

Ileana Facchin\* e Celio Pasquini

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas - CP 6154 - 13083-970 - Campinas - SP

Recebido em 25/2/97; aceito em 7/4/97

**LIQUID-LIQUID EXTRACTION IN FLOW SYSTEMS.** This review deals with principles of the liquid-liquid extraction, when performed in flow systems. This approach is frequently used for sample treatment to improve the selectivity and/or sensitivity in analytical measurements. The advances in this area are reported, including the use of monosegmented flow systems to perform metal extraction through both two-phase and single phase processes.

**Keywords:** liquid-liquid extraction; flow analysis; separation and preconcentration.

## 1. TÉCNICAS DE SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO

Na atualidade, embora se disponha de uma série de técnicas analíticas que propiciem cada vez mais a obtenção de melhor seletividade e sensibilidade, a realização de algumas operações preliminares à quantificação das espécies de interesse nas diferentes matrizes, como separação e concentração, ainda se constitui na etapa limitante das determinações. Dentro deste contexto, os sistemas de Análise em Fluxo<sup>1</sup> (AF) têm, a cada dia, ganho interesse em vista, principalmente, da sua versatilidade. Eles são capazes de substituir com vantagens os processos manuais de separação, reduzindo custos, tempo de análise e manipulação de amostras, levando a um menor risco de contaminação e perdas<sup>2-14</sup>. Além disto, o uso de menor quantidade de solventes orgânicos no laboratório se torna cada vez mais uma necessidade em vista da rigidez atual das leis de proteção ambiental.

Desde a sua introdução, as diferentes técnicas de pré-tratamento evoluíram bastante, quer em termos de configurações disponíveis ou aplicações. Contudo ainda pode ser verificado um emprego restrito das técnicas de precipitação contínua/filtração por razões diversas, as quais poderiam talvez estar associadas à forte tendência do precipitado adsorver nas paredes das vias de transmissão e na cela de detecção e à necessidade periódica de se limpar todo o sistema ou mesmo devido à falta de domínio sobre a formação de precipitados em fluxo<sup>4</sup>. A aplicabilidade destas técnicas à separação e à concentração já foi demonstrada para diversas classes de analitos, através de determinações diretas ou indiretas, com dissolução do precipitado ou não. Em termos de detecção, a espectrometria de absorção atômica tem sido citada com maior frequência, havendo ainda notificação do uso de outros detectores, como os de espectrofotometria UV-visível e eletrodos íon-seletivos<sup>3-4, 15-17</sup>.

Por outro lado, as técnicas de sorção (adsorção, troca iônica e extração líquido-sólido) têm ganho interesse dentre os procedimentos de pré-tratamento por AF nos últimos anos<sup>3, 5, 18-27</sup>. O seu destaque deve-se provavelmente à facilidade de operação em relação às demais técnicas e à robustez dos equipamentos. Além disso, é bastante versátil, sob o aspecto da variedade de materiais sorventes para a construção das mini-colunas, agentes complexantes e eluentes. Outro fator ponderante na sua escolha é a capacidade de obter prontamente a concentração das espécies de interesse, em oposição aos métodos manuais. No caso de Análise por Injeção em Fluxo (FIA, do inglês "Flow Injection Analysis"), em geral, um volume adequado de amostra é introduzido num fluido transportador e as espécies de interesse são retidas nas colunas, preenchidas por resinas de troca iônica ou agentes complexantes ligados a um suporte sólido. O restante da matriz é eliminado junto com o fluido transportador, ao ser

propelido para fora do sistema de fluxo. Finalmente, os analitos podem ser eluídos com um volume bastante reduzido de outra solução, para serem detectados em seguida.

As técnicas eletroquímicas também podem ser usadas nestas etapas preliminares de tratamento da amostra. Recentemente, Abollino e colaboradores<sup>28</sup> demonstraram a eficiência destas técnicas na determinação de metais em águas marinhas. Neste trabalho compararam os resultados obtidos por voltametria de redissolução catódica adsorptiva (ACSV- "adsorptive cathodic-stripping voltammetry") na determinação de Cd, Cu, Fe, Ni e Zn com aqueles oriundos da concentração em linha usando coluna contendo sílica-C<sub>18</sub> e detecção por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. O uso de ACSV baseou-se na complexação do íon metálico com o ligante, seguido pela adsorção do complexo em eletrodo de Hg de gota pendente e consequente varredura de potencial na direção catódica, usando o modo de onda quadrada. Os resultados obtidos com as duas técnicas foram altamente concordantes entre si, confirmando a adequação de ambas para a análise de águas marinhas.

Outro grupo de técnicas de separação encontrado em AF é aquele fundamentado no emprego de membranas, o que inclui principalmente diálise, difusão de gás e alguns casos de extração por solventes<sup>29-42</sup>. A amostra, após ser introduzida no sistema de fluxo, é transportada até a membrana por intermédio de um fluido doador, que não reage necessariamente com os analitos. Estes últimos atravessam seletivamente a membrana, sendo recebidos por um fluido coletor, que em geral contém um reagente, a fim de converter as espécies presentes numa forma química adequada para ser detectada.

Além das técnicas acima mencionadas para o pré-tratamento de amostras por AF, destaca-se a extração líquido-líquido (ELL)<sup>14,43-44</sup>, que constitui uma das mais utilizadas em laboratórios analíticos para fins de separação, sendo sobre este tópico o principal enfoque desta revisão.

Finalmente deve ser considerado que, em algumas circunstâncias, é necessário usar mais de uma etapa de separação ou concentração em função da complexidade das matrizes<sup>6</sup>. Nestes casos, podem ser feitas associações usando a mesma técnica ou não, através de interfaces similares<sup>8, 29,45-47</sup> ou diferentes, como o acoplamento: (i) gás-líquido/líquido-líquido<sup>48-50</sup>, (ii) líquido-sólido/líquido-líquido<sup>51-52</sup> ou (iii) líquido-sólido/gás-líquido<sup>53-54</sup>.

A primeira situação de acoplamento usando interfaces diferentes pode ser exemplificada com um trabalho recente desenvolvido por Cañada-Rudner e colaboradores<sup>49</sup>, no qual foi efetuada a concentração e determinação de Hg em amostras biológicas, através de sistemas de fluxo combinando ELL com geração de vapor de mercúrio e detecção por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-AES). Neste procedimento,

após se efetuarem a digestão e a diluição das amostras por processos manuais, os extratos resultantes foram introduzidos no sistema continuamente, onde sofreram o tamponamento e, então, foram segmentados com isobutilmetilcetona (IBMK) contendo o agente extrator. Em seguida, procedeu-se à separação de fases por meio de membranas e parte da fase orgânica contendo as espécies de interesse foi injetada em outra linha de IBMK/DMF (dimetilformamida) 1:1, onde ocorreu a produção de vapor de Hg, após a reação com SnCl<sub>2</sub>/DMF, adicionado por confluência no último fluido transportador citado. Finalmente, efetuou-se a separação gás-líquido e o vapor de Hg produzido foi submetido à quantificação por ICP-AES.

Um exemplo, representativo de associação do tipo (ii), foi descrito por van Staden e Hattingh<sup>51</sup>, para a determinação de cobre em vitaminas e suplementos alimentares. Nele, a configuração do sistema FIA foi planejada de forma a realizar diálise, seguida por sorção em coluna de troca iônica e detecção por espectrometria de absorção atômica com chama, após eluição em meio ácido. O controle das diferentes funções do sistema de fluxo apresentado foi feito com um microcomputador.

Ballesteros e colaboradores<sup>53</sup>, por sua vez, descreveram um método em fluxo que traz o acoplamento de técnicas envolvendo as interfaces do grupo (iii). Estes autores efetuaram a determinação das vitaminas D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> em preparações farmacêuticas, combinando concentração, derivatização/eliminação de interferentes e determinação das espécies de interesse por cromatografia gasosa.

## 2. EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO EM FLUXO

Independente da ELL ser efetuada por procedimento manual ou pelo uso de qualquer tipo de sistema mecanizado ou automatizado, ela é caracterizada pela transferência de solutos entre duas fases que formam um sistema heterogêneo, tendo como principais objetivos: (i) melhorar a seletividade de uma técnica de detecção, separando o elemento de interesse dos constituintes majoritários de uma matriz ou somente separar os interferentes mais significativos e (ii) elevar a sensibilidade, concentrando o analito ou isolando-o numa fase, onde é observado aumento de sinal analítico. Em geral, efetua-se a transferência dos solutos contidos numa solução aquosa para a fase orgânica mediante o contato intensivo entre as duas fases imiscíveis e a concomitante formação de espécies neutras como, por exemplo, quelatos ou compostos de associação iônica<sup>55-56</sup>.

