



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de São José do Rio Preto

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO
(FIA) PARA DETERMINAÇÃO DE DISSULFETO DE TETRAMETILTIRAM
(*Tiram*) UTILIZANDO REAGENTE IMOBILIZADO EM REATOR DE FASE SÓLIDA
(RFS)**

Aluno: **RANULFO COMBUCA DA SILVA JUNIOR**

Orientador: **PROF. DR. MARCOS FERNANDO DE SOUZA TEIXEIRA**

Co-orientador: **PROF. DR. HOMERO MARQUES GOMES**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2011

RANULFO COMBUCA DA SILVA JUNIOR

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO
(FIA) PARA DETERMINAÇÃO DE DISSULFETO DE TETRAMETILTIRAM
(*Tiram*) UTILIZANDO REAGENTE IMOBILIZADO EM REATOR DE FASE SÓLIDA
(RFS)**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química no Programa de Pós graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira.

Co-orientador: Prof. Dr. Homero Marques Gomes.

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2011

Silva-Junior, Ranulfo Combuca da.

Química: Mestrado/ Ranulfo Combuca da Silva Junior - São José do Rio Preto : [s.n.], 2011.

47 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Marcos Fernando de Souza Teixeira

Co-orientador : Homero Marques Gomes

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Espectrofotometria. 2. *Tiram*. 3. F.I.A.. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

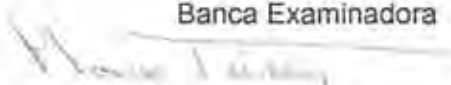
CDU -

Ranulfo Combuca da Silva Junior

Desenvolvimento de um método de análise por injeção em fluxo (FIA) para determinação de dissulfeto de tetrametiltiuram (Tiram) utilizando reagente imobilizado em reator de fase sólida (RFS)

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração – Química Ambiental, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

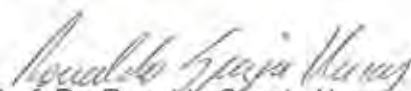
Banca Examinadora



Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira
UNESP – Presidente Prudente
Orientador



Prof. Dr. Mano Sérgio Galhiane
UNESP – Bauru



Prof. Dr. Ronaldo Spezia Nunes
UNESP – Guaratinguetá

São José do Rio Preto
24/novembro/2011

Dedico esse trabalho:

A Deus por proporcionar mais este momento de felicidade.

Aos meus pais Ranulfo e Raimunda pelo apoio, incentivo e amor
durante toda a minha vida.

As minhas irmãs Janaina, Ana Paula e ao Itamar pelo apoio e
confiança incondicionais.

Ao Prof. Dr. Marcos F. S. Teixeira.

Ao Prof. Dr. Homero Marques Gomes.

Ao Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira.

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira pela orientação, exemplo de dedicação, ética profissional e pela amizade.

Sou imensamente grato ao Prof. Dr. Homero Marques Gomes por assumir a responsabilidade da orientação, sugestões, acompanhamento, pelo incentivo, amizade, durante a realização deste trabalho.

A Prof^a. Dr. Ana Maria Pires pela colaboração no trabalho.

Um agradecimento especial ao Herbeth Juliano Vieira por tudo que me ensinou sobre a técnica (FIA).

Aos meus amigos Iara Ap. Brito, Paulo A. Raymundo, Diego Ceccato, e João Paulo Gelamos. Sempre estivemos unidos desde a graduação até o término do mestrado.

A Lígia Bueno, Leandra Salmazo e Kátia Moréia.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram nos momentos de dificuldade.

Aos colegas do GPES – Grupo de Pesquisa em Eletroanalítica e Sensores, que foram muito importantes durante essa etapa. Diego Parra, Fernando (Codorna), Camila Rizzard, Camila Proença, Thaísa Baldo, Cibely Marin, Larissa Santos, Wesley Machini, Daniela, Natalia Domenici, Thiago Mariano, Ana Carolina Hojo e Yuri Alves.

**"Aquilo que persistimos em fazer torna-se mais fácil,
não porque a natureza da coisa mude,
mas porque a nossa capacidade de executá-la aumenta."**

(Harber J. Grant)

Currículo

1 Formação Acadêmica

Graduado no curso de Licenciatura em Química pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Faculdade de Ciências e Tecnologia - FCT - Campus Presidente Prudente/SP. 2004-2008.

Desenvolveu sua iniciação científica junto ao Grupo de Pesquisa em Eletroanalítica e Sensores (GPES) sob orientação do Prof. Dr. Marcos F. S. Teixeira. Bolsista PIBIC/CNPQ/Unesp de 02 a 07/2008. Tem experiência na área de Química Analítica, com ênfase em Espectrofotometria, atuando principalmente com Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA). Atua como professor de química no ensino médio: E.E. Lúcia Silva de Assumpção e E.E. Olga Yasuko Yamashita. Pirapozinho/SP.

1.1 Formação Complementar

Curso Técnico de Análise Química Industrial de Alimentos pela Escola de Artefatos Curtimento de Couros e Alimentos Antônio Zacharias – SENAI – Presidente Prudente/SP. 2006-2008.

2 Resumos Apresentados em Congressos

SILVA-JUNIOR, R.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; GOMES, H.M.; Desenvolvimento de um Método de Análise por Injeção em Fluxo para Determinação de *Tiram* em Amostra de Milho. 18° Encontro da Sociedade Brasileira de Química – Regional Interior Paulista. Novembro/2011, São José do Rio Preto/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.

GOMES, H.M.; SILVA-JUNIOR, R.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; Desenvolvimento de um Método de Análise por Injeção em Fluxo (FIA) para Derterminação de Dissulfeto de Tetrametiltiuram (*Tiram*). 16° Encontro Nacional de Química Analítica. Outubro/2011, Campos do Jordão/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.

SILVA-JUNIOR, R.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; Desenvolvimento de um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA) para determinação de *Tiram* em amostras comerciais utilizando reagente imobilizado em Reator de Fase Sólida. 1º Simpósio de Pós Graduação em Química. Agosto/2010, São José do Rio Preto/SP. Resumo aceito como apresentação oral e painel.

SILVA-JUNIOR, R.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; Desenvolvimento de um Sistema de Análise por Injeção em Fluxo para Determinação de *Tiram*. XX Congresso de Iniciação Científica da Unesp. Novembro/2008, São José dos Campos/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.

SILVA-JUNIOR, R.C.; TEIXEIRA, M.F.S.; GOMES, H.M.; VIEIRA, H.J.; Determinação Espectrofotométrica de Cianeto pela Reação de Deslocamento de Equilíbrio do Complexo $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$ Empregando Sistema de Análise em Fluxo. XIX Congresso de Iniciação Científica da Unesp. Outubro/2007, Presidente Prudente/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.

SILVA, E.R.; GARCIA, T.M.; SILVA-JUNIOR, R.C.; TEIXEIRA, M. F. S. Estudo Voltamétrico do Eletrodo Quimicamente Modificado com Complexo Rutênio Vermelho. 30ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química. Junho/2007, Águas de Lindóia/SP. Resumo aceito como apresentação de painel.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO (FIA) PARA DETERMINAÇÃO DE DISSULFETO DE TETRAMETILTIRAM (*Tiram*) UTILIZANDO REAGENTE IMOBILIZADO EM REATOR DE FASE SÓLIDA (RFS).

No presente trabalho, foi desenvolvido um método analítico destinado à quantificação do fungicida *Tiram* baseado na capacidade que este possui de complexar íons Cu^{2+} . A quantificação foi efetuada por meio do acoplamento de espectrofotometria visível a um reator de fase sólida (RFS) utilizando de técnicas de análise em fluxo. O RFS utilizado foi constituído por um tubo de plástico (12 cm e 2 mm d.i.) preenchido por resina poliéster finamente triturada contendo fosfato de Cu^{2+} imobilizado. Durante o contato de 100 μL de *Tiram* com íons Cu^{2+} imobilizados na resina, forma-se o complexo $\text{Cu}^{2+} / \text{Tiram}$. Nesta etapa, o complexo é liberado para a solução carregadora (água) a uma vazão de 2,5 mL min^{-1} . Sendo intensamente colorido esta espécie é a base do presente método de quantificação a 439 nm. Com o desenvolvimento da reação, a curva analítica obtida foi linear no intervalo de concentração de $3,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $6,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e frequência de amostragem de 60 determinações por hora.

Palavras-Chaves: Espectrofotometria. *Tiram*. FIA.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A PROCEDURE FOR FLOW INJECTION ANALYSIS FOR THE TETRAMETHYLTHIURAM DISSULFIDE (THIRAM) DETERMINATION USING A SOLID-PHASE REACTOR.

In this dissertation an analytical method for the Thiram fungicide quantification, based on the capacity which it has a complex copper ions was developed. The quantification was performed by mean of visible spectrophotometry coupling a solid-phase reactor using flow techniques. The solid-phase reactor used is consisting of a plastic tube (12 cm and 2 mm diameter) filled with finely crushed polyester resin containing copper phosphate immobilized. During the contact of 100 μL Thiram with Cu^{2+} ions immobilized on the resin is formed the complex $\text{Cu}^{2+} / \text{Thiram}$. At this stage, the complex is released into the carrier solution (water) with flow rate of $2,5 \text{ mL min}^{-1}$ being intensely colored and this species is the basis of this method of quantification at 439 nm. With the development of the reaction, analytical curve was linear on the concentration range of $3,0 \times 10^{-5}$ to $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ with a detection limit of $6,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ and a sampling frequency of 60 determinations per hour.

Keywords: Spectrophotometry. Thiram. FIA.

Sumário

	RESUMO	viii
	ABSTRACT	ix
	LISTA DE FIGURAS	xii
	LISTA DE TABELAS	xiv
	ABREVIATURAS	xv
1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Dissulfeto de Tetrametiltiuram (<i>Tiram</i>)	1
1.2	Principais Métodos para determinação do <i>Tiram</i>	2
2	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	3
2.1	Análise por Injeção em Fluxo (FIA)	3
2.2	Configurações Elementares de um Sistema FIA	8
2.3	Sistema em Confluência	8
2.4	Reator em Fase Sólida	9
2.5	Características dos reagentes imobilizados e dos suportes	10
3	PARTE EXPERIMENTAL	13
3.1	Instrumentação	13
3.1.1	Balança Analítica	13
3.1.2	Espectrofotômetro	13
3.1.3	Bomba peristáltica	13
3.2	Tubos e conexões	13
3.3	Injetor comutador	14
3.4	Preparação e acoplamento do reator contendo íons cobre	14
3.5	Confecção do Reator de Fase Sólida	15
3.6	Reagentes e soluções	15
3.6.1	Soluções estoque	16
3.6.2	Solução de brometo de tetrabutylamônio	16
3.6.3	Preparo das amostras	16
3.6.3.1	Solução de <i>Tiram</i> na amostra de VITAVAX-THIRAM	16

3.6.3.2	Amostra de milho tratada com VITAVAX-THIRAM	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1	Estudos Preliminares	17
4.2	Estudo do Complexo Cobre- <i>Tiram</i>	18
4.2.1	Estudo da Solubilidade do <i>Tiram</i>	18
4.2.2	Determinação do espectro do complexo formado entre Cobre- <i>Tiram</i>	19
4.3	Diagrama esquemático do sistema de análise por de injeção em fluxo com um reator em fase sólida (RFS)	21
4.4	Estudos dos parâmetros do sistema em fluxo	22
4.4.1	Estudo da solução transportadora	22
4.4.2	Estudo do volume da alça de amostragem	23
4.4.3	Efeito da vazão da solução transportadora	24
4.4.4	Efeito da Bobina Helicoidal	26
4.4.5	Estudos dos parâmetros do reator em fase sólida (RFS)	27
4.4.6	Estudo da repetibilidade e frequência de amostragem	28
4.4.7	Estudo da reprodutibilidade do RFS	29
4.5	Curva Analítica	31
4.6	Determinação de <i>Tiram</i>	32
4.6.1	Análise da amostra de milho tratada com VITAVAX-THIRAM	32
4.6.1.1	Amostra de VITHAVAX-THIRAM 200 SC	32
4.6.2	Determinação do espectro do complexo formado entre Cobre/ <i>Tiram</i> na amostra de VITAVAX-THIRAM 200 SC	33
4.6.3	Análise da amostra	34
4.7	Teste de adição e recuperação	34
4.8	Aplicação	35
5	CONCLUSÃO	37
	Atividades Futuras	38
	Referências Bibliográficas	39
	Anexo	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura molecular do <i>Tiram</i>	1
Figura 2	Representação de um sistema FIA	4
Figura 3	Determinação do valor de D (dispersão)	6
Figura 4	Divisão dos Sistemas FIA	7
Figura 5	Configurações Elementares de Sistemas FIA	8
Figura 6	Possíveis localizações de um reator em fase sólida acoplado a um sistema FIA	10
Figura 7	Procedimento de imobilização do reagente $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ em resina poliéster e preparo do RFS	15
Figura 8	Espectro de Absorção do Cobre (II)	20
Figura 9	Espectro de absorção do <i>Tiram</i>	20
Figura 10	Sobreposição dos espectros de absorção de todas as espécies envolvidas	21
Figura 11	Diagrama esquemático do sistema de injeção em fluxo para determinação espectrofotométrica de <i>Tiram</i>	22
Figura 12	Diagrama obtido utilizando alças de amostragem de volumes variados	23
Figura 13	Efeito do volume da alça de amostragem sobre o sinal analítico	24
Figura 14	Diagrama obtido utilizando diferentes vazões da solução transportadora	25
Figura 15	Influência da vazão da solução transportadora mL min^{-1}	25
Figura 16	Diagrama obtido utilizando diferentes volumes de bobina helicoidal	26
Figura 17	Influência da Bobina Helicoidal no sinal analítico	27
Figura 18	Estudo do comprimento do reator em fase sólida (RFS) sobre o sinal analítico	28
Figura 19	Estudo da repetibilidade para solução de referência de <i>Tiram</i>	29
Figura 20	Avaliação da reprodutibilidade entre RFS distintos	30

Figura 21	Sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de <i>Tiram</i> em diferentes concentrações (mol L⁻¹)	31
Figura 22	Curva Analítica <i>Tiram</i>	32
Figura 23	Espectro de absorção do complexo Cu²⁺ / <i>Tiram</i> na amostra de VITAVAX-THIRAM	33
Figura 24	Diagrama esquemático do sistema de injeção em fluxo para determinação espectrofotométrica de <i>Tiram</i> em amostras	34
Figura 25	Sinais transientes obtidos em triplicata da curva de padrão externo	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Exemplos de Sistemas FIA incluindo o emprego de RFS	12
TABELA 2	Testes da solubilidade do <i>Tiram</i>	19
TABELA 3	Avaliação da reprodutibilidade entre RFS distintos	30
TABELA 4	Estudo da adição e recuperação na amostra de VITAVAX-THIRAM	35

ABREVIATURAS

Tiram – Dissulfeto de Tetrametiluram

RFS – Reator de Fase Sólida

FIA – Análise por Injeção em Fluxo

TBA – Brometo de Tetrabutilamônio

1 Introdução

1.1 Dissulfeto de Tetrametiltiuram (*Tiram*)

O Brasil, como um país de extensa área rural e clima favorável, é um dos maiores produtores e exportadores de produtos agrícolas do mundo. Entretanto, muitos agricultores ainda não seguem as boas práticas agrícolas e, muitas vezes, utilizam de forma indiscriminada os agrotóxicos, tanto no que se refere à quantidade como a qualidade desses produtos. Os ditiocarbamatos pertencem a um grupo de agrotóxicos organossulfurados empregados na agricultura com ação fungicida¹.

O dissulfeto de tetrametiltiuram (*Tiram*), apresentado na Figura 1, é um fungicida da família dos *N,N*-dialquiltiocarbamatos. Os compostos dialquiltiocarbamatos são usados para o controle de uma variedade de doenças em frutas, vegetais e plantas ornamentais² e, protege as colheitas de deterioração por fungos no armazenamento ou transporte. O *Tiram* é usado também como um repelente de animais, para proteger árvores frutíferas e ornamentais dos danos causados pelos coelhos, roedores e cervos. Outras aplicações do *Tiram* o incluem como acelerador na vulcanização da borracha, no tratamento de Escabioses (sarnas), na composição de filtros solares e como bactericida aplicado diretamente na pele ou incorporado no sabão³.

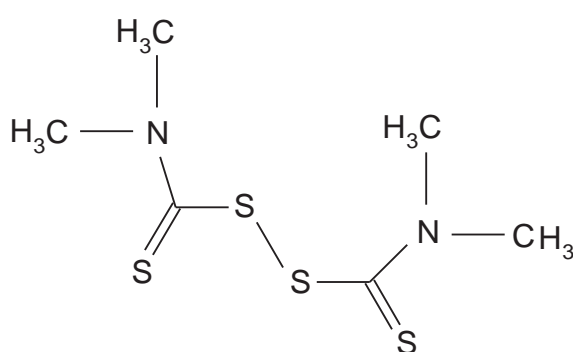


Figura 1 – Estrutura molecular do *Tiram*. ($C_6H_{12}N_2S_4$ - PM: 240.41 g mol⁻¹).

Na literatura são relatadas dermatites de contato atribuídas à exposição excessiva e prolongada ao produto^{4,5} ou contato com plantas pulverizadas com o fungicida. Existem relatos sobre propriedades mutagênicas (alterações da expressão genética em células de leveduras e mutagenicidade em camundongos)^{6,7}

e carcinogênicas do produto^{8,9} descobertas através de avaliação do potencial tumorigênico do *Tiram* após exposição tópica, que sem dúvida, são características negativas do fungicida. Assim, por não ser um composto inócuo aos humanos¹⁰, é necessário um controle adequado do fungicida *Tiram*.

