

PROCESSOS AUTOMÁTICOS DE TITULAÇÃO BASEADOS EM SISTEMAS DISCRETOS E DE FLUXO - EVOLUÇÃO AO LONGO DOS TEMPOS

Cristina V. Almeida - *Faculdade de Ciências da Saúde, UFP*
Professora Auxiliar | calmeida@ufp.pt

Carla Moutinho - *Faculdade de Ciências da Saúde, UFP*
Professora Auxiliar | carlam@ufp.pt

Carla Matos - *Faculdade de Ciências da Saúde, UFP*
Professora Auxiliar | cmatos@ufp.pt

Victor Balcão - *Faculdade de Ciências da Saúde, UFP*
Professor Auxiliar | vbalcao@ufp.pt

■ ABSTRACT

The continuous necessity of create new analytical methods and to adapt them to the increasing demands of control and monitoring have promote the appearance and development of many areas of analytical chemistry, as well as the interest about automatization of methods of analysis. Automatic methods of analysis had assumed a great importance, namely, in clinical chemistry and in a level of the environmental control. The automatic needs pass, also, for the titrations, as a result of a crescent search for this king of analysis in samples of different origins. So, in this article is doing a revision about the titration systems (discrete and automatic) described, until date, in the literature.

■ RESUMO

A necessidade contínua de criar novos métodos analíticos e de os adaptar às crescentes exigências de controlo e monitorização tem promovido o aparecimento e desenvolvimento de muitas áreas da química analítica, assim como o interesse pela automatização dos métodos de análise. Métodos automáticos de análise têm assumido grande importância, nomeadamente, na química clínica e ao nível do controlo ambiental. A necessidade de automatização passa, igualmente, pelas titulações, como resultado de uma crescente procura deste tipo de análise em amostras de diversas origens. Assim, neste artigo é feita uma revisão sobre os sistemas (discretos e automáticos) de titulação descritos, até à data, na literatura.

I. TITULAÇÃO. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Muitos procedimentos realizados na antiguidade envolviam a adição de uma substância a outra até a mistura adquirir características adequadas. Consequentemente, é provável que procedimentos similares às actuais titulações tenham sido aplicados com o objectivo de, por exemplo, determinar o grau de pureza de substâncias de valor comercial ou detectar a sua adulteração (Kolthoff e Elving, 1975).

Surpreendentemente, não existem registos na literatura do uso de procedimentos de titulação até meados do século XVII, os quais, porém, se tornaram de uso geral no início do século XVIII. Em meados do século XIX, a análise por titulação constituiu-se como um ramo distinto dentro da química analítica, e a sua importância aumentou muito após a publicação dos livros

48 de texto de Mohr, tendo-se tornando no procedimento analítico mais extensivamente usado (Kolthoff e Elving, 1975).

Segundo a IUPAC (Irving e Freiser, 1977), uma titulação consiste na determinação de uma espécie química A (titulado) por adição de incrementos de uma espécie química B (titulante). Para tal é necessário a existência de um meio de reconhecimento do ponto no qual toda a espécie A tenha reagido, o que permite que a quantidade de A seja encontrada, conhecida que seja a razão de reacção entre A e B pela estequiometria ou de outra forma, a partir do conhecimento da quantidade de B adicionada até esse ponto. O processo reverso – adição de quantidades de A a B – é raramente aplicado, excepto em titulações de padronização. A existência de uma reacção completa não é uma condição sempre cumprida. O reagente adicionado pode meramente servir como um diluente (titulações por diluição) ou pode acontecer que a reacção não seja completa (titulações cinéticas) (Kolthoff e Elving, 1975).

As vantagens da titulação relativamente à avaliação instrumental directa de uma propriedade físico-química são a facilidade de execução, a possibilidade de conferir especificidade à determinação através do ajuste de condições, a adaptabilidade a uma grande gama de concentrações das amostras e a simplicidade na interpretação dos resultados. Provavelmente, uma das mais importantes vantagens sobre a análise instrumental directa é o facto da titulação ser um método absoluto, não necessitando, portanto, de recorrer a uma prévia calibração (Kolthoff e Elving, 1975). As titulações são normalmente consideradas como lentas; contudo, são mais precisas que as medidas directas, porque a medida de um volume de reagente e a sua velocidade de adição podem, normalmente, ser realizadas de forma mais reprodutível do que uma medida de intensidade de cor, corrente eléctrica ou potencial. O uso do método de Gran (e de outros métodos de linearização) e de métodos derivativos permitiram aumentar o grau de exactidão na localização dos pontos finais e, igualmente, reduzir a quantidade de dados que é preciso recolher, diminuindo assim o tempo de execução da titulação (Ruzicka et al, 1977). Nas suas versões típicas, o equipamento necessário para efectuar titulações é normalmente mais barato que o utilizado nas determinações directas porque a indicação do ponto de equivalência não necessita de um detector muito selectivo, uma vez que se procura, não o valor absoluto, mas o ponto de máxima variação na intensidade de cor, no potencial, ou noutra propriedade físico-química.

O trabalhoso processo de recolha dos dados necessários para o traçado das curvas de titulação e as demoradas operações associadas ao modo discreto de realizar as titulações são os principais inconvenientes dos processos manuais. Este é, possivelmente, a razão pela qual as titulações são normalmente realizadas apenas quando as medidas directas não dão resultados aceitáveis (Ruzicka et al, 1977).

II. MÉTODOS AUTOMÁTICOS

A necessidade contínua de criar novos métodos analíticos e de os adaptar às crescentes exigências de controlo e monitorização tem promovido o aparecimento e desenvolvimento de muitas áreas da química analítica, assim como o interesse pela automatização dos métodos de análise. Métodos automáticos de análise têm assumido grande importância, nomeadamente, na química clínica e ao nível do controlo ambiental. A necessidade de automatização passa, igualmente, pelas titulações, como resultado de uma crescente procura deste tipo de análise em amostras de diversas origens.

A utilização de várias terminologias referentes aos métodos automáticos de análise levou à elaboração pela IUPAC (Kingston e Kingston, 1994) de uma série de definições que distingue e especifica as características essenciais desses métodos, de forma a esclarecer diversos conceitos e termos, nomeadamente, a distinção entre mecanização, instrumentação e automatização e entre sistemas automáticos e automatizados.

De acordo com a IUPAC (Kingston e Kingston, 1994), sistemas automáticos são aqueles que permitem que uma série de tarefas seja realizada, durante um determinado processo, sem intervenção humana. Estes sistemas não tomam decisões, e a sequência de operações é sempre idêntica. Não possuem, portanto, um sistema de retroalimentação.

Ainda segundo a IUPAC (Kingston e Kingston, 1994), sistemas automatizados serão aqueles que são regulados por um sistema de retroalimentação, sem intervenção humana. Existe uma sequência operacional diferente para cada situação. Estes sistemas são autoajustados, tendo, assim, uma maior independência que os sistemas automáticos.

Os sistemas automáticos de análise são geralmente classificados em duas categorias, isto é, métodos discretos ou métodos de fluxo (Valcarcel e Luque de Castro, 1987; Willem e Linden, 1994).

Nos métodos discretos, cada amostra é tratada como uma unidade separada, sendo colocada num recipiente individual onde as etapas químicas usuais como adição de reagentes, diluição e mistura, são realizadas de um modo bastante semelhante ao qual se recorre nos métodos manuais. Os analisadores discretos mimetizam não só a sequência, mas, também, o conceito de operações individuais realizadas durante um processo manual, tornando-se assim como que a versão mecanizada do processo manual. São normalmente sistemas complexos, com muitos componentes móveis, alguns de elevada precisão, o que os torna bastante onerosos. Os analisadores discretos têm a vantagem de apresentarem uma grande precisão e permitirem que o consumo de reagentes seja apenas o necessário para cada determinação.

Os sistemas de análise em fluxo incluem os processos nos quais, para a realização das diversas determinações, as amostras são sucessivamente introduzidas no mesmo percurso do analisador, sendo o reagente adicionado em

50 pontos estratégicos desse percurso, ocorrendo a mistura e reacção enquanto a amostra se desloca até ao detector, onde o sinal é monitorizado. A ideia de impedir, ou minimizar, a mistura entre amostras adjacentes durante o percurso no analisador, levou a Skeggs (1966) a introduzir a estratégia da segmentação, que consiste em dividir o fluxo em numerosos segmentos separados por bolhas de ar. Os sistemas de fluxo segmentados por ar, tal como os analisares discretos, emitem as operações manuais, uma vez que assentam na obtenção de um estado estacionário e de uma mistura homogénea. Têm desvantagens em relação ao sistema de fluxo não segmentado, entre as quais se destaca: conduzem à obtenção de um fluxo de mais difícil controlo, requererem equipamento de maior complexidade, existem problemas de eficiência dos dispositivos de separação em contínuo e conduzem a menores ritmos de amostragem.

As operações em fluxo são de fácil automatização uma vez que substituem a manipulação mecânica de vasos pelo movimento sequencial de líquidos dentro de tubos. Os sistemas são facilmente miniaturáveis, através da utilização de tubos de pequeno diâmetro. As operações em fluxo são, ainda, mais fáceis de controlar no espaço e no tempo, já que os tubos fechados evitam a evaporação dos líquidos, isolam do meio ambiente e o percurso através do qual a solução a medir se desloca é exactamente o mesmo, o que resulta num ambiente de elevada reprodutibilidade na mistura das soluções e formação dos produtos de reacção.

Os sistemas de fluxo são muito versáteis uma vez que, para além das operações de introdução de amostra, diluição, aquecimento, mistura e adição de reagentes – igualmente realizadas pelos analisadores discretos – é possível realizar outras operações, tais como, diálise, destilação, extracção por solventes e outro tipo de separações. Finalmente, as operações em fluxo permitem que a maioria dos detectores e sensores sejam usados de uma forma mais reprodutível do que nas operações discretas.

A razão pela qual os sistemas de fluxo não substituíram, desde logo, os sistemas discretos deveu-se, provavelmente, ao facto de a maioria dos químicos estar habituado a pensar em termos de operações discretas, nas quais uma mistura homogénea é pensada como a única forma reprodutível de apresentar as espécies reactivas juntas e a única forma na qual podem ser feitas medidas reprodutíveis (Ruzicka e Hansen, 1988).

Relativamente à automatização das titulações, é feita, seguidamente, uma revisão sobre os sistemas descritos, até à data, na literatura. A classificação geral usada tem por base a subdivisão dos sistemas em sistemas discretos e sistemas de fluxo. Incluídos nos sistemas automáticos discretos encontram-se aqueles cujo reacção química entre titulante e titulado se realize num vaso de titulação, apesar do sistema poder realizar por fluxo algumas das operações antecedentes ou precedentes. A subdivisão dos sistemas automáticos de fluxo tem por base características operacionais do processo de titulação. Assim, as titulações realizadas por alteração de caudais, por injeção em

fluxo, por injeção sequencial, em sistemas de fluxo multicomutados ou em sistemas multiseringa serão apresentadas separadamente. No entanto, a dificuldade em definir, por vezes, as fronteiras entre as várias estratégias metodológicas, poderá ter originado alguma classificação menos evidente de um determinado sistema de titulação.

■ SISTEMAS AUTOMÁTICOS DE TITULAÇÃO DISCRETOS

A automatização das titulações levou a um enorme desenvolvimento destes métodos de análise. A primeira tentativa da sua automatização terá surgido com o sistema desenvolvido por Ziedel (1914), no qual a adição manual de titulante foi substituída por um sistema electromagnético. Bastantes anos mais tarde, já nos meados do século XX, Lingane (1948a, 1948b) descreveu um sistema automático discreto capaz de realizar uma titulação potenciométrica completa ou de parar a titulação no ponto final (Figura 1).

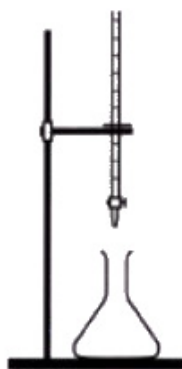


Fig. 1. Sistema de titulação discreto

A automatização dos processos de análise por titulação experimentou grandes progressos nos anos 70, devido à introdução dos microprocessadores (Betteridge et al, 1976; Christiansen et al, 1976). A introdução de buretas de pistão teve, também, grande impacto na automatização das titulações, especialmente as actuadas por um motor de passo. Os microprocessadores podiam efectuar o controlo dessas buretas de pistão com elevada precisão e reprodutibilidade (Dahmen EAMF, 1989).

