

STEFANIA MORA GÜEZGUÁN

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANÁLITICOS PARA DETERMINAÇÃO DO GÁS
FOSFINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M827d
2017 Mora Güezguán, Stefania, 1991-
Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação
do gás fosfina / Stefania Mora Güezguán. – Viçosa, MG, 2017.
xv, 81f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: André Fernando de Oliveira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Fosfina. 2. Espectrofotometria. I. Universidade Federal
de Viçosa. Departamento de Química. Programa de
Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.


CDD 22 ed. 547.0512

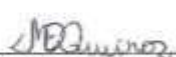
STEFANIA MORA GÜEZGUÁN

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANÁLITICOS PARA DETERMINAÇÃO DO GÁS
FOSFINA


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 06 de julho de 2017.


Antônio Augusto Neves
(Coorientador)


Maria Eliana L.R. de Queiroz
(Coorientadora)


Leda Rita D'Antonino Faroni


Renata Pereira Lopes Moreira


André Fernando de Oliveira
(Orientador)

A mis compañeros de aventuras...

*A mi mamá, por ser mi cómplice de sueños, batallas y derrotas,
A Diego y Aleja por ese incentivo en el momento preciso
A Yudy, por esa amistad incondicional aún en la distancia.*

*Gracias por su lealtad, amor y apoyo
por estar en mi mundo analítico
y en la apreciación de lo justo, lo correcto,
lo valioso, lo necesario y lo hermoso que trae la vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador André Fernando de Oliveira, por compartilhar seu conhecimento e experiência comigo, por aceitar orientar meu processo científico com paciência, compreensão, respeito e parceria. Com certeza você faz parte de meu crescimento acadêmico, pessoal e profissional. Obrigada pela confiança e apoio em todo momento. Considero-o uma pessoa admirável.

Aos meus coorientadores professora Maria Eliana e professor Antônio Augusto, pelos conselhos, ensinamentos, sugestões, que contribuíram neste trabalho e pelos momentos compartilhados além dos limites acadêmicos, meu mais sincero agradecimento e carinho.

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni por ter disponibilizado suas instalações no desenvolvimento desde trabalho.

Aos membros avaliadores da minha banca, professoras Renata (DEQ-UFV) e Lêda (DEA-UFV), pela contribuição nesta pesquisa.

Ao grupo de pesquisa pelos momentos compartilhados e auxílio, especialmente à Lorryne Zampier por tantas conversas enriquecedoras, parceria, reciprocidade e momentos de “vergonha” que permanecerão como lembranças.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, ao professor Claudio Lima e a Organização dos Estados Americanos (OEA) e Funarbe/CEAD, pela oportunidade e apoio financeiro nesta contribuição científica.

SUMARIO

LISTA DE ABREVIATURAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
2.1. Geral	2
2.1.1. Específicos	2
3. REVISÃO BIBIOGRAFICA	3
3.1. Fosfina.....	3
3.1.1. Fosfeto de alumínio.....	4
3.2. Sistema coletor do gás fosfina (SCF)	5
3.3. MÉTODOS ANALÍTICOS.	6
3.3.1. Iodometria	6
3.3.2. Espectrofotometria molecular	7
3.3.3. Método de Análise de Imagens Digitais	10
3.3.4. Cromatografia gasosa (GC)	13
3.3.5. Planejamento de experimentos e otimização de método	14
4. PARTE EXPERIMENTAL	16
4.1. Materiais e métodos	16
4.1.1. Reagentes	16
4.1.2. Produção de fosfina	16
4.1.3. Preparo de soluções	17
4.1.3.1. Soluções utilizadas para o desenvolvimento do método iodométrico.....	17
4.1.3.1.1. Padronização do tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 mol L ⁻¹).....	17
4.1.3.2. Soluções utilizadas para o desenvolvimento do método espectrofotométrico e análise de imagem.	18
4.1.3.2.1. Soluções tampão.....	18
4.2. Desenvolvimento do trabalho experimental.....	19

4.2.1.	Sistema de produção de fosfina em escala laboratorial.....	19
4.2.2.	Método iodométrico.....	20
4.2.2.1.	Estudo dos fatores que influem na reação de iodo com fosfina.....	21
4.2.2.2.	Estudo cinético	22
4.2.3.	Método espectrofotométrico	22
4.2.4.	Método de análise de imagem (RGB).....	22
4.2.5.	Cromatografia gasosa	23
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1.	Método iodométrico.....	24
5.1.1.	Metodologia para quantificação de fosfina.	24
5.1.2.	Estudo dos fatores que influem na reação de iodo com fosfina.....	28
5.1.3.	Estudo cinético da interação iodo – fosfina	30
5.1.4.	Avaliação da precisão do método iodométrico para determinação de fosfina	31
5.1.5.	Figuras de mérito para a padronização de fosfina pelo método iodométrico.....	33
5.1.6.	Monitoramento da produção de fosfina obtida a partir das pastilhas de AIP	35
5.2.	Método espectrofotométrico	36
5.2.1.	Quantificação de fosfina.....	36
5.2.2.	Avaliação do azul de metileno em meio alcalino.....	43
5.2.3.	Curva analítica para o corante azul de metileno	44
5.2.4.	Sistema para quantificação de fosfina	45
5.2.5.	Avaliação da precisão do método espectrofotométrico para determinação de fosfina	52
5.2.6.	Curva analítica para azul de metileno com fosfina pelo método espectrofotométrico	53
5.3.	Método da análise de imagem (RGB).....	54
5.3.1.	Influência da intensidade de luz sobre o sistema.....	55
5.3.2.	Avaliação das respostas para a curva analítica do azul de metileno	58
5.3.2.1.	Transmitância.....	58
5.3.2.2.	Absorbância absoluta para a curva com azul de metileno	59
5.3.2.3.	Absorbância para a curva com azul de metileno	59
5.3.3.	Curva analítica para fosfina pelo método RGB	61
5.3.3.1.	% Transmitância para a curva com fosfina.....	62
5.3.3.2.	Absorbância absoluta para a curva com fosfina	62
5.3.3.3.	Absorbância para a curva com fosfina	63
5.4.	Cromatografia gasosa	65
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
7.	CONSIDERAÇÕES FUTURAS	68
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	69
9.	APENDICE	78

ANEXOS	81
Anexo 1 Injeção manual de 20 µL de fosfina para monitoramento no modo SIM por CG - MS.....	81
Anexo 2 Injeção manual de 20 µL de fosfina para monitoramento no modo SCAN por CG - MS.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS

AM – Azul de Metileno

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária

CIE - Comissão Internacional de Iluminação (*Commision Internationale de l'Éclairage*)

CV – Coeficiente de Variação

FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*)

GC – Cromatografia Gasosa

GC - MS- Cromatografia Gasosa - Espectrometria de Massas

L_oD – Limite de Detecção (*Limit of Detection*)

L_oQ –Limite de Quantificação (*Limit of Quantification*)

PISSQ - Programa Internacional de Segurança das Substâncias Químicas

RGB – *Red, Green and Blue* (Vermelho, Verde e Azul)

SCF – Sistema Coletor do gás Fosfina

TDF – Tubo de Dissolução de Fosfina

VM – Verde malaquita

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura Piramidal da Fosfina (PH ₃).....	3
Figura 2. Sistema coletor de fosfina (SCF) e tubo de dissolução de fosfina (TDF).	5
Figura 3. Comprimentos de ondas na região do visível.....	7
Figura 4. Esquema com partes fundamentais de um espectrofotômetro.....	8
Figura 5. Captura de imagem por dispositivos digitais. A são os tópicos de processamento de imagem e B são os filtros coloridos que representam os pixels de uma imagem.	11
Figura 6. Cubo de modelo de cores RGB.....	12
Figura 7. Diagrama Esquemático de um cromatógrafo gasoso: 1. Reservatório de gás; 2. Controles de vazão/pressão; 3. Injetor (vaporizador) de amostra; 4. Coluna cromatográfica; 5. Forno da coluna; 6. Detector; 7. Amplificador e registro de sinal.....	14
Figura 8. Sistema produtor e coletor de fosfina em menor escala. 3A. Montagem usada no laboratório. 3B. Diagrama esquemático do sistema em que: 1) é o injetor de ácido; 3) seringa com pastilha de fosfeto de alumínio e produtor de fosfina quando entra em contato com o ácido; 5) o coletor de fosfina e 7) o extrator de fosfina.	20
Figura 9. Frascos de vidro com capacidade volumétrica de 20, 30 e 50 mL utilizados no desenvolvimento do método iodométrico.	20
Figura 10. Sistema ilustrativo para obtenção de imagens digitais em que 1. Suporte para cubetas; 2. Cubetas para colocar amostra; 3. Webcam; 4. Fonte de luz.....	23
Figura 11. Projeção da imagem no sistema ICCA com o corante azul de metileno em que A representa a região do analito, B o branco, C na ausência da incidência de luz e D a região da luz incidente.....	23
Figura 12. Diagrama esquemático por Etapas para a quantificação do número de mols de fosfina pelo método iodométrico.....	25
Figura 13. Concentração de fosfina determinada por Iodometria em função do volume de fosfina injetados em cada frasco de vidro utilizado. (□) frasco de 20 mL, (●) 30 mL e (×) 50 mL.	28
Figura 14. Superfície resposta do planejamento experimental 2 ² com um ponto central para as variáveis V _{KI} (mL) e tempo.....	29

Figura 15. Estudo cinético do número de mols de fosfina consumido em função do tempo para diferentes alíquotas de fosfina: 0.5 mL (□); 1.0 mL (●); 1.5 mL (▶) e 2.0 mL (×). Condições experimentais: 4 mL de HCl 6 mol L ⁻¹ , 4 mL de K ₂ Cr ₂ O ₇ 0,01 mol L ⁻¹ e 2 mL de KI 5% m/v com PH ₃	30
Figura 16. Diagrama esquemático com Etapa de homogeneização do gás fosfina para sua quantificação do número de mols pelo método iodométrico.	31
Figura 17. Avaliação da precisão do método iodométrico. (□) ensaio 1, (●) ensaio 2 (▶) ensaio 3.	32
Figura 18. Figuras de mérito para a para solução de 4 mL de HCl 6,0 mol L ⁻¹ , 4 mL de K ₂ Cr ₂ O ₇ 0,01 mol L ⁻¹ , 2 mL de KI 5% m/v e PH ₃ . Tempo de reação 35 minutos.	33
Figura 19. Detalhe do Diagrama Esquemático considerando a diluição de fosfina na Etapa 9 em função dos volumes de gás retirados.	34
Figura 20. Avaliação da precisão de fosfina na Etapa 9 ao longo do experimento. Em que a linha continua é o valor de número de mols calculado e os pontos de cor preta representa a receptibilidade nesta fase. (●) dados experimentais (□) dados calculados.	35
Figura 21. Monitoramento da produção experimental de gás fosfina a partir de pastilhas de fosfeto de alumínio por quatro dias.	35
Figura 22. Estrutura química dos corantes com comportamento redox. A verde malaquita, B azul de metileno.	36
Figura 23. Diagrama esquemático para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico.	37
Figura 24. Espectros das soluções de verde malaquita na presença de alíquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) com variações de pH (4,5 - 7,0 - 9,0). Branco: Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.	39
Figura 25. Absorbâncias máximas do sistema verde malaquita - fosfina na presença de alíquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) com variações de pH (4,5 - 7,0 - 9,0). Branco: Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.	39
Figura 26. Espectros das soluções de azul de metileno na presença de alíquotas de fosfina com variações de pH. Branco: Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.	41

Figura 27. Absorbâncias máximas do sistema azul de metileno - fosfina na presença de alíquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) com variações de pH (~2,0 - 4,5 - 7,0 - 9,0 – ~ 12). Branco: Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.	42
Figura 28. A Cinética de reação quando 1.0mL do corante azul de metileno (8.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$) interage com 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,34 mmol L^{-1} (inclinação preta); 1,7 mmol L^{-1} (inclinação vermelha); 34 mmol L^{-1} (inclinação azul) e 170 mmol L^{-1} (inclinação verde) e 1.9 mL de água. Volume total de reação 3,0mL. B Cinética de reação quando 1,0mL do corante azul de metileno (8.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$) interage com 0,1 mL de bórax 0,34 mmol L^{-1} em pH 9,0 e 1,9 mL de água. Volume total de reação 3,0mL.	43
Figura 29. Curva analítica para a solução de azul de metileno na faixa de concentração de 7,5 a 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9.0 no comprimento de onda igual a 663 nm.	44
Figura 30. Gráfico dos resíduos para a curva analítica do método com azul de metileno pelo método espectrofotométrico.	44
Figura 31. Experimento para quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico com azul de metileno 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0. Para reações em frascos de vidro fechados de 10 mL.	46
Figura 32. Sistema de reação de fosfina com azul de metileno para sua quantificação pelo método espectrofotométrico. 1 é a seringa com solução; 2 a seringa com gás; 3 é a válvula controle e 4 é a agulha para a extração.	47
Figura 33. Diagrama do processo para quantificação de fosfina a partir da interação com azul de metileno em pH 9,0 pelo método espectrofotométrico.	47
Figura 34. Curva analítica da solução de azul de metileno 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 e fosfina na faixa de concentração de 4,5 mmol L^{-1} a 9,0 mmol L^{-1} pelo método espectrofotométrico em seringas; na ausência (A) e presença (B) de cobre (II) 1.10 ⁻³ mol L^{-1}	48
Figura 35. Espectro do azul de metileno 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 na presença de 4,50 mmol L^{-1} de fosfina, na ausência de cobre, com cobre(I) e com cobre(II) no meio.....	51
Figura 36. Diagrama esquemático por Etapas para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico na presença do ativador cobre(II).	52

Figura 37. Avaliação da precisão do método espectrofotométrico na quantificação de fosfina na Etapa 9 com alíquotas de 5 mL e 10 mL do gás, na presença de azul de metileno $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ e Cu(II)	53
Figura 38. Curva analítica para fosfina pelo método espectrofotométrico avaliando absorvância em função da concentração de fosfina (mmolL^{-1}) para o corante azul de metileno na concentração de $40 \mu\text{molL}^{-1}$ em pH 9.0 e no comprimento de onda 663 nm. 53	53
Figura 39. Gráfico dos resíduos para a curva analítica do método com azul de metileno com fosfina pelo método espectrofotométrico.	54
Figura 40. Comparação da avaliação do sinal analítico em função da concentração de azul de metileno em pH 9,0, obtido pela intensidade de luz sem nenhum tratamento nas diferentes distancias (■) 10 cm, (○) 15 cm. (▲) 20 cm e (□) 25 cm, para cada um dos canais em que: A. canal R (vermelho), B. canal G (verde) e C. canal B (azul).....	56
Figura 41. Comparação do LoQ em função da distância (10, 15, 20 e 25 cm), obtido pela intensidade de luz sem nenhum tipo de tratamento do sinal do canal para R (■) G (○) e B (▲).....	56
Figura 42. Avaliação do limite de quantificação em função da resolução obtida das Resposta analítica para o de azul de metileno em pH 9,0 para cada canal R (■) G (○) e B (▲), em todas as distâncias (10, 15, 20 e 25 cm).	58
Figura 43. Curva analítica de azul de metileno utilizando a transmitância como resposta, em pH 9.0 Canais: (■)R (○) G e (▲) B, quando a fonte de luz está aos 15 cm.	58
Figura 44. Resposta $2 - \log\%T$ para a curva analítica de azul de metileno em pH 9,0 para cada canal em que: (■) representa R (○) G e (▲) B, quando a fonte de luz está aos 15 cm.	59
Figura 45. Resposta $\log I_a$ para a curva analítica de azul de metileno em pH 9,0 para cada canal em que: (■) representa R (○) G e (▲) B, quando a fonte de luz está aos 15 cm. ...	60
Figura 46. Curva analítica para fosfina com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9,0 pelo método RGB comparando cada canal em que: (■) representa R (○) G e (▲) B.....	61
Figura 47. Resposta $\%T$ para a curva analítica com fosfina pelo método de análise de imagem com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9,0.	62
Figura 48. Resposta $2 - \log\%T$ para a curva analítica com fosfina pelo método de análise de imagem com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9,0.	63

Figura 49. Resposta $\log I_a$ para a curva analítica de azul de metileno em pH 9,0 para o R.	63
Figura 50. Curva analítica para fosfina pelo método Cromatografia Gasosa.	65
Figura 51. Cromatograma obtido para uma alíquota de fosfina de 20 μL (linha continua preta) e 70 μL de fosfina (linha continua vermelha), pelo método cromatografia gasosa com detector por injeção em chama.	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de reagentes utilizados	16
Tabela 2. Descrição das soluções preparadas para o desenvolvimento do método iodométrico	17
Tabela 3. Descrição das soluções preparadas para o desenvolvimento do método espectrofotométrico e de análise de imagem	18
Tabela 4. Descrição das soluções tampão preparadas	19
Tabela 5. Variáveis experimentais do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Volume de iodeto de potássio KI 5% v/v (X_1); tempo de reação em minutos (X_2)	21
Tabela 6. Valores codificados e decodificados do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Volume de iodeto de potássio KI 5% v/v (X_1); tempo de reação em minutos (X_2).	21
Tabela 8. Resultados obtidos após dos tratamentos das funções de resposta para a curva analítica de azul de metileno na faixa de concentração de $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ até $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 pelo método de análise de imagem para o canal RED.	60
Tabela 9. Resultados obtidos após dos tratamentos das funções de resposta para a curva analítica de fosfina com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9.0 pelo método de análise de imagem.	64

RESUMO

GÜEZGUÁN, Stefania. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2017. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação do gás fosfina.** Orientador: André Fernando de Oliveira. Coorientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Antônio Augusto Neves.

A fosfina é um gás inflamável, instável e altamente tóxico que é produzido pela hidrólise de fosfetos metálicos como alumínio, manganês ou zinco. Quando o gás é produzido no laboratório é utilizado a metodologia proposta pela FAO, no entanto na última década tem sido introduzidos os princípios da química verde o que suscita um interesse no uso de metodologias com toxicidade reduzida além de propôs um método analítico prático para a padronização de solução gasosa de fosfina. No presente trabalho foi proposto um sistema para produção de fosfina em escala laboratorial mais simples e controlado comparado com o sistema tradicional. Além disso foram desenvolvidos três métodos analíticos para a sua determinação. O primeiro método desenvolvido foi o iodométrico. As condições experimentais em que o método apresentou melhor resposta foi em um tempo de reação de 35 min. Foram obtidas figuras de mérito mostrando um valor de 0,99 como coeficiente de determinação, limite de detecção (LoD) de 0,062 mL e de quantificação (LoQ) de 0,208 mL, em uma faixa analítica de trabalho no intervalo de 0,208 mL até 1,5 mL de fosfina. O segundo foi um método espectrofotométrico baseado na descoloração do azul de metileno. Foram estabelecidas condições experimentais de azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$), na presença de Cu(II) que atua no meio como catalisador, em pH 9,0, para obter a curva analítica com coeficiente de determinação 0,90, LoD $0,79 \text{ mmol L}^{-1}$ e LoQ $2,62 \text{ mmol L}^{-1}$, em uma faixa analítica de trabalho no intervalo de $2,62 \text{ mmol L}^{-1}$ até $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$. O terceiro método foi o método de análise de imagem baseado na avaliação do sinal analítico obtido de uma imagem digital e foi otimizado para a quantificação de fosfina, pela obtenção de uma curva analítica com coeficiente de determinação de 0,99, LoD de $0,714 \text{ mmol L}^{-1}$ e LoQ de $2,377 \text{ mmol L}^{-1}$, em uma faixa analítica de trabalho no intervalo de $2,3 \text{ mmol L}^{-1}$ até $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Uma curva analítica foi construída para propor outra alternativa de desenvolvimento de método em trabalhos futuros obtendo um coeficiente de determinação de 0,99, valores de LoD de $5,64 \mu\text{L}$ e LoQ de $18,77 \mu\text{L}$, com uma faixa de trabalho de $5,64 \mu\text{L}$ até $100 \mu\text{L}$.

ABSTRACT

GÜEZGUÁN, Stefania. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2017. **Development of analytical methods for the determination of phosphine gas.** Adviser: André Fernando de Oliveira. Co-advisers: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and Antônio Augusto Neves.

Phosphine is a flammable, unstable and highly toxic gas that is produced by the hydrolysis of metal phosphides such as aluminum, manganese or zinc. When the gas is produced in the laboratory, the methodology proposed by the FAO is used, however in the last one the principles of green chemistry have been introduced, which provokes an interest in the use of methodologies with reduced toxicity, besides proposing a practical analytical method for the standardization of Gaseous phosphine solution. In the present work, a simpler and more controlled system of phosphine production was proposed in laboratory scale compared to the traditional system. In addition, three analytical methods have been developed for their determination. The first method developed was the iodometric. The experimental conditions in which the method presented the best response was at a reaction time of 35 min. We obtained figures of merit showing a value of 0.99 as determination coefficient, detection limit (LoD) of 0.062 mL and quantification (LoQ) of 0.208 mL, in an analytical range of work in the range of 0.208 mL to 1.5 mL of phosphine. The second was a spectrophotometric method based on methylene blue discoloration. Experimental conditions of methylene blue ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) were established in the presence of Cu (II), which acts in the medium as a catalyst at pH 9.0, to obtain the analytical curve with determination coefficient of 0.90, LoD 0.79 mmol L^{-1} and LoQ 2.62 mmol L^{-1} , in an analytical working range in the range of 2.62 mmol L^{-1} to 9.0 mmol L^{-1} . The third method was the method of image analysis based on the evaluation of the analytical signal obtained from a digital image and was optimized for the quantification of phosphine by obtaining an analytical curve with determination coefficient of 0.99, LoD $0.714 \text{ mmol L}^{-1}$ and LoQ $2.377 \text{ mmol L}^{-1}$, in an analytical working range in the range of 2.3 mmol L^{-1} to 9.0 mmol L^{-1} . An analytical curve was constructed to propose another alternative of method development in future works, obtaining a coefficient of determination of 0.99, LoD values of $5.64 \mu\text{L}$ and LoQ of $18.77 \mu\text{L}$, with a working range of $5.64 \mu\text{L}$ to $100 \mu\text{L}$.

1. INTRODUÇÃO

A fosfina ou também conhecida como fosfeto de hidrogênio (PH_3), é uma gás inflamável, instável e altamente tóxico que foi descoberto no final do século XVIII e tem sido usado amplamente no setor agrícola (CHAUDHRY, 1997; NATH *et al.*, 2011). Ele é produzido pela hidrólise de fosfetos metálicos como alumínio, manganês ou zinco (FLORÃO *et al.*; 2004), para evitar a produção de pragas infestaste que ajuda a diminuir significativamente perdas por estes agentes (CASTRO, OLIVEIRA, LEITÃO, 2002). No entanto a FAO desenvolveu uma metodologia para sua produção em laboratório para medir o grau de resistência dos insetos ao fumegante (FAO, 1975), embora, com a introdução da química verde em 1991, se sugerem metodologias com toxicidade reduzida (DICLE; MELTEM, 2017), pode ser postulada uma outra metodologia em menor escala para diminuir a quantidade de ácido utilizada em cada produção de solução gasosa de fosfina assim como a necessidade de ter um método simples e útil para a padronização da mesma.

Entre as técnicas analíticas empregadas nos trabalhos reportados para a determinação de fosfina encontram-se a Cromatografia Gasosa nas pesquisas de Dumas (1964), Gassmann (1994), Athié *et al.* (2001); Zhao *et al.* (2015) empregaram esta técnica usando uma fibra para a extração do gás. Tem-se também a cromatografia gasosa acoplado a massas (GC – MS), utilizada na pesquisa feita por Perz e colaboradores (2015), com variações nas condições cromatográficas. Um outro trabalho com o objetivo de determinar fosfina foi desenvolvido por Castro, Oliveira e Leitão (2002), consistia em realizar leituras espectrofotométricas, após da reação do gás com uma solução de nitrato de prata para formar uma solução de cor amarela, embora nenhum deste trabalhos faz uso de um padrão primário de fosfina, pelo que deve ser produzida experimentalmente como foi dito anteriormente, que é um dos objetivos desenvolvidos no seguinte trabalho em que se pretende otimizar o procedimento de produção e determinação do gás fosfina.

O seguinte trabalho apresenta o desenvolvimento de três métodos analíticos que são: o método iodométrico, o método de Espectrofotometria na região do visível e um método baseado no uso de imagens digitais e para padronização e determinação deste analito, o qual foi produzido no laboratório a partir de pastilhas de fosfeto de alumínio (PHOSTEK®) propondo um sistema em menor escala comparado com o que é usado geralmente.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de fosfina.

2.1.1. Específicos

- Desenvolver um sistema para produção em laboratório de gás fosfina a partir de pastilhas comerciais de fosfeto de alumínio.
- Desenvolvimento e otimização de método titulométrico para padronização de soluções gasosas de gás fosfina preparadas em laboratório.
- Desenvolvimento e otimização de método espectrofotométrico para determinação de gás fosfina com azul de metileno.
- Adequação do método espectrofotométrico para determinação de gás fosfina com azul de metileno para uso com imagens digitais.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Fosfina

A fosfina ou fosfeto de hidrogênio (PH_3), foi descoberto no final do século XVIII e tem sido usado como inseticida fumigante, formicida e cupinicida de grãos desde a década de 1930 (CHAUDHRY, 1997; NATH *et al.*, 2011), pois seu uso não afeta a viabilidade do grão e seus resíduos nos produtos são escassos (REYNA; VÁZQUEZ; GARCÍA, 2012). Para seu uso como inseticida, é necessário manter a concentração de fosfina em no mínimo, 400 mg L^{-1} por pelo menos 120 horas de exposição, independentemente da fase do ciclo de vida do inseto (PISSQ, 1993; MARTINAZZO *et al.*, 2000; DAGLISH *et al.*, 2002; LORINI *et al.*, 2011).