1.2 Principais Métodos para Determinação do *Tiram*

Como os carbamatos geralmente não apresentam grupos cromóforos, eles não podem ser quantificados espectrofotometricamente na forma livre. Entretanto na forma de complexos com cobalto (III), alguns podem ser quantificados espectrofotometricamente na região do UV¹¹. Assim, os principais métodos para determinação de *Tiram* e de outros carbamatos são baseados em colorimetria^{12,13}, espectrofotometria^{14,15}, cromatografia de camada delgada utilizando um densitômetro como detector^{16,17}, cromatografia gasosa com espectroscopia de massa^{18,19}, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com fotólise UV ou fluorescência^{20,22}, espectrometria de massas LC/MS²³, cromatografia eletrocínica micelar (MEKC)²⁴, imunoenensaio enzimático (ELISA)^{25, 26} e voltamétrico utilizando de um potenciostato^{27, 28}. Entretanto, alguns desses procedimentos são de alto custo, enquanto outros são trabalhosos, pois envolvem diversas etapas químicas e/ou analíticas.

O desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação de fungicidas da família dos ditiocarbamatos é importante pois o efeito direto da exposição a estes fungicidas pode causar alergia, inflamação dos olhos e no trato respiratório em humanos e, a exposição a longo prazo pode causar mudanças funcionais no sistema cardiovascular.

Cassella *et al.*²⁹ propuseram um método para a determinação dos ditiocarbamatos *ziram* (*zinco-bis-dimetilditiocarbamato*) e *Tiram* em amostras sólidas pela da extração com clorofórmio. A determinação foi realizada empregando um sistema de análise por injeção em fluxo com detector infravermelho. O acompanhamento do sinal analítico foi monitorado pela absorbância na região entre 1600-1460 cm⁻¹ e 1400-1315 cm⁻¹ para *Ziram* e *Tiram*, respectivamente.

Um sistema de análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica baseado na oxidação eletroquímica do *Tiram* utilizando um eletrodo de grafite / poli-tetrafluoretileno foi proposto por Pingarrón *et. al.*³⁰. Neste método a

curva analítica foi linear no intervalo de concentração de $2,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

A determinação de *Tiram* através da formação do complexo tetrametiltiram (*Tiram*)-Cobre (II) por voltametria usando eletrodo de carbono foi proposto na literatura para determinação do analito em plantas com resultado satisfatório³¹.

Foi desenvolvido um método utilizando espectrofotometria vibracional (FTIR) e FT-Raman para a análise quantitativa de componentes ativos presentes na formulação de pesticidas comerciais, proposto por Armenta e colaboradores³².

O controle em amostras comerciais é necessário principalmente para minimizar a contaminação do meio ambiente e no momento do uso na agricultura. O *Tiram* é também um produto da degradação ambiental de outros dois fungicidas, *Ferbam* (ferro (III) dimetilditiocarbamato) e *Ziram* (zinco-bis-dimetilditiocarbamato)³³.

2 Fundamentos Teóricos

2.1 Análise por Injeção em Fluxo (FIA)³⁴

Com a crescente demanda por resultados de análises (de rotina ou de grande número de amostras) tornou necessário o desenvolvimento e aperfeiçoamento de métodos analíticos, que tenham velocidades analíticas bastante superiores aos métodos manuais. Esses métodos, quase sempre automatizáveis, foram desenvolvidos em profusão. Dentre esses, um dos mais interessantes, por sua simplicidade, baixo custo tanto na implantação quanto na operação, são os baseados em Análise por Injeção em Fluxo (FIA).

A injeção em fluxo é muito utilizada em análises clínicas, de produtos farmacêuticos, na análise de água e no controle de processos industriais garantindo maior precisão do que operações manuais como pipetagens, diluições, separações e misturas. A primeira proposta para análise em fluxo surgiu em 1957³⁵, a qual resultou nos atuais auto-analisadores.

A técnica de Análise por Injeção em Fluxo, geralmente denominada de FIA (do nome em inglês: Flow Injection Analysis) proposta por RUZICKA e HANSEN³⁶ em 1975 e, STEWART³⁷ em 1976, baseia-se na injeção de pequenas

quantidades da amostra em solução, dentro de um percurso analítico contendo um reagente adequado. Após a injeção, a amostra é transportada até o detector por um fluxo carregador não segmentado, que pode ser o próprio reagente ou uma solução quimicamente inerte, onde o sinal analítico é detectado e registrado.

A Análise por Injeção em Fluxo (FIA) constitui uma metodologia em química analítica que permite automatizar a manipulação de soluções utilizando aparelhagem barata, manejo fácil e grande facilidade na obtenção de resultados. Além disso, o sistema apresenta vantagens como minimização do consumo de amostras e reagentes, diminuir ou eliminar a contaminação da amostra e do analista³⁸. Neste sistema (Figura 2) uma ou mais soluções contendo reagentes confluem continuamente com o carregador anteriormente à detecção. A zona de amostra injetada sofre dispersão, sendo misturada com as soluções carregadora e reagente. O produto resultante é transportado em direção a um detector no qual ocorrerão as medidas e, daí então para o descarte. A dispersão ou diluição da zona de amostra pode ser controlada ou adaptada às análises requeridas pela otimização de vários fatores, tais como: o volume injetado da amostra, as vazões do fluido carregador e dos reagentes, o comprimento da bobina de reação e o diâmetro interno da tubulação³⁸. Estas condições de dispersão ou diluição da zona de amostra podem ser otimizadas para que se obtenha um melhor sinal analítico.

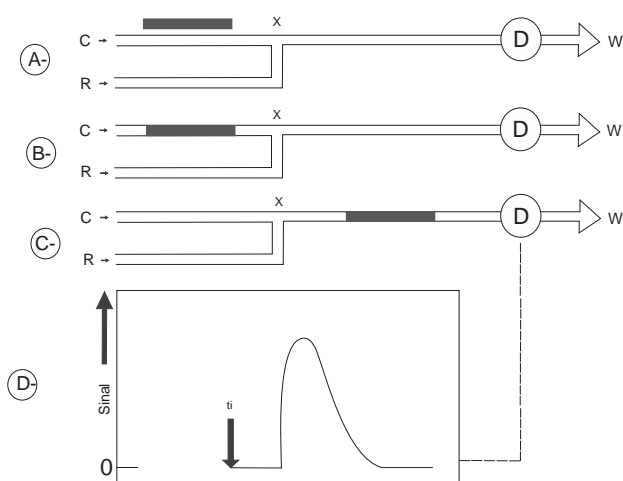


Figura 2 - Representação de um sistema FIA. (a) Após ser selecionado um volume de solução da amostra, o mesmo é introduzido em uma solução transportadora de amostras C. (b) Imediatamente, forma-se uma zona de amostra a qual sofre dispersão contínua enquanto é transportada em direção ao detector D. (c) No ponto x ocorre adição de um ou mais reagentes R. O sinal analítico medido pode ser registrado (d), i = instante de injeção da amostra³⁹.

Os sistemas FIA fornecem respostas extremamente rápidas pois o tempo médio de residência das amostras é de 20 a 50 segundos. A dispersão em sistemas FIA é um processo físico-químico dependente de um grande número de parâmetros, não podendo, portanto, ser quantificada em termos de um único valor³⁹.

A dispersão da zona de amostra foi definida por RUZICKA E HANSEN como:

$$D = \frac{C^0}{C} \quad (1)$$

Onde D foi denominado como número de dispersão, C^0 a concentração real da espécie contida na amostra e C é a concentração da espécie química medida no detector (após o processo de dispersão). O valor de C^0 é obtido bombeando-se o composto colorido formado pela reação da espécie de interesse com o reagente colorimetricamente adequado, diretamente sem sofrer diluição na linha. O valor de C é obtido injetando-se um volume determinado de composto previamente formado, na linha usando um carregador para levá-lo ao detector (corresponde ao máximo do pico registrado)⁴⁰.

Em sistemas FIA mais simples, em linha única (Figura 3), o valor de D pode ser determinado como a razão entre as medidas relativas à amostra injetada (altura do pico) e a amostra em situação de volume infinito (altura do patamar registrado), desde que os sinais analíticos sejam linearmente proporcionais as concentrações³⁵.

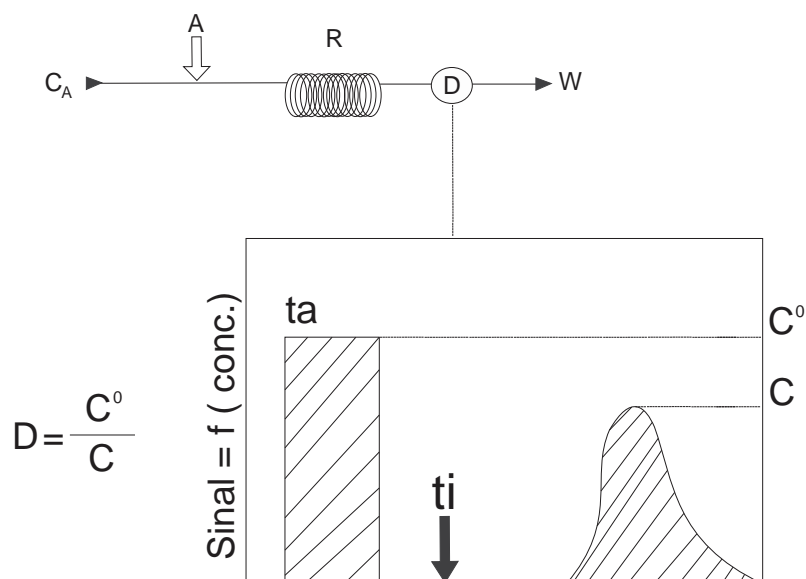


Figura 3 – Determinação do valor de D. Inicialmente, uma solução colorida A simulando a amostra é colocada em C_A , sendo registrado um patamar correspondente a C^0 . Posteriormente, C_A é restaurado e a solução A é injetada, sofrendo dispersão na bobina reacional R, atingindo o detector espectrofotométrico D originando um pico cuja altura reflete a concentração C da porção mais concentrada da zona de amostra⁴¹.

Os fatores associados ao processo de dispersão são viscosidade dos fluidos, coeficientes de difusão das espécies químicas, rugosidade das paredes internas das tubulações, volume da amostra injetado, dimensões do percurso analítico, presença de fluxos confluentes, etc.

Geralmente os sistemas de análise por injeção em fluxo (Figura 4) são constituídos por componentes básicos como: unidade propulsora de solução (geralmente feita com a utilização de bombas peristálticas), unidade de introdução da amostra, unidade de mistura/tratamento da amostra, unidade de detecção e unidade de coleta e armazenamento dos sinais obtidos. Estas unidades podem ser acopladas a um computador, que permite tanto o controle dessas unidades, como a aquisição simultânea e processamento dos dados. A concentração do analito na amostra é determinada pela medida de sua absorvância em uma célula de fluxo. Diversos instrumentos que indicam a variação de propriedades físico-químicas do sistema podem ser utilizados como detector tais como espectrofotômetro, potenciômetro, IR, condutivímetro etc.⁴².

As tubulações empregadas na construção de um sistema devem ser

especificadas (comprimento, diâmetro interno e tipo de material usado) já que a sua natureza pode afetar a aderência dos fluidos em um analisador⁴³.

As bombas peristálticas constituem-se no equipamento mais utilizado para movimentar soluções em sistemas de análise em fluxo. São equipamentos versáteis, em geral, com múltiplos canais, que possibilitam impulsionar e/ou aspirar soluções, emulsões ou mesmo suspensões, em ampla faixa de viscosidades, sem contato direto das mesmas com partes mecânicas da bomba, afora o tubo flexível sobre o qual são aplicados os movimentos peristálticos pelo rotor da bomba. As vazões podem ser ajustadas num amplo intervalo, de forma contínua ou em pequenos incrementos, controlando a rotação da bomba e/ou o diâmetro interno dos tubos⁴⁴.

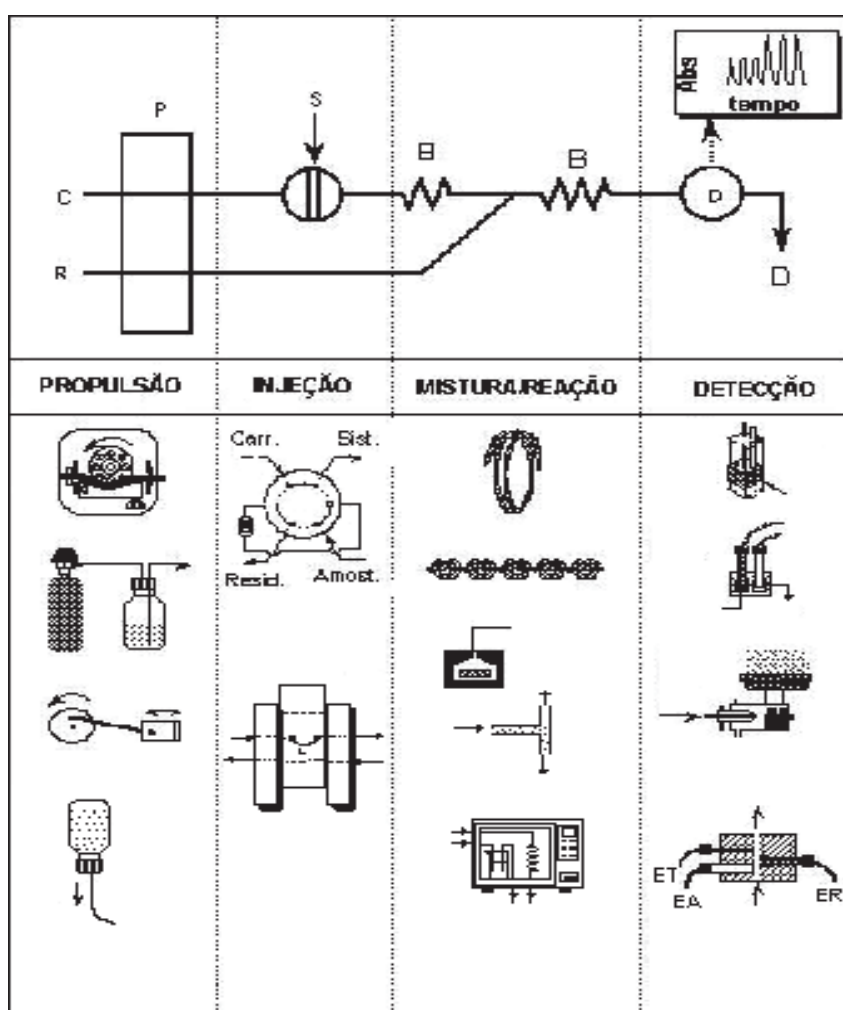


Figura 4 - Divisão dos sistemas FIA: unidade propulsora de fluidos (P), de inserção de amostra (S), de reação/mistura (B) e de detecção (D), onde (C) é a solução carregadora e (R) reagente. (esquema adaptado do livro de Ruzicka e Hansen³⁶).

2.2 Configurações Elementares de um Sistema FIA⁴²

As configurações de sistemas FIA mais elementares são os sistemas de linha única, sistemas em confluência e sistemas com zonas coalescentes (Figura 5). Os sistemas FIA também podem ser ainda projetados a partir de implementações de outras variáveis nos sistemas elementares. Exemplos dessas implementações são os sistemas com fluxos alternativos, fluxos intermitentes, aprisionamento de zona de amostra, amostragem na zona de amostra, etc⁴⁵.

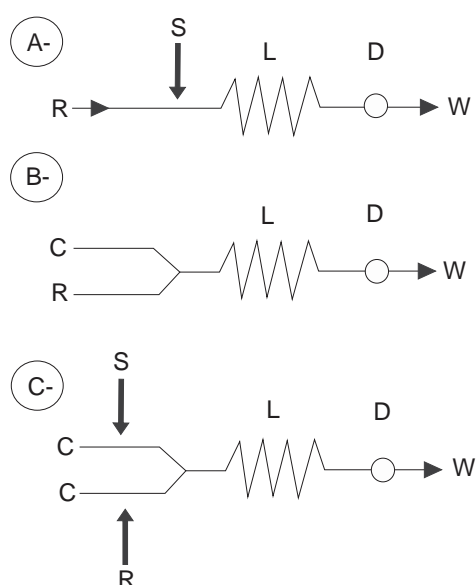


Figura 5 – Configurações elementares de sistemas FIA. (A) sistema linha única, (B) sistema em confluência e (C) Sistema com zonas coalescentes. R, reagente; S, amostra; L, bobina reacional; C, carregador; D, detector e W, descarte⁴⁵.

2.3 Sistema em Confluência⁴²

Nos sistemas de injeção em fluxo de linha única (Figura 5A), a solução reagente é utilizada também como transportadora, assim o consumo de reagentes é maior do que o necessário para promover a reação química. Para solucionar esse consumo é possível fazer a introdução das soluções reagentes por confluência (Figura 5B). Adotando esta estratégia, a vazão do reagente pode ser reduzida, sem afetar a sua disponibilidade na zona de amostra.

Nos sistemas em confluência a amostra é injetada em um fluido carregador quimicamente inerte, o qual apresenta características matriciais

semelhantes à amostra. A adição de reagentes ocorre via pontos de confluência (Figura 5B).

As limitações dos sistemas em linha única foram resolvidas, adotando-se a adição do reagente por confluência (Figura 5C). O reagente adicionado por confluência, logo após o injetor, permite que cada fração da amostra receba a mesma quantidade de reagente.

