**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

ERIC TAVARES DA COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE DE
COMPOSTOS VOLÁTEIS IONIZÁVEIS POR
ELETROFORESE CAPILAR COMBINANDO TÉCNICAS DE
MICROFABRICAÇÃO**

Versão Corrigida

São Paulo

Data do Depósito na CPG

4 de Novembro de 2013

ERIC TAVARES DA COSTA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE ANÁLISE DE
COMPOSTOS VOLÁTEIS IONIZÁVEIS POR ELETROFORESE
CAPILAR COMBINANDO TÉCNICAS DE MICROFABRICAÇÃO**

Tese apresentada ao
Instituto de Química da
Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração:
Química Analítica

Orientador:
Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago

SÃO PAULO
2013

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Costa, Eric Tavares da
C837d Desenvolvimento de um sistema de análise de compostos
voláteis ionizáveis por eletroforese capilar combinando técnicas
de microfabricação / Eric Tavares da Costa. -- São Paulo, 2013.
155p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade de São
Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Lago, Claudimir Lucio do

1. Instrumentação : Química analítica 2. Eletroforese capilar:
Química analítica 3. Robôs I. T. II. Lago, Claudimir Lucio do,
orientador.

543.07 CDD

Dedico esta tese,
Aos meus pais,
Celso e Eunice
e a todos os meus professores.

AGRADECIMENTOS

Aos meus Pais Celso e Eunice, ao meu irmão Alan e família.

Aos meu orientador Claudimir e aos profs. Gutz e Lúcio. Aprendi muito com vocês.

Aos colaboradores Carlos A. Neves, Denis T. R. Vidal, Fernando S. Lopes, Guilherme M. Otta, Marcelo F. Barros, Thiago Garcia que contribuíram diretamente com essa tese, auxiliando na realização de alguns experimentos.

Aos meus atuais e antigos amigos do Laboratório LAIA. Foram tantas dicas e auxílios que considero-os como colaboradores desta Tese.

Aos funcionários do IQ, que tenho o maior respeito deste a minha época de graduação, aos quais em inúmeras vezes recorri para a realização das atividades e procedimentos acadêmicos.

Aos meus amigos de convivência que completam minha vida com amizade e apoio.

A todos que contribuíram para a manutenção e crescimento da USP e do IQ.

À Capes, ao programa “Ciências sem fronteira” pelo apoio financeiro.

E por fim, agradeço a todos os meus professores, deste os meus primeiros anos letivos até o presente momento. Embora, provavelmente, este texto nunca venha a chegar nas mãos de muitos de vocês, eu tenho certeza de que vocês têm a completa ciência da grandiosidade de seus ofícios e seus atos.

Obrigado!

“Uma vida não examinada não vale ser vivida”

Sócrates (469 - 399 a.C.)

RESUMO

COSTA, E.T. Desenvolvimento de um sistema de análise de compostos voláteis ionizáveis por eletroforese capilar combinando técnicas de microfabricação, **2013**, 155 páginas.

Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Química – Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo.

O desenvolvimento de um equipamento de eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato e hifenizado a um sistema de amostragem de gases é apresentado. Ele foi construído a partir de chapas de poli(metacrilato de metila) por ablação a laser de CO₂, mesclando métodos convencionais com os de microfabricação. Este protótipo traz como inovações: (1) a refrigeração em estado sólido da coluna capilar, (2) a inclusão de eletrólise separada em microdispositivos e (3) a montagem de uma válvula embutida no microchip, baseada em servomotor.

O equipamento é portátil (31 × 29 × 25 cm) e projetado para ser utilizado em bancada ou embarcado num robô para análises remotas de agentes neurotóxicos e outros gases ionizáveis em contato com a fase aquosa.

O sistema de termostatização permitiu o controle da temperatura interna do capilar de sílica fundida entre 12 e 50 °C utilizando um elemento Peltier a partir da temperatura ambiente de 21 °C.

A amostragem de gases é feita utilizando-se uma membrana tubular porosa acoplada ao sistema microfluídico. Ela possui 10 cm de comprimento com 300 micrometros de diâmetro externo e 3,1 microlitros de volume interno. Como prova de conceito, foram feitas amostragens de ar contendo ácidos fórmico, acético e propiônico, separação por eletroforese capilar dos respectivos ânions e detecção com relação sinal-ruído de 414, 150 e 115, respectivamente. A amostragem foi realizada por 30 s e a injeção eletrocinética, por 2 s a 1 kV. A corrida eletroforética foi concluída em 4 min.

Palavras-chaves: eletroforese capilar, laser de dióxido de carbono, agentes neurotóxicos, microfluídica, robô.

ABSTRACT

COSTA, E. T. Development of an analysis system for ionizable gases using capillary electrophoresis combining conventional and microfabrication techniques, **2013**, 155 pages. Doctor of Philosophy Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química – Universidade de São Paulo, São Paulo.

The development of a capillary electrophoresis equipment with contactless conductivity detection coupled to a gas sampling system is described. It was constructed from poly(methyl methacrylate) by carbon dioxide laser ablation, using conventional methods and microfabrication. The innovations are: (1) solid-state cooling system of the silica capillary, (2) the inclusion of separate electrolysis on a microdevices, and (3) a valve assembly embedded in the microchip based servomotor. It is portable (31 × 29 × 25 cm) and designed to be used on a workbench or embedded in a robot for remote analysis of nerve agents and other ionized gases. The thermostating system allowed the temperature control of the fused silica capillary between 12 and 50 °C using a Peltier chip from ambient temperature of 21°C. Gas sampling is performed using a tubular porous membrane coupled to the microfluidic system. It is 10 cm long with outer diameter of 300 micrometers and 3.1 microliters of internal volume. Air containing formic, acetic, and propionic acids were sampled, and the corresponding anions were separated and detected in the equipment as a proof of concept. The signal-to-noise ratio were, respectively, 414, 150, and 115, after sampling by 30 s and electrokinetic injection by 2 s at 1 kV. The electrophoretic run was accomplished in 4 min.

Keywords: capillary electrophoresis, carbon dioxide laser, neurotoxic agents, microfluidics, robot.

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 PROCESSOS DE MICROFABRICAÇÃO.....	15
1.2 A CORTADORA LASER.....	18
1.3 MÉTODOS DE SELAGEM DE POLÍMEROS.....	21
1.4 ELETROLISE SEPARADA.....	22
1.5 INVERSÃO DO FLUXO ELETROSMÓTICO.....	23
1.6 AGENTES NEUROTÓXICOS.....	25
2 OBJETIVO.....	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 REAGENTES.....	33
3.2 USINAGEM POR ABLAÇÃO A LASER DE DIÓXIDO DE CARBONO.....	33
3.3 SELAGEM POR AQUECIMENTO SOB PRESSÃO.....	36
3.4 SELAGEM COM CLOROFÓRMIO.....	39
3.5 SELAGEM COM COLAS.....	40
3.6 REMOÇÃO DE AGULHAS	40
3.7 FEITURA DAS ROSCAS.....	41
3.8 MONTAGEM DOS CIRCUITOS ELETRÔNICOS.....	41
4 CONSTRUÇÃO DO EQUIPAMENTO DE ELETROFORESE CAPILAR.....	45
4.1 CONSTRUÇÃO DO EQUIPAMENTO DE ELETROFORESE CAPILAR COM SISTEMA COLETOR DE GÁS ACOPLADO.....	45
4.2 FABRICAÇÃO DO MICROCHIP.....	47
4.3 ELETROLISE SEPARADA PARA SISTEMAS EM MICROCHIP	52
4.4 ELETRODOS DO AIRCE.....	52
4.5 ACOPLAMENTO DO CAPILAR E DAS AGULHAS NO MICRODISPOSITIVO	55
4.6 MODOS DE FIXAÇÃO DA MEMBRANA TUBULAR.....	58
4.7 VÁLVULA SERVOMOTOR	62
4.8 ELETRÔNICA DO AIRCE.....	65
4.8.1 PLACA DE TERMOSTATIZAÇÃO.....	65
4.8.2 PLACA ELETRÔNICA PRINCIPAL.....	68
4.9 DETECTOR.....	73
4.10 PROGRAMA DE INTERFACE COM O USUÁRIO.....	74
4.11 ESTRUTURA MECÂNICA DO AIRCE.....	75
5 LAB ON A ROBOT 3.....	81
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	85
6.1 ELETROLISE SEPARADA.....	87
6.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ELETRODOS.....	90
6.3 ACOPLAMENTO DO CAPILAR E DAS AGULHAS NO MICRODISPOSITIVO	90
6.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE A MEMBRANA.....	92

6.4.1	FIXAÇÃO DA MEMBRANA POR COLAGEM DIRETA AO CORPO DE PROVA.....	92
6.4.2	FIXAÇÃO DA MEMBRANA NA FORMA DE CARTUCHOS.....	93
6.4.3	FIXAÇÃO DAS MEMBRANAS UTILIZANDO TYGON.....	94
6.5	VÁLVULA SERVOMOTOR.....	95
6.6	O MICROCHIP.....	98
6.7	ELETRÔNICA DO AIRCE.....	100
6.7.1	PLACA ELETRÔNICA PRINCIPAL.....	101
6.7.2	ACIONAMENTO DAS BOMBAS, VÁLVULAS E VENTONHA.....	102
6.7.3	FONTE DE ALTA-TENSÃO.....	103
6.8	AJUSTE DO POTENCIAL DA FONTE DE ALTA-TENSÃO.....	108
6.9	PLACA DE TERMOSTATIZAÇÃO.....	111
6.10	DETECTOR.....	114
6.11	CONSUMO DE CORRENTE.....	116
6.12	OS SOFTWARES.....	117
6.12.1	PROGRAMAÇÃO DO SENSOR DE TENSÃO	118
6.12.2	PROGRAMAÇÃO DO CONVERSOR DE CORRENTES.....	119
6.12.3	AJUSTE DO POTENCIAL DA FONTE DE ALTA-TENSÃO.....	120
6.12.4	AJUSTE DO SERVOMOTOR	120
6.12.5	PROGRAMAÇÃO DO SENSOR DE TEMPERATURA.....	121
6.12.6	PROGRAMAÇÃO DO SISTEMA DE TERMOSTATIZAÇÃO.....	122
6.12.7	DEMAIS FUNÇÕES.....	123
6.12.8	PROGRAMA DE INTERFACE COM O USUÁRIO.....	123
6.13	CONSIDERAÇÕES SOBRE A TERMOSTATIZAÇÃO.....	125
6.14	CONSIDERAÇÕES SOBRE A EFICIÊNCIA DO DISSIPADOR DE CALOR	127
7	ELETROFEROGRAMAS.....	131
7.1	SEPARAÇÃO E DETECÇÃO DE AGENTES NERVOSOS EM ELETRÓLITO DE MES/HISTIDINA.....	132
7.2	SEPARAÇÃO E DETECÇÃO DE AGENTES NERVOSOS EM ELETRÓLITO DE CARBONATO/BICARBONATO.....	135
7.3	SEPARAÇÃO E DETECÇÃO DE UMA MISTURA DE TRÊS ÁCIDOS ADICIONADOS NO AR PELO AIRCE.....	138
8	CONCLUSÕES GERAIS.....	141
9	ETAPAS FUTURAS.....	143
10	BIBLIOGRAFIA.....	145
11	SÚMULA CURRICULAR.....	153
	SUMÁRIO.....	153
	DADOS PESSOAIS.....	153
	EDUCACIONAL.....	153