A preocupação pela redução dos volumes de titulante e de titulado gastos na titulação automático discreta levou ao desenvolvimento de novos sistemas (Sagara et al, 1992; Tan e Xiao, 1997, 1999; Gratzl e Yi, 1993; Colombo et al, 2000).

Tendo por base uma titulação discreta, têm sido propostas diversas estratégias de titulação e formas de simplificar as existentes aumentando o nível de automatização.

Johansson (1974) e Astrom (1977, 1978) propuseram um sistema de titulação a ponto único baseado no facto de uma mistura de ácidos poder ser preparada de forma que quando titulada com uma base forte existisse uma relação linear entre o pH e a quantidade de base adicionada. O sistema usa-

52 do para efectuar estas titulações a ponto único em fluxo contínuo recorria a uma bomba peristáltica e dois canais, de forma a serem misturados caudais iguais de solução tampão e de amostra num vaso de titulação convencional. As medidas eram realizadas no efluente desse vaso.

Pretendendo simplificar os sistemas automáticos de titulação diferencial (Malmstadt e Fett, 1954, 1955), Ramirez e Linares (1992) descreveram um titulador diferencial discreto simples, construído com recurso a equipamento laboratorial simples, para a titulação automática potenciométrica a corrente nula, usando dois eléctrodos indicadores idênticos. Os valores de potencial dos dois eléctrodos representavam dois pontos consecutivos numa curva de titulação, correspondentes à adição de um volume de titulante. O ponto final era indicado pelo ponto máximo ou mínimo que aparecia na curva de primeira derivada, o qual ocorria quando a parte da frente da solução completamente titulada alcançava o ponto médio entre os eléctrodos.

Atendendo ao facto de inúmeras determinações analíticas serem realizadas com base em titulações coulométricas devido às vantagens que lhes são inerentes (por exemplo, o titulante não necessita de ser preparada, padronizada e conservada), Cladera e col. (1990a, 1990b, 1995) desenvolveram um sistema totalmente automático para a sua realização. O titulador permitia que a geração de titulante fosse contínua ou espaçada no tempo, em intervalos de tempo fixos ou variáveis. O sistema foi usado para efectuar titulações ácido/base com geração electrolítica de iões hidróxido ou protões, titulações de precipitação com geração de prata(I) (para determinação de cloretos) e titulações complexométricas com geração de EDTA (para a quantificação de cálcio e magnésio). Foi usada detecção potenciométrica e feita a aplicação a diversos tipos de amostras reais.

O método de Karl-Fisher (K-F) é um método de determinação de H_2O frequentemente usado em análise de rotina e cuja automatização esteve na base do desenvolvimento de alguns sistemas de titulação (Hydranal, 1987; Liang, 1990).

Outro sistema automático de titulação que recorria a um sistema de fluxo associado a um processo discreto de realizar a titulação foi proposto por Hoogendijk (1999). O sistema era constituído por uma bureta de pistão, uma válvula selectora de multiposições e um vaso de titulação, com agitação magnética, contendo um sensor. A válvula selectora permitia a introdução no vaso de titulação de solução de lavagem, de amostra ou de titulante, e a remoção do conteúdo do copo, por alteração do sentido de funcionamento da bureta. Este sistema foi aplicado a titulações directas (ácido/base, complexométricas e de precipitação) e a titulações por retorno.

■ SISTEMAS AUTOMÁTICOS DE TITULAÇÃO EM FLUXO

■ Por alteração de caudais

Um dos trabalhos mais citados, e geralmente considerado como pioneiro na automatização das titulações usando sistemas de fluxo, foi desenvolvido por

Blaedel e Laessig (1964). Estes autores descreveram um sistema de fluxo contínuo no qual a amostra era bombeada a um caudal constante e o titulante a um caudal variável, processo pelo qual se determinava a relação entre titulante e amostra. A solução resultante passava, depois, por uma unidade de mistura (câmara com agitação) em direcção ao detector (Figura 2).

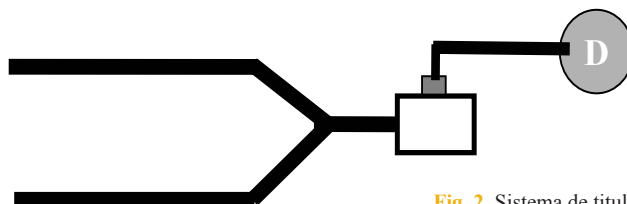


Fig. 2. Sistema de titulação em fluxo com alteração de caudais

Ajustando a velocidade da bomba que propulsionava o titulante, conseguia-se obter uma mistura com uma composição correspondente ao ponto de equivalência. Nesse ponto, o valor correspondente à velocidade da bomba era relacionado com a concentração da amostra. O sistema de controlo monitorizava o potencial do eléctrodo indicador, comparado-o com um potencial pré-seleccionado (correspondente ao potencial do ponto de equivalência), e actuava no controlo da velocidade da bomba do reagente de forma a levar a que o potencial do eléctrodo indicador atingisse o valor pré-seleccionado. As características do titulador foram avaliadas efectuando a titulação de amostras contendo ferro(II), com cério(IV) como titulante. O processo requeria que, em primeiro, fosse obtida a curva completa de titulação, de forma a se poder seleccionar as condições para um tipo de titulação particular. Após a selecção do valor do potencial correspondente ao ponto de equivalência, a titulação podia ser realizada. Tendo igualmente por base uma titulação a ponto final, surgiu o sistema para monitorização automática em contínuo desenvolvido por Van Osch e Griepink (1977).

Um sistema baseado no princípio da titulação por gradiente foi desenvolvido por Fleet e Ho (1974), envolvendo a monitorização da solução resultante após mistura da solução de amostra com a solução de titulante, sendo a concentração do titulante aumentada na forma de um gradiente linear. Este gradiente era obtido por uma pré-mistura, realizada por adição da solução mãe de titulante, contida num recipiente, a outro recipiente contendo água. A partir deste, o titulante era misturada com um fluxo contínuo de amostra. O gradiente de concentração podia ser obtido com o titulante ou com a amostra, podendo haver um aumento ou uma diminuição da concentração. Os caudais de amostra e de titulante, mantidos constantes, passavam por um reactor de mistura e por um eléctrodo selectivo de ião. A determinação do ponto final da titulação obtida para cada concentração de amostra era feita pelo intervalo de tempo decorrido até ao ponto final, o qual servia para a calibração do sistema. O mesmo autor (Bound e Fleet, 1980) sugeriu depois uma modificação do sistema anteriormente descrito passando o gradiente de titulante a ser produzido num recipiente contendo já a amostra.

54 Powell e Fogg (1991) estudaram também o método de titulação por gradiente (Fleet e Ho, 1974; Bound e Fleet, 1980) e aplicaram-no a titulações espectrofotométricas autoindicadas, usando um tanque de esvaziamento agitado no qual eram produzidos gradientes lineares de concentração. Esta técnica de gradiente foi utilizada para efectuar titulações em que à amostra, colocada dentro do recipiente, era adicionado o titulante, usando uma bomba, seguindo a mistura para um detector espectrofotométrico. Este sistema foi avaliado com a titulação de salicilato de ferro(III) com EDTA, ferro(II) com permanganato, ferro(III) com tiocianato e 2,4-dinitrofenol com hidróxido.

Nagy e col. (1975, 1977) desenvolveram uma técnica de titulação em contínuo com adição de titulante triangularmente programada. Nesta, a concentração de titulante era, em primeiro lugar, aumentada linearmente e, depois, diminuída de uma forma simétrica, obtendo-se duas curvas de titulação com dois pontos finais, a que correspondia a um determinado intervalo de tempo. Uma vez que o caudal da amostra era mantido constante, esse intervalo de tempo era proporcional à concentração, sendo a relação linear entre o intervalo de tempo e a concentração da amostra a base para a calibração do sistema. Esta calibração era necessária devido à existência de desvios experimentais relativamente ao modelo teórico, dos quais o efeito de *tailing* (causado pela dispersão axial), dado distorcer o perfil das curvas de titulação, seria, provavelmente, o principal responsável (Spohn et al, 1986).

Bezgeh e col. (1984) utilizaram a transformada de Fourier de forma a encontrar um método matemático que descrevesse melhor o processo de titulação triangularmente programado (anulando o efeito *tailing*) e observaram algumas diferenças entre as curvas de calibração teóricas e experimentais, indicando pequenas não linearidades matemáticas no sistema estudado. A adição do titulante à amostra ocorria num vaso de gotejamento, onde se pretendia que a mistura fosse instantânea e completa, e a reacção química ocorresse de forma imediata e quantitativa. Contudo, se tal não acontecesse, a calibração do sistema eliminava quaisquer erros (Buchholz e Buschmann, 1990). O sistema desenvolvido foi usado em diversas aplicações (Nagy et al, 1977; Fehér et al, 1988a, 1988b, 1993, 1995, 1998; Buchholz e Buschmann, 1990). Nagy e col. (1979) usaram diferentes técnicas de avaliação das curvas de titulação obtidas com os diferentes sistemas de detecção e estudaram a linearização das curvas de titulação com detecção potenciométrica e com detecção fotométrica.

Calatayud e col. (1987) descreveram um sistema de fluxo para efectuar a titulação potenciométrica de ácidos e bases fracas em contínuo baseado na mistura do titulado, a um caudal constante, com o titulante, a um caudal variável (por regulação manual). As medidas de pH eram feitas numa célula de fluxo inserida na montagem após um reactor tubular e, segundo os autores, o sistema permitia a avaliação do pH e do caudal de titulante usando um método de linearização de curvas de titulação (Midgley e McCallum, 1978) modificado para o efeito. Uma estratégia semelhante tinha já sido proposta por Abicht (1980) ao descrever um “titulador dinâmico” baseado num siste-

ma de fluxo contínuo onde o titulante e a amostra (colocada num amostrador automático donde era transferida para uma bureta) eram continuamente misturados numa microcélula. O caudal do titulante era mantido constante enquanto o caudal da amostra aumentava linearmente ao longo do tempo.

Marcos e col. (1992a) descreveram também a realização de titulações automáticas ácido/base recorrendo a gradientes de caudais, com controlo desses caudais a ser realizado através de microcomputador (gradientes programados de caudais). Os mesmos autores aplicaram o sistema automático de titulação desenvolvido na execução de titulações baseadas em reacções de complexação e de oxidação/redução, usando detecção espectrofométrica (Marcos et al, 1992b), e na determinação automática de constantes de Michaelis-Menten (Marcos et al, 1993).

O facto das titulações baseadas em variações de caudal (Marcos et al, 1992a, 1992b) e a maioria das titulações coulométricas em gradiente de concentração (Nagy et al, 1975, 1977, 1979, 1986, 1998; Bezegh et al, 1984; Buchholz e Buschmann, 1990; Fehér et al 1988a, 1988b, 1993, 1995) desenvolvidas necessitarem de calibração prévia e terem um intervalo de determinação limitado pela concentração máxima do reagente titulante levou a que Fuhrmann e Spohn (1993a) desenvolvessem titulações volumétricas em fluxo (com um ou dois gradientes de concentração gerados de forma triangular), sem vasos de gotejamento, antes com reactores tubulares enrolados, baseadas em gradientes de concentração gerados de forma exacta, com uma calibração simplificada e com um maior intervalo operacional de determinação.

