UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE INSTRUMENTAÇÃO PARA
ELETROFORESE CAPILAR DE ZONA E ISOTACOFORESE
CAPILAR EM MICRODISPOSITIVOS DE TONER-POLIÉSTER**

CARLOS ANTONIO NEVES
TESE DE DOUTORADO

ORIENTADOR: CLAUDIMIR LUCIO DO LAGO

SÃO PAULO
2005

“Desenvolvimento de instrumentação para eletroforese capilar de zona e isotacoforética capilar em microdispositivos de toner-poliéster”

Carlos Antonio Neves

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química – Área: Química Analítica.

Aprovado por:

Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago
IQ-USP

Prof. Dr. Jonas Gruber
IQ-USP

Prof. Dr. Emanuel Carrilho
IQSC-USP

Prof. Dr. Pedro Antonio Muniz Vazquez
IQ-UNICAMP

Prof. Dr. Luiz Otávio Saraiva Ferreira
FEM-UNICAMP

SÃO PAULO

23 DE SETEMBRO DE 2005

Índice.....	I
Agradecimentos e Dedicatórias.....	II
Resumo.....	III
Abstract.....	IV
Glossário.....	V
Capítulo 1 - INTRODUÇÃO E OBJETOS.....	1-1
1.1 - Introdução.....	1-1
1.2 - Eletroforese Capilar (CE).....	1-2
1.3 - Modos de separação em CE.....	1-3
1.4 - Microeletroforese Capilar (MCE).....	1-4
1.5 - Isotacoforese capilar (CITP).....	1-5
1.6 - Mobilização.....	1-11
1.6.1 - Injeção eletrocinética.....	1-12
1.6.2 - Injeção hidrodinâmica.....	1-14
1.7 - Detecção condutométrica sem contato ou C ⁴ D.....	1-16
1.8 - Barramento de dados I ² C.....	1-18
1.9 - Interfaces de controle e software livre.....	1-22
1.10 - Objetivos.....	1-24
Capítulo 2 - MICROFABRICAÇÃO.....	2-1
2.1 - Dispositivos de toner-poliéster.....	2-1
2.1.1 - Layout e impressão.....	2-1
2.1.2 - Perfuração das folhas de poliéster.....	2-4
2.1.3 - Selagem.....	2-5
2.1.4 - Reservatórios obtidos por colagem de tubos.....	2-6
2.1.5 - Reservatórios obtidos por uso de mantas de silicone e um bloco de acrílico.....	2-7
2.1.6 - Preenchimento dos canais.....	2-9
2.2 - Discussão.....	2-10
2.3 - Conclusões.....	2-11
Capítulo 3 - MOBILIZAÇÃO.....	3-1
3.1 - Fonte de Alta-tensão monopolar.....	3-1
3.1.1 - Montagem.....	3-2

3.1.2 - Discussão.....	3-3
3.2 - Fonte de Corrente e Alta-Tensão bipolar.....	3-5
3.2.1 - Montagem.....	3-5
3.2.2 - Resultados e discussão.....	3-6
3.3 - Injetor hidrodinâmico.....	3-8
3.3.1 - Teoria.....	3-8
3.3.2 - Montagem do injetor hidrodinâmico.....	3-10
3.3.3 - Acionador do injetor hidrodinâmico.....	3-11
3.3.4 - Manômetro eletrônico.....	3-12
3.3.5 - Calibração do manômetro eletrônico.....	3-13
3.3.6 - Calibração do injetor.....	3-15
3.3.7 - Resultados e Discussões.....	3-16
3.3.8 - Aplicação do injetor hidrodinâmico em CZE.....	3-20
3.4 - Conclusões.....	3-22
Capítulo 4 - DETECÇÃO.....	4-1
4.1 - Detecção usando C ⁴ D.....	4-1
4.1.1 - O circuito.....	4-1
4.1.2 - Discussão.....	4-3
4.2 - Eletrodos de PCB para C ⁴ D.....	4-4
4.2.1 - Eletrodos de PCB – versão 1.....	4-4
4.2.2 - Eletrodos de PCB – versão 2.....	4-5
4.2.3 - Discussão.....	4-5
4.3 - Conclusões.....	4-6
Capítulo 5 - CONTROLE E APLICAÇÃO.....	5-1
5.1 - Hardware.....	5-1
5.1.1 - Interface I ² C.....	5-1
5.2 - Softwares.....	5-3
5.2.1 - Programa para controle da fonte de corrente e tensão usando a biblioteca Comedi – Apêndice A.....	5-3
5.2.2 - Programas para o sistema de injeção hidrodinâmica - Apêndice B.	5-4
5.2.3 - Programa para CZE e CIP – Apêndice C.....	5-4
5.3 - Aplicações.....	5-5

5.3.1 - Eletroforese capilar em microchip (MCE) – versão 1.....	5-5
5.3.2 - Eletroforese capilar em microchip (MCE) – versão 2.....	5-7
5.3.3 - Isotacoforese em microchip (MITP).....	5-8
5.4 - Resultados e discussão.....	5-10
5.4.1 - Interface I ² C.....	5-10
5.4.2 - Testes com eletroforese capilar em microchips – versão 1.....	5-10
5.4.3 - MCE com mantas de silicone – versão 2.....	5-16
5.4.4 - Isotacoforese capilar em microchips (MCITP).....	5-16
5.5 - Conclusões.....	5-20
Capítulo 6 - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	6-1
Apêndices	
iv_source_prog.c.....	Apêndice A
v_bomba.c.....	Apêndice B
gdaqlaia_ivsource_MCE.c.....	Apêndice C
daqlaia_dio_write.c.....	Apêndice D
Cálculo da integral da pressão pelo tempo de injeção	Apêndice E
Curriculum Vitae	

Agradecimentos e Dedicatórias

Esse trabalho só faz sentido pela existência das pessoas ao meu redor. Aqui coloco meus agradecimentos fora de ordem, pois não há uma ordem. Agradeço àqueles que estiveram ao meu lado durante esse trabalho de doutorado e contribuíram de alguma forma para a sua realização.

Quero agradecer de coração a todos os meus amigos e amigas da minha segunda casa (que atualmente, é a minha primeira casa: o laboratório): Dosil, Alberto, Lucia Helena (Lu), Daniela (Dan), Socorro, Blanes (PC), Tiago (BL), Eduardo (Du), Heron, Zé, Miyuki (Miuka), Escobar, Fernando (Fefeu), Eric (Pop)...

Aos professores Ivano G. R. Gutz e Lúcio Agnes pelo convívio prazeroso e instrutivo.

Aos grandes amigos e amigas do instituto Danilo, Wilson, Guilherme (Frodo), Vesper, Gustavo (Mauá), Vitor, Bruno, Tathy, Hidro...

Ao meu time de futebol do coração: “Clube Atlético de Regatas Grêmio Recreativo Escola de Samba e Entidade Acadêmica Unidos do Seu Madruga” ou ... “Seu Madruga”.

As mulheres mais importantes do Instituto de Química: Maria de Jesus Ap. Massoni e Mirian Mirtes de Moura, funcionárias da copa. Sem elas muitas idéias importantes não teriam surgido pelas idas ócio-criativas ao doce e delicioso café do bloco 6.

Ao pessoal da seção de pós-graduação que sempre fui bem atendido e sempre resolveram minhas solicitações.

Aos pais da Renata, Flávio e Regina, por terem me tratado tão bem.

A Texas Instruments por ter fornecido as amostras necessárias para a realização das montagens eletrônicas.

A Fapesp por ter suportado esse projeto sem o qual ele não teria sido realizado.

A todos os envolvidos na comunidade de software livre que fazem deste mundo um lugar melhor de se viver.

E aqueles que tenho esquecido o nome, mas sabem, ou não, que contribuíram para esse trabalho.

As palavras me faltam para agradecer a todos vocês.

A Deus e a todos Aqueles que me acompanham.

Ao meu pai, Antonio, que diz tanto com tão pouco. À minha mãe, Maria, pela sopa de todas as noites. À minha irmã, Simone, pelos divertidos momentos.

A minha segunda mãe, Adélia, pelo amparo dos momentos difíceis.

Aquela que acredita em mim, Renata Saito.

Ao meu pai científico, Claudimir, pela sua paciência e por ter acreditado em mim. Parte do que sou hoje devo a ele e ao seu estilo de orientação.

A eletroforese capilar em microchips (μ CE ou MCE) é uma forma diferente de eletroforese capilar que tem se desenvolvido muito nos últimos anos. Essa técnica usa microdispositivos feitos em placas que podem ser de vidro ou polímero contendo canais de dimensões micrométricas ao invés de um capilar de sílica. Ganhos significativos têm sido obtidos em termos de tempo de análise, volume manipulado, dimensões físicas, consumo energético e integrabilidade com outros sistemas.

Neste trabalho foi empregada uma técnica diferente de microfabricação, usando toner de impressora laser e folhas de transparência para a construção de dispositivos para microfluídica. A técnica se mostra simples, rápida e excelente para prototipagem. Visando a aplicação desses microchips de toner-poliéster, esse trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de instrumentação para separações químicas usando microdispositivos de toner-poliéster.

Fontes de alta-tensão e de corrente foram desenvolvidas usando módulos conversores de baixa para alta-tensão elétrica. As programações das fontes foram feitas usando tensões elétricas geradas por uma placa de aquisição de dados ou por um conversor digital-analógico (DAC) com uma interface de comunicação I²C. Todo o controle foi desenvolvido em sistema GNU/Linux.

Um sistema de injeção hidrodinâmico também foi desenvolvido usando um compressor de ar de diafragma juntamente com um sistema de amortecimento pneumático de pulsações e tendo sua pressão interna estabilizada por uma coluna d'água. Um medidor de pressão eletrônico foi desenvolvido, usando um sensor de pressão, e calibrado com um manômetro de coluna d'água. Registros de pressão de -10, -1, +1 e +10cm de coluna d'água em função de diferentes tempos de injeção foram feitos usando um software controlando o acionamento do injetor hidrodinâmico e efetuando leituras do medidor de pressão eletrônico. Os dados mostram que colunas d'água de 10cm e tempos de injeção maiores que 3 segundos exibem um desvio padrão relativo (RSD) de aproximadamente 0,5% em módulo.

Uma proposta diferente de construção de reservatórios é apresentada. Tal proposta usa mantas de silicone e um bloco de acrílico para a definição dos reservatórios. Observou-se que essa configuração promove o estrangulamento dos canais nas microestruturas de toner-poliéster. Assim, a configuração de colagem de

reservatórios por pedaços de tubos, mostrou-se melhor para uso com dispositivos de toner-poliéster descartáveis.

Uma nova forma de confecção de eletrodos para detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (C^4D) foi desenvolvida usando placas de circuito impresso (PCB). Após a confecção dos eletrodos pelo processo de corrosão de PCB a placa foi recoberta com uma resina para que os espaços entre os eletrodos ficassem da mesma altura da camada de cobre. Essa configuração é simples e permite uma maior integração de circuitos eletrônicos.

Testes de separação eletroforética foram feitos usando a instrumentação desenvolvida neste trabalho. Soluções de $100\mu M$ dos cloretos de K^+ , Na^+ e Li^+ dissolvidos em tampão HLac/His 2mM foram usadas para os testes. Essas espécies foram injetadas eletrocineticamente e separadas usando tampão HLac/His 20mM. A quantificação não foi possível por apresentar irreprodutibilidade no processo de injeção devido ao uso de espécies de elevada mobilidade, juntamente com longos canais de injeção. Também foram realizados testes com amostras de sangue permitindo a separação de K^+ e Na^+ sem pré-tratamento.

Separações isotacoforéticas de 1mM dos cloretos de K^+ , Na^+ e Li^+ e 1mM de HCl, como eletrólito líder, e 1mM de cloreto de tetrametilamônio, como terminador, foram realizadas para demonstrar a funcionalidade do sistema em sistemas isotacoforéticos.

The Microchip Capillary Electrophoresis (μ CE or MCE) is a different kind of capillary electrophoresis that has been growing. This technique uses devices made with small plates of glass or polymer with a microchannel instead of a silica capilar. Improvements in time analysis, sample volumes, physical dimensions, power consume, and integrability with diferent systems have been archieived.

A diferent microfabrication technique using laser printer toner and polyester sheets was used to build devices for microfluidic devices. This tecnique is simple, fast and suitable for prototyping. In this work were developed instruments for use with these toner-polyester microdevices.

High-voltage and current sources were developed using high-voltage conversors (DC/HVDC). The programming was obtained by electric voltages from a data acquisition board and a digital-analogic conversor (DAC) with a I²C interface communication. Its control was made in a GNU/Linux System.

An hidrodynamic injector was developed using an air compressor with a pulse dumper. The internal pressure was regulated by water column. An electronic manometer was built and calibrated with a water manometer. Recording of pressure using -10, -1, +1, and +10cm water column using different injection times were acquired with a data acquisition system. The data show that when water columns of ca. 10cm and injection times greater than 3 seconds are used, the relative standard deviation (RSD) is about 0.5% in modulus.

A different way to build vials is presented. This method uses a silicone mantle and plastic glass block with holes. As a result, channels are stragled due to the poliester sheets.

A new way to build electrodes for capacitively coupled contactless conductivity detection (C⁴D) using printed circuit boards (PCB) is shown. After the corrosion of the copper board, varnish is applied on the board to planify its surface. This configuration is simple and allows good integrability with the electronic circuit.

Electrophoretic tests using the instrumentation developed was performed by separation of 100 μ M K⁺, Na⁺ and Li⁺ solutions in 2mM HLac/His buffer. This solutions were injected by electrokinetic method and separated using 20mM HLac/His buffer under high-voltage. The three species were detected but not quantified due to irreprodutibilities of the electrokinetic injection with high mobility ions.

Abstract

Demonstrative separations of K^+ and Na^+ were made with the same chemical system and blood samples without pretreatment.

Isotacophoretic separations of 1mM K^+ , Na^+ , and Li^+ in 1mM HCl (leader electrolyte) and 1mM tetramethylammonium (terminate electrolyte) were carried out to demonstrate the system functionality.

- ADC** - Conversor analógico-digital (analogic-digital converter).
- BIOS** - Sistema básico de entrada e saída (Basic Input-Output System).
- C⁴D** - Detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection).
- CCD** - Detecção condutométrica sem contato (Contactless Conductivity Detection).
- CE** - Eletroforese capilar (Capillary Electrophoresis).
- Chip** - Nesse trabalho refere-se à um sistema com um certo grau de integração de subdispositivo voltado para análises químicas.
- CITP** -- Isotacoforese capilar (Capillary Isotachophoresis).
- CLI** - Interface de linha de comando (Command Line Interface).
- DAC** - Conversor digital-analógico (digital-analogic converter).
- DIO** - Entrada e saída digital (digital input-output).
- EOF** -- Fluxo eletroosmótico (Electroosmotic Flow).
- GND** - Abreviação para terra ou massa (ground).
- GNU** -- GNU is Not a Unix.
- GPIO** - Entrada e saída de uso geral (Generic Purpose Input-Output).
- GUI** - Interface gráfica de usuário (Graphic User Interface).
- HV** - Alta-tensão elétrica (High-Voltage).
- I²C** - Circuito inter-integrados (Inter Integrated Circuits).
- kernel** - Termo usado para se referir a peça de software de um sistema operacional responsável pelo acesso dos programas ao hardware.
- Lab-on-a-Chip** - Termo que se refere à sistemas com todos os passos de uma análise em um único chip.
- Linux** - kernel do sistema operacional escrito por Linus Torvald.
- MCE ou μ CE** - Eletroforese Capilar em Microchip (Microchip Capillary Electrophoresis).
- MCITP** - Isotacoforese em Microchip (Microchip Capillary Isotachophoresis).
- Microchip** - Vide chip.
- μ TAS** - Micro Sistema de Análise Total (Micro Total Analysis System).
- NiMH** --Hidreto metálico de níquel (Nickel Metal Hydride). Tecnologia usada para baterias recarregáveis.
- OP** - Amplificador Operacional (Operational Amplifier).

PC - Computador pessoal (Personal Computer).

PCB - Placa de Circuito Impresso (Printed Circuit Board).

RSD - desvio padrão relativo (Relative Standard Deviation).

shell - Interpretador de comandos. Interface de comunicação entre usuário e o kernel.

script - Sequência de comandos específicos para um determinado interpretador.

SMD - Dispositivos de montagem de superfície (Surface Mounting Device).

stdin - Entrada padrão (standard input). Refere-se ao teclado.

stdout - Saída padrão (standard output). Refere-se ao monitor do computador.

TWI - Interface de dois fios (Two Wire Interface).

Vcc - Tensão de alimentação do circuito.

Vpp - volts pico-a-pico.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO E OBJETOS

1.1 - Introdução

Observamos um aumento cada vez maior no grau de integração de subsistemas de monitoramento e controle, tornando-os mais autônomos e de custo reduzido. Podemos citar como exemplo os sensores desenvolvidos pela indústria de microeletrônica. No início, somente os sensores eram montados no *die*¹ do chip de silício. A saída de tais dispositivos eram apenas tensões elétricas proporcionais as propriedades medidas. Com o a melhoria dos processos de microfabricação e a maior integração da eletrônica, incorporaram conversores (analógico-digital e digital-analógico), memórias dos mais diferentes tipos e barramentos de comunicação para interfaceamentos. Tudo isso leva na direção de sistemas portáteis de baixo consumo energético, baixa probabilidade de erros e também de baixo custo.

A área de química analítica simultaneamente, em particular a eletroforese capilar (CE), tem experimentado microcanais obtido das técnicas de microfabricação em diferentes tipos de substratos poliméricos e de vidro, ao invés de usar capilares de sílica. Ganhos significativos em termo de tempo de análise, volume de amostra, dimensões do equipamento e consumo energético tem sido obtidos. Como resultado, surgiu a possibilidade de se integrar todas as etapas de uma análise química em um único dispositivo. Dois termos destacam esse conceito de integração: Micro Total Analysis System (μ TAS) e Lab-on-a-Chip. Em essência, possuem o mesmo significado e almejam agrupar todas as etapas do processo de

1 Pastilha de silício que contém os circuitos microeletrônicos.

análise (preparo de amostra, injeção, mistura, separação, detecção e outras dependendo da complexidade do sistema) em um único chip.

Na literatura científica, podemos encontrar vários tipos de materiais estruturais usados na confecção dos microchips de separações químicas sendo basicamente vidro e polímeros [1]. Grandes centros de pesquisa estão investindo na construção de sistemas CE portáteis, como é o caso da Sandia com seu aparelho de mão para análise de proteínas e detecção fluorimétrica induzida por laser [2]. As técnicas são variadas e diferem das necessidades do usuário, sejam para prototipagem ou para produção em grande escala. Os materiais poliméricos são os de maior interesse devido ao baixo custo de fabricação, possibilitando a construção de dispositivos descartáveis em grande quantidade e com alta reprodutibilidade [3].

Dentre as técnicas de microfabricação, uma voltada para o desenvolvimento de microchips descartáveis usa toner de impressora laser e folhas de apresentação chamadas de transparências em sua confecção [4]. Essa técnica abre novas perspectivas em termos de prototipagem e desenvolvimento de sistemas descartáveis.

1.2 - Eletroforese Capilar (CE)

Uma técnica analítica usada para separações químicas que tem se destacado nos últimos anos é a eletroforese capilar [5][6][7][8][9][10][11]. Com seu amadurecimento, a área científica vem experimentando melhorias em diferentes pontos, gerando sistemas mais eficientes e usando volumes pequenos.

CE é uma técnica de separação que não é mais considerada como estado da arte. Atualmente encontra-se bastante difundida a ponto de encontrarmos capítulos sobre o assunto em livros textos de química analítica [9]. Também podemos encontrar artigos com o intuito de divulgação da técnica [6][7].

Com relação à instrumentação, a simplicidade da montagem permite que uma pessoa com conhecimentos de eletrônica possa montar o seu próprio equipamento. Isso possibilita adaptações e novas experimentações explorando formas diferentes de uso da técnica.

Um equipamento de eletroforese capilar é composto basicamente por quatro elementos: um canal de separação, uma fonte de alta-tensão, um detector e um

Fig. 1.1 - Representação de um sistema eletroforético básico.

sistema de termostatização (Fig. 1.1).

O canal de separação tanto pode ser um capilar de sílica fundida como um microcanal feito em um substrato, com um diâmetro interno da ordem de 20 a 100 μ m. Para seu uso, é preenchido com um eletrólito (normalmente uma solução tampão) e com suas extremidades em contato com recipientes contendo o mesmo eletrólito. Cada recipiente possui eletrodos metálico inertes e conectados à uma fonte de alta tensão podendo gerar um campo elétrico de aproximadamente 500V/cm nas extremidades do canal de separação. O detector pode ser qualquer dispositivo que possa registrar variações vindas do meio. Pode ser basicamente óptico, eletroquímico ou de massa. Por fim, um sistema de termostatização responsável pela dissipação de calor desenvolvido no capilar devido a corrente eletroforética. Há várias formas de se promover a termostatização do ambiente, sendo mais comum o uso de ar, líquido refrigerante não condutor e *peltier*.

1.3 - Modos de separação em CE

Existem basicamente três modos de operação quando falamos em separação eletroforética [6][11]. Cada modo possui um mecanismo próprio de separação que

a torna mais adequada para uma certa aplicação. O primeiro é o modo de zona em que fazem parte as técnicas de eletroforese capilar de zona (CZE), eletroforese capilar em gel (CGE) e cromatografia eletrocinética micelar (MEKC). Esse modo é caracterizado pela inserção de um pequeno segmento de amostra (menor que 1% do comprimento do tubo capilar) que, em função do campo elétrico, separa as espécies em bandas ou zonas. O segundo seria o de focalização onde podemos encontrar a focalização isoelétrica capilar (CIEF). Nela, há um gradiente de pH dentro do capilar e as espécies da amostra irão migrar até que cada uma delas alcance o ponto isoelétrico (PI). Quando as espécies alcançam esse ponto, dizemos que elas estão focalizadas. O último é o modo de fronteira móvel onde podemos encontrar a isotacoforese (ITP). Nela a amostra é cercada por um eletrólito líder, de maior mobilidade, e um terminador, de menor mobilidade, e todas as espécies migram com a mesma velocidade sob corrente eletroforética constante.

1.4 - Microeletroforese Capilar (MCE)

A eletroforese capilar ganhou novos rumos com o desenvolvimento das técnicas de microfabricação. Atualmente, há um número grande dessas técnicas para os mais diferentes tipos de substratos. Entre eles, placas de silício, sílica e materiais poliméricos como PMMA e PMDS [1][3][12][13].

Nosso grupo de pesquisa tem feito contribuições na área de microfabricação sendo uma delas uma técnica desenvolvida por Claudimir L. do Lago e colaboradores baseada no uso de folhas de transparência e toner de impressora laser [4]. Esses microchips de toner-poliéster são obtidos usando folhas de transparência, normalmente usadas em apresentações e com um desenho de um microchip obtido por meio de uma impressora laser normalmente encontrada em qualquer escritório. Em seguida, promovendo o aquecimento de um sanduíche de duas folhas de transparência com o desenho de toner entre elas, e tendo uma das folhas perfurada previamente para a entrada da solução, obtém-se o microdispositivo pela fusão do toner. Eles são fáceis de serem feitos, gastam aproximadamente 1 hora para serem obtidos, são descartáveis e prestam-se muito bem para trabalhos de prototipagem e análises químicas. Essa é uma proposta diferente daquela feita por Tan e colaboradores onde o toner é usado para formar

canais em substrato de PMDS [14].

1.5 - Isotacoforese capilar (CITP)

A CITP não é um dos modos mais simples e, atualmente, é um dos menos utilizados para análises perdendo para CZE. As aplicações são variadas como compostos em fluídos corpóreos, tecidos, análise de alimentos, drogas, amostras industriais e de agricultura [15]. Apesar de só podermos trabalhar com espécies que apresentam carga, há a vantagem de se conseguir o efeito da pré-concentração para espécies diluídas.

Um dos veteranos dentro da área de isotacoforese em microchips é Graß e colaboradores [16][17] usando microestruturas de polimetilmetacrilato (PMMA) com detecção condutométrica com contato para a detecção de vários ânions. Na revisão de Collins e Willauer [18] há uma tabela mostrando quais analitos, tampões, tipo de detecção, tipo de eletrodo, limite de detecção, material do chip e a referência, são usados com microestruturas. Na revisão de Kaniansky e colaboradores [19] há uma discussão sobre ITP e CZE e sobre o acoplamento dessas duas técnicas.

O termo isotacoforese nos diz que a velocidade das espécies eletricamente carregadas sob ação de um campo elétrico (forese) se dá a uma velocidade (taco) constante (iso). Para se realizar uma separação isotacoforética, usa-se um eletrólito líder na frente do segmento de amostra, que possui mobilidade aparente superior em relação às espécies da amostra, e um eletrólito terminador atrás da amostra, que possui mobilidade aparente inferior às espécies da amostra. Outro ponto importante é que não haja EOF para que não acarrete em dificuldades na determinação das mobilidades das espécies. No entanto, é possível fazer tais análises sob ação do EOF.

Vamos supor um sistema simples composto apenas de um eletrólito líder L, uma amostra X e um eletrólito terminador T com a seguinte relação de mobilidades efetivas constantes.

$$|\mu_T| < |\mu_X| < |\mu_L| \quad 1.1$$

Durante o período de aplicação da corrente elétrica constante, surge um campo elétrico devido a alta-tensão aplicada nas extremidades do canal que promove a mobilização das espécies carregadas. Caso a espécie X, que possui uma

certa mobilidade, entre na banda L, de mobilidade maior, a espécie X será desacelerada devido ao campo elétrico ser menor nessa região resultando em seu retorno à banda de origem. Já se a espécie X sofrer um atraso e entrar na banda T, de baixa mobilidade, esta espécie será acelerada por sentir um campo elétrico maior e retornará à sua banda de origem. As fronteiras móveis irão se manter focalizadas e seus movimentos serão dados por

$$\frac{\mu_L}{\kappa_L} = \frac{\mu_X}{\kappa_X} = \frac{\mu_T}{\kappa_T} = W_{iso} \quad 1.2$$

onde as mobilidades efetivas das espécies pelas suas respectivas condutividades κ apresentam uma certa quantidade W_{iso} constante para todas as bandas. Essa quantidade é uma taxa dada pelo volume de uma banda da espécie i (V_i) arrastado e dividido pela unidade de carga Q_i da espécie i dentro da banda.

$$W_{iso} = \frac{V_i}{Q_i} \quad 1.3$$

Usando a equação que relaciona a densidade de carga (corrente eletroforética I pela seção de corte S) com o campo elétrico E e a condutividade κ

$$\frac{I}{S} = E \cdot \kappa \quad 1.4$$

e a equação da velocidade média de uma espécie (v) com a quantidade W_{iso} e a densidade de carga (corrente eletroforética I pela área da seção de corte S),

$$v = W_{iso} \cdot \frac{I}{S} \quad 1.5$$

podemos converter a equação 1.2 para o modo de velocidade média de migração

$$v_{iso} = v_L = v_X = v_T \quad 1.6$$

ou

$$v_{iso} = E_L \mu_L = E_X \mu_X = E_T \mu_T \quad 1.7$$

onde temos que as velocidades do líder (v_L), da amostra (v_X) e do terminador (v_T) são iguais à velocidade v_{iso} . Também podemos dizer que a equação 1.5 relaciona a transferência de carga com a transferência de massa do processo de separação. Uma representação esquemática da variação de algumas propriedades em função da posição dentro do canal de separação encontra-se na Fig. 1.2. Um detalhe interessante da separação é que o segmento da amostra tem o seu volume

Fig. 1.2 - Representação esquemática simplificada de uma separação isotacoforética de cátions. (a) canal preenchido com eletrólito líder L^+ com a fonte de corrente I desligada. (b) introdução de um segmento de amostra contendo uma espécie X^+ . (c) colocação do eletrólito terminador T^+ e posterior acionamento da fonte de corrente I promovendo a mobilização das bandas. (d) final da separação da banda X^+ tendo seu comprimento alterado para que a concentração de X^+ se ajuste à concentração do eletrólito líder L^+ . Gráficos da mobilidade μ , do campo elétrico E e da condutividade κ associados às bandas ao fim da separação.

alterado de tal forma a apresentar uma concentração relacionada à concentração do eletrólito líder.

As informações quantitativas podem ser obtidas pelo registro de alguma propriedade em função de sua posição dentro do capilar supondo seção de corte S do canal de separação constante. Outra forma é pelo registro da propriedade em função do tempo. Como todas as bandas migram com mesma velocidade podemos usá-la para determinar o comprimento da banda em função do tempo.

Uma característica de um sistema isotacoforético é a dependência da concentração das espécies da amostra e do eletrólito terminador em relação à concentração do eletrólito líder. Na Fig. 1.3 as alturas das bandas representam suas concentrações ao longo do canal de separação. Portanto, são gráficos em diferentes instantes.

Como pode ser visto na Fig. 1.3a, a concentração amostra X1 é menor que a

Fig. 1.3 - Efeito da concentração de três eletrólitos em função da posição dentro do canal de separação: Líder (L), Amostra (X) e Terminador (T). (a) Situação inicial, (b) durante a formação de bandas de diferentes concentrações da espécie X e (c) ao fim da separação.

concentração do líder L, que por sua vez é menor que a concentração do

terminador T1. Quando promovemos a passagem de uma corrente constante, as concentrações das bandas da amostra e do terminador se ajustam em relação à concentração do líder. A banda X1 sofre redução de volume e forma uma nova banda X2 de concentração maior, pois apresentava uma concentração menor que a do líder. Com relação ao terminador, uma banda T2 é formada com concentração menor, pois inicialmente, apresentava uma concentração maior que a do líder (Fig. 1.3b). Ao fim da separação isotacoforética, todo o material da banda X1 foi movido para a banda X2 para o seu ajuste de concentração. Já o terminador apresenta 3 bandas. A banda T1 é a banda inicial antes do ponto de injeção. A banda T3 possui concentração ajustada em relação ao líder. No entanto, para sua formação, uma transferência de material da banda anterior ocorreu causando a formação da banda T2 de concentração menor. Nessa condição, a banda da amostra X apresentará a seguinte relação,

$$C_X = C_L \cdot \frac{\frac{\mu_X}{(\mu_X + |\mu_C|)} \frac{1}{Z_X}}{\frac{\mu_L}{(\mu_L + |\mu_C|)} \frac{1}{Z_L}} \quad 1.8$$

onde o índice C corresponde ao contra íon e z à carga do íon. Sendo as mobilidades efetivas constantes, podemos escrever que:

$$C_X = k_X \cdot C_L \quad 1.9$$

Quando as mobilidades forem similares e apresentarem a mesma carga ($k_X=1$), a concentração da amostra A será a mesma do eletrólito líder.

Já a identificação das espécies é feita pelo eixo das ordenadas em função da posição dentro do canal de separação em estado estacionário. Há várias formas de se fazer essa identificação e cada forma é dependente do tipo de detecção.

Há vários tipos de detectores para ITP. De uma forma geral, os detectores universais são os mais adequados devido à descontinuidade do campo elétrico e da condutividade das bandas de separação. Nesse caso se enquadram os de gradiente de potencial, de condutividade e termométricos. Também se faz detecção com detectores específicos como UV-Vis mas nesse caso somente as espécies de interesse serão detectadas em modo direto.

No caso de detecção condutométrica, o que importa é a variação da altura

das bandas em relação ao do eletrólito líder. Para a determinação da mobilidade efetiva da espécie X devemos usar duas espécies conhecidas. No caso, uma delas pode ser o próprio eletrólito líder e o outro uma espécie conhecida chamada de B (Fig. 1.4). Isso se faz necessário pelo fato de não se saber a posição do zero verdadeiro do sistema de detecção e por derivas de linha base devido a parte elétrica.

A equação a ser usada para esse caso é a 1.10.

$$\frac{1}{\mu_X} = \frac{1}{\mu_L} + \left(\frac{1}{\mu_B} - \frac{1}{\mu_L} \right) \cdot \frac{h_X}{h_B} \quad 1.10$$

É possível encontrar na literatura [15] tabelas relacionando a quantidade $\frac{h_X}{h_B}$.

Fig. 1.4 - Determinação da mobilidade efetiva da espécie X usando o eletrólito líder L como referência e mais uma espécie B de mobilidade efetiva conhecida.

Até o momento dessa apresentação da técnica, mostramos a separação de cátions na ausência de EOF. No entanto, podemos efetuar separações isotacoforética de cátions e de ânions com ou sem EOF (Fig. 1.5). Nessa figura, as setas verticais rotuladas de D e I referem-se a ponto de detecção e ao ponto de injeção respectivamente. Também estão representadas as bandas já em estado estacionário e apresentando uma velocidade isotacoforética média v_{ITP} . As separações sem a interferência do EOF nos permitem determinar a mobilidade efetiva das espécies simplificando o nosso caso. Isso é possível usando um capilar de TEFLON® ou efetuando-se alguma modificação química do interior do canal de separação. Determinações na presença de EOF também são possíveis, mas apresentam um grau maior de complexidade.