ARTIGOS PUBLICADOS EM PERÍODICOS INTERNACIONAIS INDEXADOS...	154
PREMIAÇÕES.....	154
ATIVIDADES ACADÊMICAS EXTRA-CURRICULARES.....	155

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AirCE	Eletroforese Capilar com um sistema de coleta de gases acoplado
BGE	Eletrólito de corrida
C4D	Detector condutométrico capacitivamente acoplado
CE	Eletroforese Capilar
CTAB	brometo de N-cetil-N,N,N-trimetil-amônio
d.e.	Diâmetro externo
d.i.	Diâmetro interno
DTAB	Brometo de N-Dodecil-N,N,N-trimetil-amônio
EEPROM	Electrically-Erasable Programmable Read-Only Memory
EMPA	Ácido etil metilfosfônico
EOF	Fluxo eletrosmótico
EVA	Etileno vinil acetato
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
I2C	Circuito interintegrado
IMS	Espectrometria de mobilidade iônica
LED	diodo emissor de luz
LIGA	Litografia, Galvanização e Modelagem
LOAR3	Laboratório em um robô – Terceira versão
MES	Ácido 2-morfolino-etanossulfônico
micro-TAS	Micro sistemas de análise total
ONU	Organização das Nações Unidas
PCB	Placa de circuito impresso
PID	Proporcional-integral-derivativo
PMMA	Poli(metacrilato de metila)
PMPA	Ácido pinacolil metilfosfônico
PWM	Modulação por largura de pulso
RF	Rádio Frequência
RISC	Computador com conjunto reduzido de instruções
SPI	interface periférica serial
SRAM	Memória estática de acesso aleatório
UART	Transmissor-receptor assíncrono universal

1 INTRODUÇÃO

Os estudos envolvendo a miniaturização de equipamentos analíticos já são realizados há bastante tempo, indo de sensores de glicose no sangue e microeletrodos [1, 2] a tubos capilares para cromatografia gasosa. Os ganhos foram claros: portabilidade, redução de custos e, com frequência, melhora no desempenho [3].

Recentemente, a microfluídica tem ganho interesse dos pesquisadores, cujo objeto de estudo é repensar o processo de fabricação e utilização de equipamentos analíticos, e não simplesmente reescalá-los em formato menor. Neles, a adição de parafusos, conectores, bombas, entre outros, podem ser inviáveis devido aos espaços diminutos das peças microfabricadas. Logo, ao miniaturizar deve-se pensar na integração das partes, se possível, num único bloco.

A microfluídica abre caminho para que não somente sensores, mas equipamentos completos de separação também possam ser transportados facilmente para os locais de análises. Além da portabilidade [4–6], o que tem orientado pesquisadores nessa área são os conceitos de *Lab-on-a-chip* (Laboratório em uma placa) ou equivalente micro-TAS (micro sistemas de análise total) [7–13]. Esses conceitos visam a máxima integração das etapas de um procedimento de análise como amostragem, abertura de amostra, pré-tratamento, injeção, separação e detecção.

Os primeiros dispositivos microfluídicos surgiram na década de 1970 com os trabalhos de Terry e colaboradores [14, 15], nos quais eles apresentam um cromatógrafo à gás (CG) miniaturizado. Eles utilizaram a fotolitografia [16, 17] e corrosão química para esculpir canais num vidro *Pyrex*. Como resultado, obtiveram um μ CG com coluna de separação de 1,5 metros de comprimento, 200 μ m de

largura por 30 μm de profundidade num disco de apenas 5 cm de diâmetro. Eles demonstraram o conceito separando solventes orgânicos.

O segundo microdispositivo, um $\mu\text{-HPLC}$, só foi montado na década de 1990 por Manz e colaboradores [18]. Eles obtiveram uma eficiência de separação de 8.000 e 25.000 pratos teóricos numa coluna tubular de 15 cm de comprimento por 6,0 μm de largura e 2,0 μm de profundidade. Tudo isso num quadrado de silício de 5 mm de aresta, tampado com vidro *pyrex*.

Dois anos depois, o mesmo grupo, apresentou um $\mu\text{-CE}$ (*Capillary Electrophoresis* – Eletroforese Capilar) [19]. Os canais foram fabricados em vidro, usando fotolitografia, com dimensões 150 mm por 40 mm com 10 mm de espessura. Ele possuía dois canais com 30 μm de largura por 10 μm profundidade e outro canal com 1 mm de largura por 10 μm de profundidade, detector por fluorescência induzida por laser localizado a 6,5 cm do ponto de injeção. Os autores demonstraram o método separando dois analitos fluorescentes (20 μM de fluoresceína e de calceína). Para promover a separação, foi aplicado 3,0 kV nos eletrodos, separados a 13 cm de distância um do outro, tampão Tris/Borato 50 μM , injeção eletrocinética 500 V por 3 segundos. O tempo de migração foi de 3 e 5 minutos para a calceína e fluorescina, respectivamente.

Embora se tenha avançado muito nestes últimos 15 anos [20–24], os dispositivos microfluídicos completos ainda não são robustos como os equipamentos convencionais, salvo exceções [25]. Mas os conceitos e métodos são sólidos e trarão benefícios imediatos, se forem mesclados os conhecimentos já maduros nas áreas de microfabricação e com as técnicas tradicionais. É nessa lacuna que se insere a presente Tese, vez que não há artigos propondo diretamente a combinação de ambos os métodos de fabricação.

Recentemente, foi publicado um artigo que se tornou capa da revista *Analytical Methods* [26] e estampava um microdispositivo híbrido, cujos autores também propuseram um capilar de sílica em substituição a um canal no microchip. E um outro artigo que versa sobre a raridade de equipamentos de eletroforese capilar portáteis [4].

1.1 PROCESSOS DE MICROFABRICAÇÃO

A fotolitografia é o procedimento preferido para microfabricação, visto que é um método bastante maduro, sendo a técnica utilizada em fabricação de microprocessadores e circuitos integrados. Ela é uma técnica baseada na corrosão seletiva de um substrato que, após a corrosão, apresentará sulcos, que formarão os microcanais depois da selagem dos dispositivos. Os substratos comumente empregados são quartzo, vidro e silício. Primeiramente, o material é recoberto com uma fina camada metálica (ouro e/ou cromo) e sobre essa, fotorresiste é adicionado. O fotorresiste é então sensibilizado seletivamente com luz UV, formando o desenho do microchip desejado. Há dois tipos de fotorresistes: aquele que é polimerizado sob a ação da luz (negativo) e aquele que sofre despolimerização ou degradação pela radiação UV (positivo). As áreas onde o fotorresiste está pouco polimerizado são removidas com o uso de solvente adequado, expondo a superfície do substrato. Em seguida, as áreas desprotegidas são corroídas quimicamente por via seca (plasmas halogenados, como hexafluoreto de enxofre) ou por via úmida, sendo utilizado, por exemplo, KI/I_2 para a corrosão do ouro, $K_3Fe(CN)_6$ para a corrosão do cromo e HF/NH_4F para vidro ou quartzo e HF/HNO_3 para o silício [16].

Embora a fotolitografia seja uma técnica capaz de produzir microchips com alta qualidade, ela é cara, restrita a poucos laboratórios, necessitando de infraestruturas como sala-limpa. Isso motivou a busca por outros métodos e materiais, como os polímeros [27].

Polímeros são mais baratos, menos frágeis e mais fáceis de se manipular, quando comparados com outros materiais. Eles possuem características físicas e químicas de interesse à microfabricação, como boas propriedades ópticas, possibilidades de derivatização, flexibilidade e biocompatibilidade.

A maior parte dos procedimentos de microfabricação em polímeros são parecidos entre si [28]: eles exploram características como a capacidade do polímero se deformar sob pressão, termoplasticidade e polimerização.

Em todos os processos de moldagem são empregados polímeros como substratos. Os polímeros, no estado sólido ou líquido viscoso, são prensados entre matrizes com relevos cujo formato é o inverso da estrutura desejada. Após a pressão, os polímeros adquirem a forma oposta à matriz. No *Hot embossing* [29], o polímero é aquecido até o amolecimento e prensado. No *Cast* o material é polimerizado sobre a matriz e desmoldado [30, 31].

Xu *et al.* [32] numa variante do processo descrito acima, modelou uma superfície de PMMA com estampagem a temperatura ambiente. Foi aplicada uma pressão, de 3 a 18,6 MPa em substituição ao aquecimento. Como não envolve aquecimento, esta técnica é mais rápida que a estampagem a quente.

Já Sun *et al.* [33] expuseram a superfície do PMMA ao ataque de acetonitrila por dois minutos, em seguida, pressionaram a superfície do PMMA tratada, ainda úmida, contra uma matriz de fotorresiste SU-8 [34] fotolitograficamente confeccionada sobre vidro por 10 minutos. Isso moldou o PMMA. Em seguida, selaram com uma tampa de PMMA também atacada por dois minutos.

Nos métodos de moldagem por injeção [35, 36], grânulos de polímeros fundidos são injetados sob alta pressão dentro de moldes com o formato desejado. Após a solidificação, o substrato é desmoldado.

As matrizes podem ser de vidro, silício, quartzo, metal, ou outros polímeros (como por exemplo, poliéster [37]). As três primeiras são normalmente feitas pelo processo de fotolitografia. As poliméricas podem ser feitas com o auxílio de matrizes metálicas ou pelo processo LIGA [38, 39], do alemão, *Lithographie, Galvanic und Abformung* (Litografia, Galvanização e Modelagem) ou seja, segue o mesmo procedimento da fotolitografia, mas ao invés da corrosão, as partes expostas do substrato sofrem eletrodeposição de níquel ou ligas desse. Após a remoção do fotorresiste, obtém-se uma matriz para moldagem.

Outra categoria de microchips são os dispositivos de baixo custo, como, os microchips a base *toner*/poliéster e os microchips em papel. No primeiro, a imagem negativa do microchip é transferida para a superfície de uma folha de poliéster utilizando uma impressora a laser comum. A selagem dessa folha com outra folha de poliéster é feita por aquecimento sob leve pressão. Ao final, as regiões sem o toner são usadas como canais [40–44]. Alternativamente, lâminas de vidro podem substituir o material plástico [45] e *toners* coloridos empregados no lugar do toner preto [46].

Os microdispositivos em papel [47–50] tem ganho cada vez mais atenção por parte da comunidade científica, em parte, pela portabilidade, e pelo baixo custo por unidade de dispositivo, tipicamente menor que um centavo de dólar [51]. O diferencial dessa modalidade é a mobilização da amostra que é feita por capilaridade. Para delimitar os canais é adicionado com o auxílio de uma impressora tinta a base [50]. Normalmente empregam-se em testes colorimétricos sensíveis à explosivos e análises clínicas [25].

1.2 A CORTADORA LASER

O método de ablação a laser é indicado quando o objetivo é a prototipagem de microchips e não a replicação de dispositivos [52–56]. Nessa técnica, os canais são feitos diretamente nos substratos, não havendo a necessidade de sala-limpa nem de moldes. Entre eles, destaca-se o método de ablação a laser de dióxido de carbono [57–65].

A cortadora a laser de CO₂ utilizada no presente trabalho para fazer os microchips já foi objeto de estudo de duas dissertações de mestrado [66, 67]. Destaco aqui, os aspectos mais relevantes para este estudo.