O fosfeto de hidrogênio (PH_3), apresenta uma geometria piramidal, similar àquela da amônia (Figura 1). Apresenta vários nomes técnicos, tais como fosfina, trihidreto de fósforo, e fosfane (PISSQ, 1993),

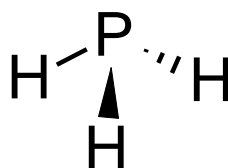


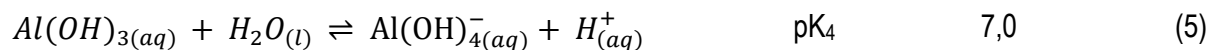
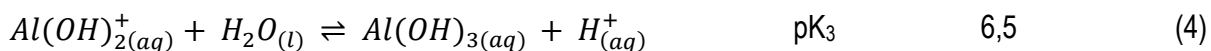
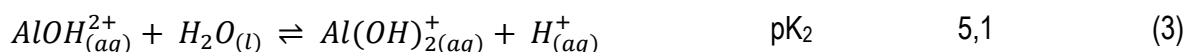
Figura 1. Estrutura Piramidal da Fosfina (PH_3).

A fosfina é um gás incolor, com ponto de ebulição igual a $-88 \text{ }^\circ\text{C}$, inflamável a temperatura ambiente, com poder redutor, é pouco solúvel em água, instável quando exposto a temperaturas acima de $100 \text{ }^\circ\text{C}$, com um odor de alho ou peixe em decomposição, com uma densidade de 1,17 vezes a do ar, o que lhe permite dispersar prontamente durante a fumigação (BANKS, 1975; NATH *et al.*, 2011).

A fosfina é produzida pela hidrólise de fosfetos metálicos como alumínio, manganês ou zinco (FLORÃO *et al.*; 2004) e tem classificação tóxica de Classe I (ANVISA, 2008), causando em humanos, efeitos colaterais afetando o sistema nervoso central, irritar os pulmões, além de sintomas como náuseas, vômitos, dormência e espasmos (BEQUISA, 2014; PERZ *et al.*, 2015). Sua dose letal (DL_{50}) igual de 20 mg kg^{-1} (SERVICIO DE SANIDAD AMBIENTAL, 2008).

3.1.1. Fosfeto de alumínio.

O fosfeto de alumínio (AIP) no Brasil para fins de inseticida é comercializado na forma de pastilhas, pastas, comprimidos e tabletes com diferentes marcas, tais como GASTOXIN®, PHOSTOXIN®, PHOSTEK®, PHOSPHINON®, CELPHOS®, e QUICKPHOS® (ANDRADE; NASCIMENTO, 1984, FLORÃO *et al.*, 2004). O fosfeto de alumínio forma cristais cinza ou amarelos e é utilizado usualmente no laboratório para a obtenção de fosfina. O fosfeto reage facilmente com a umidade do ambiente e na presença de ácidos sua reação se torna mais rápida (FAO, 1975; SERVICIO DE SANIDAD AMBIENTAL, 2008). As equações químicas que envolvem a decomposição do fosfeto de alumínio são apresentadas.



Devido à acidez do alumínio e baixa solubilidade do seu hidróxido, esse último é muitas vezes formado sobre a pastilha durante a decomposição do fosfeto de alumínio.

Geralmente, o fosfeto de alumínio é comercializado em forma de pastilhas de 0,6 ou 3,0 g, contendo 57% do princípio ativo. A pastilha requer de 24 até 48 horas para que seja liberada a maior parte da fosfina. Esta reação começa lentamente e vai se acelerando gradualmente, até a completa reação do fosfeto de alumínio, porém, fatores como a umidade e a temperatura limitam o tempo de reação. Isto quer dizer que a umidade do ar acelera a reação. Quando a temperatura e umidade do local a ser fumigado forem elevadas, a decomposição da pastilha pode completar-se em menos tempo se comparada às condições de temperaturas moderadas e baixa umidade. Enquanto o frio e o ar seco

têm efeito oposto, pela dificuldade de acontecer a reação de liberação de fosfina e poderia sugerir-se que não fosse efetuado o expurgo. (KILLPHOS, 1995; BEQUISA, 2014; LORINI et al., 2015). O resíduo da pastilha (que inclui o hidróxido de alumínio) não é tóxico nem irritante, e devido a seu baixo custo resultou em seu uso em quase todos os grãos negociados internacionalmente destinados ao consumo humano.

3.2. Sistema coletor do gás fosfina (SCF)

O sistema coletor do gás fosfina se mostra na Figura 2. Ele é usualmente usado em laboratórios para a produção e coleta de fosfina a partir das pastilhas de fosfeto, com a que se mede o grau de resistência dos insetos ao fumegante (FAO, 1975). Devido à natureza volátil, tóxica e instável, a fosfina é produzida em laboratório apenas no momento do uso e toda manipulação deste gás deve ser feita em capela de exaustão.

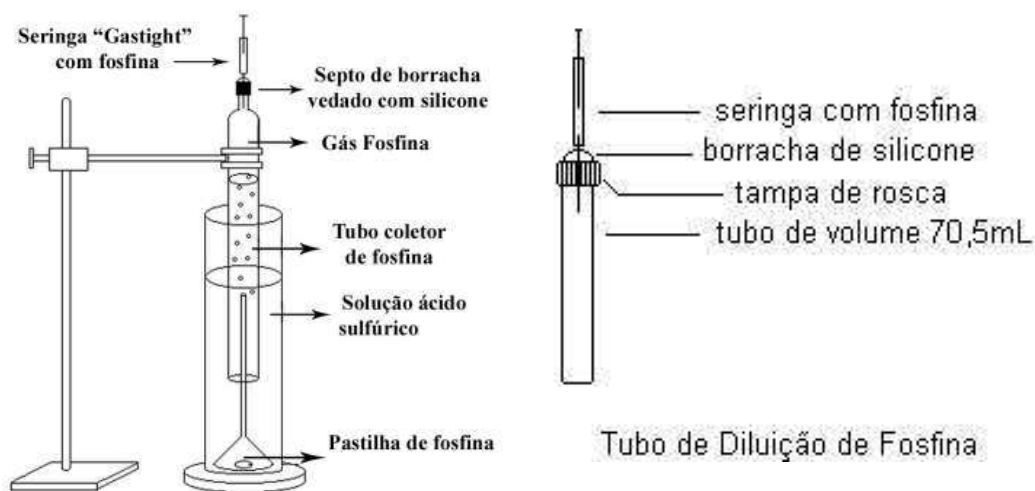


Figura 2. Sistema coletor de fosfina (SCF) e tubo de dissolução de fosfina (TDF).

Fonte: (FAO, 1975).

Embora simples, e com uma trajetória representativa na área agrícola, com a introdução da química verde cabe pensar em uma outra metodologia para a produção do gás e para padronizar a solução gasosa formada, pois se pode pensar que parte gasosa contém exclusivamente a fosfina e sua concentração é calculada a partir da Equação de Clayperon para gases ideais.

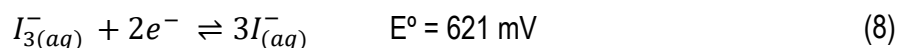
$$PV = n(PH_3)RT \Rightarrow c(PH_3) = \frac{n(PH_3)}{V} = \frac{P}{RT} \quad (7)$$

Entretanto, dificuldades na compensação da presença de vapor de água e outros eventuais gases dissolvidos, na determinação da pressão interna, dentre outros, pode tornar esse procedimento bastante impreciso.

3.3. MÉTODOS ANALÍTICOS.

3.3.1. Iodometria

A Iodometria é um método titulométrico redox baseado na oxidação do analito pelo iodo (OHLWEILER, 1974), sendo que o excesso desse reagente é titulado com tiosulfato. Devido à baixa solubilidade do iodo, o método é realizado na presença de excesso de íons iodeto, garantindo a formação do íon triiodeto, mais solúvel, mas com características oxidantes similares do iodo. (VOGEL et al., 1992) (Equação 8).



Muitas vezes, por questões de praticidade, considera-se a concentração analítica dessas duas espécies em solução (Equação 9).

$$c(I_2) = c(I_3^- (aq)) = [I_2] + [I_3^-] \quad (9)$$

Este método titulométrico é aplicado para a determinação de uma variedade de compostos, como por exemplo, o oxigênio (GANACHAUD; WUNSCH, 2000; SONG *et al.*, 2014), L-ácido ascórbico (DAVEY *et al.*, 2000; HERNÁNDEZ; LOBO; GONZÁLES, 2006; VALENTE *et al.*, 2011; SHALLANGWA *et al.*, 2014), ozônio (STERGIOU; PRODROMIDIS; EFSTATHIOU, 2010), dentre outros.

3.3.2. Espectrofotometria molecular

O termo "Espectrofotometria" é normalmente utilizado para a técnica que envolve a absorção de radiação eletromagnética por uma espécie química. (ANWAR *et al.*, 2013). A espectrofotometria molecular também é conhecida como espectrofotometria no UV/Visível. O primeiro termo refere-se à absorção de radiação por elétrons em orbitais moleculares das espécies estudadas, em contraponto à espectrofotometria atômica, associada à orbitais atômicos. O segundo termo refere-se ao uso dessa região de radiação, mas é menos adequado (embora comum), pois essa região (UV/visível) não é usada exclusivamente por essa técnica analítica.

A espectrofotometria molecular é muito usada devido à robustez dos seus métodos analíticos, custo relativamente baixo, de uso simples e sensível o suficiente para muitas aplicações práticas (NÓBREGA; LOPES, 1996; SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; ROCHA; TEIXEIRA, 2004; SKOOG *et al.*, 2006). As determinações espectrométricas o parte do espectro que se denomina luz visível são as ondas eletromagnéticas que são visíveis pelo olho humano e ocupam uma pequena parte do espectro, onde iniciam-se desde cerca 380 – 400 nm até cerca de 700 – 780 nm (LUCAS *et al.*, 1996; TORNQUIST, 2008) (Figura 3) A região do ultravioleta (próximo) é usualmente considerado de 190 nm a cerca 380 nm.

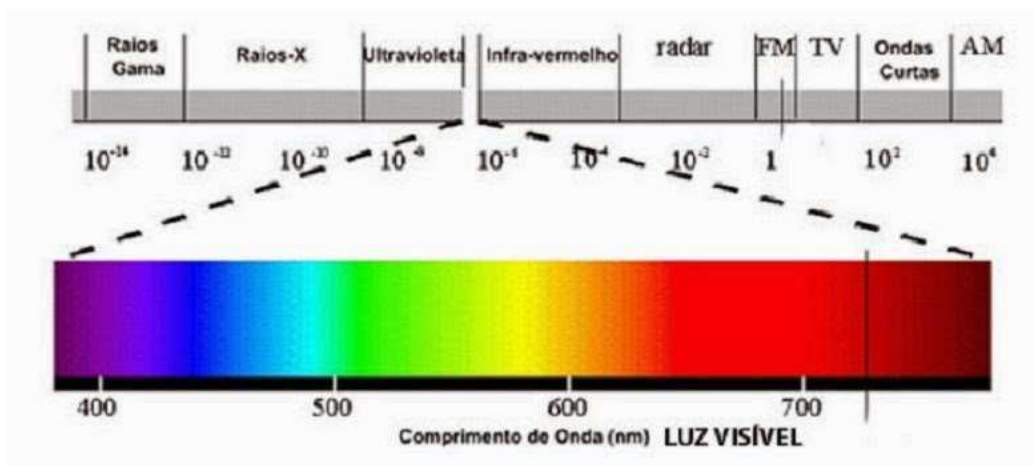


Figura 3. Comprimentos de ondas na região do visível.

Fonte: (TORNQUIST, 2008).

Sucintamente, o espectrofotômetro (molecular) é formado por uma fonte de radiação, um monocromador para seleção de uma faixa adequada de comprimentos de onda (anterior ou posterior

ao compartimento da amostra), um compartimento para o posicionamento da amostra, e um dispositivo para medir a intensidade de radiação que atravessa a amostra (Figura 4) (HARRIS, 2003; SKOOG *et al.*, 2009).

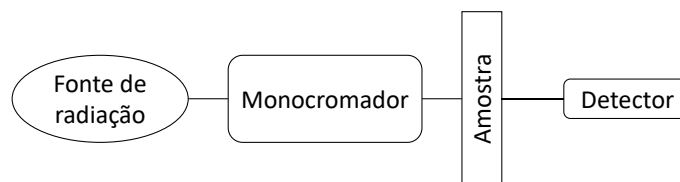


Figura 4. Esquema com partes fundamentais de um espectrofotômetro

A interação das espécies químicas presentes na amostra com os fótons com energia definida por seus comprimentos de onda, ocorre alterando o estado energético de elétrons dos orbitais LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) para HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*). A quantidade de fótons com um determinado comprimento de onda absorvidos (em uma dada área, por unidade de tempo) por uma dada concentração de uma espécie química ao longo de um caminho óptico é descrito pela Lei de Beer-Lambert-Bouger (ou apenas Lei de Beer) (SCURI, 2002; HARRIS, 2003; SKOOG *et al.*, 2009; (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O parâmetro absorvância é definido matematicamente de maneira a ser proporcional à concentração no equilíbrio da espécie absorvente da radiação monocromática (Equação 10). Devido à aditividade desse parâmetro, a Lei de Beer pode ser descrita para uma solução contendo várias espécies químicas absorventes da radiação (Equação 11).

$$A_{\lambda} = -\log \frac{I_T}{I_o} \quad (10)$$

Sendo que

$$A_{\lambda} = \sum \epsilon_{\lambda,i} b[i] \quad (11)$$

Onde,

A_{λ} absorvância no comprimento de onda λ

I_o intensidade da radiação monocromática (no comprimento de onda λ) que incide na amostra

I_T intensidade da radiação monocromática (no comprimento de onda λ) que emerge da amostra.

$\epsilon_{\lambda}(i) b[i]$ absorvância molar da espécie i (no comprimento de onda λ)

b caminho óptico ou seja, distância percorrida pelo feixe de radiação através da amostra

Entretanto, uma vez que nem sempre o analito é a espécie absorvente da radiação, mas sim relacionada a ela pelas condições experimentais (estequiometria, equilíbrios, etc.); e que a radiação utilizada em espectrofotômetros não é monocromática, mas sempre uma banda com largura de comprimentos de onda, no mínimo estreita o suficiente para uma aplicação prática; e, por fim, que outros fenômenos ópticos ocorrem com o feixe de luz (refração, espalhamento de Rayleigh, etc.), a curva analítica na espectrofotometria apresenta algumas diferenças em relação à Lei de Beer (Equação 12).

$$A_{\lambda} = -\log \left(\frac{\int_{\lambda_{inicial}}^{\lambda_{final}} I_{T,\lambda_i}}{\int_{\lambda_{inicial}}^{\lambda_{final}} I_{o,\lambda_i}} \right) = B + \sum S_{a,i} c_{a,i} \quad (12)$$

Onde i representa o analito i , $S_{a,i}$ é a sua sensibilidade analítica, $c_{a,i}$, a sua concentração analítica e B considera a absorvância de outras espécies químicas absorventes existem na solução, (com exceção daquelas relacionadas com os analitos), mas mantidas em concentração constante, além de conter a compensação de outros efeitos ópticos, existentes também nas medidas das soluções de referência.

A sensibilidade analítica, portanto, considera, além das absorvidades molares, fatores de diluição e a estequiometria no equilíbrio que relaciona as concentrações das espécies absorventes como os analitos. Além dos processos químicos que permitem estabelecer uma relação direta (preferencialmente linear) entre a concentração de espécies absorventes da radiação e a concentração do analito, a largura de banda influencia fortemente na linearidade e interferências do método analítico, de maneira que deve existir um compromisso entre a largura da banda de absorção da espécie cromófora e a largura da faixa de comprimento de onda do feixe de luz. De uma maneira geral, quanto menor a largura de banda do feixe comparado com a largura da banda de absorção, maior a adEquação do sinal à lei de Beer.

Os espectrofotômetros comerciais, que utilizam redes de difração para a monocromação (aqui uso como sinônimo de separação de faixas de comprimentos de ondas) e fontes contínuas como lâmpadas de deutério (para a região do ultravioleta e eventualmente do visível), de xenônio, ou de

tungstênio (para a região do visível apenas), apresentam larguras de banda entre 0,5 a 2 nm. Alguns espectrofotômetros de uso mais dedicado utilizam filtros de interferência (com bandas de 20 a 50 nm) e aqueles portáteis, que utilizam LED, por exemplo, podem ter larguras de banda de emissão maiores).

3.3.3. Método de Análise de Imagens Digitais

O método de análise de imagem digitais foi criado em 1931 pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE-*Commision internationale de l'Éclairage*) baseado em um modelo matemático chamado CIE-RGB em que cada pixel possui três valores os quais estão baseados nas cores primárias vermelha (R-red), verde (G-green) e azul (B-blue) (daí a sigla em inglês), no qual a partir das diferentes possibilidades de combinações aditivas dessas cores são representadas todas as outras cores do espectro visível (SANTOS, 2013). Assim, cada pixel utilizando esse sistema está formado informação referente a cada uma dessas três cores e a combinação de diferentes intensidades dessas três cores permitem uma ampla gama de cores e tonalidades (SONKA; HLAAC; BOYLE, 1999; MIOT *et al.*, 2006).

Este sistema foi criado porque embora o olho humano seja perceptivo à mudança de cor ou a combinação delas não dá razão qualitativa confiável e nem quantitativa destas alterações numa matriz determinada, isto porque o sistema nervoso humano não possui um mecanismo que possibilite essa quantificação, então a imagem que vai chegar ao sistema visual humano é a imagem complementar, quer dizer a fração de luz que não é absorvida pelo objeto. A percepção de cor desta forma explica-se porque cada olho humano possui uma grande quantidade de células nervosas, cerca de 6 milhões de cones e 120 milhões de bastonetes. Os bastonetes não distinguem cores, eles apenas são sensíveis à luz e são úteis quando existe baixa luminosidade. Os cones são sensíveis às cores e cada cone tem sensibilidade para detectar uma determinada faixa do espectro. Para os seres humanos existem três diferentes tipos de cones, conhecidos como cones vermelho, verde e azul (LEÃO, 2005). Então, baseados nesse fato, o método RGB visa quantificar, qualificar e analisar estas mudanças que também é conhecido como método de análise de imagem e tem sido amplamente utilizado para realizar análises químicas uma vez que se apresenta uma mudança de coloração comparando com as soluções de referência. Estas imagens são adquiridas ou produzidas por diversos aparelhos, incluindo câmeras digitais (dedicadas ou presentes em celulares), scanners, aparelhos de raios-X, microscópios eletrônicos, aparelhos de ultrassom e radares, webcams, e outros dispositivos, e podem

ser manipuladas computacionalmente para dar informações sobre diferentes sistemas ou matrizes (LUPETTI *et al.*, 2005; GOMES, *et al.*, 2008; LYRA *et al.*, 2009).

Estes elementos ópticos são os responsáveis por gerar a sensação de cor ao olho humano, no entanto, os sistemas atuais cor digital não explicam todos os aspectos relacionados à cor vinculada à percepção humana. Para isso, são utilizados sistemas digitais diferentes para ajudar a descrever as diferentes características das cores e sua percepção pelo ser humano, como por exemplo o sistema RGB. Com o desenvolvimento tecnológico associado a este método, cada vez tem sido mais utilizado em diversas áreas, principalmente para reconhecimento de padrões, tanto na indústria, na química, medicina, agricultura, pesquisas espaciais, meteorologia, entre outras áreas (SALES, 2012), inclusive na química analítica, onde o seu uso também tem sido associado à intensidade de cor. Entre aplicações deste método tem-se a determinação de metais em diversas matrizes, controle de qualidade alimentícia e monitoramento ambiental (OLIVEIRA, 2012).

O processamento de imagens (obtenção da imagem digital) está apresentado na Figura 5. Ele pode ser dividido pelo menos em quatro partes: (i) Captura (entrada); (ii) Visualização (saída); (iii) Armazenamento e (iv) Processamento.

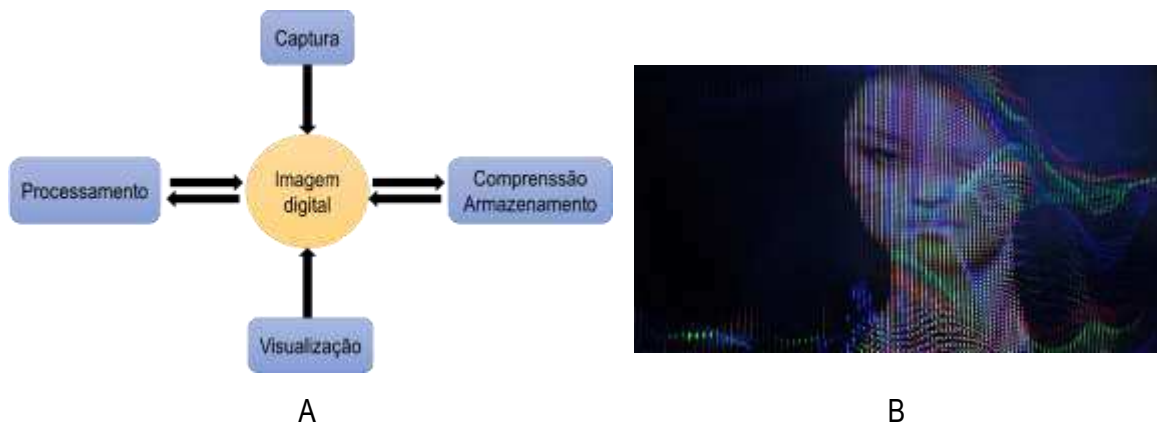


Figura 5. Captura de imagem por dispositivos digitais. A são os tópicos de processamento de imagem e B são os filtros coloridos que representam os pixels de uma imagem.

Fonte: (SCURI, 2002).

Uma imagem digital pode ser entendida como uma matriz bidimensional cujos índices de m linhas e n colunas identificam um ponto na imagem, sendo que os elementos dessa matriz digital possuem um número finito de estrutura e são denominados de “elementos de imagem” ou pixels

(GONZALES; WOODS, 2000). Cada pixel contém elementos ópticos que detectam a intensidade de luz (em uma largura de comprimento de onda definido) (AZEVEDO; CONCI, 2003), e que são escalonados em um sistema digital, quando maior for o número de pixels melhor a qualidade da imagem quando está é ampliada (OLIVEIRA, 2012). A parte do sistema RGB que converte o sinal analógico em digital é chamado de Conversor Analógico Digital (ADC) (SKOOG et al., 2006).

O modelo RGB é representado por um cubo em coordenadas cartesianas, onde cada cor primária representa um dos eixos e assumem valores finitos que variam de zero (0) a um (1). Onde, o valor um (1) corresponde à intensidade máxima com que a cor primária pode ser representada no gráfico e o valor zero (0) à intensidade mínima (Figura 6).

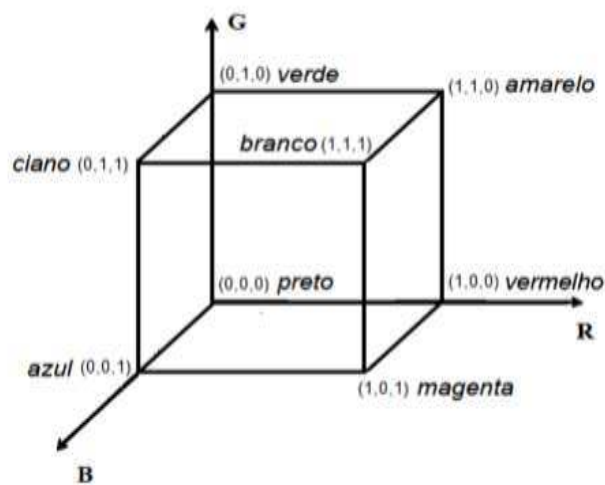


Figura 6. Cubo de modelo de cores RGB.

Fonte: (SANTOS O., 2013).

No sistema RGB, para carregar as informações digitais dos componentes vermelho, verde e azul tradicionalmente era usado um ADC de 8 *bit*, embora, foram desenvolvidos ADC de 10 *bit* (1064 divisões), 12 *bit* (4096 divisões), 14 *bit* (16384), por mencionar alguns, o que permite uma melhor resolução dos sinais. Quando são usados 8 bits (1 byte) para cada, isso significa que, os componentes do sistema RGB só podem assumir 256 níveis discretos de intensidade, ou seja, o valor de cada componente primário só pode ser medida de 0 a 255, onde 0 é ausência de cor e 255 é a intensidade máxima. Os valores intermediários constituem um “degrade” de tons. Assim, para cada pixel são utilizados 3 bytes e pode ter 16,7 milhões (256 x 256 x 256) de possibilidade de cores do visível

diferentes. O pixel com valores de (R, G, B) iguais a (0, 0, 0) possui cor preta e com (255, 255, 255), a cor será branca.

Vale ressaltar que a quantidade de possibilidades de cores que o pixel no sistema RGB pode assumir é muito maior que a quantidade de cores que o olho humano tem sensibilidade para distinguir. E, mais importante, essas sensações de cores não significam, de maneira alguma, a seleção de comprimentos de ondas mais restrita.

3.3.4. Cromatografia gasosa (GC)

A cromatografia gasosa (GC) foi introduzida em 1952 por Martin e James (ABIAN, 1999; KORYTÁR; MATISOVA, 2002), e desde então tem sido amplamente utilizada por sua alta resolução, alta sensibilidade, sua capacidade para realizar análises quantitativas e a rapidez de análise ainda em baixas concentrações nos diferentes tipos de amostras. O princípio geral de GC é a separação de espécies químicas na fase gasosa, devido à interação seletiva com outra fase. Levando em conta que geralmente as amostras de interesse são misturas complexas, esta técnica está entre os métodos analíticos mais importantes e usados nas pesquisas de diferentes áreas como química, petroquímica, fragâncias, farmacêutica e ambiental (NETO; NUNES, 2003; POZZOBON, 2011), pela facilidade com que efetuam a separação a identificação e quantificação das espécies químicas, podendo ser gases e substâncias voláteis ou semivoláteis, termicamente estáveis e com pontos de ebulição de até 300 °C (BASTOS *et al.*, 2009). Na Figura 7 é apresentado um esquema com algumas partes de um cromatógrafo gasoso.