Na literatura há menções sobre o uso de métodos para se efetuar ELL, com diferentes graus de mecanização, com o intuito de se reduzir a intervenção do operador sobre o sistema. São descritos, por exemplo, os extratores por batelada ("batch liquid-liquid extraction process") que costumam ser controlados por microcomputador e incluem a seguinte sequência de operações: (i) adição de amostra, reagentes e fase orgânica num reator, através de dispositivos especiais como buretas automáticas, (ii) agitação das fases imiscíveis para promover as reações de complexação, (iii) separação de fases por centrifugação, (iv) remoção das mesmas para outro local adequado, conforme necessidade do usuário e (v) limpeza do reator<sup>13,57</sup>.

Apesar da existência de diversas alternativas para automação, os extratores que empregam os princípios da AF são os que têm merecido maior atenção devido à facilidade de implementação, sendo encontrados em variadas configurações.

### 2.1. Aspectos Gerais dos Sistemas de ELL em Fluxo

Usualmente, a extração líquido-líquido em sistemas de fluxo (ELL-AF) é realizada empregando-se os seguintes componentes fundamentais (Figura 1):

(i) o segmentador de solventes, através do qual ocorre a confluência de duas linhas de transmissão, por onde são

propelidas as fases orgânica e aquosa, devendo gerar segmentos regulares e alternados das duas fases imiscíveis;

(ii) a bobina de extração, que recebe o fluxo proveniente do segmentador, constituindo o local onde ocorre a transferência das espécies de interesse de uma fase para outra e

(iii) o separador de fases, localizado após a bobina de extração, que reagrupa os segmentos de cada fase, recuperando as fases imiscíveis em linhas de transmissão distintas para posterior detecção.

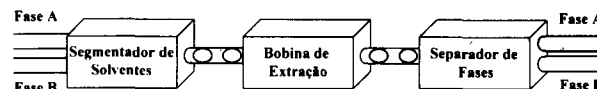


Figura 1. Operações básicas encontradas em ELL-AF.

O projeto e a otimização de cada um destes componentes são de extrema importância para obter baixa dispersão da amostra e, em consequência, elevada sensibilidade nas determinações.

Considerando as afirmações acima, os pesquisadores têm buscado aprimorar os sistemas de extração, através da utilização de configurações variadas e da construção de dispositivos específicos, na tentativa de contornar os problemas inerentes à técnica em fluxo. Apesar das inúmeras modificações apresentadas, as configurações podem ser enquadradas em basicamente três classes<sup>13</sup>, conforme ilustrado na figura 2.

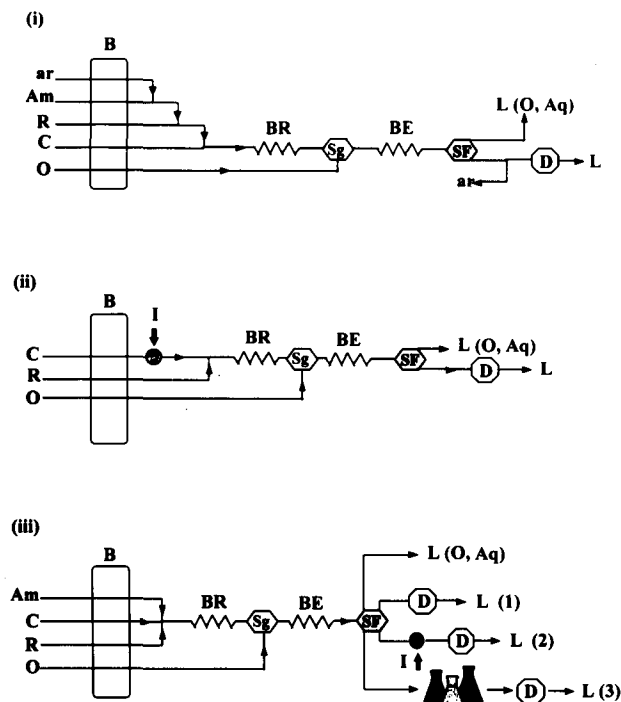


Figura 2. Sistemas de fluxo utilizados para extração líquido-líquido, nos quais a amostra pode ser introduzida (i) segmentada por ar ou [(ii) e (iii)] não. No segundo caso, a distinção deve-se ao uso (ii) injeção da amostra ou (iii) adição contínua. Am, amostra; Aq, fase aquosa; B, bomba peristáltica; BE, bobina de extração; BR, bobina de reação; C, transportador aquoso; R, reagente ou solução-tampão; Sg, segmentador; SF, separador de fases. As possíveis formas de detecção estão indicadas em (iii) por: (1) reamostragem por FIA, (2) descontínua ou (3) direta.

A análise dos esquemas citados permite verificar que eles apresentam em comum (i) uma unidade de propulsão de fluidos,

exemplificada pela bomba peristáltica e pelas vias de transmissão; (ii) um sistema de amostragem, representado pela válvula rotatória ou injetor proporcional ou até mesmo um amostrador automático; (iii) demais componentes típicos da ELL-AF, como segmentador, bobina de extração e separador de fases e (iv) sistema de detecção.

Embora as diferentes alternativas de transporte da amostra até o detector, após a separação de fases, esteja indicada somente para a terceira configuração da figura 2, elas podem se dar indistintamente em qualquer configuração ELL-AF, dependendo, por exemplo, do tipo de detector a ser utilizado. Assim sendo, a detecção pode ser direta<sup>58-60</sup> ("on-line direct delivery") ou descontínua ("off-line collection delivery"), isto é, por coleta dos extratos em recipientes, para posterior medida num detector fisicamente isolado<sup>61</sup>. Outra forma de condução da zona de amostra seria a coleta do extrato numa alça de amostragem, logo após a separação das fases, seguida pela sua introdução em outro fluido transportador, ou seja, reamostragem por sistema FIA ("on-line collection delivery")<sup>62-65</sup>.

No caso específico de amostragem contínua sem segmentação por ar [figura 2 (iii)] e detecção direta, os sistemas costumam ser designados por sistemas extratores completamente contínuos. Vijayalakshmi e colaboradores<sup>60</sup> empregaram um destes analisadores para a determinação de diversos elementos presentes em óxido de urânio, na faixa de 1 a 45  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Neste trabalho, o urânio, presente originalmente em amostra aquosa, foi extraído na fase orgânica para posterior descarte, enquanto a fase aquosa, contendo as espécies de interesse, foi direcionada para o espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado.

Retomando os esquemas apresentados na figura 2, verifica-se que as principais diferenças encontradas entre extrações por CFA ("Continuous Flow Analysis") ou FIA residem na forma de introdução da amostra (aspirada em CFA e injetada em FIA) e na presença de bolhas de ar na primeira<sup>1</sup>. Tendo-se em vista estes princípios de funcionamento dos analisadores, é perfeitamente compreensível os motivos pelos quais os primeiros sistemas descritos, baseados em CFA<sup>66-70</sup> foram perdendo popularidade em relação aos de FIA. Estes últimos, introduzidos em 1978<sup>58-59</sup>, hoje apresentam quase a totalidade dos trabalhos desenvolvidos na área. Em 1991, Kuban<sup>43</sup> revisou o assunto, apresentando cento e sessenta publicações, ocasião em que discutiu os aspectos teóricos, instrumentação e aplicação à determinação de íons metálicos, ânions inorgânicos, agentes tensoativos e drogas, dentre outros.

## 2.2. Aspectos Relevantes da ELL-AF e Implementação

### Introdução da Amostra

Em processos convencionais de ELL-AF, as amostras, em geral, costumam ser introduzidas em volumes discretos compreendidos entre 20  $\mu\text{L}$  e 200  $\mu\text{L}$  ou continuamente num fluido transportador [figura 2 (ii) e (iii), respectivamente], podendo confluir com outras linhas contendo solução-tampão ou reagentes orgânicos. Deve ser reiterado que, desde esta primeira etapa que antecede a segmentação das fases, a dispersão da amostra tem início, de forma similar a qualquer sistema FIA em meio homogêneo. Tal dispersão estende-se ao longo de todo o percurso analítico, o que inclui ainda as seguintes contribuições: do segmentador, da bobina de extração, do separador de fases, do percurso entre o último componente e o detector e, do próprio sistema de detecção<sup>3, 43, 71-74</sup>. Toei<sup>75</sup>, visando à minimização deste efeito, propôs uma configuração para a ELL-AF, na qual a amostra foi injetada após a segmentação das fases. Um aumento da sensibilidade foi observado e os sinais analíticos obtidos neste sistema modificado foram mais simétricos que os correspondentes encontrados no sistema convencional, confirmando que o percurso existente entre o injetor e

o segmentador contribui significativamente para a dispersão total. A precisão também foi melhorada e a faixa linear da curva analítica foi ampliada.