O perfil da potência da radiação laser não é uniforme, no centro do feixe é mais intenso do que nas bordas, seu perfil é semelhante a uma gaussiana. Como consequência, a seção de corte de um canal feito no microchip também é gaussiano, como mostrado na Figura 1. Nestas figuras é mostrado que o canal fica mais largo e mais raso a medida que a superfície da peça se distancia do plano focal do laser. O que é natural, uma vez que o diâmetro do feixe é menor no foco e intenso, tornando o canal mais estreito e mais profundo.

Figura 1: Seção transversal dos canais feito por ablação a laser com potência do laser de 28,5 W, velocidade de deslocamento do laser 14 mm·s⁻¹ em diferentes distâncias do ponto focal (a) -5, (b) -7 e (c) -9 mm. Figura extraída da referência [66]

Outra característica das ablações é a rugosidade do fundo do canal. Na Figura 2 são mostradas fotos tiradas no início, no meio e fim de um canal (o canal é a parte mais clara nas fotos). No início e no final das ablações o fundo é mais rugoso e mais profundo do que no centro devido à velocidade de deslocamento do laser. Nas pontas, o laser estava acelerando ou desacelerando, consequentemente, ele permanecia mais tempo nessas regiões, produzindo uma ablação maior.

Figura 2: Fotos de um mesmo canal feito no PMMA em três regiões distintas. O canal é mostrado de lado, ele é a parte mais clara nas fotos. (a) no início do canal, (b) no meio e (c) no final. Potência do laser de 3,0 W, velocidade de deslocamento do laser $100 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Figura extraída da referência [66]

O fundo do canal é rugoso mesmo na região da foto B da figura anterior, como pode ser visto na Figura 3 cuja foto mostra o fundo do canal visto por cima na qual é possível ver as imperfeições dele.

Figura 3: Foto panorâmica de um canal a aproximadamente 130 μm de profundidade com as marcas das ablações, potência 1,5 W, velocidade 20 $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Figura extraída da referência [66]

Não foram feitos estudos para esclarecer o motivo dessa irregularidade do canal, mas especula-se que se deve ao motor de passo e/ou pela pulsação do laser. O motor que movimenta os espelhos e lente para a entrega do laser possui motores que não giram continuamente, mas sim de passo a passo. Se por um lado o motor gera flutuação na profundidade dos canais, por outro lado, seu movimento é mais preciso que um motor contínuo. A outra hipótese se deve à pulsação da potência do laser. A pulsação tem sua origem na eletrônica do ajuste da potência do laser que é feita por PWM¹. Vale ressaltar que, essa pulsação não é consequência da frequência com o qual o laser é gerado. A frequência de geração do laser está na ordem de MHz enquanto que pulsação está na ordem de kHz [68].

Se esses canais fossem utilizados como reator num sistema de análise em fluxo, a rugosidade seria interessante, porque ela promove a mistura da solução, visto que a solução é comprimida e expandida ao passar por essas regiões causando movimentação caótica de seus constituintes. Já para eletroforese capilar, isso é inconveniente, pois resulta em alargamento dos picos.

¹ PWM também foi utilizado para o ajuste da diferença de potencial da fonte de alta-tensão. Logo, há uma breve discussão do que venha a ser PWM e suas consequências na página 110

1.3 MÉTODOS DE SELAGEM DE POLÍMEROS

Uma etapa crítica na microfabricação é a selagem, que pode ser realizada com auxílio de colas ou diretamente pela refusão dos polímeros. Na selagem por aquecimento sob pressão [69, 70], o polímero é aquecido um pouco acima de sua temperatura de transição vítrea, na qual as cadeias poliméricas do material começam a adquirir energia cinética. Uma vez cessado o aquecimento, os polímeros na interface se reacomodam, interagindo por forças intermoleculares entre as duas peças. Esse método pode provocar distorções nos canais caso o aquecimento seja muito elevado.

Nas selagens por solvente [71], emprega-se um composto que solubiliza uma fina camada superficial do material polimérico para obter o mesmo fenômeno de rearranjo das cadeias poliméricas descrito anteriormente. A escolha do solvente é feita observando o parâmetro de Hildebrand do polímero e do solvente [72]: caso sejam semelhantes, o polímero será solúvel no solvente. O parâmetro de solubilidade de Hildebrand é um parâmetro termodinâmico que correlaciona as energias coesivas entre solvente-solvente e/ou polímero-polímero com as forças coesivas entre polímero-solvente. Caso as forças intermoleculares da interação polímero-solvente sejam menores do que uma das duas outras forças, a solubilização não ocorrerá. Miller-Chou e Koenig escreveram um artigo extenso que versa sobre a físico-química da solubilização de polímeros [73].

A desvantagem do uso tanto de solvente quanto de cola é o entupimento dos canais (quando sobra material de selagem), ou sua selagem ineficiente (quando falta material). Num método simples, mas engenhoso, Koesdjojo e colaboradores [74] congelaram água dentro dos microcanais, protegendo-os do processo de selagem. Após o procedimento, a água era fundida, liberando os canais.

A laminação (semelhante à plastificação de documentos) e o polímero com camada adesiva [75] são indicados para microchips que não suportam grandes pressões ou temperaturas. A aplicação de fita adesiva é menos resistente a perfurações, mas adicionalmente permite a reutilização do material. O artigo de revisão por Tsao e DeVoe [76] descreve vários outros métodos de selagens para microchip, como por micro-ondas [77, 78] ou por plasma [79].

1.4 ELETROLISE SEPARADA

O equipamento de eletroforese pode ser pensado como uma célula eletrolítica. Quando uma diferença de potencial é aplicada, novas espécies são geradas em seus eletrodos devido à eletrólise. Essas espécies entram no capilar modificando a composição do eletrólito. O produto da eletrólise depende do constituinte do tampão de corrida. Um exemplo é o H^+ gerado pela eletrólise da água [80]. O H^+ é o interferente mais comum e o de maior mobilidade ($36,23 \times 10^{-4} \text{cm}^2 \text{s}^{-1} \text{V}^{-1}$ a 25°C). A variação do pH pode alterar as cargas das espécies no eletrólito e/ou na parede do capilar, causando variação da mobilidade. Essas mudanças entre ou durante as corridas gera um novo cenário a cada instante tornando as análises irreprodutivas.

Alternativas foram propostas para diminuir essa contaminação, como posicionar o eletrodo alguns milímetros acima das entradas do capilar [81], lavar constantemente os eletrodos [82], ou trocar com frequência os eletrólitos no reservatório. Para o caso da contaminação por H^+ , o método mais empregado e simples é a utilização de uma solução tampão com alta capacidade tamponante.

Outra estratégia é a eletrólise separada [83] na qual o capilar de sílica fundida e o eletrodo são colocados em reservatórios diferentes conectados por um tubo. Nesse sistema, os autores mostraram que foi possível realizar mais de 15 corridas sem indícios de contaminação em meio não tamponado. Em contrapartida, nenhuma corrida foi reprodutível sem o sistema e sem tamponamento. Eles também propuseram que a melhor geometria do tubo que conecta os reservatórios era uma combinação de um canal largo e longo com um estrangulamento curto. O estrangulamento dificulta a saída das espécies por difusão para o reservatório do capilar e o longo e largo canal é mais efetivo durante uma corrida eletroforética, já que o campo elétrico em seu interior é muito menor que no capilar.

1.5 INVERSÃO DO FLUXO ELETROSMÓTICO

A parede do capilar de sílica fundida é composta por grupos silanóis ionizáveis em pH maior que 3 aproximadamente, como exemplificado na equação 1:

A parede do capilar fica negativamente carregada quando a ionização ocorre e é contrabalanceada por excesso de cargas positivas proveniente dos íons solvatados. Essa dupla camada elétrica gera uma diferença de potencial entorno de 100 mV. Quando o campo elétrico da eletroforese é aplicado, o excesso de cargas positivas próximos à parede flui em direção ao polo negativo da fonte de alta-tensão, mobilizando, por atrito, toda a solução interna ao capilar. A esse fenômeno é dado o

nome de fluxo eletrosmótico (EOF) [42, 84–86]. Uma característica marcante do fluxo eletrosmótico é sua velocidade constante ao longo da seção de corte do canal, exceto numa camada próxima à parede (de 1 a 10 nm de espessura) cuja velocidade decai rapidamente a zero² [84, 87, 88].

A magnitude do EOF é proporcional à intensidade da separação de cargas na parede do capilar correlacionada com o potencial zeta (ζ), à viscosidade do meio (η) e ao campo elétrico aplicado pela fonte de alta-tensão (E), como mostrado abaixo [87]:

$$V_{eof} = \frac{\epsilon \zeta E}{4 \pi \eta} \quad (2)$$

Sendo V_{eof} a velocidade do EOF e ϵ a constante dielétrica do meio.

Como consequência, o EOF aumenta a velocidade dos cátions, visto que ambos migram no mesmo sentido, e diminui a velocidade do ânions, podendo, até, inverter o sentido de migração natural destes, caso a intensidade do EOF seja maior que a mobilidade dos ânions.

Essa inversão do sentido de migração dos íons permite a análise de íons de cargas opostas numa mesma corrida. Contudo, os íons de cargas opostas demoram mais para atingir o ponto de detecção. Quanto maior este tempo, mais largo serão os picos devido à difusão.

Para diminuir o tempo de análise de ânions com alta mobilidade, pode-se aumentar a intensidade do EOF [89], extinguir o EOF e inverter os polos da fonte de alta-tensão, ou inverter sentido do EOF e da fonte de alta-tensão [90]. Este último é feito, normalmente, com a adição de surfactantes ao eletrólito de suporte, como por

² O decaimento da velocidade é compreendido quando se compara o campo elétrico da dupla camada elétrica (entorno $10^5 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$) com o típico campo elétrico da eletroforese ($300 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$), ou seja, a parede exerce uma força atrativa 300 vezes mais intensa, porém, num curto espaço (1 a 10 nm).

exemplo, surfactantes com grupos amônio quaternários (CTAB, DTAB). Esses surfactantes se adsorvem na parede do capilar formando agregados cujos grupamentos positivos ficam direcionados à parede do capilar e à solução. Como resultado, quando o eletrólito de suporte é adicionado, forma-se uma concentração de cargas negativas próxima à superfície imóvel do surfactante. Ao aplicar o campo elétrico, as cargas negativas empurram toda a solução na direção oposta.

Um exemplo prático disso, no contexto da presente tese, envolveu a separação de 8 compostos marcadores do uso de armas químicas por eletroforese capilar [91]. Com o surfactante, as análises ocorreram em menos de 3 min. Sem o surfactante, a corrida demorou mais de 7 min e com sobreposições de picos.

1.6 AGENTES NEUROTÓXICOS

Os ataques contra civis, como aqueles ocorridos na Síria no início de 2013, deixam evidente a necessidade de mais pesquisas visando métodos de detecção, tratamento e descontaminação de armas químicas. Isso desperta preocupação, inclusive de países fora das questões bélicas internacionais, visto que eles são frequentemente sedes de grandes eventos internacionais como reuniões do G20, Copa do Mundo de Futebol, Olimpíadas. Além disso, o acesso às armas químicas não estão restritos à militares em embates internacionais, já que pequenos grupos radicais podem também lançar mão de mecanismos terroristas como ferramenta para os seus fins, como nos três ataques que ocorreram no Japão em 1994 e 1995 [92].

Armas químicas são compostos utilizados para debilitar ou matar outro ser humano, e são comumente classificadas como: asfixiante (gás cloro, fosgênio, etc), vesicantes (gases mostardas, lewisitas), sanguíneos (cianeto, arsênio, cloreto de cianogênio) e agentes nervosos (tabun, soman, sarin, etc) [93].