A partir da confluência somam-se as vazões do carregador e do reagente, então a amostra é distribuída em um espaço maior que o ocupado anteriormente, o que corresponde a uma diluição. Nesse caso, a amostra ocupa uma maior fração do percurso analítico, o que é equivalente ao emprego de uma alça de amostragem mais longa, e, conseqüentemente, isso aumenta a dispersão. É conveniente que se conheça em que extensão a vazão confluyente afeta a magnitude da medida⁴⁵.

2.4 Reator em Fase Sólida

Reatores de fase sólida (RFS) são geralmente reagentes que apresentam baixa solubilidade e, em sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA) envolvem a imobilização ou aprisionamento de reagentes sólidos num dado ponto do sistema onde deve fluir o par amostra-transportador, com a finalidade de facilitar a reação na interface sólido-solução⁴⁴, ocorrendo assim a conversão do analito em uma espécie detectável por técnicas espectrofotométricas e/ou eletroquímicas.

O aprisionamento de reagentes em um reator em fase sólida pode ser realizado pela utilização direta de reagentes insolúveis nas soluções que fluem através do reator (imobilização natural), ou pela retenção dos reagentes em suportes sólidos através de um mecanismo físico ou químico⁴⁶. A justificativa de se empregar reagentes sólidos ao invés de soluções é a economia de reagentes, o aumento da sensibilidade e do sinal analítico devido a menor dispersão da amostra, a simplificação do sistema em fluxo e, naturalmente, quando o reagente não existe na forma solúvel como amálgamas e resinas de troca iônica. O emprego desses reatores minimiza a geração de resíduos químicos, sendo, portanto, altamente recomendado por se tratar de metodologia analítica limpa (green chemistry).

A localização e dimensão do RFS em um sistema em fluxo dependem do propósito e da sua função no processo analítico (Figura 6). Tais funções podem

ser: (a) pré tratamento da amostra antes da inserção no percurso analítico, (b) pré tratamento de reagente, (c) conversão da amostra (reator na alça de amostragem), (d) conversão de amostra (reator entre o injetor e o detector, posição mais comum dos RFS) e, (e) integração reação-deteccção (reagente imobilizado no sistema de detecccção)⁴⁷.

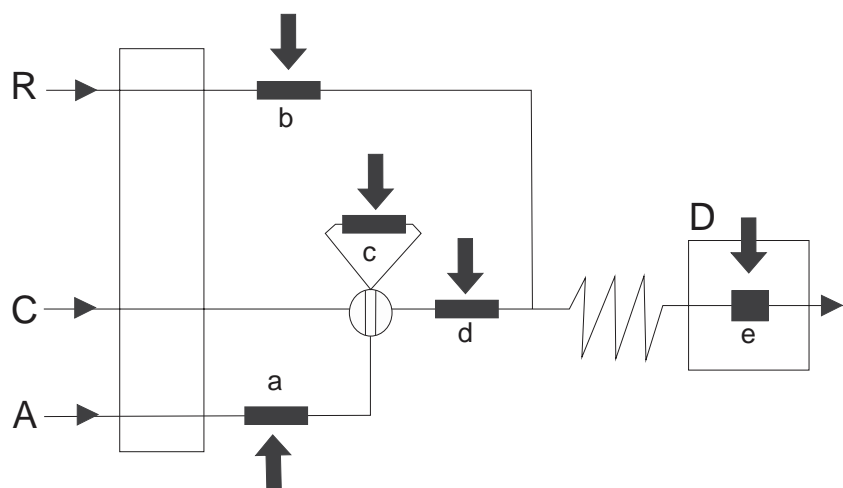


Figura 6 – Possíveis localizações de um reator em fase sólida acoplado no sistema FIA. R, reagente; A, Amostra; C, solução carregadora e D, detector⁴⁸.

2.5 Características dos reagentes imobilizados e dos suportes⁴²

Um reagente imobilizado quer seja naturalmente ou sobre um suporte sólido, deve apresentar algumas características importantes:

- o tamanho da partícula deve ser apropriado para permitir que as soluções passem livremente através do reator sem elevar a pressão hidrodinâmica acima dos níveis compatíveis com sistemas por injeção em fluxo;
- a reação deve ser rápida para que alcance a máxima conversão possível do analito. Além disso, deve ser quimicamente inerte às soluções transportadoras ou reagentes, caso contrário, isto reduzirá o tempo de vida útil do reator;
- as partículas empregadas no preenchimento dos reatores em fase sólida devem ser mecanicamente resistentes ao fluxo para que não ocorra o surgimento de espaços livres com o decorrer do tempo, o que resultaria no aumento da dispersão da zona de amostra no sistema. Ademais, a fragilidade das partículas poderia

ocasionar quebra das mesmas e, conseqüentemente, aumento na pressão hidrodinâmica do sistema, levando assim a variações do grau de conversão do analito causadas pelas alterações da superfície de contato sólido-solução.

Na Tabela 1 são indicados alguns trabalhos onde diferentes reagentes sólidos foram immobilizados e acoplados a sistemas FIA.

TABELA 1 – Exemplos de sistemas FIA incluindo o emprego de RFS.

Reagente	Analito	Detector	RDS(%)	Linearidade	Frequência de Amostragem/h ⁻¹	Ref.
Cu ₃ (PO ₄) ₂	Aspartame	UV-vis	0,2	20 a 80 µg mL ⁻¹	70	49
Zn ₃ (PO ₄) ₂	Aspartame	UV-vis	0,3	10 a 80 mg mL ⁻¹	70	50
AgCl	Dipirona	Turbidimetria	1,8	5 x 10 ⁻⁴ a 2,5 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹	45	51
CoCO ₃	Penicilamina	UV-vis	1,3	5 a 60 mg L ⁻¹ .	70	52
Fe(OH) ₃	Ácido Ascórbico	UV-vis	0,56	5 x 10 ⁻⁶ a 5 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	80	53
Cu ₃ (PO ₄) ₂	Ácido Ascórbico	UV-vis	0,75	5 x 10 ⁻⁶ a 4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	80	54
CuCO ₃	Ácido Salicílico	AAS	1,5	4 a 75 µg mL ⁻¹	257	55

3 Parte Experimental

3.1 Instrumentação

3.1.1 Balança Analítica

Todas as pesagens foram feitas utilizando-se uma balança analítica Adventurer - OHAUS, com precisão de $\pm 0,1$ mg.

3.1.2 Espectrofotômetro

No sistema FIA desenvolvido neste trabalho as determinações espectrofotométricas de otimização e análise de amostra foram feitas em um espectrofotômetro de feixe simples Femto, (modelo 600s) conectado a um microcomputador e gerenciado por programa computacional (FemWin 670 versão 1.2), utilizando uma cela de fluxo de vidro (caminho óptico de 1,00 cm).

As medidas dos espectros de absorção molecular foram feitas em um espectrofotômetro de feixe duplo Lambda 25 da Perkin Elmer empregando cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, acoplado a um microcomputador.

3.1.3 Bomba peristáltica

Para propulsão das soluções de reagentes e amostras utilizou-se uma bomba peristáltica Ismatec modelo ISM935.

3.2 Tubos e conexões

Foram empregados tubos e conexões de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm para confecção das bobinas reacionais, alças de amostragem e linhas de condução das soluções de referência e amostras. Os tubos de propulsão utilizados foram de *Tygon* de diferentes diâmetros internos.

3.3 Injetor comutador

As amostras e soluções padrão foram introduzidas no sistema de fluxo utilizando-se um duplo injetor comutador manual 2-3-2 construído em acrílico.

3.4 Preparação e acoplamento do reator contendo íons cobre

O fosfato de cobre (II) foi preparado de acordo com procedimento descrito na literatura⁵⁶. Adicionou-se ácido fosfórico concentrado H_3PO_4 em 20 g de carbonato básico de cobre (II) $CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$. O precipitado azul de fosfato de cobre $Cu_3(PO_4)_2$ formado foi lavado diversas vezes com pequenas porções de água deionizada e seco em estufa a $120^\circ C$ por duas horas.

O procedimento de confinamento⁵⁴ de reagentes de baixa solubilidade mais empregado é a reação de polimerização de cadeias lineares de poliéster não-saturado, que permite de certa maneira, o controle da dimensão das partículas e comprimento do reator. Reatores em fase sólida contendo reagentes imobilizados nessas matrizes poliméricas possuem boa estabilidade química e mecânica, bem como é resistente a ataques biológicos

O sal insolúvel foi imobilizado em resina poliéster na proporção 50% em massa da resina e do fosfato de cobre, misturando-se manualmente 2 gramas de cada componente em um frasco de polietileno, até a homogeneidade. Na seqüência, adicionou-se 0,5 mL de peróxido de metiletilcetona (catalisador), deixando-se a mistura à temperatura ambiente por 24 h para completa polimerização. O sólido obtido foi resfriado em nitrogênio e, em seguida, triturado em almofariz com auxílio de um pistilo.

As partículas obtidas pela trituração foram separadas em função de sua granulometria por peneiramento com malha de 0,250 mm pois, a uniformidade das partículas também afetam a eficiência do RFS. Os reatores de fase sólida foram construídos empacotando-se as partículas (com tamanho menor ou igual a 0,250 mm) do material polimérico, contendo o fosfato de cobre imobilizado, em micro colunas com diversos comprimentos e diâmetro interno de 2 mm.

3.5 Confeção do Reator de Fase Sólida

A confecção do reator foi executada da seguinte maneira: introduziu-se o sal imobilizado em resina em tubo de plástico (2 mm d.i, contendo numa das extremidades um pequeno pedaço de lã de vidro destinado a manter o material polimérico em seu interior). Após o total preenchimento do tubo inseriu-se na outra extremidade outro pedaço de lã de vidro destinada a manter material polimérico contido no interior do reator. O reator de fase sólida foi acoplado ao sistema de injeção em fluxo. A Figura 7 apresenta esquematicamente as etapas de imobilização do $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ em resina poliéster e de preparo do reator de fase sólida.

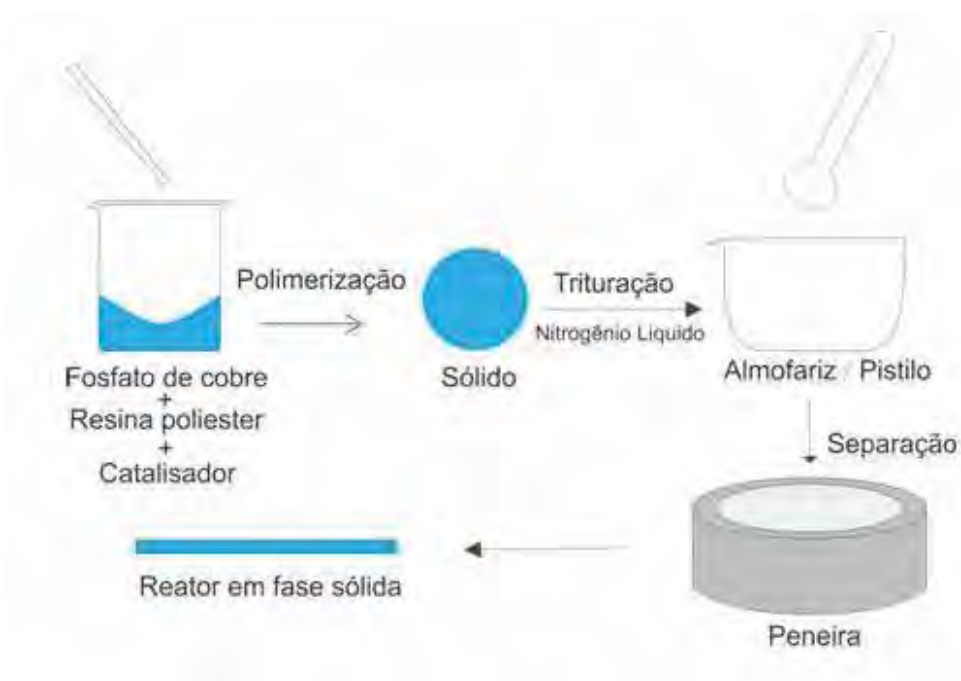


Figura 7 - Procedimento de imobilização do reagente $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ em resina poliéster e preparo do reator em fase sólida.

3.6 Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de pureza analítica e água deionizada.

3.6.1 Soluções estoque

A solução estoque de *Tiram* a uma concentração de $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se uma massa de 0,0500 g em um balão volumétrico de 50,0 mL com uma solução de brometo de tetrabutylamônio a uma concentração de 1 g.L^{-1} , completando-se seu volume. A solução foi aquecida com agitação até a dissolução e em seguida uma alíquota de 4,000 mL dessa solução foi transferida para um balão volumétrico de 50,0 mL com auxílio de uma micropipeta. O volume do balão foi completado com a mesma solução de brometo de tetrabutylamônio⁵⁷.

Todas estas soluções foram preparadas imediatamente antes das medidas, com o propósito de evitar degradação das mesmas.

3.6.2 Solução de brometo de tetrabutylamônio

Preparou-se solução de brometo de tetrabutylamônio a uma concentração de $1,0000 \text{ g.L}^{-1}$ dissolvendo-se uma massa de 1,0000 g com água deionizada em um balão volumétrico de 1000,0 mL completando-se seu volume com água.

3.6.3 Preparo das amostras

3.6.3.1 Solução de *Tiram* na amostra de VITAVAX-THIRAM

Preparou-se uma solução de *Tiram* contido na amostra do produto comercial VITAVAX-THIRAM a uma concentração de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ pesando-se uma massa de 0,24 gramas que foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com a solução de brometo de tetrabutylamônio a uma concentração de 1 g L^{-1} . A partir desta solução estoque realizaram-se diluições para determinação do espectro do complexo formado entre o analito *Tiram* contido no produto comercial e o íon Cu^{2+} .

3.6.3.2 Amostra de milho tratada com VITAVAX-THIRAM

A extração do *Tiram* contido na amostra de milho foi feita pesando-se uma massa de 35 g de milho tratado com VITAVAX-THIRAM, seguido de lavagem com 50 mL de água deionizada. A partir dessa água de lavagem foi possível realizar a medida de absorvância pelo método proposto para a quantificação de *Tiram*.

4 Resultados e Discussão

4.1 Estudos preliminares

Na proposta do projeto de mestrado optou-se por estudar a viabilidade do emprego de um sistema de análise por injeção em fluxo para a determinação de *Tiram* empregando-se reagente imobilizado em reator de fase sólida. O método proposto baseia-se na possível complexação do analito *Tiram* com cátions metálicos. O objetivo proposto para a realização do trabalho de mestrado foi estudar a complexação do analito com três metais distintos cobre, prata e zinco se estendendo para o estudo com demais metais. Os íons escolhidos e sua configuração na camada de valência são os seguintes: $\text{Cu}^{2+} - d^9$, $\text{Fe}^{3+} (\text{III}) - d^5$, $\text{Ni}^{2+} - d^8$, $\text{Mn}^{2+} - d^5$, $\text{Cd}^{2+} - d^{10}$, $\text{Cr}^{3+} - d^3$, $\text{Zn}^{2+} - d^{10}$, $\text{Co}^{2+} - d^7$, $\text{Ag}^+ - d^{10}$. Da lista, todos aqueles com 10 elétrons d não apresentam absorção no visível, mesmo que estejam complexados, a não ser que haja transferência de carga Metal-ligante, porém não foi observado. São eles: Cd^{2+} , Zn^{2+} e Ag^+ . Portanto, para estes metais, o método espectrofotométrico não é viável na região do UV-vis.

Os anexos (1 a 8) ilustram os espectros de absorção molecular dos metais e metal-*Tiram* evidenciando que não ocorre absorção na região visível.

No caso do Cu^{2+} , a cor azul do sal precursor em água é devido ao Cu^{2+} estar coordenado com seis moléculas de água, numa geometria tetragonal, já que sendo d^9 o íon Cu^{2+} vai sofrer efeito Jahn-Teller. A cor complementar do íon o Cu^{2+} é azul esverdeado, e quando este íon se complexa com o *Tiram*, há a troca do ligante água, bastante lábil, pelo ligante polidentado, a partir da coordenação com os átomos de enxofre, e há então, um efeito maior de distorção, afastando os orbitais e_g e t_{2g} e, portanto, deslocando a banda de absorção para energia maior (no azul-

violeta). A cor então complementar do complexo formado deve ser amarelo-alaranjada.

Portanto, o complexo $\text{Cu}^{2+} / \text{Tiram}$ apresenta variação pronunciada de cor antes e após complexação e é usado em metodologia analítica para quantificação. Complementarmente, pelos artigos na literatura, é comprovado que a constante de formação do complexo é altamente favorável, e torna ainda mais viável o método.

No caso dos metais Ni^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} e Co^{2+} não foi observada diferença entre os espectros antes e após adição do *Tiram*, portanto, nas condições efetuadas não deve ter havido complexação, ou se houve, não foi perceptível. Nitrato de níquel (II), em água, gera Ni^{2+} coordenado com 6 moléculas de água, octaedro perfeito, absorve em regiões de energia maior, portanto apresenta cor amarelo-alaranjada, não há efeito Jahn-Teller. Os íons Mn^{2+} e Fe^{3+} , ambos d^5 , caso estejam em spin baixo também são bastante estáveis e não apresentam Efeito Jahn-Teller, se houve alguma complexação, não foi possível observar deslocamento significativo entre o metal antes e depois. Para o íon Cr^{3+} , configuração d^3 , também altamente estabilizado, não há efeito Jahn-Teller, mesmo com diferentes ligantes e, pelo espectro não foi observado complexação. O deslocamento de energia não foram suficientes para manifestar diferenças entre o íon coordenado ao solvente e com *Tiram*. Talvez uma variação do pH de reação possa a vir deslocar equilíbrios e propiciar a coordenação de alguns destes metais, ou seja, Ni^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} . No caso do Co^{2+} , deve ser feita a adição de um agente oxidante para que a espécie Co^{3+} venha a estabilizar o complexo, embora não seja uma reação quantitativa a ponto de ser usada em um método analítico.