### Segmentação

A segmentação das fases dá-se através de dispositivos especialmente construídos, com a finalidade de melhor controlar a repetibilidade e o tamanho dos segmentos gerados por confluência das fases imiscíveis. Quando estes componentes levam a um padrão de segmentação insatisfatório, pode ser observada uma maior dispersão da amostra, assim como uma diminuição na eficiência da extração e da separação, resultando em dificuldades no processamento dos sinais analíticos e perda considerável de precisão. Por outro lado, se a segmentação for adequada, a etapa de separação das fases imiscíveis poderá ser eliminada, a ponto de ser favorecido, por exemplo, o monitoramento das espécies em uma das fases, via microcomputador, através de leituras intermitentes a intervalos de tempo pré-definidos<sup>76-78</sup>. Portanto torna-se clara a necessidade da escolha criteriosa de um segmentador, baseado nas condições experimentais que o analisador será submetido e nos objetivos de seu uso. Assim sendo, os dispositivos usados em sistemas com baixas vazões totais (representadas pela somatória das vazões das duas fases imiscíveis) e razão volumétrica entre fase aquosa e orgânica ( $F_{\text{aq}}/F_{\text{o}}$ ) próxima à unidade serão diferentes dos exigidos nas configurações onde se pretende concentrar as espécies de interesse em uma das fases ( $F_{\text{aq}}/F_{\text{o}}$  elevados) ou ainda para sistemas que operam sem separação de fases<sup>43, 79</sup>.

Diversos tipos de segmentadores têm sido descritos desde o surgimento da ELL-AF, ocasião em que se empregaram os clássicos separadores em forma de *T*. Estes podem ser confeccionados em vidro, aço inox, polímeros fluorados ou combinação de materiais hidrofílicos e hidrofóbicos<sup>79-80</sup> e costumam ser orientados de forma que a entrada da fase aquosa e a emergência das duas fases segmentadas estejam sobre o eixo principal do analisador. A fase orgânica, por sua vez, é introduzida em direção perpendicular ao eixo mencionado. Uma das modificações propostas para os segmentadores em *T* é ilustrada na figura 3 (i). Nela, a inserção longitudinal de um tubo de politetrafluoretileno (PTFE), na região próxima à saída do fluxo segmentado, permite controlar o tamanho dos segmentos orgânicos formados. Neste tipo de segmentador, o aumento da vazão da fase aquosa leva à formação de segmentos orgânicos proporcionalmente menores. Desta forma, quando a vazão da fase aquosa supera um dado valor limite, os segmentos orgânicos tendem a desaparecer formando um filme contínuo nas paredes do tubo, passando a reagrupar-se desordenadamente mais adiante, dando origem a uma segmentação não repetitiva. Impurezas hidrofóbicas ou irregularidades nas paredes do compartimento de vidro, elevadas vazões totais e agentes tensoativos também podem modificar o padrão dos segmentos gerados.

Outros segmentadores não coaxiais conhecidos são os em forma de *Y*<sup>77</sup> e *W*<sup>65</sup>, que não apresentam diferenças significativas com respeito ao padrão de segmentação dos *T* clássicos<sup>3</sup>. Contudo, os segmentadores de vidro do tipo "A-8 T" modificados (Technicon), os coaxiais e os mecânicos, como as válvulas rotórias de seis vias<sup>43</sup>, têm sido apontados como os que produzem melhor padrão de segmentação [Figura 3 (ii) a (iv)]. Kuban e colaboradores<sup>80</sup> comprovaram que a repetibilidade obtida com os conectores A-8 T é satisfatória (desvio padrão relativo -  $\text{rsd} < 10\%$ ) para vazões de fase aquosa compreendidas entre 0,3 e 10,0  $\text{mL min}^{-1}$  e  $F_{\text{aq}}/F_{\text{o}}$  de aproximadamente 0,3 a 12,5, usando tubos de transmissão com 0,7 mm de diâmetro interno. Contudo, os melhores resultados foram obtidos para  $F_{\text{aq}}/F_{\text{o}}$  na faixa de 1 a 5, com precisão melhor que 3,0%. Estes segmentadores podem ser usados em sistemas de ELL-AF com separadores em forma de *T*, não sendo recomendáveis

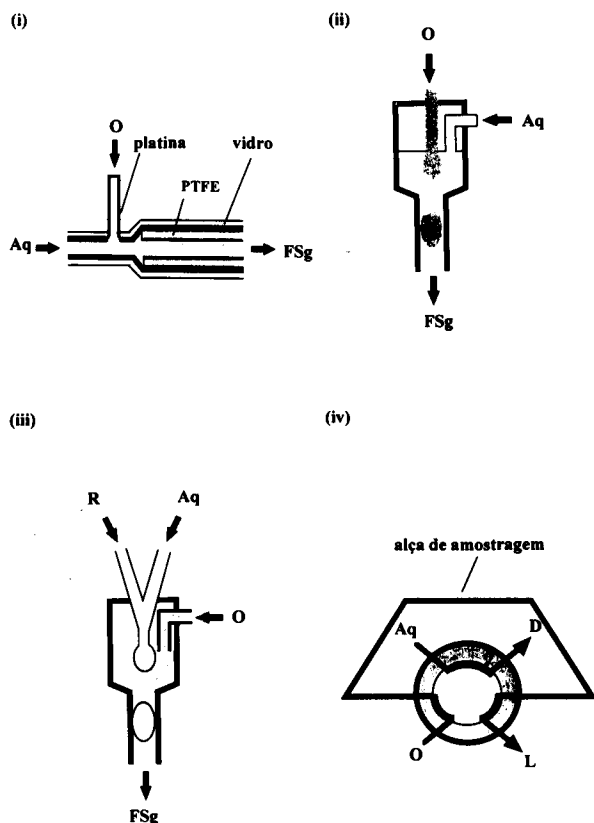


Figura 3. Esquema de segmentadores do tipo: (i) não coaxial; (ii) coaxial de canal simples; coaxial de canal duplo e (iv) válvula rotatória de seis vias. FSg, fases segmentadas. Demais símbolos: vide figura 2.

quando membranas são os separadores escolhidos, devido ao aumento de pressão, que poderia levar a uma segmentação de baixa repetibilidade.

Por sua vez, o uso de segmentadores coaxiais com canais de entrada simples ou não, construídos em vidro e difluoreto de polivinila (PVDF) originam um padrão de repetibilidade elevada ( $\text{rsd} < 2\%$ )<sup>81-83</sup>. Estes segmentadores funcionam relativamente bem para vazões totais de até  $10 \text{ mL min}^{-1}$  e para  $F_{\text{aq}}/F_{\text{O}}$  variando entre 2 e 40 e permitem que o comprimento dos segmentos sejam regulados (entre 2 e 50 mm para a fase orgânica e na faixa de 3 a 300 mm para a fase aquosa), dependendo de ajustes, como a mudança do diâmetro do capilar de entrada e das vazões dos dois solventes imiscíveis. O diâmetro interno da bobina de extração empregada nestes estudos foi também de 0,7 mm.

No caso específico de segmentadores coaxiais com canais duplos, a etapa de homogeneização de amostra e reagentes num fluido transportador antes da segmentação pode ser eliminada, reduzindo a dispersão total do sistema. Isto se deve ao fato destes dispositivos permitirem a introdução simultânea de amostra e de reagente formando os segmentos aquosos, os quais são prontamente intercalados à solução orgânica. Com base nestes dados, este tipo de segmentadores têm sido empregado em ELL-AF, dispensando o uso de bobinas de reação, válvulas amostradoras e separadores de fases, devido à alta repetibilidade. Além disto, pode ser aplicado para o estudo de coeficientes de partição, diluição de amostras e titulações ácido-base<sup>77, 81</sup>, partindo do princípio que cada segmento de fase aquosa forma um sistema independente dos outros segmentos.