Estima-se que durante a Primeira Guerra Mundial foram usados mais de $1,5 \times 10^8$ kg de armas químicas, em sua maioria gases asfixiantes e vesicantes, atingindo mais de 1,3 milhões de pessoas, das quais 100.000 foram fatais. Embora os Agentes Nervosos tenham sido amplamente sintetizados após a Primeira Guerra Mundial, o primeiro ataque empregando esses gases ocorreu na década de 80, no qual o Iraque atacou Iranianos e Curdos com Tabun e Sarin, respectivamente. Recentemente, houve o caso do conflito Sírio, cujo número de mortes é estimado (pelos Estados Unidos) em torno de 1500 em um dos ataques. A ONU investiga 14 possíveis ataques.

No ataque à Síria do dia 21 de agosto de 2013, os agentes da ONU coletaram amostras de cabelo, urina e sangue de 36 sobreviventes, além de amostras do ambiente³. Eles constataram inequivocamente o uso de gás Sarin contra a população Síria [94].

Os métodos mais comuns de detecção de armas químicas são papel modificado, tubos detectores de gases, espectrometria de mobilidade iônica, fotometria de chama e CG-MS [95–97]. A popularidade de parte dessas técnicas se deve a portabilidade e facilidade de uso.

Os Agentes Nervosos possuem esta denominação porque eles afetam o sistema nervoso central e periférico dos mamíferos pela interrupção dos impulsos nervosos. A acetilcolina é o neurotransmissor responsável pelo transporte do sinal nervoso através da fenda sináptica. Ao transmitir a informação, a acetilcolina liga-se

³ O procedimento consiste em lavar com diclorometano ou metanol objetos próximos as explosões e coletar amostras de solo. A maioria dos objetos foram fragmentos de mísseis.

irreversivelmente ao receptor, e a enzima acetilcolinesterase hidrolisa o neurotransmissor em acetato e colina, liberando o receptor para novas transmissões. O Agente Nervoso age inativando esta enzima causando o colapso da comunicação [92, 98].

A estrutura química e as toxidades estimadas dos principais agentes nervosos estão apresentados na Tabela 1. Todos eles possuem estruturas químicas semelhantes, o que resulta em um mesmo mecanismo de intoxicação, baseado na sua ligação irreversível à enzima acetilcolinesterase, através do ataque nucleofílico da hidroxila da serina-200 da enzima no fósforo da arma química [92]. Desses grupos de compostos, o VX é considerado o mais tóxico.

Tabela 1: Estrutura química, nome, LDt50, volatilidade e coeficiente de hidrólise de segunda ordem de quatro agentes nervosos.

Estrutura Química	Nome e/ou Siglas	LDt50 (mg·min·m ⁻³)	Volatilidade (mg·m ⁻³ a 25 °C)	Coeficiente de hidrólise com NaOH (mol ⁻¹ ·m ⁻³)
Soman (GD)	70	3900	10
Sarin (GB)	50-100	22000	25,8
Vx EUA	30-35	10,5	4,1 x 10 ⁻³
Tabun (GA)	140	610	7,49

Fontes: LDt50 [99], Volatilidades [92], Coeficiente de hidrólises.

Uma importante característica desses compostos é a quiralidade. O Soman, por exemplo, possui dois centros quirais: um no carbono do grupo pinacolil e outro no fósforo. A toxicidade dos isômeros óticos, testadas em camundongos, varia em mais de cem vezes. (0,038 a 5,0 mg·kg⁻¹) [100].

Outras características físico-químicas desses agentes definem o mecanismo pelo qual a intoxicação ocorrerá [101]. O Sarin, por exemplo, é mais volátil e facilmente hidrolisado, características opostas ao VX, de maneira que a maioria das intoxicações por Sarin se dá por inalação e pelo VX ocorre pela pele.

Os agentes nervosos sofrem hidrólise em meio alcalino formando compostos organofosforados e metafosforados (Figura 4). A primeira etapa de reação costuma ser rápida em meio alcalino, já a segunda é considerada a etapa lenta. O mecanismo da hidrólise difere entres os Agentes Nervosos, mas o produto final costuma ser o mesmo em meio alcalino. Inicialmente, ocorre a quebra da ligação entre o fósforo e o halogênio, cianeto ou enxofre (representados na figura por R_1). Posteriormente, ocorre a clivagem no outro grupo alquílico (representado por R_2).

Figura 4: Representação genérica das duas etapas de hidrólise de organofosforados. O grupo R_1 representa o halogênio, cianeto ou enxofre. R_2 representa um grupo alquila.

2 OBJETIVO

Demonstrar a viabilidade da construção de sistemas de eletroforese capilar baseados em colunas de sílica fundida combinados com etapas pré e pós coluna utilizando técnicas de microfabricação. Para este fim, um sistema portátil composto de amostrador de compostos voláteis ionizáveis do ar e subsequente separação por eletroforese capilar será implementado.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES

Ácido etanóico e nítrico foram obtidos da Synth (Diadema, Brasil). Ácidos metanóico, propanóico, sulfúrico e clorídrico, assim como, bicarbonato de sódio e carbonato de sódio foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Ácido 2-morfolino- etanossulfônico (MES), L-histidina (His), brometo de N-cetil-N,N,N-trimetil-amônio (CTAB) e os ácidos: etil metilfosfônico (EMPA) e pinacolil metilfosfônico (PMPA) foram comprados da Sigma (St. Louis, MO, USA). Todas as soluções foram preparadas com água deionizada 18 MΩ·cm (Barnstead/Thermolyne, Dubuque, IA, USA) para obter 20 mmol·L⁻¹. O BGE de bicarbonato foi feito misturando-se 20 mmol·L⁻¹ de Na₂CO₃ e de NaHCO₃ e o eletrólito de suporte MES/His foi preparado misturando-se 20 mmol·L⁻¹ de cada. Em todos os casos o CTAB a 0,2 mmol·L⁻¹ foi usado para reverter o fluxo eletrosmótico.

3.2 USINAGEM POR ABLAÇÃO A LASER DE DIÓXIDO DE CARBONO.

Os canais, furos e cortes nos microchips e nas partes poliméricas do equipamento foram feitos por ablação numa cortadora a laser de CO₂ LS100 (Gravograph, modelo L-Solution 100 – La Chapelle-St Luc, França). Ela emite a radiação eletromagnética no comprimento de onda de 10,6 μm, potência máxima de 30 W e diâmetro de feixe mínimo de 0,125 mm no plano focal (50,8 mm de distância

da lente). O feixe incide ortogonalmente sobre o substrato através de um carro móvel dotado de um conjunto de espelhos e lente. A precisão desse deslocamento nos eixos X e Y (horizontal) é de 0,2 mm. Outro motor move verticalmente o substrato, permitindo a utilização de peças mais espessas e ablações fora do plano focal. A área útil para a ablação é de 460 mm x 305 mm por 145 mm de profundidade máxima.

A LS100 utiliza desenhos feitos em editores de imagens como coordenadas para as ablações. Ele reconhece oito tipos de cores nesses desenhos. Para cada uma delas é possível ajustar diferentes parâmetros no laser como: potência de corte, velocidade do deslocamento do laser sobre o substrato, número de repetições e distância focal.

O editor de imagem Corel Draw 12 (Corel Corporation, versão 12.0.0.458 – 2003) foi utilizado para este fim. Para uma mesma cor e modo de ablação, a LS100 promove as ablações respeitando a ordem com que os desenhos foram feitos pelo usuário. Essa sequência nem sempre é a melhor para promover as ablações e traz dificuldade na manutenção dos projetos. À vista disso, uma vantagem do *Corel Draw* frente aos outros editores é a capacidade de alterar a sequência e os sentidos dos traços desenhados.

A profundidade e largura das ablações são determinadas pela dose da radiação. Essa por sua vez, é a consequência do tempo, da intensidade e da área de exposição ao laser sobre a peça. Esses parâmetros são ajustados na LS100 pela velocidade do carro, pela potência do laser e pela distância focal e os valores obtidos empiricamente para os materiais de interesse no projeto são apresentados na Tabela 2. Vale ressaltar que para cortar as peças basta fazer um canal cuja profundidade seja igual ou maior que a espessura do substrato.

Tabela 2: Parâmetro de funcionamento da LS100 para diferentes ablações.

<i>Tipos de Ablações</i>	<i>Espessura da Placa (mm)</i>	<i>Potência (W)</i>	<i>Velocidade (mm·s⁻¹)</i>	<i>Distância Focal (mm)</i>	<i>Modo</i>
Cortes e furos	2	30	16	0	Vetorial
Cortes e furos	4	30	8	0	Vetorial
Cortes e furos	6	30	6	0	Vetorial
Canal de sistema em fluxo	-	30	14	-5	Vetorial
Rebaixo da eletrólise separada	-	12	20	-7	Raster
Canal da eletrólise separada	-	3	20	0	Vetorial
Rebaixo do eletrodo	-	15,9	10	-8	Vetorial

Além desses ajustes, a cortadora a laser possui três modos de ablação: *raster*, vetorial e pontilhado. Desses, apenas os dois primeiros foram utilizados. O modo *raster* é usado para desenhos cuja largura dos traços seja superior a 0,1 mm. Na Figura 5 está exemplificada uma ablação em forma de T nos três modos. No primeiro, o feixe do laser passa apenas uma vez sobre as duas retas do T. Já no modo *raster*, como a espessura do desenho é maior, o laser hachura a área correspondente à letra. A diferença entre os modos vetorial e pontilhado está na intermitência do fluxo do laser do último. A máxima velocidade no modo *raster* é de 1500 mm·s⁻¹ e no modo vetorial é de 200 mm·s⁻¹.

Figura 5: Ilustração dos modos de ablação vetorial, raster e pontilhado para um desenho em forma de T. A largura das linhas do T no desenho tem que ser superior a 0,1 mm no modo raster.

Ao se trabalhar com o laser deve-se levar em conta que no modo vetorial as larguras dos canais no substrato são diferentes das linhas desenhadas. O laser possui naturalmente um diâmetro de 0,127 mm. Outro aspecto importante é que ocorre uma remoção quase que total do material na forma de gases gerados pela decomposição térmica [102].

3.3 SELAGEM POR AQUECIMENTO SOB PRESSÃO

A selagem de dois blocos planos de PMMA foram feitas sob pressão em prensa térmica modelo HT3020 (Ferragini Design, São Paulo, SP, Brasil) com aquecimento de aproximadamente 110 °C durante 45 min. Em seguida, o aquecimento foi desligado e o sistema foi mantido sob pressão (aproximadamente 7,5 kgf.cm⁻²) por 1 h, para resfriar os dispositivos sem deformá-los. Entre a chapa da prensa térmica e as estruturas foram adicionadas mantas de borracha, para distribuir melhor a pressão e entre as mantas de borracha e o dispositivo, foi deixado o plástico protetor (Os fabricantes vendem chapas de acrílico com uma camada de

polietileno). O plástico mantém a superfície do substrato lisa e limpa durante a selagem.

A temperatura de selagem (110 °C) é próxima à temperatura de transição vítrea do acrílico de 120 °C. Nessa temperatura, as cadeias poliméricas começam a ganhar mobilidade promovendo uma melhor interação entre os materiais na interface. Testes mostraram que, após a selagem, os canais foram capazes de suportar uma pressão de 3,4 atm. Não foram testadas pressões maiores para prevenir acidentes. Contudo, esta pressão é quase 10 vezes maior que a capacidade de pressurização das bombas utilizadas nesse projeto (0,395 atm).

