

**DETECTORES POTENCIOMÉTRICOS PARA SISTEMAS DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO, EVOLUÇÃO E APLICAÇÃO****Cristina M. C. M. Couto e M. Conceição B. S. M. Montenegro\***

CEQUP/ Departamento de Química Física - Faculdade de Farmácia do Porto - Rua Aníbal Cunha, 164 - 4050 Porto - Portugal

Recebido em 5/11/99; aceite em 4/1/00

**POTENTIOMETRIC DETECTORS FOR FLOW INJECTION ANALYSIS SYSTEMS, EVOLUTION AND APPLICATION. The field of flow injection potentiometry (FIP) is reviewed and its current status assessed. The research development and application of electrodes in flow injection systems are presented and discussed.**

**Keywords: electrodes; FIA; applications.**

**INTRODUÇÃO**

A necessidade de obviar os procedimentos analíticos de preparação das amostras, redução dos custos e acréscimo do número de análises a efectuar, justifica um grande interesse no desenvolvimento e aplicação da análise automática nestes últimos 40 anos. Tendo em conta que a maior parte dos processos de separação e conversão química se realizam em fase aquosa, Skeggs<sup>1</sup> deu o primeiro passo no desenvolvimento de uma metodologia baseada em fluxo contínuo segmentado (SFA), em 1957, com monitorização contínua dos parâmetros em fluxo. Durante cerca de duas décadas, recorreu-se ao uso da segmentação, como forma de evitar a dispersão, e consequentemente, mantendo a identidade de cada amostra para promover análises contínuas de amostras.

Foi apenas em 1975 que surgiu o conceito de análise por injeção em fluxo (FIA), no qual, pequenos volumes de amostra, rigorosamente medidos, eram introduzidos de forma intermitente/discreta num fluído transportador, que a arrastava através de um sistema de fluxo não segmentado<sup>2</sup>. No decurso desse transporte, a amostra poderia sofrer uma série de transformações físico-químicas, desde diluição, reacção química, tamponação, extracção, etc, em unidades modulares adequadas, intercaladas em linha.

As determinações em sistemas FIA apresentavam como grandes vantagens, particularmente em relação ao fluxo segmentado, a possibilidade de efectuar as determinações em condições de não equilíbrio físico ou químico e permitiam um processamento de dados mais versátil (facultando a análise da altura, área e largura de pico ou distância entre picos).

Embora a metodologia FIA seja uma das mais recentes técnicas baseadas em fluxo, a sua aplicação compreende já mais de 5000 artigos publicados, abrangendo desde analitos inorgânicos a enzimáticos, desde iões a macromoléculas, desde quantidades vestigiais a altas concentrações, podendo ser utilizada em meios aquosos ou não aquosos<sup>3,4</sup>. O próprio conceito e definição de análise por injeção em fluxo tem evoluído, decorrendo este facto quer das potencialidades que a técnica foi oferecendo ao longo dos tempos, quer da sua grande versatilidade de aplicação.

Muito embora grande parte dos trabalhos realizados nesta área contemplassem, como processo de detecção, a espectrofotometria, Ruzicka<sup>5-7</sup> e Pungor<sup>8-10</sup> exploraram também a possibilidade de aplicar FIA conjuntamente com a detecção potenciométrica, sugerindo o desenvolvimento dos sistemas denominados FIP (Flow Injection Potentiometry).

Os eléctrodos selectivos de ião (ESI) são sensores electroquímicos<sup>11</sup> que funcionam como detectores de superfície, pelo que a natureza do processo electroquímico, que geralmente decorre à superfície do sensor, os torna especialmente atractivos para sistemas de fluxo<sup>12</sup>. A simplicidade da aparelhagem que lhes está associada torna-os particularmente indicados para processos de controlo analítico, como alternativa às normalmente morosas e dispendiosas metodologias convencionais. Adicionalmente, são de fácil construção, as suas medições não são afectadas pela coloração ou turvação das amostras e não são destrutivas da amostra, o que permite a avaliação multiparamétrica.

Por forma a que os resultados experimentais com os sistemas FIP sejam os melhores possíveis, os eléctrodos deverão apresentar certos requisitos, destacando-se, uma rápida velocidade de resposta, reduzido ruído eléctrico, repetibilidade de resposta, compatibilidade com os restantes componentes da montagem FIA e facilidade de adaptação à mesma.

A inserção deste tipo de detectores em sistemas de análise por injeção em fluxo contribui igualmente para uma melhoria das suas características operacionais<sup>13,14</sup>, destacando-se a reprodutibilidade do sinal analítico, a velocidade rápida de resposta e o condicionamento contínuo da membrana sensora. Contribui ainda para minimizar o problema de deslizamento de potenciais, para uma melhoria da selectividade analítica, uma eliminação da contaminação resultante do eléctrodo de referência, pouco ou nenhum pré tratamento da amostra, já que este pode ser feito em linha, obtenção de elevados ritmos de amostragem, facilidade de automatização dos métodos analíticos e diminuição do consumo de reagentes quando comparado com a potenciometria com eléctrodos convencionais<sup>14</sup>.

Pelas vantagens inumeradas compreende-se que a potenciometria, como processo de detecção, tenha sofrido um grande desenvolvimento nas últimas duas décadas, tendo-se estabelecido novos tipos de sensores potenciométricos, novos processos de construção e diferentes tipos de acoplamento aos sistemas de fluxo. Desta forma pretendeu-se dar resposta aos problemas e limitações que foram sendo encontrados e reavivar um novo interesse pela potenciometria como metodologia analítica de eleição<sup>15</sup>.

**TIPOS DE ELÉCTRODOS USADOS EM SISTEMAS DE FLUXO**

Os sistemas FIP têm tido um crescente desenvolvimento e uma grande aplicação como metodologia analítica nestes últimos anos, havendo um forte incremento do número de artigos que lhes são dedicados, particularmente a partir de 1984 (Fig. 1).

e-mail: mcbranco@mail.ff.up.pt

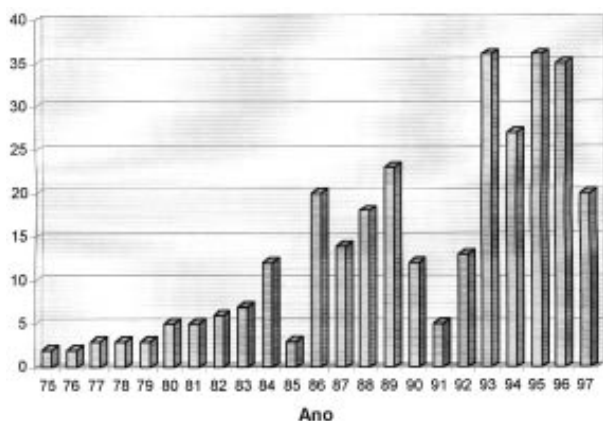


Figura 1. Distribuição de publicações referentes a sistemas FIP nas duas últimas décadas.

A classificação dos eléctrodos em grupos perfeitamente definidos nem sempre é um procedimento fácil, suscitando algumas dúvidas dadas as peculiaridades de que se revestem, quer relativas ao modo como são construídos quer ao mecanismo de funcionamento e composição das suas membranas sensoras. Em 1976, a IUPAC<sup>16</sup> definiu dois grandes grupos para a classificação dos eléctrodos selectivos de ião, um correspondendo aos eléctrodos primários, onde se incluíam os cristalinos e não cristalinos, e fazendo parte de um segundo grupo os eléctrodos selectivos de ião sensibilizados. Posteriormente, em 1994 a IUPAC<sup>11</sup> renovou a sua proposta, passando a englobar os eléctrodos em três categorias. Na primeira integravam-se os eléctrodos selectivos de ião primário, nos quais se incluíam os eléctrodos cristalinos, homogéneos e heterogéneos, e os eléctrodos não cristalinos, de matriz rígida e de condutor móvel. Na segunda encontravam-se os eléctrodos selectivos de compostos ou membrana múltipla, que abrangiam as unidades sensíveis a gases e os eléctrodos de substrato de enzima; por fim, os ESI de contacto metálico ou "all solid state".

Contudo, a contínua evolução deste tipo de detectores é de tal forma rápida, que, em muitos casos, se torna difícil o seu enquadramento em qualquer tipo de classificação, tornando-a muitas vezes limitante ou ambígua.

Visando a sua classificação, procedeu-se a um estudo, cujos resultados são apresentados na Figura 2, onde se representa a distribuição relativa dos diferentes tipos de eléctrodos surgidos na literatura nestes últimos vinte anos e que têm sido usados em sistemas de análise por injeção em fluxo.

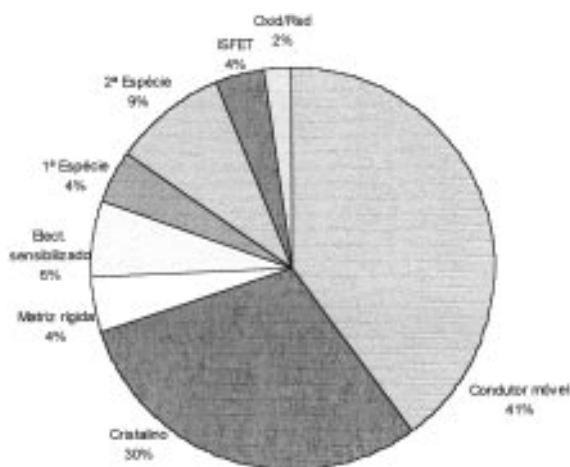


Figura 2. Representação estatística dos diferentes tipos de eléctrodos utilizados em sistemas FIA desde 1975.

A análise do diagrama apresentado (Figura 2) leva a concluir que os eléctrodos selectivos de membrana cristalina, juntamente com os condutor móvel, são os que mais têm sido utilizados em análises automáticas em sistemas de fluxo, representando cerca de 70% dos artigos referidos na literatura, desde 1975. Os eléctrodos redox estão praticamente em desuso em sistemas de fluxo contínuo, representando menos de 2% dos artigos referidos.

Na Tabela 1 resumem-se e agrupam-se os diferentes tipos de detectores referidos na literatura consultada.

Tabela 1. Tipos de detectores potenciométricos utilizados em sistemas FIA.