Apesar das vantagens oferecidas, alguns cuidados devem ser tomados na escolha do material e da geometria da câmara de confluência dos segmentadores coaxiais, especialmente na porção cônica, para que se tenha o menor volume morto possível

e se evite a aglomeração de impurezas nas paredes, levando ao processo irregular de segmentação.

A elevada repetibilidade obtida com os segmentadores coaxiais torna-os comparáveis aos segmentadores mecânicos, do tipo injetores, acionados por motor ou mecanismo pneumático (Figura 3). Estes últimos levam à introdução de volumes altamente precisos e reprodutíveis de uma fase na corrente, com tamanho de segmento controlado unicamente por um volume pré-determinado da alça de amostragem, sem serem afetados por outros fatores experimentais, como a presença de agentes tensoativos.

Finalmente, outra alternativa usada para se conseguir segmentação uniforme é o bombeamento intermitente das duas fases imiscíveis, através de bombas equipadas com motor de passo e controladas por microcomputador<sup>43, 78</sup>.

## Extração

O mecanismo de transferência das espécies de interesse de uma fase para outra em ELL-AF tem sido exaustivamente estudado<sup>71-73, 84</sup>. Esta etapa processa-se quase que exclusivamente numa bobina de extração, motivo pelo qual ela necessita ser rigorosamente escolhida. A eficiência da extração e a dispersão resultante são influenciadas pelo material usado na confecção destas bobinas e de suas dimensões (diâmetro e comprimento).

No caso do analito encontrar-se originalmente em solução aquosa, é comum a utilização de tubos de PTFE de 0,5 e 1,0 mm de diâmetro interno<sup>3</sup>. Para as situações inversas, nas quais o analito orgânico deve ser extraído num meio aquoso, são usados tubos de vidro ou aço inoxidável<sup>43</sup>. Esta escolha deve-se ao fato de, durante o processo de extração, a parede interna do tubo permanecer recoberta por um filme do solvente pelo qual este tenha maior afinidade, conforme demonstrado por Nord e Karlberg<sup>84</sup>. Este filme é responsável pela transferência das espécies, por difusão, no sentido perpendicular ao eixo principal (extração radial), enquanto a extração axial é comandada pelo menisco entre os segmentos formados pelas duas fases imiscíveis que se acham em posições adjacentes, como exemplificado na figura 4, onde também pode ser observado como ocorre o transporte do analito no interior de cada segmento das duas fases<sup>43-44, 73</sup>.

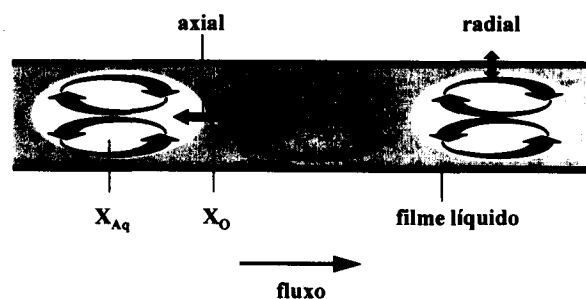


Figura 4. Diagrama esquemático do fenômeno de transporte do analito (X) em ELL-AF, mostrando o padrão de mistura intra-segmento e a transferência desta espécie entre as duas fases.

Em função do mecanismo descrito, tem-se observado que as extrações, particularmente as de cinética lenta, são favorecidas pela presença de segmentos de tamanho reduzido, já que isto implica aumento da área interfacial, representada sob este aspecto, pela extração axial. No entanto, segmentos muito pequenos devem ser evitados, pois podem levar à formação de um filme contínuo sobre a parede interna dos tubos.

Com relação à eficiência do processo de extração e à dispersão existe ainda um comprometimento entre a vazão total e o comprimento da bobina, uma vez que o processo depende da

transferência de massa e, portanto, do tempo de residência do analito no sistema. Com isto, o ajuste das condições experimentais de forma satisfatória pode levar à transferência de analito entre as fases da ordem de 80 a 99%.<sup>3</sup>

A geometria dos tubos e a qualidade de sua parede interna também influem sobre o processo. Na configuração helicoidal, usualmente encontrada, o transporte de massa é incrementado em resposta à força centrífuga introduzida<sup>12</sup>, quando comparado com tubos dispostos linearmente. Outros recursos usados para o aumento de transferência de massa são o uso de banhos termostatizados, onde as bobinas são imersas, ou o uso de ultra-som<sup>43,85</sup>.

A diferença de viscosidade entre dois solventes imiscíveis também pode atuar negativamente sobre o processo de extração. Na presença de um solvente com viscosidade elevada, ocorre redução da homogeneização radial e conseqüentemente do processo global de transferência de massa e, com isto, o analito deve permanecer um tempo maior no sistema para que a sua extração seja efetiva. Por outro lado, o maior tempo de residência é acompanhado de um correspondente alargamento de picos.

### Separação de Fases

A separação completa das fases imiscíveis que, em geral, antecede a detecção dos elementos de interesse é difícil de ser obtida. A sua eficiência varia entre 80 e 100%, dependendo das condições experimentais, que incluem a escolha de um separador adequado. É desejável que este componente apresente algumas características, como: durabilidade, seja inerte a produtos químicos e possua um volume interno pequeno, tal que contribua o mínimo possível para a dispersão total<sup>43, 74</sup>.

O uso correto dos separadores é ainda crítico para a estabilidade da linha de base e para a razão sinal-ruído do sistema de detecção, pois é comum a contaminação da cela do detector com solução aquosa, no início do processo de ELL-AF, no qual a fase orgânica está sendo monitorada.

Estes componentes podem ser agrupados em três classes distintas, de acordo com os mecanismos presentes na separação: (i) aqueles baseados na diferença de densidade entre as duas fases imiscíveis, representados por diferentes câmaras e conhecidos como separadores gravitacionais<sup>58, 69, 86</sup>; (ii) aqueles geralmente na forma de T de vidro, contendo fitas ou discos de material hidrofílico ou hidrofóbico inserido em sua cavidade, para auxiliar o processo de separação (gravidade/afinidade)<sup>59</sup> e (iii) os separadores por membranas<sup>43, 63, 65, 87-103</sup> (Figura 5).

Recentemente, foi proposto o uso de um separador gravitacional<sup>104</sup>, construído em vidro, ao qual se inseriu um tubo de polietileno em sua extremidade inferior para o escoamento das fases duas imiscíveis coletadas. A este tubo foram acopladas duas microválvulas solenóides de três vias, a fim de direcionar o fluxo resultante, contendo ora a fase orgânica com o analito complexado (detector), ora a fase aquosa (descarte). Neste caso, o sistema FIA empregado foi avaliado para a extração de cobre em material vegetal, usando a reação de complexação com o dietilditiocarbamato, o que levou a uma frequência analítica de 30 determinações por hora.

O terceiro grupo, introduzido por Kawase e colaboradores<sup>105</sup> em 1979, têm sido preferido aos demais e pode ser utilizado com uma faixa mais extensa de solventes imiscíveis em água, porque a diferença de densidade entre as fases não é condição limitante do processo. Entretanto, a permeabilidade das membranas pode ser alterada na presença de agentes tensoativos e outras matrizes complexas, não sendo o tipo recomendável nestes casos<sup>3,43,65</sup>. A presença de bolhas de ar também afeta a separação e a repetibilidade dos experimentos, sendo mais crítica, que para os separadores em forma de T.