Por fim, Co^{2+} , d^7 , não produz complexos octaédricos tão estáveis quanto Co^{2+} , d^6 , spin baixo, portanto, nas condições, não deve ter havido a coordenação com o *Tiram*, permanecendo este complexado ao solvente.

4.2 Estudo do Complexo Cobre-*Tiram*

4.2.1 Estudo da Solubilidade do *Tiram*

De acordo com a literatura⁵⁸ *Tiram* apresenta a solubilidade em água de $16,5 \text{ mg.L}^{-1}$ a 20°C . Estudou-se a solubilidade do dissulfeto de tetrametiltiram

($C_6H_{12}N_2S_4$) em água, etanol, acetona, solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L e solução do surfactante brometo de tetrabutílamônio (TBA) 0,1 g/L. Foram feitos testes qualitativos com a finalidade de solubilizar diferentes massas em 50 mL de solvente com aquecimento e agitação. As proporções massa/solvente estão descritas na Tabela 2 a seguir:

Tabela 2 – Testes de Solubilidade do *Tiram*.

Massa de <i>Tiram</i> ($C_6H_{12}N_2S_4$)	Solvente (50 mL)	Solubilidade
5 mg	Água	Insolúvel
250 mg	Etanol	Insolúvel
25 mg	Etanol	Insolúvel
125 mg	Acetona	Insolúvel
50 mg	Hidróxido de sódio 0,1 mol/L	Solúvel
50 mg	Surfactante (TBA) 0,1 g/L	Solúvel

O *Tiram* foi solúvel em solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L e em solução surfactante (TBA) 0,1 g/L com aquecimento. O uso de solução surfactante foi mais apropriado devido à formação de micelas e, conseqüentemente, maior facilidade na solubilização do *Tiram*.

4.2.2 Determinação do espectro do complexo formado entre Cobre-*Tiram*

Traçou-se o espectro em diferentes comprimentos de onda na região do U.V e visível com as soluções de *Tiram*, sulfato de cobre e, solução Cu^{2+} / *Tiram*, para se obter o espectro e determinar o comprimento de máxima absorção do complexo Cu^{2+} / *Tiram*. Os espectros de absorção do Cu^{2+} , do *Tiram* e do complexo Cu^{2+} / *Tiram* são apresentados a seguir (Figuras 8, 9 e 10).

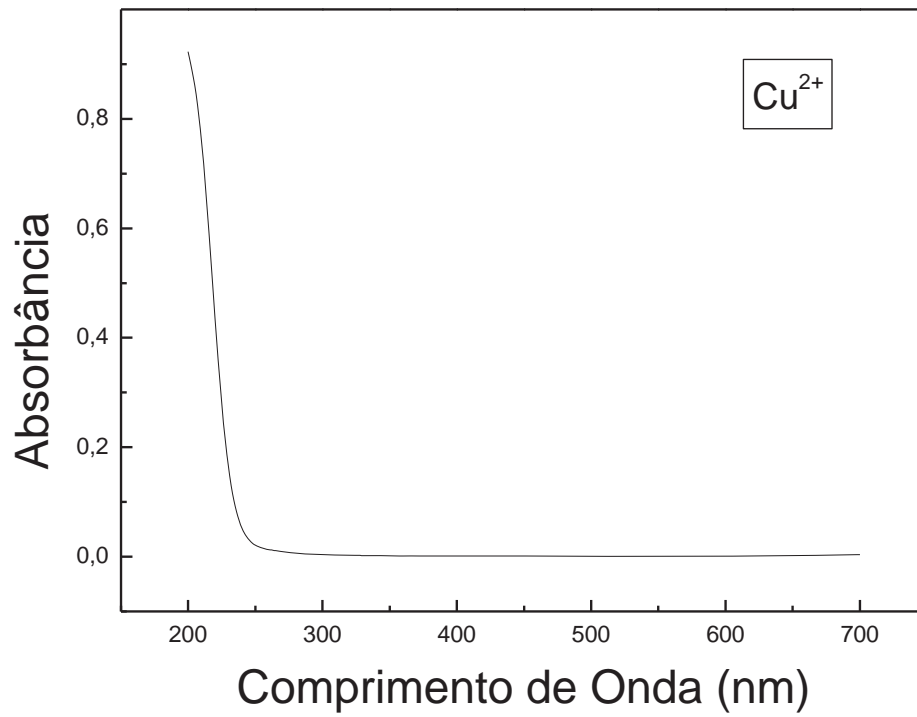


Figura 8 – Espectro de absorção do Cu^{2+} em meio aquoso; CuSO_4 $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

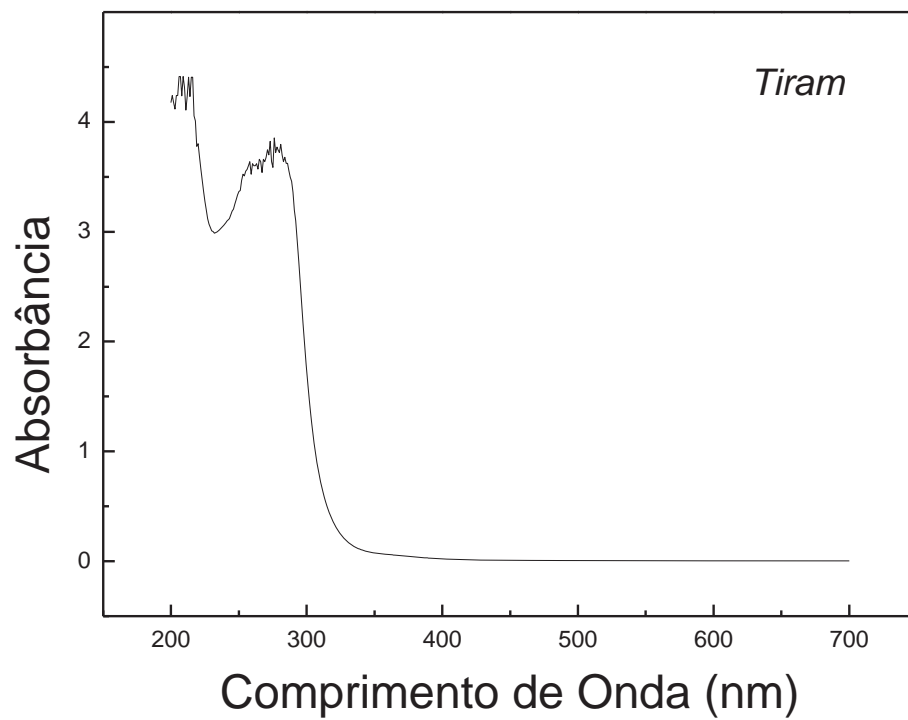


Figura 9 - Espectro de absorção do *Tiram*. *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

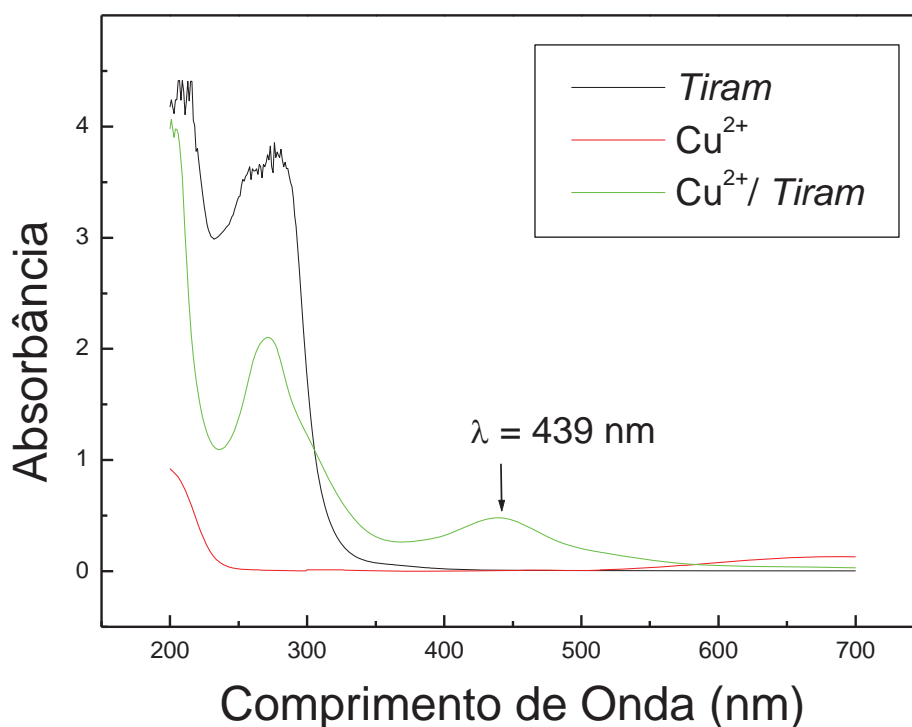


Figura 10 – Sobreposição dos espectros de absorção de todas as espécies envolvidas. CuSO_4 $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Cu}^{2+} / \text{Tiram}$.

O complexo formado pelo *Tiram* e Cu^{2+} apresentou um máximo de absorção em 439 nm ($A = 0,468$). O pico de absorção apresentado pelo complexo $\text{Cu}^{2+} / \text{Tiram}$ na região compreendida entre 350 e 550 nm claramente o diferencia dos espectros das outras espécies químicas presentes, e permite o estabelecimento de um método espectrofotométrico destinado à quantificação de *Tiram* baseado na capacidade desse composto complexar íons Cu^{2+} .

4.3 Diagrama esquemático do sistema de análise por de injeção em fluxo com um reator em fase sólida (RFS)

A Figura 11 apresenta o diagrama esquemático do sistema FIA de linha única, contendo o reator em fase sólida (RFS) utilizado na determinação de *Tiram*.

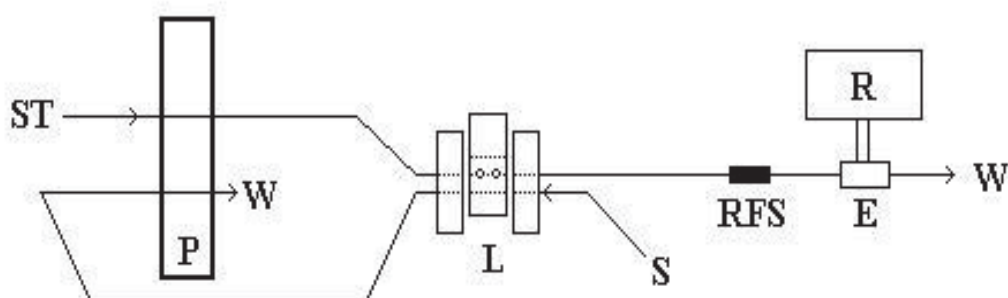


Figura 11 - Diagrama esquemático do sistema de injeção em fluxo para determinação espectrofotométrica de *Tiram*. Onde: S, soluções de referência ou da amostra; L, alça de amostragem; ST, solução transportadora; RFS, reator em fase sólida; E, espectrofotômetro; R, registrador; P, bomba de propulsão; W, descarte.

Neste sistema, quando o injetor é deslocado para a posição de injeção, o analito na alça de amostragem (100 μL) é inserido na solução e desloca-se até o reator em fase sólida contendo o íon cobre imobilizado, onde ocorre a formação do complexo $\text{Cu}^{2+} / \text{Tiram}$, de coloração amarela que é monitorada em 439 nm.

4.4 Estudos dos parâmetros do sistema em fluxo

Foram estudados os parâmetros físicos do sistema FIA de modo a investigar as condições adequadas para a reação entre $\text{Cu}^{2+} / \text{Tiram}$. Os parâmetros do sistema em fluxo foram otimizados para obtenção dos melhores resultados em termos de estabilidade da linha base, sensibilidade e frequência de amostragem. Estabeleceu-se inicialmente alça de amostragem com volume de 375 μL , vazão da bomba 1,9 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, bobina reacional de 100 μL e comprimento do reator de fase sólida de 6 cm (2 mm d.i.). Para a otimização do sistema variou-se cada um desses parâmetros para obter o melhor sinal analítico.

4.4.1 Estudo da Solução Transportadora

Um requisito importante para o tempo de vida do RFS é a baixa solubilidade do reagente imobilizado na solução transportadora que flui pelo mesmo. Geralmente sistemas FIA utilizam solução tampão como transportadora. Sendo assim estudou-se o sistema de análise em fluxo utilizando água e tampão acetato

como transportadora acreditando-se que a solução tampão ocasionaria um melhor sinal analítico e maior estabilidade da linha base. Não foi observado diferença na utilização de água ou tampão acetato como solução transportadora. Visando a simplicidade do sistema optou-se por utilizar água como solução transportadora.

4.4.2 Estudo do volume da alça de amostragem

O volume da alça de amostragem (L) de 75, 100, 150, 250 e 375 μL (comprimentos de 15, 20, 30, 50, 75 cm) foi avaliado, como indicado na Figura 12. Para uma solução de *Tiram* de $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, a magnitude do sinal analítico aumentou até um volume de amostra injetado de 250 μL . Apesar do volume de 375 μL apresentar um erro relativo muito pequeno o volume de 100 μL foi selecionado (Figura 13) considerando-se que utilizando uma alça menor será liberado menos metal do reator para reagir com o analito aumentando a sua durabilidade, além de apresentar boa sensibilidade e estabilidade da linha base.

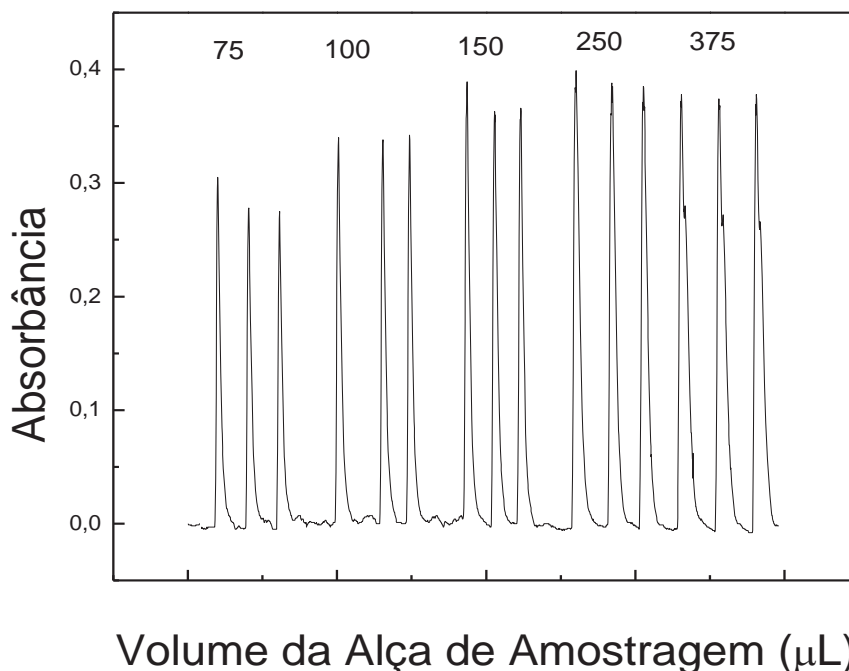


Figura 12 – Diagrama obtido utilizando alças de amostragem de volumes variados e solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, vazão da solução transportadora de $1,9 \text{ mL min}^{-1}$, comprimento da bobina helicoidal de 20 cm (100 μL), RFS 6 cm.