Um inconveniente desse procedimento é que o equipamento não possui um medidor de pressão (os valores foram estimados). Além disso, a prensa para PCB não é um item rotineiramente encontrado em laboratório de química analítica, tornando a reprodução mais restrita. Tentativas de selagens seguindo procedimento semelhante foram feitas, porém, em estufas e com placas de vidro como peso em substituição da prensa. As peças apresentavam bolhas aprisionadas entre a base e a tampa. Um dos prováveis motivos da ineficiência na selagem pode estar associado à forma de transmissão do calor e à programação de temperatura. A prensa HT3020, ao contrário das estufas, não é isolada termicamente e o aquecimento é feito em apenas uma superfície. Isso implica que o calor deve ser transmitido da superfície da placa de PCB até a interface das estruturas que se deseja selar, passando por mantas de borracha e pela primeira peça até a junção entre elas. Ou seja, pode haver um gradiente de temperatura e esta temperatura ser diferente da ajustada na prensa. Além disso, não se sabe como os fabricantes da prensa implementaram o controle de temperatura. Portanto, medir a temperatura na junção entre as peças pode auxiliar na elaboração de um método de selagens mais apropriado.

Um sensor de temperatura LM35 foi selado junto com um corpo de prova para determinar a temperatura na interface das peças de PMMA. Ele foi posicionado na interface oposta ao aquecimento. A temperatura foi monitorada com uma microcontroladora Arduino, coletando os valores a cada 30 s.

A temperatura da interface em função do tempo durante o procedimento de selagem está ilustrada na Figura 6. A linha vertical no meio do gráfico indica quando o aquecimento foi desligado.

Figura 6: Programa de aquecimento da interface de duas peças de PMMA durante a selagem. A linha vertical indica quando o aquecimento foi desligado.

Observa-se uma oscilação em torno de 1,5 °C de amplitude e que a temperatura máxima atingida foi de 106 °C, mesmo tendo sido ajustada para 110 °C. A oscilação se deve à forma como o controle de temperatura foi implementado pelo fabricante na qual a temperatura média é atingida ligando e desligando o

aquecimento da prensa. Quanto maior for o tempo de aquecimento em relação ao desligamento, maior será a temperatura e quanto menores forem os ciclos, menores serão as flutuações.

3.4 SELAGEM COM CLOROFÓRMIO

A selagem com clorofórmio foi executada por dois métodos: por imersão e por capilaridade. No primeiro procedimento, o lado que se deseja selar foi imerso no clorofórmio por cerca de 15 s. Então, a peça foi inclinada e deixado o excesso de clorofórmio escorrer. Em seguida, as peças foram posicionadas (com o auxílio de guias) e pressionadas com as mãos, por aproximadamente 2 min. Os guias de fixação eram agulhas de seringa sem as pontas perfurantes e os plásticos de engate na seringa (BD PrecisionGlide, Curitiba, Brasil). As agulhas possuíam diâmetro de 0,8 mm que atravessavam orifícios circulares de também 0,8 mm usinados nas peças.

No segundo procedimento, as peças são primeiramente posicionadas uma sobre a outra, e, em seguida, clorofórmio é adicionado na interface entre os dois blocos com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. O solvente se espalha para o interior do PMMA por capilaridade. No entanto, o avanço da capilaridade é limitado. Então, caso seja necessário selar peças maiores, é possível fazer furos estratégicos em uma das superfícies e adicionar mais solvente por eles.

Os microdispositivos com três camadas foram selados usando as duas estratégias: a de aquecimento sob pressão para as superfícies com os canais e a de adição de clorofórmio por capilaridade no restante.

3.5 SELAGEM COM COLAS

As tampas rosqueáveis dos reservatórios foram coladas com cola de acrílico S-330 (Central do Acrílico, Guarulhos, SP, Brasil) ou com cola epóxi Araldite Hobby (Brascola, Joinville, Santa Catarina, Brasil). Primeiramente, as tampas foram lixadas em toda parte externa, para aumentar a rugosidade e consequentemente melhorar a adesão. Em seguida, foi passado um pouco de cola na parte de cima da tampa e então posicionada no lugar apropriado. Uma vez feito isso, foi colocado uma nova quantidade de cola ao redor das tampas.

3.6 REMOÇÃO DE AGULHAS

Agulhas hipodérmicas foram usadas como suporte mecânico para as membranas, como guia para o alinhamento das peças durante a selagem e como eletrodo da eletroforese capilar.

Os encaixes de plástico das agulhas foram removidos para aproveitar toda extensão da parte metálica. Elas possuíam 300 µm de diâmetro externo com 13 mm de comprimento com a parte plástica e 19 mm sem (30 G ½, BD - Becton, Dickinson and Company, Curitiba, Brasil). As agulhas foram aquecidas com o auxílio de um soprador térmico (RS, HG-GW 2000A) até o amolecimento do polímero, seguido de remoção do plástico com o auxílio de dois alicates sem corte.

O restante das agulhas tinha 0,8 mm de diâmetro externo e 30 mm de comprimento (21 G 1 ½, Descarpac Descartáveis do Brasil, Itajaí, Santa Catarina, Brasil). Essas foram cortadas com alicate para a separação do encaixe polimérico.

Todas as pontas perfurantes das agulhas foram levemente lixadas para remoção do corte.

3.7 FEITURA DAS ROSCAS

Em muitas situações, houve a necessidade de se fazer roscas nas chapas de PMMA. Em tal caso, foram utilizados machos e furadeira manual. Inicialmente, os orifícios eram feitos na cortadora a laser quando as roscas eram ortogonais à superfície da chapa ou com a furadeira quando os furos eram ortogonais às laterais das chapas. Adicionalmente, no último caso, pode-se fazer marcações a laser próximas às laterais dos cortes para indicar o local onde os furos devem ser feitos. Esses furos foram feitos com diâmetros 0,5 mm menores que o diâmetro do parafuso. Posteriormente, as roscas eram feitas com os machos com auxílio da furadeira seguindo a sequência de machos indicado pelo fabricante.

3.8 MONTAGEM DOS CIRCUITOS ELETRÔNICOS

Os circuitos eletrônicos foram montados sobre uma placa de cobre contendo trilhas que os interconectavam. A confecção dessas placas envolveu algumas etapas. Primeiramente, foram determinados quais componentes eletrônicos fariam parte do projeto e como eles estariam interconectados. Em seguida, era feito o planejamento da disposição espacial desses componentes sobre a placa de circuito impresso e o desenho das trilhas. A partir de uma placa de circuito impresso

recoberto com cobre, parte do metal era removido para que o desenho das trilhas fossem formadas (Figura 7 à esquerda). Em seguida, furações na placa foram feitas para o encaixe dos componentes e soldagem dos componentes.

Figura 7: Fotos por cima e por baixo de uma placa de circuito impresso. À esquerda, foto das trilhas de cobre formadas após a corrosão das partes expostas ao banho de cloreto de ferro III. À direita, foto do toner transferido com os desenhos dos componentes eletrônicos para facilitar seus posicionamentos na etapa de soldagem.

As etapas de planejamento foram realizadas com o auxílio do software *Eagle* (CadSoft Computer GmbH, Pleiskirchen, Alemanha). Terminado o projeto, as placas de cobre foram corroídas com solução de FeCl_3 . Para que o oxidante atacasse somente as partes específicas, foi feita uma máscara sobre a superfície do cobre. Esta máscara é feita com toner. A imagem espelhada da máscara foi impressa no verso de um papel de adesivo, por ser menos aderente. Então, o papel foi colocado contra a superfície de cobre, previamente limpa e polida com uma esponja abrasiva para a remoção de gordura e de óxido de cobre, respectivamente. O óxido de cobre passiva a superfície dificultando a corrosão. A transferência do toner para o cobre foi

feita por aquecimento na prensa térmica (HT3020) a 120 °C por um minuto. Em seguida, a remoção do papel sobre o cobre foi feita cuidadosamente para que o toner ficasse retido na superfície do cobre. Feito isso, a placa foi imersa na solução corrosiva de cloreto de ferro III. A placa permanecia submersa sob agitação até a remoção do cobre nas regiões desprotegidas.

É recomendável fazer todo este processo de uma vez para que a superfície do cobre não volte a se oxidar.

Após a corrosão, o circuito impresso foi lavado e, mais uma vez, foi submetido ao processo de transferência de toner a quente, mas do lado inverso com as informações dos componentes eletrônicos. Isso facilita no momento da soldagem (Figura 7).

Feito isso, a parte com toner sobre o cobre foi lixada com a esponja abrasiva. Nessa etapa não é recomendado o uso de esponjas de aço. Elas podem aderir nas trilhas formando curto-circuitos. Então, um verniz (Isotec, Implastec, Votorantim, SP, Brasil) foi aplicado em ambos os lados para impedir a oxidação do cobre e proteger as marcações do outro lado. Por fim, os furos foram feitos com um furadeira manual com brocas de 0,7 mm, seguido de soldagem com solda de Sn/Pb (63%/37%) (Solda Best modelo 183MSX 08, Alent Brasil Soldas, Manaus, AM, Brasil) com o ferro de solda próximo a 200 °C visto que o ponto de fusão da solda é 183 °C.

4 CONSTRUÇÃO DO EQUIPAMENTO DE ELETROFORESE CAPILAR

A presente tese está voltada à demonstração da viabilidade e adequação da utilização de estruturas híbridas (capilar/microchip) para a implementação de sistemas analíticos. Assim, será descrito o sistema analítico denominado AirCE, que se presta à amostragem do ar, nas imediações do instrumento, e posterior análise dos componentes voláteis por eletroforese capilar.

Neste capítulo, está descrita a construção do AirCE. Primeiramente, será mostrada uma visão geral do equipamento. Em seguida, será apresentada a montagem de suas partes eletrônicas e estruturais. Como este instrumento foi criado com o objetivo de equipar um robô para pesquisas de campo, o mesmo será apresentado no próximo capítulo. Posteriormente, serão apresentados os resultados e uma discussão detalhada dos avanços conseguidos com as técnicas empregadas.

4.1 CONSTRUÇÃO DO EQUIPAMENTO DE ELETROFORESE CAPILAR COM SISTEMA COLETOR DE GÁS ACOPLADO

O AirCE é um equipamento de eletroforese capilar hifenizado com um sistema de coleta de gases. A saída do coletor de gás foi diretamente conectada à entrada do sistema de eletroforese capilar. Na figura 8 é mostrado o diagrama de blocos geral do AirCE dividido em três partes. O primeiro bloco é o sistema de amostragem, que contém os seguintes elementos: reservatório, descarte, eletrodo da baixa voltagem, eletrólise separada, membrana de amostragem, bombas e válvulas. O segundo é o bloco da eletroforese contendo: capilar de sílica fundida, sistema de

termostatização e detector. O terceiro é o bloco da alta-tensão, com bombas, eletrodo da alta-tensão, eletrólise separada, reservatório e descarte.

Figura 8: Diagrama de blocos do equipamento de eletroforese capilar desenvolvido.