Tipos de eléctrodos	Referências
<i>Eléctrodos cristalinos</i>	14, 17-112
<i>Eléctrodos de matriz rígida</i>	44, 55, 113-124
<i>Eléctrodos de condutor móvel</i>	7, 56-60, 125-245, 320
<i>Eléctrodos sensibilizados</i>	23, 61, 62, 211, 247-262
<i>ISFET (transístores de efeito de campo)</i>	263-275
<i>Eléctrodos Redox</i>	89, 276 – 281
<i>Eléctrodos de 1ª espécie</i>	220, 282-294
<i>Eléctrodos de 2ª espécie</i>	60, 63-64, 220, 295-319

Desde a sua introdução, em 1965, por Frant e Ross<sup>321</sup> que o  $Ag_2S$  é considerado como composto de eleição na tecnologia convencional de preparação, por prensagem, de membranas de eléctrodos sensíveis a halogenetos e metais pesados. Estes detectores são maioritariamente constituídos por sulfureto de prata, halogenetos de prata ou sulfuretos metálicos, sendo predominantemente sensíveis a halogenetos, sulfureto, prata (I), cobre (II), cádmio (II), chumbo (II), cianeto e mercúrio (II). Apesar das reconhecidas vantagens de utilização deste tipo de sensores<sup>322</sup>, apresentam algumas limitações, nomeadamente a instabilidade provocada pela corrosão em meio fortemente ácido e a forte interferência provocada pelo catião  $Hg(II)$ . Estes problemas motivaram a procura de alternativas tecnológicas relativamente a novos materiais para utilização na preparação de membranas sensoras, surgindo detectores baseados em calcogenídeos<sup>65,95,100,108,109</sup>. O recurso a sais de mercúrio também se mostrou uma alternativa legítima, tendo como vantagem a obtenção de unidades com limites de detecção muito baixos<sup>23,90</sup>. Muitos dos detectores cristalinos são utilizados em sistemas de fluxo para determinação indirecta, envolvendo reacções de complexação ou precipitação, por exemplo na determinação de alumínio<sup>14</sup>, sulfito<sup>23,110</sup>, iões metálicos<sup>34</sup>, sulfato, ortofosfato e trifosfato<sup>35</sup>, cloreto<sup>41,111</sup>, cianeto<sup>42</sup>, fosfato<sup>52</sup>, tiourea<sup>68</sup>, ácido acético<sup>70</sup>, sulfato<sup>91,109</sup>, tióis<sup>94</sup> e cisteína<sup>98</sup>. Das principais vantagens que lhe estão associados, destacam-se a durabilidade, facilidade de construção e características de selectividade notórias. Têm no entanto, como inconveniente, o facto de a sua construção estar limitada pelo número de compostos com características de solubilidade, condutividade e grau de compressibilidade adequados para a preparação deste tipo de membranas.

Pelo contrário, a existência de um grande número de sistemas permutadores, que possibilitam a construção de eléctrodos sensíveis a praticamente qualquer espécie iónica, explica um uso tão generalizado de detectores com membrana baseada em condutor móvel. Além disso, a generalização do seu uso (Tabela 1 e Fig. 2) deve-se ao facto de estas unidades recorrerem a um processo de construção muito simples e económico, podendo ser implementado em qualquer laboratório químico. Estes detectores apresentam como principais vantagens, a sensibilidade a inúmeros analitos, a facilidade de construção e o facto de o corpo do eléctrodo ser facilmente reciclável, tornan-

do-se um processo de construção versátil e económico. Apesar da grande diversidade de sistemas sensores possíveis, os detectores com membrana baseada em condutor móvel, sensíveis a espécies inorgânicas continuam a ser preponderantes. Existe um grande número de referências bibliográficas que descrevem a utilização de eléctrodos sensíveis a  $\text{Ca}^{2+}$ <sup>56,57,125,127,128,134,141,151,152,169,170,177,182,196-198,225,230</sup>, a  $\text{NH}_4^+$ <sup>129,130,152,157,171,175,177,203,208,211,212,215,217,227,231,240,241</sup> e a nitrato, utilizados quer na determinação de nitratos<sup>7,126,128,135,137,139,152,154,175,191,196,221,224,242</sup> quer de nitritos<sup>139,154</sup>. Particularmente a partir de 1986 surgem descritos inúmeros eléctrodos sensíveis aos mais diversos compostos orgânicos, caso do salicilato<sup>140</sup>, benzoato<sup>158</sup>, 5,5-dietilbarbiturato<sup>161</sup>, tripelenamina<sup>190</sup>, picrato<sup>193</sup>, prometazina<sup>243</sup>, vitaminas<sup>165</sup> e alcalóides<sup>176,184,192</sup>.

Apesar de tudo, algumas dificuldades têm sido encontradas quando da utilização deste tipo de unidades, nomeadamente no que respeita à robustez da membrana e sua selectividade, tendo por isso sido propostas algumas alternativas no sentido de as poder superar. Foi proposto o recurso à fotopolimerização de membranas baseadas em acrilatos<sup>150,225,230,235,239</sup>, originando unidades denominadas "photo-cured electrodes". Este sistema de construção origina membranas sensoras mecanicamente mais fortes e robustas, mais hidrofóbicas, e conseqüentemente com menores problemas de adesão ao contacto sólido<sup>225</sup> do que os encontrados com a maioria das membranas de PVC. Para além disso, também a utilização de diferentes composições da membrana sensora e o estudo de diversas proporções relativas dos seus constituintes<sup>143,159,173,185,190,199,210,241,243,245</sup>, permitiram a obtenção de unidades com melhores características operacionais, nomeadamente no que diz respeito à selectividade analítica, limite de detecção e tempo de vida.

Os eléctrodos de 2ª espécie foram igualmente muito utilizados, particularmente até 1993 (Fig. 2), dada a facilidade da sua construção e obtenção, sendo na sua maioria unidades aplicadas à determinação de halogenetos. A sua utilização tem, contudo, vindo a decrescer desde então, passando de 16%, referidos em 1993<sup>15</sup>, para 9% do total de trabalhos estudados. Esta diminuição surge como consequência do aparecimento de ESI's de boa qualidade e com muito maior selectividade analítica.

Os eléctrodos sensibilizados, com uma percentagem de utilização de cerca de 6% (Fig. 2), poderão incluir eléctrodos sensíveis a gases e sensíveis a substratos enzimáticos. Este tipo de unidades, englobadas num grupo de certa forma heterogéneo, é o que mais modificações tem sofrido nestes últimos anos, com um aumento de 4% relativamente aos dados apresentados em 1993<sup>15</sup>, e conseqüentemente, onde a aplicação de qualquer tipo de classificação de eléctrodos se torna mais ambígua. Verifica-se que, em química analítica, tem havido um interesse crescente na utilização das propriedades catalíticas das enzimas em áreas de análises de âmbito industrial, médico, farmacêutico e alimentar<sup>323</sup>. No entanto, uma das limitações à utilização de enzimas para fins analíticos relaciona-se com a perda de actividade catalítica, como resultado da sua instabilidade em soluções aquosas. Daí surgir a ideia de as imobilizar em matrizes inertes, proporcionando uma actividade enzimática mais prolongada. Este aspecto contribuiu para o aparecimento de ESI recobertos com um filme enzimático, cujo resposta se baseia na reacção da enzima com um substrato orgânico ou inorgânico, produzindo-se uma espécie à qual o eléctrodo é sensível<sup>248,252,253,254,255,257-259,261,262</sup>. Alternativamente, o sensor pode ser recoberto por uma camada de substrato que reage com a enzima, co-factor ou inibidor em ensaio. Existem ainda sistemas em que a determinação analítica se baseia na medida, por intermédio de um ESI, de um gás libertado por reacção química, ou ainda convertido enzimaticamente numa espécie a que o eléctrodo seja sensível<sup>115,119,121,124</sup>. Neste último caso é comum a libertação de protão cuja determinação é efectuada por intermédio de um eléctrodo tubular de vidro.

A referência à utilização de eléctrodos de matriz rígida incorporado em sistemas FIA é pouco significativa, como se demonstra através da Fig. 2. No entanto, encontram-se descritos eléctrodos selectivos a catião amónio, sódio e potássio, sendo no entanto, o eléctrodo mais estudado e mais frequentemente usado em FIA o sensível ao protão<sup>55,89,97,113-120,122,124</sup>. A utilização deste tipo de unidades está limitada ao número reduzido de espécies a que os eléctrodos são sensíveis, pelo que, o seu uso foi sempre pouco significativo em montagens FIP (6% em<sup>15</sup>), sendo actualmente notória a sua substituição por eléctrodos de condutor móvel correspondentes<sup>133,136,138,155,160,178,245</sup>, de muito menor custo, fácil construção e versatilidade.

Os transístores de efeito de campo sensíveis a iões (ISFET) representam cerca de 4% das unidades descritas (Fig. 2). Este tipo de montagem foi inicialmente proposta por Bergveld em 1970<sup>324</sup>. A maior parte das referências bibliográficas a este tipo de detector referem-se a pH-ISFET<sup>263,266,267,271-273</sup>, utilizados na monitorização do pH, ou a eléctrodos sensíveis a potássio<sup>263,264,269,270,274</sup>. São também descritas montagens FIA que incorporam BioFET's (transístores de efeito de campo, biomodificados enzimaticamente)<sup>265,268</sup>, que permitem a determinação de variações de pH provocadas por reacções enzimáticas, fundamentalmente destinadas ao controlo de processos biotecnológicos e clínicos. As grandes vantagens dos FET (transístores de efeito de campo), quando aplicados a sistemas de fluxo, resultam da possibilidade de miniaturização e da facilidade de incorporação em sistemas portáteis.

Também raramente referidos são os sistemas que integram eléctrodos de 1ª espécie (Fig. 2). Estas unidades são fundamentalmente utilizadas em determinações indirectas, onde a falta de selectividade não é limitante, sendo referidos como exemplos o uso do eléctrodo de cobre na determinação de metais (Mg, Ca, Pb, Co, Cu, Ni, Mn, Ba e Zn)<sup>282</sup>, de pirofosfato, cianeto, sulfureto, iodeto e tiocianato<sup>283</sup> ou aminoácidos e peptídeos<sup>287</sup>. As principais vantagens destes detectores, relativamente aos restantes, são a grande disponibilidade de obtenção de metais na natureza, fácil miniaturização, longos tempos de vida, procedimentos de manutenção mínimos e baixo custo<sup>286</sup>. A resposta potenciométrica destas unidades não é selectiva e são susceptíveis à presença de substâncias oxidantes e redutoras, daí serem invariavelmente pouco utilizados.

Os eléctrodos redox, pontualmente referidos (Fig. 2), são fundamentalmente utilizados em FIA como eléctrodos indicadores em titulações redox para monitorização da variação transiente de potencial na proximidade do ponto de equivalência<sup>89,276-281</sup>.