Na titulação em fluxo com um único perfil de concentrações triangular, o titulante confluía com o diluente de forma a originar um gradiente com a forma de dois triângulos isósceles invertidos um relativamente ao outro. Após mistura, o caudal resultante era constante, mas não o fluxo de massa do titulante. O titulante formado era continuamente misturado com a amostra, introduzida a um caudal constante, e a mistura seguia para um reactor tubular. A concentração da amostra era calculada a partir da diferença de tempo entre os dois pontos finais obtidos, respectivamente, no ramo ascendente e descendente do gradiente de concentração do titulante. Os valores experimentais, quando comparados com os valores calculados para diferentes tempos de titulação, apresentaram diferenças, atribuídas, mais uma vez, à dispersão axial, uma vez que esta deforma o gradiente de concentração gerado. Os factores de correcção estabelecidos correspondiam ao declive da recta obtido relacionando os intervalos de tempo experimentais e os determinados teoricamente. Se a dispersão axial fosse muito pequena os factores de correcção aproximar-se-iam da unidade, o que tornaria possível a obtenção de titulações absolutas (sem prévia calibração). Em muitos casos era impossível a avaliação da dispersão axial, o que obrigava à execução de uma calibração. As titulações em fluxo com dois gradientes de concentração surgiram com base no facto de uma configuração simplificada do sistema originar uma diminuição da dispersão axial. Assim, a mistura directa de um perfil triangular de titulante com um perfil triangular inverso de amostra deveria, segundo os

56 autores, originar titulações em fluxo exactas. Os gradientes de concentração do titulante e da amostra eram obtidos por alteração do caudal individual, mantendo-se constante o caudal resultante. Os autores mostraram que, de uma forma aproximada, a concentração da amostra poderia ser calculada a partir da diferença de tempo entre os dois pontos finais obtidos no ramo ascendente e descendente da concentração do titulante.

A análise por injeção em fluxo baseada em perfis de concentração programados de forma triangular foi também proposto pelos mesmos autores (Fuhrmann e Spohn, 1993a). Os mesmos autores (Fuhrmann e Spohn, 1993b), propuseram ainda um sistema de titulação em microfluxo totalmente automático para efectuar titulações volumétricas e coulométricas.

Becker e col. (1996) usaram o processo de titulação coulométrica com gradiente de titulante gerado de forma triangular (Fuhrmann e Spohn, 1993a) em combinação com um sistema de difusão de gás para, de forma exacta e sensível, monitorizar amónio/amoníaco e sulfureto/sulfureto de hidrogénio em lixiviados de resíduos municipais, usando como titulante hipobromito, gerado electroliticamente. Num outro trabalho, os mesmos autores (He, Fuhrmann e Spohn, 2000a), descreveram as condições necessárias para que os factores de correcção se tornassem dispensáveis, permitindo a realização de titulações coulométricas em microfluxo sem calibração. O processo coulométrico em fluxo foi igualmente usado para efectuar a titulação bromométrica de baixas concentrações de hidrazina e amónia (He, Fuhrmann e Spohn, 2000b).

Katsumata e col. (1999) propôs um processo de realizar titulações em fluxo baseado na relação dos caudais das soluções titulante e amostra. A amostra era bombeada a um caudal constante e o caudal da solução titulante era aumentado gradualmente, de forma manual, em intervalos de tempo regulares, medindo-se o sinal analítico (potencial) correspondente a cada caudal. Esse valor de potencial era registado, e permitia obter, a partir da curva de primeira derivada, o caudal correspondente ao ponto final. Desta forma, a partir do conhecimento exacto do caudal, previamente calibrado, de titulante no ponto final podia determinar-se a concentração de amostras, sem calibração. A concentração da amostra era determinada com base na relação de caudais (amostra e titulante) e na concentração de titulante.

Yarnitzky e col. (1993) descreveram um sistema para realizar titulações automáticas baseado na variação exponencial alternada do caudal. O sistema consistia em duas bombas peristálticas, duas válvulas de três vias, um reactor de mistura e um detector. No final, resultavam dois pontos finais relacionáveis com a velocidade de rotação das bombas. Uma vez que os valores encontrados para o intervalo de tempo entre os dois pontos finais se afastavam dos valores teóricos, e que isso se devia ao tempo que decorria desde a mistura até a chegada ao detector, os autores procederam à sua minimização (subtraindo o tempo de chegada ao detector aos tempos de ponto final e diminuindo a velocidade de alteração dos caudais perto do ponto final).

Tornava-se assim possível, segundo os autores, o cálculo da concentração da amostra sem recorrer a uma etapa de pré-calibração, tal como no procedimento de Fuhrmann e Spohn (1993a), e, ao mesmo tempo, eliminarem-se os erros causados pela deterioração dos tubos.

García e col. (1995) apresentaram um sistema para a realização de titulações automáticas em fluxo contínuo baseado no uso de uma bomba peristáltica com velocidade variável para bombear o titulante (a um caudal que ia sendo linearmente aumentado), e outra bomba que operava a um caudal constante e elevado, colocada após o detector. Desta forma, o caudal através da célula espectrofotométrica era mantido constante. Para evitar a realização de uma calibração prévia, os autores implementaram um segundo gradiente diminuindo o caudal do titulante até zero e determinando a diferença de tempo entre os dois pontos finais obtidos (um, durante o aumento do caudal do titulante e, outro, durante a diminuição do mesmo), tal como já tinha sido feito por outros autores (Fuhrmann e Spohn 1993a). Um procedimento similar usando um sistema mais robusto foi descrito por Arnold e col. (1989). O sistema de titulação consistia num analisador de fluxo descontínuo programável, ou mais correctamente um analisador de fluxo diferencial (Cattrall e Scollary, 1995), juntamente com um instrumento protótipo o qual usava como bombas seringas postas a funcionar por dois *cams* (excêntricos). Esta técnica baseava-se na geração cíclica de perfis de concentração usando uma das bombas, colocada no final de linha, para aspirar e uma outra, para bombear, de forma que a diferentes tempos, apenas amostra, reagente ou uma combinação pré-determinada dos dois convergia, via câmara de mistura, para o detector, permitindo realizar titulações simples ou duplas. Os resultados eram obtidos a partir de curvas de calibração, prevendo os autores a sua não utilização quando a exactidão para os resultados pudesse ser menor e se realizasse a titulação dupla. Este sistema foi usado na titulação argentométrica de cloreto usando quer detecção potenciométrica quer condutimétrica. Cardwell e col. (1991) descreveram a aplicação da análise por fluxo descontínuo a titulações ácido/base, usando uma detecção fotométrica baseada na mudança de cor do indicador no ponto final da titulação. Este sistema foi aplicado a outras determinações (Cardwell et al, 1990; Mirzljak et al, 1992; Cardwell et al, 1992; Cardwell et al, 1993; Cardwell et al, 1995).

Saurina e col.(1995a, 1995b) desenvolveram um sistema de fluxo contínuo para efectuar titulações espectrofotométricas em que a solução titulante era gerada em fluxo a partir da mistura de duas soluções tampão diferentes. A sua composição era progressivamente alterada ao longo da titulação por modificação dos caudais das duas soluções tampão e, conseqüentemente, do pH. O caudal total de solução titulante, assim como o caudal de titulado, eram mantidos constantes durante a titulação. Este método foi aplicado ao estudo de equilíbrios ácido/base da 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS) e a estudos de derivatização de aminoácidos com a NQS. Os mesmos autores (Saurina et al, 2000) usaram um sistema de titulação por injeção em fluxo juntamente com análise espectrofotométrica para a determinação de constantes de acidez.

58 Hara e col. (1986) descreveram a construção de um sistema de titulação em fluxo baseado no método de “titulação de Gran a dois-pontos” proposto pelos mesmos (Hara et al, 1984). A característica inovadora do sistema era que o processo de titulação se realizava continuamente, utilizando o princípio da titulação a dois-pontos, no qual a adição de um pequeno excesso de titulante [Ag(I)] era seguida por uma segunda adição de titulante no sistema de fluxo. Assim, após a amostra se misturar completamente com o titulante numa câmara de mistura, a solução resultante seguia para uma célula de fluxo contendo um eléctrodo selectivo de catião prata (Ag_2S). Seguidamente, esta solução era misturada mais uma vez com titulante e enviada para uma segunda célula de fluxo (contendo também um eléctrodo selectivo de Ag_2S).

Estes sistemas de fluxo caracterizam-se por realizarem titulações baseadas na alteração do caudal das soluções (titulante, titulado ou outros reagentes), ou da quantidade de titulante gerada electroliticamente. O gradiente de concentração obtido pode ter um perfil linear, triangular ou exponencial. Estes sistemas permitem a realização de titulações a ponto final ou a obtenção do traçado completo das curvas de titulação, e pode verificar-se que, na sua grande maioria, recorrem a curvas de calibração para a obtenção dos resultados finais. Contudo, alguns autores descrevem ter conseguido evitar de uma forma aproximada a calibração por minimização dos factores responsáveis pelos desvios experimentais em relação a um modelo teórico. Outros descrevem sistemas que, apesar de dispensarem a calibração, não são completamente automáticos, uma vez que recorrem à intervenção manual e à percepção sensorial da aproximação ao ponto de equivalência de forma a diminuir o tempo total da titulação.

■ **Por injeção em fluxo**

Ruzicka e col. (1975) adaptaram a ideia de gradiente dos sistemas de análise por injeção em fluxo de forma a conseguir um desenvolvimento adicional das titulações em contínuo em que o gradiente era criado num fluxo contínuo, não segmentado (titulações FIA) (Ruzicka et al, 1977). Estudos de dispersão em fluxos não segmentados mostraram que era possível obter gradientes de concentração muito reprodutíveis dentro de um segmento de amostra injectado num fluxo transportador. Variando a geometria do trajecto a percorrer pela solução, bem como factores hidrodinâmicos e o volume de amostra, era possível obter padrões de dispersão baixos, médios ou elevados. Os padrões de dispersão elevados foram a base da nova abordagem sobre titulações em fluxo contínuo, sendo a largura do segmento de amostra proporcional à quantidade de titulante consumido. Segundo os autores, as titulações FIA conjugavam as vantagens dos sistemas de fluxo com a vantagem de aumentarem o intervalo operacional de trabalho, devido à resposta logarítmica do sistema (Tyson, 1987). A estratégia das titulações FIA (Ruzicka et al, 1977) consistia na injeção de um determinado volume de amostra, numa solução transportadora (diluyente), que se deslocava a um caudal constante, em direcção a uma câmara de mistura com um pré-definido volume. A mistura resultante confluía, depois, com a solução titulante, bombeada, também, a

um caudal constante. Após passagem por um reactor tubular, a mistura resultante era monitorizada por um detector (Figura 3).

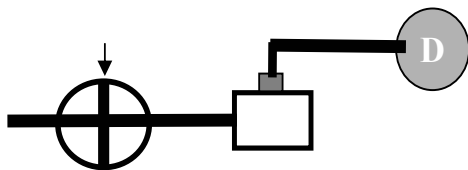


Fig. 3. Sistema de titulação FIA (por injeção em fluxo)

A solução titulante podia servir, igualmente, como solução diluente, situação em que o sistema era do tipo monocanal. Para cada amostra existiam dois pontos de variação brusca do sinal, na porção inicial e final do segmento de amostra, os quais correspondiam às zonas onde as condições de equivalência se verificavam. Com a utilização da câmara de mistura foi possível obter uma elevada dispersão do segmento de amostra e o intervalo de tempo entre os pontos finais era proporcional ao logaritmo da concentração. O modelo teórico que explicava esta relação foi obtido com base no modelo de dispersão de tanques em série, tendo o modelo sido reduzido a um único tanque, e combinado com a equação de igualdade existente no ponto de equivalência. Os mesmos autores propuseram a eliminação da câmara de mistura e a sua substituição por um sistema de fluxo mais simples, tornando, assim, as titulações mais rápidas (Ramsing et al, 1981). Proposta que, aliás, tinha sido já feita por Astrom para a determinação potenciométrica de ácidos e bases (Valcarcel e Luque de Castro, 1987; Astrom O, 1979).

Outros autores têm estudado novos sistemas de detecção para a realização de titulações FIA (Simpson e Holler, 1982), evidenciando as vantagens da utilização de sistemas FIA (reduzido volume de amostra e amplo intervalo de aplicação) (Rhee e Dasgupta, 1985) e usando as titulações FIA em diversas determinações (Koupparis et al, 1985 ; Rhee e Dasgupta, 1985; Janata e Ruzicka, 1982; Anagnostopoulou e Koupparis, 1985 ; Turner et al, 1987; Dowle et al, 1988; Lucy e Tsang, 2000; Georgiou e Koupparis, 1988; Garcia et al, 1993; Alegret et al, 1988; Lima e Rangel, 1989; Ferreira et al, 1994, 1996; Alegret et al, 1995; Etxebarria et al, 1997; Alçada et al, 1995; Lutze et al, 1994; Ruzicka e Hansen, 1985; Woods et al, 1987; Holman et al, 1997; Ruzicka et al, 1993).

