o íon ortofosfato em um conjunto de amostras de águas do rio Piracicaba e de seu afluente, o rio Piracicamirim. Os resultados são mostrados na tabela 1. A exatidão foi averiguada empregando o método FIA usual²², e aplicando-se o teste-t pareado, não se verificou diferença significativa ao nível de 95% de confiabilidade. Também, foram conseguidas outras características analíticas importantes tais como: velocidade analítica de 60 determinações por hora; consumo de reagentes por determinação, 200 µL de molibdato de amônio e 80 µL ácido ascórbico; e desvio padrão relativo de 2,0% (n=12). Para amostras na faixa de concentração de 1 a 10 mg/L, o consumo destes reagentes diminuem pela metade.

Tabela 1. Determinação de ortofosfato em amostras de água.

| Amostra | Sistema proposto (mg PO ₄ ³⁻ /L) | FIA usual* (mg PO ₄ ³⁻ /L) |
|---------|--|--|
| 01 | 0,21 ± 0,03 | 0,24±0,02 |
| 02 | 0,07 ± 0,01 | 0,08±0,01 |
| 03 | 0,11 ± 0,04 | 0,08±0,03 |
| 04 | 0,80 ± 0,05 | 0,81±0,04 |
| 05 | 0,51 ± 0,09 | 0,42±0,07 |
| 06 | 1,65 ± 0,16 | 1,77±0,09 |
| 07 | 1,34 ± 0,03 | 1,29±0,02 |
| 08 | 2,61 ± 0,06 | 2,58±0,04 |
| 09 | 3,57 ± 0,38 | 3,16±0,09 |
| 10 | 4,17 ± 0,13 | 4,28±0,10 |

* Ref. 22.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP, à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro recebido.

REFERÊNCIAS

- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*, 2nd Ed., John Wiley e Sons, New York, 1988.
- Ruzicka, J.; *Analyst* **1994**, 119, 1925.
- Kuban, V.; *Critical Reviews in Anal. Chem.* **1992**, 23, 15.
- Karlber, B.; Thelander, S.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 98, 1.
- Bergamin, H. F^o; Reis, B. F.; Jacintho, A. O.; Zagatto, E.A.G.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, 117, 81.
- Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Bergamin, H. F^o; Krug, F. J.; *Anal. Chim. Acta* **1979**, 109, 45.
- Reis, B. F.; Jacintho, A. O.; Mortatti J.; Krug, F. J.; Zagatto E. A. G.; Bergamin, H. F^o; Pessenda, L. C. R.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, 123, 221.
- Saki, T.; Ohno N.; *J. Flow Anal.* **1993**, 10, 2.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1975**, 78, 145.
- Ruzicka, J.; Stewart, W. B.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1976**, 81, 387.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Mosback, E. A.; Krug, F. J.; *Anal. Chem.* **1977**, 49, 1958.
- Muraki, H.; Higuchi, K.; Sasaki, M.; Korenagi, T.; Tōei, K.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, 261, 345.

13. Reis, B. F.; Bergamin, H. F^o; *Quim. Nova* **1993**, *16*, 570.
14. Reis, B. F.; Giné, M. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Lapa, R. A. *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 129.
15. Martelli, P. B.; Reis B. F.; Kronka, A. M., Korn, M.; Bergamin H. F^o, Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Araujo, A.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 397.
16. Krug, F. J.; Reis B. F.; Giné, M. F.; Zagatto, E. A. G.; Ferreira, J. R.; Jacintho, A. O.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, *151*, 39.
17. Reis, B. F.; Giné M. F.; Kronka, E. A. M.; *Quim. Nova* **1989**, *12*, 82.
18. Drummond, L.; Maher, W.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *302*, 69.
19. Murphy, J.; Riley, J. P.; *Anal. Chim. Acta* **1962**, *27*, 26.
20. Christian, G. D.; Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 11.
21. Schweizer, B.; Muller, H.; Bohme, W.; *Fres. J. Anal. Chem.* **1992**, *343*, 183.
22. Jacintho, A. O.; Kronka, E. A. M.; Zagatto, E. A. G.; Arruda, M. A. Z.; Ferreira, J. R.; *J. Flow Injection Anal.* **1989**, *6*, 1.