Fig. 1.5 - Modos de separação isotacoforéticos.

1.6 - Mobilização

Quando falamos de mobilização, podemos falar tanto do fluído como também das espécies dissolvidas no meio. Podemos citar injeções de amostras, controle de fluxo, separações e misturas. Duas formas muito comuns de mobilização são obtidas por campo elétrico e por pressurização. Essas duas formas são normalmente chamadas de injeção eletrocinética e hidrodinâmica.

A mobilização por campo elétrico é bastante atraente devido à sua simplicidade de implementação e se vale do efeito eletroforético e ou do efeito eletroosmótico. Para tal, basta que se use uma solução com um certo conteúdo, sendo normalmente iônico, e com o meio preenchido com um tampão em um certo pH para que promova a dissociação dos grupos silanóis. A montagem exige eletrodos inertes e uma fonte de alta-tensão. Contudo, no caso da injeção de amostras, a mobilização não é uniforme para todas as espécies, pois depende de suas mobilidades individuais. Para se ter um segmento representativo da amostra é necessário uma mobilização por pressão.

Como as dimensões dos canais são reduzidas, a pressão pode ser elevada devido à restrição a passagem de fluxo gerada pelos microcanais. Como consequência, pode ocorrer o rompimento da selagem. Também há o problema do

rompimento da colagem do recipiente de solução com o microdispositivo devido à fadiga.

Dentre as atividades que são realizadas em uma análise com microchips, a injeção é uma delas podendo o processo ser eletrocinético ou hidrodinâmico.

Em microchip, diferentemente da CE que possui um único canal devido ao capilar de sílica, podemos construir vários canais de separação em uma única placa. Os modelos mais simples de microdispositivos são aqueles semelhantes a uma cruz onde o canal maior é o de separação e o menor o de injeção. O ponto de cruzamento determina a região do segmento de amostra a ser injetado para dentro do canal de separação.

Podemos encontrar vários tipos de técnicas de injeção [20], sendo três os mais utilizados (Fig. 1.6). As setas indicam o caminho que a amostra faz durante o processo de preenchimento (carga) do segmento de amostragem. O tamanho do segmento determina a quantidade de material a ser inserida do canal de separação. Já a quantidade de amostra injetada usando o segmento do tipo T simples é definida pelo tempo de injeção. Devem ser considerados também os efeitos difusionais para longas injeções principalmente em amostrar contendo íons de alta mobilidade.

Fig. 1.6 - Tipos de canais de injeção: (a) cruz, (b) T duplo e (c) T simples.

1.6.1 - Injeção eletrocinética

O princípio da mobilização eletrocinética está baseado no fenômeno da eletroforese. Desta forma, apenas as espécies que apresentam carga sob as

condições do experimento poderão ser injetadas. A equação 1.11 descreve a quantidade de material injetado ($n_{injetado}$) para dentro de um canal [21].

$$n_{injetado} = \mu_{ap} \left(E \frac{k_t}{k_{am}} \right) A C t \quad 1.11$$

Nessa equação, $n_{injetado}$ é o número de moles injetado de uma espécie para dentro de um canal cilíndrico, μ_{ap} é a mobilidade aparente da espécie a ser injetada (soma da mobilidade efetiva μ_{ef} com a mobilidade do fluxo eletroosmótico μ_{oef}), A é a área da seção do canal, C é a concentração da espécie e t é o tempo de injeção. O termo entre parênteses é chamado de campo elétrico efetivo dado pelo vetor campo elétrico E e a razão das condutividades entre o tampão k_t e a amostra k_{am} [6][9]. A injeção eletrocinética é largamente usada em microchips principalmente para moléculas de baixa mobilidade [1][13].

Tomando como exemplo uma microestrutura em forma de cruz, podemos ter três tipos de injeção eletrocinética: (a) Pinched Injection, (b) Floating Injection e (c) Simplest Injection (Fig. 1.7). O primeiro tipo, Pinched Injection, é usado quando não se deseja que a mostra entre no canal de separação provocando alguma contaminação ou algum sinal de fundo durante o processo de carga. Desta forma, tanto durante o processo de injeção como de separação é necessário o uso de no mínimo duas fontes de alta-tensão. Já o segundo, Floating Injection, é um pouco mais simples no processo de injeção. No entanto, também se faz necessário pelo menos duas fontes para que ocorra a separação e a entrada de tampão de corrida para dentro do canal de amostra durante a separação evitando contaminação. Já o terceiro, Simplest Injection, como o próprio nome já diz, é o mais simples em termos de implementação, pois é preciso apenas uma fonte de alta-tensão para ambos os processos. O primeiro modo é recomendado para sistemas em que não deve ocorrer entrada de amostra para dentro do canal de separação durante o processo de injeção e de separação. No entanto, a quantidade de material injetado por esse método é menor devido ao processo de *pinching* resultando em um sinal menos intenso. Já o segundo permite a injeção de segmentos maiores de amostra. O terceiro apresenta o pior dos resultados, mas é o mais simples em termos de instrumentação [22].

Na literatura é comum encontrar trabalhos sobre simulações do processo de injeção [20]. No entanto, são consideradas espécies de baixa mobilidade como Rodaminas ou a Fluoresceína tendo valores próximos do EOF ($-1,65 \times 10^{-8}$ e $-3,3 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para Rodamina 100 e Fluoresceína respectivamente, em pH 9) [23]. Os

Fig. 1.7 - Exemplo de tipos de injeção em microcanais para cátions: (D) ponto de detecção e (F) potencial flutuante. O tamanho das setas no interior dos canais representa a intensidade do fluxo.

estudos com espécies de alta mobilidade são mínimos e constituem uma área a ser investigada. Recentemente, nosso grupo tem feito simulação computacional do processo de injeção usando cátions de alta mobilidade em microchips fluídicos.

1.6.2 - Injeção hidrodinâmica

Em microsistemas, a injeção eletrocinética é vantajosa em termos de implementação devido a sua simplicidade. No entanto, são necessários alguns cuidados para se obter reprodutibilidade nas análises. Há o fato do empobrecimento das espécies iônicas nas proximidades da entrada do canal durante longos períodos de injeção. Por consequência disso, a injeção

imediatamente seguinte terá um segmento de injeção com diferentes concentrações, a não ser que se espere tempo suficiente para que o processo difusional homogeneíze a solução, ou, ainda, pela homogeneização por agitação. Mas mesmo esperando essa homogeneização difusional, o pH é alterado devido aos processos de oxidação e redução nos eletrodos de alta tensão e, somando-se a isso, tudo ocorrendo em um reduzido volume [24]. Também se deve considerar a formação de subprodutos que podem ser arrastados para dentro do canal de separação. Todos esses fatores causam interferências na reprodutibilidade das análises. Uma outra alternativa de injeção é o uso de um sistema de pressurização para uma mobilização hidrodinâmica.

Sua implementação é relativamente simples, mas para sistemas microfluídicos pode haver dificuldades nas conexões devidos às dimensões reduzidas dos recipientes. O processo de injeção para um canal cilíndrico está descrito pela equação 1.12 que é conhecida com a equação de Hagen-Poiseuille e que é derivada da equação de Navier-Stokes considerando um escoamento laminar de um fluido incompressível em um tubo cilíndrico [25].

$$V_{injetado} = \frac{1}{128} \frac{d^4 \pi}{\eta L} \int \Delta P dt \quad 1.12$$

Nessa equação, $V_{injetado}$ é o volume da amostra injetado para dentro do canal de separação, d é o diâmetro interno do capilar, η é a viscosidade da solução, L é o comprimento total do canal de separação, ΔP é a diferença de pressão entre as duas entradas do canal onde se está injetando a amostra e t é o tempo de injeção.

Porém, os microdispositivos normalmente apresentam dutos normalmente de perfil retangular. Nesses casos podemos substituir o diâmetro d acima descrito pelo diâmetro hidráulico definido como segue (equação 1.13).

$$d_h = \frac{4A}{P} \quad 1.13$$

Nela, d_h é o diâmetro hidráulico, A é a área da seção reta do escoamento e P é o perímetro do duto molhado pelo líquido.

Podemos perceber pela equação 1.12 que o volume injetado é função da pressão e do tempo de acionamento do sistema de pressurização.

1.7 - Detecção condutométrica sem contato ou C⁴D

Tanto em eletroforese capilar convencional como em microchip, podemos fazer uso de detectores específicos ou universais. A primeira opção, específico, permite detectar seletivamente algum analíto de interesse. Já a segunda, universal, permite detectar qualquer espécie que promova alguma alteração no meio. Ambas as opções podem apresentar vantagens e desvantagens, sendo algumas aparentes. Por exemplo, no caso da detecção universal, o fato de responder à qualquer espécies quando comparado com um sistema específico que irá responder somente à uma única espécie, aparenta ser uma desvantagem. No entanto, pelo fato de não precisarmos efetuar alterações no analíto ou ainda ter que adicionar algo ao meio, o sistema químico tornando-se simplificado. Portanto, cabe ao químico analítico efetuar a escolha do melhor detector para suas necessidades. Nesse trabalho foi usada a detecção condutométrica sem contato que é um método de detecção universal. Nosso grupo de pesquisa possui infraestrutura e experiência nesse tipo de detecção, permitindo o desenvolvimento e o aprimoramento da técnica de detecção.

Quando a proposta de medida de condutividade sem contato foi apresentada por Lago e da Silva, o termo *Oscilometric* foi usado [26]. Porém, simultaneamente, Zemann e colaboradores usaram o termo *Contactless Conductivity Detection* (CCD) [27] que acabou recebendo uma aceitação maior pela comunidade. Ambos os trabalhos apresentam, em essência, o mesmo conceito de detecção. No entanto, a proposta de Lago e da Silva foi mais aceita no meio científico por apresentar o circuito eletrônico do detector em detalhes. Posteriormente, Lago e da Silva refinaram e apresentaram uma nova versão do detector usando componentes SMD para reduzir o tamanho da montagem para ser colocado dentro de cartuchos de condicionamento térmico de equipamentos comerciais [28].

Procurando evitar confusão, com o dispositivo de captura de imagem chamado Charge-Coupled Device (CCD), o termo *Capacitively Coupled Contactless Detector* (CCCD ou C⁴D) também passou a ser empregado. Esse termo acabou aparecendo em uma revisão de Zemann [29]. Nessa revisão são descritos trabalhos em que esse tipo de detecção é empregado. Mesmo assim, o a sigla CCD ainda é usada em contextos bem definidos.

Outra forma de fazer detecção condutométrica sem contato é uma forma proposta por Hauser e colaboradores [30][31][32][33] que ao invés de operarem com tensões baixas, alguns volts, e alta frequência, centenas de kHz, como do Lago e da Silva, Hauser resolveu trabalhar em tensões altas, de dezenas a centenas de volts, e frequências baixas de dezenas de kHz. Quando se trabalha com frequência baixa, a corrente que flui é menor devido a elevada impedância do trecho de detecção. Para compensar isso, promoveu-se o aumento da amplitude do sinal. Hauser também escreveu um artigo de revisão abordando os métodos de detecção em dispositivo analíticos microfabricados [34].

Para se trabalhar com C^4D é preciso dois eletrodos posicionados externamente junto ao canal de separação formando um capacitor, onde o dielétrico deste é o canal de separação. Com relação ao posicionamento destes eletrodos, há três possibilidades em relação ao canal de separação da microestrutura: (a) em faces opostas com sobreposição na região de detecção, (b) antiparalelos em faces opostas e (c) antiparalelos na mesma face (Fig. 1.8).

Fig. 1.8 - Configuração de eletrodos para C^4D . (a) em faces opostas com sobreposição na região de detecção, (b) antiparalelos em faces opostas e (c) antiparalelos na mesma face.

Segundo Hauser e Kuban [35], a melhor configuração de eletrodos para microchips é usando eletrodos estreitos e curtos arranjados na configuração de antiparalelos. Nesse trabalho eles empregaram sinal de $20V_{pp}$ a 500kHz para a análise de cátions inorgânicos usando eletrodos otimizados em 1mm de largura e 500 μm de

separação.

Os eletrodos podem ser confeccionados por diferentes técnicas. Uma forma muito simples é o uso de tinta condutora para construir os eletrodos desenhando-os diretamente na microestrutura [36]. Outra forma envolve o uso de uma fita adesiva de cobre² [37] e que também foi usada inicialmente nos primeiros trabalhos com microchips de toner-poliéster nosso grupo [38]. Wang e colaboradores [39] confeccionaram eletrodos de tiras de alumínio depositados sobre uma placa de PMMA móvel sobre o microdispositivo fluídico. Desta forma, a região de detecção dos eletrodos pode ser posicionada em qualquer ponto ao longo do canal de separação possibilitando assim determinar a melhor posição dos eletrodos em relação a ponto de injeção. Com esse sistema ele pôde determinar simultaneamente cátions e ânions ajustando a posição dos eletrodos.

Uma excelente revisão mostrando uma evolução histórica, com aspectos comparativos entre as diferentes implementações já feitas para C⁴D e com detecção com contato em CE e MCE foi elaborado por Haddad e colaboradores [40].

Uma nova forma de confecção de eletrodos para microestruturas baseia-se na técnica de confecção de placas de circuito impresso (PCB). A idéia é usar a própria camada de cobre da placa para a confecção dos eletrodos. Desta forma, basta posicionar o canal da microestrutura sobre a região de detecção definida entre os eletrodos. Essa técnica faz parte desse trabalho de doutorado e foi apresentada no The 10th International Meeting on Chemical Sensors (10-IMCS) [41].

1.8 - Barramento de dados I²C

Primeiramente, um barramento elétrico, é um conjunto de fios, responsáveis pela transmissão de dados ou energia [42]. Tomando um computador como exemplo, a transmissão pode ser interna ou externa usando algum protocolo de comunicação, com os dados transitando de forma serial ou paralela [43]. Exemplos: Universal Serial Bus (USB) como serial externo; Centronics ou porta paralela de impressão como paralelo externo; Peripheral Component Interconnect (PCI) como paralelo interno; Inter-Integrated Circuit (I²C, IIC ou I2C) como serial interno.

Com o desenvolvimento tecnológico da microeletrônica, novos sensores e

2 <http://www.3m.com>

conversores estão surgindo a preços cada vez mais reduzidos e com interfaces de controle de alto nível de comunicação. Nesse trabalho de doutorado, foi feito uso de DAC com barramento de comunicação I²C. No caso desse componente, seu barramento de dados permite enviar dados na forma de números digitais e, internamente, o dispositivo efetua a conversão gerando a tensão elétrica desejada. O barramento I²C é padrão, bem documentado e possui uma ampla família de dispositivos disponíveis. Desta forma, torna-se atrativo o seu uso para o desenvolvimento de sistemas analíticos.

Na década de 80, a Philips, indústria de elétrico-eletrônicos e semicondutores, se deparou com o problema de se usar vários circuitos integrados (CI) interligados. Isso geraria muitas linhas de comunicação entre eles e aumentaria a complexidade do circuito impresso (PCB) como também a chance da captação de ruídos pelas linhas vizinhas. Pensando nisso, ela desenvolveu um barramento de comunicação, chamado-o de Inter-Integrated Circuit I²C [44], baseado em apenas dois fios: um de dados serial (SDA) bidirecional e outro de clock serial para a sincronia do sinal de dados (SCL). É possível conectar até 128 dispositivos de endereços de 7-bits e até 1024 dispositivos de endereços de 10-bits.

A Fig. 1.9 esquematiza um barramento I²C. No mesmo barramento podemos conectar vários dispositivos. Basicamente, há dois tipos: o master que controla o barramento emitindo o sinal de clock e o *slave* que fornece ou efetua as operações solicitadas pelo mestre. Na mesma figura, a microcontroladora A poderia ser o

Fig. 1.9 - Esquema de um barramento I²C.

dispositivo master e o restante sendo os slaves. Há a possibilidade de se passar o controle do barramento para uma outra microcontroladora, por exemplo a

microcontroladora B da mesma figura. Cada dispositivo tem um endereço no barramento.

Fig. 1.10 - Exemplo de uma transferência de dados em um barramento I²C entre um master e um slave.

A comunicação entre dispositivos master e slave é relativamente simples. A Fig. 1.10 esquematiza uma transferência de dados em modo padrão onde o master solicita algum resultado que pode ser por exemplo, um valor de temperatura codificada em dois bytes³.

O master inicia a comunicação enviando o sinal de inicialização (start) para o barramento I²C. Em seguida é enviado o endereço de 7-bits do dispositivo slave de interesse e um bit de leitura/escrita (R/W). No caso a escrita é ativa em 0. Isso significa que o master irá enviar algo. Após esses 8-bits o master aguarda a resposta de reconhecimento do slave (ACK). Caso isso não aconteça, significa que o dispositivo não está presente no barramento. Recebido o sinal de reconhecimento, o master envia o byte que contém o código do comando (control byte) específico para que o slave realize a tarefa desejada e mais um bit informando que o master está pronto para receber os dados. Nesse caso, a leitura é ativa em 1. O slave envia o sinal de reconhecimento indicando que a solicitação foi aceita e inicia a transferência do resultado codificado em dois bytes. Para cada byte enviado, o slave espera que o master envie o sinal de reconhecimento indicando que os bytes foram recebidos. Primeiro é enviado o byte mais significativo (MSB-byte) e depois o menos significativo (LSB-byte). Após isso, o master fecha a comunicação com o slave enviando o sinal de finalização (stop). O master pode enviar um sinal de reinicialização caso queira continuar se comunicando o slave ao invés de mandar o sinal de finalização. Alguns slaves somente mandam um byte de dados ao invés de dois. Para saber como ocorre a comunicação de um dado componente é

³ Um byte é um número composto de 8-bits. Cada bit é representado por 0 ou 1.

imprescindível consultar o datasheet do componente.

Atualmente, o protocolo I²C está na versão 2.0 e contempla comunicação nos modos standard (100kHz), fast (400kHz) e high-speed (3,4MHz). Os dois últimos modos, independente da versão do protocolo, podem possuir inicializações diferentes daquela mostrada na Fig. 1.10. Além disso, a versão 2.0 possui detecção de colisões, endereçamento de 10-bits (até 1024 dispositivos no barramento), controle com mais de um master e comando sincronizado com todos os slaves.

Muitos fabricantes de dispositivos I²C têm licença para usar essa tecnologia mas optaram por não usar o nome I²C por questões de direitos autorais e para afastar o nome da Philips de seus produtos. Por esse motivo, é comum achar o termo Two Wire Interface (TWI), que é o mesmo protocolo mas sem a sigla I²C da Philips.

Hoje podemos encontrar uma enorme variedade de componentes I²C no mercado para os mais diferentes fins. É comum encontrá-los inclusive em placas-mães de computadores (main-board) principalmente para monitoramento do hardware. São predominantemente sensores de temperatura e de rotação de ventoinhas e memórias EEPROM nos pentes de memória nas placas-mães. Um componente clássico, que está fora do mercado atualmente, é o LM75 ⁴. Em substituição à ele podemos encontrar o AD7416 ⁵, MAX6634 ⁶ e TMP100 ⁷. A Texas Instruments possui uma linha de conversores digital/analógico I²C de 8, 10, 12 e 16-bits (família DACx574) sendo um deles o DAC6574 (10-bits) a um custo unitário de 7,3 dólares americanos para um lote de 80 unidades. Esse componente foi usado nesse trabalho para a geração de tensões elétricas de 0 a 5 volts.

É comum o uso desses dispositivos ligados a uma microcontroladora⁸ para controles dedicados. Há microcontroladoras no mercado que possuem o protocolo I²C já implementado em hardware. Mesmo em modelos que não a possuam é possível implementar via software usando portas do tipo GPIO. Além disso, seu uso

4 National Semiconductors, <http://www.national.com>

5 Analog Devices, <http://analog.com>

6 Maxim, <http://www.maxim-ic.com>

7 Texas Instrument, <http://www.ti.com>

8 <http://en.wikipedia.org/wiki/Microcontrollers>

não se restringe as microcontroladoras ou a algum barramento I²C dedicado em uma placa mãe de computador. Pode-se usar algumas linhas digitais bidirecionais de uma porta paralela do computador para servir de barramento I²C, e o próprio computador como dispositivo master. A vantagem de se usar essa configuração é que ela já possui as tensões elétricas compatíveis com nível TTL.

Para ambiente GNU/Linux, o próprio Kernel, o Linux, possui módulos (drivers) que permitem o controle de vários dispositivos I²C ⁹. Para usar os módulos com a versão 2.4 do kernel é necessário baixar o pacote do site do projeto lm-sensor e seguir as instruções de instalação. Para a versão 2.6 do kernel não é necessário baixar os pacotes, pois já está incluso dentro da árvore de diretórios do código fonte do kernel. Existe mais de um módulo para uso com porta paralela servindo de barramento I²C. Dois que merecem destaque é o i2c-pport e o i2c-philips-parport. O primeiro não requer circuito adicional sendo muito simples a sua adaptação. Para mais informações, basta consultar o arquivo i2c-pport dentro da árvore de diretórios do pacote lm-sensor ou do código fonte do kernel 2.6 em Documents/i2c. Entretanto, não é com todas as portas paralelas que ele irá funcionar. Isso se deve ao fato de que as portas paralelas não são idênticas em todas as placas mães. A alternativa é usar o módulo i2c-philips-parport, escrito por von Simon G. Vogl [45], juntamente com um circuito eletrônico baseado no circuito integrado 74LS05. Outro circuito equivalente é o adaptador descrito em no Open Automation Project [46] onde são usados transistores 2N3904 ao invés do 74LS05.

O Linux possui uma interface de auto nível que permite que o usuário, ou desenvolvedor, possa acessar os dispositivos I²C através de um programa escrito em C. Os módulos podem ser trocados sem a necessidade de se alterar o código fonte do programa.

1.9 - Interfaces de controle e software livre

Os softwares desenvolvidos são usados em vários projetos e recebem pouca atenção quando comparado com o restante do projeto. Não é o caso quando o próprio software é o foco do projeto. Assim, o tempo de vida ou a reaproveitamento de um projeto pode ser afetado pela escolha de um software. Supondo que alguém

⁹ <http://secure.netroedge.com/~lm78>

use um programa ou um ambiente de desenvolvimento ou ainda uma biblioteca comercial para um certo projeto e que, depois de algum tempo do projeto desenvolvido, e a empresa saia de operação, futuros usuários do programa ficarão sem suporte para o projeto. Não é difícil de acreditar que depois de algum tempo talvez não seja mais possível executá-lo por evolução das plataformas, seja pelo sistema operacional ou ainda pelo hardware. Um destes exemplos são os programas que rodavam em Windows 3.1x.

É muito comum a necessidade de se conectar um instrumento, seja ele qual for, a um microcomputador. Isso porque, o microcomputador, é um ambiente poderoso de controle e tratamento de dados. Também porque é de fácil programação devido ao grande número de linguagens e ambientes de desenvolvimento facilitando o trabalho de controle. Mas, para que o computador possa controlar um sistema de interesse, é necessário uma interface física que ofereça diferentes tipos de portas e com velocidade adequada. Os IBM-PC não possuem portas adequadas para interfaceamento para a maioria dos problemas encontrados em um laboratório. Por esse motivo, se faz necessário uma interface física que possibilite acionamentos digitais, leituras e escritas analógicas. Essa interface física é o que se chama de placa (ou cartão) de interfaceamento.

Tais interfaces possuem ou não, dependendo do modelo, algum tipo de circuito permitindo ler ou escrever tensões elétricas em diferentes modos em suas portas: ADC para se registrar tensões elétricas, DAC para gerar tensões elétricas e GPIO para ler ou escrever sinais digitais nas mais diferentes configurações (PWM, contagem de pulsos, cronômetros ou relógios (*timers e clocks*) e outros.

Sobre os DAC, estes acabam encarecendo o produto dependendo de sua resolução. Podemos encontrá-los em número reduzido (tipicamente um ou dois conversores). A placa da National Instruments AT-MIO-16XE-50, por exemplo, usada nesse projeto de doutorado, possui apenas dois DAC de 12-bits. Uma forma de contornar essa deficiência é o uso de componentes discretos. Tais componentes podem ser adquiridos com as mais diferentes interfaces de controle. A Texas Instruments possui uma série desses DAC com interface I²C, como já mencionado. Eles foram usados nesse trabalho de doutorado visando o controle de vários dispositivos por tensões elétricas.

Já quando falamos em interfaceamento em ambiente GNU/Linux, estamos nos referindo a uma área relativamente pouco explorada devido ao domínio de sistemas proprietários. Praticamente não há suporte direto de fabricantes de hardware para seus produtos em sistemas livres. A maioria dos desenvolvedores da comunidade livre acaba optando por escreverem seus próprios *drivers* justamente pela falta de suporte. Um projeto não comercial que merece destaque é o Comedi [47]. É uma biblioteca para controle de placas de interfaceamento em ambiente GNU/Linux usando as linguagens C/C++ ou Python¹⁰. Atualmente há uma grande variedade de placas suportadas pela biblioteca Comedi. Ela é atrativa por padronizar a comunicação com diferentes cartões de aquisição bastando apenas que seja carregado o módulo correto do cartão. Assim, é possível usar diferentes cartões sem ter que modificar o programa de aquisição de dados. Nesse trabalho, a biblioteca Comedi foi usada para controlar uma placa AT-MIO-16XE-50 da National Instruments usando a linguagem C. Com o crescimento dos sistemas GNU/Linux, as empresas têm aumentado sua preocupação em dar algum tipo de suporte para a comunidade livre. Neste trabalho de doutorado, optamos por usar programas livres, compiladores e bibliotecas, em ambiente GNU/Linux, por permitir ao doutorando maior liberdade de implementação. Também por ser uma contribuição pouco explorada na área de interfaceamento em química.

1.10 - Objetivos

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de instrumentação (hardware e software) para uso com microdispositivos fluídicos de toner-poliéster e detecção condutométrica sem contato.

Bibliografia

1. Vilkner, T.; Janasek, D.; Manz, A.; Micro Total Analysis Systems. Recent Developments, *Analytical Chemistry*, v. 76, p. 3373-3386, 2004.
2. Fruetel, J. A. et al; Hand-held microanalytical instrumentat for chip-based electrophoretic separations of proteins, *Analytical Chemistry*, v. 77, p. 435-441, 2005.
3. Fiorini, G. S.; Chiu, D. T.; Disposable microfluidic devices: fabrication, function,

¹⁰ <http://www.python.org>

- and application, *BioTechniques*, v. 38, p. 429-446, 2005.
4. do Lago, C. L.; da Silva, H. D. T.; Neves, C. A.; Brito-Neto, J. G. A.; A Dry Process for Production of Microfluidic Devices Based on the Lamination of Laser-Printed Polyester Films, *Analytical Chemistry*, v. 75, p. 3853-3858, 2003.
 5. http://en.wikipedia.org/wiki/Capillary_electrophoresis, Capillary Electrophoresis, último acesso em nov/2004.
 6. Tavares, M. F. M.; Eletroforese Capilar: Conceitos básicos, *Química Nova*, v. 2, p. 173-181, 1996.
 7. Tavares, M. F. M.; Mecanismos de separação em eletroforese capilar, *Química Nova*, v. 5, p. 493-511, 1997.
 8. F. Tagliaro, G. Manetto, F. Crivellente e F. P. Smith; A brief introduction to capillary electrophoresis, *Forensic Science International*, v. 92, p. 75-88, 1998.
 9. Harris, D. C. *Análise Química Quantitativa*. Rio de Janeiro: LTC, 2001, 862 p.
 10. Oshea, T. J.; Lunte, S. M.; Capillary Electrophoresis / Electrochemistry, *Current Separations*, v. 14, p. 18-23, 1995.
 11. Xu, Y.; Tutorial: Capillary Electrophoresis, , v. 1, p. 1-14, 1996.
 12. Reyes, D. R.; Iossifidis, D.; Auroux, P.A.; Manz, A.; Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology, *Analytical Chemistry*, v. 74, p. 2623-2636, 2002.
 13. Auroux, P. A.; Iossifidis, D.; Reyes, D. R.; Manz, A.; Micro Total Analysis Systems. 2. Analytical Standards Operations and Applications, *Analytical Chemistry*, v. , p. 2637-2652, 2002.
 14. Tan, A.; Rodgers, K.; Murrihy, J. P.; O'Mathuna, C.; Glennon, J. D.; Rapid fabrication of microfluidic devices in poly(dimethylsiloxane) by photocopying, *Lab on a Chip*, v. 1, p. 7-9, 2001.
 15. Bocek, P.; Deml, M.; Gebaur, P.; Dolník, P. *Analytical Isotachophoresis*. NY: VHC, 1998, 237 p.
 16. Graß, B.; Siepe, D.; Neyer, A.; Hergenröder, R.; Comparison of different conductivity detector geometries on an isotachophoresis PMMA-microchip, *Fresenius Journal Analytical Chemistry*, v. 371, p. 228-233, 2001.
 17. Graß, B.; Neyer, A.; Jöhnck, M.; Siepe, D.; Eishenbeiß, F.; Weber, G.; Hergenröder, R.; A new PMMA-microchip device for isotachophoresis with integrated conductivity

- detector, *Sensor and Actuators B*, v. 72, p. 249-258, 2001.
18. Willauer, D. H.; Collins, G. E.; Analysis of inorganic and small organic ions with the capillary electrophoresis microchip, *Electrophoresis*, v. 24, p. 2193-2207, 2003.
19. Kaniansky, D.; Masár, M.; Bodor, R.; Zúborová, M.; Ölvecká, E.; Jöhnck, M.; Stanislawski, B.; Electrophoretic separations on chips with hydrodynamically closed separation systems, *Electrophoresis*, v. 24, p. 2208-2227, 2003.
20. Tsai, C. H.; Yang, R. J.; Tai, C. H.; Fu, L. M.; Numerical simulation of electrokinetic injection techniques in capillary electrophoresis microchips, *Electrophoresis*, v. 26, p. 674-686, 2005.
21. Heiger, D. N. : Hewlett-Packard Company, 1992, 136 p.
22. C. X. Zhang e A. Manz; Narrow sample channel injectors for capillary electrophoresis on microchips, , v. 73, p. 2665-2662, 2001.
23. Sinton, D.; Ren, L.; Li, D.; Visualization and numerical modelling of microfluidic on-chip injection processes, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 260, p. 431-439, 2003.
24. de Jesus, D. P.; Brito-Neto, J. G. A.; Richter, E. M. ; Angnes, L; Gutz, I. G. R.; do Lago, C. L.; Extending the Lifetime of the Running Electrolyte in Capillary Electrophoresis by Using Additional Compartments for External Electrolysis, *Analytical Chemistry*, v. 77, p. 607-614, 2005.
25. Sissom, L. E.; Pitts, D. R. Fenômenos de Transporte. Rio de Janeiro: Guanabara, 1972, 765 p.
26. da Silva, J. A. F.; do Lago, C. L.; An Oscillometric Detector for Capillary Electrophoresis, *Analytical Chemistry*, v. 70, p. 4339-4343, 1998.
27. Zeamann, A. J.; Schnell, E.; Volgger, D.; Bonn, G. K.; Contactless Conductivity Detection for Capillary Electrophoresis, *Analytical Chemistry*, v. 70, p. 563-567, 1998.
28. da Silva, J. A. F.; Guzman, N.; do Lago, C. L.; Contactless conductivity detection for capillary electrophoresis - Hardware improvements and optimization of the input-signal amplitude and frequency, *Journal of Chromatography A*, v. 942, p. 249-258, 2001.
29. Zemmann, A. J.; Capacitively coupled contactless conductivity detection in

capillary electrophoresis, *Electrophoresis*, v. 24, p. 2125-2137, 2003.

30. Tanyanyiwa, J.; Hauser, P. C.; High-voltage capacitively coupled contactless conductivity detection for microchip capillary electrophoresis, *Analytical Chemistry*, v. 74, p. 6378-6382, 2002.
31. Tanyanyiwa, J.; Abad-Villar, E. M.; Fernández-Abedul, M. T.; Costa-García, A.; Hoffmann, W.; Guber, A. E.; Herrmann, D.; Gerlach, A.; Gottschlich, N.; Hauser, P. C.; High-voltage contactless conductivity-detection for lab-on-chip devices using external electrodes on the holder, *Analyst*, v. 128, p. 1019-1022, 2003.
32. Abad-Villar, E. M.; Tanyanyiwa, J.; Fernández-Abedul, M. T.; Costa-García, A.; Hauser, P. C.; Detection of human immunoglobulin in microchip and conventional capillary electrophoresis with contactless conductivity measurements, *Analytical Chemistry*, v. 76, p. 1282-1288, 2004.
33. Tanyanyiwa, J.; Abad-Villar, E. M.; Hauser, P. C.; Contactless conductivity detection of selected organic ions in on-chip electrophoresis, *Electrophoresis*, v. 25, p. 903-908, 2004.
34. Schwarz, M. A.; Hauser, P. C.; Recent developments in detection methods for microfabricated analytical devices, *Lab on a Chip*, v. 1, p. 1-6, 2001.
35. Kuban, P. e Hauser, P. C.; Effects of the cell geometry and operating parameters on the performance of an external contactless conductivity detector for microchip electrophoresis, *Lab on a Chip*, v. 5, p. 407-415, 2005.
36. Tanyanyiwa, J.; Hauser, P. C.; High-Voltage Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection for Microchip Capillary Electrophoresis, *Analytical Chemistry*, v. 74, p. 6378-6382, 2002.
37. Tanyanyawa, J.; Abad-Villar, M.; Teresa Fernández-Abedul, M.; Costa-García, A.; Hoffmann, W.; Guber, A. E.; Herrmann, D.; Gerlach, A.; Gottschlich, N.; Hauser, P. C.; High-voltage contactless conductivity-detection for lab-on-chip devices using external electrodes on the holder, *Analyst*, v. 128, p. 1019-1022, 2003.
38. do Lago, C. L., da Silva, H. D. T.; Neves, C. A.; Brito-Neto, J. G. A.; A Dry Process for Production of Microfluidic Devices Based on the Lamination of Laser-Printed Polyester Films, *Analytical Chemistry*, v. 75, p. 3853-3858, 2003.
39. Wang, J.; Chen, G.; Muck Jr, A.; Movable contactless-conductivity detector for microchip capillary electrophoresis, *Analytical Chemistry*, v. 75, p. 4475-4479,

2003.