## TIPOS DE CONFIGURAÇÃO DO DETECTOR E FORMA DE INSERÇÃO NOS SISTEMAS FIA

Nos sistemas de fluxo com detecção potenciométrica, para se conseguir obter bons resultados analíticos, deverá ser prestada a máxima atenção à configuração da célula detectora e ao seu processo de construção bem como à sua geometria, área de contacto com as soluções e volume interno<sup>135,305</sup>. A forma como o sistema de detecção é acoplado à restante montagem FIA pode ser responsável por inúmeros problemas, salientando-se o aparecimento de volumes mortos, formação e retenção de bolhas de ar e alterações de estabilidade, reprodutibilidade de potenciais e variações no tempo de resposta da membrana sensora<sup>135,305</sup>, com conseqüências negativas na resposta analítica obtida. As dificuldades de inserção dos detectores potenciométricos nos sistemas de análise por injeção em fluxo foram no início, aliás, apontadas como as principais razões responsáveis pela fraca aceitação e reduzida utilização que este método de detecção teve por parte da comunidade científica. Daí ter resultado que, até 1983, apenas 14% dos trabalhos publicados sobre FIA fossem referentes a sistemas FIP<sup>325</sup>.

Contudo, apesar de ser importante a forma como a célula potenciométrica é inserida no sistema FIP é curioso constatar que são

muito raras as referências a estudos comparativos de diferentes tipos de configuração dos detectores potenciométricos acoplados a sistemas FIP<sup>276,305,326</sup>. O mesmo se passa relativamente ao estudo e análise da influência das dimensões das células de fluxo utilizadas, nos resultados analíticos proporcionados<sup>45,85,305</sup>.

Os detectores potenciométricos descritos na literatura podem apresentar diferentes formas de incorporação nos sistemas FIA em que se inserem (Tabela 2), podendo consistir numa adaptação de eléctrodos de configuração convencional, ou então, serem construídos especificamente para esse fim, sendo-o maioritariamente com uma configuração tubular. A percentagem de distribuição para cada tipo de arranjo referido na literatura citada, está representada no gráfico esquematizado na Fig. 3.

Tal como acontecia com os processos de construção dos detectores potenciométricos, também as formas de incorporação nos sistemas FIA, sofreram uma evolução relativamente aos dados obtidos até 1993<sup>15</sup>, com uma acentuada diminuição do recurso a sistemas em cascata (menos 5% que<sup>15</sup>) e fio inserido no circuito (menos 3% que em<sup>15</sup>). O decréscimo da utilização destes dois sistemas de acoplamento está relacionado com a utilização de arranjos que permitam rentabilizar ao máximo as potencialidades dos sistemas FIP, nomeadamente os arranjos tubulares e de cápsula de fluxo, que induzem menores alterações nas características hidrodinâmicas do fluxo.

Os primeiros trabalhos de potenciometria em FIA, desenvolvidos por Ruzicka e Hansen<sup>7</sup> empregaram arranjos em cascata. Nesta configuração, o detector encontrava-se obrigatoriamente em fim de linha; o troço de amostra passava tangencialmente sobre a superfície do detector e continuava o seu percurso escoando sobre o eléctrodo de referência ou então, era recolhido num recipiente de esgoto onde se encontrava localizado o eléctrodo de referência. O facto de não ser necessário introduzir quaisquer modificações aos eléctrodos de configuração convencional existentes torna este arranjo, ainda hoje, aplicável. Tem, no entanto, como grandes desvantagens, a alteração das condições hidrodinâmicas do fluxo ao longo da membrana, que conduzem a instabilidade mecânica, com consequente oscilação dos potenciais. Além disso ocorrem frequentemente perdas de contacto electrolítico entre o eléctrodo indicador e o de referência. Estas razões justificam a baixa frequência da sua utilização, em apenas 5% das referências citadas.

As primeiras tentativas de superar os arranjos em cascata, recorreram à adaptação dos extremos sensíveis dos eléctrodos de configuração convencional a cápsulas de fluxo (flow-through caps). Estas permitiam a fácil inserção de eléctrodos convencionais em sistemas de fluxo contínuo não segmentado, justificando assim a sua grande popularidade de utilização. As cápsulas de fluxo têm, contudo, como principal limitação a formação de

uma câmara de diluição, com volumes variáveis entre 25 e 1500  $\mu\text{L}$ <sup>326</sup>. Para além das características operacionais do eléctrodo se alterarem os resultados analíticos obtidos são prejudicados, dada a elevada dispersão que sofre o segmento de amostra intercalado no sistema.

Os detectores em sandwich<sup>137,146,159</sup>, constituídos por duas peças justapostas em que uma delas contem uma cavidade que inclui a membrana sensora e a outra condiciona o percurso tangencial do fluxo sobre o sensor, poderão também ser incluídos como uma variante às cápsulas de fluxo podendo, por vezes, também alojar o eléctrodo de referência<sup>137,146</sup>. Estas unidades tinham como principal vantagem a facilidade de substituição da membrana sensora e uma maior estabilidade mecânica relativamente à apresentada pelas cápsulas de fluxo convencionais. Contudo, a dificuldade de controlar o ruído eléctrico levou a que houvesse pouca adesão à utilização em sistemas de fluxo.

A inserção do detector recorrendo a membrana com papel de filtro situa-se um pouco entre os arranjos em cascata e cápsula de fluxo, referidos anteriormente. Estes arranjos baseiam-se na intercalação de uma membrana de papel entre o eléctrodo indicador e o de referência, controlando o percurso da solução sobre a membrana sensora. Desta forma procurou-se ultrapassar a desvantagem de um arranjo em cascata. Estes sistemas estão, no entanto, limitados pelo aumento da diluição do segmento de amostra e por uma baixa frequência de amostragem, pelo que a sua utilidade analítica é reduzida (Fig. 3), particularmente em análises de rotina laboratorial onde o ritmo de amostragem se torna um parâmetro crucial.

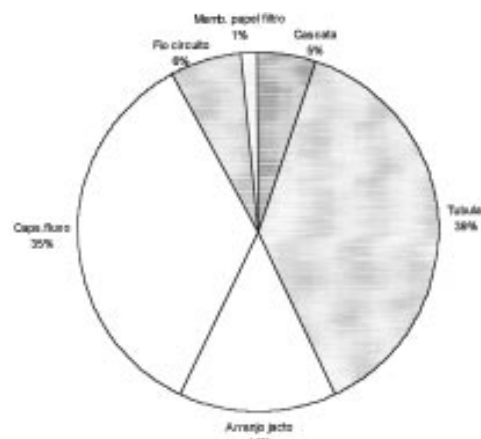


Figura 3. Gráfico de distribuição das diferentes formas de acoplamento dos detectores potenciométricos aos sistemas FIA.

Tabela 2. Forma de acoplamento de detectores potenciométricos nas montagem FIA

Tipo de arranjo/configuração	Referências
<i>Cascata</i>	7, 18, 20, 23, 30, 40, 53, 63, 95, 113, 126, 127, 131, 296
<i>Cápsulas de fluxo (flow-through caps)</i>	22, 24, 26, 28, 30, 34-36, 38, 44, 49-52, 54-56, 59, 61, 62, 65, 69, 71, 72, 74, 86, 92 - 94, 100, 109, 114, 120 - 123, 125, 136, 137, 144, 146, 149-151, 159, 166, 172, 173, 176 - 179, 181, 183, 185, 200, 201, 203, 204, 212, 213, 220, 221, 223, 224, 227, 228, 230, 234, 236, 237, 247-249, 256, 261, 265, 266, 268, 270 - 273, 280, 281, 284, 286, 290 - 292, 294, 295, 297, 336, 365
<i>Membrana com papel de filtro</i>	33, 317, 327, 328
<i>Fio no circuito</i>	136, 142, 143, 145, 148, 149, 152, 160, 174, 186, 276, 282-285, 288, 312, 315
<i>Arranjo em jacto (wall-jet)</i>	14, 21, 27, 31-33, 37, 39, 45, 46, 48, 60, 64, 85, 87, 88, 90, 96, 99, 156, 163, 171, 205, 211, 218, 219, 225, 229, 233, 250, 251, 263, 264, 269, 277, 287, 304, 315
<i>Tubulares</i>	17, 19, 25, 41 - 43, 47, 58, 67, 68, 73, 75 - 84, 98, 102, 105, 107, 110 - 112, 115-119, 128-130, 132 - 135, 138 - 141, 147, 153-155, 157, 158, 161, 162, 164, 165, 167, 168, 180, 182, 184, 187 - 199, 202, 208, 215, 217, 222, 232, 240 - 245, 253, 267, 298-303, 305, 307-311, 313, 314, 316 - 318, 320

Encontram-se também descritos arranjos denominados de “fio no circuito” (Tabela 2). Normalmente são constituídos por um fio metálico, recoberto por uma membrana sensora de halogenetos de prata e sulfuretos, ou ainda por uma membrana plastificada de condutor móvel. Este arranjo é de muito fácil construção e incorporação, daí a sua grande utilização, particularmente até 1988. O decréscimo de utilização deste tipo de inserção do detector, desde 1988, está directamente relacionado com o facto da sua maioria com configuração filiforme ser constituída por eléctrodos de 1ª e 2ª espécies, que também, pela sua inespecificidade, estão em desuso.

O arranjo em jacto (wall-jet) constituído por um eléctrodo de configuração convencional, no qual a solução da amostra é espalhada uniformemente sobre toda a membrana sensora, permite uma fácil utilização dos eléctrodos comerciais em sistemas FIA, sendo descrito, como se representa na Fig. 3, em 14% dos artigos revistos. Este tipo de inserção permite dispensar o uso de cápsulas de fluxo, tornando-se portanto um arranjo com menor volume morto, mais económico e versátil. Apresenta, no entanto, como principal limitação a destruição hidrodinâmica do troço de amostra bem como a impossibilidade da sua utilização em sistemas de paragem de fluxo (stopped-flow).

Com o objectivo de superar as dificuldades e limitações impostas por cada um dos arranjos anteriormente referidos, e de forma a rentabilizar as potencialidades dos sistemas FIA, foram desenvolvidos eléctrodos com geometrias mais apropriadas e com acoplamentos que proporcionavam módulos de análise mecanicamente mais estáveis. Destaca-se neste caso a configuração tubular, na qual as soluções atravessam a membrana sensora por intermédio de um canal talhado, de pequenas dimensões. Este tipo de configuração permitia a construção do eléctrodo indicador, com um diâmetro igual ao do percurso analítico, evitando a dispersão da amostra na sua passagem pelo detector e garantindo a manutenção das características hidrodinâmicas do fluxo. Esta forma de configuração permitia a obtenção de unidades com diâmetros internos de 0,8 a 2 mm e comprimentos na ordem dos 5/20 mm. Esta última característica reveste-se de particular importância em montagens nas quais se colocam detectores em série, viabilizando determinações multiparamétricas.