Pardue e Fields (Pardue e Fields 1981a, 1981b; Pardue e Jager, 1986; Jager e Pardue, 1986; Pardue e Jordan, 1989) discutiram com grande detalhe vários procedimentos designados como titulações em fluxo contínuo, nomeadamente as titulações FIA (Ruzicka et al, 1977) os quais, segundo os autores, eram mais correctamente identificadas como métodos cinéticos (avaliação da velocidade de mudança num sistema físico ou químico) a tempo variável (Pardue, 1977), tendo em conta tanto a dispersão física dentro da câmara de mistura como a reacção química. Em relação às titulações FIA, os autores consideraram que, nestas, o reagente e o analito reagiam em proporções não estequiométricas, que o sistema de fluxo contínuo envolvia mais uma perda por fluxo de massa do que uma reacção química e que resultados similares

se podiam obter na ausência de reagente no sistema de fluxo, pelo que a reacção química não era essencial a este processo. O carácter cinético sugerido alargava a aplicabilidade destes procedimentos para incluir espécies que não podiam ser determinadas por métodos de titulação usuais. Segundo os autores, o modelo cinético a tempo variável conduzia a um tratamento matemático mais completo do sistema do que o modelo de titulação usado por Ruzicka e col. (Ruzicka et al, 1977), uma vez que permitia considerar as concentrações instantâneas de todas as espécies durante as diferentes fases do processo. De igual modo, a técnica de titulação em contínuo com adição de reagente triangularmente programada desenvolvida por Nagy e col. (1977) foi também classificada pelos autores como um método cinético a tempo variável. Uma vez que as titulações desenvolvidas por Blaedel e col. (1964) satisfaziam o critério de equivalência química entre analito e reagente, tinham sido correctamente designadas pelos autores como titulações. Porém, uma vez que a condição equivalente envolvia um estado estacionário entre processos com duas velocidades, o procedimento seria mais correctamente classificado como uma titulação cinética.

Jordan e Pardue, num outro trabalho (1992), confirmaram a validade das equações do modelo de resposta quando as suposições nas quais se baseavam eram cumpridas. Os mesmos autores avaliaram ainda diversas opções de tratamento dos dados experimentais (altura de pico, área do pico e métodos baseados em intervalos de tempo, com diferentes escolhas em relação aos pontos de referência) obtidos com um analisador baseado em fluxo com uma câmara de mistura agitada, e obtiveram resultados muito concordantes com os previstos pelas equações teóricas baseadas no modelo cinético (Jordan et al, 1993a). Um método de previsão do sinal que seria obtido se a resposta fosse monitorizada num estado estacionário foi implementado por adequação de um modelo de primeira ordem (Pardue e Jordan, 1989) aos dados da porção inicial do perfil do pico de resposta quando não existia reacção ou quando existia uma reacção de estequiometria complexa e um comportamento cinético não ideal. Este método foi, aliás, usado em análise quantitativa (Jordan et al, 1993b). Reacções ácido/base e de oxido/redução foram os sistemas químicos usados nos estudos referidos (Pardue e Fields, 1981a, 1981b; Pardue e Jager, 1986; Jager e Pardue, 1986; Pardue e Jordan, 1989; Jordan JM e Pardue, 1992; Jordan et al, 1993a, 1993b).

Stewart (1986) e Rosenfeld (1982) propuseram, com base nos argumentos de Pardue e Fields, a abreviatura TBFIA para a *análise por injeção em fluxo baseada no tempo*, em que se usava a medida da largura do sinal, e a classificação de “pseudo-titulações” para estes procedimentos. Referem que este novo sistema com base no tempo tornava possível a utilização da química tradicional das titulações.

Tyson (1986, 1987a, 1987b) desenvolveu equações para, em sistemas monocanal, descrever a passagem de um segmento de solução injectada através de uma câmara de mistura agitada tendo ou não reagente no transportador, e para sistemas com fluxos confluentes onde o segmento disperso de amostra

conflui com o reagente. As equações foram testadas avaliando a variação provocada no intervalo de tempo entre os dois pontos finais por variação no caudal, volume injectado, volume da câmara de mistura e concentração do titulante ou da amostra, e permitiram obter uma boa concordância entre os intervalos de tempo experimentais e calculados (Tyson, 1987b). Apesar disso, o estudo de regressão linear dos dados (logaritmo de concentração e intervalo de tempo) fornecidos no trabalho de Tyson (1987a) determinava um erro padrão de 1,7 s, ao qual correspondia a um resultado final, em concentração, com um desvio relativo, em relação ao valor correcto, de cerca de 70% (Pardue e Jordan, 1989). Os mesmos autores (Echols e Tyson, 1994) avaliaram a utilização de outros dispositivos geradores de gradientes de concentração (ex: tubos direitos ou enrolados) onde, os dados obtidos não validaram de uma forma tão extensa o modelo teórico como a quando do uso de uma câmara de mistura agitada (Tyson, 1987b).

Toei (1988) propôs um sistema de titulação no qual o reagente (colocado numa seringa) era injectado na solução de amostra, que fluía através de uma câmara de mistura agitada colocada numa alça de injeção de uma válvula de 6 vias. Após um determinado tempo de mistura entre reagente e amostra, a válvula rodava da posição de enchimento para a posição de injeção. O transportador passava então através da câmara de mistura, onde se encontrava o reagente e a amostra, após o que a solução resultante passava pelo detector e era determinada a largura do pico. Assim, segundo os autores, este método permitia aumentar a aplicabilidade das titulações FIA.

A utilização da técnica de FIA de forma a minimizar o trabalho e diminuir o tempo consumido a efectuar as titulações a ponto único (Johansson e Backén, 1974; Astrom, 1977, 1978) foi proposta por Astrom, que demonstrou a sua aplicabilidade na determinação de ácidos e de bases (Astrom, 1979). A amostra era introduzida num fluxo de água, usando um injector pneumático, e misturada, após um ponto de confluência, com uma solução tampão (ácida ou básica), sendo registada a altura de pico, correspondente ao sinal obtido com um eléctrodo de pH colocado numa célula de fluxo. A altura máxima do sinal era uma função linear da concentração. Outros trabalhos efectuados usaram a titulação a ponto único em FIA para efectuar várias determinações (Matuskewski et al, 1987; Schick, 1984).

Com o objectivo de aumentar a sensibilidade das titulações FIA, Clark e col. (1991) desenvolveram um sistema de titulação que permitia ajustar as condições de mistura sem que houvesse necessidade de uma reconfiguração física da montagem de fluxo, baseado em titulações FIA com reversão de fluxo.

Um método FIA para efectuar titulações ácido/base com pontos finais múltiplos foi implementado usando o sistema de aquisição e controlo de dados CAMILE® (Heeschen et al, 1992). Este método foi usado para analisar misturas de ácidos fortes e ácidos fracos e misturas de bases fortes e bases fracas. O *software* CAMILE® controlava as operações da válvula de injeção, realizava a digitalização do sinal obtido (célula de fluxo), determinava

62 o início da titulação, avaliava o ponto final pelo método do ponto de inflexão e convertia os tempos de titulação em concentrações.

Taylor e col. (1992) e Christian e Ruzicka (1992) descreveram uma técnica de FIA com paragem de fluxo para efectuar titulações coulométricas, utilizando uma câmara de mistura (câmara de geração do reagente) e um detector de fluxo integrados numa única unidade, o que permitia a realizar a detecção no local onde ocorria a diluição ou a reacção. O tempo decorrido desde o início da titulação até ao ponto final era directamente proporcional à concentração. Antes da titulação eram avaliados alguns parâmetros de forma a se conhecerem os factores de diluição da amostra. Os mesmos autores descreveram um procedimento, envolvendo uma titulação coulométrica com injeção em fluxo, para a co-determinação de metabissulfito de sódio e de amido em xarope de milho (Taylor et al, 1994).

Chen e col. (1994) exploraram o papel da câmara de mistura nas titulações FIA e nas titulações coulométricas com injeção em fluxo, com a finalidade de expandir a aplicabilidade das mesmas a uma grande variedade de situações. Assim, desenvolveram um método de titulação FIA, rápido e simples, utilizando uma etapa de pré-titulação, para a automatização da determinação de concentrações elevadas e num intervalo estreito de valores, de ácido sulfúrico em efluentes de uma refinaria de óleos. As curvas de calibração relacionavam as larguras de pico com o logaritmo das concentrações. No mesmo trabalho foi, também, desenvolvido um método de titulação coulométrica por injeção em fluxo para realizar as titulações de Karl-Fisher, semelhante a um processo antes descrito pelos mesmos autores (Taylor et al, 1992; Christian e Ruzicka, 1992). Nestas titulações, a amostra era injectada, indo para a câmara de mistura juntamente com o reagente. Após um determinado período de tempo, o fluxo parava e uma porção específica de amostra ficava isolada na câmara, contendo o detector. A aplicação de uma corrente gerava o titulante que titulava a amostra. O tempo de titulação correspondia ao tempo desde o início da geração de titulante até à acumulação de excesso do mesmo e que era directamente proporcional à quantidade de água presente na câmara. As múltiplas funções da câmara de mistura nestas titulações FIA, como, diluição, pré-titulação e redução da viscosidade numa combinação apropriada permitiria, segundo os autores, que as titulações FIA se tornassem uma poderosa ferramenta de automatização dos ensaios de rotina.

Alerm e Bartroli (1992) descreveram um método automático de titulação em contínuo no qual o uso de uma bureta de pistão como dispositivo de injeção de volumes variáveis de titulante num sistema de fluxo permitia que a titulação fosse realizada, segundo os autores, de forma similar aos procedimentos clássicos de titulação discreta. Relacionando a altura de pico com o volume de titulante injectado, os autores obtiveram curvas de titulação muito similares às curvas de titulação discretas, e foi encontrada uma relação linear entre o logaritmo do volume equivalente e o logaritmo da concentração da amostra (transportador) para um amplo intervalo de concentrações. Os mes-

mos autores exploraram depois, num trabalho posterior, as potencialidades do sistema de titulação desenvolvido (Alerm et al, 1994). Durante a optimização do processo foi feita a avaliação da influência do caudal e do comprimento e diâmetro interno do reactor nos volumes equivalentes obtidos. Os autores relacionaram três variáveis do sistema, isto é, concentração do titulante, concentração da solução transportadora e volume equivalente. A expressão matemática obtida permitia a realização de titulações por injeção em fluxo para um grande intervalo de concentrações de amostra (transportador) e titulante.

Com uma certa similaridade com o trabalho descrito, são os dois sistemas de titulação *micro-batch* apresentados por Alerm e Bartrolí (1995), nos quais a amostragem era realizada por um sistema de fluxo e a titulação era realizada por adição discreta de titulante a um vaso de titulação.

Dakashev e Dimitrova (1994) propuseram a realização de titulações coulométricas usando um fluxo contínuo de titulado e da solução contendo os reagentes necessários para a geração do titulante. Ambos eram bombeados a um caudal constante e passavam continuamente através de um sistema monocal, consistindo numa célula geradora de titulante e numa célula de detecção. Segundo os autores, o método proposto devia ser considerado um sistema de injeção em fluxo com geração electroquímica de titulante numa célula, onde o segmento de titulante era misturado com o titulado, diferindo da injeção com uma válvula, onde a amostra injectada formava um segmento independente. Relacionando a altura de pico a diferentes intensidades de corrente obtinha-se um traçado que permitia identificar a intensidade de corrente no ponto de equivalência. Segundo os autores, este método não necessitava de calibração, uma vez que a concentração era determinada de acordo com a lei de Faraday, sendo necessário apenas, para cada novas condições, avaliar com uma solução de concentração conhecida o valor do volume de interacção entre titulante e analito e avaliar a quantidade de corrente obtida com uma solução branco (a ser subtraída aos valores de intensidade de corrente obtidos com as amostras). Com a finalidade de eliminar a desvantagem de ser necessário determinar o volume de solução a ser titulada, os autores propuseram depois (Dakashev e Dimitrova, 2000) o transporte segmentado da amostra (contendo o analito e o electrólito de suporte).