Este tipo de separação fundamenta-se na afinidade estabelecida entre membranas de natureza hidrofílica ou hidrofóbica e

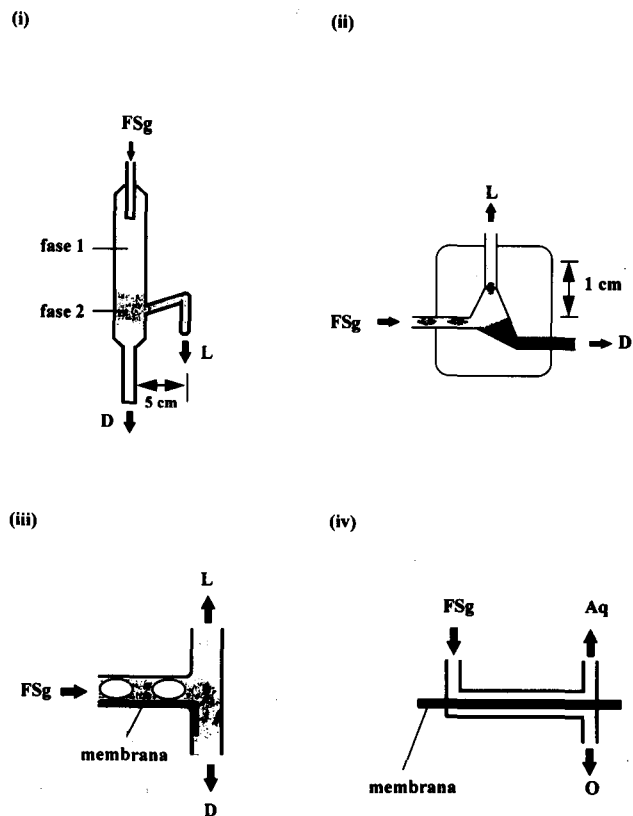


Figura 5. Separadores usados em ELL-AF. Em (i) e (ii), câmaras gravitacionais usadas em CFA e FIA, respectivamente; em (iii), separador por gravidade/afinidade e em (iv) separador de membrana do tipo sanduíche. Símbolos: vide figura 2.

os solventes polares ou apolares, respectivamente. A seleção de qualquer um destes dois tipos é dependente da natureza do solvente a ser coletado. Como é mais trivial a extração de espécies provenientes de meio aquoso para um solvente orgânico, as membranas hidrofóbicas são as que têm maior utilização, em particular, aquelas confeccionadas em PTFE<sup>3</sup>. Estes separadores podem ser encontrados na forma de fitas ou discos presos a um suporte sólido ou não<sup>43</sup>, ou ainda na forma de membranas tubulares<sup>95,103</sup>. O uso de suportes é recomendado como alternativa para aumentar a sua durabilidade. Dados da literatura<sup>43</sup> indicam que membranas simples de Fluoropore com poros de 1,0  $\mu\text{m}$  não resistem a um tempo de uso superior a uma hora, embora se saiba que este tempo de vida útil é dependente não só da natureza da membrana, mas também das condições experimentais a que esta é submetida.

### 2.3. Sistemas de Fluxo Alternativos para ELL

Apesar da variedade disponível de componentes típicos para efetuar ELL-AF, os pesquisadores têm procurado a cada dia novas alternativas para minimizar os problemas inerentes a este método de separação. Inúmeros trabalhos têm sido relatados, nos quais se pode dispensar a separação de fases, efetuando-se a monitoração dos segmentos, através de microcomputadores, com o uso de programas aplicativos que permitem também realizar todo o tratamento de dados.

Lucy e Cantwell<sup>71</sup> propuseram uma configuração deste tipo, na qual a detecção foi feita no próprio tubo de extração ("on tube"), através de um conjunto formado por um diodo emissor de luz (LED) e um fotodetector, devidamente posicionados. Neste trabalho, executou-se um programa capaz de identificar a largura do primeiro segmento de fase orgânica num fluido segmentado, através de transientes rápidos ("spikes") formados na

interface das duas fases imiscíveis. Uma vez definido este parâmetro, foram feitas as leituras para a região central do segmento e calculada a sua absorvância média. Entretanto, como a aquisição de sinais dava-se mediante intervalos de tempo pré-definidos, este procedimento não se prestava para discernir os dados em casos de segmentação irregular. Thommen e colaboradores<sup>78</sup> também usaram este princípio de discriminação de sinais entre os segmentos das fases imiscíveis para a determinação de pesticidas em efluentes. O sistema empregou bombas tipo seringa, controladas por microcomputador, a fim de obter uma segmentação de fases altamente reprodutível. Para a detecção foram empregadas fibras ópticas direcionadas perpendicularmente a um tubo capilar de vidro com um volume monitorado menor que 1 µL. Após a aquisição de sinais a altas frequências (ao menos 20 leituras por segmento), os transientes foram eliminados e os sinais relativos à fase orgânica puderam ser isolados daqueles referentes à fase aquosa. Entretanto, o limite de detecção encontrado para o sistema em questão foi maior do que aquele da ELL-AF com separação convencional de fases (30 mg L<sup>-1</sup> contra < 1 mg L<sup>-1</sup>). Na configuração proposta posteriormente por Liu e Dasgupta<sup>106</sup>, para a determinação de agentes tensoativos aniônicos, foi sugerido o uso simultâneo de dois comprimentos de onda diferentes, dos quais o de absorção não específica, serviria para reconhecer as duas fases imiscíveis, enquanto o outro deveria monitorar a concentração da espécie de interesse. Ortiz-Boyer e colaboradores<sup>76</sup> também usaram o artifício de leitura em vários comprimentos de onda para discriminar as fases em ELL-AF. O fluxo obtido com segmentos curtos das duas fases, após percorrer a bobina de extração, foi conduzido a uma câmara de vidro, onde os segmentos imiscíveis foram agrupados, de maneira a se tornarem longos o suficiente para ocupar toda a cela de detecção de um espectrofotômetro com arranjo de diodos. Foram usados três comprimentos de onda, dos quais dois foram selecionados com o mesmo propósito citado no trabalho anterior, enquanto o terceiro serviu para a correção de flutuações de sinal.

Liu e Dasgupta<sup>107</sup>, por sua vez, usaram como princípio para o discernimento entre as fases aquosa e orgânica, a diferença de condutividade apresentada entre ambas. O sistema FIA desenvolvido por estes autores para a extração de agentes tensoativos aniônicos, baseou-se na leitura simultânea de absorvância e condutância, através do uso de um diodo emissor de luz (650 nm) e de condutometria de pulso bipolar, respectivamente.

Outros recursos utilizados para eliminar a etapa de separação de fases e, em alguns casos, também a segmentação, têm sido apresentados por diversos autores. São descritas, por exemplo, as configurações com mudança repetitiva do sentido de fluxo ("*iterative reversal flow methodology*")<sup>108-110</sup>, nas quais os componentes típicos de ELL-AF inexistem. Nestes casos, um volume definido de uma solução extratora é introduzido na fase que contém as espécies a serem extraídas. Para que efetivamente ocorra a transferência do analito de uma fase para a outra, os fluidos são submetidos à mudança de sentido de escoamento, através de uma bomba peristáltica programável. Também devem ser devidamente controlados o tempo inicial de cada mudança de sentido, o número de ciclos efetuados e a duração de cada um, visto que o enriquecimento da fase de interesse depende destes parâmetros.

Pode-se encontrar ainda uma alternativa interessante que consiste na injeção de um volume adequado de uma solução extratora, num fluido contendo a amostra imiscível, a qual após percorrer um caminho de reação/extração, preenche uma alça de amostragem localizada numa válvula e é injetada noutro fluido transportador, no qual é solúvel, para posterior derivação ou detecção<sup>111-112</sup>.

Por sua vez, há trabalhos<sup>29-36,42</sup> nos quais se emprega permeação em membranas para efetuar a ELL, sem segmentação, nem separação de fases. Em geral, a amostra aquosa e a solução extratora orgânica fluem por vias distintas, separadas

por uma membrana, conforme mencionado anteriormente. A transferência do analito costuma ser efetuada num único sentido, podendo haver concentração, caso o fluido receptor permaneça estagnado ou seja propellido à baixa vazão durante a passagem da amostra.