Nesta técnica, para garantir a vaporização dos constituintes da amostra, o injetor e a coluna são aquecidas a uma temperatura alta, sendo, como regra geral que temperatura de injeção seja ao menos 50 °C acima da temperatura de ebulição do componente menos volátil. A amostra vaporizada é conduzida do injetor até o detector com ajuda da fase móvel (gás de arrastre) (FLUMIGNAN, 2005). Os principais gases de arrastre utilizados são o Hélio, Nitrogênio, Hidrogênio e o Argônio, e dependem do detector utilizado. Durante o deslocamento da pluma, a fase estacionária interage seletivamente com os componentes da amostra, por exemplo, por processos de partição ou de adsorção (dependendo da composição da fase estacionária) realizando a separação (LANÇAS, 1993; COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

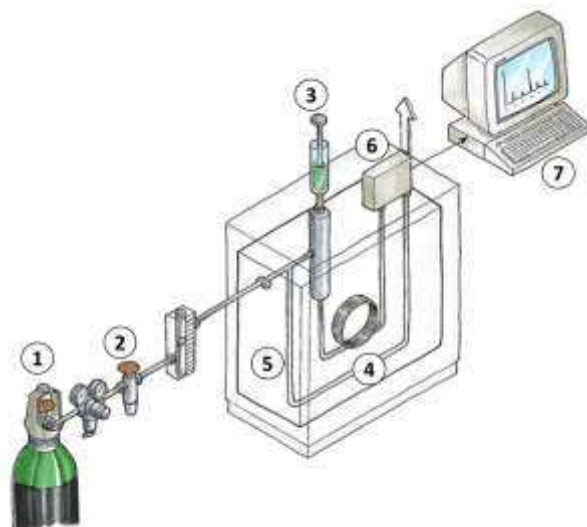


Figura 7. Diagrama Esquemático de um cromatógrafo gasoso: 1. Reservatório de gás; 2. Controles de vazão/pressão; 3. Injetor (vaporizador) de amostra; 4. Coluna cromatográfica; 5. Forno da coluna; 6. Detector; 7. Amplificador e registro de sinal.

Um aspecto importante da GC é que pode ser hifenada a outras técnicas instrumentais, tais como a espectrometria de massas (MS). Os primeiros acoplamentos GC-MS foram realizados no final da década de 1950, entre 4 e 5 anos após a introdução do GC por James e Martin. Entretanto, apenas nas últimas décadas surgiram instrumentos comerciais com preços razoáveis e características técnicas convenientes para que ocorresse uma grande disseminação do seu uso. Dentre as vantagens desse acoplamento, pode-se citar a obtenção de informações exclusivas e específicas sobre a composição química do analito, alta sensibilidade e é possível também a quantificação (GOHLKE, 1959; ABIAN, 1999).

3.3.5. Planejamento de experimentos e otimização de método

No início da década de 1970 surgiu uma área da química que na atualidade é conhecida como quimiometria, que é definida pela Sociedade Internacional de Quimiometria como “a ciência de relacionar as medições realizadas num sistema químico com a aplicação de métodos matemáticos ou estatísticos” (HIBBERT *et al.*, 2009). Com o avanço da tecnologia dos computadores e o desenvolvimento de abordagens analíticas, os métodos quimiométricos tornaram-se uma ferramenta útil para obter mais resultados de análises e de maneira mais rápida (HUANG, *et al.*, 2016), embora,

em muitos casos, e tempo de desenvolvimento do método seja muito longo. Também faz parte do escopo da Quimiometria o estudo dos planejamentos experimentais, de maneira a obter as informações necessárias para cada problema analítico com o menor número de experimentos, menor tempo e menor consumo de reagentes ou produção de resíduos.

Um planejamento experimental, em especial planejamentos fatoriais, são planejamentos desenhados para fornecer informações sobre quais variáveis de um sistema influenciam na resposta do experimento e interações entre as mesmas, utilizando um pequeno número de experimentos (MONTGOMERY, 1991). A desvantagem desse planejamento é que o resultado é muito dependente da faixa de variação das variáveis e da suposição de comportamento monótono naquele intervalo, ou seja, que a resposta irá aumentar (ou diminuir) continuamente naquele intervalo de variação do sistema.

O desenho de um planejamento fatorial de primeira ordem é um fatorial completo de dois níveis (ou fracionário) (2^k), no qual cada fator é estudado experimentalmente em apenas dois níveis. Por sua simplicidade e custo relativamente baixo, fatoriais completos são muito úteis para estudos preliminares ou nas Etapas iniciais de uma otimização. No entanto, uma vez que apenas dois níveis são utilizados, os modelos que podem ser ajustados a esses projetos são um pouco restritos, como já discutido. Conseqüentemente, se um modelo mais sofisticado é requerido, como para a localização de um conjunto ótimo de condições experimentais, então deve-se recorrer a desenhos para modelos de segunda ordem (*designs* de superfície de resposta), que empregam mais de dois níveis de fator para permitir a montagem de um polinômio quadrático completo, o que serve para uma análise mais efetiva dos efeitos das variáveis envolvidas no processo e, também, para a otimização do mesmo. Usualmente é realizado um planejamento prévio dos experimentos antes da aplicação desse tipo de planejamento, que inclui a escolha das variáveis (fatores) e dos valores que estas assumirão nas corridas experimentais (níveis). Em química analítica, os desenhos de superfície de resposta mais utilizados são simétricos e descrevem um domínio esférico experimental (FERREIRA *et al.*, 2004; OLIVIER *et al.*, 2007).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e métodos

4.1.1. Reagentes

Tabela 1. Lista de reagentes utilizados

Reagente	Marca
Acetato de Sódio ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	Merk
Ácido clorídrico (HCl)	Merk
Ácido sulfúrico (H_2SO_4)	Vetec
Amido solúvel	Vetec
Azul de metileno	Vetec
Bórax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\cdot 10\text{H}_2\text{O}$)	
Hidróxido de sódio (NaOH)	Vetec
Iodeto de potássio (KI)	Vetec
Sódio fosfato dibásico anidro (Na_2HPO_4)	Synth
Sulfato de cobre (II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	Dinâmica
Tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)	Vetec
Verde malaquita	Sigma aldrich
Carbonato de sódio (Na_2CO_3)	Impex
Dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)	Vetec
Fosfeto de alumínio (AIP)	PHOSTEK®

4.1.2. Produção de fosfina

Para a produção de fosfina foi utilizada a metodologia proposta pela FAO (1975) com modificações (Figura 2, pág 5), utilizando pastilhas de 3,0 g do produto comercial PHOSTEK® (fosfeto de alumínio), as quais reagiram com ácido sulfúrico 10 %v/v (H_2SO_4), para a obtenção do gás fosfina (PH_3) e com ajuda de uma seringa foram extraídas alíquotas do gás para serem injetadas no sistema de estudo.

4.1.3. Preparo de soluções

Todas as soluções foram preparadas com água tipo Milli-Q, a partir de massas ou volumes dos reagentes (Tabela 2 e 3) dissolvidos em um béquer, a solução foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico e completado o volume.

4.1.3.1. Soluções utilizadas para o desenvolvimento do método iodométrico

Tabela 2. Descrição das soluções preparadas para o desenvolvimento do método iodométrico

Solução	Formula	Concentração	Quantidade do reagente	Voumem total (mL)
Dicromato de potássio*	$K_2Cr_2O_7$	$0,01 \text{ mol L}^{-1}$	2,97 g	1000
Ácido clorídrico	HCl	$6,0 \text{ mol L}^{-1}$	50 mL	100
Iodeto de potássio**	KI	10% m/v	50 g	1000
Tiosulfato de sódio***	$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	$0,01 \text{ mol L}^{-1}$	2,49 g	1000
Amido solúvel****	$C_6H_{10}O_5$	1% m/v	1,0 g	100

* O reagente foi seco em estufa por 3 horas.

** A solução foi mantida sob refrigeração a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ em geladeira.

*** Para garantir a estabilidade da solução o pH da solução foi ajustado na faixa de 9 e 10 pela adição de 0,1 g de Na_2CO_3 . Empregou-se água destilada fervida e foram adicionadas 3 gotas de clorofórmio.

**** Deixou-se ferver por 1 minuto, sob agitação e em caso da solução apresentar turbidez realizou-se uma filtração.

4.1.3.1.1. Padronização do tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$)

Para padronizar a solução de tiosulfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, foram adicionados 10 mL de $K_2Cr_2O_7$ ($1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), 10 mL de HCl e 5 mL de KI (5% (m/V)) em um erlenmeyer de 125 mL resultando uma solução de coloração marron. Titulou-se com a solução de $Na_2S_2O_3$ e quando a solução virou de marrom para amarelo claro foi aquecido 1 mL da suspensão de amido formando um complexo de cor azul. Continuou-se a titulação até a cor azul desaparece-se.

A concentração experimental da solução de $Na_2S_2O_3$ foi determinada pela Equação 13. E o fator de correção da solução foi calcula como mostra a Equação 14.

$$c(S_2O_3^{2-}) = 6 \frac{c(Cr_2O_7^{2-}) \cdot V(Cr_2O_7^{2-})}{V(S_2O_3^{2-})} \quad (13)$$

$$f_c = \frac{C_{experimental}}{C_{nominal}} \quad (14)$$

Em que:

f_c é o fator de correção da solução de $Na_2S_2O_3$

$C_{experimental}$ é a concentração da solução calculada de acordo com a Equação 13

$C_{nominal}$ é a concentração nominal de $Na_2S_2O_3$, ou seja, aquela concentração desejada (0,01 mol L⁻¹, neste caso)

4.1.3.2. Soluções utilizadas para o desenvolvimento do método espectrofotométrico e análise de imagem.

Tabela 3. Descrição das soluções preparadas para o desenvolvimento do método espectrofotométrico e de análise de imagem

Solução	Número CAS / fórmula	Concentração	Quantidade do reagente	Volume total (mL)
Azul de metileno	61-73-4	1,0 mmol L ⁻¹	319,9 mg	250
Verde malaquita	569-64-2	1,0 mmol L ⁻¹	364,9 mg	250
Cobre (II)	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,0 mmol L ⁻¹	24,97 mg	100

Soluções de azul de metileno e verde malaquita em menores concentrações foram preparadas a partir da diluição de alíquotas da solução estoque (10 mmol L⁻¹). Para evitar a degradação do corante o frasco que contem a solução devia estar recoberto em papel alumínio e ser mantido num lugar escuro.

4.1.3.2.1. Soluções tampão

Todas as soluções tampão foram preparadas com água tipo Milli-Q (tipo 1) e a partir de massas ou volumes dos reagentes (Tabela 4) dissolvidos em um volume de água em um béquer. O

pH foi ajustado utilizando-se soluções de NaOH 1,0 mmol L⁻¹ e HCl 1,0 mmol L⁻¹. A solução foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume.

Tabela 4. Descrição das soluções tampão preparadas

Tampão	Formula	Concentração	Quantidade do reagente	pH
Ácido clorídrico	HCl	6,0 mmol L ⁻¹	50 mL	~2,0
Acetato	CH ₃ COONa.3H ₂ O	20 mmol L ⁻¹	272,16 mg	4,5
Fosfato	Na ₂ HPO ₄	20 mmol L ⁻¹	287,0 mg	7,0
Bórax	Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O	20 mmol L ⁻¹	763,74 mg	9,0
Hidróxido de sodio	NaOH	5,0 mol L ⁻¹	20,20 g	~12

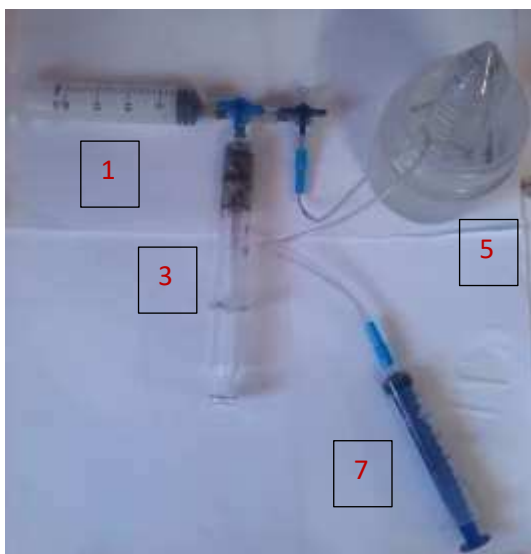
4.2. Desenvolvimento do trabalho experimental

4.2.1. Sistema de produção de fosfina em escala laboratorial

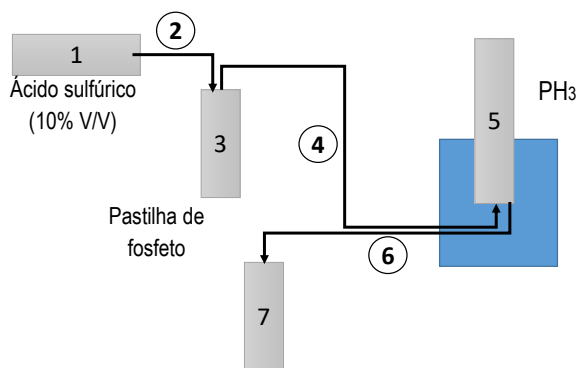
O procedimento descrito para produzir fosfina em escala laboratorial (Figura 2, pg. 5) apresenta algumas dificuldades, tais como, colocar a pastilha dentro do funil, o que pode ocasionar perda do analito já que está em contato direto com o ácido; ou mesmo a necessidade de desmontar todo sistema para trocar a pastilha. Por isso, com o propósito de evitar a perda de gás e reduzir o volume do ácido gasto, na Figura 8 se mostra uma nova proposta de montagem para a obtenção de fosfina em menor escala e mais controlada. O diagrama esquemático apresentado utiliza as condições definidas por (OLIVEIRA, 2017a) onde a Etapa no fim de cada seta considerada que o processo descrito já foi finalizado.

Assim, a Etapa 1 é uma seringa que contém ácido H₂SO₄ (10%v/v) que tem função de injetar a solução no sistema como é representado pela Etapa 2. Este processo acaba na Etapa 3 que é uma seringa de vidro que tem uma pastilha de AIP que reage com o ácido para liberar o gás fosfina que é transportado por uma mangueira (Etapa 4) até um frasco de armazenamento (Etapa 5). Por último uma outra mangueira (Etapa 6), está conectada no sistema que permite a extração de alíquotas do analito com ajuda de uma seringa representada pela Etapa 7.

O sistema mostrou-se muito prático para a produção do gás fosfina, sendo bastante simples o início do trabalho, a troca de pastilhas e menor consumo de ácido.



A



B

Figura 8. Sistema produtor e coletor de fosfina em menor escala. 3A. Montagem usada no laboratório. 3B. Diagrama esquemático do sistema em que: 1) é o injetor de ácido; 3) seringa com pastilha de fosfeto de alumínio e produtor de fosfina quando entra em contato com o ácido; 5) o coletor de fosfina e 7) o extrator de fosfina.

4.2.2. Método iodométrico

O método iodométrico foi utilizado para a padronização de fosfina e cada teste foi realizado por triplicata (item 4.2.2.1 e 4.2.2.2) em um frasco de vidro (Figura 9), em que era adicionado um volume determinado de HCl 6 mol L⁻¹, K₂Cr₂O₇ 0,01 mol L⁻¹ e KI 5% (m/v). Deixou-se reagir 10 minutos em escuro para a formação dos íons triiodeto em excesso e logo disso adicionadas alíquotas de fosfina. Finalmente a solução era titulada com a solução padronizada de Na₂S₂O₃.



Figura 9. Frascos de vidro com capacidade volumétrica de 20, 30 e 50 mL utilizados no desenvolvimento do método iodométrico.

4.2.2.1. Estudo dos fatores que influem na reação de iodo com fosfina

O estudo dos fatores que influenciam na reação do iodo com fosfina foi realizado a partir de experimentos piloto onde eram avaliadas variáveis como a concentração de KI, capacidade volumétrica do frasco em que era feita a reação e o tempo de reação.

O estudo foi desenvolvido com um planejamento de experimentos multivariáveis tipo fatorial 2^2 com ponto central, onde as duas variáveis de estudo foram volume de iodeto de potássio e o tempo de reação na presença de 0,0 1,0 3,0 e 5,0 mL de fosfina. Os parâmetros do planejamento (variáveis) estão representados na Tabela 5, enquanto que o conjunto de experimentos do planejamento de experimentos está descrito na Tabela 6.

Tabela 5. Variáveis experimentais do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Volume de iodeto de potássio KI 5% v/v (X_1); tempo de reação em minutos (X_2)

		Variáveis		
		-1	0	1
X_1	V_{KI} (mL)	2	3	4
X_2	t (min)	5	10	15

Tabela 6. Valores codificados e decodificados do planejamento fatorial 2^2 com ponto central. Volume de iodeto de potássio KI 5% v/v (X_1); tempo de reação em minutos (X_2).

No. Experimentos	Variáveis experimentais			
	Valores codificados		Valores decodificados	
	X_1	X_2	V_{KI} (mL)	t (min)
1	-1	-1	2	5
2	-1	1	2	15
3	1	-1	4	5
4	1	1	4	15
5	0	0	3	10

4.2.2.2. Estudo cinético

O comportamento cinético da reação de oxi-redução entre o triiodeto e a fosfina foi estudado para identificar em que ponto a reação atinge o equilíbrio. Isto foi avaliado o tempo de reação da solução de KI 5% (m/v), HCl 6 mol L⁻¹, e K₂Cr₂O₇ 0,01 mol L⁻¹, com diferentes alíquotas do gás fosfina (0.5, 1.0, 1.5, 2.0) mL.

O método foi validado obtendo as figuras de mérito faixa analítica, limite de quantificação e de detecção e avaliação da precisão.

4.2.3. Método espectrofotométrico

As medidas espectrofotométricas foram realizadas com um espectrofotômetro USB200 Ocean Optics e/ou Agilent 8453, com resolução espectral de cerca de 1 nm, caminho ótico de 1 cm e utilizou-se cubeta de vidro. As leituras de pH foram feitas no pHmetro Hanna pH 21 pH/mV e as medidas de massa em balança analítica marca Shimadzu AUJ 220.

Foram estudados corantes com comportamento redox como azul de metileno e verde malaquita, na presença de cobre (II), no comprimento de onda de 663 nm para o azul de metileno e 618 nm para o verde malaquita.

O comportamento cinético, influência do pH e das concentrações de tampão e do corante foram avaliados também por planejamentos multivariáveis. O método foi validado obtendo-se as figuras de mérito descritas para o método iodométrico, além da sensibilidade analítica.

4.2.4. Método de análise de imagem (RGB)

Para o método de análise de imagem foi utilizado um sistema simples (Figura 10) que consistiu em ter um suporte de plástico preto com dimensões: 11cm x 7,5cm x 3,5cm (comprimento x largura x altura), em que foram feitas duas aberturas para colocar as cubetas (uma com o analito e a outra com o branco), fixando-as com uma base de papelão. Na parte de trás do suporte preto foi adequada uma webcam (Hardline, China) com correção do branco para a obtenção de imagens conectando-a ao computador por USB.



Figura 10. Sistema ilustrativo para obtenção de imagens digitais em que 1. Suporte para cubetas; 2. Cubetas para colocar amostra; 3. Webcam; 4. Fonte de luz.

A projeção das imagens coletadas foi feita com ajuda do software *ICCA* no sistema operativo Linux, que por sua vez está subdividida em três seções: 1. Projeção da imagem; 2. Controles para análise da região e 3. Quantificação do sinal da cor (Figura 11).

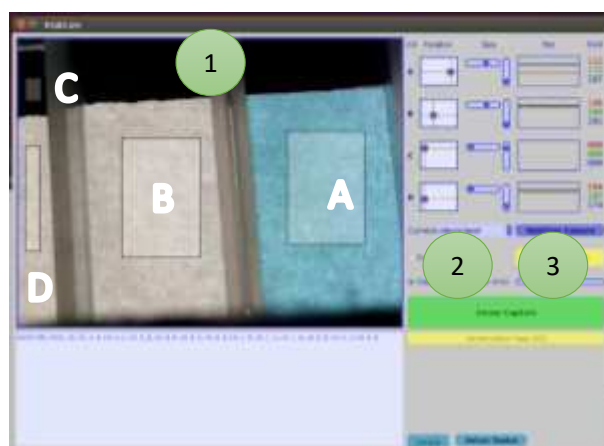


Figura 11. Projeção da imagem no sistema *ICCA* com o corante azul de metileno em que A representa a região do analito, B o branco, C na ausência da incidência de luz e D a região da luz incidente.

4.2.5. Cromatografia gasosa

As análises para identificação dos componentes da amostra foram feitas em um cromatógrafo a gás GC – MS Agilent, modelo 7820A GC, acoplado a um espectrômetro de massas, modelo 5977B MDS. A injeção foi realizada manualmente com auxílio de uma seringa *gastight* ou fibra. As condições de análise foram: injetor a 150 °C, pressão de 2.2psi, vazão de 0,6 mL min⁻¹, coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme), da Phenomenex

(USA), modelo HP – 5MS (apolar, 5% fenil, 95% metilpolisiloxano), temperatura isoterma de 40 °C, tempo de corrida 3 min, gás de arrastre N₂, detector a 250 °C, injeção de 10 µL até 400 µL, com monitoramento no modo SIM e SCAN.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-2014 com detector por ionização em chama (FID) e com injeção manual com as seguintes condições cromatográficas: temperatura do injetor 200 °C, detector a 200 °C, temperatura da coluna constante em 100°C, tempo de corrida 3 min, vazão de 1,0 mL min⁻¹, gás de arrastre N₂, coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme), da Phenomenex (USA), modelo HP – 5MS (apolar, 5% fenil, 95% metilpolisiloxano), injeção de 10 µL até 100 µL.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Método iodométrico

5.1.1. Metodologia para quantificação de fosfina.

O método de titulação iodométrica indireta foi utilizado para a determinação do número de mols de fosfina num sistema determinado. O procedimento (Figura 12), foi feito executando um planejamento fatorial 2² com ponto central como está descrito na Tabela 6 (item 4.4.2.1). Em um frasco de vidro (Etapa 11), pela mistura de 4 mL de K₂Cr₂O₇ 0,01 mol L⁻¹, 4 mL de HCl 6 mol L⁻¹ (ou '1:1') e KI 5% (v/v) e fosfina (0,0 1,0 3,0 e 5,0 mL) Etapas 8, 9, 10 e 12 respectivamente.

Todo o dicromato oxida o iodeto em excesso formando-se o iodo e íons triiodeto (complexo do iodo com iodeto) quando deixou-se reagir por 10 min. Foram adicionadas alíquotas de fosfina em diferentes volumes (Etapa 12), para logo a solução ser titulada como um solução padronizada de Na₂S₂O₃ (Etapa 14) na presença do indicador ou suspensão de amido (Etapa 13), que devido à presença do iodo (molecular, I₂) forma um complexo amido-I₆ de uma cor azul e que desaparece no ponto final da titulação (VOGEL *et al.*, 1992). As etapas com numeração 1 a 7 foram descritas anteriormente na metodologia proposta para produção de fosfina (Figura 2, pg. 20).

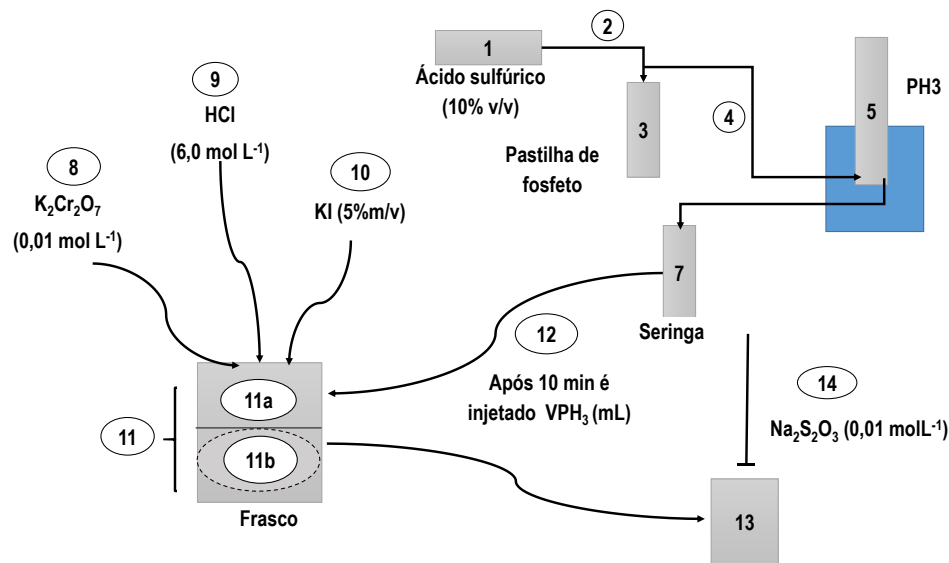
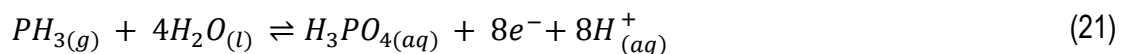


Figura 12. Diagrama esquemático por Etapas para a quantificação do número de mols de fosfina pelo método iodométrico.

Quando é realizada uma titulação iodométrica, a relação estequiométrica estabelecida no ponto de equivalência entre as espécies químicas, permite que seja feita a quantificação do número de mols de fosfina adicionados (Etapa 12) ao meio reacional (Etapa 13).

As equações químicas 15 a 21 descrevem os processos ocorridos no meio reacional (incluindo as semi-reações) no método iodométrico. É interessante lembrar que, devido à concentração elevada de iodeto no meio, o aduto triiodeto (I_3^-) predomina em solução, quando comparado ao iodo (I_2), mas seu potencial elétrico padrão é bastante próximo daquele para o iodo, além de ser mais solúvel.



O iodo (e por consequência, o triiodeto) é produzido estequiometricamente a partir da oxidação do iodeto pelo dicromato de potássio, que é um padrão primário. A quantidade de iodo que não foi reduzido pela fosfina foi quantificado na titulação com tiosulfato.