Poppi e Pasquini (1993) desenvolveram uma técnica de calibração multivariada para a determinação das concentrações individuais de ácidos fracos presentes em misturas.

Turner e col. (1989) desenvolveram um sistema para realizar titulações FIA tendo como objectivo avaliar toda a informação contida na curva de titulação - e não somente a altura (informação contida num só ponto) ou a largura (informação contida em dois pontos) dos picos analíticos -, e descreveram o método de análise dos dados. O modelo teórico usado para descrever o funcionamento da câmara de gradiente foi retirado de outros autores (Pardue e Fields, 1981a). O sistema descrito foi usado em vários trabalhos (Turner et al, 1989, 1992; Lopes da Conceição et al, 1995, 2000).

64 Araújo e col. (1997) usaram gradientes de concentração gerados em sistemas de injeção em fluxo para realizar determinações baseadas na utilização de pontos onde a concentração de titulante e de titulado se encontravam numa relação estequiométrica. Foram desenvolvidos dois procedimentos: num deles, o titulante era injectado no sistema de fluxo e misturado, após um ponto de confluência, com a amostra, que era continuamente bombeada em direcção ao detector; no outro, a amostra era injectada e misturada com o titulante, este agora continuamente bombeado.

Visal de Aquino e col. (2000) desenvolveram um sistema de titulação em fluxo monosegmentado, no qual um volume fixo e conhecido de amostra contendo um indicador adequado era injectado num reactor tubular e transportado por arrastamento com dióxido de carbono, impulsionado o gás por uma bomba peristáltica. A posição da amostra na montagem era monitorizada por três sensores ópticos colocados ao longo do sistema, sendo dois deles usados para indicar o momento em que o segmento de amostra se encontrava em posição para a adição de titulante. Neste momento, o fluxo parava e era adicionado um volume de titulante, usando uma seringa actuada por um motor de passo, após o que o caudal era restabelecido e a solução passava através do terceiro detector. O valor de absorvância medido servia como critério de decisão se terminar ou não a titulação. No último caso, o segmento de amostra retrocedia para receber um novo volume de titulante e, assim, sucessivamente, até ao ponto de equivalência. O sistema foi usado na titulação de ácido clorídrico e de ácido acético com hidróxido de sódio.

A grande maioria das titulações por injeção em fluxo caracterizam-se pela introdução de um determinado volume de titulado ou de titulante, ou de uma quantidade definida gerada electroliticamente, num fluxo contínuo de transportador (de titulante ou de titulado). Apesar de serem titulações rápidas e com um grande intervalo operacional, recorrem a uma calibração prévia obtida normalmente relacionando a largura de pico com o logaritmo da concentração. Alguns autores estudaram e desenvolveram diferentes modelos teóricos na tentativa de explicar o processo de titulação nestes sistemas de injeção em fluxo, e apesar de uma maior adaptabilidade ao comportamento experimental de alguns deles, não foi possível ultrapassar a necessidade de calibração.

Outras estratégias de titulação adaptáveis às diversas exigências experimentais foram descritas, nomeadamente baseadas na paragem de fluxo, em sistemas de recirculação, na pré-titulação e na titulação a ponto único, entre outras. Apesar de inovadores, estes sistemas recorrem também a processos de calibração, com excepção de um sistema baseado numa estratégia que se assemelha aos processos discretos (injeção de um volume conhecido de titulado e adição de volumes bem definidos de titulante), tornando-se, por isso, um sistema com um maior grau de complexidade.

■ Por injeção sequencial

Apesar da análise por injeção sequencial (SIA), introduzida por Ruzicka e Marshall (1990) ter oferecido novas perspectivas à análise em fluxo, não teve grande reflexo a nível das titulações.

Christian e Ruzicka (1992) propuseram a realização de titulações num sistema SIA usando uma câmara de gradiente seguida de um detector de fluxo. Neste sistema, os segmentos de amostra e de reagente eram sequencialmente aspirados para um canal de armazenamento, através da válvula selectora, sendo injectados, após reversão do fluxo, num reactor, seguindo depois para o detector (Figura 4).



Fig. 4. Sistema de titulação SIA (por injeção sequencial)

Em análises cinéticas, uma determinada porção da zona de interpenetração mútua entre amostra e reagente era capturada no detector após paragem do fluxo, sendo monitorizada a reacção. Tendo por base um procedimento de titulação coulométrica, anteriormente descrito para sistemas FIA (Taylor et al, 1992a; Christian e Ruzicka, 1992), os mesmos autores descreveram a determinação do número de bromo usando injeção sequencial e paragem de fluxo (Taylor et al, 1992b). A calibração do sistema era realizada relacionando o tempo de titulação (desde a paragem do fluxo até ao ponto de equivalência) com o inverso da concentração.

Van Standen e Plessis (1997) propuseram um sistema SIA para a titulação de um ácido forte com uma base forte. A estratégia consistia na injeção sequencial de um segmento de titulante (base), de titulado (ácido), e, novamente, de titulante num transportador (água destilada), originando um conjunto de zonas adjacentes bem definidas num reactor de armazenamento, após o que o fluxo era revertido e as zonas dispersavam mutuamente e interpenetravam-se para formar uma zona composta enquanto atravessavam um reactor enrolado em direcção ao detector. Os segmentos de base continham azul de bromotimol, como indicador, e o ponto final era detectado usando um detector espectrofotométrico. Desta forma, foi obtida uma relação linear entre a largura de pico e o logaritmo de concentração, usada para a calibração do processo.

Estela e col. (1999) estudaram diversas variáveis que afectavam a titulação espectrofotométrica em sistemas de SIA de um ácido forte com uma base forte. Usando como indicador o azul de bromotimol e como transportador a água, foram consideradas duas possibilidades de realização da titulação de acordo com a sequência de aspiração: titulante/amostra/titulante e titulante/amostra. No primeiro caso, foram estudadas e discutidas as possibilidades de utilização de diferentes volumes e/ou diferentes concentrações dos reagentes titulantes e foi efectuada a titulação de ácido clorídrico com o titulante hidróxido de sódio, recorrendo a curvas de calibração logarítmicas.

66 Alerm e Bartrolí (1996) desenvolveram um sistema de fluxo para a realização de microtitulações. A base do novo sistema surgiu da combinação da técnica de SIA com uma câmara de reacção. Contudo, não realizaram propriamente titulações em fluxo, sendo a técnica SIA usada apenas para a preparação e troca da amostra. A titulação era realizada por adição discreta de titulante a uma câmara de mistura contendo um sensor. O sistema não necessitava de calibração prévia, tendo sido aplicado a titulações envolvendo reacções de ácido/base, complexação, precipitação e oxidação/redução.

Estes sistemas de titulação por injeção sequencial caracterizam-se pela injeção, após aspiração para o canal de armazenamento, de segmentos de titulado, de titulante ou de um reagente (a partir do qual se gera o titulante). Estes sistemas recorrem igualmente a curvas de calibração, logarítmicas ou com outro tipo de comportamento. A realização de titulações sem calibração foi descrita num sistema de microtitulação. O processo assemelha-se a um processo discreto, que utiliza uma válvula de injeção de multiposições para a introdução numa câmara de mistura de um volume conhecido de amostra e a posterior adição de volumes conhecidos de titulante.

■ Em sistemas multicomutados

Korn e col. (1995) propuseram uma estratégia de procura binária num sistema de fluxo contínuo de forma a encontrar o ponto de equivalência de titulações espectrofotométricas. A procura binária foi implementada fixando a soma das alíquotas de amostra e de titulante, e variando, em cada etapa, a sua fracção volumétrica. A procura do ponto final consistia em encontrar a menor variação na fracção volumétrica (amostra/titulante) que produzissem uma mudança na cor do indicador. Nestas titulações foi usado o processo de amostragem binária em sistemas de fluxo multicomutado (Reis et al, 1994) para gerar pequenos segmentos de titulante intercalados com pequenos segmentos de amostra, os quais se dispersavam mutuamente a partir das interfaces, promovendo as condições para o desenvolvimento da reacção química. Este sistema de titulação foi configurado com base em válvulas solenóides, controladas por microcomputador, sendo o processo de amostragem baseado em tempos de comutação das válvulas a um caudal constante (Reis et al, 1994). O software desenvolvido permitia uma retroalimentação de forma a introduzir novos volumes de solução de amostra e de titulante no sistema analítico após aplicação da procura binária. O sistema foi aplicado à titulação de ácido clorídrico com hidróxido de sódio, usando fenolftaleína como indicador. Paim e col. (2000) aplicaram este sistema na determinação de ácido ascórbico em refrigerantes (Figura 5).

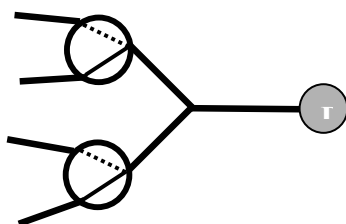


Fig. 5. Sistema multicomutado de titulação em fluxo

Martelli e col. (1999) propuseram a combinação de um sistema de fluxo monosegmentado com o sistema atrás descrito para a realização automática de titulações potenciométricas. Em todas as fracções volumétricas, o volume de amostra era mantido constante, variando apenas o volume de titulante. O volume total era mantido constante pela adição de um diluente. Após cada ciclo (introdução de uma determinada razão volumétrica de amostra, titulante e diluente, intercalada entre duas bolhas de ar) o sinal do detector era comparado com um sinal analítico tido como referência (determinado, inicialmente, por passagem de uma solução transportadora com determinada composição), de forma a definir a nova fracção volumétrica a introduzir no ciclo seguinte. O sistema foi usado na determinação da acidez de vinagres, limonada e sumo de laranja natural, entre outras amostras. Honorato e col. (1999) usaram, igualmente, um sistema de fluxo monosegmentado para a realização de titulações em fluxo a ponto final por amostragem binária. Eram introduzidos no sistema diversas fracções volumétricas de amostra titulante (mantendo constante o volume total), sendo a procura do ponto de equivalência baseada no método de optimização de Fibonacci a uma dimensão, o qual tinha sido adaptado para titulações rápidas (Lasdon, 1970). O sistema foi usado para determinar a acidez total de amostras de vinagre, usando a fenolftaleína como indicador. Os mesmos autores (Honorato et al, 1999) propuseram o desenvolvimento de um sistema de titulação híbrido, pretendendo combinar as vantagens intrínsecas dos sistemas de fluxo com o amplo intervalo de trabalho dos sistemas discretos. Tal como noutros sistemas analíticos, a titulação era baseada na introdução, num fluxo segmentado, de diferentes relações volumétricas de titulante titulado (Korn et al, 1995) (e também indicador), mas neste caso as reacções químicas ocorriam dentro de uma câmara de mistura (cuja capacidade permitia que ficasse retido o volume total introduzido no sistema em cada etapa), de forma similar às titulações discretas. O ponto final, correspondente à mudança de cor do indicador, era encontrado aplicando o método de Fibonacci, baseado na comparação entre os sinais obtidos em cada etapa com o sinal analítico de referência correspondente ao ponto de equivalência. A utilização de uma bomba peristáltica implicava uma periódica calibração dos caudais devido à degradação dos tubos de impulsão. O sistema foi testado na titulação espectrofotométrica do ião hidróxido com ácido clorídrico e aplicado à determinação da acidez de vinhos. Uma vez que o conhecimento aproximado da concentração do analito pode reduzir muito o número de pontos de uma curva de titulação, Honorato e col. (2000) propuseram que se realizasse, antes de cada titulação no sistema híbrido fluxo/discreto, uma estimativa da concentração do analito introduzindo no sistema quantidades conhecidas de amostra e de titulante e avaliando o excesso de titulante.