40. Guijt, R. M.; Evenhuis, C. J.; Macka, M.; Haddad, P. R; Conductivity detection for conventional and miniaturised capillary electrophoresis systems, *Electrophoresis*, v. 25, p. 4032-4057, 2004.
41. "Contactless conductivity detection for microchip of laminated laser-printed polyester films", *Chemical Sensors - Supplement B*, 2004, n. 3P103, p. 828-829, The 10th International Meeting on Chemical Sensors, 11-14 julho, Tsukuba - Japan.
42. http://en.wikipedia.org/wiki/Electrical_bus, Electrical bus, último acesso em dez/2004.
43. http://en.wikipedia.org/wiki/Data_bus, Computer Bus, último acesso em dez/2005.
44. <http://en.wikipedia.org/wiki/I2C>, Inter-Integrated Circuit - IIC, último acesso em dez/2004.
45. <http://voxel.at/prj/i2c/LM-Artikel>, Bits im Gänsemarsch, último acesso em nov/2004.
46. <http://oap.sourceforge.net>, Open Automation Project, último acesso em nov/2004.
47. <http://www.comedi.org>, COMEDI - The Control and Measurement Device Interface, ultimo acesso em dez/2004.

Capítulo 2

MICROFABRICAÇÃO

Este capítulo descreve o processo de confecção dos dispositivos de toner-poliéster como também alguns detalhes do seu processo. Também são descritas duas formas de se definir reservatórios das soluções. Uma usa fragmentos de tubos e a outra usa um conjunto de mantas de silicone com blocos de acrílico para a definição dos reservatórios, das conexões elétricas e pneumáticas.

2.1 - Dispositivos de toner-poliéster

2.1.1 - Layout e impressão

O processo de microfabricação desse trabalho seguiu o processo descrito por do Lago e colaboradores [1], mas com algumas adaptações. Para a elaboração do *layout* do microdispositivos usamos o programa Sketch¹ em ambiente GNU/Linux. São apresentados três modelos que foram utilizados nos experimentos de MCE, MCITP e na determinação do EOF (Fig. 2.1).

O *layout* da Fig. 2.1a, usado nos experimentos de MCE, possui um canal de separação de 44mm de comprimento do ponto *a* ao *d*, canal de injeção de 7mm de comprimento em cada braço totalizando 14mm do reservatório do ponto *b* ao *c*, um segmento de amostra de 300µm de comprimento em forma de duplo T e canais de 160µm de largura.

¹ <http://www.nongnu.org/skencil>

Fig. 2.1 - Microestrutura usadas: (a) e (b) microdispositivo usado em MCE, (c) MCITP e (d) na determinação do EOF. Obs.: figuras fora de escala.

A segunda, Fig. 2.1b, é basicamente a primeira, mas com um canal de separação de 50mm. Essa microestrutura foi confeccionada para uso com o sistema de mantas de silicone e bloco de acrílico descrito na seção 2.1.5. Uma característica é que ela apresenta a mesma distância do ponto de injeção aos reservatórios *a*, *b* e *c*. Isso promove uma igual restrição a passagem de líquido.

Já a terceira microestrutura, Fig. 2.1c, usada no estudo de MCITP, possui um único canal de separação de 50mm de comprimento e 160μm de largura.

A quarta, Fig. 2.1d, foi usada na determinação do EOF, possui um formato em cruz com o braço mais longo com 37mm e os curtos com 5mm. As larguras dos canais são de 150μm. Ela apresenta a mesma distância do ponto de cruzamento aos reservatórios *a*, *b* e *c*.

Logo na entrada de cada canal dos microchips Fig. 2.1a, *b* e *c* há três canais de comprimento curto, variando de 0,5 à 1mm, que logo em seguida se unem.

Após a elaboração dos *layouts*, efetuou-se a impressão usando uma impressora do tipo laser a base de toner sólido. Para este trabalho, foram usadas as

impressoras HP LaserJet 4L e HP LaserJet 1200 (Hewlett-Packard²). Para a configuração do processo de impressão, o programa gtklp³ foi configurado com os parâmetros descritos na Tab. 2.1.

Tab. 2.1 - Parâmetros de configuração da impressão de uma impressora Laser.

	Parâmetro	Valor
Adjustment	REt Setting	Dark
	Toner Density	5
General	Manual Feed of Paper	Off
	Print Mode	High Quality
Printout Mode	Fast Res.	Off
	Resolution	300dpi
	Toner Saving	Off

As impressoras usadas foram instaladas em servidores de impressão rodando o sistema operacional MS Windows98. Elas foram acessadas de uma máquina GNU/Linux rodando a distribuição Debian⁴ versão Sid e rodando um servidor CUPS⁵ de impressão. Sempre antes da impressão na transparência, efetuou-se uma impressão em papel para promover o aquecimento interno da impressora. O aspecto da impressão pode ser visto na Fig. 2.2.

² <http://www.hp.com>

³ <http://gtkulp.sourceforge.net>

⁴ <http://www.debian.org>

⁵ <http://www.cups.org>

Fig. 2.2 - Microestruturas impressas em uma folha de poliéster.

2.1.2 - Perfuração das folhas de poliéster

Antes do processo de selagem é necessário efetuar a perfuração de uma das faces da microestrutura para que permita o acesso ao canal de separação. A técnica usada se assemelha a perfurador de papel ().

Fig. 2.3 - Perfurador de folhas de poliéster.

Para sua construção, foram usadas duas placas de acrílico de aproximadamente 50×80×6mm presas pelas bordas mais estreitas através de dois furos com rebaixo em parafusos e separadas nessa região com duas tiras de

transparência com espaçadores.

A 16mm da outra borda dessa montagem, foi feito um furo de 3,5mm de diâmetro passando pelas duas placas. Este furo possui o mesmo diâmetro de um tarugo de latão de 20mm de comprimento com uma das pontas cortante na forma de um “V” obtido usando-se uma lima. Esta ponta é responsável pela perfuração da folha de transparência. A outra extremidade foi presa em um tarugo de PVC de 30mm de comprimento por 15mm de diâmetro com um furo no seu eixo de revolução de mesmo diâmetro do tarugo de latão. Um segundo furo não passante foi feito na lateral do tarugo de PVC de forma que alcançasse o furo central. Em seguida, foi feita uma rosca para que pudesse ser colocado um parafuso que pressionasse o tarugo de latão. Assim é possível ajustar o comprimento do tarugo de PVC. Desta forma, o tarugo de PVC funciona como um cabo para manusear o perfurador.

2.1.3 - Selagem

O alinhamento de uma microestrutura do tipo DTL é sempre feito primeiramente prendendo a folha perfurada com fita adesiva em uma superfície plana branca e com o toner voltado para cima. Sobre essa primeira folha alinha-se uma segunda folha, que é o espelho da primeira, de tal forma que fique toner contra toner. Assim é possível o seu manuseio sem a deposição de gordura na região que sofrerá colagem. O alinhamento é obtido quando se obtém o máximo de contraste nos canais. Feito o alinhamento, cola-se pedaços de fita adesiva previamente cortadas para manter o alinhamento.

Quando são usadas microestruturas do tipo STL, basta a perfuração da folha contendo o toner, conforme descrito anteriormente, e usar uma folha de transparência sem toner. Nesse caso, não há um processo de alinhamento.

Nesse trabalho de doutorado, a selagem das microestruturas foi obtida usando-se uma plastificadora rotativa de documentos do tipo *polaseal* AC91-230 (Gazela, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil). Sua temperatura foi ajustada entre 120 e 130°C para promover a fusão do toner mas sem a sua degradação [1]. Antes da selagem, deve-se esperar tempo suficiente para que a plastificadora atinja estabilidade térmica. Após o pré-aquecimento, foram colocadas as duas folhas já

alinhadas entre uma folha de papel parafinado⁶ dobrado e sem etiquetas formando

Fig. 2.4 - Microestrutura montada para o processo de fusão e colocada entre uma folha de papel parafinado junto à entrada da plastificadora.

desta forma um sanduíche com a microestrutura no meio. Foram usadas folhas de etiquetas de tamanho carta ou A4. Por fim, coloca-se esse sanduíche na laminadora e retira-se a microestrutura já selada (Fig. 2.4).

2.1.4 - Reservatórios obtidos por colagem de tubos

A formação dos reservatórios foi obtidos pela colagem de tubos de material polimérico. Dois tipos de tubos foram usados.

Inicialmente, foram usados tubos de PVC transparente de 8mm de diâmetro externo e 6mm de diâmetro interno. Os fragmentos de tubo foram obtidos cortando-os usando um cortador de tubos em pedaços de 1cm de comprimento. Após o corte, fez-se um acabamento nas bordas com uma lixa para eliminar saliências. Por fim, são obtidos fragmentos de aproximadamente 8mm de comprimento.

O segundo tipo de reservatório foi obtido usando fragmentos de mangueira de polietileno (PE) de 4mm de diâmetro interno, 7mm de diâmetro externo e 10mm de comprimento cortados com estilete ou tesoura.

A colagem dos reservatórios foi efetuada usando adesivo epóxi Araldite® 10min aplicado em uma das bordas do reservatório.

⁶ Papel suporte das etiquetas auto-adesivas.

Procurou-se posicionar a entrada de cada canal dos microdispositivos em relação ao centro do tubo para evitar com que o adesivo obstruísse sua entrada. Após a secagem, o microdispositivo se assemelha ao apresentado na Fig. 2.5.

Fig. 2.5 - Microdispositivo de toner-poliéster com reservatórios de pedaços de tubos colados.

2.1.5 - Reservatórios obtidos por uso de mantas de silicone e um bloco de acrílico

A formação dos reservatórios para as soluções foi obtida por duas mantas de silicone e um bloco de acrílico.

Um bloco de acrílico com dimensões de 20×40×90mm foi perfurado com brocas de 5mm de diâmetro, gerando furos concêntricos com o microchip da Fig. 2.1b. Uma representação da montagem pode ser vista na Fig. 2.6. Nessa figura, o substrato usado foi uma placa de circuito impresso contendo os eletrodos para C⁴D (vide capítulo 4).

Fig. 2.6 - Representação em explosão e corte da montagem usando mantas de silicone e um bloco de acrílico para definir os recipientes dos líquidos.

O silicone usado foi o Siquimol⁷ código 5014 (Siquiplás, Diadema, São Paulo, Brasil) com 4% de catalisador para borrachas de silicone de código 2989 do mesmo fabricante. A primeira manta de silicone, manta 1, promove a vedação entre o microchip para a formação dos reservatórios. Importante notar a presença de bordas na manta 1 que são responsáveis pela eficiência da vedação ao redor da entrada do canal quando as partes são pressionadas. As dimensões das mantas, 5×40×90mm, foram determinadas por um molde em acrílico que foi preenchido com o silicone.

A fixação é feita por parafusos colocados pela parte inferior do substrato e presos ao bloco de acrílico promovendo a compressão da manta 1 contra a microestrutura. A pressão deve ser suave para que não haja estrangulamento dos canais devido às bordas ao redor dos furos da manta 1. Não há parafusos de

⁷ <http://www.siquiplas.com.br>

fixação para a vedação da tampa de acrílico onde estão presos os eletrodos, a manta 2 e a parte superior do bloco de acrílico. A vedação se dá apenas pela aderência da superfície do acrílico com a do silicone.

A tampa de acrílico possui um terminal torneado de soquete de circuito integrado colado com a entrada voltada para dentro do reservatório. Desta forma é possível encaixar um pedaço de fio de platina (2,5cm de comprimento por 500µm de diâmetro) no orifício do terminal e promover a soldagem do condutor elétrico na outra extremidade do terminal. Ao seu lado, foi feito um furo de diâmetro exato ao de um tubo de polietileno de 2mm de diâmetro externo para promover a aplicação de pressão positiva ou negativa usando o injetor por pressão descrito no capítulo 3. O encaixe foi efetuado esticando o tubo de polietileno para que ficasse ligeiramente mais fino para que atravessasse o orifício da tampa de acrílico. Em seguida, o tubo

Fig. 2.7 - Sistema de vedação usando mantas de silicone e bloco de acrílico. Em (a), o sistema com a tampa de acrílico e a manta 2 separadas do sistema contendo a microestrutura já montada. Em (b), o sistema completo montado sobre a placa (substrato da Fig. 2.6) contendo os eletrodos para C⁴D e o conector BNC para a entrada do sinal vindo do gerador de funções.

foi puxado com um alicate e cortado seu excesso do lado dentro do reservatório. Depois de algum tempo, o tubo volta ao seu diâmetro original promovendo a vedação no furo. O sistema montado pode ser visto na Fig. 2.7.

2.1.6 - Preenchimento dos canais

O processo de preenchimento dos canais com solução aquosa se dá por

capilaridade. Para o preenchimento das microestruturas com reservatórios colados basta colocar a solução em um dos recipientes e acompanhar a mudança de índice de refração a olho nu. Para a microestrutura representada na Fig. 2.1a e b, a solução é colocada primeiramente no reservatório a. Quando solução alcançar os reservatórios b e c, recomenda-se esperar mais alguns segundos para que as laterais dos furos fiquem úmidas e então se coloca a solução nos reservatórios restantes. O Processo não deixa bolhas e leva um tempo médio de 10min para essa microestrutura.

Para o preenchimento dos canais dos microdispositivos montados com a manta de silicone, seguiu-se basicamente o mesmo procedimento descrito anteriormente. Como não há reservatórios colados o procedimento é feito antes da montagem. Para tal, coloca-se pouco menos que uma gota de solução na região da entrada do canal com auxílio de uma pipeta. Por capilaridade, o líquido se espalhe pela superfície interna do orifício feito pelo furador. Após o preenchimento o excesso pode ser removido usando um papel absorvente. Deve se tomar cuidado para que o papel absorvente não fique muito tempo em contato com a entrada do canal e promova um esvaziamento de sua entrada podendo gerar bolhas. Após o preenchimento do canal, pode-se montar o conjunto microdispositivo-manta de silicone e efetuar a colocação da solução nos reservatórios. Por fim, fecha-se a microestrutura com a manta 2 de silicone e a tampa. Para a renovação das soluções, basta remover apenas a tampa de acrílico mantendo a manta 2.

2.2 - Discussão

O software usado, Sketch, é um dos que permite um controle da largura nominal de traços de até 10 μ m. Em substituição, qualquer programa gráfico, tanto vetorial como do tipo *bitmap*, pode ser usado desde que se tenha algum controle sobre as dimensões finais do desenho.

Com relação a definição dos canais formados, estes dependerão do sistema de impressão que é composto por um conjunto de parâmetros relativos a um certo modelo de impressora.

Como foi mencionado na seção 2.1.1, que descreve o *layout* das microestruturas, há três pequenos canais em cada entrada dos canais que logo em

seguida se unem. Esse é um recurso que foi implementado por nós do grupo para reduzir a chance de ocorrer um fechamento da entrada do canal durante o processo de selagem pela fusão do toner sob pressão. Fechamento de canal foi observado em várias microestruturas com entrada única.

A manta de silicone é uma opção interessante quando uma microestrutura atinge uma estabilidade em termos de *layout*. Mas, na prática, ela não se mostrou eficiente para microestrutura de toner-poliéster. Isso se deve ao fato dos dispositivos de toner-poliéster serem feitos de folhas flexíveis. Assim, quando a manta 1 da Fig. 2.6 é pressionada sobre o microchip, ao longo do tempo ocorre um estrangulamento do canal devido ao alto relevo da manta 1. Isso foi verificado por uma queda contínua da corrente durante os experimentos. Testes anteriores foram feitos sem tais bordas mas resultando em infiltrações entre a manta 1 e a microestrutura. Já esse problema do estrangulamento não ocorreria se fosse usado não poliéster, mas sim laminas e lamínolas de vidro [2].

Para os tubos usados na definição dos reservatórios, os de polietileno mostraram-se prático sendo cortados com tesoura ou com um estilete. Apesar da aderência da cola epóxi em polietileno não ser permanente, a adesão foi satisfatória para as condições impostas. Isto porque não foi usada pressão elevada como também fadiga elevada.

Dispositivos de toner-poliéster suportam vários dias de operação desde que não sofram secagem dos reservatórios. Mesmo ainda estando úmidos é possível recuperá-los. Para isso, deve-se lavar o reservatório usando a solução de interesse com uma pipeta seguido de um condicionamento obtido por passagem de corrente eletroforética. Não é recomendado o condicionamento sob pressão para evitar fadiga da selagem.

2.3 - Conclusões

O uso de dispositivos de toner-poliéster se mostrou uma forma simples e rápida de se desenvolver microchips. Aliado a eles, a colagem de reservatórios usando tubos de polietileno torna ainda mais rápida sua construção principalmente para prototipagem. Já o uso de mantas de silicone não se mostrou eficiente para dispositivos de toner-poliéster devido ao estrangulamento dos canais pelas bordas

da manta de vedação.

Bibliografia

1. do Lago, C. L.; da Silva, H. D. T.; Neves, C. A.; Brito-Neto, J. G. A. A Dry Process for Production of Microfluidic Devices Based on the Lamination of Laser-Printed Polyester Films. *Analytical Chemistry*, v. 75 , p. 3853-3858, 2003.
2. do Lago, C. L.; Neves, C. A.; de Jesus, Dosil D. P.; da Silva, H. D. T.; Brito-Neto, J. G. A.; da Silva, J. A. F. Microfluidic devices obtained by thermal toner transferring on glass substrate. *Electrophoresis*, v. 25 , p. 3825-3831, 2004.

Capítulo 3

MOBILIZAÇÃO

Este capítulo descreve a construção de dispositivos para a movimentação fluídica em microchips. Primeiramente, descrevemos uma fonte de alta-tensão monopolar usando módulos conversores DC/HVDC da EMCO. Em seguida, uma fonte de corrente e alta-tensão bipolar programada e monitorada por tensões elétricas.

Também é descrito um sistema de injeção hidrodinâmico que se baseia em um compressor de ar, um regulador de pressão e um sistema de amortecimento pneumático. O sistema foi calibrado com auxílio de um manômetro eletrônico, também desenvolvido nesse trabalho de doutorado.

3.1 - Fonte de Alta-tensão monopolar

Na literatura há poucos trabalhos descrevendo a confecção de fontes de alta tensão para a faixa de alguns kilovolts e menos ainda com respeito à fontes de corrente. Um desses poucos exemplos é o trabalho de Li e colaboradores [1], onde desenvolveram uma fonte de alta tensão alimentada por uma bateria para uso com microchips. Ela tem uma autonomia de 40 ciclos consecutivos de separação. O projeto não apresenta um regulador de tensão gerando dessa forma, tensões não estabilizadas em sua saída devido à queda da carga da bateria ao longo do tempo. Também é possível achar projetos de fontes de alta tensão na internet como, por exemplo, o uso de *flybacks* de televisores para se gerar altas tensões [2]. Para os testes iniciais nesse trabalho de doutorado, foi usada uma fonte de alta tensão da Glassman High Voltage¹, modelo M810247. Em seguida, essa fonte foi substituída por uma construída em nosso laboratório usando módulos conversores DC/HVDC.

¹ <http://www.glassmanhv.com>

A opção pela confecção de fontes de alta-tensão, usando esse tipo de módulo conversor, se deve pelo objetivo de desenvolver sistemas com um grau de integração maior. Na verdade, não há problema em se trabalhar com sistemas do tipo *benchtop*² quando o objetivo é investigativo. Por outro lado, quando o foco é a integração, visando atender necessidades mais específicas, então se recorre ao desenvolvimento de montagens compactas.

3.1.1 - Montagem

Dois circuitos fazem parte da fonte da alta-tensão monopolar, mas que podem ser usados independentemente. O primeiro circuito é a própria fonte de alta-tensão, esquematizada na Fig. 3.1a, e o segundo circuito é um amplificador de transimpedância (conversor corrente-tensão), esquematizado na Fig. 3.1b.

Na Fig. 3.1a, o resistor Rx é composto por 6 resistores de 10MΩ em série sendo, portanto, equivalente à um resistor de 60MΩ. Os pontos de soldagem desses resistores possuem ilhas relativamente grandes e soldas sem pontas para evitar fugas de alta tensão. Na placa, esses resistores foram recobertos, tanto do lado dos componentes como do lado das soldas, com cola quente para promover o isolamento elétrico e evitar fugas de alta-tensão.

O principal componente desta fonte é o módulo conversor DC/HVDC da EMCO Highvoltage³, modelo G30, não regulado, que pode fornecer 0-3kV usando uma alimentação de 0-12V. Tensões negativas também podem ser obtidas invertendo os terminais Q+ e Q-, do mesmo módulo e usando a mesma alimentação.

A alimentação dos circuitos foi efetuada usando uma fonte simétrica de $\pm 12V$ (não representada).

² Termo usado para se referir a montagens usando grandes equipamentos.

³ <http://www.emcohighvoltage.com>

Fig. 3.1 - Esquema elétrico da fonte de alta-tensão monopolar usando um módulo a EMCO (a) e do conversor corrente-tensão montado na mesma PCB (b).

3.1.2 - Discussão

Como o módulo conversor DC/HVDC não possui regulação de tensão, foi preciso confeccionar um circuito regulador com realimentação para se obter estabilidade da alta-tensão. No circuito da Fig. 3.1a, os diodos D1 e D2 desempenham uma função de proteção do transistor *darlington* Q de ter sua base polarizada inversamente com alguma tensão negativa aplicada no terminal Vprog. O capacitor C filtra o sinal, de picos espúrios, que é aplicado na base do transistor Q. O resistor R2 limita a corrente em até 3mA prevenindo que a fonte entre em curto-circuito.

Para que haja estabilização da alta-tensão, uma fração desta é realimentada aplicando-a na entrada inversora do amplificador operacional U1. Esta fração é obtida do divisor de tensão formado pelos resistores R3 e Rx. Assim, a tensão amostrada é certa de 0,33% da alta-tensão obtida na saída da fonte. Dizendo de outra forma, se a alta-tensão for no máximo de 3kV obteremos aproximadamente no máximo 10V na realimentação. Adotou-se essa configuração de 6 resistores de um quarto de watt porque a tensão de isolamento de um único resistor é insuficiente para evitar possíveis fugas de alta-tensão.

A fonte de alta-tensão é programada usando-se uma tensão que pode variar de 0 a +10V gerando um potencial elétrico de 0 a +3000V. Tal programação é feita usando um conversor digital-analógico de 12 bits (saída de $\pm 10V$) da interface AT-MIO-16XE-50 controlada por software. A saída da alta-tensão encontra-se no ponto chamado de HV da

Fig. 3.1a.

O amplificador de transimpedância deve estar em série com a carga que receberá a alta-tensão e do lado do potencial mais baixo e ligado ao terminal chamado de *i* segundo a Fig. 3.1b. A saída deste amplificador fornece uma tensão elétrica proporcional à corrente que passar pelo resistor R. O valor desse resistor foi definido estipulando-se que a corrente máxima permitida fosse de 60μA. Assim, como o amplificador de transimpedância é alimentado com $\pm 12V$, o valor do resistor deve ser de 200kΩ. Quando são usados microchips de toner-poliéster, a corrente típica é de 6μA permanecendo assim bem abaixo de seu limite superior. O registro da tensão elétrica proporcional à corrente é feito por um conversor analógico-digital da interface AT-MIO-16XE-50 controlada por software.

É recomendável a colocação de um resistor em série com a fonte de tensão e corrente para evitar um eventual curto-circuito. Segundo as especificações do módulo conversor DC/HVDC sua saída pode fornecer no máximo 500μA. Desta forma, um resistor de 10MΩ foi colocado em série com o módulo DC/HVDC permitindo que o sistema forneça uma corrente máxima de 300μA quando programado para aplicar 3kV.

Para a verificação do comportamento da fonte de alta-tensão monopolar, foi obtida uma curva ohmica usando um canal de microestrutura DTL de 160μm de largura e 50mm de comprimento (figura 2.1a, canal *ad*), preenchido com solução tampão HLac/His 20mM (Fig. 3.2).

Fig. 3.2 - Curva ohmica de uma microestrutura de toner-poliéster DTL, 160μm de largura e 50mm de comprimento até o detector. Canal preenchido com tampão HLac/His 20mM.

Essas são as condições típicas dos experimentos. Na prática, correntes maiores que 6μA aproximadamente resultam em linha base instável para esse tipo de dispositivo. Isso é observado na curva ôhmica.

A regressão linear obtida da faixa que vai de 0 a 1300V, corresponde a faixa de trabalho, é

$$corrente = -(0,044 \pm 0,013) + (0,00635 \pm 0,00018) * alta\ tensão$$

3.2 - Fonte de Corrente e Alta-Tensão bipolar

3.2.1 - Montagem

O componente principal dessa fonte (Fig. 3.3) é o mesmo módulo conversor DC/HVDC da EMCO (modelo G30). Um transistor MOSFET T1 controla a tensão de alimentação do módulo conversor. O funcionamento deste transistor é modulado por duas tensões elétricas de controle: uma proporcional a alta tensão (tensão de controle da alta-tensão ou V_{cv}) e a outra proporcional a corrente (tensão de controle da corrente ou V_{cl}). Uma fração da alta tensão, obtida pelo divisor de tensão definido pelos resistores R^* , P1 e R21, é aplicada na entrada não-inversora do AO U1 e sua saída realimentada na entrada inversora do AO U4. O amplificador de transimpedância, definido pelo amplificador operacional U2, gera uma tensão proporcional à corrente que flui pelo divisor de tensão já mencionado. Esta tensão é realimentada na entrada inversora do AO definido por U3. O monitoramento da alta-tensão e da corrente é feito

Fig. 3.3 - Fonte de corrente e tensão.

por duas tensões elétricas sendo uma proporcional a alta-tensão (V_{mv}) e a outra à corrente (V_{mi}).

3.2.2 - Resultados e discussão

A programação da fonte é feita através de duas tensões elétricas de controle: (1) tensão de controle da corrente ($0 < V_{ci} < 1V$) e (2) tensão de controle da alta-tensão ($0 < V_{cv} < 5V$). Já o monitoramento da fonte é feito através de duas tensões geradas pela fonte: (3) tensão de monitoramento da corrente ($0 < V_{mi} < 1V$ ou $-1V < V_{mi} < 0$) e (4) tensão de monitoramento da alta tensão ($0 < V_{mv} < 5V$ ou $-5V < V_{mv} < 0$). O que define se a fonte irá operar como fonte de corrente ou como fonte de tensão é através do uso adequado das tensões de controle. Por exemplo, para operar no modo de corrente positiva, basta programar a fonte para trabalhar com o máximo de tensão ($V_{cv} = 5V$ que corresponde a aproximadamente 3kV). Desta forma, a fonte não será limitada pela alta-tensão e sim pela corrente escolhida. Da mesma forma, para trabalhar em modo de tensão positiva, basta programar a fonte para trabalhar com o máximo de corrente ($V_{ci} = 1V$ que corresponde a aproximadamente 50μA) sendo assim não limitada pela

corrente.

As tensões de monitoramento de corrente e alta-tensão (V_{mI} e V_{mV}) são lidas usando dois conversores analógico-digital da placa de aquisição de dados AT-MIO-16XE-50. Já as tensões de controle foram geradas pelos dois conversores digital-analógico da mesma placa. Posteriormente, visando o uso de outras fontes HV-I operando ao mesmo tempo, adotou-se uma interface com barramento I²C contendo 8 conversores digital-analógico, descrita no capítulo 5, Permitindo o uso de até 4 fontes de HV-I.

Fig. 3.4 - Fotos da fonte de corrente e alta-tensão: (a) vista superior e (b) vista com o soquete desconectado.

Para a mudança de modo positivo para negativo da fonte, ou vice-versa, foi projetado um *layout* de PCB que permitisse sua alternância pela simples rotação do soquete em que o módulo EMCO está montado (Fig. 3.4). Essa alteração automaticamente faz o chaveamento das chaves V_o e I_o de forma simultânea (Fig. 3.3). Por exemplo, para o modo de polaridade positiva, chaveando V_o para $V+$ automaticamente I_o é chaveada para $I+$. Analogamente, para o modo de polaridade negativa, chaveando V_o para $V-$ automaticamente I_o é chaveada para $I-$. Desta forma, é dispensável o uso de qualquer relê de alta tensão para o chaveamento.

Testes de desempenho foram feitos efetuando a limitação da alta-tensão e da corrente com uma carga de $60M\Omega$ acoplada à saída da fonte (Fig. 3.5). Nas figuras *a* e *c* temos 11 conjuntos de pontos para diferentes valores de corrente máxima. De forma análoga, as figuras *b* e *d* também mostra que a fonte manteve a corrente constante para os valores de alta-tensão máxima. Observa-se que a fonte apresenta maior reprodutibilidade para tensões e correntes positivas do que para as negativas. Com

relação aos valores de monitoramento diferentes de zero quando as tensões de controle são programadas para fornecerem zero de alta-tensão e de corrente, talvez possam ser explicados pelo *off-set* dos amplificadores operacionais 1, 2, 3 e 4 da Fig. 3.3.

Fig. 3.5 - Avaliação da resposta da fonte de HV/I para tensões positivas (a e b) e tensões negativas (c e d) com uma carga de 60MΩ. (a e c) Alta-tensão de monitoramento (HV_m) em função da alta-tensão de controle (HV_c) para diferentes valores limite de corrente de controle (I_c) e (b e d) corrente de monitoramento (I_m) em função da corrente de controle (I_c) para diferentes valores limite de alta-tensão de controle (HV_c).

3.3 - Injetor hidrodinâmico

3.3.1- Teoria

O volume injetado em um sistema de duto não circular, regime de fluxo laminar e fluido incompressível, é dada da equação 3.1.

$$V_{injetado} = \frac{1}{128} \frac{d_h^4 \pi}{\eta L} \int \Delta P dt \quad 3.1$$

onde d_h é o diâmetro hidráulico, η é a viscosidade do fluido, L é o comprimento dentre as extremidades do canal, ΔP é a diferença de pressão entre as extremidades do canal e dt é o infinitesimal de tempo.

Isolando a integral, temos que a quantidade I injetada é dada por:

$$I = V_i \frac{128 \eta L}{d_h^4 \pi} = \int \Delta P dt \quad 3.2$$

Supondo que a variação de tempo entre uma medida e outra de pressão seja constante, temos que

$$I = \Delta t \sum_i \Delta P_i \quad 3.3$$

Desta forma, o problema se resume no somatório das variações de pressão.

Cada quantidade I corresponde a uma injeção. Sendo possível a determinação de N quantidades I , o valor médio de I é dado por

$$I = \Delta t \sum_i \Delta P_i \quad 3.4$$

e o desvio padrão da média por

$$s_I = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (I_i - \bar{I})^2}{N - 1}} \quad 3.5$$

Usando o desvio padrão relativo (RSD) para se ter uma idéia mais clara sobre o desvio padrão, temos

$$RSD_I = \frac{s_I}{\bar{I}} \quad 3.6$$

Como o RSD do volume injetado difere do RSD da quantidade I por apenas de uma constante, podemos dizer que

$$RSD_{V_i} = RSD_I \quad 3.7$$

A estimativa do RSD para uma única injeção é dado por

$$RSD_I = \sqrt{N} \cdot RSD_{\bar{I}} \quad 3.8$$

3.3.2 - Montagem do injetor hidrodinâmico

O sistema é composto por um compressor de ar Betta Silente, Angel, Brasil, encontrado em lojas de materiais para aquários ornamentais (Fig. 3.6). Esse compressor vem configurado de fábrica para gerar pressões positivas. No entanto, se removermos a tampa plástica protetora, poderemos observar um rebaixo (como se fosse um furo fechado) ao lado da conexão por onde sai o ar gerado pelo diafragma. Com uma furadeira pode-se abri-lo para que se possa, por esse furo, gerar pressões negativas. A sua abertura não altera o seu funcionamento para pressões positivas.