Assim, uma vez que o número de elétrons fornecidos pelos processos de oxidação é igual ao número de mols de elétrons recebidos nos processos de redução, as relações estequiométricas entre o dicromato, triiodeto, fosfina e tiosulfato foram obtidas (Equação 26).

$$\frac{n(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-})}{ne^-} = \frac{1}{6} \Rightarrow ne^- = 6n(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) \quad (22)$$

$$\frac{n(\text{I}_3^-)}{ne^-} = \frac{1}{2} \Rightarrow ne^- = 2n(\text{I}_3^-) \quad (23)$$

$$\frac{n(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})}{ne^-} = \frac{2}{2} = 1 \Rightarrow ne^- = n(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) \quad (24)$$

$$\frac{n(\text{PH}_3)}{ne^-} = \frac{1}{8} \rightarrow ne^- = 8n(\text{PH}_3) \quad (25)$$

$$ne^- = 6n(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}) = n(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) = 2n(\text{I}_3^-) = 8n(\text{PH}_3) \quad (26)$$

A partir da Equação 26 obtém-se a relação de iodo consumido pela oxidação da fosfina.

$$n(\text{I}_3^-) = \frac{8n(\text{PH}_3)}{2} = 4n(\text{PH}_3) \quad (27)$$

Assim, o número de mols de iodo consumido pela oxidação da fosfina ($n_{12}(\text{I}_3^-)$) é a diferença de número de mols de iodo produzido (Etapa 11b) e o número de mols de iodo não-consumido pela fosfina (na Etapa 13).

$$n_{13}(\text{I}_3^-)_{\text{PH}_3} = n_{11b}(\text{I}_3^-) - n_{13}(\text{I}_3^-) \quad (28)$$

E o número de mols de iodo não-consumido, por sua vez, foi determinado pela titulação com tiosulfato, pois no ponto de equivalência a razão estequiometria é válida:

$$n_{13}(\text{I}_2) = \frac{n_{14}(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})}{2} = \frac{C_{14}(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) \cdot V_{14}}{2} \quad (29)$$

Para obter uma o resultado de número de mols da fosfina considerando os volumes de tiosulfato utilizados para titular o iodo formado na ausência e presença de fosfina, o termo $n_{13}(I_2)_{PH_3}$ deduzido pela Equação 26 será substituído na Equação 29, e a concentração real é função do fator de titulação (f_{tio}) e a concentração nominal ($c_{14}(S_2O_3^{2-})$).

$$n_{12}(PH_3) = \frac{3}{4}c_6(Cr_2O_7^{2-}) \cdot V_6 - \frac{1}{8}c_{14}(S_2O_3^{2-}) \cdot f_{tio} \cdot V_{14} \quad (30)$$

Rearranjando as equações,

$$n_{12}(PH_3) = \frac{1}{8}C_{14}(S_2O_3^{2-}) * f_{tio} * (V_{14}^{I_2} - V_{14}^{PH_3}) \quad (30.1)$$

Ou, se utilizando do fato do dicromato ser um padrão primário,

$$n_{12}(PH_3) = (3c_6(Cr_2O_7^{2-}) \cdot V_6) \cdot \left(\frac{1}{4} - \frac{4V_{14}}{V_{14}^{I_2}} \right) \quad (30.2)$$

Onde $V_{14}^{I_2}$ se refere à titulação do iodo na ausência de fosfina, que é uma padronização da solução de tiosulfato. E a partir da relação apresentada na Equação 30.1 se pode obter o valor da concentração da fosfina para cada um dos ensaios (Equação 31).

$$C_{12}(PH_3) = \frac{n_{12}(PH_3)}{V_{12}(PH_3)} \quad (31)$$

Levando-se em consideração a relação estequiométrica descrita foi verificada se a capacidade volumétrica do frasco representado pela Etapa 11 influencia na resposta da quantificação do gás fosfina.

5.1.2. Estudo dos fatores que influem na reação de iodo com fosfina

Um dos fatores que podem influenciar a padronização da solução gasosa de fosfina e o tamanho do frasco de vidro utilizado na Etapa 11. Para isso foram realizados ensaios em triplicata utilizando frascos de vidro (Figura 9, pg 20) com capacidade volumétrica de 20, 30 e 50 mL.

O experimento consistiu em quantificar alíquotas de fosfina na faixa de 2,0 mL a 8,0 mL provenientes da Etapa 5, as quais eram adicionadas à solução de ácido clorídrico, dicromato de potássio e iodeto de potássio (Etapa 11).

A Figura 13 mostra o gráfico obtido de concentração de fosfina em função do volume de fosfina pelo método iodométrico. Observe-se que nos frascos com capacidade de 30 mL e 50 mL não se apresentaram diferenças relevante de concentração. Entretanto, não foi observado um comportamento linear entre o volume de fosfina e a concentração de fosfina. Este comportamento se deve à diluição que ocorre dentro do frasco a cada retirada de volume de gás pois, o número de mols de fosfina restante diminui enquanto que o volume total se mantém constante.

No frasco de vidro de 20 mL, não houve variação da concentração de fosfina com volume. Uma explicação para este fato é que a medida que o volume do gás aumenta, a pressão exercida pelo gás dentro do frasco é superior àquela máxima suportada pela tampa, e assim, ela é deslocada, liberando o gás para a atmosfera da capela, sendo por tanto perdido. A partir dos resultados do estudo, foi selecionado o frasco de 30 mL para os experimentos seguintes, para não ocorrer uma perda de gás, garantir maior interação iodo – fosfina e diminuir a diluição do gás.

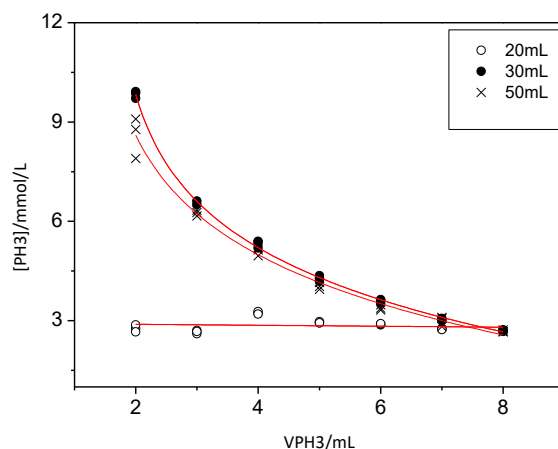


Figura 13. Concentração de fosfina determinada por Iodometria em função do volume de fosfina injetados em cada frasco de vidro utilizado. (□) frasco de 20 mL, (●) 30 mL e (x) 50 mL.

Uma vez estabelecida a relação estequimétrica envolvida no método idométrico para quantificação de fosfina e determinado o frasco de vidro utilizado para a reação (Etapa 11). Mostra-se que nos resultados obtidos do planejamento fatorial o modelo de regressão linear múltipla com seleção manual de termos significativos (procedimento similar ao *stepwise*) obtido para os dados experimentais é apresentado na Equação 32, e a superfície de resposta é comparada com os pontos experimentais na **Figura 12**.

$$\hat{c}(PH_3) = -1,04 \text{ code}(V) \cdot \text{code}(t) - 1,01 \text{ code}(V) - 1,34 \text{ code}(t) + 9,28 \quad (32)$$

Quando em um planejamento fatorial uma variável depende da outra, quer dizer que as duas variáveis estão interagindo o que possibilita calcular o valor do efeito de interação entre elas. Segundo Montgomery (1991), o efeito de interação é interpretado como a mudança na resposta produzida no nível da outra variável. Neste caso foi estudado o volume de KI 5% (m/V) e o tempo de reação na presença de obtendo-se a Equação (32) para a construção da superfície resposta (Figura 14), observando-se que entre maior for o volume do iodeto, mais tempo para reagir vai ser preciso, portanto o volume utilizado de KI 5% (m/V) foi fixado em 2,0 mL.

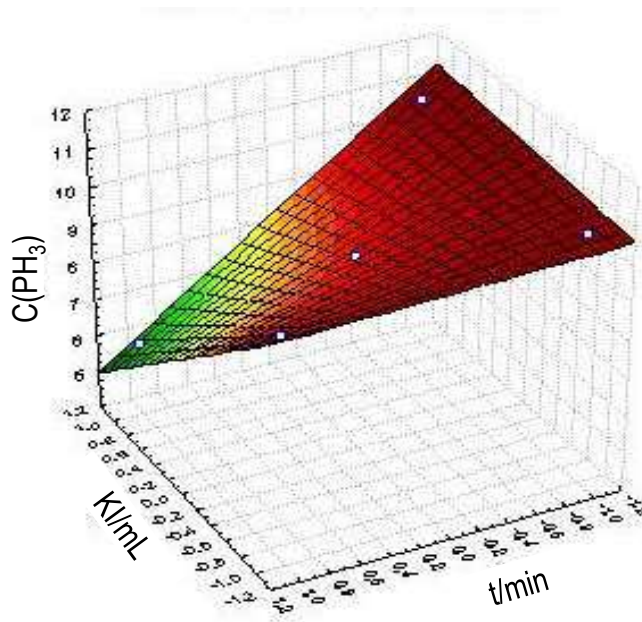


Figura 14. Superfície resposta do planejamento experimental 2^2 com um ponto central para as variáveis V_{KI} (mL) e tempo.

Deste planejamento pode-se concluir que as condições de reação para a padronização da solução gasosa de fosfina foram: adicionar 4 mL de HCl 6 mol L⁻¹ (ou '1:1'), 4 mL de K₂Cr₂O₇ 0,01 mol L⁻¹ e 2 mL de KI 5% (m/V) na Etapa 11 para um volume total de solução de 10 mL, logo da formação dos íons triiodeto a fosfina foi injetada no sistema e depois a solução ser titulada com tiosulfato.

Para identificar em que ponto a reação atinge o equilíbrio foi feito um estudo cinético.

5.1.3. Estudo cinético da interação iodo – fosfina

O comportamento cinético da reação de oxidação-redução entre o triiodeto e a fosfina foi estudado para identificar em que ponto a reação atinge o equilíbrio, ou seja, o tempo experimental em que as espécies se estabilizam e deixam de reagir com o meio. O estudo cinético foi avaliado por triplicata nas condições de reação determinadas a partir do planejamento fatorial com diferentes alíquotas do gás fosfina (0.5, 1.0, 1.5, 2.0) mL (Figura 15).

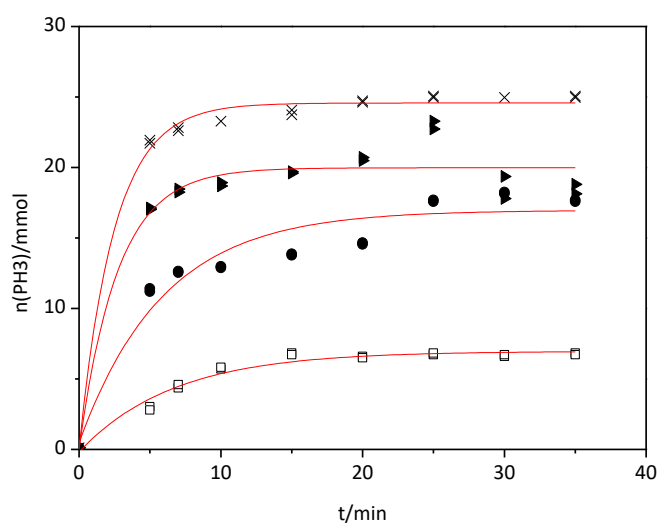


Figura 15. Estudo cinético do número de mols de fosfina consumido em função do tempo para diferentes alíquotas de fosfina: 0.5 mL (□); 1.0 mL (●); 1.5 mL (▶) e 2.0 mL (×). Condições experimentais: 4 mL de HCl 6 mol L⁻¹, 4 mL de K₂Cr₂O₇ 0,01 mol L⁻¹ e 2 mL de KI 5% m/v com PH₃.

Pode-se observar que quando as alíquotas de fosfina (0,5 1,0 1,5 e 2,0 mL) foram injetada no sistema o equilíbrio é atingido aos 10 minutos quer dizer que apresentam uma cinética muito rápida de pseudo primeira ordem. Embora, quando é estudada a cinética para volumes de 1,0 mL e 1,5 mL há pequenas variações o que faz com que sua precisão não seja muito boa. Uma alternativa para diminuir este tipo de variações foi homogeneizar o gás pois deve-se considerando que o analito de interesse se encontra em estado gasoso.

5.1.4. Avaliação da precisão do método iodométrico para determinação de fosfina

A precisão do método iodométrico para determinação de fosfina foi realizado com uma pequena alteração no processo, conforme o diagrama esquemático descrito na Figura 16 em que foi acrescentada uma Etapa de diluição (Etapa 9). Para cada um dos testes o tempo de reação foi fixado em 35 minutos para logo a solução ser titulada com uma solução padronizada de tiosulfato. A Etapa que representa a interação iodo – fosfina em este diagrama é a Etapa 13.

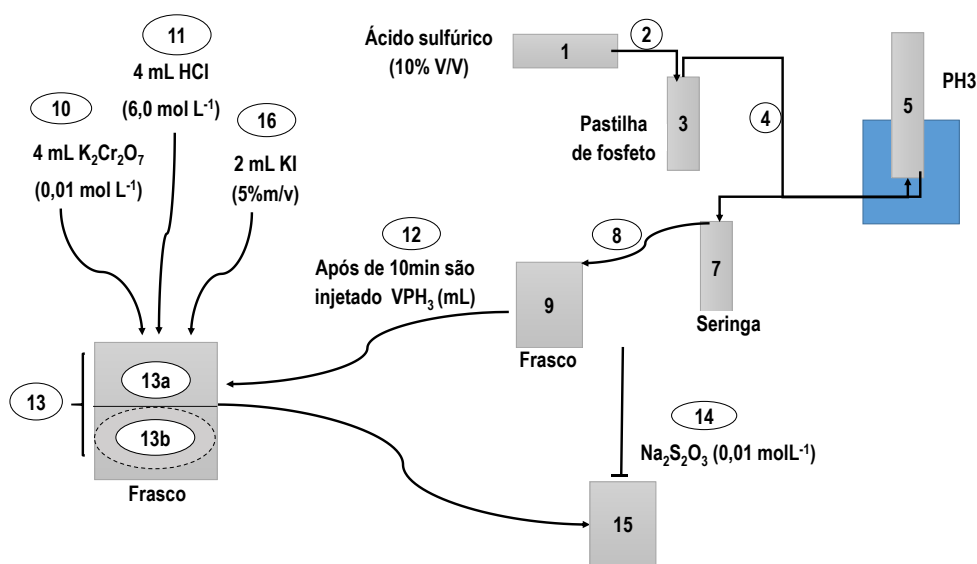


Figura 16. Diagrama esquemático com Etapa de homogeneização do gás fosfina para sua quantificação do número de mols pelo método iodométrico.

A Figura 17 mostra os resultados obtidos para avaliação da precisão. O teste consistiu em adicionar alíquotas de 1,0 mL de fosfina à Etapa 13 para determinar o grau de concordância entre

cada titulação. Foram realizadas sete repetições para cada uma das condições selecionadas descrito da seguinte maneira.

No ensaio 1 foram extraídas alíquotas da Etapa 5 utilizando uma seringa (Etapa 7). No ensaio 2 foi extraído um volume total de 10 mL da Etapa 5 e mantido na Etapa 7 e antes de injetar 1,0 mL da fosfina no sistema a Etapa 7 era agitada manualmente. No ensaio 3 foi extraída uma alíquota de 20 mL e injetada na Etapa 9 que é um frasco de vidro fechado com capacidade volumétrica de 30 mL e mantida sob agitação com auxílio de uma barra magnética.

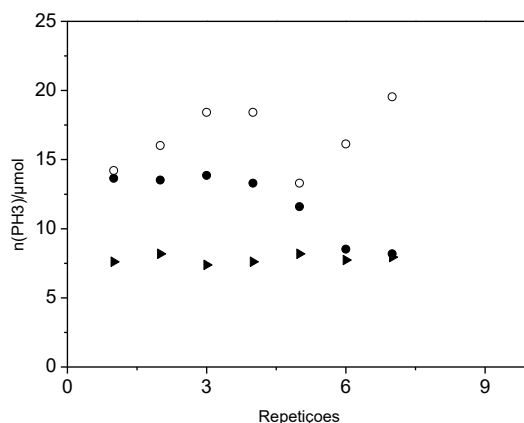


Figura 17. Avaliação da precisão do método iodométrico. (□) ensaio 1, (●) ensaio 2 (▶) ensaio 3.

No ensaio 1, houve uma variação pronunciada nas leituras, que pode ser explicado porque a Etapa 5 é o coletor do gás produzido o que pode sugerir um aumento de número de mols do meio com o decorrer da reação quando a pastilha está em contato com o ácido. O coeficiente de variação (CV) obtido para esta condição foi igual a 19,0%.

No ensaio 2 houve uma leitura constante até a quarta repetição, logo disso se observa uma diminuição gradual do número de mols de fosfina presente na seringa utilizada na Etapa 7 o que pode ser ocasionado pela perda do gás. O valor reportado de CV para este ensaio foi de 13,0%.

No ensaio 3 observa-se que manter o gás sob agitação melhora significativamente a precisão entre o mesmo conjunto de dados reportando um CV igual a 3,62%.

De acordo com os resultados obtidos nesta fase experimental o desenvolvimento deste método continuou-se mantendo o gás fosfina homogeneizado como foi mostrado na Etapa 9.

5.1.5. Figuras de mérito para a padronização de fosfina pelo método iodométrico

As figuras de mérito obtidas pelo método iodométrico (Figura 18), da quantificação da fosfina produzida experimentalmente, foram obtidas adicionando volumes de fosfina na faixa de 0,1 a 1,5 mL na Etapa 13 do gás extraídas da Etapa 9 e tituladas com uma solução de tiosulfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O tempo de reação foi fixado em 35 minutos e as condições de reação foram 4 mL de HCl $6,0 \text{ mol L}^{-1}$, 4 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e 2 mL de KI 5% m/v.

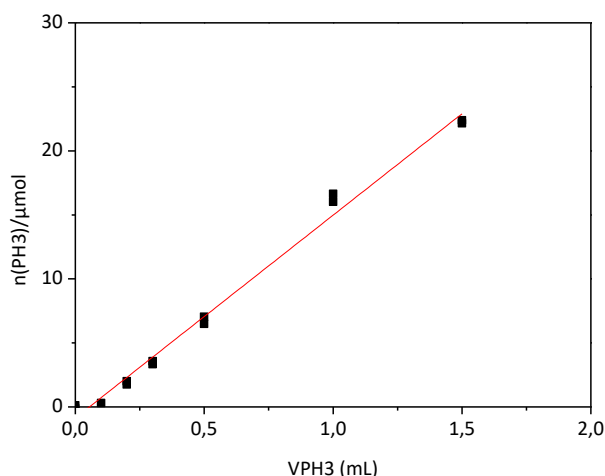


Figura 18. Figuras de mérito para a para solução de 4 mL de HCl $6,0 \text{ mol L}^{-1}$, 4 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, 2 mL de KI 5% m/v e PH_3 . Tempo de reação 35 minutos.

O método apresenta uma boa linearidade de acordo com o valor de coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,99. O valor mínimo a ser detectado (LoD) pelo método nestas condições é de 0,0625 mL e o limite de quantificação (LoQ) é de 0,208 mL, fazendo com que a faixa de trabalho esteja no intervalo de 0,208 mL até 1,5 mL. A inclinação igual $16,191 \mu\text{mol mL}^{-1}$ está relacionada o fator de conversão entre o volume e o número de mols na Etapa 14.

De acordo com os resultados obtidos pode concluir-se que o método iodométrico pode ser utilizado para a padronização do gás fosfina produzido. No entanto é importante também considerar as diluições no frasco do gás com as retiradas de alíquotas. Esse comportamento foi modelado a partir da modificação do diagrama esquemático (Figura 19) comparando os resultados experimentais com

o cálculo de correção da concentração na Etapa 9 como se mostra na Equação 34. O experimento foi realizado extraindo volumes constante de 1,0 mL na Etapa com um total de 11 repetições.

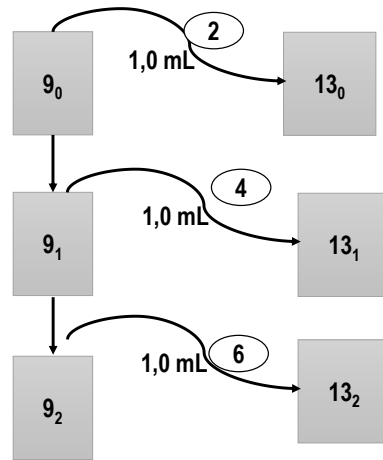


Figura 19. Detalhe do Diagrama Esquemático considerando a diluição de fosfina na Etapa 9 em função dos volumes de gás retirados.

Na i -ésima coleta de gás do frasco da Etapa 9 para o Frasco da Etapa 13 (considerando alíquotas constantes), é então

$$n_{9,i}(PH_3) = n_8(PH_3) \left(1 - \frac{V_2}{V_9}\right)^i \quad (33)$$

$$c_{9,i}(PH_3) = \frac{n_{9,i}(PH_3)}{V_9} = \left(\frac{n_8(PH_3)}{V_9}\right) \left(1 - \frac{V_2}{V_9}\right)^i = c_{9,0}(PH_3) \left(1 - \frac{V_2}{V_9}\right)^i \quad (34)$$

Essa hipótese foi testada medindo-se o número de mols retirado da Etapa 9 (Figura 20). Observa-se que os dados experimentais seguem um padrão próximo àquele esperado pela Equação 34 que explica a diluição obtida, considerando-se a precisão dos resultados. Essa variação nos resultados pode estar associada à dinâmica da fosfina, de maneira que o ambiente dentro dos frascos pode não-ser homogêneo, inclusive estar havendo uma dispersão rápida do analito, levando em consideração a facilidade que tem a fosfina para isso.

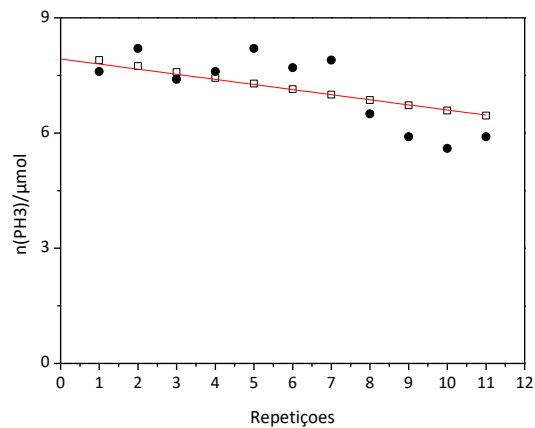


Figura 20. Avaliação da precisão de fosfina na Etapa 9 ao longo do experimento. Em que a linha continua é o valor de número de mols calculado e os pontos de cor preta representa a receptibilidade nesta fase. (●) dados experimentais (□) dados calculados.

5.1.6. Monitoramento da produção de fosfina obtida a partir das pastilhas de AIP

A partir da relação estequiométrica apresentada no item 5.1.1, foi padronizada a amostra de fosfina no recipiente de extração de alíquotas (Figura 17, Etapa 9, pg 47). O procedimento empregado foi o mesmo do estudo cinético (Item 5.1.3), adicionando para cada titulação alíquotas de 1,0mL do analito. O monitoramento foi feito em triplicata durante quatro dias usando o mesmo produto comercial (Figura 21).

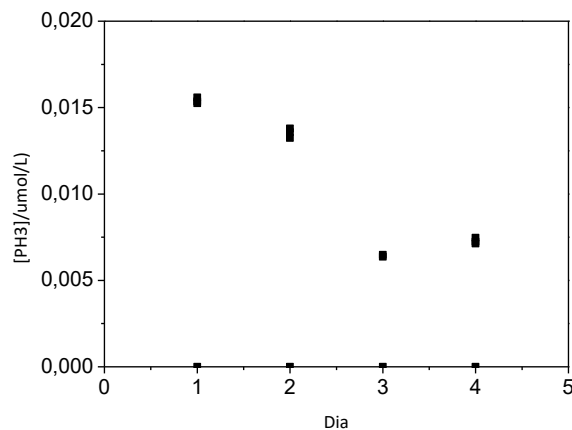


Figura 21. Monitoramento da produção experimental de gás fosfina a partir de pastilhas de fosfeto de alumínio por quatro dias.

A dispersão das medidas feitas em cada dia (e portanto, cada pastilha), entre 0,9 e 1,9% são significativamente menores que a variação total para as diferentes pastilhas (CV igual a 79%). Este resultado reforça a necessidade de um método de padronização de soluções gasosas de fosfina produzidas em escala de laboratório.

5.2. Método espectrofotométrico

Foi utilizado o mesmo procedimento feito para a homogeneização do gás no método iodométrico. No desenvolvimento de método foram utilizadas espécies oxidadas azul metileno ou verde malaquita que nessa forma, esses reagentes apresentam uma cor azul e uma cor verde respectivamente e na forma reduzida, são incolores (forma 'leuco'). As estruturas dos corantes verde malaquita e azul de metileno estão apresentadas na Figura 22.

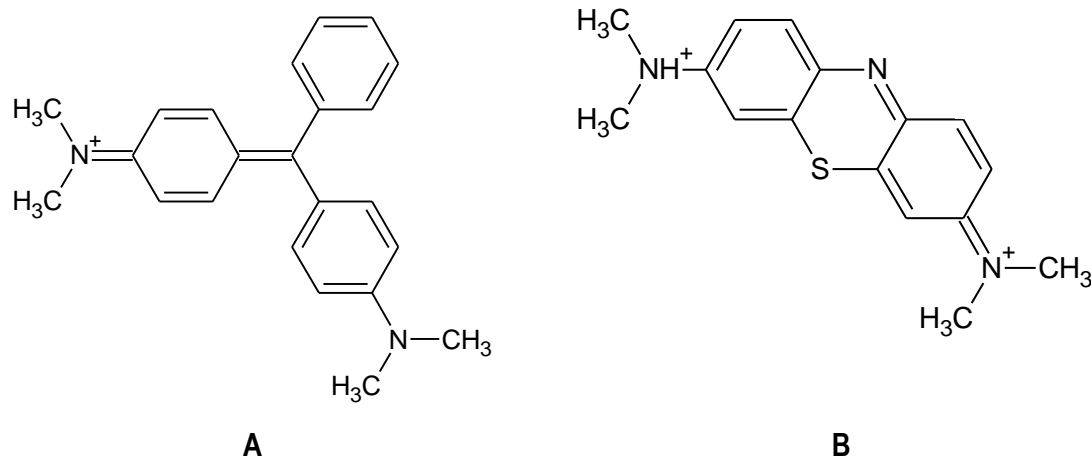


Figura 22. Estrutura química dos corantes com comportamento redox. A verde malaquita, B azul de metileno.