Sistemas com um funcionamento semelhante ao dos sistemas multicomutados, apesar de não serem designados como tal, foram apresentados por Wang e col. (Wang et al, 1998a, 1998b). Num deles (Wang et al, 1998a) descreveram uma nova estratégia, que designaram por química em fluxo pulsado (PFC), de automatização em fluxo. Em contraste com os sistemas existentes, os sis-

temas de PFC eram caracterizados por um fluxo pulsado, mistura turbulenta e baixa dispersão axial. O sistema de PFC era totalmente controlado por microcomputador. Consequentemente, a maioria das técnicas de fluxo (injecção em fluxo, fluxo contínuo, titulações em fluxo, etc.) podiam ser facilmente seleccionadas e realizadas. No sistema de PFC, os pulsos de pressão geravam caudais instantâneos que eram uma função da pressão diferencial e incorporavam, igualmente, pequenos orifícios, localizados em diferentes posições no sistema, através dos quais as várias soluções fluíam. Neste sistema, a relação amostra/reagente/transportador pretendida era obtida alterando o tamanho dos orifícios durante cada pulso de pressão. Nas titulações, em sistemas de PFC, para uma série de pulsos a razão de amostra por pulso ia desde 100% no primeiro pulso até 0% no último pulso, sendo o número de pulsos dependente do tempo total de titulação seleccionado, obtendo no final curvas de titulação. Quanto maior era o tempo de titulação, maior o número de pulsos, o que resultava numa menor variação de volumes entre amostra e titulante ao longo da titulação. Em determinado ponto entre os dois limites, 100% de amostra e 100% de titulante, estava localizado o ponto final, dependendo este da concentração de ambos. As curvas de calibração eram não lineares e relacionam tempo de titulação com concentração. Os mesmos autores (Wang et al, 1998b) descreveram a utilização de válvulas solenóides para criar perfis de concentração em diferentes técnicas de fluxo. No sistema descrito, as soluções eram transportadas para o canal de fluxo usando uma bomba peristáltica colocada em final de linha. Os perfis de concentração eram produzidos pela rápida comutação de um série de válvulas solenóides, cujos canais confluíam num só ponto. Nos sistemas que necessitavam de reacção química ou que se baseavam em gradientes de concentração, como as titulações em fluxo, era usado um dispositivo de mistura. Nas titulações em fluxo, concretamente, e tal como descrito para o trabalho anterior, era possível criar um gradiente de concentrações começando em 100% de titulante e terminando em 100% de amostra, obtendo-se curvas de titulação semelhantes às obtidas na análise por fluxo descontínuo (Arnold et al, 1989; Cattrall et al, 1995; Cardwell et al, 1995). Enquanto que nas titulações em fluxo descontínuo o intervalo de concentrações tituláveis estava limitada pelo excêntrico utilizado, nestas esse intervalo era determinado pelo software e limitado pelo funcionamento das válvulas.

Nestes sistemas multicomutados, as titulação caracterizam-se por uma amostragem binária (de titulado e de titulante) conseguida com a comutação programada em tempo de válvulas ou com a abertura de canais de entrada, ambos (válvulas e canais) localizados em diferentes pontos do sistema. Estes permitem a realização de titulações a ponto final sem calibração, sendo, contudo, necessário conhecer antes de cada titulação o sinal analítico correspondente ao ponto de equivalência (o que implica a preparação, que poderá ser complexa, da solução cujo sinal analítico é usado como referência). A obtenção do traçado completo de curvas de titulação é possível mas, no entanto, os resultados finais são obtidos com base em curvas de calibração (relacionando tempo de titulação com concentração).

É visível que, apesar da grande variedade de sistemas de titulação em fluxo propostos, a maioria necessita de recorrer a um processo de calibração prévia com soluções padrão. Pretendendo ultrapassar esta lacuna, foi desenvolvido um sistema multicomutado de titulação em fluxo não segmentado, o qual, para além de ser um sistema simples em termos da sua configuração, permite a realização totalmente automática de titulações sem calibração (Almeida et al, 2000). Este sistema permite a obtenção do traçado completo das curvas de titulação, como acontece nos sistemas de titulação discretos a partir das quais se pudesse obter os pontos de equivalência. O sistema desenvolvido foi aplicado nos diversos tipos de reacções químicas (ácido/base, precipitação, oxidação/redução e complexação), usando diferentes sistemas de detecção e diferentes métodos de determinação dos pontos de equivalência: método da segunda derivada, método de Gran, avaliação da curva titulação até sinais analíticos pré-seleccionados, intercepção dos ramos da curva de titulação e linearização de curva de titulação espectrofotométricas com indicador. (Almeida et al, 2000a, 2000b, 2000c, 2001)

■ Em sistemas multiseringa

Albertús e col. (1999a) propuseram um sistema de fluxo incorporando várias seringas (sistema de fluxo multiseringa), o qual tinha por base uma montagem robusta do tipo multicanal, envolvendo uma bomba de pistão multiseringa em vez das usuais bombas peristálticas. Esta configuração multicanal funcionava acoplada a válvulas selectoras de multiposições como as usadas nos sistemas SIA e apresentava boas características de simplicidade, flexibilidade e robustez. Cada seringa continha na sua parte superior uma válvula de duas vias, permitindo que ligasse ou desligasse do sistema de fluxo, podendo a seringa trabalhar em modo de aspiração ou impulsão (Figura 6).

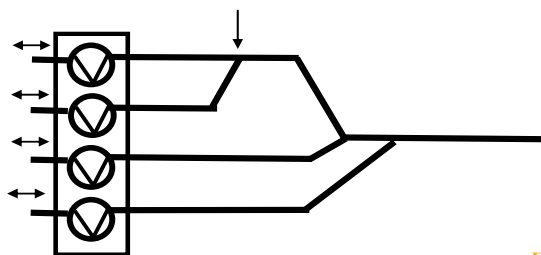


Fig. 6. Sistema multiseringa de titulação em fluxo

Dado que, relativamente a outras estratégias de titulação a titulação a ponto único (Johansson e Backén 1974; Astrom, 1977, 1978) tinha sido considerada como a melhor opção, devido à selectividade, simplicidade e robustez (Albertús et al, 1999b), esta foi a variante escolhida pelos autores para implementação no sistema de fluxo multiseringa referido (Albertús et al, 1999a). Numa configuração com dois canais, o sistema foi aplicado à determinação da alcalinidade total e da alcalinidade forte em soluções de carbonato, usando uma válvula selectora multiposições para a introdução da amostra e das soluções padrão. Os mesmos autores desenvolveram, igualmente, um sistema automático robusto para a diluição quantitativa em contínuo de soluções concentradas seguida de uma titulação por injeção em fluxo a ponto único

70 da respectiva acidez. Este analisador foi usado na determinação selectiva de ácido sulfúrico livre, em amostras sintéticas e em amostras reais originárias de processos hidrometalúrgicos, usando o método da curva de calibração.

Os sistemas multisingra caracterizam-se por uma grande versatilidade, tendo sido descrita a sua utilização em titulações a ponto único com calibração prévia.

■ REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abicht SM (1980). Controlled dynamic titrator. *Anal. Chim. Acta*; 114:247-56.
- Albertús F, Horstkotte B, Cladera A e Cerdá V (1999a). A robust multisyringe system for process for analysis. Part I. On-line dilution and single point titration. *Analyst*; 124:1373-81.
- Albertús F, Cortés I, Danielsson L-G e Ingman F (1999b). Analytical options for control of acids and bases in hydrometallurgical. *Process Control Qual.*; 11:289-300.
- Alçada MNMP, Lima JLFC e Montenegro MCBSM (1995). FIA titrations of ephedrine in pharmaceutical formulations with a PVC tetraphenylborate tubular electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.*; 13:459-64.
- Alegret S, Alonso J, Bartroli J, Garcia-Raurich J e Martínez-Fàbregas E (1988). Chloride determination in serum by flow-injection analysis precipitation pseudo titration technique using a flow-through all-solid-state silver electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.*; 6:749-55.
- Alegret S, Alonso J, Bartroli J, García-Raurich J, Martínez-Fàbregas E e Sánchez-Rodríguez J (1995). Potentiometric determination of chloride ion in milk and dairy products by FIA titration. *Quím. Anal.*; 14:121-4.
- Alerm L e Bartroli J (1992). Automated continuous-flow titration. *Anal. Chim. Acta*; 269:29-34.
- Alerm L e Bartroli J (1995). Micro-batch flow titration. *Anal. Lett.*; 28:1483-97.
- Alerm L e Bartroli J (1996). Development of a sequential microtitration system. *Anal. Chem.*; 68:1394-400.
- Alerm L, Masip J, Garcia-Raurich J e Bartroli J (1994). Acid base flow titration based on the use of an automatic titration. *Quím. Anal.*; 13:31-5.
- Anagnostopoulou PI e Koupparis MA (1985). Automated flow-injection of boric acid. *J. Pharm. Sci.*; 74:886-8.
- Araújo MCU, Santos AV, Honorato RS e Pasquini C (1997). Single standard calibration and data processing in flow injection titration based on concentration gradients. *J. Autom. Chem.*; 19:157-64.
- Arnold DP, Peachey RM, Petty JD e Sweatman DR (1989). Automated titrations using a discontinuous programmed flow analyzer. *Anal. Chem.*; 61:2109-16.
- Astrom O (1977). Single-point titrations. Part II. Experimental determination of bases. *Anal. Chim. Acta*; 88:17-23.
- Astrom O (1978). Single-point titrations. Part III. Experimental determination of acids. *Anal. Chim. Acta*; 97:259-67.
- Astrom O (1979). Single-point titrations. Part 4. Determination of acids and bases with flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*; 105:67-75.
- Becker M, Fuhrmann B e Spohn U (1996). Selective determination of gas dialysable components in complex sample solutions using triangle programmed coulometric titration in continuous flow systems. *Anal. Chim. Acta*; 324:115-23.

- Betteridge D, Dagless EL, David P, Deans DR, Penketh GE e Shawcross P (1976). Application of microprocessors to chemical analysis: sequential titration of adipic and boric acids. *Analyst*; 101:409-20.
- Bezegh A, Fehér Z, Tóth K e Pungor E (1984). Fourier transform in continuous stream titration. *Anal. Chem.*; 56:1143-5.
- Blaedel WJ e Laessig RH (1964). Continuous automated, buretless titrator with direct readout. *Anal. Chem.*; 36:1617-23.
- Bound GP e Fleet B (1980). A semi-automated single-cell gradient-titration system, using ion-selective electrodes as end-point sensors. *Talanta*; 27:257-61.
- Buchholz F e Buschmann N (1990). Determination of arsenic(III), sulphite and sulphur dioxide using the triangle programmed coulometric titration principle. *Fresenius J. Anal. Chem.*; 338:622-6.
- Buchholz F e Buschmann N (1990). Determination of arsenic(III), sulphite and sulphur dioxide using the triangle programmed coulometric titration principle. *Fresenius J Anal Chem*; 338:622-6.
- C. M. N. V. Almeida, M. C. U. Araújo, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, e E. A. G. Zagatto (2000a). An automatic titrator based on a multicommutated flow system. It's application on acid - base titrations. *Anal. Chim. Acta*; 407:213-23.
- C. M. N. V. Almeida, M. C. U. Araújo, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis e E. A. G. Zagatto (2000b). Automatic precipitation titrations using an automatic titrator based on a multicommutated flow system. *Analyst*; 125:333-40.
- C. M. N. V. Almeida, R. A. S. Lapa e J. L. F. C. Lima (2000c). Oxidability determination in waste waters using an automatic titrator based on a multicommutated unsegmented flow system. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*; 78(3-4):315-32.
- C. M. N. V. Almeida, R. A. S. Lapa e J. L. F. C. Lima (2001). Alkalinity monitorization in wastewaters using a prototype industrial flow system with an automatic titrator based on a multicommutated unsegmented flow system. *Anal. Chim. Acta*; 438(1-2):291-8.
- Calatayud TM, Falcó PC e Albert RM (1987). Flow method for the titration of weak acids or weak bases using linear titration plots. *Analyst*; 112:1063-6.
- Cardwell TJ, Cattrall RW, Cross GJ, Mrzljak RI e Scollary GR (1990). Determination of calcium in waters, milk and wine by discontinuous-flow analysis. *Analyst*; 115:1235-7.
- Cardwell TJ, Cattrall RW, Cross GJ, O'Connell GR, Petty JD e Scollary GR (1991). Determination of titratable acidity of wines and total acidity of vinegars by discontinuous flow analysis using photometric end-point detection. *Analyst*; 116:1051-4.
- Cardwell TJ, Cattrall RW, Cross GJ, O'Connell GR, Petty JD e Scollary GR (1995). Determination of sulfuric acid in metallurgical process streams by discontinuous flow analysis. *Anal. Chim. Acta*; 308:197-205.
- Cardwell TJ, Cattrall RW, Deady LW, Dorkos M e O'Connell GR (1993). A fast response membrane-based pH indicator optode. *Talanta*; 40:765-8.
- Cardwell TJ, Cattrall RW, O'Connell GR, Petty JD e Scollary GR (1992). Potentiometric detectors for the determination of acidity by discontinuous flow analysis. *Electroanalysis*; 4:805-10.
- Cattrall RW e Scollary GR (1995). Discontinuous flow analysis: Generation of fluid flows by differential pumping. *Anal. Methods Instrum.*; 2:61-73.
- Chen R, Ruzicka J e Christian GD (1994). Flow injection titration – Linear or logarithmic. *Talanta*; 41:949-55.
- Christian GD e Ruzicka J (1992). Exploiting stopped-flow injection methods for quantitative chemical assays. *Anal. Chim. Acta*; 261:11-21.
- Christiansen TF, Busch JE e Krogh SC (1976). Successive determinations of calcium and magnesium in drinking water by complexometric, potentiometric digital titration to two equivalence points. *Anal. Chem.*; 48:1051-6.