Apesar de todas as vantagens evidenciadas pela configuração tubular, houve inicialmente pouco interesse no seu desenvolvimento. Este facto deveu-se a dificuldades de construção, explicando aliás que, até 1993, a maior parte das referências a eléctrodos tubulares se restringisse praticamente a eléctrodos de 2ª espécie<sup>298-303,305,310,311,313,314,316</sup> e de condutor móvel<sup>128-130,132,135,138,141,147,153-155,157,158,161</sup>. A partir do final da década de 80, o forte empenho de alguns grupos de investigação no desenvolvimento de processos de construção mais flexíveis, viabilizados pelo recurso a resinas epoxídicas com características moldáveis<sup>329</sup>, permitiu atribuir aos detectores as mais variadas formas, e conduziu a um grande desenvolvimento de detectores cristalinos e de condutor móvel com configuração tubular (Tabela 2). A implementação de novos processos de construção de ESI onde fosse eliminada a solução de referência interna simplificou ainda mais a preparação de detectores com este tipo de configuração, representando um aumento de 3% relativamente aos dados recolhidos em<sup>15</sup>.

## TIPOS DE SISTEMAS DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM DETECÇÃO POTENCIOMÉTRICA E SUA APLICAÇÃO ANALÍTICA

Poder-se-á constatar que a detecção potenciométrica, dada a grande diversidade de eléctrodos existentes e fácil incorporação em sistemas de fluxo automático, tem sido aplicada à análise química nas mais diversas áreas, nomeadamente ao controlo químico de águas e alimentos, amostras biológicas (sangue, soro, urina, saliva, etc), produtos farmacêuticos, assim como à

área ambiental (Fig. 4). Verifica-se referenciada uma percentagem muito elevada (39%) de sistemas FIP aplicados à análise de águas, não só de consumo, mas também águas do mar, de lagos, de rios e águas residuais. As aplicações analíticas a produtos farmacêuticos correspondem a 16% do total das aplicações citadas na literatura, apresentando-se como valiosas alternativas aos morosos e muitas vezes dispendiosos métodos de referência descritos pelas diferentes monografias oficiais. Esse reconhecimento é inclusivamente feito pela Farmacopeia Portuguesa, com a recente inclusão de uma metodologia potenciométrica para determinação de concentrações iónicas, pela utilização de eléctrodos selectivos<sup>330</sup>. Nesta área destaca-se a utilização de detectores potenciométricos na monitorização não só do teor em princípio activo de diferentes formulações<sup>49,51,158,161,162,165,167,168,176,184,190,192,201,204,209,214,223,235,237</sup> mas também em ensaios de controlo da forma farmacêutica<sup>218</sup> e da matéria prima<sup>121,257</sup>.

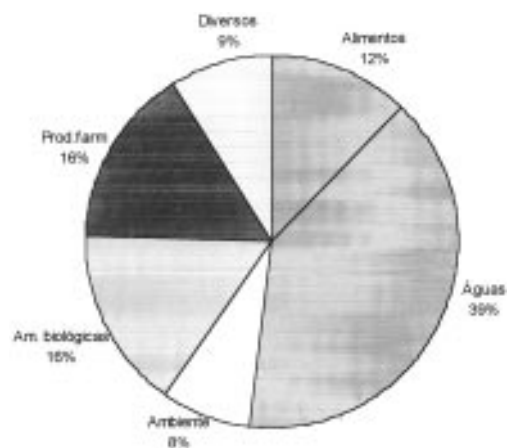


Figura 4. Distribuição das áreas de aplicação dos sistemas FIA citados.

Na área alimentar começa-se também a assistir a uma significativa utilização da potenciométrie como técnica de detecção em sistemas FIA, com uma percentagem de 12% da totalidade da literatura revista<sup>23,28,70,75,77,80,81,89,93,110,111,187,191,193,221,225,232,244,288,299,310</sup>. Os vinhos têm sido das matrizes mais visadas, com a avaliação dos teores em açúcares redutores<sup>193</sup>, potássio livre e total<sup>232</sup>, SO<sub>2</sub> livre e total<sup>23,110,246</sup>, cloretos<sup>81,111,310</sup> e glicerol e 2,3-butanodiol<sup>320</sup>.

A área ambiental, devido ao crescente interesse pelas questões relacionadas com a qualidade do meio físico e saúde pública, tem registado um aumento significativo de solicitações para proceder a análises químicas de solos e ar, representando cerca de 8% da totalidade das publicações<sup>38,62,66,76,122,126,138,188,220,306</sup> (Fig. 4).

Numa perspectiva ambiental, o controlo analítico da composição dos solos, com determinação de nitrato e potássio<sup>66</sup>, cloreto<sup>76</sup>, pH<sup>138</sup>, nitrato<sup>188</sup> e brometo<sup>306</sup>, tem assumido uma elevada importância, dado que a eventual presença de espécies contaminantes, provenientes de produtos químicos utilizados na agricultura ou resíduos industriais, poder vir a ser absorvida pelas plantas ou lixiviado para águas superficiais ou subterrâneas, com consequente introdução na cadeia alimentar.

As amostras biológicas são também visadas em 16% das situações referidas (Fig. 4), com determinação dos parâmetros bioquímicos comuns e controlo de processos de hemodiálise como, por exemplo, a análise do teor em ureia<sup>215,217,240</sup>, sódio<sup>159,166,168,169,207,213</sup>, cálcio<sup>127,169,197,198,207</sup>, potássio<sup>132,159,163,169,207,210,238</sup>, creatinina<sup>200</sup> e lítio<sup>145</sup>.

Muito embora grande parte das aplicações analíticas que foram referidas recorram a sistemas de fluxo simples, a versatilidade do processo de construção que caracteriza os detectores tubulares contribuiu para o desenvolvimento de montagens que

permitted a simultaneous determination of various analytical species. The first FIA system with multiparametric detection was developed by Hansen<sup>127</sup>, which incorporated, in series, an electrode sensitive to calcium and another of pH for simultaneous detection of the respective ions. This procedure can be achieved using various<sup>14,42,56,67,69,97,109,127,152,160,174,175,177,182,184,196,198,203,207,220,224,226,273,301</sup>, or a single detector, with the help of different configurations FIA<sup>331</sup>. Assemblies for multiparametric determinations can be based on the placement of detectors in series, since for the first detector not to be destructive to the sample, or on the division of flow after the injection of the same. The frequent use of these systems, in which in a single analysis one proceeds to the monitoring of two or more parameters, has been much explored, particularly in this last decade, especially because, given the use of units of tubular configuration, the flow of sample maintains its hydrodynamic characteristics unaltered. Numerous systems of flow using two or more potentiometric detectors<sup>14,42,56,67,69,97,109,127,152,160,174,175,177,182,184,196,198,203,207,220,224,226,273,301</sup>, but also two types of distinct processes of detection<sup>7,21,25,34,73,75,79,80,120,141,152,156,187,189,197,219,232,233,287,290,304,312,318</sup>. As examples stand out, a potentiometric detection associated respectively to spectrophotometry UV/Vis<sup>7,34,75,152,187,189</sup>, to spectrophotometry of atomic absorption<sup>141,197</sup>, to photometry of flame<sup>79,80,120,189,232</sup> and even to conductimetry<sup>120,318</sup>. There are also some references to systems of multiparametric potentiometric associations and techniques of separation with HPLC<sup>25,287</sup>, chromatographic columns of classical adsorption<sup>21,73,156,219,290,304,312,318</sup> and electrochromatography<sup>233</sup>.

The applicability of potentiometric detectors coupled to FIA systems is practically unlimited. Species that cannot be detected directly, for non-existence of an electrode selective appropriate, can, however, be evaluated in an indirect way, by titration or by differential<sup>14,51,68,121,199,251,252</sup>. One can promote chemical reactions between the analyte and a reagent, followed by the measurement of the product of the reaction or of the decrease of the reagent used as titrant<sup>14,51,68,121,199,251,252</sup>. As examples one can refer to the determination of aluminium<sup>14</sup> and theophylline<sup>51</sup> with ESI's sensitive to fluoride, thiourea using a sensitive unit to iodide<sup>68</sup>, penicillins using sensitized electrodes<sup>251,252</sup> or of rigid membrane<sup>121</sup> and glycerol using a sensitive electrode to periodate<sup>199</sup>.

Also as indirect determinations using titrations potentiometric they have been privileged in numerous analytical<sup>41,76,81,111,113,117,125,147,172,192,193,272,310</sup>. Their popularity results from the ease of operation and maintenance and the low cost of the assemblies, allied to the possibility of automation and acquisition of data by computer. As reactions involved in the process of titration can be of the acid-base<sup>113,117,272</sup>, precipitation<sup>41,76,81,111,172,192,310</sup>, oxidation-reduction<sup>193</sup> and complexation.

As a measure that the potentiometric determinations be performed as methodology of analytical, one registered an increase in the search for solutions for problems each time more specific. A selectivity potentiometric, pointing out many times as one of its major limitations, led to the intercalation of steps of separation, modification of matrix or even conversion of the species to be determined, achieved by steps of extraction, diffusion of gases, dialysis or insertion of reactors packed, as a way of providing better characteristics operational to these detectors.

There are described numerous FIA assemblies with intercalation of units of separation by intermediate membranes<sup>26,27,42,78,102,129,130,133,139,140,145,153-155,157,171,187,188,208,217,227,240,244,267,284,299</sup>, which allow a selective passage of a substance or group of substances with determined characteristics. It is the case of the insertion in line of units of diffusion

of gases, proposed by numerous authors<sup>26,27,42,110,129,130,133,139,153-155,157,171,187,188,208,217,227,240,244,267,284</sup>. In these systems describes the use of modular units containing membranes permeable to gases, hydrophobic and microporous, of dimethylsilicone or teflon, in which the process of diffusion is controlled by a difference in the partial pressure of the two sides of the membrane (between the donor channel and the acceptor) or even by differences of solubility of the gas in the solutions that circulate in the two channels. The insertion of these units can even permit the obtention of an effect of pre-concentration of gases, when one uses the technique of "stopped-flow" in the acceptor channel, as was referred in the determination of low concentrations of ammonia in waters<sup>227</sup>.

The use of hydrophilic membranes, normally of silicone, allows the separation of analytes of the remaining constituents of the matrix, which can also be used to promote a process of dilution, reproducible and exact, or even a microfiltration, by transfer of species from a donor channel to an acceptor. It is the case of dialysis, which allows the diffusion of species of low molecular weight between solutions that flow in different channels. Stand out as examples of FIA assemblies destined to the determination of urea in electrolytic<sup>78</sup>, in parenteral and of hemodialysis<sup>102</sup> and in milk<sup>299</sup>, and the determination of salicylate<sup>140</sup> and lithium<sup>145</sup> in sera.