5.2.1. Quantificação de fosfina

A Figura 23 mostra o diagrama de Etapas utilizado para o desenvolvimento do método espectrofotométrico. A diferença no diagrama esquemático foi na Etapa 13 que a solução corante a ser reduzida pela fosfina e a Etapa 14 que representa a cubeta de vidro utilizada para as leituras de absorvância no espectrofotômetro com caminho ótico de 10,0 mm, uma vez que a volumes de 0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL de fosfina entram em contato com a solução em meio tamponado. Os

espectros de absorção molecular obtidos apresentaram máximos de absorção no comprimento de onda de 663 nm para azul de metileno e 618 nm para verde malaquita.

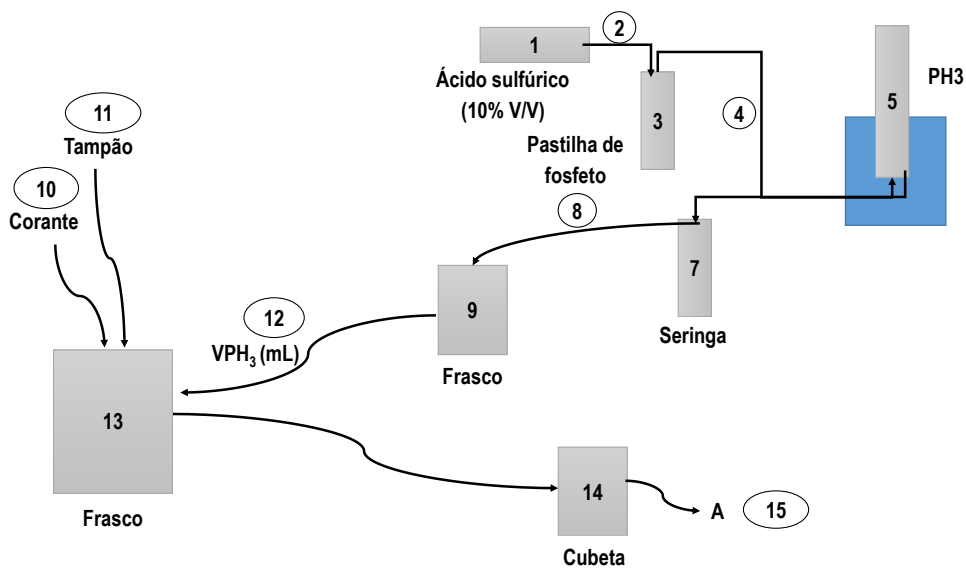


Figura 23. Diagrama esquemático para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico.

Na Etapa 13 tem-se uma solução de 7,0 mL constituída por 0,75 mL com concentração analítica de $8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$, com uma concentração de, 0,25 mL de solução tampão (20 mmol L^{-1}), com variações de pH ~2; 4,5; 7,0; 9,0; ~ 12 que correspondem a soluções de ácido clorídrico, acetato, fosfato, bórax e hidróxido de sódio e 6 mL de água.

Na Figura 24 estão apresentados os espectros obtidos da solução de verde malaquita na concentração de $8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ em contato com as diferentes alíquotas de fosfina variando os valores de pH no meio, como foi explicado anteriormente. Para as soluções com valores de pH iguais a 4,5 e 7,0, não foram observadas dependência entre a absorbância e a quantidade de fosfina adicionada ao meio, ou seja, não foram observadas reduções do verde malaquita. Quando a solução está com pH 9,0, observa-se que o valor da absorbância diminuiu com o aumento da quantidade de fosfina, mas também a oscilação do sinal é bastante pronunciada (Figura 25), ou seja, o sistema apresentou uma heterocedasticidade acentuada. Não foram estudadas faixas mais extremas de pH pois, para valores de pH abaixo de 2, obtido pela adição de ácido clorídrico sobre a solução de verde malaquita (sem contato com fosfina), a solução tornou-se amarela devido à formação da espécie totalmente protonada. Soluções de verde malaquita em valores de pH ao redor de 12, a cor desapareceu

totalmente, devido à hidrólise, formando o seu carbinol, que é incolor (CULP; BELAND, 1996; NERO *et al.*, 2003; FISCHER; WERNER; GOSS, 2011; GUENFOUND; MOKHTARI; AKROUT, 2014).

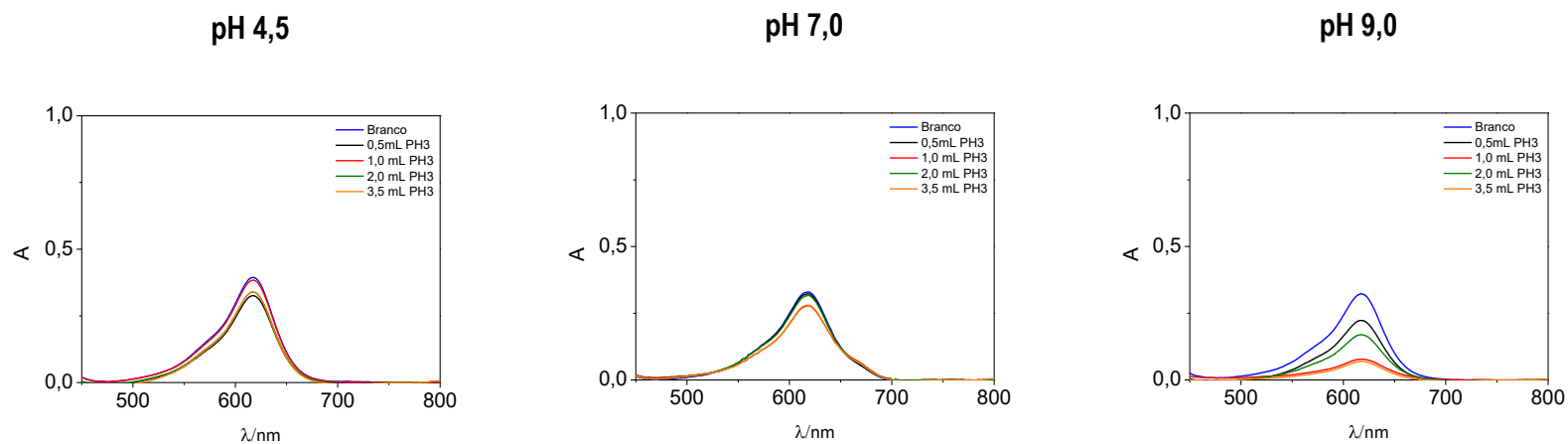


Figura 24. Espectros das soluções de verde malaquita na presença de alíquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) com variações de pH (4,5 - 7,0 - 9,0). **Branco:** Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.

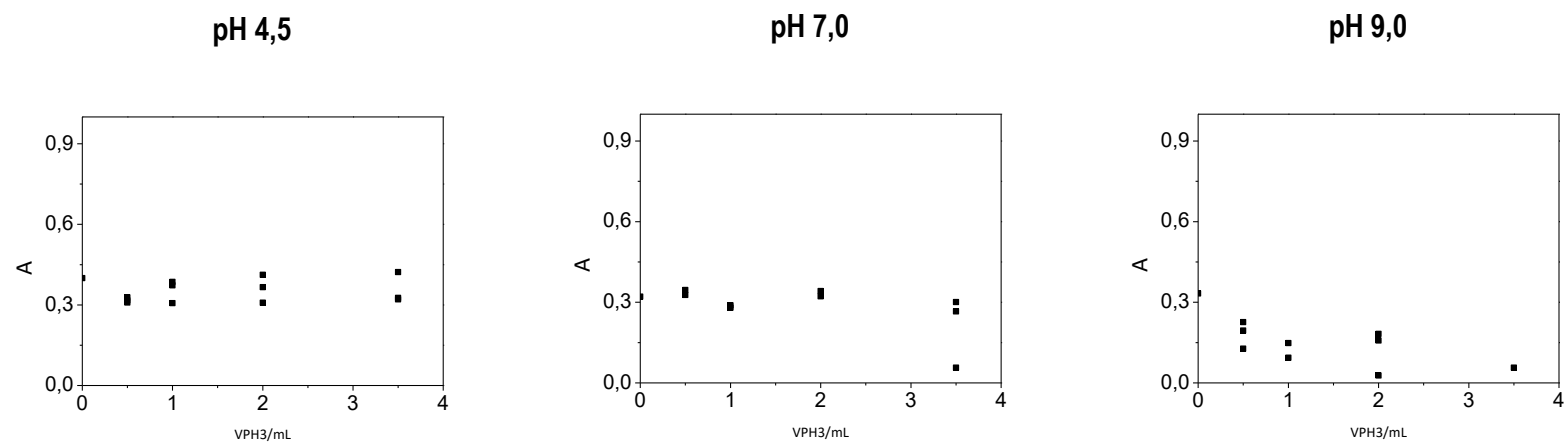


Figura 25. Absorbâncias máximas do sistema verde malaquita - fosfina na presença de alíquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) com variações de pH (4,5 - 7,0 - 9,0). **Branco:** Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.

A Figura 26 mostra os espectros obtidos para a espécie azul de metileno com concentração analítica de $8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ quando interage com diferentes aliquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) nos diferentes valores de pH ácido clorídrico (pH ~ 2), acetato (pH 4,5), fosfato (pH 7,0) boráx (pH 9,0) e hidróxido de sódio (pH ~ 12). Houveram variações acentuadas observando-se uma grande dispersão dos dados considerando-se as concentrações de fosfina, sugerindo modificações no sistema de maneira a alterar o comportamento cinético da redução do azul de metileno pela fosfina (Figura 27).

Entretanto, as soluções em pH ~2,0 apresentaram um aumento proporcional ao longo do espectro com o aumento da concentração de fosfina, que foi contrário ao comportamento esperado de diminuição da absorvância devido à redução do azul de metileno, contrário ao que acontecia em pH 9,0 e 12,0 onde foram observadas diminuições de absorvância, o que se espera para o desenvolvimento de método espectrofotométrico que é a redução do azul de metileno formando sua forma leucometileno (forma reduzida). A descoloração reversível do azul de metileno por redutores foi estudada por (BASU *et al.*, 2012) que obteve algumas linhas do diagrama de Pourbaix em em que se observa um equilíbrio estável nas fases de um sistema eletroquímico aquoso desse corante experimentalmente, mostrando que, em meios fortemente alcalinos o potencial padrão de redução é menor que em meios acidificados, facilitando a sua redução mesmo por redutores fracos, como a glicose, como usado no experimento de ensino “garrafa azul” (WELLMAN; NOBLE, 2003). As oscilações nas medidas segundo Ksenzhek e colaboradores (1977), podem ser explicado porque quando o azul de metileno está em soluções alcalinas as reprodutibilidades dos dados experimentais mostra uma diminuição moderada, embora no presente trabalho quando for trabalhado pH ácidos a reprodutibilidade é significativamente menor comparado com pH alcalinos.

Embora no pH ~ 12, além da diminuição da absorvância, houve uma alteração na razão entre as absorvâncias dos máximos para algumas concentrações de fosfina, sugerindo a formação de outra espécie química a partir do azul de metileno, pelo que foi estudado o sistema em meio alcalino em que a fosfina será a espécie que vai reduzir o azul de metileno.

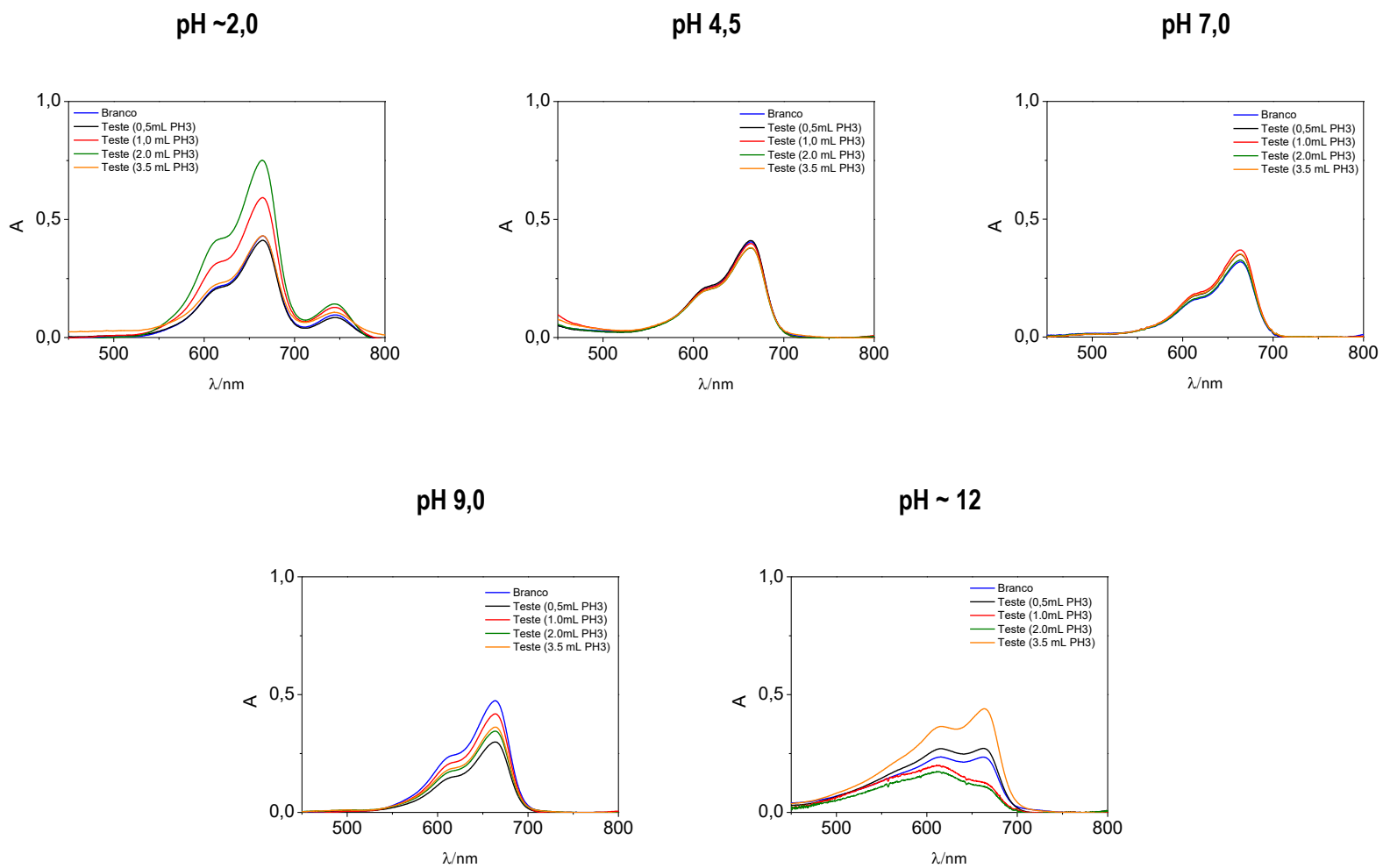


Figura 26. Espectros das soluções de azul de metileno na presença de alíquotas de fosfina com variações de pH. **Branco:** Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.

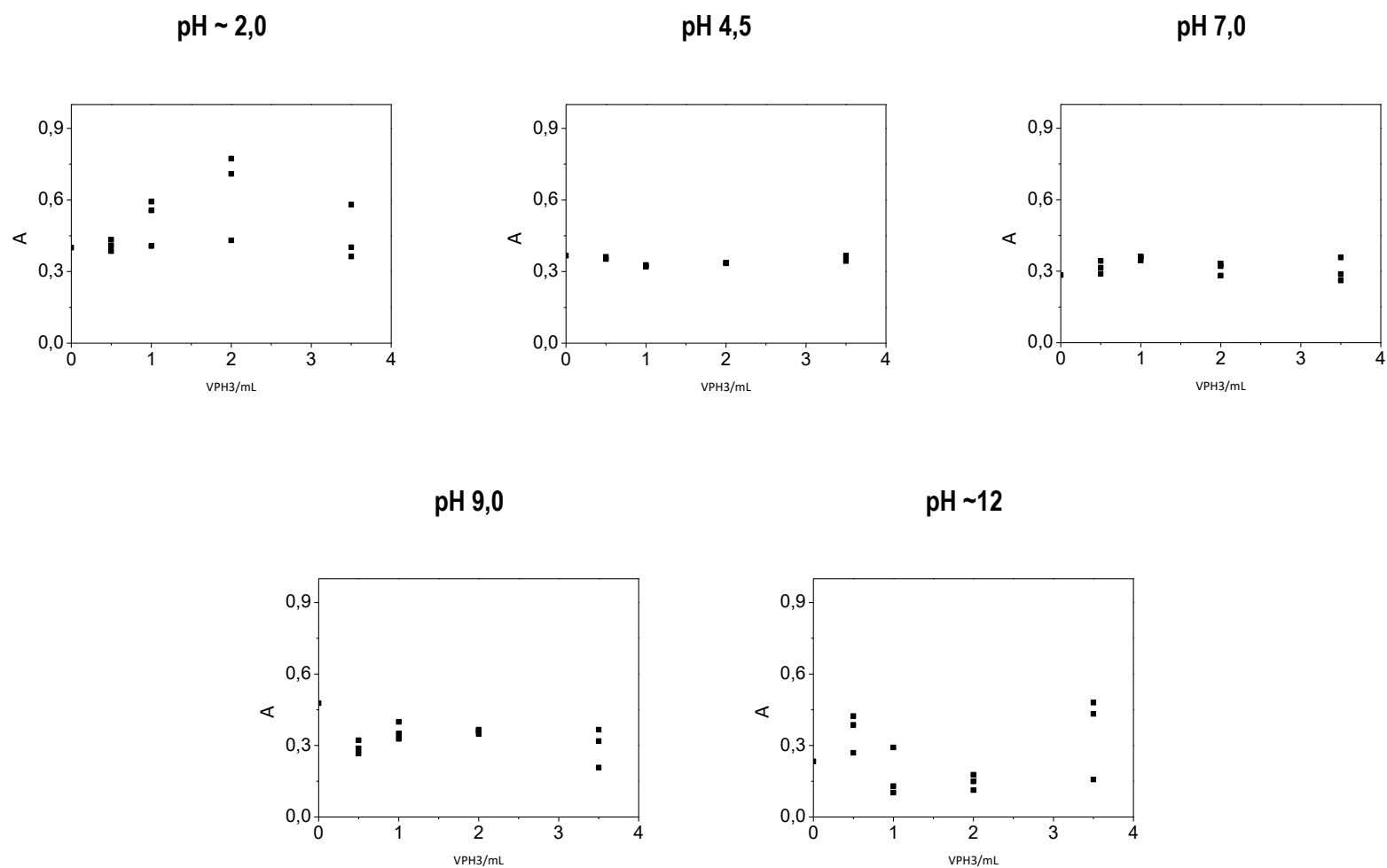


Figura 27. Absorbâncias máximas do sistema azul de metileno - fosfina na presença de alíquotas de fosfina (0,0 – 0,5 – 1,0 – 2,0 – 3,5 mL) com variações de pH (~2,0 - 4,5 - 7,0 - 9,0 – ~ 12). **Branco:** Solução tamponada de corante sem contato com fosfina. Volume total da solução 7 mL.

O corante verde malaquita por não apresentar uma redução pronunciada na presença de fosfina foi descartado e continuou-se o estudo como o azul de metileno em meio alcalino.

5.2.2. Avaliação do azul de metileno em meio alcalino

Em avaliações qualitativas (Figura 26, pg. 40 e 27 pg. 41), foi observado que em meios muito alcalinos e na presença de NaOH, a solução de azul de metileno descoloria mesmo na ausência da fosfina. Assim, foi realizado um estudo para avaliar a cinética de descoloração da solução de azul de metileno $8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 28) na presença de hidróxido de sódio e bórax.

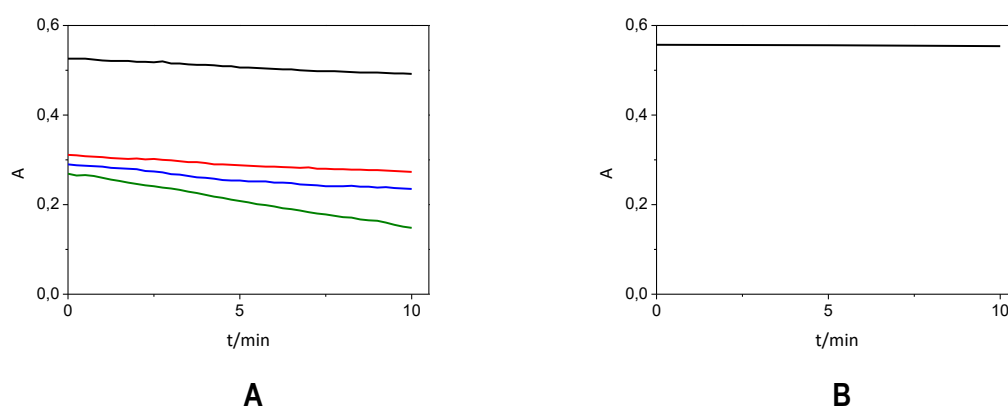


Figura 28. A Cinética de reação quando 1,0mL do corante azul de metileno ($8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) interage com 0,1 mL de hidróxido de sódio $0,34 \text{ mmol L}^{-1}$ (inclinação preta); $1,7 \text{ mmol L}^{-1}$ (inclinação vermelha); 34 mmol L^{-1} (inclinação azul) e 170 mmol L^{-1} (inclinação verde) e 1,9 mL de água. Volume total de reação 3,0mL. **B** Cinética de reação quando 1,0mL do corante azul de metileno ($8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) interage com 0,1 mL de bórax $0,34 \text{ mmol L}^{-1}$ em pH 9,0 e 1,9 mL de água. Volume total de reação 3,0mL.

As concentrações utilizadas de hidróxido de sódio (Figura 28A) foram $0,34 \text{ mmol L}^{-1}$; $1,7 \text{ mmol L}^{-1}$; 34 mmol L^{-1} e 170 mmol L^{-1} . Observa-se que a velocidade de reação (inclinação das curvas) é constante, indicando uma ordem zero para o azul de metileno, mas que essa velocidade é proporcional à concentração de hidroxila no meio. Diferente ao que acontece quando o corante está em contato com bórax em pH 9,0 (Figura 28b), pode-se observar que não há uma interação significativa ao longo dos 10 minutos pelo que a redução do azul de metileno neste tempo de reação não é reduzido pela solução tampão e sim pela fosfina. A cinética no bórax só foi avaliada na concentração de $0,34 \text{ mmol L}^{-1}$, pois a leitura de absorbância ao longo do tempo não apresentou uma

variação significativa. Por tanto a solução tampão escolhida para dar continuidade ao desenvolvimento de método é o bórax em pH 9,0.

5.2.3. Curva analítica para o corante azul de metileno

Foi obtida uma curva analítica do azul de metileno na faixa de concentração de 7,5 até 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em pH 9,0 pela leitura de absorbâncias no comprimento de onda de 663 nm com uma cubeta de vidro com um caminho ótico de 1 cm (Figura 29). Isto para ter uma curva de referência conhecida para determinar a quantidade de substância presente numa amostra determinada.

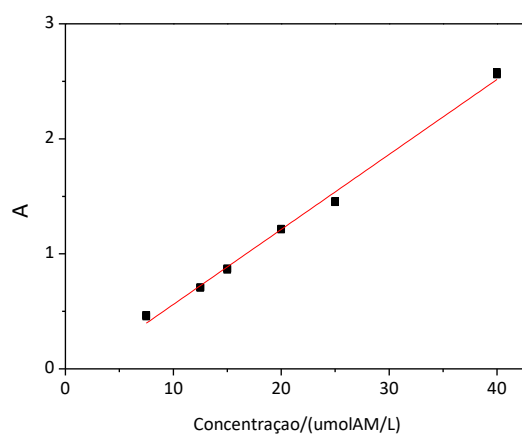


Figura 29. Curva analítica para a solução de azul de metileno na faixa de concentração de 7,5 a 40,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9.0 no comprimento de onda igual a 663 nm.

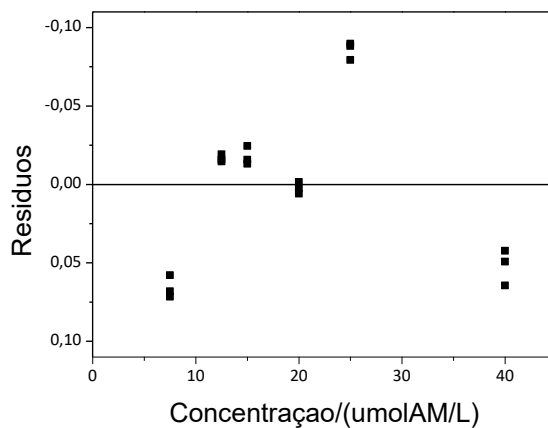


Figura 30. Gráfico dos resíduos para a curva analítica do método com azul de metileno pelo método espectrofotométrico.

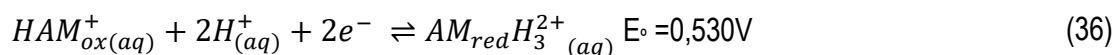
$$A = (0,0652 \pm 0,00120) c_{(AM)} + (0,0923 \pm 0,027) \quad (35)$$

$$R^2 = 0,995; sd = 0,0533$$

A curva apresenta um comportamento linear em que há uma relação diretamente proporcional de absorbância com a concentração de azul de metileno o que segue a lei de Beer. Observa-se pela Equação 35 que a inclinação é igual a $0,0652 \mu\text{mol L}^{-1}$, o que determina uma absorvidade molar igual a $6,67 \cdot 10^{-3} \text{ L (mol cm)}^{-1}$, uma vez que o azul de metileno é a própria espécie absorvente da radiação. O coeficiente de variação é de 0,99. Os limites de detecção e quantificação obtidos a partir do modelo da curva analítica foram $1,24 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $4,14 \mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente.

5.2.4. Sistema para quantificação de fosfina

Para a quantificação de fosfina primeiro são levadas em consideração a semi-reação de redução do azul de metileno e as equações de equilíbrio ácido-base de Bronsted da espécie reduzida (Equações 36 até 39).