- Cladera A, Caro A, Estela JM e Cerdà V (1990a). A fully automatic system for acid-base coulometric titrations. *J. Automat. Chem.*; 12:258-62.
- Cladera A, Caro A, Estela JM e Cerdà V (1990b). A fully automatic system of chloride in wines and beers by coulometric titrations. *Quim. Anal.*; 9:305-10.
- Cladera A, Caro A, Estela JM e Cerdà V (1995). New approaches to the automation of coulometric titrations. *Lab. Rob. Autom.*; 7:191-5.
- Clark GD, Zable J, Ruzicka J e Christian GD (1991). Flow-reversal flow-injection analysis, enhancement of flow-injection titrations. *Talanta*; 38:119-24.
- Colombo C, Kappes T e Hauser PC (2000). Coulometric micro-titrator with ruthenium dioxide pH-electrode. *Anal. Chim. Acta*; 412:69-75.
- Dahmen EAMF (1989). *Electroanalysis. Theory and application in aqueous and non-aqueous media, and in automated chemical control; Techniques and instrumentation in analytical chemistry 7*, Amsterdam, Elsevier, pp. 1-28.
- Dakashev AD e Dimitrova VT (1994). Pulse coulometric titration in continuous flow. *Analyst*; 119:1835-8.
- Dakashev AD e Dimitrova VT (2000). Coulometric titration with air transported sample. *Talanta* 2000; 51:573-8.
- Dowle CJ, Cooksey BG, Ottaway JM e Campbell WC (1988). Determination of ionic surfactants by flow injection pseudotitration. *Analyst*; 113: 117-9.
- Echols RT e Tyson JF (1994). Comparison of mixing devices for flow-injection determinations based on doublet peak formation. *Anal. Chim. Acta*; 286:169-78.
- Estela JM, Mas F, Cladera A e Cerdà V (1999). Study on the implementation of flow titrations in sequential injection analysis. *Lab. Rob. Autom.*; 11:207-16.
- Etxebarria MB, Lima JLFC, Montenegro MCBSM e Pérez-Olmos R (1997). Flow injection titration of chloride in electroplating baths with a silver tubular electrode as a detector. *Anal. Sci.*; 13:89-92.
- Fehér Zs, Kolbe I e Pungor E (1988a). Iodimetric determination of penicillins by a triangle-programmed flow-through titration technique. *Analyst*; 113:881-4.
- Fehér Zs, Kolbe I e Pungor E (1988b). Determination of the drug content of pharmaceutical containing phenothiazine compounds by a triangle-programmed flow-through titration technique. *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 332:345-50.
- Fehér Zs, Nagy G, Slezsak I, Tóth K e Pungor E (1993). Triangle-programmed coulometric flow titration with potentiometric and optical detection. *Anal. Chim. Acta*; 273:521-30.
- Fehér Zs, Nguyen TL e Nagy G (1995). Determination of penicillin by triangle programmed coulometric acid-base flow titration in a system incorporating an enzyme reactor. *Electroanalysis*; 7:356-61.
- Ferreira AMR, Rangel AOSS e Lima JLFC (1996). Determinação of chloride in soils by flow injection potentiometric pseudo-titration. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*; 27:1437-45.
- Ferreira MPLVO, Lima JLFC e Rangel AOSS (1994). Flow injection titration of chloride in food products with a silver tubular electrode based on a homogeneous crystalline membrane. *Food Chem.*; 50:423-8.
- Fleet B e Ho AYW (1974). Gradient titration – A novel approach to continuous monitoring using ion-selective electrodes. *Anal. Chem.*; 46:9-11.
- Fuhrmann B e Spohn U (1993a). Volumetric triangle-programmed flow titration based on precisely generated concentration gradients. *Anal. Chim. Acta*; 282:397-406.
- Fuhrmann B e Spohn U (1993b). A PC-based titrator for flow gradient titrations. *J. Autom. Chem.*; 15:209-16.
- García IL, Viñas P e Gil JAM (1993). FIA titrations of sulphide, cysteine and thiol-containing drugs with chemiluminescent detection. *Fresenius J. Anal. Chem.*; 345:723-6.

- García IL, Viñas P, Campillo N e Córdoba MH (1995). Linear flow gradients for automatic titrations. *Anal. Chim. Acta*; 308:67-76.
- Georgiou CA e Koupparis MA (1988). Automated flow injection spectrophotometric non-aqueous pseudotitrations of amines and their hydrohalide salts. *Analyst*; 113:755-60.
- Gratzl M e Yi C (1993). Diffusional microtitration: Acid/base titrations in pico- and femtoliter samples. *Anal. Chem.*; 65:2085-8.
- Gyurcsányi R, Fehér Z e Nagy G (1998). Study of the determination of acetylcholine after enzymatic hydrolysis by triangle programmed coulometric flow titration. *Talanta*; 47:1021-31.
- Hara H e Okazaki S (1984). Two-point Gran titration of chloride in natural waters by using a silver-sulphide ion-selective electrode. *Analyst*; 109:1317-20.
- Hara H, Wakizaka Y e Okazaki S (1986). Continuous flow two-point titration system for chloride using a pair silver/sulfide ion selective electrodes. *Anal. Chem.*; 58:1502-6.
- He ZK, Fuhrmann B e Spohn U (2000a). Coulometric microflow titrations with chemiluminescent and amperometric detection of the equivalence points – basic investigations and bromimetric titration of low concentration solutions of arsenite. *Anal. Chim. Acta*; 407:203-12.
- He ZK, Fuhrmann B e Spohn U (2000b). Coulometric microflow titrations with chemiluminescent and amperometric equivalence point detection. Bromimetric titration of low concentrations of hydrazine and ammonium. *Anal. Chim. Acta*; 409:83-91.
- Heeschen WA, Greminger DC e Yalvac ED (1992). Implementation of flow injection titration technique based on the CAMILE data acquisition and control system. *Process Control and Quality*; 2:215-24.
- Holman DA, Christian GD e Ruzicka J (1997). Titration without mixing or dilution: Sequential injection of chemical sensing membranes. *Anal. Chem.*; 69:1763-5.
- Honorato RS, Araújo MCU, Lima RAC, Zagatto EAG, Lapa RAS e Lima JLFC (1999). A flow-batch titrator exploiting a one-dimensional optimisation algorithm for end point search. *Anal. Chim. Acta*; 396:91-7.
- Honorato RS, Araújo MCU, Veras G, Zagatto EAG, Lapa RAS e Lima JLFC (1999). A monosegmented flow titration for the spectrophotometric determination of total acidity in vinegar. *Anal. Sci.*; 15:665-8.
- Honorato RS, Lima RAC, Araújo EAG e Zagatto EAG (25 a 29 de Junho de 2000). Prior assay an approach to flow titrations. Spectrophotometric determination of iron in alloys and iron ores. *Livro de resumos do 8th International Conference on Flow Analysis*, pág. 246 (P351), Varsóvia-Polónia.
- Hoogendijk R (1999). A compact titration configuration for process analytical applications. *Anal. Chim. Acta*; 378:211-7.
- Hydranal[®] Manual – Eugen Scholz Reagents for Karl Fisher titration; Riedel-de Haen laboratory chemicals or crescent chemicals co., Inc.: Hauppauge, New York, 1987.
- Irving, HMNH, Freiser, H, West, TS (1977). *Compendium of Analytical Nomenclature*, Pergamon Press, Oxford, pp. 35-43.
- Jager P e Pardue HL (1986). Kinetic treatment of unsegmented flow systems. Part 4. Equations for a system with gradient chamber corrected to account for detector with finite sensitivities. *Anal. Chim. Acta*; 187:343-6.
- Janata J e Ruzicka J (1982). Combination of flow injection analysis and voltammetry. *Anal. Chim. Acta*; 139:105:15.
- Johansson G e Backén W (1974). Single-Point titrations. Part I. The determination of bases. *Anal. Chim. Acta*; 69:415-24.
- Jordan JM e Pardue HL (1992). Experimental evaluation of theoretical response equations for an unsegmented flow system with a well-stirred mixing chamber. *Anal. Chim. Acta*; 270:195-204.

- Jordan JM, Hoke SH e Pardue HL (1993a). Evaluation of different data-processing options for a flow system with a well-stirred mixing chamber. *Anal. Chim. Acta*; 272:115-24.
- Jordan JM, Love MD e Pardue HL (1993b). Evaluation of a predictive curve-fitting method for processing data from flow systems. Part 1. Flow system with a mixing chamber. *Anal. Chim. Acta*; 272:125-34.
- Katsumata H, Teshima N, Kurihara M e Kawashima T (1999). Potentiometric flow titration of iron(II) and chromium(VI) based on flow rate ratio of a titrant to a sample. *Talanta*; 48:135-41.
- Kingston HM e Kingston ML (1994). Nomenclature in laboratory robotics and automation. *J. Autom. Chem.*, 16:43-57.
- Kolthoff IM e Elving PJ (eds) (1975). *Treatise on Analytical Chemistry, Part I*, Vol II, Wiley, New York.
- Korn M, Gouveia LFBP, Oliveira E e Reis BF (1995). Binary search in flow titration employing photometric end-point detection. *Anal. Chim. Acta*; 313:177-84.
- Koupparis MA, Anagnostopoulou P e Malmstadt HV (1985). Automated flow-injection pseudotitration of strong and weak acids, ascorbic acid and calcium, and catalytic pseudotitrations of aminopolycarboxylic acids by use of a microcomputer-controlled analyser. *Talanta*; 32:411-7.
- Lasdon LS (1970), *Optimization theory for large systems*, New York, Macmillan.
- Liang YY (1990). Automation of Karl Fisher water titration by flow injection sampling. *Anal. Chem.*; 62:2504-6.
- Lima JLCL e Rangel AOSS (1989). Chloride pseudotitration in wines by FIA with a Ag₂S/Ag tubular electrode as detector. *J. of Food Composition and Analysis*; 2:356-63.
- Lingane JJ (1948a). Automatic potentiometric titrations. *Anal. Chem.*; 20: 285-92.
- Lingane JJ (1948b). Automatic potentiometric titrations of iron and titanium with chromous ion. *Anal. Chem.*; 20: 797-801.
- Lopes da Conceição AC, Correia dos Santos MM, Gonçalves MLSS e Santos FJV (2000). Gradient flow titration for the determinations of fluoride ion in natural waters. *Anal. Chim. Acta*; 50:1245-52.
- Lopes da Conceição AC, Gonçalves MLSS e Correia dos Santos MM (1995). Rapid determinations of complexing stability constants by gradient flow-injection titration. *Anal. Chim. Acta*; 302:97-102.
- Lucy CA e Tsang JSW (2000). Determination of surfactant concentration using micellar enhanced fluorescence and flow injection titration. *Talanta*; 50:1283-9.
- Lutze O, Roß B e Cammann K (1994). Gran's plot titration and flow injection titration of sulfate in ground and drinking water with a barium ion-selective electrode. *Fresenius J. Anal. Chem.*; 350:630:2.
- Malmstadt HV e Fett ER (1954). An automatic differential potentiometric titrator. *Anal. Chem.*; 26:1348-51.
- Malmstadt HV e Fett ER (1955). Automatic differential potentiometric titrations. Electrode systems for aqueous and nonaqueous titrations. *Anal. Chem.*; 27:1757-64.
- Marcos J, Ríos A e Valcárcel M (1992a). Automatic titrations in unsegmented flow systems based on variable flow-rate patterns. Part 1. Principles and applications to acid-base titrations. *Anal. Chim. Acta*; 261:489-94.
- Marcos J, Ríos A e Valcárcel M (1992b). Automatic titrations in unsegmented flow systems based on variable flow-rate patterns. Part 2. Complexometric and redox titrations. *Anal. Chim. Acta*; 261:495-503.
- Marcos J, Ríos A e Valcárcel M (1993). Automatic determination of Michaelis-Menten constants by variable flow-rate technique. *Anal. Chim. Acta*; 283:429-38.