The study of kinetics of chemical reactions and, particularly, the establishment of the order of the reaction and determination of the respective constant kinetic, can also be performed with FIA. As this objective is described the study of the reaction of a compound fluorinated with thiols, in different surfactants<sup>94</sup>, and the determination of aluminium in extracts and infusions of leaves of tea<sup>106</sup>.

The possibility of determination of analytes in low concentrations, particularly metals, is mainly achieved by low concentrations of analytes, principally metals, at the limit of response of the detectors, is referred to the use of processes of concentration in line, using ion exchange resins<sup>31,40,46,96,112</sup>. Its principle is based on the decrease of dispersion of the sample, by introduction of a volume relatively large of solution, with retention of the analyte in a column specific miniaturized, followed by its elution, in a small volume of solution, and routing to the detector. As an example one refers to a FIA system with ion exchange resins for the determination of Cu(II)<sup>31</sup>, which allows reaching limits of detection of the order of  $10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>. Recurring to a process similar to those referred in the literature as determinations of Mn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup><sup>40,46,112</sup>. The insertion in these systems of flow, of reactors packed, can also have as objective, besides the effect of pre-concentration, studies of speciation<sup>311</sup> and removal of interferences, by retention of these in columns of ion exchange<sup>228</sup>, as for example the simultaneous determination of fluoride, bromate, chlorate and iodate<sup>67</sup>.

Frenzel<sup>14</sup> and Trojanowicz<sup>200,296</sup> used, also, assemblies that allowed the determination of ions with concentrations below the value of intrinsic solubility of the sensor membrane of the electrodes used, establishing a direct relation between the difference of potential registered and the activity of the ions to be determined. It was the case of the determination of anion chlorate for values below the product of solubility of AgCl (in the order of  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>)<sup>14,296</sup> and of creatinine for physiological values present in urine<sup>200</sup>, using a detector based on a mobile conductor sensitive to ammonia.

As for one side the potentiometric detection has suffered a notable evolution in the sense of providing to FIA systems a greater versatility of application and better performance, on the other side the techniques of flow have evolved in the sense of greater operationality, simplicity and versatility. The appearance of the analysis by sequential injection, SIA (Sequential Injection Analysis), proposed in 1990, by Ruzicka and Marshall<sup>332</sup>, as an alternative to FIA procedures presents as the main

característica a possibilidade de reversão do sentido do fluxo. Assim, estes sistemas apresentam como grande vantagem, relativamente aos sistemas FIA, o facto de, qualquer alteração que se faça no sistema (ex. volume de injeção, tempo de reacção, diluição da amostra ou de reagentes) poder ser conseguida apenas por programação do fluxo em vez de reconfiguração física do sistema<sup>4,333</sup>. Estes sistemas têm, para já, sido pouco aplicados à detecção potenciométrica, encontrando-se referências à determinação simultânea de fluoreto e cloreto em águas<sup>92</sup>, pH e cloreto em águas<sup>97</sup> e glicerol e 2,3-butanodiol em vinhos<sup>320</sup>. O aparecimento, em 1994, do conceito de multicomutação, baseado na utilização de um conjunto de válvulas solenóides actuando cada uma delas como um comutador independente<sup>334</sup>, veio criar novas possibilidades de análise em fluxo, entre as quais a possibilidade de efectuar volumetrias sem necessidade de recurso a soluções padrão.

Do decorrer desta revisão pode-se constatar a importância e versatilidade dos sistemas FIP, e a evolução quer das técnicas de construção, quer das formas de incorporação dos sistemas de detecção, que permitiram responder a uma grande diversidade de situações analíticas e contornar muitas das limitações que inicialmente lhe foram apontadas, alargando assim a sua aplicabilidade analítica.

## REFERÊNCIAS

- Skeggs, L. T.; *Anal. Am. J. Clin. Pathol.* **1957**, 28, 311.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1975**, 78, 145
- Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, 261, 3.
- Ruzicka, J.; *Analyst* **1994**, 119, 1925.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Zagatto, E. A.; *Anal. Chim. Acta* **1977**, 88, 1.
- Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 99, 37.
- Hansen, E. H.; Krug, F. J.; Groser, A. K.; Ruzicka, J.; *Analyst* **1977**, 102, 714.
- Pungor, E.; Toth, K.; Nagy, G.; *Hung. Sci. Instrum.* **1975**, 35, 1.
- Pungor, E.; Toth, K.; Nagy, G.; *Ion and Enzyme electrodes in Biology and Medicine*, Ed. M. Kessler, Urban ans Schwarzenberger, Munchen, 1976.
- Fecher, Zs.; Nagy, G.; Toth, K.; Pungor, E.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 98, 193.
- IUPAC, *Pure and Appl. Chem.* **1994**, 66, 2527.
- Valcárcel, M.; Luque de Castro, M. D.; *Flow-Injection Analysis, Principles e Applications*, Ellis Horwood, Chichester 1987.
- Shpigun, L. K.; *Spec. Public. R. Soc. Chem.* (Reviews on Analytical Chemistry, Euroanalysis VIII) **1994**, 154, 246.
- Frenzel, W.; *Analyst* **1988**, 113, 1039.
- Ferreira, I. M. P. L. O., Lima, J. L. F. C.; *J. Flow Injection Anal.* **1993**, 10, 17.
- IUPAC, *Pure and Appl. Chem.*; **1976**, 48, 129.
- Van der Linden, W. E.; Oostervink, R.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 101, 419.
- Slanina, J.; Lingerak, W. A.; Bakker, F.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, 117, 91.
- Müller, H.; *Anal. Chem. Symp. Series* **1981**, 8, 279.
- Trojanowicz, M.; Matuszewski, W.; *Anal. Chim. Acta* **1982**, 138, 171.
- Van Oort, W. J.; Van Eerd, E. J. J. M.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, 155, 21.
- Van den Winkel, P.; De Backer, G.; Vandeputte, M.; Mertens, N.; Dryon, L.; Massart, D. L.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, 145, 207.
- Marshall, G. B.; Midgley, D.; *Analyst* **1983**, 108, 701.
- Thomas, J. D. R., *Anal. Chem. Symp. Series* **1984**, 18, 141.
- Müller, H.; *Anal. Chem. Symp. Series* **1984**, 18, 353.
- Okumoto, C.; Nagashima, M.; Mizoiri, S.; Kazama, M.; Akiyama, K.; *Eisei Kagaku* **1984**, 30, 7.
- Brunt, K.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 163, 293.
- Cheng-Chih Lee, Pollard, B. D.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 158, 157.
- Lynch, T. P.; *Analyst* **1984**, 109, 421.
- Glaister, M. G.; Moody, G. J.; Thomas, J. D. R.; *Analyst* **1985**, 110, 113.
- Risinger, L.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 179, 509.
- Frenzel, W.; Brätter, P.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 188, 151.
- Frenzel, W.; Brätter, P.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 185, 127.
- Ishibashi, N.; Imato, T.; Tsukiji, K.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 190, 185.
- Coetzee, J. F.; Gardner, C. W.; *Anal. Chem.* **1986**, 58, 608.
- Davey, D. E.; Mulcahy, D. E.; O'Connell, G. R.; *Anal. Lett.* **1986**, 19, 1387.
- Frenzel, W.; Brätter, P.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 187, 1.
- Fucskó, J.; Tóth, K.; Pungor, E.; Kunovits, J.; Puxbaum, H.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, 194, 163.
- Cardwell, T. J.; Cattrall, R. W.; Hauser, P. C.; Hamilton, I. C.; *Anal. Chem.* **1987**, 59, 206.
- Zolotov, Y. A.; Shpigun, L. K.; Kolotyorkina, I. Y.; Novikov, E. A.; Bazanova, O. V.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, 200, 21.
- Alegret, S.; Alonso, J.; Bartroli, J.; Garcia-Raurich, J.; Martinez-Fàbregas, E.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1988**, 6, 749.
- Figuerola, E.; Florido, A.; Aguilar, M.; Pablo, J.; Alegret, S.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, 215, 283.
- Alegret, S.; Florido, A.; Lima, J. L. F. C.; Machado, A. A. S. C.; *Talanta* **1989**, 36, 825.
- Turner, D. R.; Knox, S.; Whitfield, M.; Santos, M.; Pescada, C.; Gonçalves, M. L.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 226, 229.
- Douglas, J. G.; *Anal. Chem.* **1989**, 61, 922.
- Okabayashi, Y.; Hikawa, M.; Nakagawa, T.; Tanaka, H.; Chikuma, M.; *Analyst* **1989**, 114, 1267.
- Lima, J. L. F. C.; Rocha, L. S. M.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1990**, 38, 127.
- Elsholz, O.; Frenzel, W.; Cheng-Yu Liu, Möller, J.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1990**, 338, 159.
- Davey, D. E.; Mulcahy, D. E.; O'Connell, G. R.; *Talanta* **1990**, 7, 313.
- Imato, T.; Ishii, K.; Ishibashi, N.; *Bunseki Kagaku* **1990**, 39, 135.
- Tai-Guang Wu, Durst, R. A.; *Mikrochim. Acta [Wien]*, **1990**, 1, 187.
- Davey, D. E.; Mulcahy, D. E.; O'Connell, G. R.; *Talanta* **1990**, 37, 683.
- Krawczyk, T. K.; Trojanowicz, M.; Hulanicki, A.; *Chem. Anal.* **1988**, 33, 69.
- Davey, D. E.; Mulcahy, D. E.; O'Connell, G. R.; *Analyst* **1992**, 117, 761.
- Turner, D. R.; Knox, S.; Whitfield, M.; Santos, M.; Pescada, C.; Gonçalves, M. L.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 226, 239.
- Virtanen, R.; *Anal. Chem. Symp. Series* **1981**, 8, 375.
- Castro, M. D. L.; Cases, M. V.; *Analyst* **1984**, 109, 413.
- Tóth, K.; Fucskó, J.; Lindner, E.; Fehér, Z.; Pungor, E.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 179, 359.
- Christopoulos, T. K.; Diamandis, E. P.; *Analyst* **1987**, 112, 1293.
- Trojanowicz, M.; Krawczyk, T. K. V.; Augustyniak, W.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, 207, 325.
- Stulík, K.; *Analyst* **1989**, 114, 1519.
- Stulík, K.; *Pure Appl. Chem.* **1987**, 59, 521.
- Trojanowicz, M.; Matuszewski, W.; *Anal. Chim. Acta* **1982**, 138, 71.
- Ilcheva, L.; Trojanowicz, M.; Krawczyk, T. K.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1987**, 328, 27.
- Neshkova, M. T.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 273, 255.
- Liu, R. M.; Liu, D. J.; Sun, A.L.; *Analyst* **1992**, 117, 1335.
- Najib, F. M.; Othman, S.; *Talanta* **1992**, 39, 1259.