O coletor de gás é o principal constituinte do bloco da baixa tensão. Ele contém uma membrana tubular por onde os analitos gasosos permeiam para seu interior. Um eletrólito de suporte no interior das membranas solubiliza os gases permeados. O mesmo eletrólito de suporte preenche também o capilar de sílica fundida e todos os canais do microchip. Depois de passado o tempo de coleta, o eletrólito, junto com a amostra, é mobilizado até a entrada do capilar de sílica fundida para posterior injeção, separação e detecção. A mobilização da amostra é induzida pelo aumento da pressão no reservatório impulsionado por uma bomba de ar. No bloco, há também a eletrólise separada na qual está representada pelos dois círculos azuis na figura 8. Ao final do capilar foi colocado o bloco da alta-tensão que possui os mesmos componentes menos a válvula de descarte e a membrana.

O bloco da baixa e da alta-tensão foram confeccionados em PMMA (Central do Acrílico LTDA, Guarulhos, SP, Brasil). Para a construção do coletor de gás foi usada a membrana cilíndrica de polipropileno Oxyphan PP50/200 (Membrana GmbH, Wuppertal, Alemanha). Os canais foram feitos pelo método de ablação a laser de CO₂. O sistema propulsor dos eletrólitos e analitos foram montados com duas bombas de pressurização de ar modelo KPM12C (Xiamen Koge Micro Tech, Xiamen, China) que opera a 3,0 V com máxima corrente de 460 mA e máxima pressão de 350 mmHg e duas válvulas solenóide para ar modelo KSV05A (Xiamen Koge Micro Tech, Xiamen, China) que opera a 3 Vdc e 75 mA e vazamento máximo de 3 mmHg · min⁻¹ num tanque de 100 cc a 300 mmHg. Também foram utilizados capilar de sílica fundida de 75 µm de d.i., 360 µm de d.e. e 43,3 cm de comprimento revestido com poliimida (Polymicro Technologies, modelo tsp075375, Phoenix, AZ, EUA) e recipientes de vidro de 8 mL com tampa rosqueável foram utilizadas como reservatórios. *O-rings* de neoprene foram utilizados entre o vidro e a tampa para evitar vazamentos de ar.

4.2 FABRICAÇÃO DO MICROCHIP

Os desenhos usados para promover o corte e a ablação a laser estão representados na figura 9. O substrato utilizado foi sempre PMMA. A partir das chapas de PMMA usinadas, foram construídos o bloco da baixa e da alta-tensão. Cada bloco continha três camadas de PMMA, aqui chamados de tampa, base e camada de fixação. As duas primeiras camadas continham a microfluídica. A última

camada foi adicionada para melhorar a fixação mecânica dos reservatórios, descartes, fios dos eletrodos e tubulações do pressurizador.

Figura 9: Desenhos das diferentes camadas dos microchips. Cada cor indica um parâmetro da ablação. A cor laranja foi a única ajustada para cortar as peças de acrílico. Nas demais cores foram feitas apenas ablações micrométricas, como descrito adiante. A tampa e a base possuíam 3 mm de espessura e a camada de fixação 6 mm. O modo de ablação *raster* foi utilizado apenas para a cor vermelha o restante foi utilizado o modo vetorial.

A tampa e a base foram seladas termicamente sob pressão. Já a camada de fixação era colada por último e com clorofórmio. Porém, antes da selagem, eram feitas roscas no bloco de fixação como descrito no tópico 3.7 FEITURA DAS ROSCAS na página 43. Nessas roscas foram colocados os prendedores dos cabos de alta-tensão e das tubulações de pressão.

Os desenhos dos microchips com as camadas sobrepostas são mostrados na figura 10. A tampa foi colada por cima, a base do microchip é a camada intermediária e a camada de fixação foi colocada embaixo (em cinza no desenho). Os desenhos em roxo são as representações das peças adicionadas no microchip, como: encaixe para o tubo da bomba pressurizadora de ar (A), reservatórios (B), descartes (C), encaixe para os fios da fonte de alta-tensão (D), eletrodos da fonte de alta-tensão (E), eletrólises separadas (F), septos por onde o capilar da eletroforese foram fixados (G), membrana (H), encaixe da membrana (I), servomotor (J) e local de encaixe da borracha da válvula do descarte (K). Todas as peças foram fixadas por baixo nos microchips com exceção do septo que atravessava o microdispositivo e do capilar que entrava pelas laterais dos microchips (L). Nesta figura, estão em vermelho, azul-claro e azul-escuro, respectivamente, o canal da microfluídica, o canal preenchido com ar pressurizado e o canal aberto ao ambiente externo para aliviar a pressão.

Figura 10: Desenhos dos microchips montados, visto por cima e próximo ao tamanho real (erro de ± 3 mm). Os desenhos das peças adicionadas estão em roxo. (A) encaixe para o tubo da bomba de ar. (B) reservatório. (C) descarte. (D) encaixe para os fios da fonte de alta-tensão. (E) eletrodos da fonte de alta-tensão. (F) eletrólise separada. (G) septos por onde o capilar da eletroforese é fixado. (H) membrana. (I) encaixe da membrana. (J) servomotor r. (K) local da válvula do descarte. (L) capilar de Sílica Fundida. A camada de fixação está representada em cinza, os limites da base do microchip é o retângulo maior em preto e os limites da tampa estão representados por um retângulo verde.

4.3 ELETRÓLISE SEPARADA PARA SISTEMAS EM MICROCHIP

Para reproduzir o conceito de eletrólise separada em microchip, foram feitos círculos largos conectados entre si por um canal estreito, os quais são representados na figura 9 da página 51 pelos círculos em vermelho cortados por uma linha preta. Os círculos foram feitos com o modo de funcionamento *raster* e os canais, no modo vetorial. Os círculos possuem 4,0 mm de diâmetro e foram rebaixados até aproximadamente 450 μm . O canal que os corta possui a largura de 200 μm e profundidade média de 430 μm .

4.4 ELETRODOS DO AirCE

Agulhas hipodérmicas foram utilizadas como eletrodos de alta e baixa tensão no AirCE. O contato elétrico entre os cabos da fonte de alta-tensão e as agulhas foram feitas com conectores do tipo banana. As agulhas foram soldadas nos pinos bananas por dois métodos. No primeiro, a solda de Sn/Pb era fundida na ponta do ferro de solda. Em seguida, a ponta da agulha hipodérmica era colocada na solda fundida e, rapidamente, o êmbolo da seringa era puxado fazendo com que a solda entrasse cerca de 0,5 cm para dentro da cânula. Então, de três a quatro fio de cobre eram introduzidos no interior da agulha (Figura 11) até atingir a solda interna. Posteriormente, o cobre era estanhado com bastante solda. O calor refundia a solda dentro da agulha no cobre. Quando a solda esfriava a agulha era separada da parte plástica. Esse método garantiu uma boa fixação do cobre na agulha.

Figura 11: Procedimento de soldagem de agulhas hipodérmicas de aço inox com fios de cobre. Inicialmente a solda fundida era sugada para dentro da agulha. Depois, fios de cobre eram colocados dentro da agulha. Com um ferro de solda e mais solda o conjunto era aquecido até refundir a solda interna na agulha no cobre. Após isso, a agulha era cortada.

O segundo procedimento consistia em mergulhar a solda numa solução de ácido fosfórico por 5 s. Depois de retirado o excesso de ácido da solda, a soldagem era realizada normalmente: o fio de cobre e a agulha eram posicionados e aquecidos pelo ferro de solda, em seguida, a solda era adicionada na junção até a fusão dela. Isso garantia uma solda permanente entre os dois materiais.

Terminada a soldagem, os eletrodos eram posicionados nos respectivos lugares nos microchips e cola de acrílico era colocada em alguns pontos para impedir vazamento de eletrólito por entre os canais e as agulhas. Posteriormente, as selagens das três camadas eram realizadas. Depois de selado, as outras pontas dos fios de cobre eram soldadas num conector fêmea do tipo banana sem a parte plástica, para diminuir a largura, e desbastada, para reduzir a altura (Figura 12).

Figura 12: À esquerda, foto dos conectores do tipo banana. (a) e (b) conectores com os plásticos, (c) e (d) sem eles. Sendo, os conectores (a) e (c) do tipo macho e (b) e (d) do tipo fêmea. Também é mostrado o conector (c) soldado no fio de baixa tensão da fonte. À direita, detalhe do eletrodo colocado no microchip. (e) e (f) círculos e canal da eletrólise separada. (g) canal. (h) Agulha utilizada como eletrodo posicionada no microchip.

Logo após, o pino banana era colado na base do microdispositivo e fixado com cola de acrílico ou com cola epóxi Araldite Hobby. Então, o prensa cabo era rosqueado em seu lugar com a cola ainda fresca (Figura 13).

Figura 13: À esquerda, foto do conector do tipo fêmea colado no microchip. À direita, foto do microchip com o prensa cabo posicionado.

Um tubo de silicone era colocado dentro do prensa cabo para melhorar a vedação. Esse tubo envolvia tanto o pino banana fêmea quanto o cabo da fonte de alta-tensão.

4.5 ACOPLAMENTO DO CAPILAR E DAS AGULHAS NO MICRODISPOSITIVO

Nesta seção, será mostrada a metodologia empregada para imobilizar o capilar de sílica fundida e agulhas no microchip.

Septos de silicone 8320 (silicone RTV 8320, Avipol Comércio LTDA, São Paulo, SP, Brasil) foram feitos e empregados em dois modos de fixação. No primeiro método, foi usado um septo inteiriço com um orifício por onde o capilar passava. No segundo, o capilar era prensado entre dois discos de silicone.

No primeiro método, foi feita uma abertura que atravessava todo o microchip e atingia ortogonalmente o canal, formando, assim, uma cruz. Então, uma borracha era colocada pela abertura para obstruir o canal transversalmente. O capilar de sílica fundida era introduzido através de um furo na borracha até atingir, coaxialmente, o canal. O furo na borracha tinha o mesmo diâmetro do capilar (360 μm) e, para mantê-lo alinhado com o canal, a parte superior da abertura e da borracha eram maiores e suas geometrias eram cúbicas e a inferior eram cilíndricas, formando um T. As abas do T faziam com que o furo e o canal se alinhasse automaticamente na vertical enquanto que o cubo na horizontal (Figura 14 X).

A segunda estratégia é semelhante à primeira, mas ao invés do capilar passar através do orifício num septo inteiriço, ele era, primeiramente, colocado no local e depois prensado entre dois discos de silicone (Figura 14 Y).

A Figura 14 exemplifica o exposto: Nos desenhos X e Y, o microchip é mostrado de frente com todas as suas partes (parafuso, septo e prensa) desmontadas. Em Z e em W é mostrado o microchip montado, porém em Z, ele é visualizado de lado. Acompanhando a Figura 14 Z, é possível ver o capilar (g) atravessado no septo (c) até o canal (f). A vedação era efetivada quando o septo era pressionado por cima e por baixo por duas prensas de acrílico (“b” e “e”). As prensas de acrílico acessavam o septo pela mesma abertura feitas no microchip. Ao pressionar o septo, ele se expandia vedando o canal e fixando o capilar.

Figura 14: (X e Y) desenhos explodidos dos dois modos de fixação do capilar de sílica fundida e das agulhas no microdispositivo: com o septo inteiro e com o septo dividido em duas partes, respectivamente. (Z e W) desenhos dos microchips fechados de lado e de frente, respectivamente. (a) parafuso, (b) prensa superior, (c) septo, (d) microchip, (e) prensa inferior, (f) canal no microchip e (g) capilar de sílica fundida.

Moldes de acrílico foram feitos na cortadora a laser para polimerizar o silicone na forma desejada. Antes da polimerização, capilares de sílica fundida eram imobilizadas nesses moldes para formar os orifícios dos septos.