São encontradas ainda propostas de trabalhos sugerindo novas formas de contornar os inconvenientes comuns em ELL-AF, como o de Agudo e colaboradores<sup>113-114</sup>, onde não há segmentação e, em consequência, nem separação de fases. Estes autores usaram o recurso de trapeamento da solução extratora, através do emprego de uma cela de fluxo, devidamente posicionada para a leitura num espectrofotômetro, na qual um pequeno volume de fase orgânica foi mantido estagnado, enquanto a amostra fluiu através dele. A transferência de massa pode, desta forma, ser continuamente monitorada. Ao término da operação, a fase orgânica com as espécies de interesse foi drenada para fora do sistema através de uma bomba peristáltica auxiliar, dando lugar à introdução de outra porção orgânica para iniciar a próxima determinação. Neste sistema a concentração dá-se por controle do volume de amostra introduzido. Lucy e Yeung<sup>115</sup>, baseados nas diferenças de velocidade existentes no fluxo segmentado, propuseram um sistema que explora as características do filme de fase orgânica formado na parede interna do tubo de extração de PTFE. O trabalho fundamentou-se nos princípios de que filme orgânico é estacionário e, por conseguinte, reduz a velocidade média linear da fase correspondente e que qualquer componente extraído nesta fase requer mais tempo para passar pela bobina de extração que um componente não extraído. Desta forma, foi possível quantificar numa única injeção, tanto espécies extraíveis (o-nitroanilina) como não extraíveis (ácido o-nitrobenzóico), através da utilização de um solvente orgânico de maior viscosidade que a usual e baixa tensão superficial (hexanol). Após as fases segmentadas passarem pela bobina de extração e se completar a separação das espécies, foi adicionado metanol, por confluência, que tornou o meio homogêneo antes de atingir o detector. Os sinais relativos às espécies não extraíveis foram os primeiros a serem observados, conforme esperado, seguido pelas espécies mais retidas, de forma semelhante à eluição num processo cromatográfico. Posteriormente, Lucy e Varkey<sup>116</sup>, empregando este mesmo princípio da diferença de velocidade linear existente entre as duas fases imiscíveis, desenvolveram um sistema de fluxo capaz de efetuar a concentração das espécies de interesse (da ordem de 50 vezes), com uma frequência analítica de 30 amostras por hora.

Conforme pôde ser verificado, a grande maioria dos dados disponíveis na literatura, pertinentes às extrações líquido-líquido por sistemas mecanizados, empregam FIA. Entretanto, o uso da técnica de Análise em Fluxo Monossegmentado (MSFA - "*Monosegmented Flow Analysis*"), proposta inicialmente por Pasquini e de Oliveira<sup>117</sup>, mostrou-se, também, útil para esta finalidade, tendo-se em vista os resultados obtidos, recentemente, na extração de metais a partir de soluções aquosas. Esta técnica caracteriza-se pela introdução de uma alíquota de amostra num fluido transportador, separada por duas bolhas de ar, que constitui um monossegmento. Desta forma, a fácil localização do mesmo, permite prontamente a identificação da amostra e sua reamostragem, caso necessário. Em MSFA é possível trabalhar com longos períodos de residência, mantendo-se baixa a dispersão da amostra. Extrações efetuadas em sistemas de fluxo monossegmentado, a exemplo dos analisadores mais modernos, também dispensam o uso de segmentadores e separadores de fases<sup>118-121</sup>.

### Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo monossegmentado

Com a utilização da MSFA, dois processos de extração puderam ser investigados<sup>118</sup>, isto é, sistemas empregando duas fases imiscíveis ou em fase única.

Para o primeiro caso, mais próximo do sistema convencional, foram desenvolvidas várias configurações, sendo uma delas automatizada, contendo opto-sensores de transmissão, que permitem monitorar a passagem das bolhas de ar (interface gás-líquido). Assim, a mudança de níveis lógicos gerada pela chegada do monossegmento pode ser controlada por um microcomputador padrão IBM-PC 286 AT, através de uma interface de uso geral e de um programa escrito em Quick-Basic 4.5. Este sistema foi avaliado para a extração de Cd(II), empregando 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) solubilizado em clorofórmio. Alguns estudos foram extensivos a Zn(II), Cu(II), Pb(II) e Fe(III). O analisador em questão pode operar de dois modos. No primeiro<sup>118,120</sup>, a amostra monossegmentada é introduzida num tubo de vidro reto (diâmetro interno, 2 mm) contendo o fluido transportador tamponado, seguida por um segmento de fase orgânica (figura 6), devendo ser propelida em direção a um detector localizado no próprio tubo de vidro, a cerca de 45 cm do local de adição da fase orgânica. A outra forma encontrada para se processar a extração<sup>118,121</sup>, permite a concentração do analito e envolve a mudança de sentido do fluxo e a introdução de monossegmentos adicionais de amostra após a fase orgânica, antes que esta atinja o detector, conforme mostrado na figura 7. Foi constatado que o mecanismo de transferência do analito presente em solução aquosa para a fase orgânica, dá-se através da prévia adsorção do analito na superfície da parede interna do tubo de vidro, nas condições alcalinas empregadas, seguido pela dessorção e passagem para a outra fase.

O outro procedimento investigado por MSFA<sup>119</sup>, utilizou o princípio de extração em fase única, proposto por Martins<sup>122</sup>. Nestes processos, a solução aquosa (contendo as espécies de interesse) e a solução extratora, originalmente imiscíveis (ou de baixa miscibilidade) são levadas a um estado de total miscibilidade, através da adição de uma pequena quantidade de um terceiro solvente, denominado consoluto, que é miscível em qualquer proporção com os outros dois. Nesta solução homogênea, denominada solução-FU ocorrem as reações de complexação. A esta etapa, segue-se a adição de um volume pré-estabelecido de uma solução de separação (em geral, água ou solução aquosa) para romper o equilíbrio das soluções-FU, permitindo a separação das fases e a consequente extração. Diversos sistemas ternários foram investigados por processo manual<sup>123-136</sup>, como, por exemplo, água:etanol:clorofórmio, água:acetona:benzeno, água:etanol:metilisobutil-cetona (IBMK), sendo o último o melhor caracterizado e escolhido para a avaliação do sistema de fluxo monossegmentado. A eficiência da extração de Fe(III) por MSFA<sup>119</sup>, usando como complexante

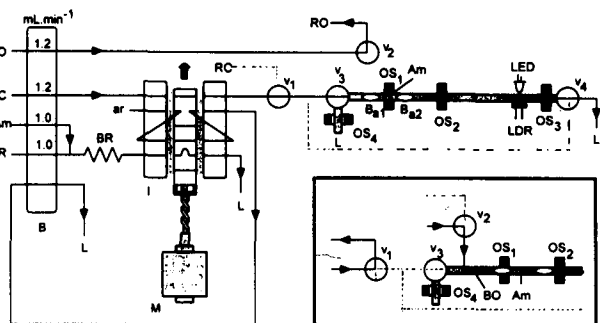


Figura 6. Analisador para ejetar extração líquido-líquido através de MSFA.  $B_{a1}$  e  $B_{a2}$ , bolhas de ar; BO, segmento orgânico; I, válvula amostradora; LED, diodo emissor de luz (560 nm); LDR, resistor dependente de luz; M, motor de passo;  $OS_1$ ,  $OS_2$ ,  $OS_3$  e  $OS_4$ , opto-sensores; R, solução-tampão; RC e RO, indicam, respectivamente, as vias de retorno do fluido transportador e da fase orgânica para os reservatórios de origem e  $v_1$ ,  $v_2$ ,  $v_3$  e  $v_4$ , microválvulas solenóides de três vias. O tubo de reação/extração de vidro é mostrado entre  $v_3$  e  $v_4$ . Demais símbolos: vide figura 2.

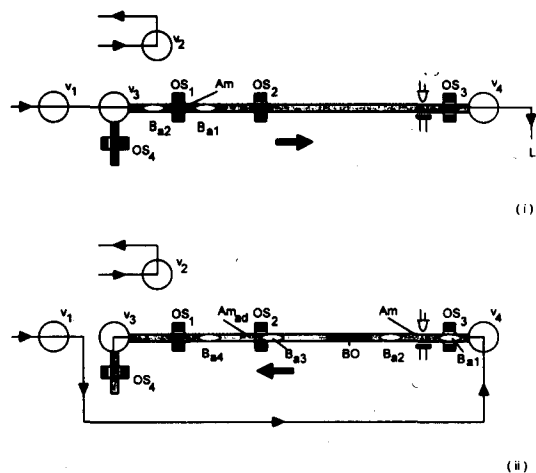


Figura 7. Detalhe do analisador de fluxo monossegmentado mostrando o arranjo de fases usado para obter concentração do analito. Em (i), com o primeiro monossegmento de amostra e em (ii), sistema com o sentido do fluxo invertido, para a extração do analito proveniente do segmento adicional de amostra ( $Am_{ad}$ ), onde  $B_{a3}$  e  $B_{a4}$ , representam as bolhas de ar. Demais símbolos: vide figura 2.