Fig. 3.6 - Esquema da montagem para a calibração do sistema de injeção para (a) pressão positiva e (b) pressão negativa. Componentes: compressor de ar C, junção J, tubo T1 regulador de pressão, válvula reguladora V da pressão interna, tubo fino T2 de polietileno e tubo T3 de PVC.

Para a junção do tipo cruz J, usou-se um segmento de tarugo de PVC de 25mm de diâmetro externo por 20mm de comprimento e foram feitos dois furos passantes de forma perpendicular entre si. Um desses furos possui um diâmetro de 2mm e o outro possui 8mm. Para a válvula restritora de gás V, usou-se uma pequena presilha para o ajuste da vazão de ar. O tubo T1 foi feito em acrílico para que pudesse ser observado o nível de água em seu interior. Ele contém uma rolha de borracha cortada ao meio com dois furos passantes de 6mm. Por esses furos foram atravessados dois tubos de PVC transparente de diâmetro externo igual ao dos furos da rolha e de 4mm de diâmetro interno sendo ambos de comprimentos diferentes. O de maior comprimento se distancia do fundo do tubo T1 em 1cm quando a rolha está encaixada. Em contrapartida, o tubo de menor comprimento possui comprimento suficiente para atravessar a rolha.

O tubo T2 foi obtido usando-se uma mangueira de polietileno flexível de 28cm de

comprimento e 2mm de diâmetro interno. O tubo T3 é de PVC opaco de 34cm de comprimento e 4cm de diâmetro interno com suas extremidades fechadas com dois discos de acrílico transparente colados com adesivo epóxi Araldite 10 min®. Nesse tubo de PVC foram feitos dois furos, sendo que cada um estando próximo das extremidades e em lados opostos. Um dos furos, por onde se conecta o tubo T2, possui um diâmetro de 2cm. O outro furo possui um diâmetro de 8mm sendo a saída de pressão onde se conecta o sistema em estudo. Todos os encaixes das conexões foram feitos usando-se pedaços de tubos de silicone. Uma foto da montagem pode ser vista na Fig. 3.7.

Fig. 3.7 - Foto do sistema de injeção por pressão.

3.3.3 - Acionador do injetor hidrodinâmico

O circuito de acionamento do injetor hidrodinâmico está representado na figura Fig. 3.8. A montagem é baseada em um transistor de uso geral operando como chave liga-desliga eletrônica. O acionamento da válvula é obtido aplicando-se um sinal digital TTL nível lógico 1 no resistor de valor 4K7 (4,7k Ω) através de uma das linhas digitais 0 (DIO0) da placa de interfacemento. A alimentação do circuito foi feita usando-se uma fonte de +12V e 1A (não representada).

Fig. 3.8 - Esquema elétrico do acionador do injetor hidrodinâmico. NA significa normalmente aberto que corresponde à posição do relê quando se encontra não acionado.

3.3.4 - Manômetro eletrônico

O manômetro eletrônico usa um sensor SX01 de encapsulamento GD2 da Invensys Sensor Systems⁴. Esse modelo apresenta uma faixa de operação de até 1psi em relação à pressão atmosférica. O circuito usado está representado na Fig. 3.9.

Fig. 3.9 - Esquema eletrônico do manômetro eletrônico.

4 <http://www.sensym-ict.com>

A alimentação foi efetuada usando-se duas baterias de 9V para gerar +9V e -9V (não representadas). O dimensionamento dos componentes foi feito tomando-se como referência a tensão de 20mV de fundo de escala, segundo *datasheet* e *application note* do componente.

Para a fixação do circuito, das baterias e da chave de acionamento, usou-se uma base de acrílico. Já para a conexão pneumática, usou-se um bloco de acrílico espesso fixado sobre o circuito por quatro colunas de tarugos de acrílico aparafusados na placa inferior. Desta forma, o sensor não sofrerá fadiga por manuseio da conexão pneumática. Para a vedação, o sensor SX01 foi conectado à esse bloco de acrílico usando um pedaço de mangueira de silicone.

3.3.5 - Calibração do manômetro eletrônico

Para a calibração do manômetro eletrônico, foram registrados os desníveis de um manômetro de coluna d'água com o sistema de injeção aplicando diferentes pressões. O sinal elétrico do manômetro eletrônico foi registrado usando um multímetro HC608 da Hung Chang⁵ - Korea, com o fundo de escala ajustado para mV. Para a conexão do tubo em U do manômetro d'água dentro da linha de pressão, foi confeccionado um conector de um pedaço de tarugo de PVC de 15mm de diâmetro externo com um furo passante de 8mm pelo seu eixo de revolução e um segundo furo de 2mm de diâmetro no centro deste pedaço de forma perpendicular ao primeiro furo formando um T. Essa conexão, chamada de J' na Fig. 3.10, foi ligada na saída do sistema de pressão juntamente com o manômetro eletrônico e o tubo em U. Na Fig. 3.10, encontra-se o compressor de ar C, a junção J, tubo T1 regulador de pressão, a válvula reguladora V da pressão interna, o tubo fino T2 de polietileno, tubo T3 de PVC, a junção J', o tubo U, o manômetro eletrônico P e o multímetro M.

Inicialmente, ajustou-se o *offset* do sinal elétrico através do *trimpot* T do circuito do manômetro eletrônico (Fig. 3.9) para o mais próximo de zero e com a bomba desligada. Foram então feitas duas séries de 10 medidas do desnível do tubo em U (h_U) aplicando-se diferentes pressões variando h_{T1} a cada 1cm (Fig. 3.10). Uma série com 10 valores de pressão positiva e outras 10 com valores de pressão negativa. Cada série partiu com h_{T1} igual a zero de coluna d'água que corresponde ao tubo T3 vazio. O

⁵ Essa empresa Hung Chang foi comprada pela Protek <<http://www.protektest.com>> e o multímetro HC608 passou a se chamar Protek 608.

desnível h_U foi medido usando uma régua graduada em milímetros. Para cada amostragem da pressão, dois registros foram feitos: um com o compressor desligado e o outro com o compressor ligado. Desta forma, pôde-se eliminar derivas entre uma medida e outra através de suas diferenças.

Fig. 3.10 - Esquema da montagem para a calibração do manômetro eletrônico usando a configuração de pressão positiva.

3.3.6 - Calibração do injetor

Para a calibração do injetor foi usada a mesma configuração ilustrada na Fig. 3.10 mas sem o tubo em U e a junção J' e tendo sido o manômetro eletrônico conectado diretamente na saída do tubo T3. Foram escolhidas 4 colunas d'água (h_{T1}): -10, -1, +1 e +10 cmH₂O. Cada uma dessas pressões, variou-se o tempo de injeção de 1 até 10 segundos em passos de 1 segundos. Desta forma, obteve-se o registro da pressão em função do tempo de acionamento da bomba do injetor. Para cada tempo de injeção foi feito em decuplicata.

Cada registro da pressão em função do tempo possui 2 segundos iniciais sem acionamento e ao fim da injeção 1 segundo sem acionamento. Calculou-se a área da pressão pelo tempo de injeção das decuplicatas e o valor médio das áreas das decuplicatas. Ao fim, fez-se 4 regressões (-10, -1, +1 e +10 cmH₂O) dos valores médios das integrais contra o tempo de acionamento do sistema.

Para a aquisição dos dados e para o tratamento numérico, dois programas foram

usados. O primeiro para registrar as variações de pressão em função do tempo e o segundo para calcular a área da pressão pelo tempo de acionamento.

O primeiro é um programa escrito em C padrão e usando a biblioteca Comedi para o controle da interface AT-MIO-16XE-50 da National Instruments (Apêndice B). Desta interface, foram usados uma linha digital, responsável pelo acionamento do injetor hidrodinâmico, e um ADC, responsável pela leitura do sinal do medidor de pressão. A linha digital 0 (DI0) foi conectada ao resistor da figura Fig. 3.8 para o acionamento da bomba. O programa recebe dois parâmetros via linha de comando sendo o primeiro o tempo de aquisição sem acionamento do compressor e o segundo o tempo de aquisição com acionamento do compressor. Ambos os valores de tempo devem ser fornecidos em segundos. Como saída, o programa imprime o (1) tempo decorrido para cada medida, (2) o valor da leitura do medidor de pressão e (3) o intervalo de tempo entre a medida anterior usado para o cálculo da área.

O segundo é um *script*, que usa o programa de tratamento numérico Octave⁶, para calcular as áreas da pressão do sistema durante um certo tempo de injeção (apêndice E). Este *script* recebe como parâmetros o nome do arquivo a ser tratado, o tempo de espera sem acionamento da bomba e o tempo de acionamento da bomba (ambos em segundos) e gera na saída padrão duas colunas onde a primeira coluna é o tempo de acionamento da bomba e a segunda o valor da área da integral. O *script* carrega o arquivo de dados, determina a linha base por um ajuste de uma reta sobre os pontos dos dois primeiros segundos e do último segundo do arquivo, subtrai o deslocamento da linha base e calcula a área através da soma das áreas de retângulos pelo valor da pressão e o ponto médio do intervalo de tempo entre duas medidas.

As regressões lineares dos resultados das áreas das pressões pelos tempos de acionamento em função do tempo de injeção foram efetuadas na planilha de cálculo Grace⁷.

3.3.7 - Resultados e Discussões

As dimensões dos tubos T1, T2 e T3 foram determinadas de forma empírica procurando encontrar o melhor compromisso entre o tempo de resposta da pressão e amortecimento da pressão interna. Para isso, algumas considerações foram feitas.

6 <http://www.octave.org>

7 <http://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace>

O tubo T1 deve apresentar um diâmetro não muito pequeno para que o borbulhamento não provoque alterações significativas no nível do líquido. Também não deve apresentar um diâmetro grande demais para que o volume interno não seja elevado resultando em um atraso da pressão interna para alcançar o seu valor máximo.

Com relação aos tubos internos ao tubo T1, eles não podem apresentar um diâmetro muito pequeno para não gerar uma restrição elevada ao fluxo de ar. Eles também não podem apresentar um diâmetro muito grande para não provocar variações elevadas no nível de água do tubo T1 durante o borbulhamento.

Já os tubos T2 e T3 são responsáveis pelo amortecimento das pulsações geradas pelo compressor de ar. O tubo T2 foi escolhido de tal forma que promovesse uma restrição proposital. Já o tubo T3 desempenha um papel de amortecedor de pulsações devido ao seu volume interno.

Outro ponto importante é que o sistema a sofrer a pressão do injetor precisa apresentar uma restrição a passagem de ar maior que a própria restrição do sistema de injeção.

O ajuste do borbulhamento no tubo T1 foi feito através da válvula V da Fig. 3.6. Foi feito o registro da pressão interna do sistema, com auxílio de um manômetro de coluna d'água, em função do ajuste da válvula V. Observou-se que, a partir da eminência de borbulhamento até um borbulhamento moderado, a pressão na saída do sistema de pressurização é aproximadamente constante para pequenas variações no ajuste da válvula V (Tab. 3.1).

Tab. 3.1 - Variação da pressão dentro do injetor (h_u) em função do ajuste da válvula V para 10cmH₂O no tubo T1.

Passo	h_u / cmH₂O (erro $\pm 0,1$)	Tipo de borbulhamento
0	10.3	Eminência de borbulhamento
1	10.3	Início do borbulhamento
2	10.3	Suave
3	10.4	Moderado
4	10.6	Intenso
5	10.8	Vigoroso
6	12.3	Máximo

O valor chamado de Passo corresponde à um intervalo do percurso necessário

para ir da válvula totalmente aberta até o seu fechamento. A montagem usada é a descrita na Fig. 3.10, mas sem o manômetro eletrônico. Esse comportamento também foi observado para -10, +1 e -1cm de coluna d'água. Os valores de pressão correspondentes à coluna d'água zero se referem ao tubo T1 vazio.

A pressão interna do sistema, fazendo-se o ajuste da vazão de ar através da válvula V, mostrou que a pressão não se altera quando o tubo T1 está vazio. Não há variação de pressão quando a válvula V está totalmente aberta ou totalmente fechada independentemente quando se está trabalhando com pressão positiva ou negativa. Desta forma, o tubo T1 não apresenta restrição significativa a passagem de ar.

Fig. 3.11 - Pressão efetiva do sistema (h_u) em função da altura da coluna d'água no tubo T1 (h_{T1}).

Em caso de determinação quantitativa, em que seja necessário saber a pressão efetiva que o sistema esteja aplicando, os cálculos descritos na seção 3.2.1 devem ser considerados. Para tal, a resolução dos cálculos resume-se na determinação da quantidade I em função do tempo de injeção, para uma certa coluna d'água no tubo T1.

Primeiramente, é necessário saber a pressão efetiva do sistema em função da coluna d'água no tubo T1. Na Fig. 3.11 temos os registros para pressão positiva e negativa. Os registros foram feitos usando um manômetro de coluna d'água.

Podemos observar que, dependendo da configuração para pressão positiva ou negativa, o sistema apresenta respostas diferentes. Desta forma, temos duas calibrações sendo uma para pressões negativas (equação 3.9) e outra para pressões

positivas (equação 3.10).

$$P < 0 : h_U = -(0,54 \pm 0,14) + (1,0 \pm 0,8) \cdot h_{T_1} \quad 3.9$$

$$P > 0 : h_U = +(2,82 \pm 0,08) + (1,023 \pm 0,014) \cdot h_{T_1} \quad 3.10$$

onde h_U é a pressão em cmH₂O correspondente ao desnível no tubo em U e h_{T_1} a altura da coluna d'água do tubo T_1 e S_{sensor} a resposta elétrica do sensor de pressão em volts. Os números entre parênteses correspondem aos erros dos ajustes fornecidos pelo programa Grace.

O próximo passo na determinação da quantidade I é usando um manômetro eletrônico, descrito na seção 3.3.4, para o registro em função do tempo de injeção. A calibração do dispositivo foi feita usando a configuração esquematizada na Fig. 3.10. O registro da pressão interna do sistema (h_U) contra o sinal elétrico do manômetro eletrônico (S_{sensor}) foi feito.

O manômetro eletrônico apresentou uma deriva no sinal elétrico de aproximadamente 2mV/min. Apesar desse comportamento, isso não comprometeu as calibrações por ter sido feita medidas diferenciais. Os dados forneceram as seguintes equações por regressão linear para pressão negativa (equação 3.11) e pressão positiva (equação 3.12).

$$P < 0 : h_U = (0,15 \pm 0,15) + (23,8 \pm 0,5) \cdot S_{\text{sensor}} \quad 3.11$$

$$P > 0 : h_U = (0,29 \pm 0,07) + (24,1 \pm 0,2) \cdot S_{\text{sensor}} \quad 3.12$$

Feita a calibração do medidor de pressão, podemos efetuar o registro da pressão do injetor hidrodinâmico em função do tempo de acionamento. Podemos ter uma idéia dos perfis das curvas de pressão pelo tempo olhando as figuras Fig. 3.12a e Fig. 3.12b.

Fig. 3.12 - Exemplo de (a) 10 injeções de 3 segundos usando uma coluna d'água de 10cm no modo positivo e (b) injeções de 1 e 3 segundos com pressões de +10, +1, -1 e -10 cmH_2O no tubo T1.

Na primeira figura, pode-se observar a reprodutibilidade de 10 medidas de 3 segundos de injeção. Já na segunda, pode-se observar que o sistema responde com pressões positivas ligeiramente mais intensas quando comparado com pressões negativas.

Após ter sido efetuado o cálculo da média das integrais para cada tempo de injeção em decuplicata, fez-se a regressão linear das integrais em função do tempo de injeção (Fig. 3.13a).

Fig. 3.13 - (a) Regressão linear da integral da pressão do sistema pneumático (com barras de erro) em função do tempo de injeção e (b) desvio padrão relativo da quantidade I para uma única integral em função do tempo de injeção.

Uma análise do RSD em função do tempo de injeção (Fig. 3.13b) nos mostra que a partir de 3 segundos de injeção o RSD não varia de forma significativa quando comparado com tempos maiores. Nota-se também que para -10 e +10 cmH₂O o RSD para uma única injeção sofre uma flutuação menor (~0,5%) do que o RSD de -1 e +1 cmH₂O (~1%).

3.3.8 - Aplicação do injetor hidrodinâmico em CZE

Dentre os métodos de mobilização de amostra (ou *sample loading*) mais conhecidos para separações eletroforéticas, a injeção hidrodinâmica mostra-se mais vantajosa que a injeção eletrocinética devido ao caracter representativo do plug de amostra em relação a amostra propriamente dita independentemente do seu conteúdo iônico. Já na injeção eletrocinética, ocorre mobilização diferenciada devido as diferenças de mobilidades das espécies. No entanto, devido as dificuldades de se desenvolver conexões pneumáticas robustas para microchips que possam resistir à fadiga, a injeção eletrocinética se tornou mais popular pela simplicidade de implementação. Muitos trabalhos de injeção eletrocinética podem ser encontrado, mas pouco se fala a respeito de espécies de alta mobilidade. Portanto, uma avaliação do injetor hidrodinâmico em algum método bem estabelecido se faz necessário antes de seu uso em microchips. Devido à experiência do nosso grupo, análises de cátions com injeção hidrodinâmica em CZE mostram-se justificáveis. Assim, o objetivo é verificar a reprodutibilidade de injeções de amostras contendo NH₄⁺, K⁺, Na⁺ e Li⁺ em CZE com detecção condutométrica.

Solução e Reagentes

Foram preparadas soluções estoque de 100mM dos cloretos dos cátions amônio, potássio, sódio e lítio em água deionizada. Para o tampão de corrida foi usado 20mM de MES/His contendo 2,5mM de 18-coroa-6-eter (pH 6).

Equipamentos

Foi usado um equipamento de eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (C⁴D) construído em nosso laboratório. O detector operou a 600kHz e com amplitude de 2V_{pp} sendo posicionado à 10cm do fim da coluna na extremidade do capilar próximo do potencial elétrico mais baixo (terra). Os experimentos foram executados aplicando-se +20kV em um capilar de sílica fundida de 50cm de

comprimento, 75 μ m de diâmetro interno e 360 μ m de diâmetro externo (J&W, Agilent Technologies, São Paulo, Brasil). Para as injeções, foi usado o injetor hidrodinâmico descrito anteriormente (seção 3.3) na configuração de pressão negativa.

Resultados e discussão

Testes alterando a altura da coluna do injetor e alterando o tempo de injeção foram feitos para se observar a linearidade (Fig. 3.14).

a

Fig. 3.14 - Linearidade da área dos picos referente as injeções alterando (a) a altura da coluna d'água usando-se 30s de injeção e (b) o tempo de injeção usando-se 10cmH₂O.

Foi observado que o desvio padrão relativo para 10 injeções da amostra contendo 200 μ M dos cátions amônio, potássio, sódio e lítio foi de 0,55, 0,75, 0,72 e 0,78%. Na Fig. 3.15 pode-se observar a sobreposição de duas injeções.

3.4 - Conclusões

A fonte de alta-tensão monopolar mostrou-se simples e de fácil construção sendo conveniente para montagens compactas.

Os resultados de correntes residuais para alta-tensão igual a zero, ou alta-tensão

Fig. 3.15 - injeção hidrodinâmica de duas amostras de cátions por 30s sob -10cmH₂O.

residual para corrente igual a zero podem ser atribuídos às tensões de *offset* dos amplificadores operacionais. Mesmo assim, o sistema se comportou de forma esperada tanto para tensões positivas como negativas.

O sistema de injeção hidrodinâmico mostrou-se reproduzível e simples de ser construído. Certas aplicações necessitam apenas um sistema com pressurização estável para injeções reproduzíveis. Isso foi visto nos testes com a análise dos cátions em CZE. Para a determinação do volume injetado, é necessário o levantamento das curvas da quantidade *I* em função do tempo de injeção para uma dada coluna d'água.

O sistema apresentou maior reprodutibilidade para tempos de injeção maior que 3s e pressão de ± 10 cmH₂O. Seu erro relativo foi menor que 1% sendo observado durante os testes de reprodutibilidade em CZE gerando valores comparáveis.

Bibliografia

1. Erickson, D.; Sinton, D.; Li, D., "A miniaturized high-voltage integrated power supply for portable microfluidic applications", *Lab on a Chip*, 4, 2004, 87-90.
2. Goldwasser, S. M., Simple High Voltage Generator Low Voltage DC In, up to 30 KV Out, <http://members.misty.com/don/samflyhv.html>, último acesso em 16/12/004.

Capítulo 4

DETECÇÃO

Esse capítulo descreve o sistema de detecção condutométrica sem contato em microchips. Melhorias são apontadas com relação ao circuito elétrico do detector. Em seguida, a proposta de confecção de eletrodos separados para C⁴D usando a técnica de confecção de circuitos impressos (PCB). Duas versões são apresentadas sendo a primeira de fácil construção e a segunda voltada para o uso com o sistema de definição de reservatórios usando mantas de silicone e bloco de acrílico descrito (capítulo anterior).

4.1 - Detecção usando C⁴D

4.1.1 - O circuito

O circuito de detecção está baseado na proposta de do Lago e da Silva [1] com algumas modificações (Fig. 4.1). A primeira modificação é o uso do amplificador operacional OPA2353 da Texas¹. Ele apresenta a mesma pinagem do OPA2604, mas com características melhores como por exemplo, maior largura de banda (44MHz contra 20MHz) e menor ruído (5nV·Hz⁻¹ contra 10nV·Hz⁻¹). Porém, necessita de uma alimentação máxima de 5V entre seus pinos.

Para a alimentação desse circuito foram usadas três pilhas recarregáveis de Ni-MH da GP Batteries² do tipo AAA (1,2V e 1700mAh) e montadas em um suporte. Uma derivação foi soldada no primeiro terço da alimentação de tal forma a fornecer -1,2V, 0V e +2,4V. Desta forma, tem-se uma alimentação assimétrica para o circuito.

¹ <http://www.ti.com>

² <http://www.gpbatteries.com.uk>

Fig. 4.1 - Esquema do C⁴D.

Como fonte de sinais, um gerador de funções MFG-4210 (*Function Generator with Frequency Counter*) da Minipa³, ajustado para 2V_{pp} e 600kHz, foi conectado ao conector X1 (figura Fig. 4.1).

Já o circuito de compensação de linha base está representado na Fig. 4.2. Ele é o mesmo proposto pelos autores não sofrendo nenhuma alteração. Os resistores ajustáveis R8 e R9 são para os ajustes grosso e fino respectivamente.

Fig. 4.2 - Compensador de linha base.

³ <http://www.minipa.com.br>

4.1.2 - Discussão

A evolução dos amplificadores operacionais é constante gerando circuitos integrados cada vez mais rápidos e mais econômicos. O OP usado nessa versão do detector é diferente do OPA2604 por apresentar uma baixa tensão de alimentação. Sua alimentação limita-se até 5V entre os pinos de alimentação enquanto que o OPA2604 limita-se até $\pm 24V$ ($\pm 12V$ tipicamente). Também existem outros OP de alimentação simétrica de $\pm 5V$ disponíveis no mercado que também podem ser usados tomando o devido cuidado com a alimentação.

O motivo da adoção de uma alimentação de -1,2V e +2,4V (não simétrica) se deve ao tipo de OP que trabalha melhor fora da metade exata da faixa de alimentação, segundo *datasheet* do componente. Um cuidado deve ser tomado com o resistor R1 para não apresentar valor menor que $1M\Omega$, caso contrário o conversor corrente-tensão entrará em oscilação.

A fonte geradora de sinais (no caso denominada de oscilador na figura Fig. 4.1) deve ter sua frequência e amplitude ajustada de tal forma a apresentar uma tensão de até $1,4V_{pp}$ a 600kHz no pino 1 do primeiro OP (IC1A) para que não ocorra saturação do OP. Desta forma, antes da retificação (antes do resistor R4) teremos um semi-ciclo negativo que vai de -100mV até -800mV (aproximadamente 700mV de pico negativo).

Um comportamento observado durante os experimentos foi uma pequena mudança na linha base da corrente quando o sinal do detector satura para $+V_{cc}$ ou para $-V_{cc}$. Isso foi também observado por colegas do mesmo ambiente de trabalho que sugeriram uma correção e a testaram resultando na eliminação do fenômeno. Tal fenômeno pode ser resultado do consumo elevado de corrente do operacional através dos diodos quando ocorre a saturação do OP. A correção proposta baseia-se na colocação de um resistor de $1k\Omega$ entre os nós A e B da figura Fig. 4.2 que corresponde à saída do OP IC1B e o diodo zener D1. Essa correção não foi implementada no presente trabalho por não ter sido feita a tempo e por não ter comprometido os experimentos visto que se considerou apenas resultados dentro da faixa de operação (dentro dos limites de $+V_{cc}$ e $-V_{cc}$).

4.2 - Eletrodos de PCB para C⁴D

4.2.1 - Eletrodos de PCB – versão 1

Para o *layout* dos eletrodos foi usado o programa de edição vetorial Sketch (também chamado de Skencil⁴).

O *layout* adotado está apresentado na figura Fig. 4.3. O par de eletrodos retangulares de 1mm×13mm foi confeccionado em uma placa de fibra de vidro de 76mm×25mm×1mm. Nessa figura, o par apresenta 300µm de intersecção e

Fig. 4.3 - *Layout* dos eletrodos para C⁴D usando PCB (versão 1).

250µm de afastamento na região de detecção. O *layout* contém grandes regiões retangulares para dar suporte durante o processo de acabamento. Também tomamos cuidado para que não houvesse regiões com cobre logo abaixo dos reservatórios devido a presença dos eletrodos de alta-tensão.

Para a confecção da placa, usamos o processo de confecção de placas de circuito impresso da Ferragini⁵ que usa máscara de toner e prensa térmica. O decalque do toner na placa de cobre foi feito a 130°C por 2 minutos e pressão moderada.

Para a corrosão usamos solução ácida de cloreto de ferro III. Após a corrosão da placa, o toner foi removido com palha de aço, água de torneira e detergente.

Foi feito um nivelamento das regiões onde há cobre com as que não apresentam cobre efetuando aplicações de verniz em spray. O acabamento foi feito usando lixas d'água número 600. O verniz usado foi o verniz em *spray* Isotec da

⁴ <http://www.nongnu.org/skencil>

⁵ <http://www.ferragini.com.br>

Implastec⁶ incolor. Para cada nova aplicação de verniz, esperou-se a camada secar e fez-se um novo nivelamento. Foram feitas tantas aplicações quantas foram necessárias para nivelar as duas regiões (tipicamente 4 aplicações).

4.2.2 - Eletrodos de PCB – versão 2

O processo de confecção dessa versão é o mesmo que o descrito para a versão 1. A diferença está no *layout* e na montagem (Fig. 4.4). Nesse layout, as 6 cruzes brancas menores marcam as posições dos furos de 3,2mm usados para a fixação do bloco de acrílico juntamente com a manta 1 de silicone responsável pela vedação (vide capítulo 2). Já as 4 cruzes maiores nas bordas são usadas para fixação do bloco.

Nas extremidades dos eletrodos, há ilhas para a solda da entrada de sinal vinda da fonte geradora de sinais e para o contato elétrico da entrada do circuito eletrônico do C⁴D. Para a entrada do sinal, foi soldado um conector do tipo BNC.

Fig. 4.4 - Layout dos eletrodos para C⁴D usando PCB (versão 2).

4.2.3 - Discussão

Um aspecto importante que precisa ser realçado é o nivelamento das regiões com e sem cobre. Esse processo é necessário quando trabalhamos com dispositivos de toner-poliéster por serem flexíveis. Caso não seja feito esse nivelamento

⁶ <http://www.implastec.com.br>

ocorrerá um estrangulamento do canal de separação na região de detecção. Já esse nivelamento não seria preciso se tivéssemos trabalhado com dispositivos toner-vidro, em particular, usando pelo menos uma lamínula para microscópio [2] que, apesar de possuir uma espessura da ordem de 100µm, é bastante resistente à deformações.

Com relação ao programa para o *design* da microestrutura, qualquer programa gráfico pode ser usado desde que o usuário tenha algum controle sobre a espessura dos traços.

4.3 - Conclusões

O sistema de detecção para microchips de reservatórios colados é o mais simples e mais fácil de ser implementado para testes com microchips de toner-poliéster. Já o que faz uso do bloco de acrílico e de mantas de silicone demanda um trabalho maior não permitindo mudanças. Recomenda-se para testes iniciais, onde ainda estão sendo definidos os parâmetros do sistema, a primeira versão. Quando o sistema atingir um certo grau de maturidade pode-se optar pela segunda versão.

Os eletrodos de PCB são fáceis de serem construídos e mostram um grande potencial para a integração circuitos eletrônicos aumentando, desta forma, o grau de integração do sistema de análise.

Bibliografia

1. da Silva, J. A. F.; Guzman, N.; do Lago, C. L. Contactless conductivity detection for capillary electrophoresis - Hardware improvements and optimization of the input-signal amplitude and frequency. *Journal of Chromatography A*, v. 942, p. 249-258, 2001.
2. do Lago, C. L.; Neves, C. A.; de Jesus, D. P.; da Silva, H. D. T.; Brito-Neto, J. G. A.; da Silva, J. A. F. Microfluidic devices obtained by thermal toner transferring on glass substrate. *Electrophoresis*, v. 25, p. 3825-3831, 2004.

Capítulo 5

CONTROLE E APLICAÇÃO

Neste capítulo será abordado o controle do sistema (hardware e software) e aplicações usando dois modos de separação eletroforética com dispositivos de toner-poliéster.

A primeira aplicação é a separação em CZE de cátions alcalinos (K^+ , Na^+ e Li^+) usando soluções padrão e em uma amostra de sangue. Já a segunda, uma separação isotacoforética, na qual são separados os mesmos cátions.

5.1 - Hardware

5.1.1 - Interface I²C

Para a geração de tensões elétricas, foi construído um circuito contendo 8 DAC I²C (Fig. 5.1). Este é baseado nos conversores digital/analógico DAC6574 ¹. Esse componente apresenta 4 conversores de 10-bits com saída de 0 a 5V e pode fornecer até 50mA ($V_{CC}=5V$). Os 4 DAC podem ser programado independentemente ou simultaneamente. A alimentação do circuito foi efetuada usando os 12V da própria fonte de alimentação do microcomputador e estabilizados à 5V usando um regulador de tensão 7805. Os *jumpers* J1 e J2 da Fig. 5.1 permitem o endereçamento do DAC U1 no barramento I²C enquanto e os outros *jumpers* J3 e J4 fazem o mesmo com o DAC U2.

1 O código da família está organizado da seguinte forma: DACX57Y, onde X corresponde à resolução (5 para 8-Bits, 6 para 10-Bits, 7 para 12-Bits e 8 para 16-Bits) e Y corresponde ao número de DAC no componente (1 para um conversor e 4 para quatro conversores).

Fig. 5.1 - Conversores digital/analógico de 10-bits com interface I²C.

Para a comunicação dos DAC com o computador, um adaptador para o barramento I²C foi montado usando a porta paralela de impressão, padrão Centronix, do microcomputador IBM-PC (Fig. 5.2).

A porta paralela de impressão foi configurada para o modo ECP ou EEP ² através de uma opção na BIOS do computador. O programa i2cdetect, que acompanha o pacote lm-sensor³, foi usado para a configuração e teste de comunicação.

² ECP e EEP são protocolos de comunicação para porta paralela que permitem comunicação bidirecional. Diferentemente, o SSP é unidirecional e é encontrado nos primeiros IBM-PC e já está em desuso hoje em dia. É possível escolher um dos três protocolos alterando esses parâmetros diretamente na BIOS do microcomputador.

³ <http://secure.netroedge.com/~lm78>

Fig. 5.2 - Interface do barrento I²C usando a porta paralela padrão Centronix de um IBM-PC.

O barramento I²C construído foi baseado no circuito descrito no *Open Automation Project* [1], mas usando-se o transistor 2N2222 ao invés do 2N3904. Para seu uso, é necessário carregar os módulos de kernel `i2c-philips-par`, `i2c-core` e `i2c-dev`.

5.2 - Softwares

5.2.1 - Programa para controle da fonte de corrente e tensão usando a biblioteca Comedi – Apêndice A

Esse programa permite o controle da fonte de corrente e tensão usando uma interface física (no caso desse trabalho, AT-MIO-16XE-50). A programação da fonte de corrente e tensão (seção 3.2) é feita através de dois DAC, para gerar as tensões de controle da alta-tensão e da corrente, e dois ADC, para as tensões de monitoramento da alta-tensão e da corrente. Como saída, o programa imprime na `stdout`⁴ uma linha com 5 colunas contendo os seguintes valores: (1) tempo decorrido na execução, (2) alta-tensão de controle, (3) alta-tensão de

⁴ Saída padrão. A impressão é feita na tela.

monitoramento, (4) corrente de controle e (5) corrente de monitoramento. Sua execução é feita através de uma interface de linha de comando (CLI) contendo parâmetros de linha de comando. Para ver todas as opções, executar o programa com a opção -h. Instruções de compilação encontram-se no código fonte.