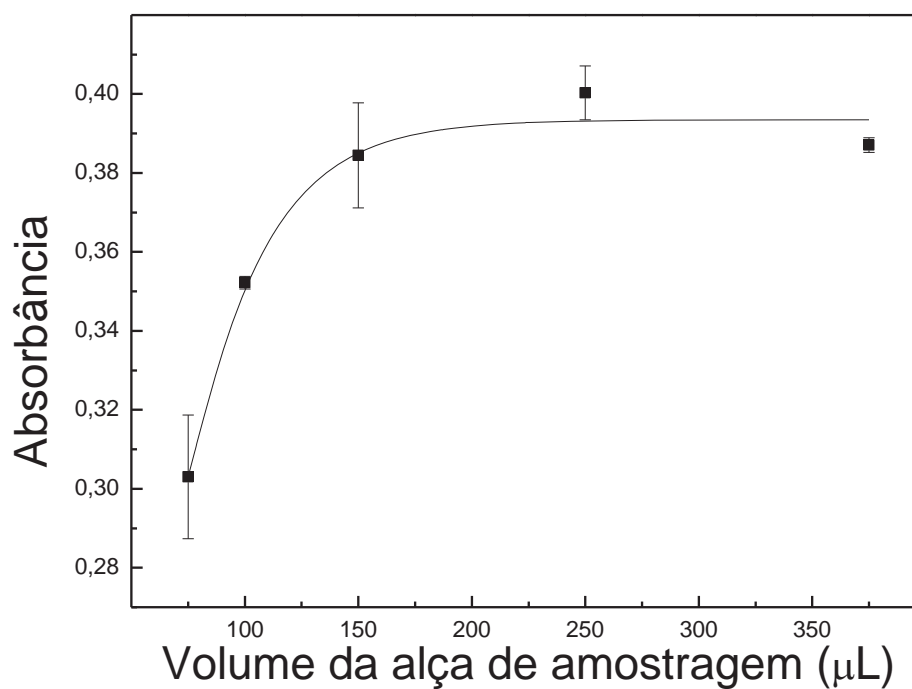
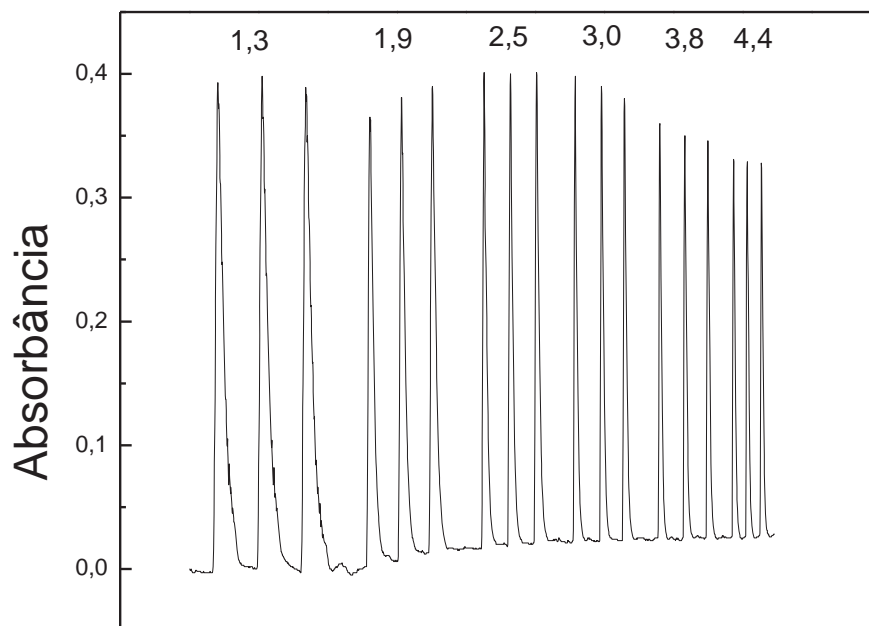


Figura 13 – Efeito do volume da alça de amostragem (L) de 75, 100, 150, 250, 375 µL sobre o sinal analítico de uma solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, vazão da solução transportadora de $1,9 \text{ mL min}^{-1}$, bobina helicoidal de 20 cm (100µL) e RFS 6 cm.

4.4.3 Efeito da vazão da solução transportadora

A influência da vazão da solução transportadora (água) sobre o sinal analítico foi avaliada no intervalo de 1,3 e $4,4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ (Figuras 14 e 15) utilizando-se uma solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



Vazão da Bomba Peristáltica (mL min^{-1})

Figura 14 – Fiograma obtido utilizando diferentes vazões da solução transportadora (água) sobre o sinal analítico de uma solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$, bobina helicoidal de 20 cm ($100\mu\text{L}$) e RFS 6 cm.

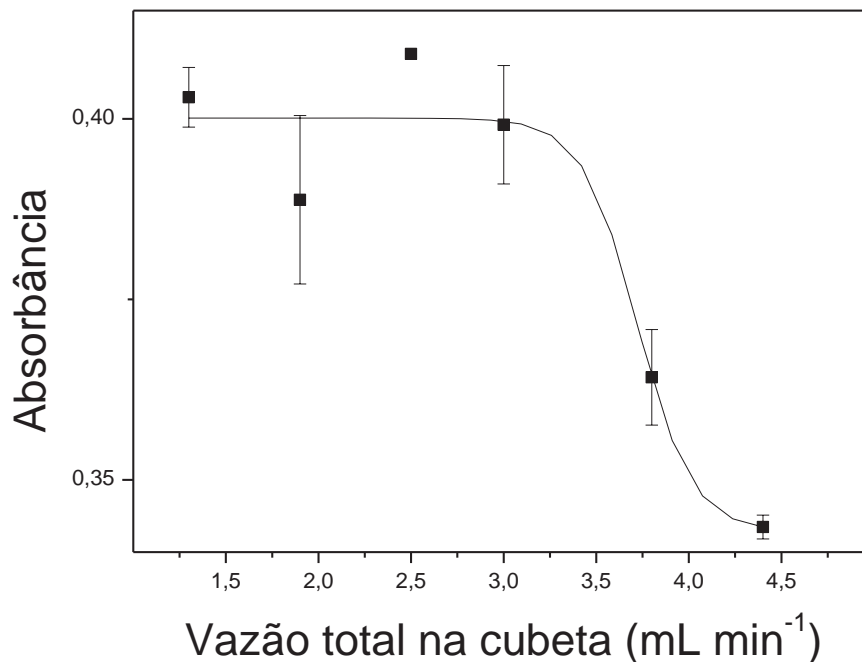
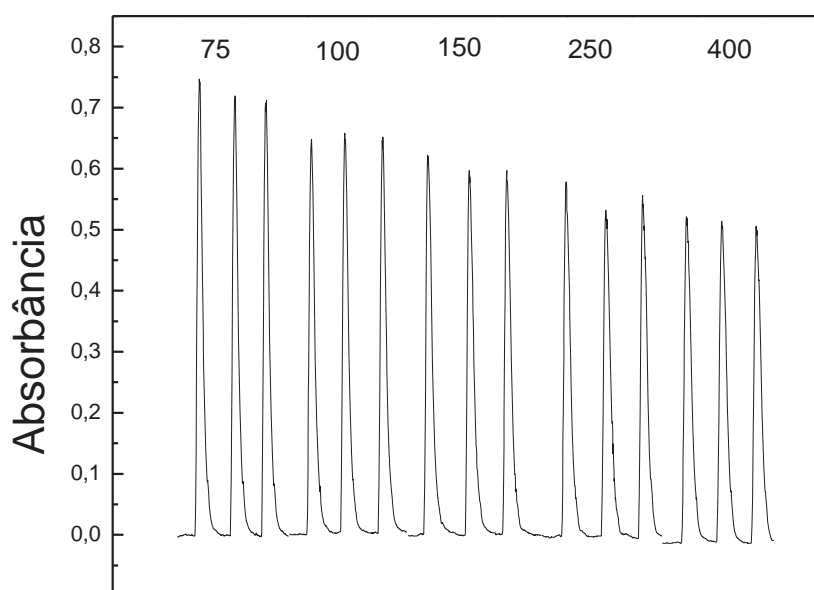


Figura 15 - Influência da vazão da solução transportadora (água) avaliada entre 1,3 e $4,4 \text{ mL min}^{-1}$ sobre o sinal analítico de uma solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de $375 \mu\text{L}$, bobina helicoidal de 20 cm ($100\mu\text{L}$) e RFS 6 cm.

Observando-se a curva apresentada na Figura 15, constata-se que o sinal analítico diminuiu para valores de vazão total maior que $2,5 \text{ mL min}^{-1}$. Esse comportamento pode ser atribuído ao menor tempo de reação de formação do complexo $\text{Cu}^{2+}/\text{Tiram}$ devido ao menor tempo de residência da zona de amostra no sistema. Para se manter uma melhor relação entre sensibilidade e freqüência de amostragem escolheu-se uma vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$.

4.4.4 Efeito da Bobina Helicoidal

O volume da bobina reacional de 75 a 400 μL na resposta espectrofotométrica para *Tiram* foi avaliado (Figuras 16 e 17). A magnitude do sinal analítico decresceu acentuadamente com o aumento do comprimento da bobina, devido provavelmente ao efeito de dispersão ser mais significativo que uma eventual homogeneização da zona de amostra com o reagente. Por isso, optou-se por trabalhar com um volume da bobina reacional de 100 μL .



Influência do Volume da Bobina Helicoidal μL

Figura 16 - Diagrama obtido utilizando diferentes volumes de bobina helicoidal sobre o sinal analítico de uma solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de 375 μL , vazão da solução transportadora de $1,9 \text{ mL min}^{-1}$ e RFS 6 cm.

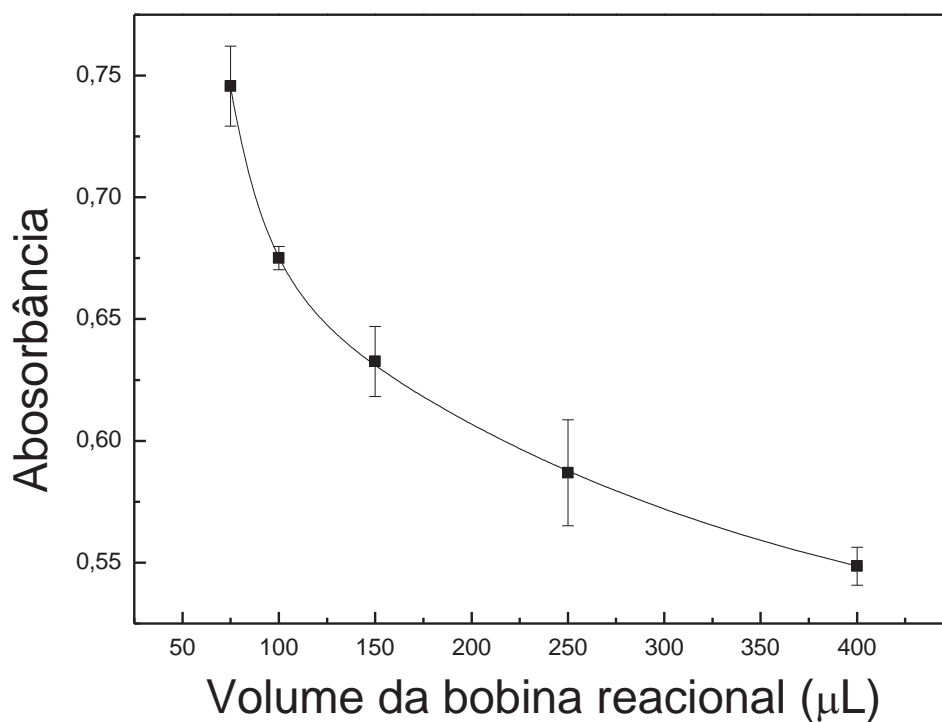


Figura 17 - Influência do volume da bobina helicoidal no sinal analítico de uma solução de *Tiram* 3,4 $\times 10^{-4}$ mol L⁻¹, alça de amostragem de 375 μL, vazão da solução transportadora de 1,9 mL min⁻¹ e RFS 6 cm.

4.4.5 Estudos dos parâmetros do reator em fase sólida (RFS)

Os reatores em fase sólida foram construídos em tubo de plástico com 2 mm de diâmetro interno devido a maior facilidade para confecção e não ocasionar grande pressão hidrodinâmica no sistema de análise por injeção em fluxo. Foram estudados reatores acoplados ao sistema nos comprimentos de 4, 6, 8, 10 e 12 cm (Figura 18).

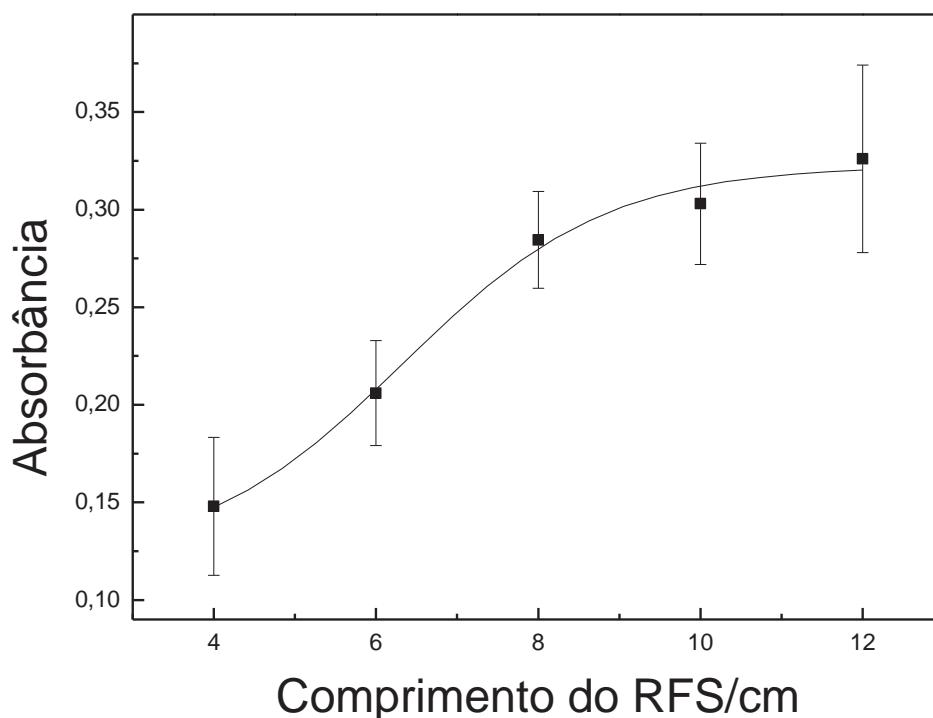


Figura 18 - Estudo do comprimento do reator em fase sólida (RFS) de 4 a 12 cm sobre o sinal analítico de uma solução de *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, volume da alça de amostragem (L) 375 μL bobina reacional de 100 μL e vazão da solução transportadora de $1,9 \text{ mL min}^{-1}$.

Como pode ser observado na Figura 18, reatores maiores proporcionam sinal analítico maior devido à maior disponibilidade de metal para reagir com o *Tiram*. Para este sistema o reagente limitante deve ser o *Tiram* e não o cobre imobilizado, o sinal analítico proporcionado pelo reator menor, foi menor devido ao pouco tempo de residência da zona de amostra dentro do RFS, diminuindo assim o tempo de contato entre o analito e o reagente imobilizado. Sendo assim, escolheu-se o RFS de 12 cm para os trabalhos posteriores.

4.4.6 Estudo da repetibilidade e frequência de amostragem

Estudou-se a repetibilidade do procedimento proposto realizando 10 injeções consecutivas para a concentração de *Tiram* de $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, obtendo-se baixo desvio padrão relativos (0,00561). Foi utilizado alça de amostragem de 100 μL , vazão da solução transportadora $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, bobina reacional de 100 μL e RFS de 12 cm.

A frequência de amostragem do método proposto foi de 60 determinações por hora (Figura 19). Os dois primeiros picos obtiveram um sinal um pouco maior devido ao excesso de metal disponível no RFS para reagir com o analito. Após a terceira injeção houve uma melhor estabilização do sinal.

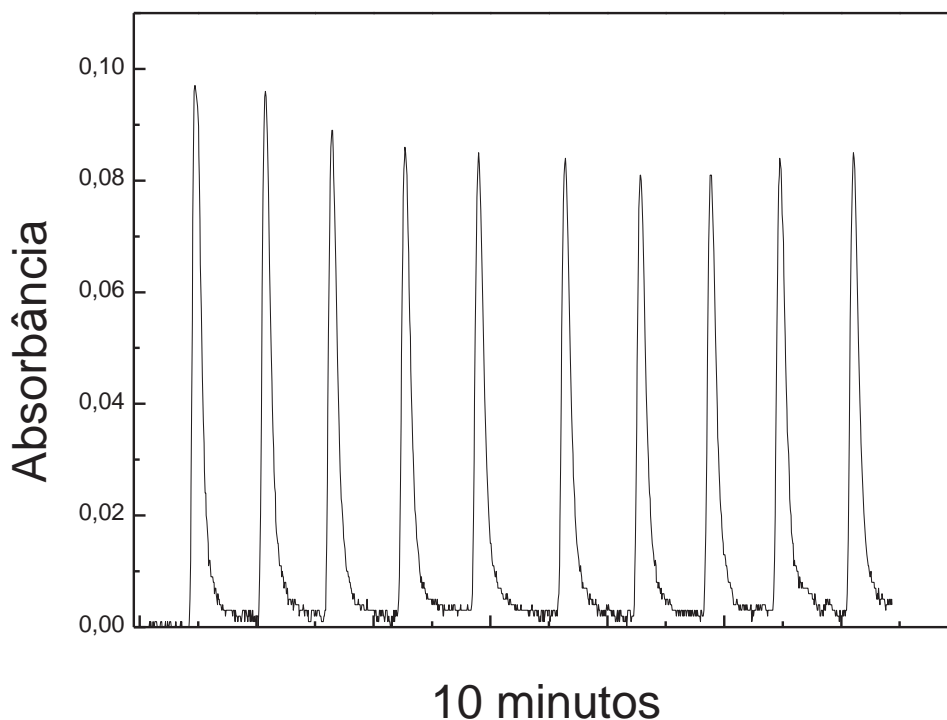


Figura 19 - Estudo da repetibilidade para solução de referência de *Tiram* a uma concentração de $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, alça de amostragem de $100 \mu\text{L}$, vazão da solução transportadora $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, bobina reacional de $100 \mu\text{L}$ e RFS de 12 cm .

4.4.7 Estudo da Reprodutibilidade do RFS

Uma avaliação da reprodutibilidade entre os RFS foi estudada construindo-se três reatores ($2 \text{ mm d.i.} \times 12 \text{ cm}$), em dias distintos, contendo o sal insolúvel (fosfato de cobre) imobilizado em resina. Estes reatores em fase sólida foram acoplados ao sistema de análise por injeção em fluxo proposto e os sinais transientes em triplicata foram obtidos em diferentes dias, injetando-se soluções de referência a uma concentração de $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 20).