tenoiltrifluoracetona solubilizado em IBMK, foi similar à do método manual e a frequência de amostragem foi de 60-80  $h^{-1}$  usando a configuração de sistema apresentada na figura 8. A solução-FU formada pela confluência das linhas contendo amostra e os outros dois solventes é bombeada para uma alça de amostragem e introduzida no fluido transportador como um monossegmento, passando por uma bobina de reação. Antes de alcançar o detector (fotômetro), uma solução de separação é adicionada ao monossegmento, com auxílio de uma microválvula solenóide de três vias e de um temporizador. O posicionamento e a configuração do tubo de reação/extração, confeccionado em polietileno (diâmetro interno de aproximadamente 2 mm), é imprescindível para que ocorra a separação das fases a serem detectadas, baseado na diferença de densidade das mesmas. No caso de se empregar outro solvente com densidade superior à da fase contendo água e o consoluto (como para o clorofórmio), o detector deveria ser colocado na parte

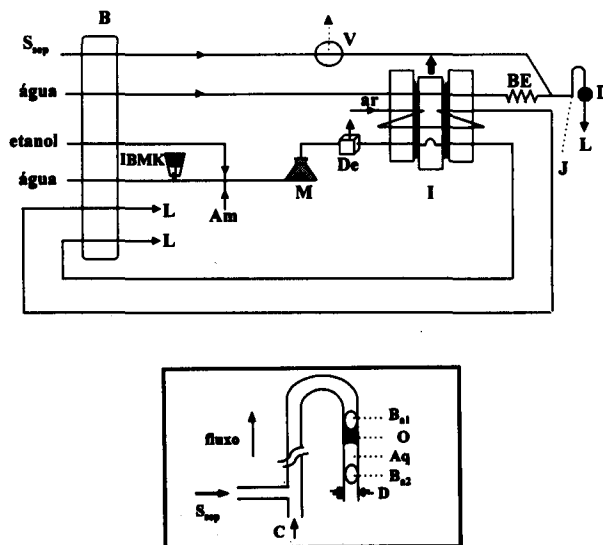


Figura 8. Analisador para extração FU por sistema de fluxo monossegmentado.  $B_{a1}$  e  $B_{a2}$ , bolhas de ar; De, desburbulhador de vidro; J, conector de vidro; M, câmara de mistura e  $S_{sep}$ , solução de separação ( $NaNO_3$ ). IBMK bombeado por deslocamento. Demais símbolos: vide figura 2.

ascendente do tubo em forma de U invertido ou na descendente de um tubo U normal, visto que o solvente orgânico tenderia a ocupar a posição inferior do monossegmento.

Cabe ainda reiterar que, inúmeras vezes, em determinações que empregam sistemas de extração em fluxo, o bombeamento de solventes orgânicos costuma ser efetuado por deslocamento, conforme indicado na figura 8, quando se efetuou a propulsão de IBMK por deslocamento com água (de pouca miscibilidade no referido solvente). Este procedimento leva a uma redução total de custos, já que permite o uso de tubos convencionais (Tygon®, por exemplo) Em geral, o bombeamento de solventes orgânicos requer tubos especiais, como Viton® e Solvaflex® de vida útil curta e de custo mais elevado.

### 3. CONCLUSÕES

Com a crescente necessidade de serem feitas análises mais rápidas e mais complexas para uma ampla variedade de amostras, o desenvolvimento de sistemas de fluxo, particularmente, FIA têm sido estimulados como métodos de pré-tratamento e concentração. Dentro deste contexto, apesar da metodologia analítica ter despertado maior atenção, nos últimos tempos, para os procedimentos que envolvem uso de mini-colunas contendo materiais sólidos, a extração líquido-líquido ainda ocupa um lugar relevante. Inúmeras são as aplicações deste método de separação, sendo extensivas aos mais diferentes tipos de analitos, como metais, ânions inorgânicos volumosos, agentes tensoativos, drogas e outras substâncias orgânicas<sup>43</sup>. Em geral, os métodos de E.L. automatizados ou mecanizados, descritos na literatura, são adaptações dos procedimentos manuais. Finalmente, deve ser reiterado que existe uma preocupação atual em construir analisadores cada vez mais simplificados, que substituam os processos de segmentação e separação das fases, sem comprometer os aspectos de sensibilidade e seletividade.

### REFERÊNCIAS

- van der Linden, W. E.; *Pure Appl. Chem.* **1994**, *66*, 2493.
- Luque de Castro, M. D.; Tena, M. T.; *Talanta* **1995**, *42*, 151.
- Fang, Z.; *Flow Injection Separation and Preconcentration*; VCH: Weinheim, Germany, 1993, pp. 85-128.
- Kuban, V.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1993**, *346*, 873.
- Carbonell, V.; Salvador, A.; de la Guardia, M.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1992**, *342*, 529.
- Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 425.
- Welz, B.; *Microchem. J.* **1992**, *45*, 163.
- Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *J. Chromatogr.* **1992**, *600*, 183.
- Kuban, V.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1992**, *23*, 15.
- Clark, G. D.; Whitman, D. A.; Christian, G. D.; Ruzicka, J.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1990**, *21*, 357.
- Karlberg, B.; Pacey, G. E.; *Flow-Injection Analysis. A Practical Guide. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*; vol. 10; Elsevier: Amsterdam, 1989.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow-Injection Analysis*; 2<sup>nd</sup> ed., John Wiley: New York, 1988.
- Valcárcel, M.; Luque de Castro, M. D.; *Automatic Methods of Analysis. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*; Elsevier: Amsterdam, vol. 9, 1988.
- Ruzicka, J.; *Analyst* **1994**, *119*, 1925.
- Zhuang, Z. X.; Wang, X. R.; Yang, P. Y.; Yang, C. L.; Huang, B. L.; *Can. J. Appl. Spectrosc.* **1994**, *39*, 101.
- Pei, S.; Fang, Z. L.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *294*, 185.
- Welz, B.; Sperling, M.; *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 2465.
- Blain, S.; Treguer, P.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 425.
- Lin, S. L.; Zheng, Q. X.; Zhu, H. J.; Yin, G. Z.; *Fenxi-Huaxue* **1995**, *23*, 835; *Anal. Abstr.* **1995**, *57*, 12D174.
- Elsholz, O.; Schulze, G.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *353*, 119.
- Semenova, N. V.; Morosanova, E. I.; Pletnev, I. V.; Maksimova, I. M.; Zolotov, Yu. A.; *Mikrochem. Acta* **1995**, *119*, 81.
- Zolotov, Yu. A.; Maksimova, I. M.; Morosanova, E. I.; Velikorodny, A. A.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 378.
- Burguera, J. L.; Burguera, M.; Carrero, P.; Mareano, J.; Rivas, C.; Brunetto, M. R.; *J. Autom. Chem.* **1995**, *17*, 25.
- Petit de Pena, Y.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Talanta* **1995**, *42*, 211.
- Fang, Z. L.; Xu, S. K.; Dong, L. P.; Li, W. Q.; *Talanta* **1994**, *41*, 2165.
- Olsen, S.; Pessenda, L. C. R.; Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Analyst* **1983**, *108*, 905.
- Azeredo, L. C.; Azeredo, M. A. A.; Curtius, J. A.; *Quím. Nova* **1996**, *19*, 383.
- Abollino, O.; Aceto, M.; Sacchero, G.; Sarzanini, C.; Mentasti, E.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *305*, 200.
- Carabias-Martínez, R.; Rodríguez-Gonzalo, E.; Hernández-Fernández, E.; Hernández-Méndez, J.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *304*, 323.
- Moskvin, L. N.; Simon, J.; *Talanta* **1994**, *41*, 1765.
- Moskvin, L. N.; *J. Chromatogr.* **1994**, *669*, 81.
- Barnes, D.E.; van Staden, J. F.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *261*, 441.
- Gonzalo, E.R.; Pavón, J. L. P.; Ruzicka, J.; Christian, G. D.; Olson, D. C.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, *259*, 37.
- Melcher, R. G.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, *214*, 299.
- Andunsson, G.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 2714.
- Sahlestrom, Y.; Karlberg, B.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *179*, 315.
- Cerda, A.; Oms, M. T.; Forteza, R.; Cerda, V.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *311*, 165.
- van Staden, J. F.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *352*, 271.
- Papaefstathiou, I.; Tena, M. T.; Luque de Castro, M. D.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 246.
- Mohns, J.; Kuennecke, W.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *305*, 241.
- Loeffler, P.; Simon, J.; Katruzov, A.; Moskvin, L. N.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *352*, 613.
- Melcher, R. G.; O'Connor, P. J.; Blach, M. W.; *Process Control Qual.* **1994**, *6*, 167.
- Kuban, V.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1991**, *22*, 477.
- Karlberg, B.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1988**, *329*, 660.
- Rossi, T. M.; Shelli, D. C.; Warner, I. M.; *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 2056.
- Halvax, J. J.; Wiese, G.; van Bennekom, W. P.; Bult, A.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *239*, 171.
- Farran, A.; Cortina, J. L.; de Pablo, J.; Barceló, D.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *234*, 119.
- Valcárcel, M.; Ballesteros, E.; Gallego, M.; *Trends Anal. Chem.* **1994**, *13*, 68.
- Cañada-Rudner, P.; Cano-Pavón, J. M.; García-de-Torres, A.; Sánchez-Rojas, F.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *352*, 615.
- Andunsson, G.; *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1340.
- van Staden, J. F.; Hattingh, C. J.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 214.
- Novikov, E. A.; Shpigun, L. K.; Zolotov, Yu. A.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *230*, 157.
- Ballesteros, E.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Chromatographia* **1995**, *40*, 425.
- Pasquini, C.; Faria, L. C.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, *193*, 19.
- Minczewsky, J.; Chwastowski, J.; Dybczywki, R.; *Separation and Preconcentration Methods in Inorganic Trace Analysis*; John Wiley: New York, 1982.
- Zolotov, Yu. A.; Kuz'min, N. M.; Petrukhin, O. M.; Spivakov, B.Y.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *180*, 137.