5.2.2 - Programas para o sistema de injeção hidrodinâmica - Apêndice B

O programa do apêndice B foi usado na calibração do sistema de injeção. O processo exigiu efetuar o acionamento do compressor (capítulo 3.2.2) em tempos bem determinados e, simultaneamente, efetuar a leitura do sinal elétrico do manômetro eletrônico (capítulo 3.2.4). O programa foi escrito em C padrão e usa a biblioteca comedi para escrever 1 ou 0 em uma linha digital, como também para a leitura de um conversor analógico-digital.

Esse programa é executado via CLI, de dentro de um *shell*, recebendo dois parâmetros. O primeiro corresponde ao tempo em que o sistema ficará efetuando as leituras do medidor de pressão, sem o acionamento do compressor de ar. O segundo parâmetro corresponde ao tempo leitura do ADC com o sistema de compressão de ar acionado. Ao fim do período de tempo de acionamento do compressor de ar, o sistema desliga o acionador do compressor, porém continua efetuando leituras durante um tempo igual ao primeiro período de tempo sem acionamento do compressor. A seleção das linhas digitais e do ADC são feitas diretamente no código do programa. Instruções de compilação encontram-se no código fonte.

5.2.3 - Programa para CZE e CIP - Apêndice C.

Este programa é usado para o controle dos sistemas de separação em CZE e CIP usando a fonte de corrente e tensão, controlada pela interface I²C para acessar os DAC I²C. A interface usada foi a AT-MIO-16XE-50. Um esquema da montagem encontra-se na Fig. 5.7. Esse mesmo esquema foi usado com microestruturas com seus reservatórios definidos com colagem de tubos (seção 2.1.4) e também com o uso da manta de silicone e bloco de acrílico (seção 2.1.5). Para ter acesso à essa lista de opções, basta executar o programa com a opção -h. Instruções de compilação encontram-se no código fonte.

5.3 - Aplicações

5.3.1 - Eletroforese capilar em microchip (MCE) - versão 1

Esta seção descreve um sistema de eletroforese capilar em microchip usando dispositivos de toner-poliéster. A idéia desse sistema é demonstrar a funcionalidade dessa montagem [2].

A primeira versão da montagem está representada na Fig. 5.3. Ela faz uso de um microchip de toner-poliéster para eletroforese capilar em microchip, descrito no capítulo 2, figura 2.1a, com reservatórios feito de fragmentos de tubos de polietileno colado (capítulo 2, seção 2.2.1.4). O processo de detecção está descrita no capítulo 4, seção 4.2.1. O controle, nesse capítulo.

Fig. 5.3 - Diagrama da montagem do sistema de separação eletroforética usando microchips de toner poliéster e injeção eletrocinética.

Os eletrodos 1 e 2 da Fig. 5.3 foram feitos de fios de platina de 2,5cm de comprimento por 500µm de diâmetro que foram encaixados em terminais de soquete torneado onde foi feita a soldagem do terminal elétrico.

O monitoramento da fonte de alta-tensão é feito através de duas tensões elétricas que a fonte de alta-tensão gera, chamadas de Vm (monitor de alta-tensão) e Im (monitor de corrente), que são conectadas aos ADC0 e ADC1 respectivamente. A programação da alta-tensão foi feita de forma manual através de uma tensão elétrica (Vprog) obtida de um *trimpot*.

Fig. 5.4 - Fotos da montagem do sistema de separação eletroforética usando microchip de toner-poliéster e o sistema de injeção eletrocinética. Em (a), temos o gerador de funções (A), o sistema de detecção (B), a fonte de alta-tensão (C), o compensador de linha base (D), barra de conectores da placa de aquisição de dados (E) e o gabinete do microcomputador (F). Em (b) temos, o conversor corrente/tensão e retificador (A), descrito no capítulo 4, seção 4.2, pilhas recarregáveis para alimentação do circuito de detecção (B), garra jacaré correspondente ao eletrodo 2 da Fig. 5.3 conectado ao terra do sistema (C), garra jacaré correspondente ao eletrodo 1 da Fig. 5.3 conectado ao terminal de potencial elétrico mais alto da fonte de alta-tensão (D), placa de circuito impresso que dá suporte à montagem dos eletrodos de PCB descrito no capítulo 4, seção 4.3.1 (E), cabo coaxial trazendo o sinal do gerador de funções (F), caixa metálica de alumínio servindo como gaiola de Faraday (G) e placa de acrílico contendo 4 conectores para os eletrodos de platina e para as conexões elétricas (H).

A microestrutura foi fixada usando fita adesiva fazendo a região de detecção passar sobre os dois eletrodos.

Na mesma figura ainda, o gerador de funções usado foi um MFG-4210 Gerador de Funções e Freqüencímetro, da Minipa⁵ ajustado para fornecer uma onda senoidal de 600kHz e $2V_{pp}$.

O sinal do sistema de detecção, vindo da saída do circuito de compensação de linha base, é aplicado na porta 0 do conversor analógico-digital (ADC0).

A Fig. 5.4 mostra fotos da montagem representada na Fig. 5.3. Foi colocado um pequeno bloco de isopor juntamente com um elástico para efetuar um contato

5 <http://www.minipa.com.br>

Fig. 5.5 - Diagrama da montagem do sistema de separação eletroforética usando microchips de toner poliéster e injeção eletrocínética.

efetivo da região de detecção do canal microfabricado com os eletrodos (Fig. 5.4b, entre as letras H e C).

5.3.2 - Eletroforese capilar em microchip (MCE) - versão 2

Essa montagem é baseada na montagem versão 1. Nessa nova montagem a fonte de alta-tensão foi substituída por outra, baseada no módulo conversor DC/HVDC e programada via software (capítulo 3). Outra diferença é o uso de mantas de silicone para promover a vedação da microestrutura com um bloco de acrílico que define os reservatórios dos líquidos (capítulo 2). A microestrutura usada foi a da figura 2.1.b. Também foi usada a segunda versão dos eletrodos de detecção usando a técnica de confecção de PCB (capítulo 4). A Fig. 5.5 é uma representação dessa nova montagem e na Fig. 5.6, o sistema montado.

Fig. 5.6 - Fotos da montagem do sistema de separação eletroforética usando microchip de toner-poliéster, sistema de injeção por pressão e manta de silicone para vedação e delimitação dos recipientes de soluções. Em (a) temos, a fonte de alimentação elétrica do sistema (A), o sistema de compensação de linha base (B), a barra de conectores da placa de aquisição de dados (C), o injetor pneumático (D), o sistema de detecção contendo a fonte de alta-tensão (E), o gerador de funções (F) e o microcomputador (G). Em (b) temos, as pilhas de alimentação do circuito do detector (A), a fonte de alta-tensão contendo o, no mesmo PCB, o conversor corrente-tensão (B), o circuito eletrônico usado em detecção condutométrica sem contato (C), a segunda versão dos eletrodos usando a técnica de construção de placas de circuito impresso (D), o bloco de acrílico contendo as mantas de silicone e a tampa de acrílico com conectores para os eletrodos de platina e os terminais elétricos (E) e o conector responsável pelo chaveamento manual da alta-tensão para injeção ou separação (F).

5.3.3 - Isotacoforese em microchip (MITP)

O sistema de separação usando a técnica de isotacoforese está representado na Fig. 5.7.

Essa versão é semelhante à montagem versão 1 para eletroforese em microchip. A microestrutura usada está ilustrada na figura 2.1.c. Os reservatórios foram definidos por colagem de pedaços de tubos (seção 2.2.1.4). Essa nova montagem fez uso de uma fonte de corrente e alta-tensão (seção 3.2) e do sistema de injeção pneumática com pressão negativa (seção 3.3). A linha digital 0 da interface é responsável pelo acionamento do sistema de injeção. Os eletrodos usados foram os obtido pelo processo de PCB versão 1 (seção 4.3.1).

Fig. 5.7 - Diagrama da montagem do sistema de separação isotacoforético usando microchips de toner poliéster e injeção pneumática.

Para se efetuar a uma separação isotacoforética de cátions, primeiramente devemos preencher o capilar com um eletrólito líder como descrito no capítulo 2, seção 2.2.1.6. Após o preenchimento, fez-se um condicionamento com alta tensão durante um curto período de tempo que foi de aproximadamente 10 minutos. Após o condicionamento, iniciou-se o processo de injeção.

O processo de injeção de amostra foi feito colocando-se a amostra no reservatório *a* e, em seguida, reduzindo a pressão no reservatório *b* durante um certo período de tempo. Após a injeção, soltou-se o conector de redução de pressão do reservatório *b*, a amostra foi removida do reservatório *a*, eletrólito terminador foi colocado no mesmo reservatório *a*, eletrodos de alta-tensão foram colocados manualmente nos reservatórios *a* e *b* e finalmente o programa de aquisição de dados foi acionado. Após o processo de separação, renovou-se as soluções dos reservatórios com o eletrólito líder e aplicou-se a alta-tensão até a renovação da solução no canal. O gerador de funções usado foi o mesmo da montagem anterior e com as mesmas configurações.

5.4 - Resultados e discussão

5.4.1 - Interface I²C

Inicialmente, usamos o adaptador para o barramento I²C via porta paralela de impressão (Centronix) como descrito na própria documentação do código fonte do módulo `i2c-pport` do projeto `lm-sensor`. O circuito é simples e usa apenas 3 linhas da porta paralela para a comunicação e não requer nenhum componente ativo, como também nenhum resistor *pull-up*. Esse cabo deve ser usado juntamente com o módulo `i2c-pport` que acompanha o código fonte. Essa configuração funcionou adequadamente em computadores com placas-mãe que possuem uma “Ponte Sul”⁶ baseadas no *chip* VIA686A ou VIA686B. Porém, após testes em diferentes computadores, essa configuração não apresentou o funcionamento esperado para diferentes modelos computadores. Consta na documentação [3], que as características elétricas das portas paralelas podem variar significativamente de um modelo de placa mãe para outro. A partir dessa informação, foi construído um *buffer* de corrente para a porta paralela seguindo a recomendação da referência. O *Open Automation Project* que possui, dentre vários circuitos disponíveis, um adaptador para barramento I²C para porta paralela usando transistores. O autor do esquema eletrônico é Simon G. Vogl, o mesmo que escreveu os códigos fontes dos módulos I²C para o Linux. Esse circuito usa um outro módulo de kernel chamado `i2c-philips-par`. O adaptador funcionou como esperado em uma máquina antiga, na qual a primeira proposta não funcionou.

Uma outra forma de se confeccionar o circuito adaptador para um barramento I²C via porta paralela de IBM-PC é usando o circuito integrado 74LS05 ao invés de transistores [4]. Nesse último são usadas portas lógicas inversoras com resistores *pull-up*.

5.4.2 - Testes com eletroforese capilar em microchips – versão 1

Da mesma forma que ocorreu com capilares de sílica, o canal de uma microestrutura de toner-poliéster deve sofrer um processo de condicionamento.

6 “Ponte Sul” ou “South Bridge” são circuitos integrados ou grupo de componentes (*chipset*) responsáveis pelo isolamento dos dispositivos lentos (porta paralela, portas USB, placas de som, portas seriais, etc) dos dispositivos rápidos (memória e processador) que estão conectados à “Ponte Norte” ou “North Bridge” em uma “placa-mãe” ou “mainboard”.

Inicialmente, elas apresentam um determinado valor de EOF, que é menor quando comparado com a sílica, que decai com o tempo de condicionamento até atingir um valor estacionário. Para esse monitoramento, o tempo de surgimento do EOF para cada corrida foi registrado injetando segmentos de tampão de 2mM (Fig. 5.8). O primeiro ponto do gráfico da Fig. 5.8b foi obtido no dia seguinte, renovando as soluções dos reservatórios, mas mantendo a solução do canal de separação.

Para avaliar a funcionalidade do sistema, fizemos testes com soluções dos cloretos de potássio, sódio e lítio dissolvidos em tampão de corrida (20mM) diluído de 10 vezes para com injeção eletrocinética. Testes anteriores foram feitos com o sistema versão 1 e com os cátions dissolvidos em água deionizada mas não promoveram tal injeção. Um resultado típico de injeção pode ser visto na Fig. 5.9. A injeção foi feita colocando a amostra no reservatório *b* com +400V e sendo descartada no reservatório *c* com 0V. A separação se deu colocando o tampão de corrida no reservatório *a* com +1000V e sendo o seu descarte no reservatório *d* com 0V (figura 2.1a).

Ao se observar visualmente o formato dos picos, nota-se claramente que eles apresentam áreas diferentes. Isso é explicado pelo tipo de detector usado que

Fig. 5.8 - Tempo de migração do EOF para experimentos sucessivos em microchip de toner-poliéster preenchido com tampão HLac/His 20mM com segmentos do mesmo tampão 2mM (a) logo após o preenchimento e (b) após 24 horas.

responde a condutividade. Isso significa que a condutividade de cada banda é

função da mobilidade de cada cátion. Os cátions K^+ , Na^+ e Li^+ apresentam mobilidades efetivas de $76,2 \times 10^{-9}$, $51,9 \times 10^{-9}$ e $40,1 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente [5].

Fig. 5.9 - Eletroferograma de 100 μ m dos cloretos de K^+ , Na^+ e Li^+ , dissolvidos em 2mM de tampão HLac/His e injetados eletrocineticamente com 400V e separados com 1000V em tampão HLac/His 20mM (pH 4,9).

Um outro estudo foi a determinação quantitativa de espécies catiônicas da mesma forma como é feita em eletroforese capilar. Assim, uma avaliação quantitativa por injeção eletrocinética de K^+ foi feita usando Li^+ como padrão interno (Fig. 5.10).

No início dos testes com injeção eletrocinética, procurando efetuar por tempo de injeção, observou-se irreprodutibilidade no aparecimento dos picos. Observava-se que, no início da primeira injeção após a renovação da amostra no reservatório, e fazendo-se uma injeção rápida o suficiente para promover a colocação da amostra no segmento de injeção (duplo T no canal de separação), esse segmento apresentava uma elevada quantidade de íons. As sucessivas injeções, usando a mesma amostra, mostravam uma queda no sinal até atingirem um valor aproximadamente constante.

Fig. 5.10 - Injeções de 5, 10, 50, 250, 1000 e 2000 μ M de K^+ contendo 300 μ M de Li^+ e dissolvidos em tampão HLac/His 2mM. Tampão de corrida HLac/His 20mM (pH 4,9) e +1000V de separação.

Uma explicação para isso seria a injeção diferenciada das espécies de alta mobilidade ao longo do canal de injeção. Como o sistema não é automatizado, a reprodutibilidade das análises fica comprometida. Isso acentua a difusão das espécies e as dimensões reduzidas do canal de separação. O trabalho sobre simulação apresentado por Brito-Neto e do Lago [6] aponta que, durante a primeira injeção, com o canal preenchido com eletrólito de corrida, ocorre a existência de uma frente enriquecida com íons durante a primeira injeção seguida de uma calda pobre em íons. Como o trabalho ainda não é conclusivo, não serão apresentados resultados aqui. Na literatura, é comum usar a injeção eletrocinética para injeções em microchips, mas as espécies em geral são de mobilidade baixa. Neste caso, o EOF é o principal responsável pela introdução da amostra, o que gera menores variações da concentração do analíto.

Para uma demonstração do sistema, foi feito um experimento para verificar se seria possível a detecção de cátions a partir de uma amostra de sangue sem pré-tratamento. Em 1993, do Lago e colaboradores publicaram um trabalho de separação de metais alcalinos e alcalino terrosos em plasma centrifugado por CE na presença de elevada concentração de sódio [7]. O sistema químico usado foi

tampão mêt/His (pH 6.0). Outro trabalho é o de Hauser e colaboradores que detectaram cátions e ânions em soro sanguíneo e urina [8]. O sistema químico usado por eles foi 6,5mM de ácido maleico/7,5mM de L-argenina para cátions e 13mM de ácido maleico/15mM de L-argenina para ânions (pH 5.5). Nesse trabalho de doutorado, optou-se por não efetuar a centrifugação do sangue. O procedimento adotado foi o que segue.

Foi usada a mesma microestrutura descrita na seção 5.4.2. Para a coleta de amostra, a ponta do dedo do doutorando foi limpa com álcool etílico e perfurada com um lancete descartável. Um volume de 10µL de sangue foi coletado com uma pipeta e colocado no reservatório *b*. Em seguida, foram adicionados no mesmo reservatório 80µL de tampão 2mM de HLac/His. Tampão de corrida 20mM de HLac/His foi colocado nos outros reservatórios. O processo de injeção eletrocinética foi efetuado mobilizando a amostra do reservatório *b* para o reservatório *c*, aplicando-se +400V no reservatório *b* e mantendo o reservatório *c* aterrado. A injeção se deu por um tempo tal que a corrente alcançasse um valor constante e não por um tempo fixo de injeção. Após a injeção, o eletrodo de alta tensão foi colocado no reservatório *a* e o eletrodo de terra foi colocado no reservatório *d* e acionado o sistema de aquisição de dados para aplicar +1000V. Após a separação, uma alíquota de 10µL de uma solução 100µM de Li⁺ foi adicionada ao reservatório *a*. Foram feitas duas injeções seguidas com a adição do lítio. O resultado pode ser visto na Fig. 5.11.

Fig. 5.11 - Eletroferogramas 10 μ L de sangue dissolvidos em 80 μ L de tampão 2mM de HLac/His e separados em tampão 20mM de HLac/His. Injeção 400V entre reservatórios *b* e *c* e separação com 1000V entre os reservatórios *a* e *d*. Amostra sem (linha cheia) e com adição 10 μ L de Li⁺ 100 μ M (linhas tracejada e pontilhada).

Deste experimento, foi observado o avermelhamento do canal de injeção mas não a sua obstrução. Dimensionalmente, o diâmetro de uma hemácea, segundo a literatura, é da ordem de 5 μ m [9] e sua mobilidade eletroforética encontra-se entre $-1,6 \times 10^{-4}$ e $-3,0 \times 10^{-4}$ cm² V⁻¹ s⁻¹ [10]. Com relação ao microdispositivo, a altura do microcanal é de 12 μ m para camada dupla e 7 μ m para camada simples [2]. No caso, esse experimento usou um microchip de camada dupla.

Durante toda a análise, e mesmo depois dela, não se observou a coagulação da amostra de sangue no tampão tendo sua coloração avermelhada por horas. Um motivo da não coagulação deve-se à sua diluição no tampão, não permitindo a formação do polímero de fibrina [11]. Há um trabalho que também faz análise de sangue com microchips, mas para a determinação de lítio usando sódio como padrão interno [10]. Os autores usaram um microchip com canais recobertos

internamente com poliacrilamida e usando detecção condutométrica com contato. Desta forma, a entrada das células vermelhas para dentro do canal de injeção durante o processo de carga do segmento de injeção é evitada pela redução do EOF.

5.4.3 - MCE com mantas de silicone – versão 2

Essa segunda versão faz uso da fonte de alta-tensão usando o módulo da EMCO, do sistema de reservatórios definidos por um bloco de acrílico com mantas de silicone e do injetor pneumático.

Essa montagem, apesar de se mostrar promissora, foi a que apresentou mais problemas. A citar, a manta de silicone, que foi projetada com um relevo para promover melhor vedação, causou estrangulamento levando a uma queda contínua na corrente que, de início, não foi associada ao estrangulamento do canal. Quando se promove um ajuste da montagem, mesmo procurando não aplicar uma pressão não muito elevada sobre a manta de vedação, observamos vazamentos durante o processo de injeção hidrodinâmica. Em casos onde o ajuste foi adequado, o estrangulamento era inevitável e comprometeu até mesmo o sistema de injeção pneumático. Desta forma, em várias análises, não se observaram picos devido a não injeção hidrodinâmica da amostra. Mas, mesmo assim, foi possível efetuar alguns registros com essa montagem.

Reproduções dos experimentos com solução padrão contendo os três cátions de estudo foram feitas não mostrando vantagens com relação a montagem anterior em termos de sinal.

5.4.4 - Isotacoforese capilar em microchips (MCITP)

Os primeiros testes foram feitos usando uma fonte de alta-tensão ao invés de uma fonte de corrente. Antes de realização dos testes em microchips, foram feitos alguns testes em um equipamento de eletroforese capilar convencional com detecção condutométrica sem contato para, a partir de então, adaptar o sistema para microchips. Como referência, a revisão de Collins e Willauer [12] foi usada para encontrar um sistema químico simples para a detecção de cátions alcalinos. Adotamos a análise de K^+ , Na^+ e Li^+ com H^+ como eletrólito líder (LE) e tetrametilamônio (TMA^+) como eletrólito terminador (TE). Todos os cátions tiveram como contra-íons o Cl^- para evitar algum problema com as bandas.

Fig. 5.12 - Isotacogramas de (a) 1mM de cada cátion e (b) 1mM de cada cátion (linha cheia) e 500µM de K⁺ e Li⁺ e 1mM de Na⁺ e TMA⁺ (linha tracejada). Injeção por gravidade com 90mm durante 60s e separação com 12kV.

A Fig. 5.12a mostra um isotacograma à potencial constante obtido em um equipamento de eletroforese com detecção condutométrica e com todos os íons em mesma concentração. Já na Fig. 5.12b, a linha cheia é um experimento com as mesmas condições da figura a e a linha tracejada apresenta tanto o K⁺ como o Li⁺ com concentrações pela metade para identificar os patamares. Calculando a razão do tempo da banda do K⁺ e do Li⁺ em relação ao Na⁺ para cada curva, observa-se os seguintes resultados apresentados na tabela Tab. 5.1.

Tab. 5.1- Relação entre os tempos associada com as concentrações das espécies.

<i>linha</i>	<i>tempo_K/tempo_{Na}</i>	<i>tempo_{Li}/tempo_{Na}</i>
contínua: 1mM de todos os íons	~1,18	~1,00
tracejada: 1mM de H ⁺ , Na ⁺ e TMA ⁺ ; 500µM de K ⁺ e Li ⁺	~0,40	~0,20

Pela segunda linha da tabela, observa-se que reduzindo a concentração de K⁺ e Li⁺ pela metade, nota-se a redução da largura da banda até menos que a metade

da largura da banda de Na^+ . Desta forma, identificamos qualitativamente as bandas em um processo de separação isotacoforética com potencial constante. O próximo passo foi a adaptação em microchip. Na Fig. 5.13a temos um isotacoferograma em microchip de toner-poliéster e em Fig. 5.13b o registro da corrente.

Fig. 5.13 - Isotacoferograma de 1mM de cada cátion sob campo elétrico constante. (a) Sinal do detector e (b) Registro da corrente. Injeção pneumática $-10\text{cmH}_2\text{O}$ durante 30s e separação com $+500\text{V}$.

A montagem usada foi a mesma daquela descrita na seção 5.3.2, mas usando o microchip de canal único ilustrado no capítulo 2, figura 2.1b. Mesmo com os percalços dos ajustes da manta de silicone, foi possível realizar alguns experimentos. Observa-se que, mesmo tendo todas as concentrações iguais, as bandas saíram com larguras diferentes. Associamos esse comportamento pelo fato de não estarmos usando uma fonte de corrente. Assim, resolvemos desenvolver uma fonte de corrente usando os mesmos módulos conversores DC/HVDC da EMCO. A montagem usada foi a descrita na seção 5.3.3. Os resultados obtidos estão na Fig. 5.14.

A fonte de tensão funcionou como previsto, alterando a alta-tensão para manter a corrente constante (Fig. 5.14c e Fig. 5.14d). Já o sinal o isotacoferograma apresentou um formato diferente daqueles observados nos gráficos anteriores usando potencial constante. Observando o sinal do detector, quando trabalhamos com corrente baixa (linha cheia), ocorre uma resolução das bandas de alta mobilidade (K^+ e Na^+). Já quando trabalhamos com correntes altas (linha pontilhada)

Fig. 5.14 - Isotacogramas de cátions com (a) registro do sinal do detector, (b) região ampliada, (c) alta-tensão e (d) corrente. Condições de corrente máxima: 1 μ A (linha cheia), 1,5 μ A (linha tracejada) e 2,5 μ A (linha pontilhada).

ocorre uma resolução das bandas de baixa mobilidade (Li^+ e TMA^+). Trabalhar com potencial baixo promove uma não resolução eficiente das bandas devido ao efeito difusional. Já com potenciais altos evita-se a difusão das espécies, mas diminui o tempo de residência das espécies de alta mobilidade dentro da coluna de separação. A solução seria trabalhar com um microchip de canal de separação maior que implica conseqüentemente em uma fonte que forneça potenciais maiores

que 3000V. Assim seria necessário construir uma outra fonte de corrente usando um outro módulo conversor DC/HVDC para a separação dessas espécies de alta mobilidade.

5.5 - Conclusões

É possível efetuar separações de cátions de alta mobilidade em microchips de toner-poliéster em modo de eletroforese e isotacoforese com alta-tensão constante ou com corrente constante.

Esses chips mostraram-se simples, fáceis de serem construídos, descartáveis e funcionais para as aplicações apresentadas.

O sistema de mantas de silicone com o bloco de acrílico não são recomendados para microchips de toner-poliéster por promover estrangulamento dos canais desses microchips. Esse sistema de mantas é recomendado para microchips de vidro-toner ou qualquer outro material rígido que não sofra deformação.

Não foi possível determinar quantitativamente a concentração de potássio usando lítio como padrão interno injetado eletrocineticamente usando um microdispositivo com canal de injeção e sem um sistema automático.

A fonte de corrente apresentou comportamento satisfatório para as condições impostas. No entanto, para efetuar separações de espécies de alta mobilidade é necessário uma fonte de corrente constante, mas que fornecesse tensões elétricas maiores que 3000V.

Bibliografia

1. Walters, D., Open Automation Project. Disponível em: <<http://oap.sourceforge.net>>. Acesso em: dez. 2004.
2. do Lago, C. L.; da Silva, H. D. T.; Neves, C. A.; Brito-Neto, J. G. A. A Dry Process for Production of Microfluidic Devices Based on the Lamination of Laser-Printed Polyester Films. *Analytical Chemistry*, v. 75, p. 3853-3858, 2003.
3. Beyond Logic, Interfacing the Standard Parallel Port. Disponível em: <<http://www.beyondlogic.org/spp/parallel.htm>>. Acesso em: 16 dez. 2004.
4. von Vogl, S. G., "Bits im Gänsemarsch", 6, 1997, <http://www.linux->

magazin.de/Artikel/ausgabe/1997/06/I2C/i2c.html.

5. Atkins, P. W. *Physical Chemistry*. : Oxford, 1992, 995 p.
6. Brito-Neto, J. G. A.; do Lago, C. L., Simulação computacional do processo de injeção eletrocinética em micro-dispositivos fluídicos. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, AQ-273, 2004.
7. da Silva, J. A. F; Ricielli, N. L.; Carvalho, A. Z.; do Lago, C. L. Improved separation of IA and IIA metal cations in matrices with high sodium concentration by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. Journal Brazilian Chemical Society, v. 14, p. 265-268, 1993.
8. Wan, Q. J.; Jatisai, P. K.; Tanyanyiwa, J.; Rainelli, A.; Hauser, P. C. Determination of major inorganic ions in blood serum and urine by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. Analytica Chimica Acta, v. 525, p. 11-16, 1994.
9. Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1995, 839 p.
10. Vrouwe, E. X.; Luttge, R.; van den Berg, A. Direct measurement of lithium in whole blood using microchip capillary electrophoresis with integrated conductivity detection. Electrophoresis, v. 25, p. 1660-1667, 2004.
11. Wikipedia, Coagulation. Disponível em: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Coagulation>>. Acesso em: jun. 2005.
12. Willauer, H. D.; Collins, G. E. Analysis of inorganic and small organic ions with capillary electrophoresis microchip. Electrophoresis, v. 24, p. 2193-2207, 2003.

Capítulo 6

Conclusões e Perspectivas

A pesar das limitações descritas, a instrumentação desenvolvida permitiu realizar experimentos de MCE e MITP em microestruturas de toner-poliéster. O desenvolvimento e aplicação da instrumentação descrita permitiram avaliar uma série de aspectos relacionados aos microchips e das próprias estratégias instrumentais descritos a seguir.

A técnica toner-poliéster permite, de fato, desenvolver rapidamente dispositivos com microcanais. No entanto, a colocação artesanal de reservatórios por processo de colagem manual de tubos é, ao nosso ver, uma etapa que deveria ser compatibilizada com estratégias de produção em massa. A tentativa realizada neste trabalho foi criar uma manta de silicone que formasse dinamicamente estes reservatórios, prescindindo-se de colagens permanentes. No entanto, o filme de poliéster não apresenta rigidez suficiente para suportar a pressurização necessária da manta sem que haja significativa deformação. De qualquer forma, a estratégia não está descartada para outras técnicas, como vidro-toner.

Ao contrário de sistemas de eletroforese capilar convencional que necessitam, via de regra, de uma única fonte de alta tensão, μ TAS requer que vários potenciais sejam aplicados seguindo uma temporização predefinida. Isto requer o controle através de vários DAC. Para atender esta demanda, a proposta apresentada envolvendo conversores múltiplos baseados em interface I²C mostra-se bastante conveniente.

Um aspecto que tem sido relegado a um segundo plano nos artigos sobre análise de espécies de alta mobilidade é a ocorrência de discriminação e falta de

linearidade devido ao processo de injeção eletrocinética. Os resultados apresentados evidenciam este problema e apontam para a necessidade de um estudo sistemático.

A alternativa prática a este tipo de injeção e que foi empregada no presente trabalho é a injeção hidrodinâmica de amostra. O dispositivo implementado para esta finalidade mostrou-se bastante adequado, não sendo etapa determinante para o desvio padrão dos sinais obtidos. Em uma etapa posterior, seria interessante a redução total do volume ocupado pela montagem com vistas a tornar todo o sistema mais compacto.

Ao nosso ver, um outro objetivo subjacente a todo o trabalho foi também atingido: o de garantir máxima transparência nas implementações, de modo a permitir um gradual, mas sólido acréscimo de conhecimento sobre a instrumentação necessária para esta área ainda em franco desenvolvimento. Isto foi sempre uma preocupação, tanto se evitando implementações de hardware sem sólidas possibilidades de reprodução e melhoramentos posteriores, quanto pelo uso de software livre.

Apêndice A - `iv_source_prog.c`

Esse programa recebe dois valores como parâmetros da linha de comando, sendo o primeiro a alta-tensão de controle (HVc) e o segundo a corrente de controle (Ic). O programa devolve como saída uma linha com 5 colunas: tempo decorrido na execução, alta-tensão de controle, alta-tensão de monitoramento, corrente de controle e corrente de monitoramento.