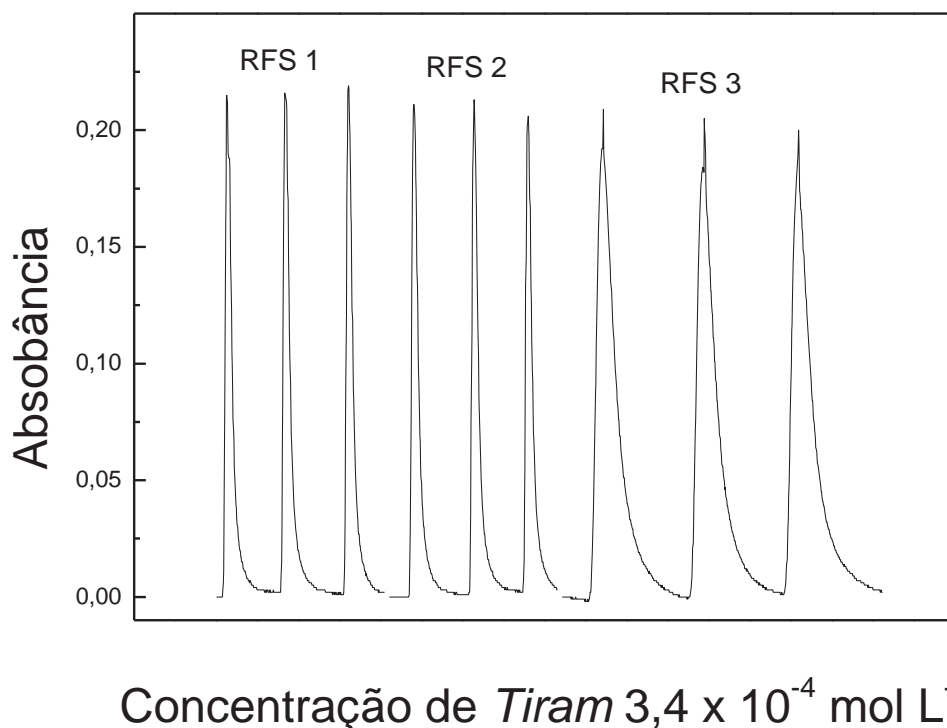


Figura 20 - Avaliação da Reprodutibilidade entre RFS distintos.

Pelos valores das sensibilidades obtidas Tabela 3 empregando-se esses diferentes RFS, não há diferença significativa entre os valores de absorbância. A pequena variação se deu devido a diferença no empacotamento dos RFS, como os três não tinham a mesma massa, não tinham a mesma quantidade de metal disponível para reagir com o analito.

A assimetria entre RFS 1, RFS 2 e RFS 3 é uma forma de avaliar o alargamento dos picos para o RFS 3 como sendo uma medida da maior dispersão da zona de amostra o que ocasiona a formação de uma cauda no pico.

Tabela 3 – Avaliação da reprodutibilidade entre RFS distintos.

RFS	Média de Absorbância	Desvio Padrão
1	0,224	0,00252
2	0,209	0,00361
3	0,184	0,004

4.5 Curva Analítica

As diluições para a obtenção da curva analítica foram feitas a partir de uma solução estoque de *Tiram* a uma concentração de $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Após a otimização das condições operacionais para o processo FIA proposto, medidas espectrofotométricas foram realizadas utilizando-se soluções de *Tiram* em diferentes concentrações a fim de se obter a curva analítica. A Figura 21 ilustra os sinais transientes obtidos em triplicata para diferentes concentrações de *Tiram* injetadas no sistema em fluxo.

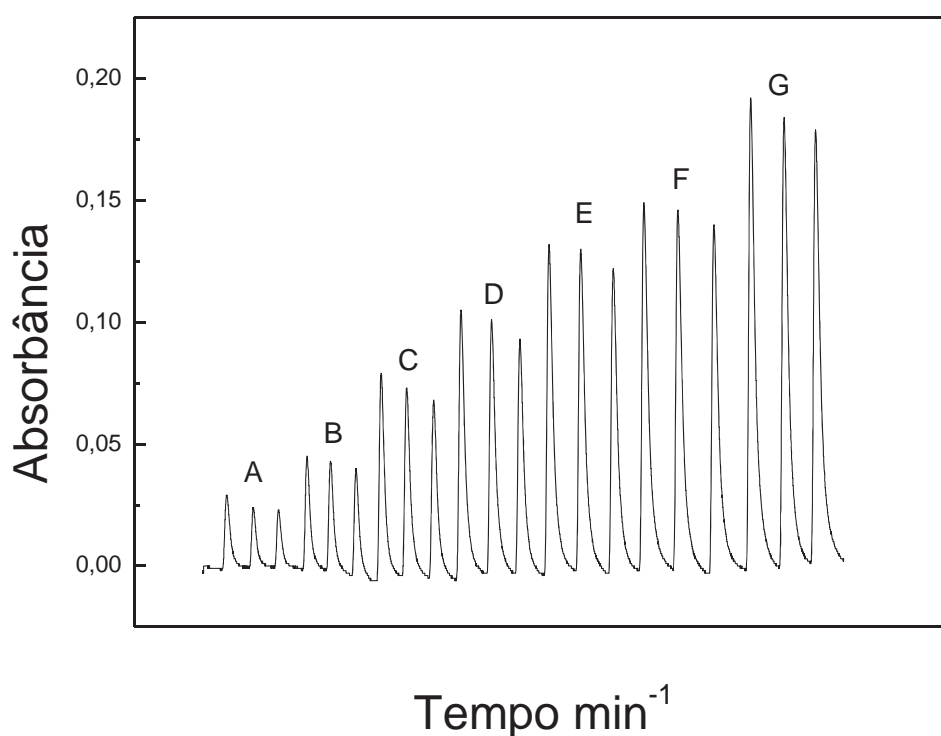


Figura 21 - Sinais transientes obtidos em triplicata das soluções de *Tiram* em diferentes concentrações (mol L^{-1}) A: $3,0 \times 10^{-5}$; B: $0,5 \times 10^{-4}$; C: $1,0 \times 10^{-4}$; D: $1,5 \times 10^{-4}$; E: $2,0 \times 10^{-4}$; F: $2,5 \times 10^{-4}$; G: $3,4 \times 10^{-4}$. Alça de amostragem de $100 \mu\text{L}$, vazão da solução transportadora $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, bobina reacional de $100 \mu\text{L}$ e RFS de 12 cm .

Os sinais analíticos (Figura 22) geraram uma relação linear com as concentrações de *Tiram* no intervalo de $3,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ representada pela equação

$$A = a + b \cdot c \quad (2)$$

Onde: c é a concentração de *Tiram* em mol L⁻¹ com um coeficiente de correlação de 0,99653 apresentando um limite de detecção de $6,95 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (três vezes o desvio padrão do branco / inclinação da curva analítica).

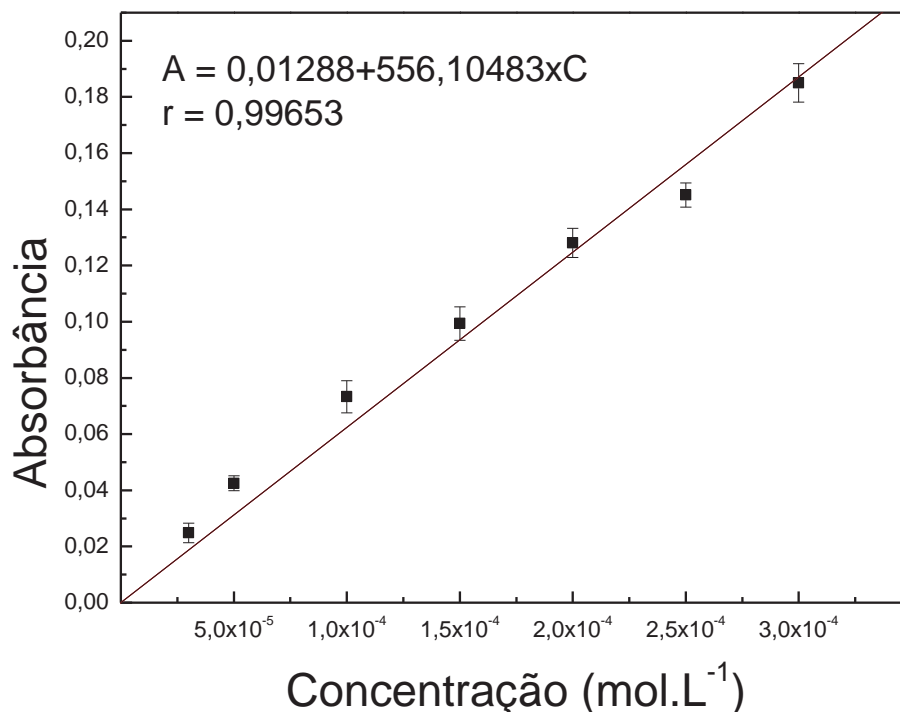


Figura 22 - Curva Analítica para determinação espectrofotométrica de *Tiram* baseada em sua complexação com o cátion Cu²⁺ empregando sistema em fluxo. Concentração de *Tiram* de $3,0 \times 10^{-5}$ a $3,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, Alça de amostragem de 100 µL, vazão da solução transportadora 2,5 mL min⁻¹, bobina reacional de 100 µL e RFS de 12 cm.

4.6 Determinação de *Tiram*

4.6.1 Análise da amostra de milho tratadas com VITAVAX-THIRAM

4.6.1.1 Amostra de VITAVAX-THIRAM

VITAVAX[®]-THIRAM 200 SC é uma formulação que contém um fungicida sistêmico 5,6-dihidro-2-metil-1,4-oxati-in-3-carboxanilida (CARBOXINA), 200 g L⁻¹ e um fungicida de contato dissulfeto de tetrametiltiuram (*Tiram*), 200 g L⁻¹ destinado ao tratamento de sementes. VITAVAX-THIRAM 200 SC protege à semente contra fungos durante o armazenamento e também durante os estágios susceptíveis da plântula, principalmente em condições desfavoráveis ao desenvolvimento da cultura.

Um frasco de VITAVAX[®]-THIRAM 200 SC contendo o analito foi adquirido no comércio local para tratamento das amostras conforme especificação (vide bula) e ensaio experimental utilizando o método proposto.

4.6.2 Determinação do espectro do complexo formado entre Cobre-*Tiram* na amostra de VITAVAX-THIRAM 200 SC

Foi feita a leitura de absorbância em diferentes comprimentos de onda na região do U.V. e visível com uma solução de VITAVAX-THIRAM 200 SC, e uma solução Cu^{2+} / VITAVAX-THIRAM 200 SC, para se obter o espectro e determinar o comprimento de máxima absorção do complexo Cu^{2+} / *Tiram*. Os espectros de absorção do VITAVAX-THIRAM e do complexo com Cu^{2+} são apresentados a seguir Figura 23.

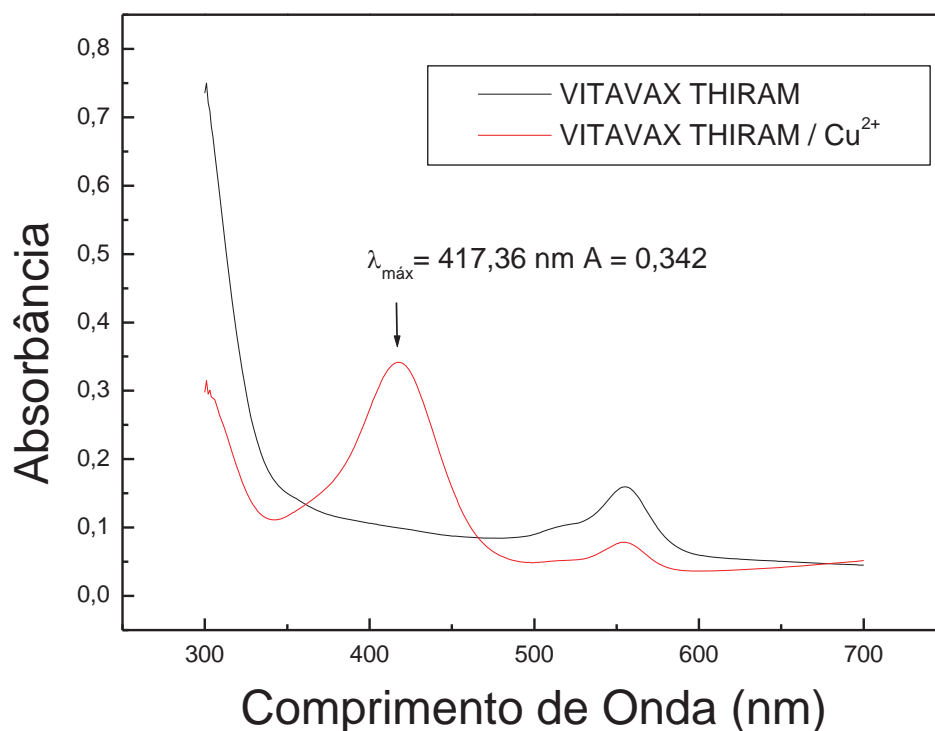


Figura 23 - Espectro de absorção do VITAVAX-THIRAM 200 SC e do complexo Cu^{2+} / *Tiram* na amostra de VITAVAX-THIRAM. *Tiram* $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹; CuSO_4 $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

No estudo da complexação do analito presente na formulação comercial é possível observar (Figura 23) que ocorre a formação de uma banda entre 350 e 450 nm com comprimento de onda de máxima absorção 417,36 nm evidenciando a formação do complexo Cu^{2+} / *Tiram*.

4.6.3 Análise da amostra

Uma amostra de milho foi adquirida no comércio local e foi tratada com VITAVAX-THIRAM conforme as especificações do rótulo (250 - 300 mL / 100 Kg de sementes). Tomou-se o cuidado para que a distribuição do produto fosse homogênea. Após a aplicação e secagem do produto (VITAVAX-THIRAM) lavou-se 35 g de milho com pequenas porções de água (50m mL) e foi possível realizar a quantificação de *Tiram* contido na amostra. Nesse caso foi necessário acoplar ao sistema de análise em fluxo um banho termostatzado (37°C) após o RFS (Figura 24) para acelerar a velocidade da reação de formação do complexo entre o Cu^{2+} e *Tiram*.

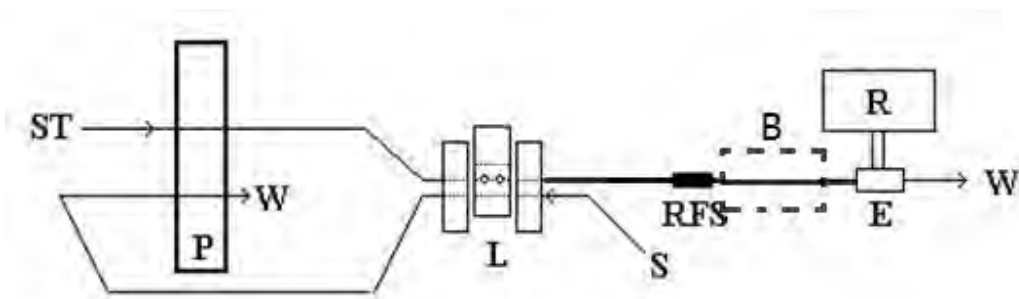


Figura 24 - Diagrama esquemático do sistema de injeção em fluxo para determinação espectrofotométrica de *Tiram* em amostras. Onde: S, soluções de referência ou da amostra; L, alça de amostragem; ST, solução transportadora; RFS, reator em fase sólida; E, espectrofotômetro; R, registrador; P, bomba de propulsão; W, descarte e B, banho termostatzado (linha tracejada).

A temperatura foi explorada no sentido de se ajustar a sensibilidade. A partir de 30°C variou-se a temperatura de 1 em 1 °C e este parâmetro foi então definido como 37°C pois para temperaturas menores a amostra passava pelo detector antes que ocorresse a formação do complexo $\text{Cu}^{2+}/\text{Tiram}$ e o sinal analítico não era detectado.

4.7 Teste de recuperação

No teste de recuperação, três concentrações de *Tiram*, a saber: $2,0 \times 10^{-4}$, $2,5 \times 10^{-4}$ e $3,4 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ foram adicionadas a uma amostra de VITAVAX-

THIRAM e os resultados obtidos (descontados daqueles originalmente presentes na amostra sem a adição de analito) foram comparados com as concentrações adicionadas. Os resultados estão apresentados na Tabela 4. Como pode ser observado nessa tabela, a recuperação variou de 95 a 100%, indicando assim ausência de interferência da matriz dessas amostras sobre o sinal analítico e também boa exatidão do procedimento em fluxo proposto.

Tabela 4 – Estudo do teste de recuperação de *Tiram* na amostra de VITAVAX-THIRAM.

Amostra de	Adicionado/mol L ⁻¹	Recuperado/mol L ⁻¹	% Recuperação
VITAVAX-THIRAM	2,0 x 10 ⁻⁴	1,9 x 10 ⁻⁴	95%
	2,5 x 10 ⁻⁴	2,5 x 10 ⁻⁴	100%
	3,4 x 10 ⁻⁴	3,4 x 10 ⁻⁴	100%

4.8 Aplicação

O método proposto foi aplicado na determinação de *Tiram* em uma amostra de milho tratada com VITAVAX-THIRAM. A Figura 25 apresenta a curva e sinais transientes obtidos na análise empregando o método do padrão externo. A amostra foi injetada 3 vezes no sistema FIA proposto e utilizou-se a média aritmética dos valores de absorvância para obtenção da concentração de *Tiram* na amostra obtendo-se uma concentração final de *Tiram* de 8,57 x 10⁻⁵ mol L⁻¹.