57. Miyazaki, A.; Tao, H.; Kimura, A.; Bansho, K.; *Anal. Sci.* **1987**, 3, 185.
58. Bergamin F<sup>u</sup>, H.; Medeiros, J. X.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 101, 9.
59. Karlberg, B.; Thelander, S.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 98, 1.
60. Vijayalakshmi, S.; Krishna Prabhu, R.; Mahalingam, T. R.; Mathews, C. K.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1992**, 7, 565.
61. Bengtsson, M.; Johansson, G.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 158, 147.
62. Eisman, M.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1993**, 11, 301.
63. Jimenez-de-Blas, O.; Pereda-de-Paz, J. L.; Hernández-Méndez, J.; *Talanta* **1991**, 38, 857.
64. Montero, R.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 252, 83.
65. del Valle, M.; Alonso, J.; Bartoli, J.; Marti, L.; *Analyst* **1988**, 113, 1677.
66. van Gemert, J. T.; *Talanta* **1973**, 29, 1045.
67. Kanesato, M.; Nakamura, K.; Nakata, O.; Morikawa, Y.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1987**, 64, 434.
68. Dollan, J. W.; van der Wal, S.; Bannister, S. J.; Snyder, L. R.; *Clin. Chem.* **1980**, 26, 871.
69. Carter, J. M.; Nickless, G.; *Analyst* **1970**, 95, 148.
70. Sebborn, W. S.; *Analyst* **1969**, 94, 324.
71. Lucy, C. A.; Cantwell, F. F.; *Anal. Chem.* **1989**, 61, 107.
72. Lucy, C. A.; Cantwell, F. F.; *Anal. Chem.* **1989**, 61, 101.
73. Nord, L.; Backstrom, K.; Danielsson, L. G.; Ingman, F.; Karlberg, B.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, 194, 221.
74. Backstrom, K.; Danielsson, L. G.; Nord, L.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 187, 255.
75. Toei, J.; *Analyst* **1988**, 113, 1861.
76. Hortiz-Boyer, F.; García-Mesa, J. A.; Luque de Castro, M. D.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 2794.
77. Kuban, V.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 248, 493.
78. Thommen, C.; Fromageat, A.; Obergfell, P.; Widmer, H. M.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 234, 141.
79. Kuban, V.; Ingman, F.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1991**, 22, 37.
80. Kuban, V.; Danielsson, L. G.; Ingman, F.; *Talanta* **1990**, 37, 1169.
81. Kuban, V.; Danielsson, L. G.; Ingman, F.; *Talanta* **1992**, 39, 95.
82. Kuban, V.; Ingman, F.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 245, 251.
83. Kuban, V.; Danielsson, L. G.; Ingman, F.; *Anal. Chem.* **1990**, 62, 2026.
84. Nord, L.; Karlberg, B.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 164, 233.
85. Linares, P.; Lazaro, F.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, 200, 51.
86. Lin, S. L.; Hwang, H. P.; *Talanta* **1993**, 40, 1077.
87. Sakai, T.; Ohno, N.; Chung, Y. S.; Nishikawa, H.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 308, 329.
88. Sakai, T.; Chung, Y. S.; Ohno, N.; Motomizu, S.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 276, 127.
89. Burns, D. T.; Barakat, S. A.; El-Shahawi, M. S.; Harriott, M.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1992**, 344, 131.
90. Burns, D. T.; Chimpalle, D.; Leiwongcharoen, K.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, 260, 65.
91. Sakai, T.; Ohno, N.; *Anal. Sci* **1991**, 7, 297.
92. Sakai, T.; *Analyst* **1991**, 116, 187.
93. Sakai, T.; Gao, Y. H.; Ohno, N.; Ura, N.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 255, 135.
94. Szpunar-Lobinska, J.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 251, 275.
95. Curran, D. J.; Marden, S. K.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 247, 67.
96. Manzoori, J. L.; Miyazaki, A.; *Anal. Chem.* **1990**, 62, 2457.
97. Koshima, H.; Onishi, H.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 232, 287.
98. Burns, D. T.; Chimpalle, N.; Harriot, M.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 225, 123.
99. Burns, D. T.; Chimpalle, N.; Harriot, M.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 217, 177.
100. Barakat, S. A.; Burns, D. T.; Harriott, M.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 272, 135.
101. Burns, D. T.; Chimpalle, N.; Harriot, M.; Mc Killen, G. M.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 217, 183.
102. Attallah, R. H.; Christian, G. D.; Harstenstein, S. D.; *Analyst* **1988**, 113, 463.
103. Yamamoto, M.; Obata, Y.; Nitta, Y.; Nakata, F.; Kumamaru, T.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1988**, 3, 441.
104. Blanco, T.; Tese de Mestrado. Instituto de Química de São Carlos; Universidade de São Paulo 1996.
105. Kawase, J.; Nakai, A.; Yamanaka, M.; *Anal. Chem.* **1979**, 51, 1640.
106. Liu, H.; Dasgupta, P. K.; *Anal. Chim. Acta.* **1994**, 288, 237.
107. Liu, H.; Dasgupta, P. K.; *Process Control Qual.* **1995**, 7, 195.
108. Garcia-Mesa, J. A.; Linares, P.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 235, 441.
109. Canete, F.; Rios, A.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 224, 169.
110. Canete, F.; Rios, A.; Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; *Anal. Chem.* **1988**, 60, 2354.
111. Lindgren, C. C.; Dasgupta, P. K.; *Talanta* **1992**, 39, 101.
112. Dasgupta, P. K.; Lei, W.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 226, 255.
113. Agudo, M.; Rios, A.; Valcárcel, M.; *Analyst* **1994**, 119, 2097.
114. Agudo, M.; Rios, A.; Valcárcel, M.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 2941.
115. Lucy, C. A.; Yeung, K. K. C.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 2220.
116. Lucy, C. A.; Varkey, S.; *Anal. Chem.* **1995**, 67, 3036.
117. Pasquini, C.; de Oliveira; *Anal. Chem.* **1985**, 57, 2575.
118. Facchin, I.; Tese de Doutorado. Instituto de Química da UNICAMP 1996.
119. Facchin, I.; Martins, J. W.; Zamora, P. G. P.; Pasquini, C.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, 285, 287.
120. Facchin, I.; Pasquini, C.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 308, 231.
121. Facchin, I.; Pasquini, C.; *J. Autom. Chem.* **1997**, aceito para publicação.
122. Martins, J. W.; Tese de Doutorado. Instituto de Química da UNICAMP 1974.
123. Silva, J. F.; Martins, J. W.; *Talanta* **1992**, 39, 1307.
124. Silva, J.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1978.
125. Silva, J. F.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1978.
126. Manzano, M. F. F. L.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1978.
127. Alba, N. M. R. L.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1980.
128. Seron, L. H.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1981.
129. Eiras, S. P.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1982.
130. Reis, E. L.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1983.
131. Capri Neto, A.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1987.
132. Santos Filha, M. M.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1987.
133. Ponce, L. C.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1990.
134. Zamora, P. P.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1990.
135. Milagres, G. B.; Tese de Mestrado. Instituto de Química da UNICAMP 1990.
136. Zamora, P. P.; Tese de Doutorado. Instituto de Química da UNICAMP 1995.