Exemplos de execução:

```
$ echo "1000 6E-6" | ./iv_source_prog
```

Limita a alta-tensão em 1000V e a corrente em 6 μ A.

```
$ cat arquivo_com_HVc_e_Ic.dat | ./iv_source_prog -t 500
```

Executa cada linha do arquivo .dat a cada 500ms.

```

/*****
Title : C main file to control the current/high-voltage source (iv_source_prog.c)
Author: Carlos Antonio Neves
E-mail: caneves@gmail.com
Homepage: http://allchemy.iq.usp.br/c11/moin.cgi/CarlosNeves

Copyright (C) 1994 Carlos A. Neves

This program is free software; you can redistribute it and/or modify
it under the terms of the GNU General Public License as published by
the Free Software Foundation; either version 2 of the License, or
(at your option) any later version.

This program is distributed in the hope that it will be useful,
but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of
MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the
GNU General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU General Public License
along with this program; if not, write to the Free Software
Foundation, Inc., 675 Mass Ave, Cambridge, MA 02139, USA.

*****/

/* Compilação e configuração:

gcc -Wall -lcomedi -o iv_source_prog_v2_tese iv_source_prog.c

use -DDEBUG para corrigir erros (debug).

modprobe ni_atmio
comedi_conf /dev/comedi0 ni_atmio

*/

/*****
/* PREPROCESSOR DIRECTIVES */
*****/

#include <stdlib.h>
#include <stdio.h>
#include <string.h>
#include <getopt.h>
#include <errno.h>
#include <signal.h>
#include <comedilib.h>
#include <unistd.h> // sleep(S) usleep(uS)
// #include <time.h> // nanosleep()
#include <sys/timex.h> // ntp_gettime

#define msleep(ms)      usleep(ms*1000)

/* Fatores de converção */
#define FATOR_HV_TO_Vcv      1.66666E-3 // HV/V(0-3000) -> Vcv/V(0-5)
#define FATOR_Vmv_TO_HV      600 // 1/fator_HV_to_Vcm
#define FATOR_CORRENTE_TO_Vci 2E4 // Ic/uA(0-50) -> Vci/V(0-1)
#define FATOR_Vmi_TO_CORRENTE(X) (-2.2+49.5*X)*1E-6 // da calibracao

/*****
/* GLOBAL VARIABLES */
*****/

/* Definicao das variaveis globais */
char *device_filename = "/dev/comedi0";
comedi_t *device;
int status;
lsampl_t data;
unsigned int unit = UNIT_volt;
unsigned int aref = AREF_GROUND;

char c;
int value;
int N = 100;
int i;
double t0;

int rotulo = 0;

long double voltage_total;

volatile sig_atomic_t GLOBAL_signal = 0;

```

```

int tempo_espera_msec = 250; // settling time = 250ms
int tempo_espera_sec = 0;

double Vcv;
double Vci;

/* Variáveis do DAC */
int dac_subdevice;
int dac_n_chans;
int dac_n_ranges;

int dac_code_range_Vcv;
int dac_code_range_Vci;
comedi_range *dac_range_Vcv;
comedi_range *dac_range_Vci;
int dac_maxdata_Vcv;
int dac_maxdata_Vci;
double dac_limit_inf = 0.0;
double dac_limit_sup = 10.0;
double dac_HV_volts = 0.0;
double dac_corrente_ampere = 0.0;
int dac_channel_Vcv = 0;
int dac_channel_Vci = 1;

/* Variáveis do ADC */
int adc_subdevice;
int adc_n_chans;
int adc_n_ranges;
int adc_code_range_Vmv=0;
int adc_code_range_Vmi=0;
comedi_range *range_Vmv;
comedi_range *range_Vmi;
int adc_maxdata_Vmv;
int adc_maxdata_Vmi;
double adc_limit_inf = -0.1;
double adc_limit_sup = 6.0;
double adc_voltage_Vmv = 0.0;
double adc_voltage_Vmi = 0.0;
int adc_channel_Vmv = 0;
int adc_channel_Vmi = 1;
double adc_HV_volts;
double adc_corrente_ampere;

/*****
/* LOCAL FUNCTION DEFINITIONS */
*****/

static void
main_signal_handler (int signal) {
    GLOBAL_signal = signal;
}

static double
get_time() {
    struct ntptimeval t;
    ntp_gettime (&t);
    return t.time.tv_sec + t.time.tv_usec*1.0e-6;
}

void usage(const char *prog){

    printf ("Uso: %s [options] [value] < file_in.dat > file_out.dat\n", (prog) ? prog : "Program");
    printf ("Esse programa recebe um arquivo via stdin contendo duas colunas com todos os valores de HV (em volts)
e corrente (em microamperes) para serem aplicados na fonte de tensão/corrente. Entre a escrita desses valores e a
leitura das tensões de monitoramento há um tempo de espera definido pela chave -T.\n");
    printf ("Os fatores -f (HV(V)->Vcv(V)) e -F (corrente(uA)->Vci(V)) são configurados inicialmente para 1.");
    printf ("A saída é um arquivo com 5 colunas: tempo de experimento (ti); Vcv; Vmv; Vci; Vmi separados por
espaços.\n");
    printf ("Para interromper o programa, use Ctrl+C\n");
    printf ("Chaves:");
    printf ("-D Str Nome do dispositivo (default /dev/comedi0).\n");
    printf ("-t Int Intervalo de tempo entre escrita e leitura em milisegundos (default 200 no mínimo).\n");
    printf ("-T Int Intervalo de tempo entre escrita e leitura em segundos (default 0).\n");
    printf ("-N Int Número de leituras para cada valor (default 100).\n");
    printf ("-v Int Número do DAC para Vcv (default 0).\n");
    printf ("-i Int Número do DAC para Vci (default 1).\n");
    printf ("-V Int Número do ADC para Vmv (default 0).\n");
    printf ("-I Int Número do ADC para Vmi (default 1).\n");
    printf ("-d Analog reference: Differential.\n");
    printf ("-m Analog reference: Common.\n");

```

```

    printf ("-g      Analog reference: Ground (default).\n");
    printf ("-o      Analog reference: Other.\n");
    printf ("-r      Imprimi um rótulo sobre as colunas geradas.\n");
    printf ("-h      Print this Help.\n");
}

void init_dac_adc(void){

/* Configuração Geral */
device=comedi_open(device_filename);
if(!device){
    printf("Não pode abrir o dispositivo %s.\n", device_filename);
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("====Configura DAC - Geral\n");
#endif /* DEBUG */

/* Configura DAC - Geral */
dac_subdevice=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                             COMEDI_SUBD_AO,
                                             0);

if(dac_subdevice<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dac_subdevice));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_subdevice = %d\n", dac_subdevice);
#endif /* DEBUG */

    dac_n_chans=comedi_get_n_channels(device,
                                       dac_subdevice);

if(dac_n_chans<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dac_n_chans));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_n_chans = %d\n", dac_n_chans);
#endif /* DEBUG */

/* Configura DAC - Vcv */
dac_maxdata_Vcv=comedi_get_maxdata(device,
                                     dac_subdevice,
                                     dac_channel_Vcv);

if(dac_maxdata_Vcv==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dac_maxdata_Vcv));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_maxdata_Vcv = %d\n", dac_maxdata_Vcv);
#endif /* DEBUG */

    dac_code_range_Vcv=comedi_find_range(device,
                                          dac_subdevice,
                                          dac_channel_Vcv,
                                          UNIT_volt,
                                          dac_limit_inf,
                                          dac_limit_sup);

if(dac_code_range_Vcv<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dac_code_range_Vcv));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_code_range_Vcv = %d\n", dac_code_range_Vcv);
#endif /* DEBUG */

    dac_range_Vcv=comedi_get_range(device,
                                   dac_subdevice,
                                   dac_channel_Vcv,
                                   dac_code_range_Vcv);

if (dac_range_Vcv == NULL) {
    printf ("Error: comedi_get_range = NULL!\n");
    exit (0);
}

```

```

#ifdef DEBUG
    printf("dac_range_Vcv->min = %f\n", dac_range_Vcv->min);
    printf("dac_range_Vcv->max = %f\n", dac_range_Vcv->max);
    printf("dac_range_Vcv->unit = %d\n", dac_range_Vcv->unit);
#endif /* DEBUG */

/* Configura DAC - Vci */
dac_maxdata_Vci=comedi_get_maxdata(device,
                                    dac_subdevice,
                                    dac_channel_Vci);

if(dac_maxdata_Vci==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dac_maxdata_Vci));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_maxdata_Vci = %d\n", dac_maxdata_Vci);
#endif /* DEBUG */

dac_code_range_Vci=comedi_find_range(device,
                                    dac_subdevice,
                                    dac_channel_Vci,
                                    UNIT_volt,
                                    dac_limit_inf,
                                    dac_limit_sup);

if(dac_code_range_Vci<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dac_code_range_Vci));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_code_range_Vci = %d\n", dac_code_range_Vci);
#endif /* DEBUG */

dac_range_Vci=comedi_get_range(device,
                                dac_subdevice,
                                dac_channel_Vci,
                                dac_code_range_Vci);

if (dac_range_Vci == NULL) {
    printf ("Error: comedi_get_range = NULL!\n");
    exit (0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("dac_range_Vci->min = %f\n", dac_range_Vci->min);
    printf("dac_range_Vci->max = %f\n", dac_range_Vci->max);
    printf("dac_range_Vci->unit = %d\n", dac_range_Vci->unit);
#endif /* DEBUG */

#ifdef DEBUG
    printf("====Configuração ADC - Geral\n");
#endif

/* Configura ADC - geral*/
adc_subdevice=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                             COMEDI_SUBD_AI,
                                             0);

if(adc_subdevice<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_subdevice));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_subdevice = %d\n", adc_subdevice);
#endif /* DEBUG */

adc_n_chans=comedi_get_n_channels(device,
                                   adc_subdevice);

if(adc_n_chans<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_n_chans));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_n_chans = %d\n", adc_n_chans);
#endif

adc_n_ranges=comedi_get_n_ranges(device,
                                   adc_subdevice,
                                   adc_channel_Vmv);

if(adc_n_ranges<0){

```

```

    comedi_perror(comedi_strerror(adc_n_ranges));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_n_ranges = %d\n", adc_n_ranges);
#endif /* DEBUG */

/* Configura ADC - Vmv */
adc_maxdata_Vmv=comedi_get_maxdata(device,
                                    adc_subdevice,
                                    adc_channel_Vmv);

if(adc_maxdata_Vmv==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_maxdata_Vmv));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_maxdata_Vmv = %d\n", adc_maxdata_Vmv);
#endif

adc_code_range_Vmv=comedi_find_range(device,
                                    adc_subdevice,
                                    adc_channel_Vmv,
                                    UNIT_volt,
                                    adc_limit_inf,
                                    adc_limit_sup);

if(adc_code_range_Vmv<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_code_range_Vmv));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_code_range_Vmv = %d\n", adc_code_range_Vmv);
#endif /* DEBUG */

/* Configura ADC - Vmi */
adc_maxdata_Vmi=comedi_get_maxdata(device,
                                    adc_subdevice,
                                    adc_channel_Vmi);

if(adc_maxdata_Vmi==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_maxdata_Vmi));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_maxdata_Vmi = %d\n", adc_maxdata_Vmi);
#endif /* DEBUG */

adc_code_range_Vmi=comedi_find_range(device,
                                    adc_subdevice,
                                    adc_channel_Vmi,
                                    UNIT_volt,
                                    adc_limit_inf,
                                    adc_limit_sup);

if(adc_code_range_Vmi<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_code_range_Vmi));
    exit(0);
}

#ifdef DEBUG
    printf("adc_code_range_Vmi = %d\n", adc_code_range_Vmi);
#endif /* DEBUG */
}

static double
adc_read_N(unsigned int adc_channel,
           int adc_code_range,
           int maxdata,
           int N){

    i=0;
    voltage_total = 0.0;

    while((GLOBAL_signal == 0) && (i<N)){

        status=comedi_data_read(device,
                                adc_subdevice,
                                adc_channel,
                                adc_code_range,

```

```

        aref,
        &data);
if(status<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(status));
    exit(0);
}

voltage_total+=comedi_to_phys(data,
                               comedi_get_range(device,
                                                  adc_subdevice,
                                                  adc_channel,
                                                  adc_code_range),
                               maxdata);

    i++;
}

return ((double)(voltage_total/N));
}

static void
dac_write(unsigned int dac_channel,
          double dac_voltage,
          int dac_code_range,
          lsampl_t dac_maxdata){

    data = comedi_from_phys(dac_voltage,
                           comedi_get_range(device,
                                              dac_subdevice,
                                              dac_channel,
                                              dac_code_range),
                           dac_maxdata);

    status = comedi_data_write(device,
                               dac_subdevice,
                               dac_channel,
                               dac_code_range,
                               aref,
                               data);

    if (status < 0) {
        comedi_perror(comedi_strerror(status));
        exit (status);
    }

}

/*****
/*                               MAIN FUNCTION                               */
*****/

int main(int argc, char **argv){

    /* Connect signal handlers */
    {
        struct sigaction action;
        action.sa_handler = main_signal_handler;
        sigemptyset (&action.sa_mask);
        action.sa_flags = 0;

        /*      sigaction (SIGHUP, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGTERM, &action, NULL); */
        sigaction (SIGINT, &action, NULL);
        /*      sigaction (SIGQUIT, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGUSR1, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGUSR2, &action, NULL); */
    }

    /* Processando opções */

    while (-1 != (c = getopt(argc, argv, "D:t:T:N:v:i:V:I:f:F:a:dmgorh"))) {
        switch (c) {
            case 'D':
                device_filename = optarg;
                break;

```



```

    case 't':
        tempo_espera_msec = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'T':
        tempo_espera_sec = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'N':
        N = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'v':
        dac_channel_Vcv = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'i':
        dac_channel_Vci = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'V':
        adc_channel_Vmv = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'I':
        adc_channel_Vmi = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'd':
        aref = AREF_DIFF;
        break;
    case 'g':
        aref = AREF_GROUND;
        break;
    case 'o':
        aref = AREF_OTHER;
        break;
    case 'm':
        aref = AREF_COMMON;
        break;
    case 'r':
        rotulo = 1;
        break;
    case 'h':
        usage(argv[0]);
        exit(0);
        break;
    default:
        printf("Opção errada.\n");
        exit(1);
}

if(optind < argc) {
    /* data value */
    sscanf(argv[optind++], "%d", &value);
}

init_dac_adc();

t0 = get_time();

#ifdef DEBUG
printf("\n===== SAIDA\n");
#endif

if (rotulo==1)
    printf("tempo/s HVc/V HVv/V Ic/A Im/A\n");

while ((GLOBAL_signal == 0) &&
       (EOF != fscanf(stdin,
                      "%lf %lf\n",
                      &dac_HV_volts,
                      &dac_corrente_ampere))){

    Vcv = dac_HV_volts*FATOR_HV_TO_Vcv;
    if (Vcv>5.0) Vcv=5.0;
    dac_write(dac_channel_Vcv,
              Vcv,
              dac_code_range_Vcv,
              dac_maxdata_Vcv);

    Vci = dac_corrente_ampere*FATOR_CORRENTE_TO_Vci;
    if (Vci>5.0) Vci=5.0;
    dac_write(dac_channel_Vci,
              Vci,
              dac_code_range_Vci,
              dac_maxdata_Vci);
}

```

```

msleep(tempo_espera_msec);
sleep(tempo_espera_sec);

adc_voltage_Vmv = adc_read_N(adc_channel_Vmv,
                             adc_code_range_Vmv,
                             adc_maxdata_Vmv,
                             N);

adc_voltage_Vmi = adc_read_N(adc_channel_Vmi,
                             adc_code_range_Vmi,
                             adc_maxdata_Vmi,
                             N);

#ifdef DEBUG
printf ("adc_voltage_Vmv = %f\n", adc_voltage_Vmv);
printf ("adc_voltage_Vmi = %f\n", adc_voltage_Vmi);
#endif

adc_HV_volts = (double)(adc_voltage_Vmv*FATOR_Vmv_TO_HV);
adc_corrente_ampere = (double)(FATOR_Vmi_TO_CORRENTE(adc_voltage_Vmi));

if (adc_HV_volts < 0) adc_HV_volts = 0.0;
if (adc_corrente_ampere < 0) adc_corrente_ampere = 0.0;

fprintf(stdout,
        "%E %E %E %E %E\n",
        (get_time()-t0),
        dac_HV_volts,
        adc_HV_volts,
        dac_corrente_ampere,
        adc_corrente_ampere);
}

#ifdef DEBUG
printf("\n=====dac_write...\n");
printf("dac_HV_volts = %f\n", dac_HV_volts);
printf("FATOR_HV_TO_Vcv = %f\n", FATOR_HV_TO_Vcv);
printf("Vcv = %f\n\n", Vcv);

printf("dac_corrente_ampere = %f\n", dac_corrente_ampere);
printf("FATOR_CORRENTE_TO_Vci = %f\n", FATOR_CORRENTE_TO_Vci);
printf("Vci = %f\n\n", Vci);

printf("N = %d\n", N);
printf("tempo_espera_msec = %d\n", tempo_espera_msec);
printf("tempo_espera_sec = %d\n", tempo_espera_sec);
#endif

/* Saindo... */

comedi_close (device);

return 0;
}

/******
/*
/*              T H E   E N D
/*
/******

```

Apêndice B - v_bomba.c

Esse programa permite o acionamento do injetor hidrodinâmico, através de uma linha digital ligada ao acionador do injetor, e a leitura do ADC onde está conectado o manômetro eletrônico..

O controle do acionamento é feito usando a linha digital DIO0 e a leitura da tensão elétrica do manômetro eletrônico na porta ADC0. Como entrada, o programa espera receber o tempo sem acionamento (de espera) e com acionamento da bomba. Como saída, o programa imprime o (1) tempo decorrido para cada medida, (2) o valor da leitura do medidor de pressão e (3) o intervalo de tempo entre a medida anterior usado para o cálculo da área. Sua execução é feita por linha de comando da seguinte forma:

```
$ ./v_bomba tempo_sem_acionamento_s tempo_acionado_s > arquivo_saida.dat
```

```

/*****
Title : C main file to control the pneumatic injection system during a specific
        time (v_bomba.c)
Author: Carlos Antonio Neves
E-mail: caneves@gmail.com
Homepage: http://allchemy.iq.usp.br/c11/moin.cgi/CarlosNeves

        Copyright (C) 1994 Carlos A. Neves

This program is free software; you can redistribute it and/or modify
it under the terms of the GNU General Public License as published by
the Free Software Foundation; either version 2 of the License, or
(at your option) any later version.

This program is distributed in the hope that it will be useful,
but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of
MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the
GNU General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU General Public License
along with this program; if not, write to the Free Software
Foundation, Inc., 675 Mass Ave, Cambridge, MA 02139, USA.

*****/

/* Compilação e configuração:

gcc -Wall -lcomedi -o v_bomba v_bomba.c

Example for a AT-MIO-16XE-50

modprobe ni_atmio
comedi_config /dev/comedi0 ni_atmio

Example:
./v_bomba tempo_n_acionado_s tempo_acionado_s

*/

/*****
/*
                PREPROCESSOR DIRECTIVES
*/
*****/

#include <stdlib.h>
#include <stdio.h>
#include <math.h>
#include <string.h>
#include <time.h> // nanosleep()
#include <sys/times.h> // ntp_gettime
#include <errno.h>
#include <signal.h>
#include <comedilib.h>

/* Parametros a serem passados */
#define MIN          -5.0
#define MAX           +5.0
#define CHAN_ADC      0
#define CHAN_DIO      0
#define N             1000
#define ATERRAMENTO   AREF_GROUND

/*****
/*
                GLOBAL VARIABLES
*/
*****/

/* Definicao das variaveis globais */
char filename[13];
comedi_t *device;
int subdevice, subdevice_adc, subdevice_dio;
int aref = ATERRAMENTO;
unsigned int unit = 0;
int chan_adc = CHAN_ADC;
int chan_dio = CHAN_DIO;
int n_chans_adc, n_chans_dio;
int range;
int n_ranges;
int maxdata;
lsampl_t data;
double voltage;

```

```

long double voltage_total;
int status;
int i;

double t0, tref, ti, tf, Dt;

int tempo_n_acionado_s, tempo_acionado_s;

volatile sig_atomic_t GLOBAL_signal = 0;

/*****
/*                                LOCAL FUNCTION DEFINITIONS                                */
*****/

static double
get_time() {
    struct ntp_timeval t;
    ntp_gettime (&t);
    return t.time.tv_sec + t.time.tv_usec*1.0e-6;
}

static void
main_signal_handler (int signum) {
    GLOBAL_signal = signum;
}

static void
looping(unsigned int nl_porta_digital, int tempo_acionamento){

    /* Entra em loop ate que o sinal Ctrl-C seja captado */

    status = comedi_dio_write (device,
                               subdevice_dio,
                               chan_dio,
                               nl_porta_digital);

    if(status<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(status));
        exit(0);
    }

    tref=get_time();
    tf=10.0; // comeca chutado!

    while(((tf-tref) < (double)(tempo_acionamento)) && (GLOBAL_signal == 0)){

        voltage_total = 0.0;

        ti=get_time();

        for(i=0; i<N; i++){

            status=comedi_data_read(device,
                                    subdevice_adc,
                                    chan_adc,
                                    range,
                                    aref,
                                    &data);

            if(status<0){
                comedi_perror(comedi_strerror(status));
                exit(0);
            }

            voltage_total+=comedi_to_phys(data,
                                           comedi_get_range(device,
                                                             subdevice_adc,
                                                             chan_adc,
                                                             range),
                                           maxdata);

        }

        voltage = (double)(voltage_total/N);

        tf = get_time();
    }
}

```

```

    Dt=tf-ti;

    printf("%E %E %E\n", (tf-t0)-Dt/2, voltage, Dt);

}

}

/*****
/*                               MAIN FUNCTION                               */
*****/

int main(int argc, char **argv){

    /* Connect signal handlers */
    {
        struct sigaction action;
        action.sa_handler = main_signal_handler;
        sigemptyset (&action.sa_mask);
        action.sa_flags = 0;

        /*      sigaction (SIGHUP, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGTERM, &action, NULL); */
        sigaction (SIGINT, &action, NULL);
        /*      sigaction (SIGQUIT, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGUSR1, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGUSR2, &action, NULL); */
    }

    /* lendo a opção de linha de comando */
    tempo_n_acionado_s = atoi(&argv[1][0]);
    tempo_acionado_s   = atoi(&argv[2][0]);

    /* Configura qual dispositivo a ser usado */
    strcpy(filename, "/dev/comedi0");

    device=comedi_open(filename);
    if(!device){
        printf("Can't open the device %s.\n", filename);
        exit(0);
    }

    /* Configuracao do conversor AD */
    subdevice_adc=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                                COMEDI_SUBD_AI,
                                                0);

    if(subdevice_adc<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(subdevice_adc));
        exit(0);
    }

    n_chans_adc=comedi_get_n_channels(device,
                                      subdevice_adc);

    if(n_chans_adc<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(n_chans_adc));
        exit(0);
    }

    n_ranges=comedi_get_n_ranges(device,
                                  subdevice_adc,
                                  chan_adc);

    if(n_ranges<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(n_ranges));
        exit(0);
    }

    maxdata=comedi_get_maxdata(device,
                                subdevice_adc,
                                chan_adc);

    if(maxdata==0){
        comedi_perror(comedi_strerror(maxdata));
        exit(0);
    }
}

```

```

range=comedi_find_range(device,
                        subdevice_adc,
                        chan_adc,
                        unit,
                        MIN,
                        MAX);

if(range<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(range));
    exit(0);
}

/* Configura a porta digital para escrita */
subdevice_dio=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                             COMEDI_SUBD_DIO,
                                             0);

if(subdevice_dio<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(subdevice_dio));
    exit(0);
}

status = comedi_dio_config(device,
                           subdevice_dio,
                           chan_dio,
                           COMEDI_OUTPUT);

if (status < 0) {
    comedi_perror(comedi_strerror(status));
    exit (status);
}

/* Tempo inicial para o cronometro */
t0 = get_time();

/* Começa a brincadeira! */
if(GLOBAL_signal==0) looping(0, tempo_n_acionado_s);
if(GLOBAL_signal==0) looping(1, tempo_acionado_s);
if(GLOBAL_signal==0) looping(0, tempo_n_acionado_s);

/* Saindo... */
status = comedi_dio_write (device,
                           subdevice_dio,
                           chan_dio,
                           0);

if (status<0) {
    comedi_perror(comedi_strerror(status));
    exit(0);
}

comedi_close (device);

/* Tudo correu bem */
return 0;

}
/*****
/*
/*
T H E   E N D
*/
*****/

```

Apêndice C - gdaqiaia_ivsource_MCE.c

Esse programa é responsável pela aquisição de dados, controle de injeção eletrocinética e pneumática e controle da fonte de corrente e alta-tensão usando a interface I²C. O resultados são graficados em uma janela e também enviados para a saída padrão de onde podem ser redirecionados para um arquivo.

```

/*****
Title : C main file for I/HV program and monitoring, electrokinet and pneumatic injection control,
        and data aquisition for microchips (gdaqlaia_ivsource_MCE.c)
Author: Carlos Antonio Neves
E-mail: caneves@gmail.com
Homepage: http://allchemy.iq.usp.br/c11/moin.cgi/CarlosNeves

Copyright (C) 1994 Carlos A. Neves

This program is free software; you can redistribute it and/or modify
it under the terms of the GNU General Public License as published by
the Free Software Foundation; either version 2 of the License, or
(at your option) any later version.

This program is distributed in the hope that it will be useful,
but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of
MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the
GNU General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU General Public License
along with this program; if not, write to the Free Software
Foundation, Inc., 675 Mass Ave, Cambridge, MA 02139, USA.

*****/

/*

Instruction.....

-----
Setup the comedi lib:
-----
First, read the documentation of the Comedi Lib (www.comedi.org).
After that, let's suppose that you have a AT-MIO-16XE050. This board
uses a ni_atmio driver. Access the website and look for a supported
devices and the drivers. Execute the commands:

modprobe ni_atmio
comedi_config /dev/comedi0 ni_atmio

Now, you have a AT-MIO-16XE-50 at the comedi0 device

-----
Setup I2C:
-----
I2C compilation...

load the module i2c-dev with the command
modprobe i2c-dev
and take care with modules conflits: lp with i2c-pport. You need
remove the lp module to load the i2c-port.

kernel-2.4 =====

gcc -O2 -Wall -lm -lcomedi -I/usr/src/linux/include `gtk-config --cflags --libs` `gtkextra-config --cflags --libs`
-o gdaqlaia_ivsource_MCE_v2_tese gdaqlaia_ivsource_MCE.c

OBS: Take care with the path kernel!!!

kernel-2.6 =====
copy the i2c-dev.h, i2c-id.h, and i2c.h files to the same directory of your source code.
Look for where are the files. In my Debian GNU/Linux (Sid) I use the command:

cp /usr/src/linux/modules/i2c/kernel/i2c-dev.h .
cp /usr/src/linux/modules/i2c/kernel/i2c-id.h .
cp /usr/src/linux/modules/i2c/kernel/i2c.h .

Then, set the MY_KERNEL_VERSION macro in this source code and compile with the line command:

gcc -O2 -Wall -lm -lcomedi -I. `gtk-config --cflags --libs` `gtkextra-config --cflags --libs` -o
gdaqlaia_ivsource_MCE_v2_tese gdaqlaia_ivsource_MCE.c

-----
Compiling the program
-----

gcc -O2 -Wall -lm -lcomedi -I/usr/src/linux/include `gtk-config --cflags --libs` `gtkextra-config --cflags --libs`
-o gdaqlaia_ivsource_MCE_v2_tese gdaqlaia_ivsource_MCE.c

Add the -DDEBUG for debug.

```

That's all folks.

```

*/

/*****
/*
/*      PREPROCESSOR DIRECTIVES
/*
*****/

#include <stdlib.h>
#include <stdio.h>
#include <unistd.h> // sleep(S)
#include <math.h>
#include <getopt.h>
#include <errno.h>
#include <signal.h>
#include <comedilib.h>
#include <time.h> // nanosleep()
#include <sys/times.h> // ntp_gettime
#include <gtk/gtk.h>
#include <gdk/gdk.h>
#include <gtkextra/gtkplot.h>
#include <gtkextra/gtkplotdata.h>
#include <gtkextra/gtkplotcanvas.h>

#ifndef MY_KERNEL_VERSION
#define MY_KERNEL_VERSION 24 // use 26 for kernel 2.6 or 24 for kernel 2.4
#endif

#if MY_KERNEL_VERSION == 24
# include <linux/i2c-dev.h>
#elif MY_KERNEL_VERSION == 26
# include "i2c.h"
# include "i2c-id.h"
# include "i2c-dev.h"
#else
# error "Set the kernel version!!!"
#endif

/* Resolution of DAC. */
#define BIT_RESOLUTION 10 //DAC6574

/* Max Voltage of DAC */
#define VDD 5.0

/* Fatores de converção */
#define FACTOR_HV_TO_Vcv 1.66666E-3 // HV/V(0-3000) -> Vcv/V(0-5)
#define FACTOR_Vmv_TO_HV 600 // 1/fator_HV_to_Vcm
#define FACTOR_CURRENT_TO_Vci 2E-2 // Ic/uA(0-50) -> Vci/V(0-1)
#define Vmi_TO_CURRENT(X) (49.5*X)*1E-6 // da calibracao

/* dacx574 defines */
#define L0 4
#define L1 5
#define SEL0 1
#define SEL1 2
/* dacx574 modes */
#define STORE (_NBV(L1) | _NBV(L0))
#define UPDATE_SELECTED_DAC (_NBV(L1) | _BV(L0))
#define FOUR_UPDATE_SYNC_UPDATE (_BV(L1) | _NBV(L0))
#define BROADCAST_UPDATE (_BV(L1) | _BV(L0))
/* dacx574 channels */
#define I2C_DAC_CHA (_NBV(SEL1) | _NBV(SEL0))
#define I2C_DAC_CHB (_NBV(SEL1) | _BV(SEL0))
#define I2C_DAC_CHC (_BV(SEL1) | _NBV(SEL0))
#define I2C_DAC_CHD (_BV(SEL1) | _BV(SEL0))
/* i2c - end */

/*****
/*
/*      GLOBAL VARIABLES
/*
*****/

/* Definicao das variaveis globais */
char *device_filename="/dev/comedi0";
comedi_t *device;
int subdevice=0;
lsampl_t data;
int aref = AREF_GROUND;
int status;

```

```

unsigned int unit = UNIT_volt;
static int no_plot_flag = 0;
static int no_reset_system_flag = 0; // 0 => dio->0 and dac->0

unsigned int adc_subdevice;
unsigned int adc_channel_signal = 0;
double adc_limit_inf_signal = -1.0;
double adc_limit_sup_signal = +1.0;
double adc_voltage = 0.0;
comedi_range adc_range;
int adc_code_range_signal = 0;
int adc_maxdata_signal;
int adc_maxdata_current;
int adc_maxdata_HV;

#define I_MAX    50.0 //muA
unsigned int adc_channel_current = 1;
double limit_inf_current_muampere = -I_MAX; //up to +-50muA
double limit_sup_current_muampere = +I_MAX;
int adc_code_range_current = 0;

#define HV_MAX    3000.0
unsigned int adc_channel_HV = 2;
double limit_inf_HV_volts = -HV_MAX; //up to +-3kV
double limit_sup_HV_volts = +HV_MAX;
int adc_code_range_HV = 0;

unsigned int dio_subdevice;
unsigned int dio_channel_hd_inj = 0; // number of the dio port
unsigned int dio_logic_level_hd_inj = 0; // 1 to high and 0 to low
int dio_time_s_hd_inj = 0;

int dac_n_chans = 0;
int dac_subdevice;
int dac_channel_inj = 0;
comedi_range *dac_range_inj;
int dac_code_range_inj;
double dac_limit_inf_inj = -10.0;
double dac_limit_sup_inj = +10.0;
#define DAC_LIMIT_INF_INJ    -10.0;
#define DAC_LIMIT_SUP_INJ    +10.0;
double dac_voltage_inj = 0.0;
int dac_time_s_inj = 0;
lsampl_t data_inj;
int dac_maxdata_inj;

int dac_channel_sep = 1;
comedi_range *dac_range_sep;
int dac_code_range_sep;
double dac_limit_inf_sep = -10.0;
double dac_limit_sup_sep = +10.0;
#define DAC_LIMIT_INF_SEP    -10.0;
#define DAC_LIMIT_SUP_SEP    +10.0;
double dac_voltage_sep = 0.0;
int dac_time_s_sep = 0;
int dac_maxdata_sep;
lsampl_t data_sep;

long double voltage_total;

double t0, tref, ti, tf, Dt;
int N = 1000;
int value;
int i;

gdouble *xt = NULL;
gdouble *ys = NULL;
gdouble *yv = NULL;
gdouble *yi = NULL;
int points_per_window = 20;
int time_per_point_ms = 500;
int width_windows_sec = 30;

volatile sig_atomic_t GLOBAL_signal = 0;

GdkPixmap *pixmap=NULL;
GtkWidget **plots;
GtkPlotData *dataset;
GtkPlotData *dataset2;
GtkPlotData *dataset3;

```

```

gint nlayers = 0;
gint32 timer;
gint32 timer2;
GtkWidget *canvas;
gdouble x, y, z, w;

GtkWidget *window1;
GtkWidget *vbox1;
GtkWidget *scrollw1;
GtkWidget *active_plot;
GtkWidget *active_plot2;
GtkWidget *active_plot3;
GdkColor color, color2, color3;
gint page_width, page_height;
gfloat scale = 0.7;

/* i2c - begin */
int i2c_file;
int i2c_dac_addr_A_D = 0x4c; // i2c-addr=00
int i2c_dac_addr_E_H = 0x4d; // i2c-addr=01
char i2c_dac_channel_I_sep = 'A';
char i2c_dac_channel_HV_sep = 'B';
double i2c_dac_I_sep = 0.0; //muA
double i2c_dac_HV_sep = 0.0; // V

int i2c_adapter_nr = 0; /* probably dynamically determined */
char i2c_filename[20];

/* bit to value converter function */
#define _BV(bit) (1 << (bit))
#define _NBV(bit) (0 << (bit))
/* converter functions */
#define HV_TO_VOLTS(HV_V) (5.0*HV_V/3000.0)
#define I_TO_VOLTS(I_A) (1.0*I_A/50E-6)

/*****
/* LOCAL FUNCTION PROTOTYPES */
*****/
__u16
volts_to_int(double volts, unsigned int no_bits);

static void
main_signal_handler (int signum);

void
*xrealloc (void *ptr, size_t size);

static void
realloc_points(int i);

static double
get_time();

void
usage(const char *prog);

static int
daqiaia_adc_init_get_code_range(unsigned int adc_channel,
                                int adc_maxdata,
                                double adc_limit_inf,
                                double adc_limit_sup);

static void
daqiaia_dio_write(unsigned int dio_channel, unsigned int dio_logic_level);

static void
daqiaia_i2c_dac_write(char chan, __u16 value);

static void
daqiaia_quit(void);

GtkWidget *
new_layer(GtkWidget *canvas);

static double
daqiaia_adc_read_N(unsigned int adc_channel,
                   int adc_code_range,
                   int maxdata);

gint