Assim, a estequiometria do azul de metileno sendo reduzido pela fosfina é dada pela Equação 40.

$$ne^- = 2n(AM) = 8n(PH_3) \quad (40)$$

E assim,

$$n_{13}(PH_3)_{consumido} = \frac{n_{13}(AM)_{consumido}}{4} \quad (41)$$

Levando em consideração a relação estequiométrica descrita anteriormente foi realizado um teste de acordo como o processo apresentado na Figura 23 (pg. 36). Foram injetadas alíquotas de fosfina na faixa de concentração de $4,75 \text{ mmol L}^{-1}$ a $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em uma solução como volume total de $3,0 \text{ mL}$ em pH 9,0 de azul de metileno $40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para garantir o excesso do corante no sistema (Figura 31).

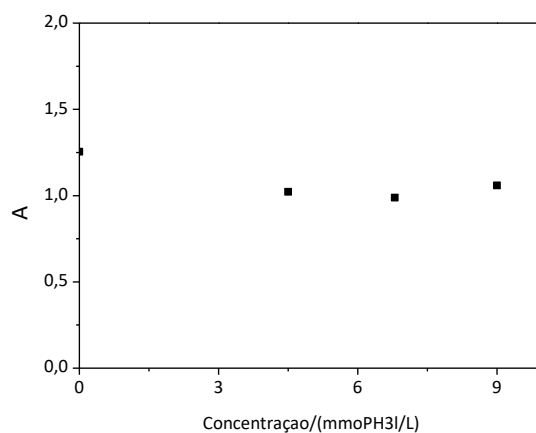


Figura 31. Experimento para quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico com azul de metileno $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0. Para reações em frascos de vidro fechados de 10 mL .

Observando-se que não houve uma interação representativa quando é utilizado são utilizados frascos de vidro fechados na Etapa 13, pois a absorvância manteve-se constante, evidenciando que a redução do corante não seja eficiente.

Devido à dificuldade em trabalhar com o gás fosfina e a possibilidade de perda do mesmo, a partir de frascos de vidro com tampa de borracha, foi proposto um sistema controlado de seringas apresentado na Figura 32 para verificar a influência sobre a sensibilidade da curva analítica (e assim, da eficiência da reação). Em que a Etapa 1 é uma seringa que contém a solução corante de azul de metileno $40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0; a Etapa 2 é a seringa onde se encontra o gás (previamente aspirado) com ajuda de uma seringa representada pela Etapa 4. O sistema é controlado por meio de uma válvula representada pela Etapa 3.



Figura 32. Sistema de reação de fosfina com azul de metileno para sua quantificação pelo método espectrofotométrico. 1 é a seringa com solução; 2 a seringa com gás; 3 é a válvula controle e 4 é a agulha para a extração.

Então o diagrama representativo por Etapas utilizado para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico se mostra na Figura 33. Depois da redução do azul de metileno pela fosfina a solução foi transferida quantitativamente para uma cubeta de vidro para realizar as respectivas leituras de absorbância no comprimento de onda de 663 nm.

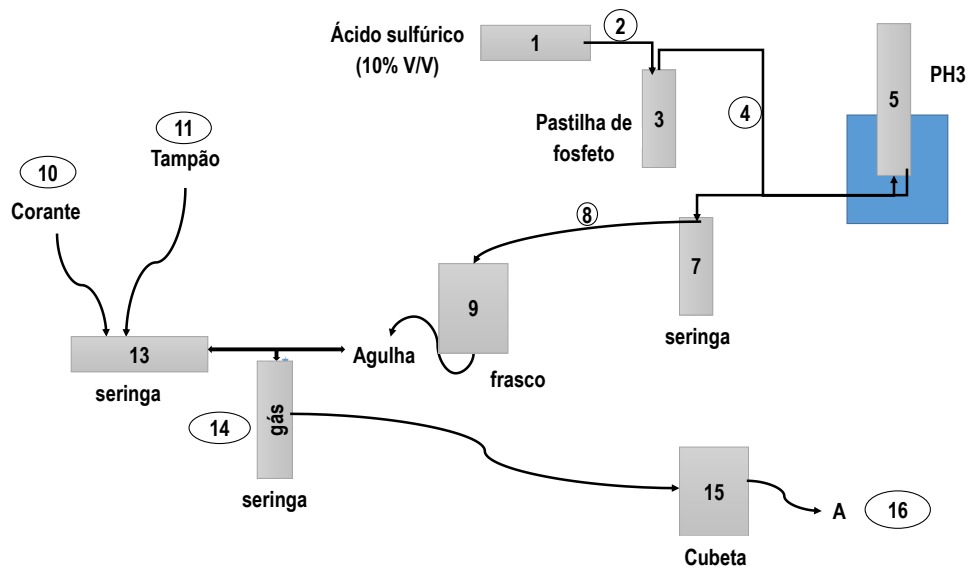


Figura 33. Diagrama do processo para quantificação de fosfina a partir da interação com azul de metileno em pH 9,0 pelo método espectrofotométrico.

Utilizou-se o sistema de seringas proposto para construir uma outra curva analítica nas mesmas condições descritas com o uso de frascos de vidro (Figura 34A) obtendo –se a Equação 42. No entanto a sua sensibilidade é baixa pelo que foi avaliada a presença de cobre(II) como ativador da reação para obtenção de uma curva analítica (Figura 34B) observando-se uma maior sensibilidade comparado com o sistema em ausência de cobre(II). Cada concentração de fosfina foi realizada em triplicada. O termo ‘ativador’ está sendo utilizado pois postula-se que a participação do cobre (II) será a diminuição da energia de ativação (como um catalisador), mas talvez não seja totalmente regenerado.

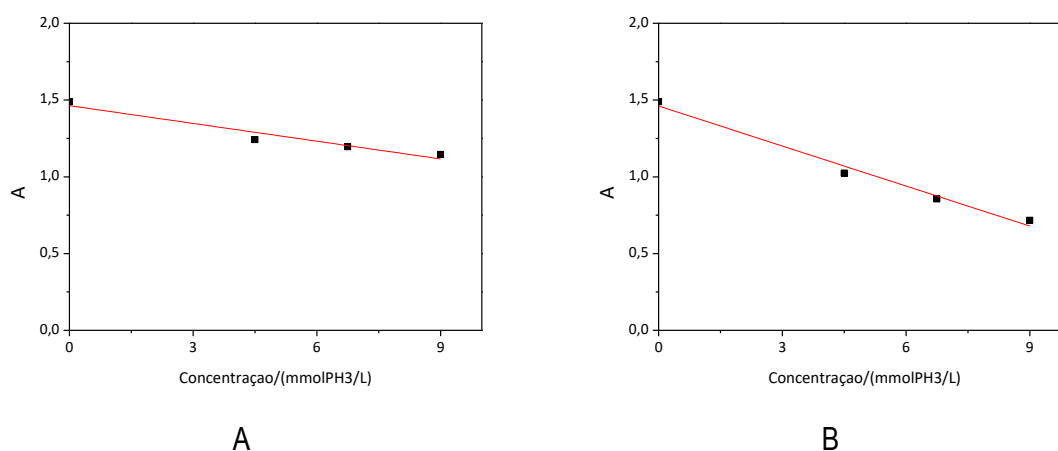


Figura 34. Curva analítica da solução de azul de metileno $40\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 e fosfina na faixa de concentração de $4,5\text{ mmol L}^{-1}$ a $9,0\text{ mmol L}^{-1}$ pelo método espectrofotométrico em seringas; na ausência (A) e presença (B) de cobre (II) $1.10^{-3}\text{mol L}^{-1}$.

Na ausência de cobre (II) como ativador, obteve-se a Equação da curva analítica

$$\hat{A} = (0,129 \pm 0,0137) - (0,0155 \pm 0,00226)C_{(PH_3)} \quad (42)$$

$$R^2 = 0,9593; s_{res} = 0,0151$$

Sendo que o termo constante se refere à absorbância da solução na ausência de fosfina. Não foi observado um bom ajuste, com valor de R^2 inferior a 0,99 e um desvio padrão dos resíduos S_{res} igual a 0,0151.

A presença do cobre(II) no meio reacional aumentou a taxa de reação, de maneira que a Equação da curva analítica foi

$$\hat{A} = (1,295 \pm 0,0127) - (0,0639 \pm 0,0021) C_{(PH_3)} \quad (43)$$

$$R^2 = 0,997; s_{res} = 0,0139$$

Com um melhor ajuste dos dados (R^2 maior que 0,99 e desvio padrão dos resíduos 0,0139). Os valores de LoD ($0,59 \text{ mmol L}^{-1}$) e LoQ ($1,98 \text{ mmol L}^{-1}$) foram obtidos.

Uma vez que a inclinação da curva analítica é função não apenas da absorvidade molar da espécie absorvente e do caminho óptico, mas também dos fatores de diluição, estequiometria da reação e da eficiência de reação do analito com o reagente, é possível estimar a eficiência da reação entre a fosfina e o azul de metileno pela razão entre as inclinações das curvas analíticas da fosfina (S_{PH_3}) e do azul de metileno (S_{AM}), uma vez que todos os outros fatores são constantes, com exceção do fator de diluição (1000x) e a razão estequiométrica esperada para o azul de metileno e a fosfina.

Uma demonstração dessa afirmação é apresentada na Equação 44.

Devido à diferença nas unidades das duas inclinações, é necessário obter um fator de conversão de unidades.

$$A = S_{AM} \cdot c \Rightarrow [1] = \left[\frac{L}{\mu\text{mol}} \right] \cdot f \cdot \left[\frac{\text{mmol}}{L} \right] \Rightarrow f = 10^3 \Rightarrow S_{AM} \cdot 10^3 = \left[\frac{L}{\text{mmol}} \right] \quad (44)$$

Para uma medição de absorbância, ela está relacionada com a concentração do padrão de fosfina utilizada, assim como da concentração de azul de metileno consumido quando essa mesma absorbância foi determinada. Assim, pode-se calcular a quantidade de azul de metileno consumido, considerando-se a quantidade total de azul de metileno adicionado ao meio reacional ($n_{13}(AM)$) e quantidade não consumida, que foi medida espectrofotometricamente (Equação 45):

$$n_{13}(AM)_{consumido} = n_{12}(AM) - n_{13}(AM) \quad (45)$$

Assim, a concentração de fosfina

$$\begin{aligned} \Rightarrow [PH_3] &= \frac{n_{13}(PH_3)_{consumido}}{V_3} = \frac{n_{10}(AM) - n_{13}(AM)}{4V_3} \\ &= \frac{c_{13}(AM)_{Total} - c_{13}(AM)}{4} \end{aligned} \quad (46)$$

Expressando as concentrações em termos de absorbância:

$$[PH_3] = \frac{A_{m\acute{a}x} - A}{4S_{AM} \cdot 10^3} \Rightarrow \quad (47)$$

$$A = A_{m\acute{a}x} - 4S_{AM} \cdot 10^3 [PH_3] \quad (48)$$

Mas como a concentração do padrão ($c_{13}(PH_3)_p$) não é a mesma concentração de fosfina que reagiu ($[PH_3]$).

$$[PH_3] = ef \cdot c_{13}(PH_3)_p = ef \cdot \frac{n_9(PH_3)}{V_{15}} \quad (49)$$

Portanto, o modelo da curva analítica pode ser reescrito, e comparando com o modelo obtido experimentalmente, onde 'B' é o branco,

$$A = A_{m\acute{a}x} - 4S_{AM} \cdot 10^3 ef \cdot c_{13}(PH_3)_p = B - S_{PH_3} \cdot c_{13}(PH_3)_p \quad (50)$$

Assim

$$S_{PH_3} = 4S_{AM} \cdot 10^3 ef \Rightarrow \%ef = \frac{S_{PH_3}}{4S_{AM} \cdot 10^3} \cdot 100 \quad (51)$$

Em um mesmo volume, pode-se considerar as concentrações de fosfina que reagiu com concentração de azul de metileno. Assim, na ausência de cobre(II), a eficiência da reação de redução do azul de metileno foi igual a $7,33 \cdot 10^{-3}\%$ enquanto que, na presença desse ativador, a eficiência foi

cerca de 0,030%. Embora uma fração muito pequena da fosfina tenha reagido, o uso do ativador aumentou 4,1 vezes a eficiência da reação.

Para tentar compreender a ativação pelo cobre, foi testada uma alíquota de fosfina 4,50 mmol L⁻¹ em presença do cobre (I) (Figura 35), na forma óxido de cobre (I) uma vez que o cobre (I) pode ser formado na redução do cobre (II) e tem sido reportado na literatura seu uso como catalisador. O óxido de cobre (I) é formado devido à elevada acidez do cobre (I) (pKa ~0,3).

Na presença de cobre (I) há um aumento da absorbância no comprimento de máxima absorção, sugerindo a complexação pelo corante, mas não na redução do azul de metileno, contrário ao que sucede na presença de cobre (II) em que há uma diminuição de absorbância (traço contínuo de cor vermelho), obtendo-se uma maior resposta na presença desta espécie.

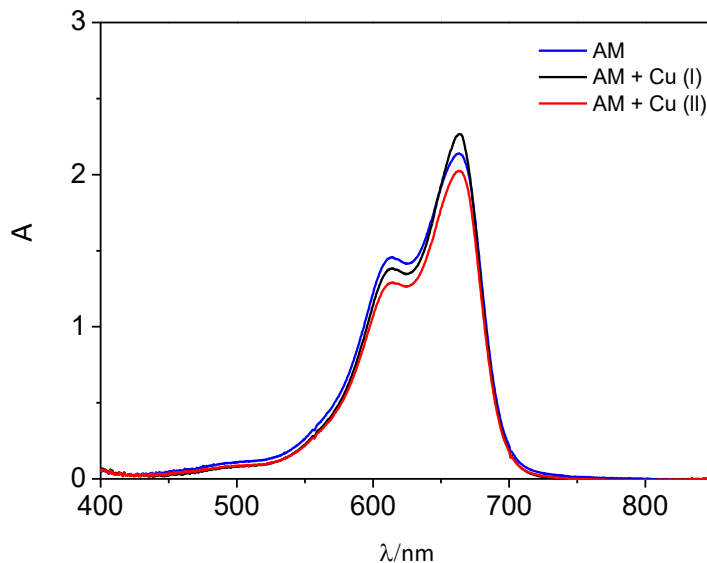


Figura 35. Espectro do azul de metileno 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 na presença de 4,50 mmol L⁻¹ de fosfina, na ausência de cobre, com cobre(I) e com cobre(II) no meio.

A Figura 36 mostra o digrama que explica o processo realizado para a quantificação de fosfina utilizando cobre(II) como ativador.

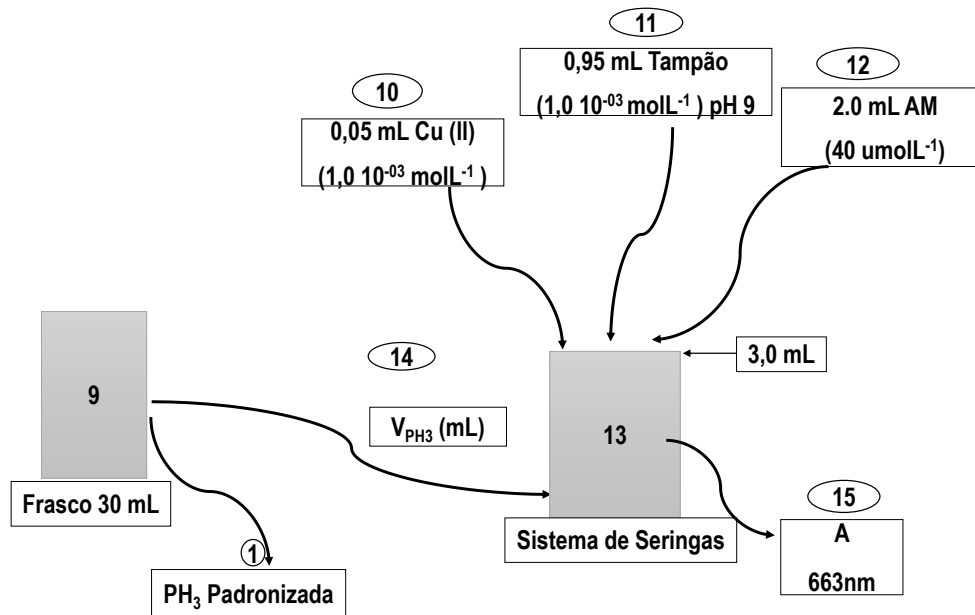


Figura 36. Diagrama esquemático por Etapas para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico na presença do ativador cobre(II).

5.2.5. Avaliação da precisão do método espectrofotométrico para determinação de fosfina

Utilizando o sistema de controle com seringas é avaliado o grau de concordância dos dados para alíquotas de 10,0mL (Ensaio 1) e alíquotas de 5,0mL (Ensaio 2) do analito extraídas da Etapa 9. Nos dois ensaios se pode observar uma variação nas leituras de absorbância, porém, quando são extraídos volumes maiores esta mudança é mais pronunciada, o que pode ser constatado pelo valor do coeficiente de variação. Para o ensaio 1 tem-se um valor de %CV = 6,86 e para o ensaio 2 %CV = 2,18, esta diferença pode ser explicada pela dissolução de fosfina como foi explicado na Equação 34.

Por tanto quanto menor é a quantidade de fosfina extraída na Etapa 9, menor será a dinâmica do gás dentro do frasco, aspecto a fim com o desenvolvimento de este trabalho já que por ser a fosfina um gás altamente tóxico quando menores quantidades de este analito forem trabalhadas menor o risco de afetar a saúde e menor o índice de contaminação no ambiente.

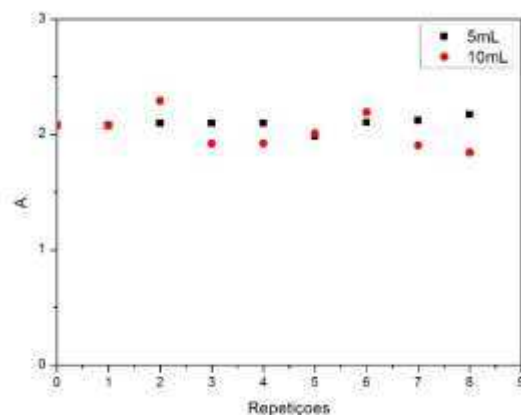


Figura 37. Avaliação da precisão do método espectrofotométrico na quantificação de fosfina na Etapa 9 com alíquotas de 5 mL e 10 mL do gás, na presença de azul de metileno $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ e Cu(II).

5.2.6. Curva analítica para azul de metileno com fosfina pelo método espectrofotométrico

Uma vez estudadas as condições do método para a quantificação do analito foi construída a curva analítica a partir da leitura de absorbância em função da concentração de fosfina (mmol L^{-1}), para determinar as figuras de mérito. Para isto foi utilizada uma solução do corante azul de metileno $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 com adições de fosfina numa faixa de concentração de $4,50 \text{ mmol L}^{-1}$ até $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$, com leituras de absorbância no comprimento de onda de 663 nm (Figura 38).

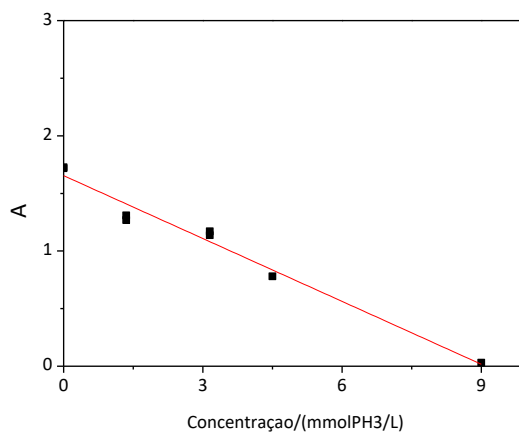


Figura 38. Curva analítica para fosfina pelo método espectrofotométrico avaliando absorbância em função da concentração de fosfina (mmol L^{-1}) para o corante azul de metileno na concentração de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9.0 e no comprimento de onda 663 nm.

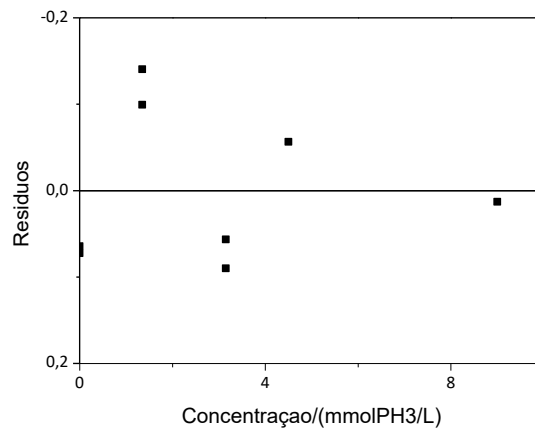


Figura 39. Gráfico dos resíduos para a curva analítica do método com azul de metileno com fosfina pelo método espectrofotométrico.

$$\hat{A} = (1.654 \pm 0.048) - (0.177 \pm 0.012) c(\text{AM}) \quad (52)$$

$$R^2 = 0.97; s_{res} = 0.095$$

A curva analítica obtida mostra-se uma redução do corante de quase 100% quando são injetadas alíquotas com concentração de 9,0 mmolL⁻¹, sendo o coeficiente de variação igual a 0,9 com um desvio dos resíduos de 0,095. O LoD reportado é de 0,79 mmol L⁻¹ e o LoQ é de 2,62 mmolL⁻¹, tendo uma faixa de trabalho no intervalo de 2,62 até 9,0mmolL⁻¹.

Embora e que o LoD reportado para a curva de calibração para fosfina seja maior que o LoD reportado a partir da Equação da curva Equação 43 (pg 48), o método mostra sensibilidade analítica permitindo assim sua quantificação. Esta variação de resultados foi explicada no item 5.1.6 (pg. 35) em que se demonstrou que a quantidade de fosfina produzida varia de uma pastilha para outra.

5.3. Método da análise de imagem (RGB)

Para o desenvolvimento deste método foi utilizado o mesmo sistema de reação controlado por seringas na presença de cobre (II) (Figura 36, pg 51) descrito no método espectrofotométrico.

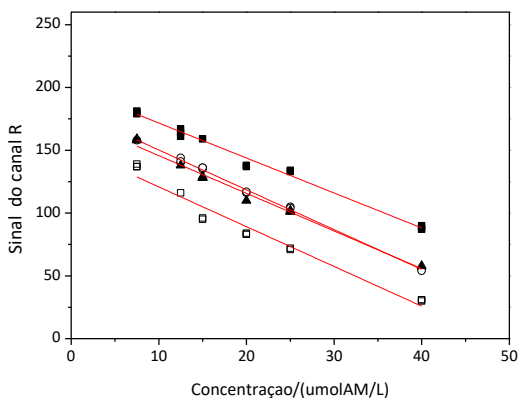
Para avaliar o comportamento dos sinais obtidos pela *webcam* (Figura 11, pg 23), foram consideradas as áreas delimitadas pelas letras A, B, C, e D, que correspondem ao analito, ao branco, à incidência de luz na região fora do analito e do branco e à região sem incidência de luz, respectivamente.

Inicialmente foram realizados estudos para determinar a influência da fonte de luz no sistema RGB

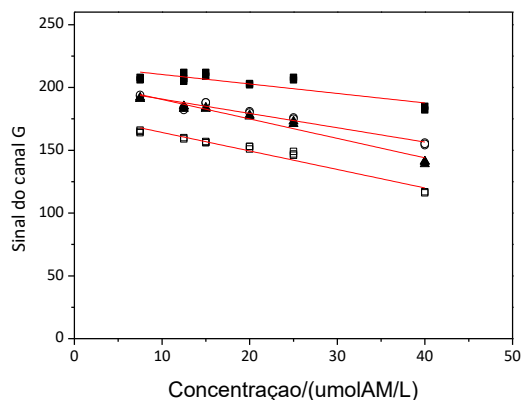
5.3.1. Influência da intensidade de luz sobre o sistema

O sinal analítico obtido pela imagem digital explica a incidência da luz no sistema, emitida por uma fonte de luz tal e como se mostra na Etapa 4 da Figura 8 (pg 37). Então, foi avaliada essa resposta quando a fonte se encontrava a diferentes distâncias, e assim comparar entre si qual o melhor canal para análise.

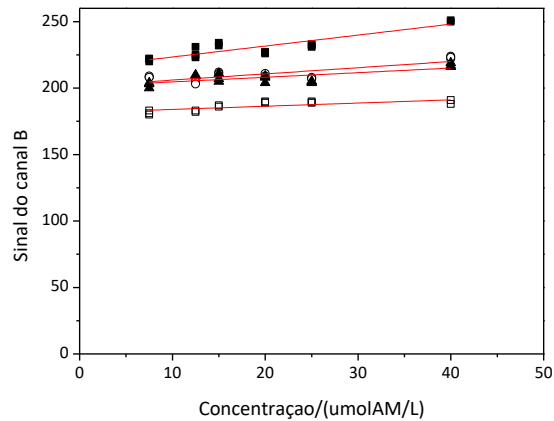
Foram construídas curvas analíticas para azul de metileno na faixa de concentração de 7,5 até 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 para cada distância, usando uma câmera com ajuste automático do branco. Inicialmente foram avaliados os sinais obtidos para os canais R, G e B, sem realizar nenhum tipo de tratamento quando a distância da fonte variava (Figura 40), observando-se que as maiores inclinações correspondem ao canal RED (vermelho).



A



B



C

Figura 40. Comparação da avaliação do sinal analítico em função da concentração de azul de metileno em pH 9,0, obtido pela intensidade de luz sem nenhum tratamento nas diferentes distancias (■) 10 cm, (○) 15 cm, (▲) 20 cm e (□) 25 cm, para cada um dos canais em que: **A.** canal R (vermelho), **B.** canal G (verde) e **C.** canal B (azul).

Uma vez que foram avaliados diferentes parâmetros de respostas, a comparação entre eles torna-se complicado. Assim, para comparar as respostas dos três canais, se o limite de quantificação. Foram comparados os valores de limite de quantificação (LoQ) em função da distância para cada canal como se mostra na Figura 41.