68. Komljenovic, J.; Radic, N.; *Sens. Actuators* **1995**, B24-25, 312.
69. Borzitsky, J.; Dvinin, A.; Petrukhin, O.; Urusov, Y.; *Analyst* **1993**, 118, 859.
70. Capelato, M. D.; Santos, A. M.; Fatibello-Filho, O.; Gama, R.; *Anal. Lett.* **1996**, 29, 711.
71. Nagy, G.; Tóth, K.; Fehér, Z.; Kunovits, J.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 319, 49.
72. Pedreño, C. S.; Ortuño, J. A.; López, M. C.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 315, 63.
73. Almeida, A. A.; Jun, X.; Lima, J. L. F. C.; *Mikrochim. Acta* **1997**, 127, 55.
74. Papaefstathiou, I.; Tena, M. T.; Luque de Castro, M.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 308, 246.
75. Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Pérez-Olmos, R.; Rios, A.; *Analyst* **1996**, 121, 1393.
76. Ferreira, A. M. R.; Rangel, A. O. S. S.; Lima, J. L. F. C.; *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1996**, 27, 1437.
77. Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; Souto, M. R.; *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1996**, 27, 37.
78. Araújo, A. N.; Etxebarria, M. B.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Pérez-Olmos, R.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1995**, 351, 614.
79. Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; *Rev. Port. Farm.* **1995**, XLV, 24.
80. Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; *Anal. Sci.* **1994**, 10, 801.
81. Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; *Food Chem.* **1994**, 50, 423.
82. Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; *Analyst* **1994**, 119, 209.
83. Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; Rocha, L. S.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1993**, 347, 314.
84. Gracia, J.; Montesinos, J. L.; Poch, M.; Alonso, J.; Bartroli, J.; Ferreira, I. M. P. L. V. O.; Lima, J. L. F. C.; *Sens. Actuators A* **1993**, 37-38, 607.
85. Davey, D. E.; Mulcahy, D.; O'Connell, G.; *Electroanalysis*, **1993**, 5, 581.
86. Wang, X.; Shen, W.; Cattrall, R.; Nyberg, G.; Liesegang, J.; *Electroanalysis* **1995**, 7, 1048.
87. Dimitrakopoulos, T.; Alexander, P.; Hibbert, D. B.; Cherkson, L.; Morgan, J.; *Electroanalysis* **1995**, 7, 1118.
88. Nascimento, P. C.; Schwedt, G.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 283, 755.
89. Imato, T.; *J. Flow Injection Anal.* **1995**, 12, 145.
90. Lexa, J.; Stulik, K.; *Talanta* **1994**, 41, 301.
91. Tang, T.; Huang, H. J.; *Anal. Chem.* **1995**, 67, 2299.
92. Alpizar, J.; Crespi, A.; Cladera, A.; Forteza, R.; Cerdá, V.; *Electroanalysis*. **1996**, 8, 1051.
93. Hara, H.; Ishio, N.; Takahashi, K.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 281, 45.
94. Gerakis, A. M.; Koupparis, M. A.; *Analyst* **1993**, 118, 1001.
95. Shpigun, L. K.; Basanova, O. V.; Zolotov, Y. A.; *Sens. Actuators B* **1992**, 10, 15.
96. Li, J. X.; Liu, G. J.; *Fenxi-Huaxue* **1995**, 23, 671.
97. Alpizar, J.; Crespi, A.; Cladera, A.; Forteza, R.; Cerdá, V.; *Lab. Rob. Autom.* **1996**, 8, 165.
98. Komljenovic, J.; Radic, N.; *Analisis* **1996**, 24, 63.
99. Rizov, I.; Ilcheva, L.; *Analyst* **1995**, 120, 1651.
100. Neshkova, M. T.; Pancheva, E. M.; *Electroanalysis* **1996**, 8, 557.
101. Davey, D. E.; Mulcahy, D. E.; O'Connell, G. R.; *Electroanalysis* **1996**, 8, 274.
102. Lapa, R. A. S.; Lima, J. L. F. C.; Barrado, E.; Vela, H.; *Il Farmaco* **1997**, 52, 127.
103. Vlasov, Y.; Ermolenko, Y.; Popov, I. A.; El-Marug, S.; Koroshev, V. G.; Kolodnikov, V. V.; *J. Anal. Chem.* **1997**, 52, 81.
104. Hara, H.; Huang, C. C.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, 338, 141.
105. Olenic, L.; Hopirtean, E.; Olenic, L.; *Analyst* **1997**, 122, 107.
106. Wang, H. S.; Zhang, Z. H.; Sun, A. L. Liu, D. J.; Liu, R. M.; *Talanta* **1996**, 43, 2067.
107. Couto, C. M. C. M.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Anal. Sci.* **1997**, 13, 403.
108. Neshkova, M.; Pancheva, E.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 300, 133.
109. Trojanowicz, M.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, 114, 293.
110. Araújo, A. N.; Couto, C. M. C. M.; Lima, José L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 168.
111. Couto, C. M. C. M.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Analisis* **1998**, 26, 182.
112. Couto, Cristina M. C. M.; Lima, José L. F. C.; Montenegro, Conceição B. S. M.; Reis, Boaventura F.; Zaggato, Elias AG.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, 366, 155.
113. Åström, O.; *Anal. Chim. Acta* **1979**, 105, 67.
114. Zagatto, E. A. G.; Reis, B. F.; Bergamin F<sup>o</sup>, H.; Krug, F. J.; *Anal. Chim. Acta* **1979**, 109, 45.
115. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Ghose, A. K.; Mottola, H. A.; *Anal. Chem.* **1979**, 51, 199.
116. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, 114, 19.
117. Simpson, S. F.; Holler, F. J.; *Anal. Chem.* **1982**, 54, 43.
118. Edmonds, T. E.; Coutts, G.; *Analyst* **1983**, 108, 1013.
119. Mottola, H. A.; Wolff, Ch-Michel, Tob, A.; Gnanasekaran, R.; *Anal. Chem. Symp. Series* **1984**, 18, 49.
120. Cañete, F.; Ríos, A.; Castro, M. D. L.; Valcárcel, M.; *Analyst* **1988**, 113, 739.
121. Carlsen, M.; Christensen, L.; Nielsen, J.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 274, 117.
122. Ito, S.; Hachiya, H.; Baba, K.; Eto, M.; Asano, Y.; Wada, H.; *Talanta* **1996**, 43, 1421.
123. Lopes da Conceição, A. C.; Simões Gonçalves, M. L. S.; Correia dos Santos, M. M.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 302, 97.
124. Shi, R.; Stein, K.; Schwedt, G.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, 357, 752.
125. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; Mosbaek, H.; *Anal. Chim. Acta* **1977**, 92, 235.
126. Hansen, E. H.; Ghose, A. K.; Ruzicka, J.; *Analyst* **1977**, 102, 705.
127. Hansen, E. H.; Ruzicka, J.; Ghose, A. K.; *Anal. Chim. Acta* **1978**, 100, 151.
128. Papastathopoulos, D. S.; Diamandis, E. P.; Hadjiioannou, T.P.; *Anal. Chem.* **1980**, 52, 2100.
129. Meyerhoff, M. E.; Fraticelli, Y. M.; *Anal. Lett.* **1981**, 14, 415.
130. Fraticelli, Y. M.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chem.* **1981**, 53, 992.
131. Trojanowicz, M.; Augustowska, Z.; Matuszewski, W.; Moraczewska, G.; Hulanicki, A.; *Talanta* **1982**, 29, 113.
132. Meyerhoff, M. E.; Kovach, P. M.; *J. Chem. Educ.* **1983**, 60, 766.
133. Opdycke, W. N.; Parks, S. J.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, 155, 11.
134. Friend, A. J.; Moody, G. J.; Thomas, J. D. R.; Birch, B. J.; *Analyst* **1983**, 108, 1357.
135. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartroli, J.; Paulís, J. M.; Lima, J. L. F. C.; Machado, A. A. S. C.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 164, 147.
136. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Anal. Chim. Acta* **1984**, 161, 1.
137. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartroli, J.; Lima, J. L. F. C.; Machado, A. A. S. C.; Paulís, J. M.; *Anal. Lett.* **1985**, 18, 2291.
138. Hongbo, C.; Hansen, E. H.; Ruzicka, J.; *Anal. Chim. Acta* **1985**, 169, 209.
139. Martin, G. B.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, 186, 71.
140. Chang, Q.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 186, 81.