```

```

daq1aia_update(gpointer data);

static void
daq1aia_init_graph();

static void
daq1aia_init(void);

static void
daq1aia_prog_inj(void);

/*****
/*          LOCAL FUNCTION DEFINITIONS          */
*****/

__ul6 volts_to_int(double volts, unsigned int no_bits){

    unsigned int num_resolution_max = pow(2.0, (double)no_bits);
    unsigned int integer = (volts/VDD)*num_resolution_max;

    if (integer<0) integer=0;
    else
        if (integer>num_resolution_max) integer=num_resolution_max-1;

    return integer;

}

static void
main_signal_handler (int signum) {
    GLOBAL_signal = signum;
}

void *xrealloc (void *ptr, size_t size){
    register void *value = realloc (ptr, size);
    if (value == 0)
        g_print("Virtual memory exhausted");
    return value;
}

static void
realloc_points(int i){
    xt = g_renew(gdouble, xt, i);
    ys = g_renew(gdouble, ys, i);
    yv = g_renew(gdouble, yv, i);
    yi = g_renew(gdouble, yi, i);
}

static double
get_time() {
    struct ntp_timeval t;
    ntp_gettime (&t);
    return t.time.tv_sec + t.time.tv_usec*1.0e-6;
}

void usage(const char *prog){

    g_print ("Usage: %s [options] [value]\n", (prog) ? prog : "Program");
    g_print ("Options are as follows: (some options may be ignored by this program)\n");
    g_print ("ADC options:\n");
    g_print ("-c, --adc_chan_signal int      ADC channel signal number (default 0).\n");
    g_print ("-l, --adc_lim_inf_signal flt      ADC channel signal inferior limit (default -1.0).\n");
    g_print ("-L, --adc_lim_sup_signal flt      ADC channel signal superior limit (default +1.0).\n");

    g_print ("\n");
    g_print ("-C, --adc_chan_current int      ADC channel current number (default 1).\n");
    g_print ("-m, --adc_lim_inf_current flt      ADC channel current (muA) inferior limit (default -10.0).\n");
    g_print ("-M, --adc_lim_sup_current flt      ADC channel current (muA) superior limit (default +10.0).\n");

    g_print ("-P, --adc_chan_HV int      ADC channel HV number (default 2).\n");
    g_print ("-z, --adc_lim_inf_HV flt      ADC channel HV (V) inferior limit (default -1000.0).\n");
    g_print ("-Z, --adc_lim_sup_HV flt      ADC channel HV (V) superior limit (default +1000.0).\n");

    g_print ("\nDIO options:\n");
    g_print ("-y, --dio_chan_hd_inj int      DIO channel hidrodinamic injection (default 0).\n");
    g_print ("-w, --dio_logic_level_hd_inj int      DIO logic level hidrodinamic injection (default 0).\n");
    g_print ("-T, --dio_time_s_hd_inj int      DIO time hidrodinamic injection (default 0: no hd injection).\n");

```

```

g_print ("\nDAC options:\n");
g_print ("-k, --dac_chan_inj int    DAC channel electrokinetic injection (default 0).\n");
g_print ("-s, --dac_volts_inj flt    HV electrokinetic injection (default 0.0).\n");
g_print ("-j, --dac_time_s_inj int    DAC time electrokinetic injection (sec) (default 0).\n");
g_print ("\n");
g_print ("-K, --dac_chan_sep int    DAC channel electrokinetic separation (default 0).\n");
g_print ("-S, --dac_volts_sep flt    HV electrokinetic separation (default 0.0).\n");
g_print ("-J, --dac_time_s_sep int    DAC time electrokinetic separation (sec) (default 0).\n");

g_print ("\nI2C options:\n");
g_print ("-i, --i2c_dac_addr_A_D int    First I2C address device (default 0x4c).\n");
g_print ("-I, --i2c_dac_addr_E_H int    First I2C address device (default 0x4e).\n");
g_print ("-v, --i2c_dac_chan_I_sep char  Current separation channel A-D (default A).\n");
g_print ("-V, --i2c_dac_chan_HV_sep char HV separation channel A-D (default B).\n");
g_print ("-q, --i2c_dac_I_sep flt    Current separation in muA (default 0.0).\n");
g_print ("-Q, --i2c_dac_HV_sep flt    HV separation in volts (default 0.0).\n");

g_print ("\nGeneral options:\n");
g_print ("-D, --device str    Subdevice name (default /dev/comedi0).\n");
g_print ("-N, --mean_pts int  Number of readings per point (default 1000).\n");
g_print ("-p, --width_win_sec int  Width of windows in sec (default 30).\n");
g_print ("-t, --time_per_pt_ms int  Time interval per point (default 300).\n");
g_print ("-b, --graph_scale flt  Scale of graphic (default 0.7).\n");
g_print ("-e, --no_plot    No plots.\n");
g_print ("-r, --no_reset    No reset system (DIOs and DACs to zero) after the experiment.\n");

g_print ("\nAref:\n");
g_print ("-g, --aref_gnd    Analog reference: Ground (default).\n");
g_print ("-d, --aref_diff    Analog reference: Differential.\n");
g_print ("-n, --aref_common  Analog reference: Common.\n");
g_print ("-o, --aref_other    Analog reference: Other.\n");
g_print ("-a, --aref int    Analog reference (as a number).\n");

g_print ("\n-h, --help    Print this Help.\n");
}

static int
daqiaia_adc_init_get_code_range(unsigned int adc_channel,
                                int adc_maxdata,
                                double adc_limit_inf,
                                double adc_limit_sup){

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqiaia_adc_int_get_code_range: entering...\n");
#endif

    int adc_code_range;

    adc_subdevice=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                                COMEDI_SUBD_AI,
                                                0);

    if(adc_subdevice<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(adc_subdevice));
        exit(0);
    }

    adc_code_range=comedi_find_range(device,
                                    adc_subdevice,
                                    adc_channel,
                                    UNIT_volt,
                                    adc_limit_inf,
                                    adc_limit_sup);

    if(adc_code_range<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(adc_code_range));
        exit(0);
    }

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqiaia_adc_int_get_code_range: quitting...\n");
#endif

    return (adc_code_range);
}

```

```
static void
daq1aia_dio_write(unsigned int dio_channel, unsigned int dio_logic_level){

/* Escrevendo o nível lógico. */
    status = comedi_dio_write (device,
                               dio_subdevice,
                               dio_channel,
                               dio_logic_level);

    if(status<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(status));
        exit(0);
    }

}

static void
daq1aia_i2c_dac_write(char chan, __u16 value){

    int addr;
    __u16 value_MSB = 0;
    __u16 value_LSB = 0;
    __u8 reg;
    __s32 res;
    char ch;

    switch (chan){
    case 'A':
        addr = i2c_dac_addr_A_D;
        ch = I2C_DAC_CHA;
        break;
    case 'B':
        addr = i2c_dac_addr_A_D;
        ch = I2C_DAC_CHB;
        break;
    case 'C':
        addr = i2c_dac_addr_A_D;
        ch = I2C_DAC_CHC;
        break;
    case 'D':
        addr = i2c_dac_addr_A_D;
        ch = I2C_DAC_CHD;
        break;
    case 'E':
        addr = i2c_dac_addr_E_H;
        ch = I2C_DAC_CHA;
        break;
    case 'F':
        addr = i2c_dac_addr_E_H;
        ch = I2C_DAC_CHB;
        break;
    case 'G':
        addr = i2c_dac_addr_E_H;
        ch = I2C_DAC_CHC;
        break;
    case 'H':
        addr = i2c_dac_addr_E_H;
        ch = I2C_DAC_CHD;
        break;
    default:
        printf("bad i2c channel.\n");
        exit(1);
    }

    reg = (UPDATE_SELECTED_DAC | ch);

    if (ioctl(i2c_file, I2C_SLAVE, addr) < 0) {
        /* ERROR HANDLING; you can check errno to see what went wrong */
        printf("Erro ao associar addr ao I2C_SLAVE\n");
        exit(1);
    }

}

/*
The DAC6574 works with two bytes to compose a number of 10bits.
The first byte is the LSB (Less Significant Byte)(0-7 bits)
and the second one the MSB (Most Significant Byte) (8-9 bits).
The i2c-dev library sends the two bytes with different bit
positions.
```

The DAC6574 wait for:


```

/-----LSB-----\  /-----MSB-----\
0 1 2 3 4 5 6 7  0 1 2 3 4 5 6 7  bit position
a b c d e f g h  i j X X X X X X

```

but the i2c-dev send first the MSB justified on the right
and with zeros on the 7-2 bits.

```

i2c-dev send this sequence:
/-----LSB-----\  /-----MSB-----\
7 6 5 4 3 2 1 0  7 6 5 4 3 2 1 0  bit position
h g f e d c b a  X X X X X X j i

```

The consequence is the 0 and 1 bits of DAC6574 MSB register
are zero and the 6 and 7 bits of i2c-dev MSB are ignored.
We can fix it using the bit move operator.

```

Compare the bits that the i2c send first and what bit the
DAC6574 receive firts:
1st byte: LSB 0->7 bits
2ns byte: MSB 0->7 bits
*/
value_MSB = value>>2;
value_LSB = value<<(6+8);
value = value_MSB | value_LSB; // ready to send value by i2c bus

res = i2c_smbus_write_word_data(i2c_file,
                                reg,
                                value);

if(res<0){
    printf("Error: i2c transaction failed.\n");
    exit(1);
}
}

```

```

static void
daqiaia_quit(void){

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqiaia_quit\n");
#endif

```

```

    gtk_timeout_remove(timer);

    gtk_main_quit();

/* Reset system */
if (no_reset_system_flag == 0){

    daqiaia_dio_write(dio_channel_hd_inj, 0);

    daqiaia_i2c_dac_write(i2c_dac_channel_I_sep,
                          volts_to_int((FACTOR_CURRENT_TO_Vci * 0.0),
                                        BIT_RESOLUTION));

    daqiaia_i2c_dac_write(i2c_dac_channel_HV_sep,
                          volts_to_int((FACTOR_HV_TO_Vcv * 0.0),
                                        BIT_RESOLUTION));

}

g_free(plots);

/* Liberando os dados */
free(xt);
free(ys);
free(yv);
free(yi);

/* Closing comedilib */
comedi_close (device);

/* Closing i2c */
close (i2c_file);

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqiaia_quit: quitting...\n");
#endif

```

```

}

GtkWidget *
new_layer(GtkWidget *canvas){

    gchar label[10];

    nlayers++;

    plots = (GtkWidget **)g_realloc(plots, nlayers * sizeof(GtkWidget *));

    sprintf(label, "%d", nlayers);

    plots[nlayers-1] = gtk_plot_new_with_size(NULL, .68, .23);

    return plots[nlayers-1];
}

static double
daqlaia_adc_read_N(unsigned int adc_channel,
                   int adc_code_range,
                   int maxdata){

    i=0;
    voltage_total = 0.0;

    while((GLOBAL_signal == 0) && (i<N)){

        status=comedi_data_read(device,
                                adc_subdevice,
                                adc_channel,
                                adc_code_range,
                                aref,
                                &data);

        if(status<0){
            comedi_perror(comedi_strerror(status));
            exit(0);
        }

        voltage_total+=comedi_to_phys(data,
                                      comedi_get_range(device,
                                                         adc_subdevice,
                                                         adc_channel,
                                                         adc_code_range),
                                      maxdata);

        i++;
    }

    return ((double)(voltage_total/N));
}

gint
daqlaia_update(gpointer data){

    gdouble x, y, z, w;
    gdouble xmin, xmax;
    gdouble xmin2, xmax2;
    gdouble xmin3, xmax3;

    realloc_points(dataset->num_points+1);
    realloc_points(dataset2->num_points+1);
    realloc_points(dataset3->num_points+1);

    y = daqlaia_adc_read_N(adc_channel_signal,
                           adc_code_range_signal,
                           adc_maxdata_signal);

    /* Current in muA */
    z = 1E6 * Vmi_TO_CURRENT(daqlaia_adc_read_N(adc_channel_current,
                                                  adc_code_range_current,

```

```

                                adc_maxdata_current));

w = FACTOR_Vmv_TO_HV*(daqiaia_adc_read_N(adc_channel_HV,
                                adc_code_range_HV,
                                adc_maxdata_HV));

Dt=get_time()-ti;

x = Dt;

xt[dataset->num_points] = x;
ys[dataset->num_points] = y;
yi[dataset2->num_points] = z;
yv[dataset3->num_points] = w;

/* Print the values in stdout */
g_print("%E %E %E %E\n",
        xt[dataset->num_points], // time / s
        ys[dataset->num_points], // Signal / V
        yi[dataset2->num_points]*1E-6, // I/muA
        yv[dataset3->num_points]); // HV/V

gtk_plot_data_set_numpoints(dataset, dataset->num_points+1);
gtk_plot_data_set_numpoints(dataset2, dataset2->num_points+1);
gtk_plot_data_set_numpoints(dataset3, dataset3->num_points+1);

if(no_plot_flag!=1){
    gtk_plot_data_set_x(dataset, xt);
    gtk_plot_data_set_y(dataset, ys);

    gtk_plot_data_set_x(dataset2, xt);
    gtk_plot_data_set_y(dataset2, yi);

    gtk_plot_data_set_x(dataset3, xt);
    gtk_plot_data_set_y(dataset3, yv);

    gtk_plot_get_xrange(GTK_PLOT(active_plot), &xmin, &xmax);
    gtk_plot_get_xrange(GTK_PLOT(active_plot2), &xmin2, &xmax2);
    gtk_plot_get_xrange(GTK_PLOT(active_plot3), &xmin3, &xmax3);

    if(x > xmax){

        gtk_plot_set_xrange(GTK_PLOT(active_plot),
                            xmin,
                            xmax + (double)width_windows_sec);

        gtk_plot_set_xrange(GTK_PLOT(active_plot2),
                            xmin,
                            xmax + (double)width_windows_sec);

        gtk_plot_set_xrange(GTK_PLOT(active_plot3),
                            xmin,
                            xmax + (double)width_windows_sec);

        gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot),
                                GTK_PLOT_AXIS_X,
                                (xmax-xmin)/5,
                                1);

        gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot2),
                                GTK_PLOT_AXIS_X,
                                (xmax2-xmin2)/5,
                                1);

        gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot3),
                                GTK_PLOT_AXIS_X,
                                (xmax2-xmin2)/5,
                                1);

        gtk_plot_canvas_paint(GTK_PLOT_CANVAS(canvas));
        gtk_plot_canvas_refresh(GTK_PLOT_CANVAS(canvas));
    } else {

        gtk_plot_data_draw_points(dataset, 1);
        gtk_plot_data_draw_points(dataset2, 1);
        gtk_plot_data_draw_points(dataset3, 1);

        gtk_plot_refresh(GTK_PLOT(active_plot), NULL);
        gtk_plot_refresh(GTK_PLOT(active_plot2), NULL);
    }
}

```

```

        gtk_plot_refresh(GTK_PLOT(active_plot3), NULL);
    }
}

if ((dac_time_s_sep!=0) && (Dt>=(double)dac_time_s_sep))
    GLOBAL_signal=2;

if (GLOBAL_signal==2){
    daqlaia_quit();
}

return TRUE;
}

static void
daqlaia_init_graph(){

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqlaia_int_graph: entering...\n");
#endif

    page_width = GTK_PLOT_LETTER_W * 0.8 * scale;
    page_height = GTK_PLOT_LETTER_H * scale;

    dataset = GTK_PLOT_DATA(gtk_plot_data_new());
    dataset2 = GTK_PLOT_DATA(gtk_plot_data_new());
    dataset3 = GTK_PLOT_DATA(gtk_plot_data_new());

    if(no_plot_flag!=1){
        window1=gtk_window_new(GTK_WINDOW_TOPLEVEL);
        gtk_window_set_title(GTK_WINDOW(window1), "gdaqlaia_MCE");
        gtk_widget_set_usize(window1, page_width, page_height);
        gtk_container_border_width(GTK_CONTAINER(window1),0);

        gtk_signal_connect (GTK_OBJECT (window1), "destroy",
                            GTK_SIGNAL_FUNC (daqlaia_quit), NULL);

        vbox1=gtk_vbox_new(FALSE,0);
        gtk_container_add(GTK_CONTAINER(window1),vbox1);
        gtk_widget_show(vbox1);

        scrollw1=gtk_scrolled_window_new(NULL, NULL);
        gtk_container_border_width(GTK_CONTAINER(scrollw1),0);
        gtk_scrolled_window_set_policy(GTK_SCROLLED_WINDOW(scrollw1),
                                       GTK_POLICY_ALWAYS,GTK_POLICY_ALWAYS);
        gtk_box_pack_start(GTK_BOX(vbox1),scrollw1, TRUE, TRUE,0);
        gtk_widget_show(scrollw1);

        canvas = gtk_plot_canvas_new(page_width, page_height, 1.0);
        GTK_PLOT_CANVAS_UNSET_FLAGS(GTK_PLOT_CANVAS(canvas), GTK_PLOT_CANVAS_DND_FLAGS);
        gtk_scrolled_window_add_with_viewport(GTK_SCROLLED_WINDOW(scrollw1), canvas);

        gtk_widget_show(canvas);

        /*-----*/
#ifdef DEBUG
        printf("function: active_plot\n");
#endif

        active_plot = new_layer(canvas);

        gtk_plot_set_range(GTK_PLOT(active_plot),
                           0.0 ,
                           (gdouble)width_windows_sec,
                           adc_limit_inf_signal,
                           adc_limit_sup_signal);

        gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot),
                                GTK_PLOT_AXIS_X,
                                width_windows_sec/5,
                                1);
        gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot),
                                GTK_PLOT_AXIS_Y,
                                (adc_limit_sup_signal-adc_limit_inf_signal)/5,
                                1);

        gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot),
                                          GTK_PLOT_AXIS_TOP,
                                          GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                          0);
        gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot),

```

```

        GTK_PLOT_AXIS_BOTTOM,
        GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
        0);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot),
        GTK_PLOT_AXIS_LEFT,
        GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
        3);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot),
        GTK_PLOT_AXIS_RIGHT,
        GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
        3);

gtk_plot_axis_set_visible(GTK_PLOT(active_plot), GTK_PLOT_AXIS_TOP, TRUE);
gtk_plot_axis_set_visible(GTK_PLOT(active_plot), GTK_PLOT_AXIS_RIGHT, TRUE);

gtk_plot_grids_set_visible(GTK_PLOT(active_plot), FALSE, FALSE, FALSE, FALSE);

gtk_plot_canvas_add_plot(GTK_PLOT_CANVAS(canvas), GTK_PLOT(active_plot), .15, page_height * 0.0+0.03);

gtk_plot_axis_hide_title(GTK_PLOT(active_plot), GTK_PLOT_AXIS_TOP);
gtk_plot_axis_hide_title(GTK_PLOT(active_plot), GTK_PLOT_AXIS_RIGHT);
gtk_plot_axis_set_title(GTK_PLOT(active_plot), GTK_PLOT_AXIS_LEFT, "Signal / V");
gtk_plot_axis_set_title(GTK_PLOT(active_plot), GTK_PLOT_AXIS_BOTTOM, "Time / s");

gtk_plot_hide_legends (GTK_PLOT(active_plot));

gtk_widget_show(active_plot);

gtk_plot_add_data(GTK_PLOT(active_plot), dataset);

gtk_widget_show(GTK_WIDGET(dataset));

gdk_color_parse("red", &color);
gdk_color_alloc(gdk_colormap_get_system(), &color);

gtk_plot_data_set_legend(dataset, "signal");

gtk_plot_data_set_symbol(dataset,
        GTK_PLOT_SYMBOL_NONE,
        GTK_PLOT_SYMBOL_OPAQUE,
        10, 2, &color, &color);
gtk_plot_data_set_line_attributes(dataset,
        GTK_PLOT_LINE_SOLID,
        1,
        &color);

gtk_plot_clip_data(GTK_PLOT(active_plot), TRUE);

/*-----*/
#ifdef DEBUG
    printf("function: active_plot2\n");
#endif
active_plot2 = new_layer(canvas);

gtk_plot_set_range(GTK_PLOT(active_plot2),
        0. ,
        (gdouble)width_windows_sec,
        limit_inf_current_muampere,
        limit_sup_current_muampere);

gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot2),
        GTK_PLOT_AXIS_X,
        width_windows_sec/5,
        1);

/***/
gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot2),
        GTK_PLOT_AXIS_Y,
        (limit_sup_current_muampere - limit_inf_current_muampere)/5,
        1);

gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot2),
        GTK_PLOT_AXIS_TOP,
        GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
        0);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot2),
        GTK_PLOT_AXIS_BOTTOM,
        GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
        0);

```

```

gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot2),
                                GTK_PLOT_AXIS_LEFT,
                                GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                1);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot2),
                                GTK_PLOT_AXIS_RIGHT,
                                GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                1);

gtk_plot_axis_set_visible(GTK_PLOT(active_plot2), GTK_PLOT_AXIS_TOP, TRUE);
gtk_plot_axis_set_visible(GTK_PLOT(active_plot2), GTK_PLOT_AXIS_RIGHT, TRUE);

gtk_plot_grids_set_visible(GTK_PLOT(active_plot2), FALSE, FALSE, FALSE, FALSE);

gtk_plot_canvas_add_plot(GTK_PLOT_CANVAS(canvas), GTK_PLOT(active_plot2), .15, 0.33+0.03);

gtk_plot_axis_hide_title(GTK_PLOT(active_plot2), GTK_PLOT_AXIS_TOP);
gtk_plot_axis_hide_title(GTK_PLOT(active_plot2), GTK_PLOT_AXIS_RIGHT);
gtk_plot_axis_set_title(GTK_PLOT(active_plot2), GTK_PLOT_AXIS_LEFT, "Current /  $\mu$ A");
gtk_plot_axis_set_title(GTK_PLOT(active_plot2), GTK_PLOT_AXIS_BOTTOM, "Time / s");

gtk_plot_hide_legends (GTK_PLOT(active_plot2));

gtk_widget_show(active_plot2);

gtk_plot_add_data(GTK_PLOT(active_plot2), dataset2);

gtk_widget_show(GTK_WIDGET(dataset2));

gdk_color_parse("blue", &color2);
gdk_color_alloc(gdk_colormap_get_system(), &color2);

gtk_plot_data_set_legend(dataset2, "current");

gtk_plot_data_set_symbol(dataset2,
                          GTK_PLOT_SYMBOL_NONE,
                          GTK_PLOT_SYMBOL_OPAQUE,
                          10, 2, &color2, &color2);
gtk_plot_data_set_line_attributes(dataset2,
                                  GTK_PLOT_LINE_SOLID,
                                  1, &color2);

gtk_plot_clip_data(GTK_PLOT(active_plot2), TRUE);

/*-----*/

#ifdef DEBUG
    printf("function: active_plot3\n");
#endif

active_plot3 = new_layer(canvas);

gtk_plot_set_range(GTK_PLOT(active_plot3),
                  0. ,
                  (gdouble)width_windows_sec,
                  limit_inf_HV_volts,
                  limit_sup_HV_volts);

gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot3),
                        GTK_PLOT_AXIS_X,
                        width_windows_sec/5,
                        1);
gtk_plot_axis_set_ticks(GTK_PLOT(active_plot3),
                        GTK_PLOT_AXIS_Y,
                        (limit_sup_HV_volts - limit_inf_HV_volts)/5,
                        1);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot3),
                                GTK_PLOT_AXIS_TOP,
                                GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                0);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot3),
                                GTK_PLOT_AXIS_BOTTOM,
                                GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                0);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot3),
                                GTK_PLOT_AXIS_LEFT,
                                GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                1);
gtk_plot_axis_set_labels_numbers(GTK_PLOT(active_plot3),
                                GTK_PLOT_AXIS_RIGHT,
                                GTK_PLOT_LABEL_FLOAT,
                                1);

```

```

gtk_plot_axis_set_visible(GTK_PLOT(active_plot3), GTK_PLOT_AXIS_TOP, TRUE);
gtk_plot_axis_set_visible(GTK_PLOT(active_plot3), GTK_PLOT_AXIS_RIGHT, TRUE);

gtk_plot_grids_set_visible(GTK_PLOT(active_plot3), FALSE, FALSE, FALSE, FALSE);

gtk_plot_canvas_add_plot(GTK_PLOT_CANVAS(canvas), GTK_PLOT(active_plot3), .15, .66+.03);

gtk_plot_axis_hide_title(GTK_PLOT(active_plot3), GTK_PLOT_AXIS_TOP);
gtk_plot_axis_hide_title(GTK_PLOT(active_plot3), GTK_PLOT_AXIS_RIGHT);
gtk_plot_axis_set_title(GTK_PLOT(active_plot3), GTK_PLOT_AXIS_LEFT, "HV / V");
gtk_plot_axis_set_title(GTK_PLOT(active_plot3), GTK_PLOT_AXIS_BOTTOM, "Time / s");

gtk_plot_hide_legends (GTK_PLOT(active_plot3));

gtk_widget_show(active_plot3);

gtk_plot_add_data(GTK_PLOT(active_plot3), dataset3);

gtk_widget_show(GTK_WIDGET(dataset3));

gdk_color_parse("green", &color3);
gdk_color_alloc(gdk_colormap_get_system(), &color3);

gtk_plot_data_set_legend(dataset3, "HV");

gtk_plot_data_set_symbol(dataset3,
                           GTK_PLOT_SYMBOL_NONE,
                           GTK_PLOT_SYMBOL_OPAQUE,
                           10, 2, &color3, &color3);
gtk_plot_data_set_line_attributes(dataset3,
                                   GTK_PLOT_LINE_SOLID,
                                   1, &color3);

gtk_plot_clip_data(GTK_PLOT(active_plot3), TRUE);

gtk_widget_show(window1);
}

timer = gtk_timeout_add(time_per_point_ms,
                        daqlaia_update,
                        NULL);

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqlaia_int_graph: quitting...\n");
#endif

}

static void
daqlaia_init(void){

#ifdef DEBUG
    printf("daqlaia_int: entering...\n");
#endif

/* Inicializa libcomedi */
device=comedi_open(device_filename);
if(!device){
    g_print("Can't open device %s.\n", device_filename);
    exit(0);
}

/* Inicia ADC */
adc_maxdata_signal=comedi_get_maxdata(device,
                                       adc_subdevice,
                                       adc_channel_signal);

if(adc_maxdata_signal==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_maxdata_signal));
    exit(0);
}

adc_code_range_signal = daqlaia_adc_init_get_code_range(adc_channel_signal,
                                                         adc_maxdata_signal,
                                                         adc_limit_inf_signal,
                                                         adc_limit_sup_signal);

```

```

adc_maxdata_signal=comedi_get_maxdata(device,
                                     adc_subdevice,
                                     adc_channel_signal);

if(adc_maxdata_signal==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_maxdata_signal));
    exit(0);
}

adc_code_range_current = daqlaia_adc_init_get_code_range(adc_channel_current,
                                                         adc_maxdata_current,
                                                         I_TO_VOLTS(limit_inf_current_muampere*1E-6),
                                                         I_TO_VOLTS(limit_sup_current_muampere*1E-6));

adc_maxdata_current=comedi_get_maxdata(device,
                                     adc_subdevice,
                                     adc_channel_current);

if(adc_maxdata_current==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_maxdata_current));
    exit(0);
}

adc_code_range_HV = daqlaia_adc_init_get_code_range(adc_channel_HV,
                                                     adc_maxdata_HV,
                                                     HV_TO_VOLTS(limit_inf_HV_volts),
                                                     HV_TO_VOLTS(limit_sup_HV_volts));

adc_maxdata_HV=comedi_get_maxdata(device,
                                  adc_subdevice,
                                  adc_channel_HV);

if(adc_maxdata_HV==0){
    comedi_perror(comedi_strerror(adc_maxdata_HV));
}

#ifdef DEBUG
    printf("function: daqlaia_int: quitting...\n");
#endif

    exit(0);
}

/* Inicializa da porta digital */
#ifdef DEBUG
    printf("function: daqlaia_dio_init\n");
#endif

/* Configura DIO */
dio_subdevice=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                             COMEDI_SUBD_DIO,
                                             0);

if(dio_subdevice<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(dio_subdevice));
    exit(0);
}

status = comedi_dio_config(device,
                           dio_subdevice,
                           dio_channel_hd_inj,
                           COMEDI_OUTPUT);

if (status < 0) {
    comedi_perror(comedi_strerror(status));
    exit (status);
}

/* Inicializada interface I2C para os DAC */
#ifdef DEBUG
    printf("daqlaia_i2c_dac_init\n");
#endif

sprintf(i2c_filename, "/dev/i2c-%d", i2c_adapter_nr);
if ((i2c_file = open(i2c_filename, O_RDWR)) < 0) {
    /* ERROR HANDLING; you can check errno to see what went wrong */
    printf("Erro ao abrir o dispositivo %s\n", i2c_filename);
    exit(1);
}

/* Inicializa a interface gráfica */
daqlaia_init_graph();
}

static void

```



```

daq1aia_prog_inj(void){

    if (dio_time_s_hd_inj != 0){ // hidrodinamic injection

        daq1aia_dio_write(dio_channel_hd_inj,
                          dio_logic_level_hd_inj);

        sleep(dio_time_s_hd_inj);

        daq1aia_dio_write(dio_channel_hd_inj,
                          0);

    }
    else{ // electrokinetic injection

    }

/* write Vci */
daq1aia_i2c_dac_write(i2c_dac_channel_I_sep,
                      volts_to_int((FACTOR_CURRENT_TO_Vci * i2c_dac_I_sep),
                                    BIT_RESOLUTION));

/* write Vcv */
daq1aia_i2c_dac_write(i2c_dac_channel_HV_sep,
                      volts_to_int((FACTOR_HV_TO_Vcv * i2c_dac_HV_sep),
                                    BIT_RESOLUTION));

}

/*****
/*                               MAIN FUNCTION                               */
*****/

gint main(gint argc, gchar **argv){

    /* Connect signal handlers */
    {
        struct sigaction action;
        action.sa_handler = main_signal_handler;
        sigemptyset (&action.sa_mask);
        action.sa_flags = 0;
        sigaction (SIGINT, &action, NULL);
    }

    /* Loop de processamento de opções da linha de comando */
    gchar *optstring = "c:l:L:C:m:M:P:z:Z:y:w:T:k:s:j:K:S:J:i:v:V:q:Q:I:D:N:p:t:b:ergdnoa:h";
    int c;

    while (1)
    {
        static struct option long_options[] =
        {
            {"adc_chan_signal",          required_argument, 0, 'c'},
            {"adc_lim_inf_signal",        required_argument, 0, 'l'},
            {"adc_lim_sup_signal",        required_argument, 0, 'L'},

            {"adc_chan_current",          required_argument, 0, 'C'},
            {"adc_lim_inf_current",        required_argument, 0, 'm'},
            {"adc_lim_sup_current",        required_argument, 0, 'M'},

            {"adc_chan_HV",                required_argument, 0, 'P'},
            {"adc_lim_inf_HV",             required_argument, 0, 'z'},
            {"adc_lim_sup_HV",             required_argument, 0, 'Z'},

            {"dio_chan_hd_inj",           required_argument, 0, 'y'},
            {"dio_logic_level_hd_inj",     required_argument, 0, 'w'},
            {"dio_time_s_hd_inj",         required_argument, 0, 'T'},

            {"dac_chan_inj",               required_argument, 0, 'k'},
            {"dac_volts_inj",              required_argument, 0, 's'},
            {"dac_time_s_inj",             required_argument, 0, 'j'},

            {"dac_chan_sep",               required_argument, 0, 'K'},
            {"dac_volts_sep",              required_argument, 0, 'S'},
            {"dac_time_s_sep",             required_argument, 0, 'J'},

            {"i2c_dac_addr_A_D",           required_argument, 0, 'i'},
            {"i2c_dac_addr_E_H",          required_argument, 0, 'I'},
            {"i2c_dac_chan_I_sep",        required_argument, 0, 'v'},
            {"i2c_dac_chan_HV_sep",        required_argument, 0, 'V'},
        }
    }
}

```

```

        {"i2c_dac_I_sep",          required_argument, 0, 'q'},
        {"i2c_dac_HV_sep",        required_argument, 0, 'Q'},

        {"device",                 required_argument, 0, 'D'},
        {"mean_pts",               required_argument, 0, 'N'},
        {"width_win_sec",          required_argument, 0, 'p'},
        {"time_per_pt_ms",         required_argument, 0, 't'},
        {"graph_scale",            required_argument, 0, 'b'},
        {"no_plot",                no_argument,      0, 'e'},
        {"no_reset",               no_argument,      0, 'r'},

        {"aref_gnd",               no_argument,      0, 'g'},
        {"aref_diff",              no_argument,      0, 'd'},
        {"aref_common",            no_argument,      0, 'n'},
        {"aref_other",             no_argument,      0, 'o'},
        {"aref",                   required_argument, 0, 'a'},

        {"help",                   no_argument,      0, 'h'},

        {0, 0, 0, 0}
    };
    /* getopt_long stores the option index here. */
    int option_index = 0;

    c = getopt_long (argc, argv, optstring,
                    long_options, &option_index);

    /* Detect the end of the options. */
    if (c == -1)
        break;

    switch (c){
    case 0:
        /* If this option set a flag, do nothing else now. */
        if (long_options[option_index].flag != 0)
            break;
        g_print ("option %s", long_options[option_index].name);
        if (optarg)
            g_print (" with arg %s", optarg);
        g_print ("\n");
        break;

    case 'c':
        adc_channel_signal = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'l':
        adc_limit_inf_signal = strtod(optarg, NULL);
        break;
    case 'L':
        adc_limit_sup_signal = strtod(optarg, NULL);
        break;

    case 'C':
        adc_channel_current = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'm':
        limit_inf_current_muampere = strtod(optarg, NULL);
        break;
    case 'M':
        limit_sup_current_muampere = strtod(optarg, NULL);
        break;

    case 'P':
        adc_channel_HV = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'z':
        limit_inf_HV_volts = strtod(optarg, NULL);
        break;
    case 'Z':
        limit_sup_HV_volts = strtod(optarg, NULL);
        break;

    case 'y':
        dio_channel_hd_inj = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'w':
        dio_logic_level_hd_inj = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    case 'T':
        dio_time_s_hd_inj = strtoul(optarg, NULL, 0);
        break;
    }