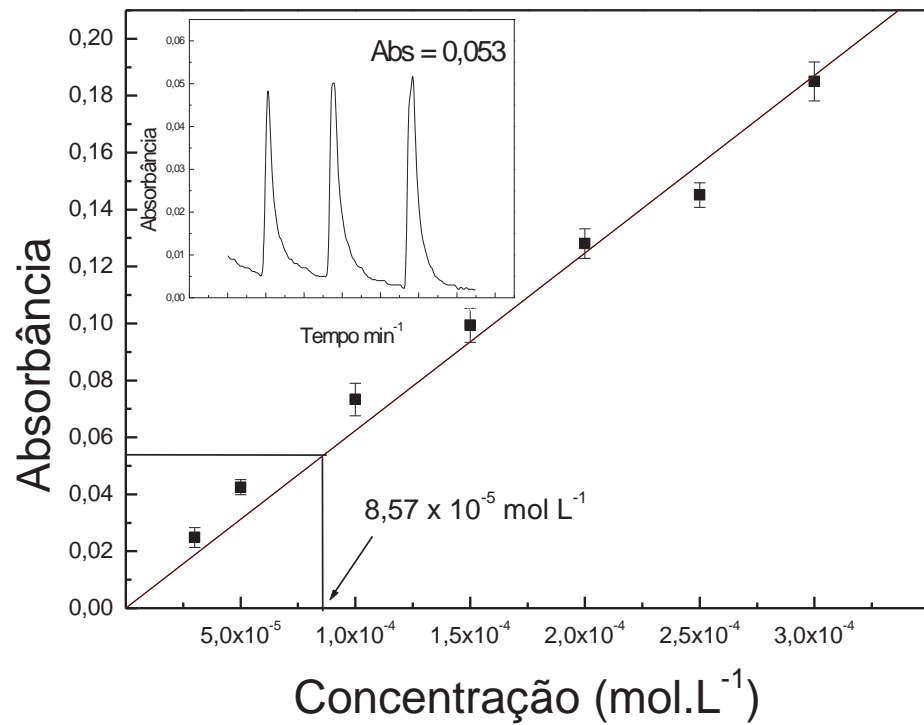


Figura 25 - Sinais transientes obtidos em triplicata da curva de padrão externo da amostra de milho tratada com VITAVAX-THIRAM. Alça de amostragem de 100 μL , vazão da solução transportadora 2,5 mL min^{-1} , bobina reacional de 100 μL e RFS de 12 cm, banho termostatizado (37°C).

5 Conclusão

Inicialmente, foram estudados os parâmetros físicos e químicos do sistema FIA de modo a investigar as condições adequadas para a reação entre Cu^{2+} /*Tiram*. Os parâmetros do sistema em fluxo foram otimizados para a obtenção dos melhores resultados em termos de repetibilidade e magnitude do sinal analítico. Foi testado inicialmente tampão acetato e água como soluções transportadoras optando-se por trabalhar com água deionizada. Os experimentos foram realizados em um sistema FIA com volume das alças de amostragem de 100 μL , vazão da solução transportadora de 2,5 mL min^{-1} , bobina reacional de 100 μL e reator de fase sólida de 12 cm contendo cobre imobilizado.

Os estudos realizados neste trabalho evidenciaram a viabilidade do emprego do sistema de análise por injeção em fluxo para determinação de *Tiram*. Neste sistema, o íon cobre imobilizado reage com a solução de *Tiram* formando um complexo de coloração amarela que absorve na faixa espectral de 439 nm e monitorado espectrofotometricamente.

O procedimento de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica de *Tiram* permitiu a análise da solução estoque a uma concentração de $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com precisão satisfatória e uma boa frequência de amostragem com limite de detecção de $6,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

O método proposto foi aplicado na determinação espectrofotométrica de *Tiram* em semente de milho tratada com um produto comercial. Este procedimento de análise por injeção em fluxo permitiu a quantificação de *Tiram* utilizando-se o método do padrão externo com resultados satisfatórios, sensibilidade e frequência de amostragem de 60 determinações por hora.

6 Atividades Futuras

Durante o desenvolvimento desse trabalho e após análise dos resultados obtidos, surgiram algumas perspectivas de trabalhos futuros seguindo a mesma linha de pesquisa.

Há possibilidade de estudo do tempo de vida do reator de fase sólida (RFS) observando-se as inclinações das curvas analíticas (sensibilidade do procedimento em fluxo) obtidas em um determinado período utilizando-se o mesmo RFS.

Realizar análises de amostras por um método comparativo e validar a aplicação do método proposto.

Tentar aumentar a sensibilidade do método para quantificar resíduo de *Tiram* em amostras de diversos alimentos.

Estudo da degradação do produto durante a estocagem de amostras tratadas com produto comercial.

O sistema de análise por injeção contendo RFS com $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ imobilizado poderia ser utilizado para a determinação de medicamentos contendo dissulfeto de tetraetiluram (dissulfiram).

Referências Bibliográficas

- 1 Bastos, L.H.P.; Góes, H.C.A.; Cardoso M.H.W.; Gouvêa A.V.; Dias D.P.; Almeida R.R.R; Nóbrega A.; Abrantes S.; Ensaio de proficiência para análise de ditiocarbamatos em polpa de banana. **Química Nova**, v. 30, p. 32, 2007.
- 2 Queffelec, A.L.; Boisde, F.; Larue, J.P.; Haelters, J.P.; Corbel, B.; Thouvenot, D.; Nodet, P.; Development of an Immunoassay (ELISA) for the Quantification of Thiram in Lettuce. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 49, p. 1675, 2001.
- 3 Sharma, V.K.; Aulakh, J.S.; Malik, A.K.; Fourth Derivate Spectrophotometric Determination of Fungicide Thiram Tetramethyldithiocarbamate in Commercial Sample and Wheat Grains Using Copper (II) Sulphate. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 5 p. 570, 2003.
- 4 Lerbaek, A.; Menné, T.; Knudsen, B.; Cross-reactivity between thiurams. **Contact Dermatitis**, v. 54, p. 165, 2006.
- 5 Saunders, H.; Watkins, F.; Allergic contact dermatitis due to thiuram exposure from a fungicide. **Australasian Journal of Dermatology**, v. 42, p. 217, 2001.
- 6 Kitagawa, E.; Takahashi, J.; Momose, Y.; Iwahashi, H.; Effects of the pesticide thiuram: genome-wide screening of indicator genes by yeast DNA microarray. **Environmental Science & Technology**, v. 36, p. 3908, 2002.
- 7 Agrawal, R.C.; Shukla, Y.; Mehrotra, N.K.; Assessment of Mutagenic Potential of Thiram. **Food and Chemical Toxicology**, v.35, p. 523, 1997.
- 8 Shukla, Y.; Baqar, S.M.; Mehrotra, N.K.; Carcinogenic and Co-carcinogenic Studies of Thiram on Mouse Skin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 34, p. 283, 1996.
- 9 George J.; Kuttan, R.; Studies on clastogenic and carcinogenic potency of tetramethyl thiuram disulphide. **Cancer Letters**, v. 97, p. 213, 1995.
- 10 Szolar, O.H.J.; Environmental and pharmaceutical analysis of dithiocarbamates. **Analytica Chimica Acta**, v. 582, p. 191, 2007.
- 11 Petsch, M.; Seipelt, J.; Bernhard, X.; Mayer-Helma; A novel pre-column derivatization reaction for the determination of dithiocarbamates in plasma by high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 516, p. 119, 2004.
- 12 Malik, A.K.; Seibel, B.S.; Faubel, W.; Rao, A.L.J.; A review on analytical applications of dithiocarbamates. **Chemistry Environmental Resources**, v.3, p. 9, 2000.
- 13 Sharma, V.K.; Aulakh, J.S.; Malik, A.K.; Fourth derivative spectrophotometric determination of fungicide thiram (tetramethyldithiocarbamate) using sodium molybdate and its application. **Talanta**, v. 65, p. 375, 2005.

- 14 Kesari, R.; Gupta, V.K.; A sensitive spectrophotometric method for the determination of dithiocarbamate fungicide and its application in environmental samples. **Talanta**, v. 45, p. 1097, 1998.
- 15 Verma, B.C.; Sood, R.K.; Sharma, D.K.; Sidhu, H.S.; Chauhan, S.; Improved spectrophotometric method for the determination of thiram residues in grains. **Analyst**, v. 109, p. 649, 1984.
- 16 Guerrini, P.; Vilarem, G. and Gaset, A.; Extraction and assay of agrochemicals in acrylic antifungal formulations by tl_g-densitometry. **Journal of Planar Chromatography Modern TLC**, v. 8, p. 194, 1995.
- 17 Onuska, F.; Determination of n,n-dialkyl dithiocarbamates in wastewater by thin-layer densitometry. **Analytical Letters**, v.7, p. 327, 1974.
- 18 Committee for Residues of Pesticides and Veterinary Products in Foodstuffs of the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. **Analyst**, v. 106, p. 782, 1981.
- 19 Coldwell, M.R.; Pengelly, E.; Rimmer, D.A.; Determination of dithiocarbamate pesticides in occupational hygiene sampling devices using isooctane method and comparison with an automatic thermal desorption (ATD) method. **Journal Chromatography A**, v. 984, p.81, 2003.
- 20 García, A.L; González, E.B.; Sanz-Medel, A.; Determination of tetramethylthiuram disulfide (thiram) in river water by high-performance liquid chromatography Micellar versus conventional reversed phase chromatography. **Chromatografia**, v. 43, p. 607, 1996.
- 21 Miles, C.J.; Moye, H.A.; Postcolumn photolysis of pesticides for fluorometric-determination by high-performance liquid-chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 60, p. 220, 1988.
- 22 Kirkbright, G.F. and Mullins, F.G.P.; Ion-interaction chromatography of dithiocarbamates on μ -bondapak CN and lichrosorb RP-8 stationary phases in the presence of tetraalkylammonium salts. **Analytica Chimica Acta**, v. 156, p. 279, 1984.
- 23 Blasco, C.; Font, G.; Picó Y.; Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal Chromatographic A**, v. 267, p. 1028, 2004.
- 24 Wakida, S.; Takeda, S.; Yamane, M.; Kawahara, A.; Higashi, K.; Analysis for environmental pollutants by micellar electrokinetic chromatography.; (II) Pesticides in effluent of golf links. **Analytical Science**, v. 7, p. 1109, 1991.
- 25 Gueguen, F.; Boisdé, F.; Queffelec, A.L.; Haelters, J.P.; Thouvenot, D.; Corbel, B.; Nodet, P.; Hapten synthesis for the development of a competitive inhibition enzyme-immunoassay for thiram. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 4492, 2000.

26 Queffelec, Anne-Laurence; Boisde, F.; Larue, Jean-Pierre; Haelters, Jean-Pierre; Corbel, B.; Thouvenot, D.; Nodet, P.; Development of an Immunoassay (ELISA) for the Quantification of Thiram in Lettuce. **Journal of Agricultural and. Food Chemistry**, v. 49, p. 1675, 2001.

27 Sevilla, M.T.; Procopio, J.R.; Pinila, J.M.; Hernandez, L.; Voltammetric determination of thiram following adsorptive accumulation on a rotating gold disk electrode. **Electroanalysis**, v. 2, p. 475, 1990.

28 Fernandez, C.; Reviejo, A.J.; Pigarron, J.M.; Development of graphite-poly (tetrafluorohylene) composite electrodes-voltammetric determination of the herbicides thiram and disulfiran. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, p. 192, 1995.

29 Cassella, A.S.; Casella R.J.; Garrigues S.; Antelli, R.E.S; Campos, R.C.; Guardiã, M.; Flow injection-FTIR determination of dithiocarbamate pesticide; **Analyst**, v. 125 p. 1829, 2000.

30 Fernandez, C.; Reviejo A.J.; Pingarrón, J.M.; Graphite-poly(tetrafluoroethylene) electrodes as electrochemical detectors in flowing systems. **Analytica Chimica Acta**, v. 13, p. 314, 1995.

31 Yong-Gang Zhao, Xiu-Wen Zheng, Zhi-Ying Huang, Ming-Min Yang; Voltammetric study on the complex of thiram–copper(II) and its application. **Analytica Chimica Acta**, v. 29, p. 482, 2003.

32 Armenta S.; Quintas G.; Garrigues S.; Guardia M.; Mid-infrared and Raman spectrometry for quality control of pesticide formulations. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 772, 2005.

33 Sharma, V.K.; Aulakh, J.S.; Malik, A.K.; Thiram: degradation, applications and analytical methods. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 5, p. 717, 2003.

34 Karlberg Bo and Pacey Gil E.; Flow Injection Analysis – A Pratical Guide; Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry vol. 10 – ELSEVIER.

35 Skeggs, L.T.; An automatic method for colorimetric analysis. **American Journal Chemistry Pathology**, Philadelphia, v. 38, p. 311, 1957.

36 Ruzicka, J. & Hansen, E.H.; Flow Injection Analysis. Part I: A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, p. 145, 1975.

37 Stewart, K.K.; Beecher, G.R.; Hare, P.E.; Rapid analysis of discrete samples: The use of nonsegmented, continuous flow. **Analytical Biochemistry**, v. 10, p. 167, 1976.

38 Martínez-Calatayud, J.; Mateo, J.V.G.; Online solid-phase reactors for unsegmented continuous - flow drug analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 12, p. 428, 1993.

39 Peccin E.; Determinação de polifenóis totais utilizando sistemas de análise por

injeção em fluxo, Dissertação de Mestrado; Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. 2004.

40 Rocha J.C.; Determinação sequencial de Cr(III) e de Cr (IV), por injeção em fluxo contínuo, dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas 1983.

41 Meios & Métodos “Análises químicas por injeção em fluxo: capítulo III”, *Jornal de Tecnologia e Ciência* publicado pela Micronal”, Ano VII, nº 43, 1984.

42 Vieira H.J.; Determinação de catecolaminas utilizando sistema de análise por injeção em fluxo com reator de fase sólida acoplado, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2002.

43 Arruda, M.A.Z.; Collins, C.H.; Informações Essenciais para a caracterização de um sistema de análise em fluxo. **Química Nova**, v. 28, p. 739, 2005.

44 Matos, R.C.; Gutz, I.G.R.; Fontenele, L.A.R.S.; Pedrotti, J.J.; Propulsor Pneumático Versátil e Isento de Pulsação para Sistemas de Análise em Fluxo. **Química Nova**, v. 24, p. 795, 2001.

45 Meios & Métodos “Análises químicas por injeção em fluxo: capítulo I”, *Jornal de Tecnologia e Ciências* publicado pela Micronal”. Ano VII, nº 41, 1984.

46 Martínez-Calatayud, J.M.; *Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals - Automation in the Laboratory*. 1 edition, New York, Taylor & Francis, 1996, p.263-287.

47 Luque, D.E; Castro, M.D.; Solid-phase reactors in flow injection analysis, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 11, p. 149, 1992.

48 Pereira, A.V.; Aplicações de fornos de microondas e de reatores em fase sólida em sistema de injeção em fluxo”. Tese de Doutorado, São Carlos, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, 1999.

49 Fatibello-Filho, O; Marcolino-Junior, L.H.; Pereira, A.V.; Solid-phase reactor with copper(II) phosphate for flow-injection spectrophotometric determination of aspartame in tabletop sweeteners. **Analytica Chimica Acta**, v. 384 p. 167, 1999.

50 Pereira, A.V.; Marcolino-Junior, L.H.; Fatibello-Filho, O; Determinação espectrofotométrica de aspartame em adoçante por injeção em fluxo usando um reator em fase sólida contendo fosfato de zinco imobilizado. **Química Nova**, v. 23, p. 167, 2000.

51 Marcolino-Junior, L.H.; Bonifácio, V.G.; Fatibello-Filho, O.; Teixeira, M.F.S.; Determinação turbidimétrica de dipirona em fluxo utilizando um reator contendo cloreto de prata imobilizado em resina poliéster. **Química Nova**, v. 28, p. 783, 2005.

52 Corominas, B.G.T.; Pferzschner, J.; Icardo, M.C; Zamora, L.L., Calatayud, J.M.; In situ generation of Co(II) by use of a solid-phase reactor in an FIA assembly for the

spectrophotometric determination of penicillamine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 281, 2005.

53 Pereira, A.V.; Fatibello-Filho, O.; Spectrophotometric flow injection determination of L-ascorbic acid with a packed reactor containing ferric hydroxide. **Talanta**, v. 47 p. 11, 1998.

54 Pereira, A.V.; Fatibello-Filho, O.; Flow injection spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical formulations with on-line solid-phase reactor containing copper (II) phosphate. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, p. 55, 1998.