O septo deveria ser pressionado por cima e por baixo simultaneamente e com a mesma pressão. Caso contrário, o capilar era quebrado. Assim sendo, as prensas de acrílico foram parafusadas entre si, mas solta da estrutura do microchip. A rosca do parafuso passava por buracos na prensa de cima e no microchip sem sofrer atrito, mas na prensa de baixo, ela era rosqueada. Quando o parafuso era rosqueado, a prensa de cima descia, simultaneamente, enquanto a de baixo subia. A rosca foi feita diretamente na peça.

4.6 MODOS DE FIXAÇÃO DA MEMBRANA TUBULAR

Três formas de imobilizar membranas cilíndricas de polipropileno foram testadas: (1) colando a membrana diretamente no microchip, (2) introduzindo uma agulha hipodérmica dentro da membrana e (3) com um tubo de silicone ao redor de uma agulha hipodérmica e do Oxyphan. Deve-se levar em conta que o Oxyphan é um tubo extremamente frágil, não suporta torções, estiramentos e sua deformação não é elástica.

No primeiro método de fixação, as membranas foram coladas diretamente no substrato, num corpo de prova feito em PMMA. Ele tinha 8,5 cm x 10 cm e possuía duas partes: a base e a tampa. Primeiramente, as membranas foram cortadas com 3,5 cm de comprimento com o auxílio de um bisturi afiado, para não colapsar as paredes do Oxyphan. Logo após, as membranas foram coladas na base do corpo de prova aproximadamente 2 mm das pontas do Oxyphan, como indicado na Figura 15 pelas letras “f” e “g”. Elas foram coladas com gotas de verniz a base de acrílico (Suvinil, São Bernardo do Campo, Brasil) ou com cola de acrílico S-330 (Central do Acrílico LTDA, Guarulhos, SP, Brasil). Não é aconselhado usar colas a base de cianoacrilato, uma vez que ela entra no canal por capilaridade e o entope. Após a secagem, a tampa foi posicionada e o conjunto foi submetido ao processo de selagem por aquecimento sob pressão como explicado na página 38.

Figura 15: Fotos do corpo de prova da mobilização da membrana por adesão com verniz à base de acrílico. À direita, detalhe da parte central do corpo de prova. (a) orifício de entrada. (b) canal em forma de semicírculo. (c) Uma das dez membranas. (d) canal central. (e) orifício de saída. (f e g) pequenos círculos e semicírculo para a adição da cola.

No segundo método, uma agulha hipodérmica foi introduzida dentro do Oxyphan para conferir uma melhor resistência mecânica e, assim, suportar a pressão feita pelo septo. A figura 16 A mostra um protótipo de microdispositivo e 30 cm de Oxyphan dentro de um cartucho. Duas agulhas hipodérmicas⁴ com 0,3 mm de diâmetro externo e 13 mm de comprimento foram introduzidas dentro cada uma das pontas do Oxyphan até 3 mm, aproximadamente (Figura 16 B). Em seguida, o cartucho era fechado, imobilizando a membrana dentro, e colado com cola de cianoacrilato *Super Bonder*, dado que, com essa cola, era possível abrir o cartucho sem danificá-lo. O processo de fixação das agulhas hipodérmicas no microchip segue o mesmo raciocínio do método de fixação de capilares de sílica fundida descritos na seção anterior, por isso, será omitido.

⁴ As partes plásticas da agulha foram removidas como descrito na página 42.

Figura 16: À esquerda, foto do microchip e o do cartucho com o 30 cm de Oxyphan. À direita, detalhe da agulha de 300 μm diâmetro externo dentro do Oxyphan de 200 μm de diâmetro interno. A pressão gerada pelo alargamento da membrana foi suficiente para vedar a junção.

É relativamente difícil manter o Oxyphan enrolado repentinamente sobre si mesmo para colocá-lo dentro do cartucho, ele tende a se manter originalmente esticado. Porém, com o passar do tempo, ele adquire a geometria desejada. Então, antes de adicionar as agulhas dentro do Oxyphan, ele era enrolado num parafuso e deixado em repouso por uma hora. Se ele for deixado por mais de 12 h, ele assume a forma helicoidal como mostrado na figura 17. Se ele é deixado por menos tempo, ele adquire uma forma intermediária. O sulco do parafuso ajuda a manter o Oxyphan delicadamente imobilizado, facilmente organizado e com os círculos uniformes.

Figura 17: Foto do procedimento para tornar o Oxyphan helicoidal. O Oxyphan tende a manter a forma original esticada. Então, ele foi deixado por mais de 12 h enrolado no parafuso para, assim, adquirir a forma desejada. À direita, foto do Oxyphan e com as agulhas.

O terceiro modo de fixação do Oxyphan em agulhas foi baseado nos trabalhos anteriores de Coelho *et. al.* [103, 104]. Nele, um tubo de Tygon (Cole-Parmer, Lake Country, IL, USA) com diâmetro interno de 380 μm foi adicionado externamente à membrana e à agulha. Primeiramente, um fio de cobre com aproximadamente 100 μm de diâmetro foi colocado cerca de 2 cm dentro do Oxyphan para lhe conferir resistência mecânica na hora de introduzi-lo dentro do tubo de Tygon (Figura 18 A). Após a introdução do Oxyphan dentro do Tygon (Figura 18 B), o fio era removido (Figuras 18C e D). Nessa montagem, as agulhas foram fixadas permanentemente no microdispositivo, para diminuir a complexidade do dispositivo removendo os septos e reduzindo o tamanho.

Figura 18: Método de fixação do Oxyphan com tubo de Tygon externo. (A) Fio de cobre dentro da membrana, para torná-la mais resistente no momento da introdução no silicone. (B) Fio e membrana dentro do silicone. (C) somente a membrana e o silicone. (D) Detalhe da junção Oxyphan e silicone.

4.7 VÁLVULA SERVOMOTOR

As principais peças da válvula, que foi criada usando um servomotor modelo TG9 (Turnigy, Hong Kong), são mostradas na Figura 19. As laterais hexagonais da borracha (f) são maiores que o cilindro central. O hexágono garante que a solução não vaze pelas laterais e o cilindro obstrui saída do líquido de dentro do canal. A peça de acrílico em g envolve a porca (h) e se encaixa no microchip impedindo que a porca gire. Além disso, ele é empurrado pela prensa de acrílico (c) contra a

borracha, efetivando, assim, a vedação. A borracha muda ligeiramente de cor quando pressionada contra o acrílico, por essa razão, o ponto de vedação do hexágono é observável a olho nu.

Figura 19: Desenho da válvula servomotor visto de lado e fotos das diferentes peças. (a) canais microfluídicos. (b) microchip. (c) prensa de acrílico. (d) parafuso. (e) servomotor r (f) septo de silicone. (g) hexágono de acrílico. (h) porca. (i) adaptador entre o servomotor e o parafuso. O sistema de fixação do servomotor foram omitidos, assim como, os três parafusos da prensa de acrílico. À direita, Fotos peças das válvulas vistas por cima, com exceção do parafuso e do servomotor que estão de lado.

A borracha foi feita polimerizando o silicone 8320 num molde de acrílico feito com o auxílio da cortadora a laser.

Na Figura 20, há fotos da válvula baseada em servomotor construída e um desenho para melhor entendimento das fotos. O desenho indica a região por baixo do microchip onde as fotos e, f e g foram tiradas. O hexágono em b aponta o local onde a borracha foi acomodada. Os dois círculos dentro do hexágono no microchip (e) dão acesso aos canais cujo círculo mais ao centro era obstruído pela borracha

quando desejado. Fotos do hexágono do microchip com e sem a borracha são mostradas em (e) e em (f), respectivamente. O parafuso e a placa de acrílico fixados no local são mostrados em g. O servomotor junto com seu suporte de fixação aparecem na foto h. O sistema completo no microchip é exibido na figura 20 letra d.

Figura 20: Desenho e fotos da válvula baseada em servomotor. O desenho destaca a região do microchip onde as fotos e, f e g foram tiradas. (a) local de colocação do parafuso de fixação do servomotor. (b) hexágono para colocação do silicone. (c) Furos para a fixação da prensa de acrílico. (d) foto do servomotor preso no microchip, vista de lado. (e) e (f) fotos sem e com o silicone de vedação, respectivamente. (g) foto da prensa de acrílico e parafuso encaixados no lugar. (h) Foto do servomotor e sua estrutura de fixação.

4.8 ELETRÔNICA DO AirCE

Nesta seção, está descrita a construção de todo o sistema eletrônico do AirCE⁵. O equipamento possui três placas eletrônicas: a placa com o sistema de termostatização, a placa principal e a placa de controle do detector

4.8.1 PLACA DE TERMOSTATIZAÇÃO

Um elemento Peltier foi utilizado para aquecer ou esfriar o equipamento de eletroforese. Ele é um componente eletrônico em forma de paralelepípedo de 50 x 50 x 4,2 mm (Danvic, São Paulo, Brasil), como mostrado na Figura 21.

⁵ A eletrônica do AirCE foi projetada em conjunto com o Dr. Carlos A. Neves e o Dr. Claudimir L. do Lago. Já o aluno Thiago Garcia e o Dr. Denis Tadeu Rajh Vidal contribuíram com a execução de parte da placa de termostatização e do detector, respectivamente.

Figura 21: Foto de um elemento Peltier (50 mm²). Ele foi usado como aquecedor ou refrigerador do AirCE. Suporta 60 W, máxima tensão de 15 V, máxima corrente de 12 A e máxima diferença de temperatura entre os lados 68 °C.

A polaridade de alimentação do elemento Peltier deve ser reversível para que ele comute entre aquecimento e refrigeração. Para isso, uma ponte H foi construída (Figura 22). Ela possui optoacopladores (TIL191) para o isolamento elétrico, transistores (IRF4905 e IRFZ44E) como chaves e o transistor (BC547) para ligar e desligar o sistema. As portas lógicas em A3 e A4 na figura não foram soldadas diretamente na placa de termostatização, mas sim na placa principal. Elas foram colocadas no esquema eletrônico apenas para facilitar o entendimento.

A figura 23 mostra uma foto da placa de termostatização vista por cima. Em destaque, estão os transistores (a), conector para a alimentação da placa (b) conector para a alimentação do elemento Peltier, optoacopladores (d) e o cabo através do qual a placa é controlada (e). Esta placa é alimentada com 12 V diretamente da fonte de alimentação do AirCE (não pela fonte miniATX).

Figura 23: Foto, vista por cima, da placa de termostatização (76 x 90 mm). (a) transistores. (b) conector para a alimentação da placa. (c) conector para a alimentação do Peltier. (d) optoacopladores. (e) cabo de comunicação com a placa principal do AirCE.

A intensidade de corrente consumida pelo Peltier pode ocasionar superaquecimento em trilhas muito estreitas. As trilhas de cobre por onde passam altas correntes possuem largura de 1,7 mm e profundidade de 35 μm . Tendo isso em vista, elas foram reforçadas adicionando excesso de solda por toda sua extensão visando aumentar sua seção, diminuindo assim, a resistência elétrica.

4.8.2 PLACA ELETRÔNICA PRINCIPAL

A placa principal contém a maior parte dos componentes eletrônicos do AirCE: a eletrônica de acionamento das válvulas, das bombas, da ventoinha, da válvula servomotor, da fonte de alta-tensão e parte da eletrônica do sistema de

termostatização. Além disso, ela contém uma microcontroladora Teensy 2.0 (PJRC, Sherwood, OR, USA) que gerencia todo o sistema.