```

```

case 'k':
    dac_channel_inj = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 's':
    dac_voltage_inj = strtod(optarg, NULL);
    break;
case 'j':
    dac_time_s_inj = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;

case 'K':
    dac_channel_sep = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 'S':
    dac_voltage_sep = strtod(optarg, NULL);
    break;
case 'J':
    dac_time_s_sep = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;

case 'i':
    i2c_dac_addr_A_D = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 'I':
    i2c_dac_addr_E_H = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 'v':
    i2c_dac_channel_I_sep = optarg[0];
    break;
case 'V':
    i2c_dac_channel_HV_sep = optarg[0];
    break;
case 'q':
    i2c_dac_I_sep = strtod(optarg, NULL);
    break;
case 'Q':
    i2c_dac_HV_sep = strtod(optarg, NULL);
    break;

case 'D':
    device_filename = optarg;
    break;
case 'N':
    N = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 'P':
    width_windows_sec = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 't':
    time_per_point_ms = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 'b':
    scale = strtod(optarg, NULL);
    break;
case 'e':
    no_plot_flag = 1;
    break;
case 'r':
    no_reset_system_flag = 1;
    break;

case 'g':
    aref = AREF_GROUND;
    break;
case 'd':
    aref = AREF_DIFF;
    break;
case 'n':
    aref = AREF_COMMON;
    break;
case 'o':
    aref = AREF_OTHER;
    break;
case 'a':
    aref = strtoul(optarg, NULL, 0);
    break;
case 'h':
    usage(argv[0]);
    exit(0);
    break;
case '?':
    /* getopt_long already printed an error message. */

```

```

        break;

    default:
        g_print("bad option\n");
        abort ();
    }
}

/* Print any remaining command line arguments (not options). */
if (optind < argc)
{
    g_print ("non-option ARGV-elements: ");
    while (optind < argc)
        g_print ("%s ", argv[optind++]);
    putchar ('\n');
}

/* Inicia gtk */
gtk_init(&argc,&argv);

/* Inicializa comedi e gtkextra*/
daq1aia_init();

/* Iniciando o programa de injeção */
daq1aia_prog_inj();

ti=get_time();

/* Inicia aquisição de dados */
gtk_main();

return 0;
}

/*****
/*                                     T H E   E N D                                     */
*****/

```

Apêndice D - daqlaia_dio_write.c

Programa usado para o acionamento manual do sistema de injeção hidrodinâmico. Exemplo de uso:

```
$ ./daqlaia_dio_write -c 0 -l 1 && sleep 5 && ./daqlaia_dio_write -c 0 -l 1
```

Acionamento por 5 segundos usando a porta DIO0.

```

/*****
Title : C main file for write in digital input/output (daqia_dio_write.c)
Author: Carlos Antonio Neves
E-mail: caneves@gmail.com
Homepage: http://allchemy.iq.usp.br/cil/moin.cgi/CarlosNeves

Copyright (C) 1994 Carlos A. Neves

This program is free software; you can redistribute it and/or modify
it under the terms of the GNU General Public License as published by
the Free Software Foundation; either version 2 of the License, or
(at your option) any later version.

This program is distributed in the hope that it will be useful,
but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of
MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the
GNU General Public License for more details.

You should have received a copy of the GNU General Public License
along with this program; if not, write to the Free Software
Foundation, Inc., 675 Mass Ave, Cambridge, MA 02139, USA.

*****/

/* Este programa serve para acionamento de canais digitais */
/* de dispositivos de interfaceamento usando a comedilib. */

/* Setup:

modprobe ni_atmio
comedi_config /dev/comedi0 ni_atmio

gcc -Wall -lcomedi -o daqia_dio_write daqia_dio_write.c

*/

/*****
/*
PREPROCESSOR DIRECTIVES
*/
*****/

#include <stdlib.h>
#include <stdio.h>
#include <string.h>
#include <getopt.h>
#include <errno.h>
#include <signal.h>
#include <comedilib.h>

/*****
/*
GLOBAL VARIABLES
*/
*****/

/* Definicao das variaveis globais */
char *device_filename="/dev/comedi0";
comedi_t *device;
int subdevice;
int status;
unsigned int dio_mode = 0; // 1 to write and 0 to read
unsigned int dio_channel = 0; // number of the dio port
unsigned int dio_logic_level = 0; // 1 to high and 0 to low
char c;
int value;

volatile sig_atomic_t GLOBAL_signal = 0;

/*****
/*
LOCAL FUNCTION DEFINITIONS
*/
*****/

static void
main_signal_handler (int signum) {
    GLOBAL_signal = signum;
}

void usage(const char *prog){

    printf ("Usage: %s [options] [value]\n", (prog) ? prog : "Program");
    printf ("Options are as follows: (some options may be ignored by this program)\n");
    printf ("-D Str Subdevice name (default /dev/comedi0).\n");

```

```

    printf ("-c Num      DIO Channel number (default 0).\n");
    printf ("-l Num      Logic Level (default 0).\n");
    printf ("-h          Print this Help.\n");
}

/*****
/*                                MAIN FUNCTION                                */
*****/

int main(int argc, char **argv){

    /* Connect signal handlers */
    {
        struct sigaction action;
        action.sa_handler = main_signal_handler;
        sigemptyset (&action.sa_mask);
        action.sa_flags = 0;

        /*      sigaction (SIGHUP, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGTERM, &action, NULL); */
        sigaction (SIGINT, &action, NULL);
        /*      sigaction (SIGQUIT, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGUSR1, &action, NULL); */
        /*      sigaction (SIGUSR2, &action, NULL); */
    }

    /* loop para cada opção */
    /* Parar se rodar sem opção */
    /* ou se receber uma opção sem traço */

    while (-1 != (c = getopt(argc, argv, "D:c:a:l:h"))) {
        switch (c) {
            case 'D':
                device_filename = optarg;
                break;
            case 'c':
                dio_channel = strtoul(optarg, NULL, 0);
                break;
            case 'l':
                dio_logic_level = strtoul(optarg, NULL, 0);
                break;
            case 'h':
                usage(argv[0]);
                exit(0);
                break;
            default:
                printf("bad option\n");
                exit(1);
        }
    }
    if(optind < argc) {
        /* data value */
        sscanf(argv[optind++], "%d", &value);
    }

    /* Configura qual dispositivo a ser usado */
    device=comedi_open(device_filename);
    if(!device){
        printf("Can't open device %s.\n", device_filename);
        exit(0);
    }

    /* Configura a porta digital para o modo de escrita ou leitura */
    subdevice=comedi_find_subdevice_by_type(device,
                                           COMEDI_SUBD_DIO,
                                           0);

    if(subdevice<0){
        comedi_perror(comedi_strerror(subdevice));
        exit(0);
    }

    status = comedi_dio_config(device,
                               subdevice,
                               dio_channel,
                               COMEDI_OUTPUT);

```

```

if (status < 0) {
    comedi_perror(comedi_strerror(status));
    exit (status);
}

/* Escrevendo o nível lógico. */
status = comedi_dio_write (device,
                           subdevice,
                           dio_channel,
                           dio_logic_level);

if(status<0){
    comedi_perror(comedi_strerror(status));
    exit(0);
}

/* Saindo... mas mantendo o nível lógico escrito. */

comedi_close (device);

/* Sai numa nice. */
return 0;

}

/*#####*/
/*                                T H E   E N D                                */
/*#####*/

```


Apêndice E – Cálculo da integral da pressão pelo tempo de injeção

Uma sequência de *scripts* são executados para o cálculo da quantidade I usada para a determinação do volume injetado pelo método hidrodinâmico. O procedimento aqui descrito é para um valor de coluna d'água no tubo T1.

O primeiro *shell script* a ser executado é o `faz_all.sh` responsável por executar os outros *scripts*. Inicialmente, ele remove algum eventual arquivo de cálculos anteriores e executa os *scripts* `integra.sh` e, em seguida, o *script* `faz_medias_std.m`. Nesse apêndice são mostrados apenas os códigos dos *scripts* para o Octave mas não os dos *shell scripts* que são apenas para manipulação de arquivos.

```

#!/usr/bin/octave -qf
#####
#
# Title   :   Octave file to calc integral (my_integ.m)
# Author:   Carlos Antonio Neves
# E-mail:   caneves@gmail.com
# Homepage: http://allchemy.iq.usp.br/c11/moin.cgi/CarlosNeves
# Program:  Octave >= 2.1

#       Copyright (C) 1994 Carlos A. Neves

#       This program is free software; you can redistribute it and/or modify
#       it under the terms of the GNU General Public License as published by
#       the Free Software Foundation; either version 2 of the License, or
#       (at your option) any later version.

#       This program is distributed in the hope that it will be useful,
#       but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of
#       MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the
#       GNU General Public License for more details.

#       You should have received a copy of the GNU General Public License
#       along with this program; if not, write to the Free Software
#       Foundation, Inc., 675 Mass Ave, Cambridge, MA 02139, USA.

# Este script carrega um arquivo de dados gerado pelo v_bomba_0.1.c,
# desconta o off-set, calcula a área debaixo da curva e imprime
# os resultados na saída padrão.

#Sintaxe:
#my_integ file tempo_n_acionado tempo_acionado fator_Ssensor_2_Pressao

#Carregando arquivo de dados
A = aload(argv{1});
tempo_n_acionado = str2num(argv{2});
tempo_acionado = str2num(argv{3});
fator_Ssensor_2_Pressao = str2num(argv{4});

#Indice do periodo sem acionamento
i=1;

#Selecionando os pontos para a regressão linear da parte
#sem o acionamento da válvula
while (A(i,1) <= tempo_n_acionado-1)
    B(i,1:2) = A(i,1:2);
    i++;
endwhile

#Indice do período acionado
j=i;

#Procura o indice onde termina o periodo de acionamento
while (A(j,1)<(tempo_n_acionado+tempo_acionado+1.5))
    j++;
endwhile

#Juntanto o outro segmento logo após o período de acionamento

```

```

while (j+1<=length(A))
    B(i,1:2) = A(j+1,1:2);
    j++;
    i++;
endwhile

#Fazendo a regressão e guardando os valores dos coef. angular e
#linear em C
C = polyfit(B(:,1), B(:,2), 1);

#Cópia dos dados para tratamento
D = A;

#Descontando o Drift
D(:,2) = D(:,2) .- ( C(1).*D(:,1).+C(2) );

#converte de S_sensor para h_U
D(:,2) = D(:,2)*fator_Ssensor_2_Pressao;

#Contador para o índice do vetor produto
x=1;

#Integrando...
for w = i:j
    produto(x) = D(w,2).*D(w,3);
    x++;
endfor
integ = sum(produto);

#Imprime o tempo_acionado e o integ na saída padrão
printf("%d %f\n", tempo_acionado, integ);

#####

```

```
#####
# Title : Programa para o Octave para efetuar cálculos estatísticos \
# das quantidades I (faz_medias_std.m)
# Author: Carlos Antonio Neves
# E-mail: caneves@gmail.com
# Homepage: http://allchemy.iq.usp.br/c11/moin.cgi/CarlosNeves
#
# Copyright (C) 1994 Carlos A. Neves
#
# This program is free software; you can redistribute it and/or modify
# it under the terms of the GNU General Public License as published by
# the Free Software Foundation; either version 2 of the License, or
# (at your option) any later version.
#
# This program is distributed in the hope that it will be useful,
# but WITHOUT ANY WARRANTY; without even the implied warranty of
# MERCHANTABILITY or FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. See the
# GNU General Public License for more details.
#
# You should have received a copy of the GNU General Public License
# along with this program; if not, write to the Free Software
# Foundation, Inc., 675 Mass Ave, Cambridge, MA 02139, USA.
#
#####
#!/usr/bin/octave -qf

numero_arquivos=10;

A=load("integ1.dat");

for j=2:numero_arquivos
    X=load(strcat("integ", num2str(j), ".dat"));
    A(:,j+1)=X(:,2);
endfor

B=A(:,1);

for i=1:numero_arquivos
    B(i,2)=median(A(i,2:numero_arquivos+1)); # x
    B(i,3)=std(A(i,2:numero_arquivos+1)); # s
    B(i,4)=(B(i,3)/B(i,2))*sqrt(10); # RSD=s/x
endfor

B

pause

save ([B(:,1) B(:,2) B(:,3) B(:,4)], strcat("statist_integ_N",
num2str(numero_arquivos), ".dat"));

#####
```

Carlos Antonio Neves

CURRICULUM VITAE

São Paulo
2005

CURRICULUM VITAE

Junho, 2005

1 DADOS PESSOAIS

Nome: Carlos Antonio Neves

Nome em citações bibliográficas: NEVES, Carlos Antonio

Sexo: masculino

Filiação: Antonio Neves Filho e Maria Josirene Neves

Nascimento: 16/11/1971, São Paulo - Brasil

Carteira de identidade: 20594905 / SSP / SP / 11/03/1986

CPF: 10492481806

Endereço profissional: Av. Prof. Lineu Prestes, 748, bl 12sup - sl 1270
Cidade Universitária
05508900 São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (0) 30913781 Fax: 38155579
E-mail: caneves@iq.usp.br
URL da home page: <http://allchemy.iq.usp.br/cil/moin.cgi/CarlosNeves>

Endereço residencial: Rua Boca de Leão, 26A
São Paulo
03874-040 São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (0) 61461424
E-mail: caneves@gmail.com
URL da home page: <http://>

2 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

- 2000 Doutorado em Química (Química Analítica) [Sp-Capital].
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil.
Título: Desenvolvimento de Detectores Oscilométricos de Alta Frequência para Eletroforese Capilar e Cromatografia Eletrocinética Micelar.
Orientador: Claudimir Lucio do Lago.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
- 1998 - 2000 Mestrado em Química (Química Analítica) [Sp-Capital].
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil.
Título: Dispositivos para Cristais Piezelétricos de Quartzo com Eletrodos Separados para Estudos de Processos Físicos e Químicos de Superfície e Filmes Depositados. Ano de obtenção: 2000.
Orientador: Claudimir Lucio do Lago.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
Palavras-chave: PQC, ESPC, cristais piezelétricos, eletrodos separ.
Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
Setores de aplicação: Outros.
- 1994 - 1997 Graduação em Química.
Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil.

3 ATUAÇÃO PROFISSIONAL

Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2004 - Atual Vínculo: Colaborador, Enquadramento funcional: Outro (especifique), Carga horária: 4.

Outras informações

Desenvolvimento de um sistema de monitoramento de obras de artes microcontrolado. O trabalho gerou vínculo com o MoMA (Museum of Modern Art) de Nova York onde o próprio museu ofereceu espaço para os estudos.

Atividades

10/2000 - Atual **Pesquisa e desenvolvimento.**

Linhas de pesquisa

1. Química Analítica.

4 LINHAS DE PESQUISA

1 Química Analítica.

5 ÁREAS DE ATUAÇÃO

- 1 Química Analítica, Instrumentação Analítica.
- 2 Química Analítica, Eletroanalítica.
- 3 Circuitos Elétricos, Magnéticos e Eletrônicos, Circuitos Eletrônicos.
- 4 Sistemas de Computação, Software Básico.
- 5 Processos de Fabricação, Maquinas de Usinagem e Conformação.

6 IDIOMAS

Compreende: Inglês (Razoavelmente), Japonês (Pouco), Português (Bem).
 Fala: Inglês (Razoavelmente), Japonês (Pouco), Português (Bem).
 Lê: Inglês (Bem), Japonês (Pouco), Português (Bem).
 Escreve: Inglês (Razoavelmente), Japonês (Pouco), Português (Bem).

7 PRODUÇÃO CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E ARTÍSTICA/CULTURAL

7.1 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

7.1.1 Trabalhos completos em anais de eventos

- 1 DEFINIDO, Autor Não. Tecnologia de fabricação com toner. In: BRASILTEC 2003, 2003, São Paulo. 2003.
 Palavras-chave: microchip; microfabricação; microdispositivos toner-poliéster; microTAS; microfluídica.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Análise de Traços e Química Ambiental.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais; Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios; Fabricação de máquinas, aparelhos e equipamentos de sistemas eletrônicos dedicados à automação industrial e controle do processo produtivo.
 Referências adicionais: Classificação do evento: Nacional; Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso.
 Feira de tecnologia onde foi apresentado à sociedade e à empresas a tecnologia de microfabricação de microdispositivos de toner-poliéster.

7.1.2 Artigos completos publicados em periódicos

- 1 NEVES, Carlos Antonio. Microfluidic devices obtained by thermal toner transferring on glass substrate. **Electrophoresis**, v. 25, n. 12-13, p. 3825-3831, 2004.
 Palavras-chave: toner-glass; microfluidic; microTAS; lab-on-a-chip; microfabrication.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios.
 Referências adicionais: Estados Unidos/Inglês; Meio de divulgação: Impresso; ISSN/ISBN: 01730835.
 Descreve o processo de fabricação de microdispositivos de toner-vidro, caracterização e aplicação.
- 2 ANGNES, Lúcio. Aplicações Eletroanalíticas com Eletrodos de Prata Confeccionados a partir de CDs Graváveis. **Química Nova**, v. 26, p. 839-843, 2003.
 Palavras-chave: eletrodo; multímetro.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Atividades no campo das nanotecnologias e desenvolvimento de nanoproductos; Captação, tratamento e distribuição de água, limpeza urbana, esgoto e atividades conexas; Fabricação de produtos químicos.
 Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso; Homepage: <http://quimicanova.sbq.org.br/quimicanova.htm>; ISSN/ISBN: 01004042.
- 3 NEVES, Carlos Antonio. A Dry Process for Fast Production of Microfluidic Devices Based on the Lamination of Laser-Printed Polyester Films. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 15, p. 3853-3858, 2003.
 Palavras-chave: microfabrication; toner-polyester devices; microfluidic; microTAS; lab-on-a-chip.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios.
 Referências adicionais: Estados Unidos/Inglês; Meio de divulgação: Impresso; ISSN/ISBN: 00032700.
 Descreve o processo de construção de microdispositivos de toner-poliéster, caracterização e aplicação.
- 4 LAGO, Claudimir Lucio Do. Determination of Boron by Using a Quartz Crystal Resonator Coated with N-methyl-D-Glucamine-modified Poly(Epichlorohydrin). **Analytical Chemistry**, v. 74, p. 3274-3280, 2002.
 Palavras-chave: piezoelectric crystal; PQC; automação; boron sensor; N-2-Aminoethyl-3-Aminopropylsilane Group; PQC, ESPC, cristais piezelétricos, eletrodos separ.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Outro.
 Referências adicionais: Estados Unidos/Inglês; Meio de divulgação: Impresso; Homepage: <http://pubs.acs.org/journals/ancham>; ISSN/ISBN: 00032700.
- 5 LAGO, Claudir Lucio Do. Improving the Sensitivity of Electrode-Separated Piezoelectric Quartz Crystal Sensor for Copper(II) Ions by Immobilization of the N-2-Aminoethyl-3-Aminopropylsilane Group. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 123-128, 2001.
 Palavras-chave: PQC; ESPC; quartz crystal; copper sensor; N-2-Aminoethyl-3-Aminopropylsilane Group.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Desenvolvimento de novos materiais.
 Referências adicionais: Brasil/Inglês; Meio de divulgação: Impresso; ISSN/ISBN: 01035053.
- 6 GUTZ, Ivano G. R. Automação de um Destilador D'água. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 657-658, 1998.
 Palavras-chave: destilador; automação.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
 Setores de aplicação: Outros.
 Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso; ISSN/ISBN: 01004042.
 Artigo que descreve como automatizar um destilador de água usando peças de baixo custo.
- 7 ARAÚJO, Adriano L. de. Simulação do processo Solvay no laboratório didático. **Química Nova**, v. 21, p. 114-116, 1998.
 Palavras-chave: Solvay process; simulation; sodium carbonate.
 Áreas do conhecimento: Química Inorgânica; Instrumentação Analítica; Análise de Traços e Química Ambiental.
 Setores de aplicação: Educação superior.
 Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso; ISSN/ISBN: 01004042.
 Sistema voltado para demonstração em bancada do processo industrial de produção de carbonato de sódio partindo das matérias primas amônia, salmoura e gás-carbônico.

7.1.3 Textos em jornais de notícias

- 1 LAGO, Claudimir Lucio Do. Novo método de separação química barateia o custo das pesquisas. **Agência Universitária de Notícias**, 08 maio 2003.
 Palavras-chave: microdispositivos toner-poliéster; microTAS; eletroforese capilar; isotacoforese capilar; dispositivos descartáveis.
 Áreas do conhecimento: Química Inorgânica; Instrumentação Analítica; Análise de Traços e Química Ambiental.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios.
 Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Hipertexto; Homepage: http://www.lsi.usp.br/aun/_reeng/materia.php3?cod_materia=0306545; Data de publicação: 08/05/2003.
 Protótipo de um equipamento para análises eletroforéticas e isotacoforéticas em microchips descartáveis de toner-poliéster.
- 2 NEVES, Carlos Antonio. USP desenvolve projeto para reduzir lixo. **O Estado de São Paulo - caderno SeuBairro - Oeste - número 195**, zona oeste da cidade de São Pa, p. Z12.09 dez. 1997.
 Palavras-chave: lixo; copos plásticos; reciclagem.
 Áreas do conhecimento: Polímeros e Colóides.
 Setores de aplicação: Captação, tratamento e distribuição de água, limpeza urbana, esgoto e atividades conexas.
 Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso; Data de publicação: 09/12/1997.
 Participação em reportagem sobre reciclagem de lixo onde fiz um levantamento da massa de copos plástico de propipoleno e seu eventual reaproveitamento. Esse projeto fez parte de uma disciplina dada no último ano do curso de química da USP voltada para o meio ambiente (segundo semestre de 1997).

7.1.4 Textos em revistas (magazines)

- 1 LAGO, Claudimir Lucio Do. Miniaturas funcionais. **Pesquisa FAPESP**, p. 78-63, 01 abr. 2003.
 Palavras-chave: microchip; dispositivos de toner-poliéster; microfabricação.
 Áreas do conhecimento: Polímeros e Colóides; Instrumentação Analítica.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios.
 Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso; Data de publicação: 01/04/2003.
 Artigo que descreve o processo de fabricação de dispositivos toner-poliéster. Fala também da sua descartabilidade, custo, praticidade e usabilidade. Apesar de aparecer somente o nome do orientador, os doutorandos foram responsáveis pela preparação do material para a reportagem.

7.2 PRODUÇÃO TÉCNICA

7.2.1 Produtos tecnológicos sem registro ou patente

- 1 NEVES, Carlos Antonio. **Multiplexed Frequency Counter - project 247**. 2004.
 Palavras-chave: microcontroller; frequency counter; frequency meter; pulse counter; piezoelectric crystal; monitor.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Análise de Traços e Química Ambiental.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais; Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios; Fabricação de máquinas, aparelhos e equipamentos de sistemas eletrônicos dedicados à automação industrial e controle do processo produtivo.
 Referências adicionais: Estados Unidos; Meio de divulgação: Hipertexto; Homepage: <http://www.avrfreaks.net>; Finalidade: Multiplexed frequency counter with LCD for 4 oscillator using a AT90S2313 microcontroller; Disponibilidade: Irrestrita.
 Este projeto descreve a construção de um freqüencímetro multiplexado para 4 osciladores à quartzo de 10MHz microcontrolados. Os cristais podem ser modificados com alguma substância de interesse que gere alguma resposta a algum fenômeno que esteja ocorrendo. O circuito eletrônico e o código fonte do programa da microcontroladora são fornecidos e possuem permissão para modificação para possíveis adaptações às necessidades de qualquer pessoa ou instituição.

8 DADOS COMPLEMENTARES

8.1 PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

- 1 **Contactless conductivity detection for microchip of laminated laser-printed polyester films, Chemical Sensors, vol. 20, Supplement B (2004), 3P103, 828-829**. 2004. (Participações em eventos/Congresso).
 Palavras-chave: microchip; toner-polyester devices; conductometric detection; PCB electrodes.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios; Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais; Captação, tratamento e distribuição de água, limpeza urbana, esgoto e atividades conexas.
 Referências adicionais: Japão; Nome do evento: The 10th International Meeting on Chemical Sensors; Nome da instituição promotora: Japan Association of Chemical Sensors, The Electrochemical Society of Japan; Local: Tsukuba International Congress Center; Cidade: Tsukuba.

Neste congresso foi apresentado parte do que foi desenvolvido no projeto de doutorado referente ao período vingente. Nele é apresentado um sistema de separação eletroforética usando microchips de toner-poliéster, com detecção condutométrica sem contato e eletrodos construído com a técnica de confecção de placas de circuito impresso (PCB). Para a demonstração, é exibido um eletroferograma da náscia cálcio e lítica e um segundo eletroferograma de uma análise de sangue cada é

- 2 **Simplicidade, baixo custo, precisão e rapidez na obtenção de eletrodos de prata e aquisição via computador. 2003. (Participações em eventos/Congresso).**
 Palavras-chave: cdtrodo; multímetro; interfaceamento; eletrodos de prata; eletroanalítica.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Captação, tratamento e distribuição de água, limpeza urbana, esgoto e atividades conexas; Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 26a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA; Nome da instituição promotora: SBQ - Sociedade Brasileira de Química; Local: Poços de Caldas; Cidade: Minas Gerais.
 Neste trabalho é descrita uma forma de obtenção de eletrodos de prata a partir de CD-Rs (CDtrodos). Suas potencialidades foram avaliadas frente a vários analitos onde foram obtidos resultados semelhantes àqueles alcançados utilizando eletrodos de prata comercial. Além do baixo custo representado pelos eletrodos de prata desenvolvidos, um outro aspecto a ser destacado neste estudo foi a utilização de um multímetro dotado de interface RS-232 e software para aquisição de dados.
- 3 **Deteção condutométrica sem contato para eletroforese capilar em microdispositivos de poliéster-toner - QA-006. 2003. (Participações em eventos/Congresso).**
 Palavras-chave: deteção; microfabricação; lab-on-a-chip.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 26a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: Sociedade Brasileira de Química - SBQ; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve a aplicação de deteção condutométrica sem contato em microchips de toner-poliéster.
- 4 **Simplicidade, baixo custo, precisão e rapidez na obtenção de eletrodos de prata e aquisição de dados via computador. 2003. (Participações em eventos/Congresso).**
 Palavras-chave: eletrodos de prata; interfaceamento; eletroanalítica.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 26a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: ociedade Brasileira de Química - SBQ; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve o uso de eletrodos de prata feitos de CD graváveis e com registro usando um multímetro interfaceado via RS-232.
- 5 **Conversão frequência-tensão baseado em PLL para microbalanças de quartzo - QA-011. 2001. (Participações em eventos/Congresso).**
 Palavras-chave: PLL; microbalança de quartzo; PQC.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 24a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: Sociedade Brasileira de Química; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve um processo de registro das variações de massa sobre uma microbalança de quatzo convertendo a frequência de oscilação do cristal em variações de tensão elétrica usando um circuito de Phase-Locked Loop (PLL).
- 6 **Dispositivo baseado em cristal piezelétrico de quartzo com eletrodo separado para monitoramento contínuo de reações de silanização e deposição de filmes finos. 2000. (Participações em eventos/Congresso).**
 Palavras-chave: ESPC; cristal piezelétrico com eletrodos separados; silanização; interfaceamento.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 23a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: Sociedade Brasileira de Química; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve um sistema que usa um oscilador com um cristal piezelétrico de eletrodos separados em uma câmara que pulveriza um reagente de silanização sobre a superfície do cristal de quartzo. O sistema monitora a variação de frequência em função do tempo. Com ele é possível observar as variações de propriedades viscoelásticas.
- 7 **Microbalança de cristal piezelétrico de quartzo de eletrodos separados para fase gasosa - QA-100. 1999. (Participações em eventos/Congresso).**
 Palavras-chave: microbalança de quartzo; cristal piezelétrico com eletrodos separados; fase gasosa.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 22a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: Sociedade Brasileira de Química; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve o desenvolvimento de uma microbalança para eletrodos separados para cristais de quartzo.

- 8 **Desenvolvimento de um equipamento para termoanálise baseado em cristal piezelétrico de quartzo com eletrodos separados - QA-043.** 1998. (Participações em eventos/Congresso).
 Palavras-chave: termoanálise; cristal piezelétrico com eletrodos separados; ESPC.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica.
 Setores de aplicação: Fabricação de equipamentos de instrumentação médico-hospitalar, odontológico e de laboratórios.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 21a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: Sociedade Brasileira de Química; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve o desenvolvimento de um equipamento de termoanálise usando como sensor um cristal piezelétrico de eletrodos separados. Testes foram feitos com sulfato de cobre II hidratado onde observou-se as perdas das águas de hidratação.

- 9 **Processo Solvay: Uma adapção do processo industrial ao laboratório didático - ED-037.** 1995. (Participações em eventos/Congresso).
 Palavras-chave: processo solvay; experimento didático; química inorgânica.
 Áreas do conhecimento: Química Inorgânica.
 Setores de aplicação: Educação superior; Fabricação de produtos químicos inorgânicos.
 Referências adicionais: Brasil; Nome do evento: 18a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; Nome da instituição promotora: Sociedade Brasileira de Química; Local: Poços de Caldas; Cidade: Poços de Caldas.
 Descreve uma adaptação do processo industrial solvay para fabricação de carbonato de sódio em bancada para fins didáticos.

- 10 **Approaches for the fabrication of low cost microfluidic devices - OP-A-23.** 2002. (Participações em eventos/Simpósio).
 Palavras-chave: microchip; toner-polyester devices; microfluidic.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Argentina; Nome do evento: 8o Simposio Latinoamericano LACE 2002 - 7-10 de dezembro; Local: Hotel Costa Galana; Cidade: Argentina.
 São apresentados duas abordagens para a fabricação de dispositivos microfluídicos. O primeiro usa o polímero N-2-aminoetil-3-aminopropilsilano que possui elevada seletividade para íons cobre II. O segundo é um método para a fabricação de dispositivos de toner-poliéster usando folhas de transparência e toner de impressora laser.

- 11 **Microchannel manufacturing process using toner as structural component - PP-A-41.** 2002. (Participações em eventos/Simpósio).
 Palavras-chave: toner-polyester devices; microfabricação.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Argentina; Nome do evento: 8o Simposio Latinoamericano; Local: Rio del Plata; Cidade: Argentina.
 Descreve o processo de fabricação de microchips de toner-poliéster.

- 12 **Characterization of the microchannel manufacturing process using toner as structural component - PP-A-42.** 2002. (Participações em eventos/Simpósio).
 Palavras-chave: toner-polyester devices; characterization; microchip; microfluidic.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Argentina; Nome do evento: 8o Simposio Latinoamericano - LACE 2002; Local: Hotel Costa Galana; Cidade: Mar del Plata.
 Caracteriza o processo de fabricação de microdispositivos de toner-poliéster em termos de resistência química, características elétricas e dimensionais.

- 13 **Electrospray production using a microfluidic device made by the toner-polyester technique - PP-A-43.** 2002. (Participações em eventos/Simpósio).
 Palavras-chave: electrospray; toner-polyester devices; microfabrication; microfluidic.
 Áreas do conhecimento: Instrumentação Analítica; Síntese Orgânica.
 Setores de aplicação: Fabricação de outros aparelhos e instrumentos de medida, teste e controle, exceto equipamentos para controle de processos industriais.
 Referências adicionais: Argentina; Nome do evento: 8o Simposio Latinoamericano- LACE 2002; Local: Hotel costa Galana; Cidade: Mar del Plata.
 Demonstra o uso de microchips de toner-poliéster em eletrospray.

9 INDICADORES DE PRODUÇÃO

Produção bibliográfica

Artigos publicados em periódicos.....	7
Completos.....	7
Trabalhos em eventos.....	1
Completos.....	1
Textos em jornais ou revistas (magazines).....	3
Jornais de notícias.....	2
Revistas (Magazines).....	1

Produção técnica

Produtos tecnológicos.....	1
Produtos tecnológicos sem registro ou patente.....	1

Dados complementares

Participação em eventos.....	13
------------------------------	----