141. Alonso, J.; Bartroli, J.; Lima, J. L. F. C.; Machado, A. A. S. C.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *179*, 503.
142. Xie, R. Y.; Gadzekpo, V. P. Y.; Kadry, A. M.; Ibrahim, Y. A.; Ruzicka, J.; Christian, G. D.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *184*, 259.
143. Zhou, Zheng-Nan, Xie, R. Y.; Christian, G. D.; *Anal. Lett.* **1986**, *19*, 1747.
144. Alexander, P. W.; Koopetngarm, J.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, *197*, 353.
145. Xie, R. Y.; Christian, G. D.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1806.
146. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartrolí, J.; Machado, A. A. S. C.; Lima, J. L. F. C.; Paulís, J. M.; *Quím. Anal.* **1987**, *6*, 278.
147. Dowle, C. J.; Cooksey, B. G.; Ottaway, J. M.; Campbell, W. C. *Analyst* **1988**, *113*, 117.
148. Attiyat, A. S.; Christian, G. D.; Pugia, M. J.; Bartsch, R. A.; *Microchem. J.* **1988**, *38*, 246.
149. Ortuño, J. A.; Torrecillas, M. C.; Sánchez-Pedreño, C.; *Quím. Anal.* **1988**, *7*, 311.
150. Cardwell, T. J.; Cattrall, R. W.; Iles, P. J.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, *204*, 329.
151. Wada, H.; Ozawa, T.; Nakagawa, G.; Asano, Y.; Ito, S.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, *211*, 213.
152. Hauser, P. C.; Tan, S. S.; Cardwell, T. J.; Cattrall, R. W.; Hamilton, I. C.; *Analyst* **1988**, *113*, 1551.
153. Lee, H. L.; Yang, S. T.; *J. Kor. Soc. Anal. Sci.* **1989**, *2*, 77.
154. Lee, H. L.; Yun, J. H.; *Proceedings of the Third Korea-Japan Joint Symposium on Analytical Chemistry* 1989, 271.
155. Lee, H. L.; Yun, J. H.; *J. Kor. Chem. Soc.* **1989**, *33*, 388.
156. Trojanowicz, M.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *222*, 95.
157. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartrolí, J.; Martínez-Fàbregas, E.; *Analyst* **1989**, *114*, 1443.
158. Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S.; Alonso, J.; Bartrolí, J.; Raurich, J. G.; *J. Pharm. Biom. Anal.* **1989**, *7*, 1499.
159. Moody, G. J.; Saad, B. B.; Thomas, J. D. R.; *Analyst* **1989**, *114*, 15.
160. Hauser, P. C.; Cardwell, T. J.; Cattrall, R. W.; Tan, S. S.; Hamilton, I. C.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *221*, 139.
161. Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S.; Alonso, J.; Bartrolí, J.; Raurich, J. G.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *234*, 221.
162. Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S.; Roque da Silva, A. M.; *J. Flow Injection Anal.* **1990**, *7*, 19.
163. Lindner, E.; Tóth, K.; Jeney, J.; Horváth, M.; Pungor, E.; Bitter, I.; Ágai, B.; Töke, L.; *Mikrochim. Acta [Wien]* **1990**, *1*, 157.
164. Lee, H. L.; Yun, J. H.; *J. Kor. Chem. Soc.* **1991**, *35*, 51.
165. Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S.; Roque da Silva, A. M.; *J. Pharm. Biom. Anal.* **1991**, *9*, 1041.
166. Telting-Diaz, M.; Diamond, D.; Smyth, M. R.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, *251*, 149.
167. Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S.; Alonso-Chamarro, J.; Bartrolí, J.; Garcia-Raurich, J.; *Anal. Sci.* **1992**, *8*, 19.
168. Bartroli, J.; Alerm, L.; Fabry, P.; Siebert, E.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 102.
169. Diamond, D.; Forster, R.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, *276*, 75.
170. Nyman, J.; Ivaska, A.; *Talanta* **1993**, *40*, 95.
171. Frenzel, W.; Liu, C.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1992**, *342*, 276.
172. Lutze, O.; Ross, B.; Cammann, K.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1994**, *350*, 630.
173. Hattori, T.; Kato, M.; *Anal. Sci.* **1995**, *11*, 285.
174. Attiyat, A.; Christian, G.; McDonough, J.; Strzelbicka, B.; Goo, M. J.; *Anal. Lett.* **1993**, *26*, 1413.
175. Rizov, I.; Ilcheva, L.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *311*, 175.
176. Elnemma, E.; *Anal. Lett.* **1994**, *27*, 1863.
177. Viteri, F. J. S.; Diamond, D.; *Analyst* **1994**, *119*, 749.
178. Alegret, S.; Garcia-Raurich, J.; Porcel, C. I.; Martínez-Fabregas, E.; Martorell, D.; *Quím. Anal.* **1994**, *13*, 176.
179. Hassan, S. S.; Badr, I. H.; *Talanta* **1994**, *41*, 523.
180. Florido, A.; Bachas, L. G.; Valiente, M.; Villaescusa, I.; *Analyst* **1994**, *119*, 2421.
181. Ortuño, J. A.; Pedreño, C. S.; Bobadilla, R. F.; *Talanta* **1994**, *41*, 627.
182. Alvares-Ribeiro, L. M. B. C.; Machado, A. A. S. C.; *Analyst* **1997**, *122*, 1435.
183. Hassan, S. S.; Zawawi, F. M.; Marzouk, S. A.; Elnemma, E. M.; *Analyst* **1992**, *117*, 1683.
184. Hongbo, C.; *Talanta* **1993**, *40*, 1445.
185. Bates, M. R.; Cardwell, T.; Cattrall, R.; Deady, L.; Gregorio, C. G.; *Talanta* **1995**, *42*, 999.
186. Hauser, P. C.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, *278*, 227.
187. Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; Souto, M. R. S.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, *358*, 657.
188. Ferreira, A. M. R.; Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; *Aust. J. Soil Res.* **1996**, *34*, 503.
189. Martelli, P. B.; Neto, J. A. G.; Zagatto, E. A. G.; Brienza, S. M. B.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Lima, J. L. F. C.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *317*, 239.
190. Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Sales, M. G. F.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1996**, *14*, 931.
191. Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; Souto, M. R.; *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 704.
192. Alçada, M. N.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1995**, *13*, 459.
193. Lopes, T. I. M. S.; Rangel, A. O. S. S.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 122.
194. Araújo, A. N.; Etxebarria, M. B.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Pérez-Olmos, R.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 35.
195. Neto, J. A. G.; Nogueira, A. R. A.; Bergamin Filho, H.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *285*, 293.
196. Chamarro, J. A.; Bartroli, J.; Jun, S.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Analyst* **1993**, *118*, 1527.
197. Jun, S.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **1994**, *8*, 93.
198. Jun, S.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Rev. Port. Farm.* **1993**, *XLIII*, 27.
199. Montenegro, M. C. B. S. M.; Lima, J. L. F. C.; Mattos, I.; Neto, G. O.; Neto, J. A. G.; Zagatto, E. A. G.; *Talanta* **1993**, *40*, 1563.
200. Matuszewski, W.; Trojanowicz, M.; Meyerhoff, M.; Moszczynska, A.; Moroz, E. L.; *Electroanalysis* **1993**, *5*, 113.
201. Hassan, S. S.; Marzouk, S.; *Electroanalysis* **1993**, *5*, 855.
202. Daunert, S.; Florido, A.; Bricker, J.; Dunaway, W.; Bachas, L.; Valiente, M.; *Electroanalysis* **1993**, *5*, 839.
203. Viteri, F. J. S.; Diamond, D.; *Electroanalysis* **1994**, *6*, 9.
204. Hassan, S. S.; Elnemma, E.; Hamada, M.; *Electroanalysis* **1995**, *7*, 656.
205. Lee, K. S.; Shin, J. H.; Han, S. H.; Cha, G. S.; Shin, D. S.; Kim, H. D.; *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 3151.
206. Jyo, A.; Ishibashi, I.; *J. Flow Injection Anal.* **1993**, *10*, 269.
207. Forster, R. J.; Diamond, D.; *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1721.
208. Júnior, L. R.; Neto, G. O.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Silva, V. L.; *Anal. Sci.* **1997**, *13*, 589.
209. He, Y. M.; Pan, C. H.; Xing, S. B.; *Fenxi-Huaxue* **1994**, *22*, 67.
210. Buchheister, B. M.; Herna, K.; Schindler, M. M.; Schindler, J. G.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1993**, *347*, 141.
211. Palsson, B. O.; Shen, B. Q.; Meyerhoff, M. E.; Trojanowicz, M.; *Analyst* **1993**, *118*, 1361.
212. Ghauri, M. S.; Thomas, J. D. R.; *Anal. Proc.* **1994**, *31*, 181.
213. Walsh, S.; Viteri, F. J. S.; Diamond, D.; *Anal. Proc.* **1995**, *32*, 365.