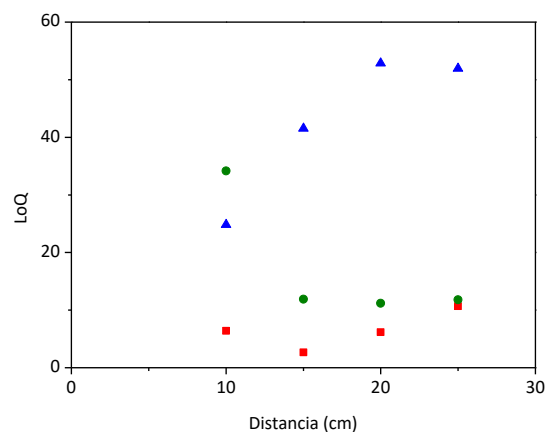


Figura 41. Comparação do LoQ em função da distância (10, 15, 20 e 25 cm), obtido pela intensidade de luz sem nenhum tipo de tratamento do sinal do canal para R (■) G (○) e B (▲).

Assim o canal RED foi o que apresentou valores menores de LoQ em cada uma das distâncias da fonte testadas, especificamente quando a fonte se encontrava a uma distância de 15 cm, pois o seu LoQ tem um valor de 2,67 $\mu\text{mol L}^{-1}$, portanto foi a distância escolhida para a avaliação das funções de resposta para o canal RED. Os resultados obtidos para os canais GREEN e BLUE só vão ser apresentado seu comportamento para efeitos de comparação.

As respostas analíticas que foram avaliadas estão descritas nas Equações 53 a 55.

$$\% \text{Transmitância (\%T)} \quad \%T = \frac{I_a}{I_b} * 100 \quad (53)$$

$$\text{Absorbância absoluta} \quad A_{abs} = 2 - \log \%T \quad (54)$$

(A_{abs})

$$\text{Absorbância} \quad A = -\log I_a \quad (55)$$

Em que I_a , é a intensidade reportada pelo analito e I_b é a intensidade reportado pelo branco.

A comparação das diferentes respostas analíticas foi feita a partir do limite de quantificação e da resolução, quanto menores sejam estes valores melhor qualidade do método. O cálculo da resolução foi feito a partir da Equação 56.

$$\text{Resolução} = \frac{\text{sensibilidade}}{S_{res}} \quad (56)$$

Na Figura 42 é apresentado a correlação entre o LoQ, que estabelece a menor concentração quantificável dentro de um dado intervalo de precisão e a resolução, que é um parâmetro que avalia a menor diferença de concentrações (dentro da faixa analítica) que o método consegue distinguir ZAMPIER (2017). O coeficiente de determinação (R^2) foi superior a 0,99 para todos os canais.

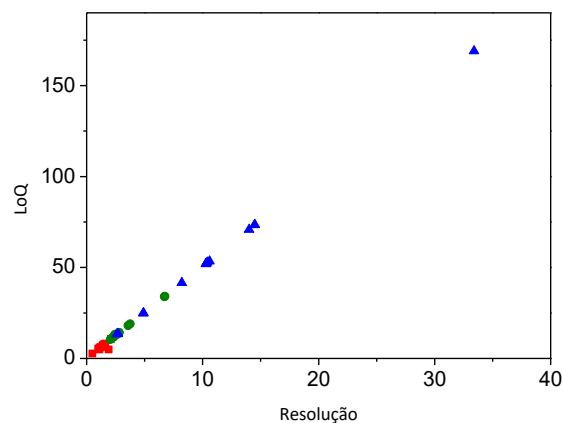


Figura 42. Avaliação do limite de quantificação em função da resolução obtida das Resposta analítica para o de azul de metileno em pH 9,0 para cada canal R (■) G (○) e B (▲), em todas as distâncias (10, 15, 20 e 25 cm).

5.3.2. Avaliação das respostas para a curva analítica do azul de metileno

5.3.2.1. Transmitância

A Figura 43 apresenta curva analítica considerando a transmitância como resposta. Obteve-se valores de LoD de $1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$ e LoQ de $5,23 \mu\text{mol L}^{-1}$, a partir da curva analítica para o canal RED, com uma inclinação igual a $-1,666 \mu\text{mol L}^{-1}$, com coeficiente de determinação alto ($R^2 = 0,99$) (Equação 57).

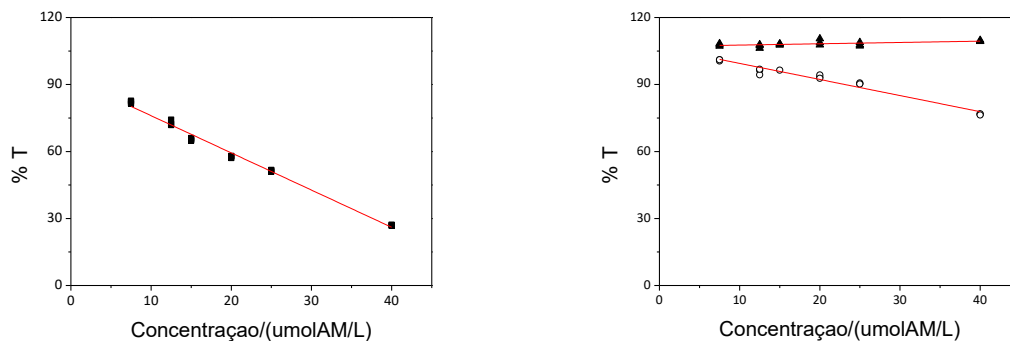


Figura 43. Curva analítica de azul de metileno utilizando a transmitância como resposta, em pH 9.0 Canais: (■)R (○) G e (▲) B, quando a fonte de luz está aos 15 cm.

$$\%T = (92,7 \pm 0,872) - (1,666 \pm 0,039) c(\text{AM}) \quad (57)$$

$$R^2 = 0,99; s_{res} = 1,72$$

$$\text{Resolução} = 1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$$

5.3.2.2. Absorbância absoluta para a curva com azul de metileno

A Figura 44 apresenta a Resposta da absorbância absoluta. Os valores de LoD e de LoQ foram 2,19 e 7,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente para o canal RED, apresentou uma inclinação de 0,148 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um coeficiente de determinação de 0,9.

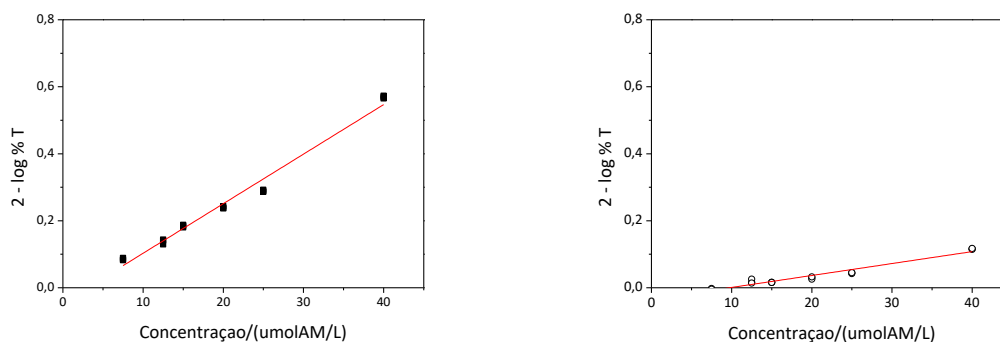


Figura 44. Resposta $2 - \log\%T$ para a curva analítica de azul de metileno em pH 9,0 para cada canal em que: (■) representa R (○) G e (▲) B, quando a fonte de luz está aos 15 cm.

Como os valores de $\%T$ para o canal B reportaram valores acima de 100 o resultado calculado para $2 - \log\%T$ serão negativos, razão pela qual não se observa a inclinação quando é comparada com os outros dois canais.

$$A_{abs} = (0,015 \pm 4,8 \cdot 10^{-4}) c(\text{AM}) - (0,045 \pm 0,011) \quad (58)$$

$$R^2 = 0,98; s_{res} = 0,0213$$

$$\text{Resolução} = 1,4 \mu\text{mol L}^{-1}$$

5.3.2.3. Absorbância para a curva com azul de metileno

A Figura 45 apresenta a função da absorbância. Com um coeficiente de determinação de 0,9, apresentou uma inclinação de $-0,142 \text{ L } \mu\text{mol}^{-1}$ e LoD e LoQ de 2,83 e 9,43 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente para o canal RED.

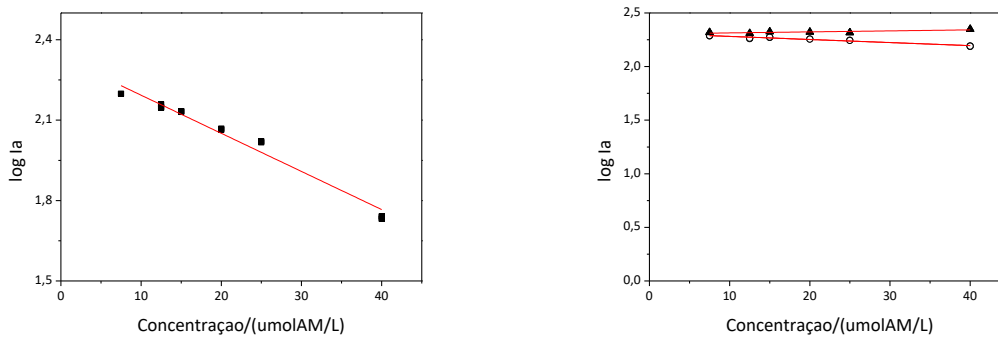


Figura 45. Resposta $\log I_a$ para a curva analítica de azul de metileno em pH 9,0 para cada canal em que: (■) representa R (○) G e (▲) B, quando a fonte de luz está aos 15 cm.

$$\log I_a = (2,34 \pm 0,013) - (0,0142 \pm 5,9 \cdot 10^{-4})c(\text{AM}) \quad (59)$$

$$R^2 = 0,97; s_{res} = 0,0265$$

$$\text{Resolução} = 1,8 \mu\text{mol L}^{-1}$$

Na Tabela 8 encontram-se os dados dos tratamentos para todas as respostas avaliadas. Observa-se que os melhores resultados foram para o tratamento da porcentagem de transmitância (%T) por ter uma maior sensibilidade ($1,67 \mu\text{mol L}^{-1}$), menor limite de quantificação ($1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$), alto coeficiente de determinação (0,99) e menor resolução ($1,0 \text{ L mol}^{-1}$) o que permite ter uma melhor qualidade de resposta pelo método quando é considerado este tratamento para o canal RED.

Tabela 7. Resultados obtidos após dos tratamentos das funções de resposta para a curva analítica de azul de metileno na faixa de concentração de $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ até $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em pH 9,0 pelo método de análise de imagem para o canal RED.

	%T	2 - log %T	log I_a
LSensl	1,666	0,148	0,142
LoD/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	1,57	2,19	2,83
LoQ/ $\mu\text{mol L}^{-1}$	5,23	7,28	9,43
R^2	0,991	0,984	0,973
Resolução	1,0	1,4	1,8

5.3.3. Curva analítica para fosfina pelo método RGB

Uma vez avaliadas as melhores condições do sinal analítico para o método de análise de imagem, foi construída a curva analítica a partir da leitura do sinal em função da concentração de fosfina (mmol L^{-1}) e determinação das figuras de mérito. As condições de reação foram estabelecidas da mesma maneira que para o método espectrofotométrico com adições de fosfina numa faixa de concentração de $2,25 \text{ mmol L}^{-1}$ até $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$. A Figura 46 mostra os resultados obtidos da curva analítica sem nenhum tipo de tratamento das funções de resposta.

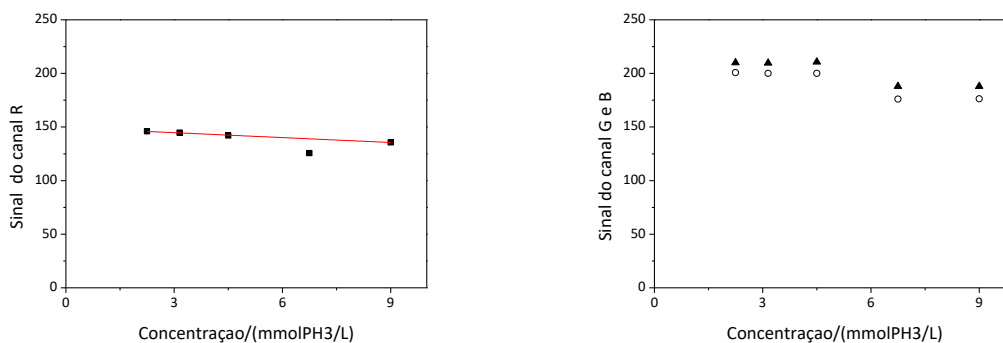


Figura 46. Curva analítica para fosfina com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9,0 pelo método RGB comparando cada canal em que: (■) representa R (○) G e (▲) B.

Comparado com os três canais sem tratamento, observa-se que os canais G e B não mostraram um sinal de variação significativo diferente do canal RED que deu uma melhor sensibilidade na presença de fosfina. O coeficiente de determinação é igual a 0,99, apresentou uma inclinação de $-1,529 \text{ mmol L}^{-1}$, limite de detecção de $0,714 \text{ mmol L}^{-1}$ e limite de quantificação de $2,377 \text{ mmol L}^{-1}$, tendo em uma faixa de trabalho de 2,3 até $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

$$\text{Sinal analítico} = (149,31 \pm 0,364) - (1,529 \pm 0,067)c(\text{PH}_3) \quad (60)$$

$$R^2 = 0,996; s_{res} = 0,350$$

$$\text{Resolução} = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$$

Como foi apresentado anteriormente o canal que apresentou melhor qualidade de resposta foi o canal RED e quando interage com a fosfina no meio essa resposta é mantida como a melhor

comparada com os outros dos canais, por tanto, as funções de resposta avaliadas a continuação reportam exclusivamente o comportamento obtido para esse canal na presença do gás.

5.3.3.1. % Transmitância para a curva com fosfina

A Figura 47 mostra o tratamento feito para esta resposta, apresentando uma inclinação de $-0,581 \text{ mmol L}^{-1}$. LoD e LoQ foram de $1,07 \text{ mmol L}^{-1}$ e $3,56 \text{ mmol L}^{-1}$ obtidos a partir da curva analítica, com coeficiente de determinação de 0,9.

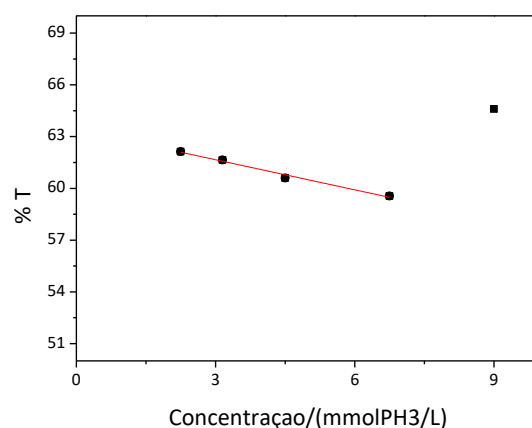


Figura 47. Resposta %T para a curva analítica com fosfina pelo método de análise de imagem com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9,0.

$$\%T = (63,4 \pm 0,872) - (0,581 \pm 0,046) c(\text{PH}_3) \quad (61)$$

$$R^2 = 0,98; s_{res} = 0,156$$

$$\text{Resolução} = 0,25 \text{ mmol L}^{-1}$$

5.3.3.2. Absorbância absoluta para a curva com fosfina

A Figura 48 mostra o resultado obtido pelo tratamento $2 - \log \%T$. Apresentou uma inclinação de $40 \cdot 10^{-4} \text{ mmol L}^{-1}$, limite de detecção de $1,02 \text{ mmol L}^{-1}$ e limite de quantificação de $3,42 \text{ mmol L}^{-1}$ obtidos a partir da curva analítica, com coeficiente de determinação igual a 0,9.

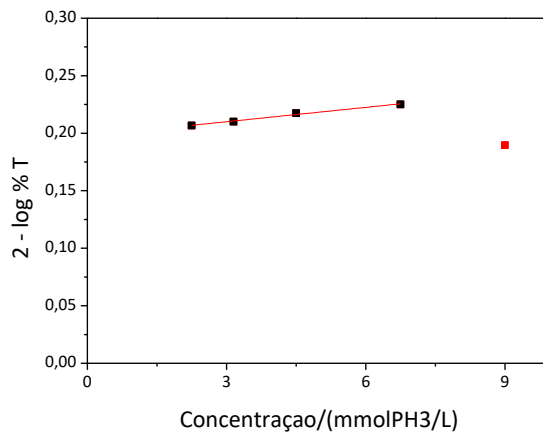


Figura 48. Resposta $2 - \log \% T$ para a curva analítica com fosfina pelo método de análise de imagem com azul de metileno ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$) em pH 9,0.

$$A_{abs} = (410^{-4} \pm 3,1 \cdot 10^{-4}) c(PH_3) - (0,196 \pm 1,42 \cdot 10^{-4}) \quad (62)$$

$$R^2 = 0,98; s_{res} = 1,07 \cdot 10^{-3}$$

$$Resolução = 0,26 \text{ mmol L}^{-1}$$

5.3.3.3. Absorbância para a curva com fosfina

Na Figura 49 está apresentada a função da resposta para a absorbância. O coeficiente de determinação é de 0,9, e seus valores de LoD e LoQ são de 1,29 e 4,29 mmol L^{-1} respectivamente.

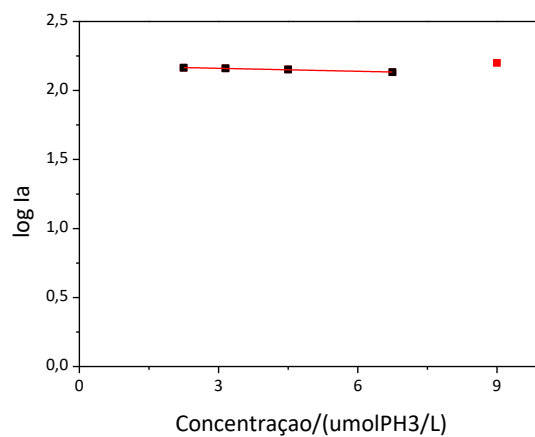


Figura 49. Resposta $\log I_a$ para a curva analítica de azul de metileno em pH 9,0 para o R.

$$\log I_a = (2,180 \pm 3,0 \cdot 10^{-3}) - (7,18 \cdot 10^{-3} \pm 6,8 \cdot 10^{-4})c(PH_3) \quad (63)$$

$$R^2 = 0,98; s_{res} = 2,32 \cdot 10^{-3}$$

$$Resolução = 0,32 \text{ mmol L}^{-1}$$

Na Tabela 9 mostra-se os resultados obtidos dos tratamentos quando são injetadas concentrações de fosfina, embora que os valores das resoluções estejam no intervalo de 0,2 – 0,3 L mmol⁻¹ e os limites de quantificação apresentem valores próximos para as funções %T e 2 – log %T os coeficientes de determinação e sensibilidade diminuiu comparado com as respostas obtidas para a curva de azul de metileno, isto pode ser explicado pela descoloração do azul de metileno quando é reduzido pela fosfina.

Tabela 8. Resultados obtidos após dos tratamentos das funções de resposta para a curva analítica de fosfina com azul de metileno (40 μmol L⁻¹) em pH 9.0 pelo método de análise de imagem.

	%T	2 – log %T	log I _a
Sensl	0,581	4,0 10 ⁻⁴	7,18 10 ⁻³
LoD/mmol L ⁻¹	1,07	1,02	1,29
LoQ/mmol L ⁻¹	3,56	3,42	4,29
R ²	0,986	0,984	0,982
Resolução	0,25	0,26	0,32

Então o tratamento da porcentagem de transmitância (%T), foi que deu uma melhor qualidade de resposta por apresentar uma maior sensibilidade comparada com os outros dois tratamentos.

5.4. Cromatografia gasosa

O método cromatográfico com GC-MS foi testado para a quantificação de fosfina para comparação como os métodos propostos. Observou-se uma alta dificuldade na separação tanto no modo SIM (Anexo 1) como no modo SCAN (Anexo 2). Embora tenha possível sido obter uma curva analítica por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (FID).

A Figura 50 mostra a curva analítica obtida para fosfina com volumes injetados na faixa de 10 – 100 μL , apresentando um coeficiente de determinação alto ($R^2 = 0,99$) e um limite de detecção e quantificação de 5,64 e 18,77 μL , respectivamente, com uma faixa de trabalho de 5,64 μL até 100 μL .

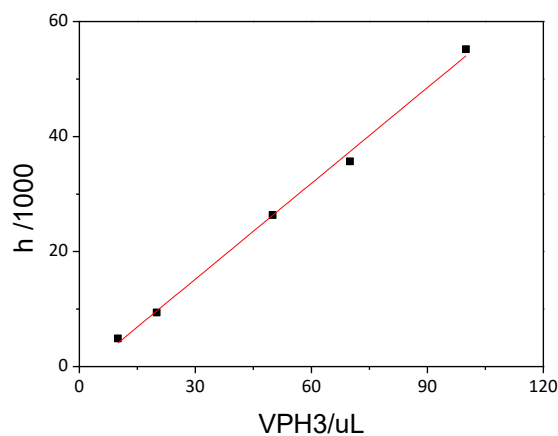


Figura 50. Curva analítica para fosfina pelo método Cromatografia Gasosa.

$$V = (0,555 \pm 0,0174) c(\text{AM}) - (1,439 \pm 1,04) \quad (64)$$

$$R^2 = 0,996; s_{res} = 1,28$$

Na Figura 51 são apresentados dos cromatogramas. Observe-se que a intensidade do sinal aumenta à medida que o volume de fosfina aumenta.

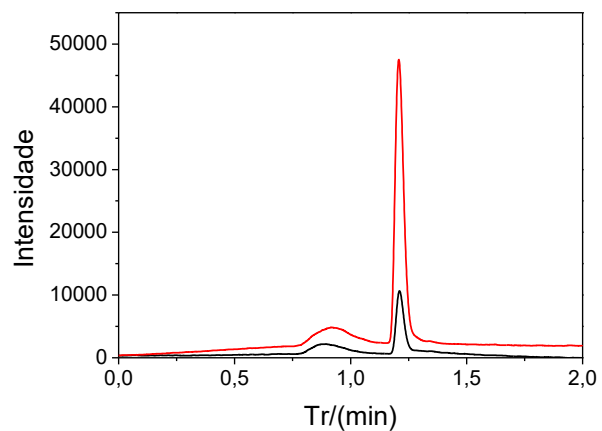


Figura 51. Cromatograma obtido para uma alíquota de fosfina de 20 μL (linha contínua preta) e 70 μL de fosfina (linha contínua vermelha), pelo método cromatografia gasosa com detector por injeção em chama.

Com o método alternativo funcionando, será possível fazer a comparação com os resultados obtidos com o método espectrofotométrico e por imagens digitais.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente trabalho permitiu adequar um sistema controlado de produção e coleta do gás de fosfina em escala de laboratório com grandes vantagens em relação àquele utilizado rotineiramente.

Foi proposto um novo método iodométrico para padronização de soluções gasosas de fosfina obtidos em laboratório. Métodos por espectrofotometria inversa e por análise de imagem também foram desenvolvidos para a determinação de fosfina.

O método iodométrico apresentou boa sensibilidade e repetibilidade em uma faixa de trabalho de 0,208 mL até 1,5 mL, em que a maior linearidade é obtida no intervalo de 0,2 a 0,5 mL. Este método permitiu a padronização das soluções de fosfina obtidas para o desenvolvimento do método espectrofotométrico e por análise de imagem.

O método espectrofotométrico, catalisado por cobre (II) para a redução do azul de metileno, mostrou-se muito influenciado pela alcalinidade da solução reagente, onde o azul de metileno pode se decompor rapidamente em valores de pH superiores a 10. Foram obtidos para o método proposto valores de limite de detecção $0,9 \text{ mmol L}^{-1}$ e de quantificação de $2,62 \text{ mmol L}^{-1}$, com uma faixa analítica de trabalho de 2,62 até $9,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

O método de análise de imagem apresentou uma grande influência da intensidade da fonte de radiação, comportamento não esperado para métodos espectrofotométricos e a melhor resposta analítica foi obtida para o canal RED em função da transmitância, quando a fonte de luz utilizada está a uma distância de 15 cm

7. CONSIDERAÇÕES FUTURAS

De acordo com os resultados deste trabalho, recomendam-se os seguintes trabalhos:

- Adaptação do método espectrofotométrico para determinação da fosfina em amostras gasosas utilizando um sistema monossegmentado, utilizando o azul de metileno;
- Validação do método por cromatografia gasosa com detector FID e comparação com métodos desenvolvidos.
- Estudar a cinética de redução do cobre (II) por fosfina e sua influência na redução do azul de metileno.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

ABIAN, J. (1999). The Coupling of Gas and Liquid Chromatography with Mass Spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 34, 157 – 168.

ANDRADE, R.; NASCIMENTO, T. (1984). Efeito do expurgo com gas fosfina (GASTOXIN) sobre a qualidade fisiológica de sementes de milho e sorgo. *Revista Brasileira de Semestres.*, 06(2), 09 – 16.

ANVISA. (2008). Regulamento Técnico. <http://doi.org/10.1590/S0104-14282008000300007>

ANWAR, Jamil.; ZAMAN, Waheed-uz.; SHAFIQUE, Muhammad Umer.; SALMAN, M. (2013). Computational quantification of spot tests by image scanning - A new analytical technique for micro samples. *Analytical Letters*, 37–41. <http://doi.org/10.1080/00032710903325898>

ATHIÉ, I.; OLIVEIRA, J.; CASTRO, M.; BARBIERI, M. (2001). Resistencia à fofina de insetos de grãos armazenados determinada por Cromatografia Gasosa. *Braz. J. Food Technol.*, 4, 43–47.

AZEVEDO, E.; CONCI, A. (2003). Teoria da Computação gráfica. Rio de Janeiro: Campus.

BANKS, H. J. (1975). The toxicity of phosphine to insects. Canberra, AUSTRALIA: Stored Grain Research Laboratory.