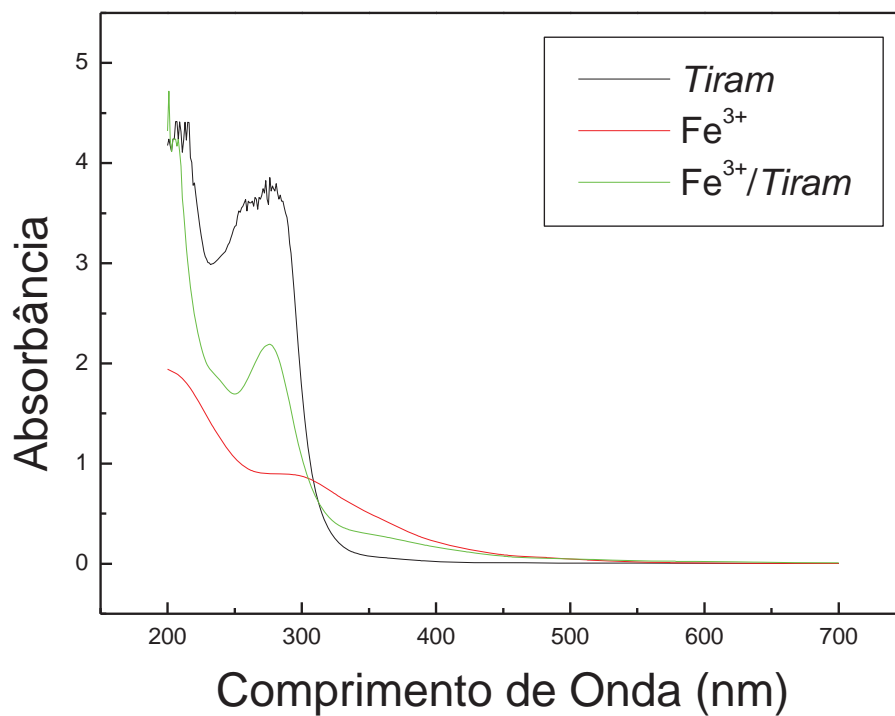
55 Rivas, G.A.; Martínez-Calatayud, J.M.; FIA-AAS determination of salicylic acid by a solid-phase reactor of copper carbonate incorporated in polyester resin beads. **Talanta**, v. 42, p. 1285, 1995.

56 Martínez-Calatayud, J.M.; Flow Injection Analysis of Pharmaceuticals - Automation in the Laboratory. 1 edition, New York, Taylor & Francis, 1996, p. 263 - 287.

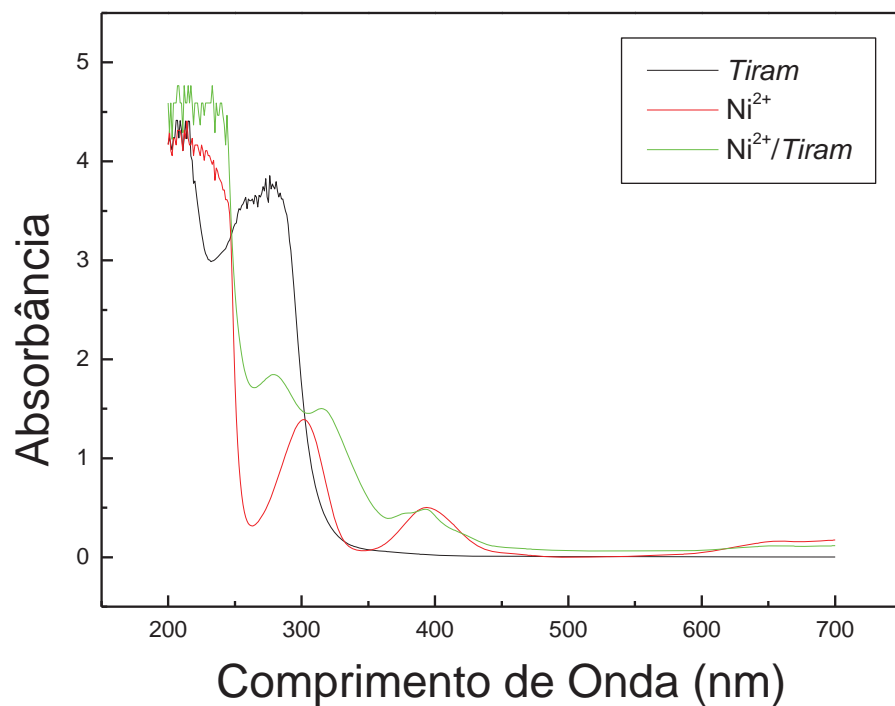
57 Malik, A.K.; Kaul, K.N.; Lark, B.S.; Rao, A.L.J.; Simple and Sensitive Method for Determination of Tetramethylthiuram Disulphide (Thiram). **Pesticide Science**, v. 53 p. 104, 1998.

60 Disponível em: www.acros.com; acessado em 04/04/2011.

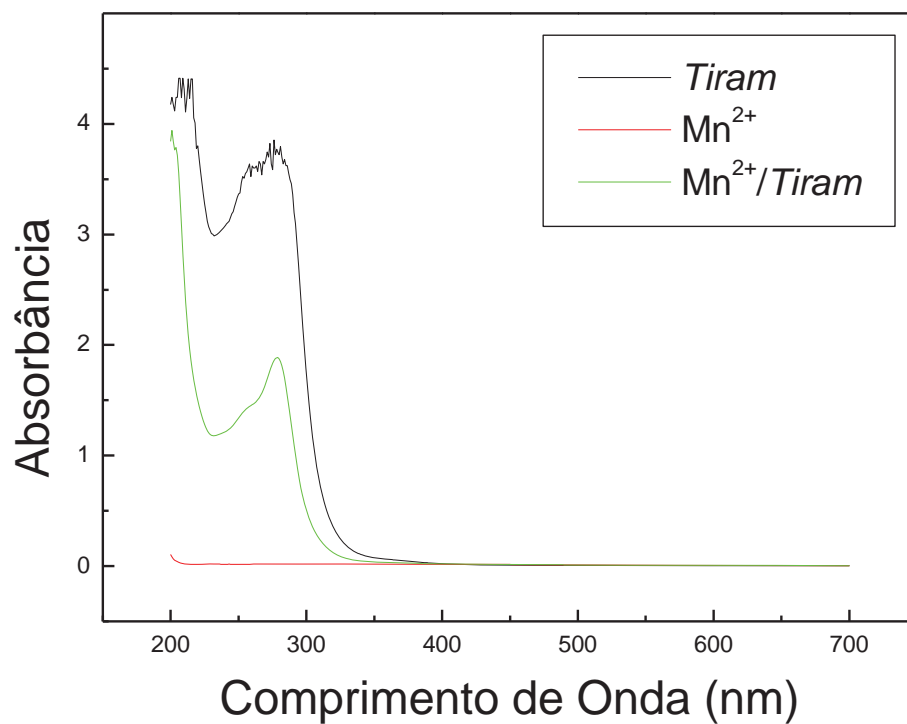
Anexo - Espectros de absorção molecular metal / *Tiram*



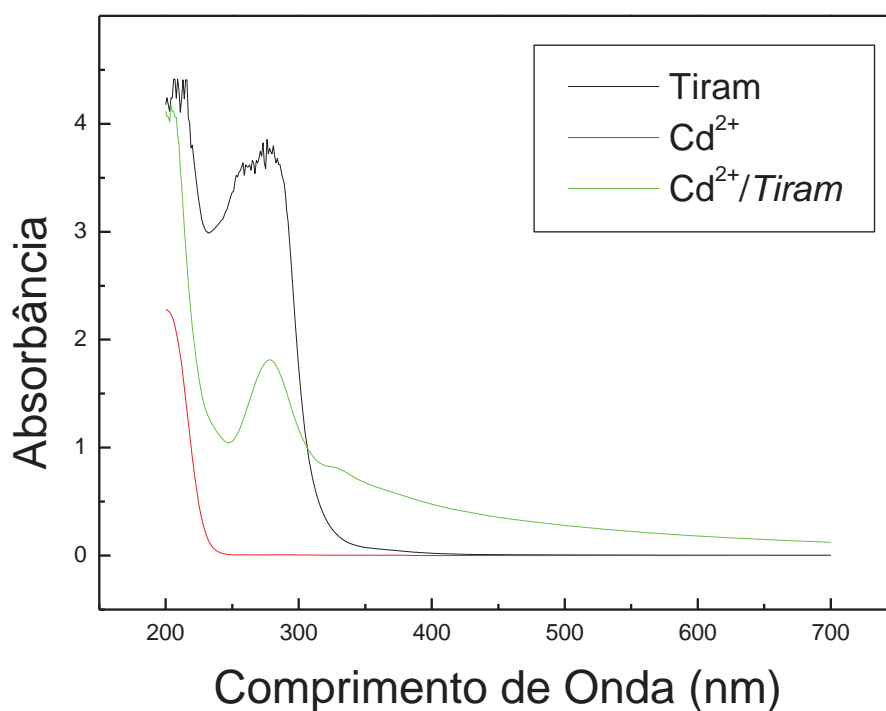
Anexo 1 – Espectro de absorção Fe / Tiram em meio aquoso; *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, FeCl_3 $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



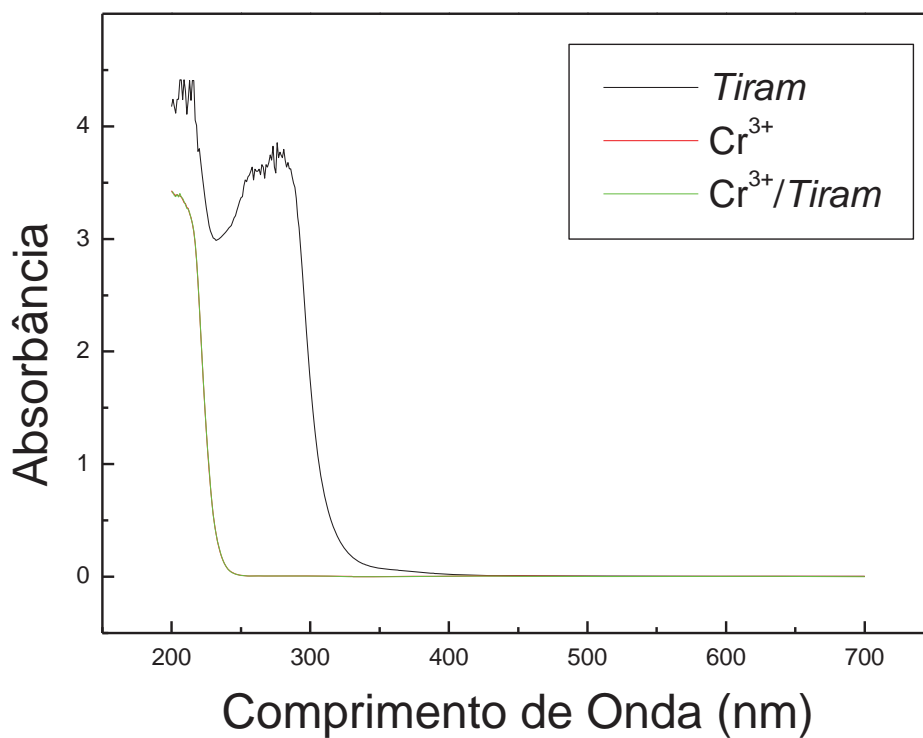
Anexo 2 – Espectro de absorção Ni / Tiram em meio aquoso; *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



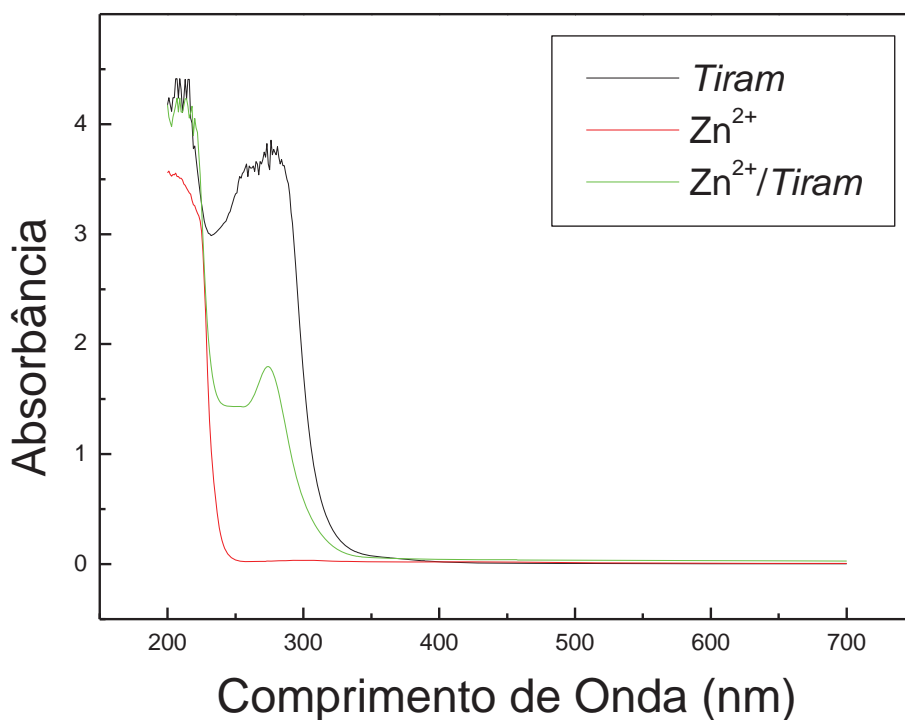
Anexo 3 – Espectro de absorção Mn / *Tiram* em meio aquoso; *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, MnCl_2 $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



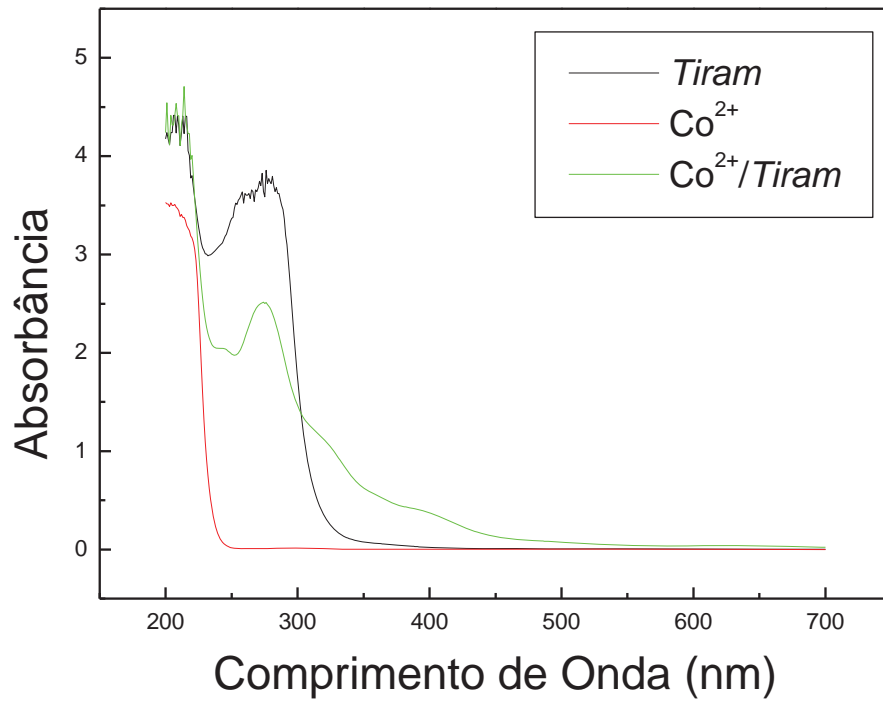
Anexo 4 – Espectro de absorção Cd / *Tiram* em meio aquoso; *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



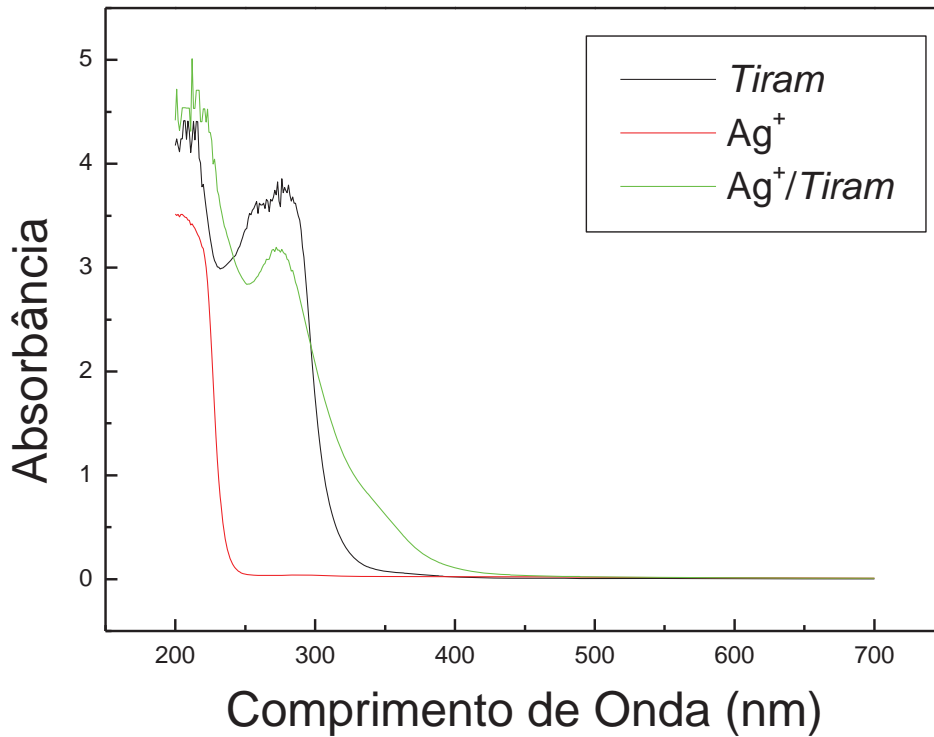
Anexo 5 – Espectro de absorção Cr / Tiram em meio aquoso; Tiram $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



Anexo 6 – Espectro de absorção Zn / Tiram em meio aquoso, Tiram $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



Anexo 7 – Espectro de absorção Co / *Tiram* em meio aquoso, *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.



Anexo 8 – Espectro de absorção Ag / *Tiram* em meio aquoso, *Tiram* $3,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, AgNO_3 $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.