214. Hamada, M. A.; Moody, G. J.; Thomas, J. D. R.; *Anal. Proc.* **1993**, 30, 146.
215. Jurkiewicz, M.; Solé, S.; Almirall, J.; García, M.; Alegret, S.; Martínez-Fàbregas, E.; *Analyst* **1996**, 121, 959.
216. Efstathiou, C. E.; Hadjiioannou, T. P.; *Rev. Anal. Chem.* **1995**, 14, 253.
217. Orellana, A.; Martínez-Fàbregas, E.; Alegret, S.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1993**, 11, 921.
218. Solich, P.; Macheras, P. E.; Koupparis, M. A.; *J. Pharm. Sci.* **1995**, 84, 889.
219. de Backer, B. L.; Nagels, L. J.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, 290, 259.
220. Alexander, P. W.; Benedetto, L. T.; Dimitrakopoulos, T.; Hibbert, D. B.; Ngila, J. C.; Sequeira, M.; Shiels, D.; *Talanta* **1996**, 43, 915.
221. Zuther, F.; Ross, B.; Cammann, K.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 313, 83.
222. Alonso, J.; Baró, J.; Bartrolí, J.; Sánchez, J.; del Valle, M.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 308, 115.
223. Hassan, S. S. M.; Marzouck, S. A. M.; *Talanta* **1994**, 41, 891.
224. Dimitrakopoulos, T.; Alexander, P. A.; Hibbert, D. B.; *Electroanalysis* **1996**, 8, 438.
225. Dimitrakopoulos, T.; Farrell, J. R.; Iles, P. J.; *Electroanalysis* **1996**, 8, 391.
226. Hartnett, M.; Diamond, D.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 1909.
227. Liu, R.; Sun, B.; *Anal. Lett.* **1997**, 30, 1255.
228. Masadome, T.; Imato, T.; Itoh, S.; Asanon, Y.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, 357, 901.
229. Saad, B.; Ariffin, M. M.; Saleh, M. I.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, 338, 89.
230. di Benedetto, L. T.; Dimitrakopoulos, T.; Farrel, J. R.; Iles, P. J.; *Talanta* **1997**, 44, 349.
231. Shen, H.; Cardwell, T. J.; Cattrall, R. W.; *Analyst* **1997**, 122, 89.
232. Rangel, A. O. S. S.; Toth, I. V.; *Anal. Sci.* **1996**, 12, 887.
233. De-Backer, B. L.; Nagels, L. J.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 4441.
234. Ozawa, S.; Miyagi, H.; Shibata, Y.; Oki, N.; Kunitake, T.; Keller, W. E.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 4149.
235. Farrell, J. R.; Iles, P. J.; Dimitrakopoulos, T.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 335, 111.
236. Alexander, P. W.; Dimitrakopoulos, T.; Hibbert, D. B.; *Field Anal. Chem. Technol.* **1996**, 1, 31.
237. Hassan, S. S. M.; Mahmoud, W. H.; Othman, A. H. M.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 332, 39.
238. Uhlig, A.; Dietrich, F.; Lindner, E.; Schnakenberg, U.; Hintsche, R.; *Sens. Actuators* **1996**, B34, 252.
239. Farrell, J. R.; Iles, P. J.; Dimitrakopoulos, T. *Anal. Chim. Acta* **1996**, 334, 133.
240. Jurkiewicz, M.; del Valle, M.; Alegret, S.; Martínez-Fàbregas, E.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 327, 243.
241. Júnior, L. R.; Neto, G. O.; Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; *Quim. Nova* **1996**, 19, 549.
242. Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; Souto, M. R. S.; *Rev. Port. Farm.* **1996**, XLVI, 82.
243. Lima, José L. F. C.; Montenegro, M. Conceição B. S. M.; Sales, M. Goreti F.; *J. Pharm. Sci.* **1997**, 86, 1234.
244. Lima, José L. F. C.; Delerue-Matos, Cristina, Vaz, M. Carmo V. F.; *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 1386.
245. Martelli, P. B.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Lapa, R. A. S.; *Quim. Nova* **1998**, 21, 133.
246. Badr, I. H. A.; Meyerhoff, M. E.; Hassan, S. S. M.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 310, 211.
247. Stewart, J. W. B.; Ruzicka, J.; Bergamin Filho, H.; Zagatto, E. A.; *Anal. Chim. Acta* **1976**, 81, 371.
248. Petersson, Bo A.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, 209, 239.
249. Alegret, S.; Martínez-Fàbregas, E.; *Biosensors* **1989**, 4, 287.
250. Krawczyk, T. K.; Trojanowicz, M.; Lewenstam, A.; *Talanta* **1994**, 41, 1229.
251. Maccà, C.; Soldà, L.; Palma, G.; *Anal. Lett.* **1995**, 28, 1735.
252. Carlsen, M.; Johansen, C.; Min, R.W.; Nielsen, J.; Meier, H.; Lantreibecq, F.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 279, 51.
253. Zulfikar, Hibbert, D. B.; Alexander, P.; *Electroanalysis* **1995**, 7, 722.
254. Qu, H.; Zhang, X.; Zhang, S.; *Food Chem.* **1995**, 52, 187.
255. Martorell, D.; Fabregas, E. M.; Bartroli, J.; Alegret, S.; Minh, C. T.; *Sens. Actuators B* **1993**, 15-16, 448.
256. Hara, H.; Matsumoto, S.; *Analyst* **1994**, 119, 1839.
257. Meier, H.; Lantreibecq, F.; Minh, C. T.; *J. Aut. Chem.* **1992**, 14, 137.
258. Ivnikskii, D. M.; Rishpon, J.; *Biosensors e Bioelectronics* **1994**, 9, 569.
259. Lisdat, F.; Miura, N.; Yamazoe, N.; *Chem. Lett.* **1994**, 1737.
260. di Benedetto, L. T.; Dimitrakopoulos, T.; *Electroanalysis* **1997**, 9, 179.
261. Stein, K.; Shi, R.; Scwedt, G.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, 336, 113.
262. Stein, K.; *Chemie Labor Biotechnik* **1993**, 44, 453.
263. Ramsing, A. U.; Janata, J.; Ruzicka, J.; Levy, M.; *Anal. Chim. Acta* **1980**, 118, 45.
264. Haemmerli, A.; Janata, J.; Brown, H. M.; *Anal. Chim. Acta* **1992**, 144, 115.
265. Shiono, S.; Hanazato, Y.; Nakako, M.; Maeda, M.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, 202, 131.
266. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartrolí, J.; Domenech, J.; Jaffrezic-Renault, N.; Duvault-Herrera, Y.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, 222, 373.
267. Alegret, S.; Alonso, J.; Bartrolí, J.; Del Valle, M.; Jaffrezic-Renault, N.; Duvault-Herrera, Y.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 231, 53.
268. Brand, U.; Reinhardt, B.; Rütther, F.; Scheper, T.; Schügerl, K.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 238, 201.
269. van der Wal, P. D.; Sudhölter, E. J. R.; Reinhoudt, D. N.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 245, 159.
270. Cobben, P. L. H. M.; Egberink, R. J. M.; Bomer, J. G.; Sudhölter, E. J. R.; Bergveld, P.; Reinhoudt, D. N.; *Anal. Chim. Acta* **1991**, 248, 307.
271. Alegret, S.; Bartroli, J.; Jorquera, C. J.; Valle, M.; Dominguez, C.; Esteve, J.; Bausells, J.; *Sens. Actuators B* **1992**, 7, 555.
272. Bartroli, J.; Alerm, L.; Raurich, J.G.; Masip, J.; *Quim. Anal.* **1994**, 13, 31.
273. Woias, P.; Koch, S.; Muller, E.; Barrow, B.; Cefai, J.; Curtis, G.; Hughes, H.; *Sens. Actuators B* **1993**, 15-16, 68.
274. Muller, H.; Spichermann, A.; *Chem. Anal. [Warsaw]* **1995**, 40, 599.
275. Isquierdo, A.; Luque de Castro, M. D.; *Electroanalysis* **1995**, 7, 505.
276. Karlberg, Bo, Thelander, S.; *Analyst* **1978**, 103, 1154.
277. Brunt, K.; *Analyst* **1982**, 107, 1261.
278. Maeshima, Y.; Inui, T.; Sakai, A.; Henmi, A.; Ito, S.; Asano, Y.; Imato, T.; *J. Flow Injection Anal.* **1992**, 9, 187.
279. Ohura, H.; Imato, T.; Yamasaki, S.; Ishibashi, N.; *Bunseki Kagaku* **1994**, 43, 31.
280. Ohura, H.; Imato, T.; Yamasaki, S.; *Bunseki Kagaku* **1996**, 45, 689.
281. Ohura, H.; Imato, T.; Yamasaki, S.; Ishibashi, N.; *Talanta* **1996**, 43, 943.
282. Alexander, P. W.; Trojanowicz, M.; Haddad, P. R.; *Anal. Lett.* **1984**, 17, 309.
283. Alexander, P. W.; Haddad, P. R.; Trojanowicz, M.; *Anal. Chem.* **1984**, 56, 2417.
284. Frenzel, W.; Liu, C.Y.; Oleksy-Frenzel, J.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, 233, 77.
285. Hai-Hussein, A. T.; Christian, G. D.; *Anal. Lett.* **1986**, 19, 825.
286. Ngila, J. C.; Alexander, P.; Hibbert, D. B.; *Electroanalysis* **1994**, 6, 990.

287. Trojanowicz, M.; Martin, G. B.; Meyerhoff, M. E.; *Chem. Anal. [Warsaw]* **1994**, *41*, 521.
288. Fatibello-Filho, O.; Nobrega, J. A.; Guaritá-Santos, A. J. M.; *Talanta* **1994**, *41*, 731.
289. Chen, Z. L.; Alexander P. W.; *Electroanalysis* **1997**, *9*, 141.
290. Chen, Z. L.; Alexander P. W.; *J. Chromatogr.* **1997**, *758*, 227.
291. Chen, Z.; Alexander P. W.; *Anal. Chim. Acta* **1996**, *332*, 187.
292. Zhang, Y.; Wu, J.; Wang, E.; *Electroanalysis* **1993**, *5*, 863.
293. Bychkov, E.; Bruns, M.; Klewe-Nebenius, H.; Pfenning, G.; Raptis, K.; Hoffmann, W.; Ache, H. J.; *Sens. Actuators* **1995**, *B26-27*, 384.
294. Hibbert, D. B.; Alexander, P. W.; Rachmawati, S.; Caruana, S. A.; *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 1015.
295. Trojanowicz, M.; Matuszewski, W.; Hulanicki, A.; *Anal. Chim. Acta* **1982**, *136*, 85.
296. Trojanowicz, M.; Matuszewski, *Anal. Chim. Acta* **1983**, *151*, 77.
297. Coetzee, J. F.; Gunaratna, C.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 650.
298. van Staden, J. F.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1986**, *325*, 247.
299. van Staden, J. F.; *Anal. Lett.* **1986**, *19*, 1407.
300. van Staden, J. F.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *179*, 407.
301. van Staden, J. F.; *Analyst* **1986**, *111*, 1231.
302. van Staden, J. F.; Wagener, C. C. P.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, *197*, 217.
303. van Staden, J. F.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1987**, *328*, 68.
304. Lockridge, J. E.; Fortier, N. E.; Schmuckler, G.; Fritz, J. S.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, *192*, 41.
305. van Staden, J. F.; *Anal. Proceedings* **1987**, *24*, 331.
306. van Staden, J. F.; *Analyst* **1987**, *112*, 595.
307. van Staden, J. F.; *Analyst* **1988**, *113*, 885.
308. van Staden, J. F.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1988**, *331*, 594.
309. van Staden, J. F.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1988**, *332*, 157.
310. Lima, J. L. F. C.; Rangel, A. O. S. S.; *J. Food Comp. Anal.* **1989**, *2*, 356.
311. van Staden, J. F.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *219*, 55.
312. Trojanowicz, M.; Pobozy, E.; Meyerhoff, M. E.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *222*, 109.
313. van Staden, J. F.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1989**, *333*, 226.
314. Frenzel, W.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1989**, *335*, 931.
315. Nyasulu, F.; *Anal. Chim. Acta* **1989**, *220*, 287.
316. van Staden, J. F.; *Analyst* **1992**, *117*, 51.
317. Altunbulduk, T.; Kocker, H. M.; Frenzel, W.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 593.
318. Frenzel, W.; Rauterberger-Wulff, A.; Schepers, D.; *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1995**, *353*, 123.
319. Hitchman, M. L.; Nyasulu, F. W. M.; *Talanta* **1993**, *40*, 1449.
320. Luca, G. C.; Reis, B. F.; Zagatto, E. A. G.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Araújo, A. N.; Lima, J. L. F. C.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *366*, 193.
321. Frant, U. S.; Ross, J. W.; *Ger. Offen* 1598453, **1965**.
322. Bailey, P. L.; *Analysis with Ion-Selective Electrodes*, Heyden & Son Lda., London 1976.
323. Serjeant, E. P.; *Potentiometry and Potentiometric Titrations*, John Wiley and Sons 1984.
324. Bergveld, P.; *IEEE Biomed. Eng. BME-19*, **1970**, 70.
325. Valcárcel, M.; Castro, M. L.; *Quim. Anal.* **1983**, *1*, 201.
326. Magalhães, J. M. C. S.; Machado, A. A. S. C.; *Port. Electrochim. Acta* **1991**, *9*, 431.
327. Cammann, K.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1988**, *329*, 691.
328. Frenzel, W. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1988**, *329*, 689.
329. Machado, A. A. S. C.; *Analyst* **1994**, *119*, 2263.
330. Farmacopeia Portuguesa, VI Edição Oficial, Lisboa 1997.
331. Ruzicka, J.; Hansen, E. H.; *Flow Injection Analysis*, John Wiley and Sons, Nova Iorque 1988.
332. Ruzicka, J.; Marshall, G. D.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *237*, 329.
333. Christian, G. D.; *Analyst* **1994**, *119*, 2309.
334. Reis, B. F.; Giné, F.; Zagatto, E. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Lapa, R. A. S.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 129.