- Martelli PB, Reis BF, Korn M e Lima JLF (1999). Automatic potentiometric titration in monosegmented flow system exploiting binary search. *Anal. Chim. Acta*; 387:165-73.
- Matuskewski W, Hulanicki A e Trojanowicz M (1987). Flow-injection single-point titration of acids with biamperometric detection at polarized platinum electrodes. *Anal. Chim. Acta*; 194:269-74.
- Midgley D e McCallum C (1978). Linear titration plots for the potentiometric titration of partially neutralized weak acids and bases. *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 290:230-3.
- Mirzljak AM, Bond AM, Cardwell TJ, Cattrall RW, Newman OMG e Scollary GR (1992). Determination of zinc and acid in zinc plant electrolyte by discontinuous-flow analysis. *Analyst*; 117:1845-8.
- Nagy G, Fehér Z, Tóth K, Pungor E e Ivaska A (1979). Evaluation of acid-base titration curves obtained by the triangle-programmed titration with potentiometric technique in flowing solutions. *Talanta*; 26:1143-53.
- Nagy G, Fehér Zs, Tóth K e Pungor E (1977). A novel titration technique for the analysis of streamed samples – The triangle-programmed titration technique. Part I. General considerations. *Anal. Chim. Acta*; 91:87-96.
- Nagy G, Fehér Zs, Tóth K e Pungor E (1977). A novel titration technique for the analysis of streamed samples – The triangle-programmed titration technique. Part II. Argentimetric titrations. *Anal. Chim. Acta*; 91:97-106.
- Nagy G, Tóth K e Pungor E (1975). Novel programmed coulometric titration technique: chloride determination in streaming solutions. *Anal. Chem.*; 47:1460-2.
- Paim APS e Reis BF (2000). An automatic spectrophotometric titration procedure for ascorbic acid determination in fruit juices and soft drinks based on volumetric fraction variation. *Anal. Sci.*; 16:487-91.
- Pardue HL (1977). A comprehensive classification of kinetic methods of analysis used in clinical chemistry. *Clin. Chem.*; 23:2189-201.
- Pardue HL e Fields B (1981a). Kinetic treatment of unsegmented flow systems. Part 1. Subjective and semiquantitative evaluations of flow-injection systems with gradient chamber. *Anal. Chim. Acta*; 124:39-63.
- Pardue HL e Fields B (1981b). Kinetic treatment of unsegmented flow systems. Part 2. Detailed treatment of flow-injection systems with gradient chamber. *Anal. Chim. Acta*; 124:65-79.
- Pardue HL e Jager P (1986). Kinetic treatment of unsegmented flow systems. Part 3. Flow-injection system with gradient chamber with a linearly responding detector. *Anal. Chim. Acta*; 179:169-79.
- Pardue HL e Jordan JM (1989). Kinetic treatment of unsegmented flow systems. Part 5. Comprehensive treatment for systems with gradient chamber. *Anal. Chim. Acta*; 220:23-42.
- Poppi RJ e Pasquini C (1993). Spectrophotometric determination of a mixture of weak acids using multivariate calibration and flow injection analysis titration. *Chemometrics and Intelligent Laboratory systems*; 19:243-54.
- Powell FE e Fogg AG (1991). Self-indicating flow visible spectrophotometric titrations in a variable-volume tank reactor. *Analyst*; 116:631-40.
- Ramirez AA e Linares CJ (1992). A simple differential titrator for automatic potentiometric titration at zero current, with two identical indicator electrodes. *Talanta*; 39:1121-6.
- Ramsing AU, Ruzicka J e Hansen EH (1981). The principles and theory of high-speed titrations by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*; 129:1-17.
- Reis BF, Giné MF, Zagatto EAG, Lima JLFC e Lapa RAS (1994). Multicommutation in flow analysis. Part 1. Binary sampling: concepts, instrumentation and spectrophotometric determination of iron in plant digests. *Anal. Chim. Acta*; 293:129-38.

- Rhee JS e Dasgupta PK (1985). Determination of acids, bases, metal ions and redox species by peak width measurements flow injection analysis with potentiometric, conductimetric, fluorimetric and spectrophotometric. *Mikrochim. Acta*; III:107-22.
- Rhee JS e Dasgupta PK (1985). Studies on peak width measurement-based FIA acid-base determinations. *Mikrochim. Acta*; III:49-64.
- Ruzicka J e Hansen EH (1975). Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. *Anal. Chim. Acta*; 78:145-70.
- Ruzicka J e Hansen EH (1985). Optosensing at active surfaces – A new detection principle in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*; 173:3-21.
- Ruzicka J e Hansen EH (1988). Flow-Injection Analysis, 2nd Ed. , New York, Wiley.
- Ruzicka J e Marshall GD (1990). Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. *Anal. Chim. Acta*; 237:329-43.
- Ruzicka J, Hansen EH e Mosbaek H (1977). Flow injection analysis. Part IX. A new approach to continuous flow titrations. *Anal. Chim. Acta*, 92:235-49.
- Ruzicka J, Pollema CH e Scudder KM (1993). Jet ring cell: A tool for flow injection spectroscopy and microscopy on a renewable solid support. *Anal. Chem.*; 65:3566-70.
- Sagara F, Kobayashi T, Tajima T, Ijyuin H, Yoshida I, Ishii D e Ueno K (1992). Development of a micro flow spectrophotometric titration method. *Anal. Chim. Acta*; 261:505-8.
- Saurina J, Hernández-Cassou S e Tauler R (1995a). Continuous flow titration system for the generation of multivariate spectrophotometric data in the study of acid-base equilibria. *Anal. Chim. Acta*; 312:189-98.
- Saurina J, Hernández-Cassou S e Tauler R (1995b). Multivariate curve resolution applied to continuous-flow spectrophotometric titrations. Reaction between amino acids and 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid. *Anal. Chem.*; 67:3722-6.
- Saurina J, Hernández-Cassou S, Tauler R e Izquiedo-Ridorsa A (2000). Spectrophotometric determination of pKa values on a pH gradient flow-injection system. *Anal. Chim. Acta*; 408:135-43.
- Schick KG (1984). High speed, on-stream acid-base titration utilizing flow injection analysis. *Adv. Instrum.*:279-81.
- Simpson SF e Holler FJ (1982). Potentiometric detection system for flow injection titrimetry. *Anal. Chem.*; 54:43-6.
- Skeggs LT (1966). New dimensions in medical diagnosis. *Anal. Chem.*; 38:31-44A.
- Spohn U, Nagy G e Pungor E (1986). Some contributions to the optimal design of triangle-programmed coulometric titration systems. *Anal. Sci*; 2:423-30.
- Stewart KK (1986). Time-based flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*; 179:59-68.
- Stewart KK e Rosenfeld AG (1982). Exponential dilution chambers for scale expansion in flow injection analysis. *Anal. Chem.*; 54:2368-72.
- Tan A e Xiao C (1997). An automatic back titration method for microchemical analysis. *Talanta*; 44:967-72.
- Tan A, Zhang L e Xiao C (1999). Simultaneous and automatic determination of hydroxide and carbonate in aluminate solutions by a micro-titration method. *Anal. Chim. Acta*; 388:219-23.
- Taylor RH, Rotermund J, Christian GD e Ruzicka J (1994). Co-determination of sodium metabisulfite and starch in corn syrup by flow injection coulometry. *Talanta*; 41:31-38.
- Taylor RH, Ruzicka J e Christian GD (1992a). Flow-injection coulometric titrations. *Talanta*; 39:285-92.
- Taylor RH, Winbo C, Christian GD e Ruzicka J (1992b). Bromine number determination by coulometric flow-injection titrations. *Talanta*; 39:789-94.
- Toei J (1988). A new flow injection titration analysis. *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 330:484-8.

- Turner DR, Knox S, Whitfield M e Santos MC (1987). Flow injection titration of alkalinity in natural waters. *Anal. Proc.*; 24:360-2.
- Turner DR, Knox S, Whitfield M, Santos M, Pescada C e Gonçalves ML (1989). An integrated gradient chamber and potentiometric detector for flow injection analysis. Part 2. Measurement of acidity constants of weak acids. *Anal. Chim. Acta*; 226:239-46.
- Turner DR, Knox S, Whitfield M, Santos M, Pescada C, Gonçalves ML (1989). An integrated gradient chamber and potentiometric detector for flow injection analysis. Part 1. Assessment of the system. *Anal. Chim. Acta*; 226:229-38.
- Turner DR, Santos MMC, Coutinho P, Gonçalves ML e Knox S (1992). Rapid pK measurements for multibasic weak acids by gradient flow injection titration. *Anal. Chim. Acta*; 258:259-67.
- Tyson JF (1986). Peak width and reagent dispersion in flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*; 179:131-48.
- Tyson JF (1987a). The principles of flow injection titrations. *Anal. Proc.*; 24:362-4.
- Tyson JF (1987b). Analytical information from doublet peaks in flow injection analysis. Part I. Basic equation and applications to flow injection titrations. *Analyst*; 112:523-6.
- Valcarcel M e Luque de Castro MD (1987). *Flow-Injection Analysis. Principles and Applications*, Ellis Horwood, Chichester.
- Van Osch GWS e Griepink B (1977). The use of a gold-containing membrane for ion-sensitive electrodes and their application in analysing systems. III. Monitoring of ion-concentrations (e.g. chloride) in a solvent stream by continuous titrations. *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 284:267-71.
- Van Standen JF e du Plessis H (1997). Sequential injection acid-base titration – A useful application for process analytical science. *Anal. Commun*; 34:147-51.
- Visal de Aquino E, Rohwedder JJR e Pasquini C. Monosegmented flow titrator. *Livro de resumos do 8th International Conference on Flow Analysis*, pág. 189 (O34), Varsóvia-Polónia, 25 a 29 de Junho de 2000.
- Wang XD, Cardwell TJ, Cattrall RW e Jenkins GE (1998a). Pulsed flow chemistry. A new approach to the generation of concentration profiles in flow analysis. *Anal. Comm.*; 35:97-101.
- Wang XD, Cardwell TJ, Cattrall RW, Duson RP e Jenkins GE (1998b). Time-division multiplex technique for producing concentration profiles in flow analysis. *Anal. Chim. Acta*; 368:105-11.
- Willem E e Linden vd. Classification and definition of analytical methods based on flowing media (IUPAC recommendations 1994). *Pure Appl. Chem.*, 66:2493-500.
- Woods BA, Ruzicka J e Christian GD (1987). Sequential determination of both acids and bases by optosensing flow injection analysis using a single-line manifold. *Anal. Chem.*; 59:2767-73.
- Yarnitzky CN, Klein N e Cohen O (1993). Automated titrations with an alternate flow exponential speed variation system. *Talanta*; 40:1937-41.
- Ziedel H (1914). Automatische titrationen. *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 53:755-60.