BASTOS, Carolina.; REIS, Augusto.; PARRILHA, Gabrieli.; BAPTISTA, Milton.; CANELA, M. (2009). Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia gasosa: um experimentos para cursos de química. *Quim. Nova*, 32(5), 1338–1341.

BASU, Mrinmoyee.; SINHA, Arun Kumar.; PRADHAN, Mukul.; SARKAR, Sougata.; PAL, Anjali.; MONDAL, Chanchal.; PAL, T. (2012). Methylene Blue – Cu₂O Reaction Made Easy in Acidic Medium. *The Journal of Pityysical Chemistry*, 116, 25741–25747.

BEQUISA. (2014). Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico PHOSTEK. *BEQUISA A Company of Degresch Group*.

CASTRO, M. F.; OLIVEIRA, J. J.; LEITÃO, M. F. (2002). Sorção de Fosfina e Avaliação dos seus Níveis Residuais em Milho em Grãos com Elevado Teor de Umidade. *Braz. J. Food Technol.*, 5, 87–93.

CHAUDHRY, M. Q. (1997). Review A Review of the Mechanisms Involved in the Action of Phosphine as an Insecticide and Phosphine Resistance in Stored-Product Insects. *Pestic. Sci.*, 49, 213 – 228.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (1997). *Introdução a métodos cromatográficos*. (7. ed.). Campinas: UNICAMP.

CULP, Sandra J.; BELAND, F. A. (1996). Malachite Green: A Toxicological Review. *Journal of the American College of Toxicology*, 15(3), 219–238.

DAGLISH, G. J.; COLLINS, P. J.; PAVIC, H. KOPITKE, R. (2002). Effects of time and concentration on mortality of phosphine-resistant *Sitophilus oryzae* (L) fumigated with phosphine. *Pest Management Science*, 58(10), 1015–1021. <http://doi.org/10.1002/ps.532>

DAVEY, M. W., MONTAGU, M. Van, INZÉ, D., SANMARTIN, M., KANELIS, A., SMIRNOFF, N., ... FLETCHER, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 825 – 860.

DICLE, Çelik.; MELTEM, Y. (2017). Investigation of hydrogen production methods in accordance with green chemistry principles. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30, 1 – 7.

DUMAS, T. (1964). Microdetermination of Phosphine in Air by Gas Chromatography. *J. AGR. FOOD CHEM.*, 1164–1165.

FAO. (1975). Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative method for adults of some major pest species of stored cereals, with methyl bromide and phosphine. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 23(1), 12 – 24.

FERREIRA, Sérgio.; SANTOS, Walter.; QUINTELLA, Cristina M.; NETO, Benício.; BOSQUE, J. M. (2004). Doehlert matrix : a chemometric tool for analytical chemistry — review. *Talanta*, 63, 1061–1067. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.015>

FERREIRA, C. C. (2012). *Tratamento inseticida para controle de pragas do armazenamento e a qualidade fisiológica de sementes de trigo*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pelotas.

FISCHER, A. R., WERNER, P., & GOSS, K. (2011). Photodegradation of malachite green and malachite green carbinol under irradiation with different wavelength ranges. *Chemosphere*, 82(2), 210–214. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.019>

FLORÃO, A.; FONSECA, R. V.; LOPES, M.; GABRIEL, M. M. (2004). Fosfina: Riscos. *Visão Acadêmica, Curitiba.*, 5(2), 101 – 108.

FLUMIGNAN, D. L. (2005). *Caracterização da qualidade e interpretação das propriedades físico-químicas de gasolinas C brasileiras através de cromatografia gasosa e métodos quimiométricos*. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista.

GANACHAUD, A., & WUNSCH, C. (2000). Improved estimates of global ocean circulation , heat transport and mixing from hydrographic data. *Nature*, 408, 453–458.

GASSMANN, G. (1994). Phosphine in the fluvial and marine hydrosphere. *Marine Chemistry*, 45, 197–205.

GOHLKE, R. S. (1959). Time-of-Flight mass spectrometry and gas-liquid partition chromatography. *Analytical Chemistry*, 31, 535–541.

GOMES, M. S.; TREVIZAM, L. ., & NÓBREGA, J.; KAMOGAWA, M. (2008). Uso de Scanner em Espectrofotometria de Absorção Molecular: Aplicação em Experimento Didático Enfocando a Determinação de Ácido Ascórbico. *Quimica Nova*, 31(6), 1577–1581.

GONZALES, R. C.; WOODS, R. E. (2000). *Processamento de Imagens Digitais*. São Pablo: Edgar Blücher.

GUENFOUND, Fouad; MOKHTARI, Malika; AKROUT, H. (2014). Electrochemical degradation of malachite green with BDD electrodes: Effect of electrochemical parameters. *Diamond & Related Materials*, 46, 8–14. <http://doi.org/10.1016/j.diamond.2014.04.003>

HARRIS, C. D. (2003). *Quantitative Chemical Analysis*. (6th ed.). Freeman: New York.

HERNÁNDEZ, Y., LOBO, M. G., & GONZÁLES, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits : A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*, 96, 654–664. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.012>

HIBBERT, D Brynn; MINKKINEN, Pentti; FABER, N M; WISE, B. M. (2009). IUPAC project : A glossary of concepts and terms in chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 642, 3–5. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2009.02.020>

HUANG, Yipeng.; WU, Zhenwei.; SU, Rihui.; RUAN, Ruan, Guihua.; DU, Fuyou.; LI, G. (2016). Current application of chemometrics in traditional Chinese herbal medicine research. *Journal of Chromatography B*, 1026, 27–35. <http://doi.org/10.1016/j.jchromb.2015.12.050>

KILLPHOS. (1995). Fosfuro de Aluminio. Retrieved July 27, 2016, from http://www.faxsa.com.mx/Fosf_MT/KillPhMT.pdf

KORYTÁR, Peter.; MATISOVA, E. (2002). Practical fast gas chromatography: methods , instrumentation and applications. *Trends in Analytical Chemistry*, 21, 558–572.

KSENZHEK, S; PETROVA, S A; KOLODYAZHNY, V. (1977). Electrochemical Properties of Some Redox Indicators. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 4, 346–357.

LANÇAS, F. M. (1993). *Cromatografia em fase gasosa*. São Carlos: Acta.

LEÃO, A. C. (2005). *Gerenciamento de cores para imagens digitais*. Dissertação de mestrado em Artes Visuais. Escola de Belas Artes, Belo Horizonte.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRAÇA-NETO, J. B.; HENNIG, A. A. (2011). Monitoramento da liberação do gas PH₃ por pastilhas de fosfina usadas para expurgo de sementes. Retrieved July 29, 2016, from <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/916899/1/artigo07.pdf>

LUCAS, J. et al. (1996). *Colour measurement: fundamentals*. (Azurém, Ed.). Eurotex: Azurém.

LUPETTI, Karina Omuro.; CARVALHO, Lucinéia Cristina.; FARIAS, André.; FATIBELLO, O. (2005). Análise de imagem em química analítica: empregam metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. *Quim. Nova*, 28(3), 548–554.

LYRA, W.; BEZERRA, V.; GEIZA, A.; LACERDA, V.; ALMEIDA, L.; NÓBREGA, E.; GONÇALVES, D.; CIRINO, E.; UGULINO, M. (2009). Digital image-based flame emission spectrometry. *Talanta*, 77(5), 1584–1589. <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.09.057>

MARTINAZZO, A. P.; FARONI, L. R.; BERBET, P. A.; REIS, F. P. (2000). Utilização da fosfina em combinação com o dióxido de carbono no controle do *Rhizopertha Dominica* (F.). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(6), 1063–1069.

MIOT, H. A.; PAIXÃO, M. P.; PASCHOAL, F. M. (2006). Fundamentos da fotografia digital em Dermatologia. *An. Bras Dermatol.*, 81(2), 80 – 174.

MONTGOMERY, D. (1991). *Design and Analysis of Experiments* (3a ed.). NY: Wiley, John.

NATH, Nisa.; BHATTACHARYA, Ishita.; TUCK, Andrew.; SCHLIPALIUS, David.; EBERT, P. (2011). Review Article. Mechanisms of Phosphine Toxicity. *Journal of Toxicology*, 2011, 1 – 9. <http://doi.org/10.1155/2011/494168>

NERO, Jordan; GALEMBECK, André; BEZERRA, Sidicleia; PEREIRA, J. (2003). Dye Incorporation in Polyphosphate Gels: Synthesis and Theoretical Calculations. *Materials Research*, 6(3), 335–340.

NETO, F. R. A.; NUNES, D. S. S. (2003). *Cromatografia – princípios básicos e técnicas afins*. Rio de Janeiro: Interciência.

NÓBREGA, J.; LOPES, G. (1996). Flow-injection spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical products with the Prussian Blue. *Talanta*, 43, 971 – 976.

OHLWEILER, O. A. (1974). *Química Analítica Quantitativa*. (L. T. e C. E. S.A., Ed.). Brasil: Rio de Janeiro.

OLIVEIRA, A. F. (2017). *Avaliação de sistemas químicos – Equilíbrios químicos em solução aquosa*. (E. UFV, Ed.). Submetido.

OLIVEIRA, A. F. . et al. (2017). Comunicação pessoal.

OLIVEIRA, L. (2012). *Uso de imagens digitais e ferramentas quimiométricas para identificação e deerminação de Cr (VI) em solos contmainados*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos.

OLIVIER, Samantha.; SILVA, Lins, Valdinete.; MOTTA, M. (2007). Emprego de planejamento fatorial no desenvolvimento de uma metodologia para extração de zinco de resíduos galvânicos. *Quim. Nova*, 30(7), 1750–1753.

PERZ, R.; BENKENSTEIN, A.; KÖBLER, H.; SCHERBAUM, E. KÖHL, D. BARTH, A.; ANASTASSIADES, des, M. (2015). Analysis of Phosphine in Dried Foodstuffs via Headspace-GC-MSD. *News Analytik*, 1–6. Retrieved from http://www.analytic-news.com/papers/pdf/cvuas_e5.pdf

POZZOBON, M. (2011). Detecção em cromatografia gasosa rápida e cromatografia gasosa bidimensional abrangente. *Scientia Chromatographica*, 3(2), 145–154. <http://doi.org/10.4322/sc.2011.009>

REYNA, Mauricio; VÁZQUEZ, Felipe Gilberto; GARCÍA, J. (2012). Revisión de la intoxicación aguda por fosforo de aluminio. *Asociación Mexicana de Medicina*, 26, 242–246. <http://doi.org/10.1155/2011/494168>

ROCHA, F.; TEIXEIRA, L. (2004). Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. *Quimica Nova*, 27(5), 807–812. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500021>

SALES, J. B. (2012). *Um método quimiluminescente baseado em imagens digitais para determinação de Cr (VI) em águas usando um sistema fluxo batelada*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba.

SANTOS O., J. L. (2013). *UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA ALIMENTÍCIAS , EMPREGANDO ANÁLISE DE IMAGENS*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Bahia.

SCURI, E. A. (2002). Fundamentos da Imagem Digital. Retrieved August 3, 2016, from <https://webserver2.tecgraf.puc-rio.br/~scuri/download/fid.pdf>

SERVICIO, D. A. S. (2008). Riesgo Químico - Accidentes Graves Fosforo de Aluminio. *Dirección General de Salud Pública.*, 1523–1524.

SHALLANGWA, G. A., UZAIRU, A., AJIBOLA, V. O., & ABBA, H. (2014). Theoretical Study of the Plausible Routes of the Oxidation of Ascorbic Acid by Iodine in the Gas Phase. *International Journal of Modern Chemistry*, 6(2), 96–109.

SKOOG, D.A.; WEST, D. M.; HOLLER, J. F.; CROUCH, S. R. (2006). *Fundamentos de química analítica*. (T. Learning, Ed.) (Tradução d). Brasil: São Paulo.

SKOOG, D.A.; WEST, D. M.; HOLLER, J. F.; CROUCH, S. R. (2009). *Fudamentos de Química Analítica*. (C. Learning, Ed.) (Tradução 8). Brasil: São Paulo.

SKOOG, D., HOLLER, J. F., & NIEMAN, T. (2002). *Princípios de Análise Instrumental*. (BOOKMAN, Ed.) (5ª Edição). Brasil: Porto Alegre.

SONG, . Z., SONG, W., QIAN, L., WANG, J. H., ZHANG, X. M., LÜ, X., & XIE, J. (2014). Synthesis of palladium nanoparticles on the surface of gold electrode for determination of dissolved oxygen in water. *International Journal of Electrochemical Science*, 9(12), 6843–6851.

SONKA, M.; HLAVAC, V.; BOYLE, R. (1999). *Image Processing, Analysis, and Machine Vision* (3a ed.). PWD Publishing: New York.

STERGIOU, Dimitrios V.; PRODRMIDIS, Mamas I.; EFSTATHIOU, C. E. (2010). On the possibility of a pH-metric determination of ozone. *Electrochemistry Communications*, 12(2), 262–265. <http://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.12.010>

TORNQUIST, J. (2008). *Color y luz: teoría y práctica*. (Barcelona, Ed.). Barcelona: Gustavo Gili.

VALENTE, A., GONÇALVES, T., SANCHEZ, A., & COSTA, H. S. (2011). Ascorbic acid content in exotic fruits : A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International Journal*, 44(7), 2237–2242. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.012>

VOGEL; JEFFERY, G. H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C. (1992). *Análise Química Quantitativa*. (Guanabara, Ed.) (5a ed.). Brasil: Rio de Janeiro.

WELLMAN, W; NOBLE, M. (2003). Greening the blue bottle. *Journal of Chemical Education*, 80(5), 2–5. <http://doi.org/10.1021/ed080p537>

ZAMPIER, L. (2017). *Desenvolvimento de métodos analíticos baseados na análise por imagens digitais para determinação de ozônio e hipoclorito em águas*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Viçosa.

ZHAO, Y.; ABBAR, S.; PHILLIPS, T.; SCHILLING, M. (2015). Phosphine fumigation and residues in dry-cured ham in commercial applications. *Meat Science*, 107, 57–63.

9. APENDICE

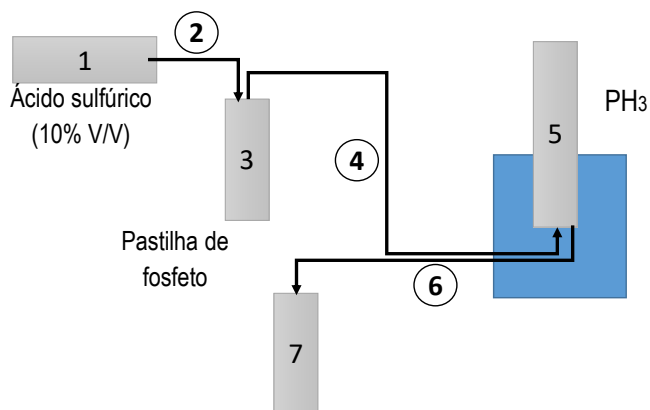


Figura 8. Sistema produtor e coletor de fosfina em menor escala. 3A. Montagem usada no laboratório. 3B. Diagrama esquemático do sistema em que: 1) é o injetador de ácido; 3) seringa com pastilha de fosfeto de alumínio e produtor de fosfina quando entra em contato com o ácido; 5) o coletor de fosfina e 7) o extrator de fosfina, pg 5.

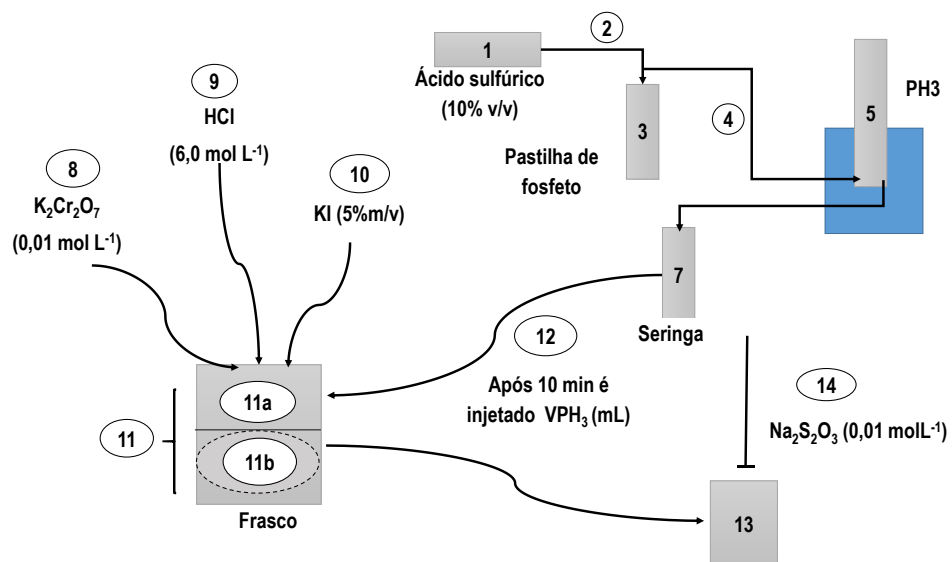


Figura 12. Diagrama esquemático por Etapas para a quantificação do número de mols de fosfina pelo método iodométrico, pg 24.

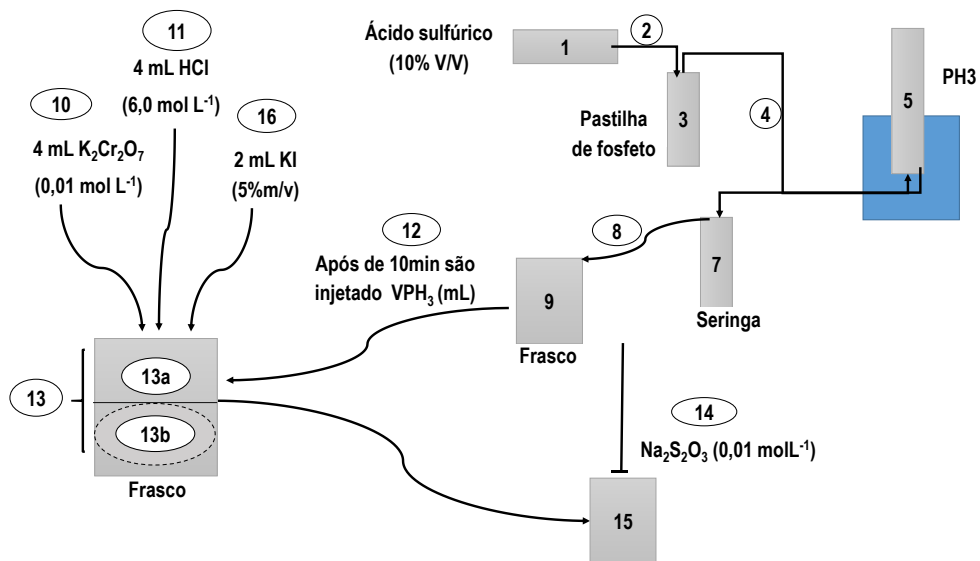


Figura 16. Diagrama esquemático com Etapa de homogeneização do gás fosfina para sua quantificação do número de mols pelo método iodométrico, pg 31.

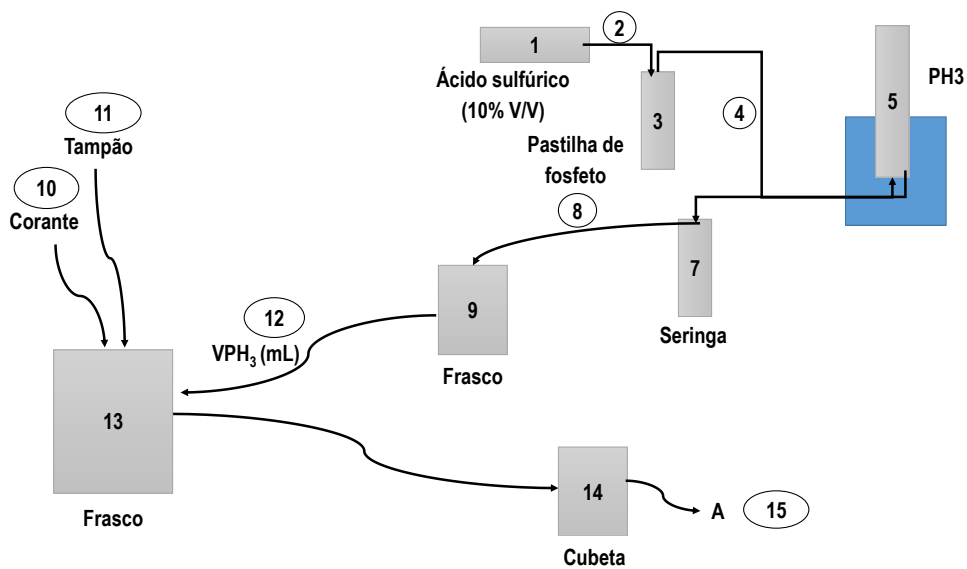


Figura 23. Diagrama esquemático para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico, pg 37.

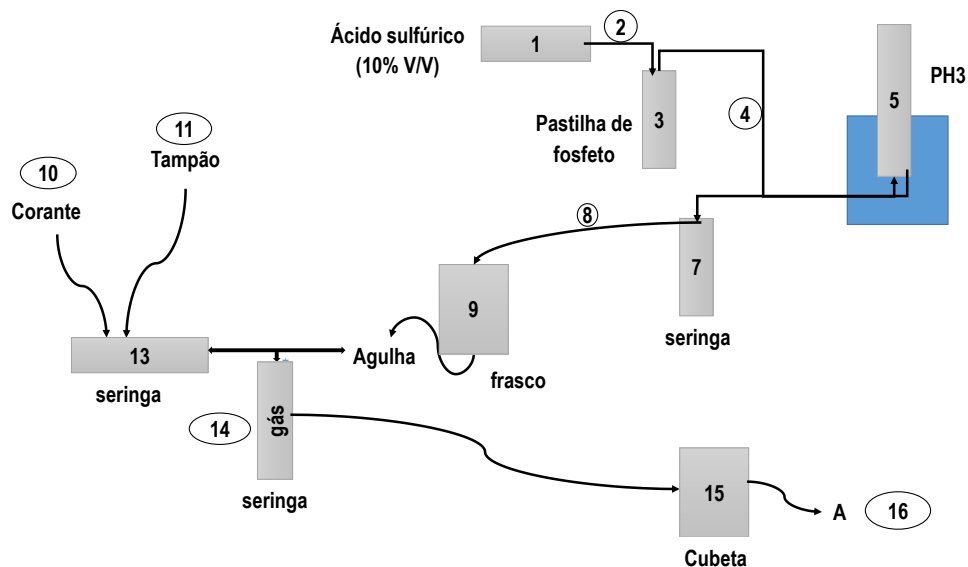


Figura 33. Diagrama do processo para quantificação de fosfina a partir da interação com azul de metileno em pH 9,0 pelo método espectrofotométrico, pg. 24.

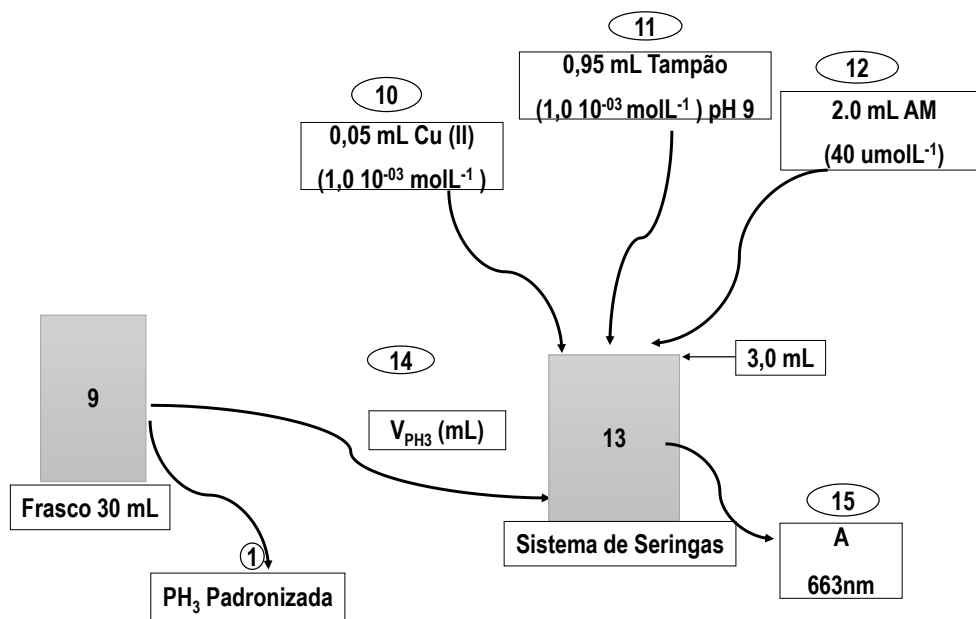
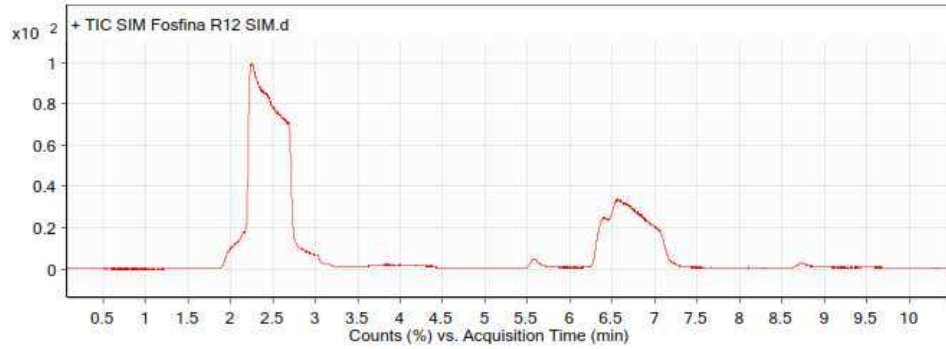


Figura 36. Diagrama esquemático por Etapas para a quantificação de fosfina pelo método espectrofotométrico na presença do ativador cobre(II), pg 51.

ANEXOS

Anexo 1 Injeção manual de 20 μ L de fosfina para monitoramento no modo SIM por CG - MS



Anexo 2 Injeção manual de 20 μ L de fosfina para monitoramento no modo SCAN por CG - MS