O esquema eletrônico da placa é mostrada na Figura 24. A placa é alimentada com 12 V e 3,3 V pela fonte miniATX, e a microcontroladora é alimentada com 5 V via USB com possibilidade de ser alimentada também pela fonte miniATX ao fechar a conexão JP4 (Figura 24 C6).

O servomotor foi alimentado com 5 V diretamente pela placa principal. E a linha de ajuste do ângulo de rotação foi diretamente conectada à saída digital PWM⁶ do Teensy (Figura 24 E5).

Um sensor de temperatura modelo MCP9803M (Microchip Technology Inc., Chandler, Arizona, USA) foi utilizado para, além de determinar a temperatura, retroalimentar o sistema de termostatização (Figura 24 A4). Ele se comunica com o Teensy por I²C, tem a resolução de 9 a 12 bits, consome 200μA em operação e é alimentado com 5 V.

A fonte de alta tensão (modelo 30A12P4-STD, Ultravolt, Long Island, NY, USA) está representada em A2. Ela possui 9 pinos que são respectivamente: o terra da alimentação, a alimentação com 12 V, o sensor interno de corrente, o pino para habilitar e desabilitar a alta-tensão, o terra do sensor de corrente e/ou do ajuste de potencial, o pino de ajuste de potencial, potencial de referência de 5 V, terra de retorno da fonte de alta-tensão e sensor de voltagem. A função de cada um desses pinos está comentada no capítulo Resultados e Discussões página 105.

As leituras de corrente da fonte de alta-tensão e corrente da eletroforese capilar foram realizadas com amplificadores operacionais OPA2735 (Figura 24 B3 e C4 respectivamente).

⁶ Na página 110 há uma breve introdução sobre o PWM.

As portas lógicas inversora com *Schmitt Trigger* (74HTC14D) foram usadas para permitir a inversão da polaridade de alimentação do elemento Peltier sem o risco de conflito (Figura 24 D7 e E7). As portas lógicas 5 e 9 do 74HTC14D não foram utilizadas, por isso, foram aterradas.

As válvulas, bombas de ar e ventoinha eram acionadas por transistores do tipo TIP122 (Figura 24 E1, E2, E3, e E4). Eles foram alimentados com 3,3 V diretamente da fonte miniATX.

Um regulador de voltagem LM7805 (Figura 24 D3) foi utilizado para reduzir os 12 V da alimentação em 5 V para alimentar o servomotor, o sensor de temperatura, as portas lógicas inversoras e os optoacopladores da placa de termostatização.

A placa também contém: filtros para o ruído proveniente da alimentação (D2), conectores (C8 e D8) ligados às portas lógicas e conectores (A6) diretamente ligados ao Teensy para possibilitar expansões futuras.

Figura 24: Esquema eletrônico da placa principal.

Duas fotos tiradas por cima da placa principal do AirCE são mostradas na Figura 25 com e sem a fonte de alta-tensão (A) para melhor visualização dos componentes. Nas fotos são mostradas: a placa principal (B); conector de alimentação do AirCE (D), do qual parte a alimentação para a fonte miniATX (C) e para a placa de termostatização; os conectores da fonte de alta-tensão são mostrados em E; o retorno da fonte de alta-tensão (F); o conector de comunicação do sensor de temperatura (G); a microcontroladora Teensy (H); cabos das bombas, válvulas e servomotor (I) e o cabo de comunicação com a placa de termostatização (J).

Figura 25: Foto por cima da placa de principal do AirCE com (a esquerda) e sem (a direita) a fonte de alta-tensão. (A) fonte de alta-tensão, (B) placa principal, (C) fonte miniATX, (D) conector de alimentação do AirCE, (E) conector dos pinos da fonte de alta-tensão, (F) cabo de retorno da baixa tensão (G) conector do sensor de temperatura, (H) Teensy, (I) cabos das bombas, válvulas e servomotor, (J) cabo de controle do sistema de termostatização (Figura 22).

4.9 DETECTOR

Nesse projeto, foi montado um detector do tipo C⁴D [105–111] e sua placa de controle. A placa de controle possui uma microcontroladora dedicada (Teensy 2.0), e funciona independentemente do restante do equipamento. Ela foi ligada diretamente no computador via porta USB e alimentada com 12 V pela fonte miniATX. A placa de detecção foi projetada para controlar até 4 detectores C⁴Ds e duas Marcas Térmicas [85, 86]. A placa de controle possui 90 mm x 40 mm e o detector 21 mm x 30 mm x 13 mm.

O C⁴D foi projetado por Francisco [106] em seu trabalho de mestrado e a placa de controle foi desenvolvida por Dr. Carlos A. Neves e Claudimir L. do Lago. O detector possui dois eletrodos⁷ tubulares por onde o capilar de sílica fundida atravessa. Os anéis possuem 400 µm de diâmetro interno e estão separados por uma distância de aproximadamente 0,5 mm. O detector é alimentado com 9 V proveniente da placa de controle⁸.

Tanto o detector como a placa controladora estão ilustradas nas fotos da Figura 26.

⁷ O AirCE possui dois pares de eletrodos: os eletrodos do detector e os do CE.

⁸ Apesar da placa ser alimentada com 9 V, a eletrônica interna dela funciona com 5 V. Ao regular para 5 V o sinal é filtrado eliminando, assim, ruído da alimentação.

Figura 26: Fotos da placa de controle do detector à esquerda (9 cm X 4 cm) e o detector condutométrico sem contato 21 mm X 30 x 13 mm.

4.10 PROGRAMA DE INTERFACE COM O USUÁRIO

O AirCE foi projetado para ser controlado remotamente, o que implicou na elaboração de dois tipos de programas: um para rodar junto com o equipamento e outro para funcionar perto do usuário. Esses softwares foram feitos pelo prof. Dr. Claudimir L. do Lago dentro de outro projeto de modularizar os equipamentos feitos pelo grupo.

Os programas de comunicação do detector e do AirCE foram feitos em Java e o programa junto ao usuário foi desenvolvido em Java/Swing. Eles se comunicam via *socket* pela internet após informar o IP e a porta das máquinas.

4.11 ESTRUTURA MECÂNICA DO AirCE

Uma estrutura foi construída para acomodar e proteger todos os componentes descritos acima, levando-se em conta a necessidade de manutenção, a remoção de calor do Peltier e a segurança. O módulo eletrônico foi posicionado numa região do equipamento que o protege de respingos de líquidos provenientes da eletroforese capilar. O circuito por onde passa correntes elevadas foi isolado de outras partes eletrônicas e do usuário.

A foto da figura 27 mostra o equipamento por trás com a tampa traseira abaixada. A placa principal e a fonte miniATX foram colocadas nessa tampa. O dissipador de calor foi posto no centro do equipamento, ao lado esquerdo dele, a placa de termostatização e, em baixo, as bombas e válvulas.

Figura 27: Foto da parte de trás do equipamento com a tampa traseira aberta. A placa eletrônica principal e a fonte miniATX ficam fixadas nessa tampa. Dentro e no centro do equipamento está o dissipador de calor do Peltier. Nem o Peltier e o isolamento estão na montagem. Ao lado esquerdo, está a placa do termostatizador.

A eficiência da refrigeração do elemento Peltier é aumentada se o calor gerado do outro lado da pastilha for removido. Para isso, um dissipador de calor com ventoinha foi colocado em baixo do Peltier. A ventoinha foi alimentada com 12 V diretamente da fonte miniATX. Um bloco de alumínio plano e liso foi empregado para ampliar a troca de calor entre o capilar e o Peltier. Suas dimensões são de 175 mm x 60 mm x 6 mm. Pasta térmica foi adicionada entre o dissipador de calor e o Peltier e entre ele e o bloco de alumínio para melhorar a transmissão térmica. O bloco também contribuiu com a sustentação mecânica do equipamento. Além disso, ele foi aterrado garantindo estabilidade ao fluxo eletrosmótico [112] e protegendo o detector de fugas de alta-tensão, visto que o detector foi adicionado através de um recorte feito no bloco.

Na figura 28 há fotos, tiradas por cima, do equipamento com e sem o bloco de alumínio. O elemento Peltier é o quadrado branco no centro da foto à esquerda (c). Embaixo dele, o dissipador de calor de cobre (a) e ao redor, em marrom (b), peças de isopor para o isolamento térmico. Os locais reservados para o detector e o sensor de temperatura estão indicados pelas letras “d” e “e”, respectivamente. O sensor de temperatura foi colocado embaixo e em contato do bloco de alumínio (g). Em “f”, são mostrados os locais reservados para os microchips.

Figura 28: Fotos vistas por cima do AirCE com e sem a placa de alumínio. (a) o dissipador de calor de cobre. (b) isolante térmico de isopor. (c) Peltier. Locais reservados para acomodar o detector (d), o sensor de temperatura (e) e os microchips (f). (g) bloco de alumínio.

Fotos dos blocos da alta e da baixa tensão vista de frente por dentro do equipamento são exibidas Figura 29 , com destaque para os reservatórios (b e f) e descartes (a e h). Ao fundo, são mostrados o detector (c), o sensor de temperatura (e) e servomotor (h). O tubo do pressurizador de ar (d) e o cabo da baixa tensão (i) foram presos por prensa cabos.

Figura 29: Fotos do sistema de Alta tensão (à esquerda) e baixa tensão (à direita) vistas de frente por dentro equipamento. (a) e (g) descartes. (b) e (f) reservatórios. (c) C⁴D. (d) Conexão e tubo do pressurizador. (e) sensor de temperatura (após a foto, um isopor foi adicionado nesta região). (h) servomotor. (i) conector e cabo da baixa tensão.

A foto do equipamento sem tampa, vista por cima, é exibida na Figura 30. A tampa possui uma ventoinha (i) por onde é feita a amostragem dos gases. A região indicada pela letra “g” fica sobre o microchip amostrador (d) quando a tampa é fechada. Também é possível ver o capilar de sílica fundida (a), o detector (b) e uma manta de copolímero de etileno-acetato de vinila (EVA) (e) e isopor (f) para isolar termicamente a região.

Figura 30: Foto do AirCE sem a tampa vista por cima (a esquerda) e foto da tampa vista por baixo (a direita). (a) capilar de sílica fundida. (b) detector. (C) microchip da alta-tensão. (d) microchip da baixa tensão. (e) espuma de EVA e (f) isopor ambos utilizados como isolantes térmicos. (g) rebaixo para a passagem do ar amostrado. (i) ventoinha para amostrar o ar. Nessa posição, a tampa é colocada sobre o equipamento girando-a 180 graus na vertical, para que a região indicada em g fique sobre o microchip amostrador.

Na figura 31, são mostradas a frente e a traseira do AirCE. As dimensões do equipamento sem a parte da ventoinha foram de 30 cm x 28 cm x 24 cm (largura x altura x profundidade). O AirCE funcionou com 12 V alimentado por baterias de chumbo. Além disso, o AirCE e o detector foram conectados a um microcomputador via USB.

Figura 31: Foto do AirCE vista pela frente (esquerda) e vista por trás (direita). Ele possui 30 cm X 28 cm X 24 cm (largura X altura X profundidade) sem contar a parte da ventoinha.

5 LAB ON A ROBOT 3

Será apresentado brevemente o robô para o qual o AirCE foi montado. Embora eu tenha contribuído na feitura do robô, este foi o resultado do trabalho de uma equipe, na qual, eu fiquei incumbido, prioritariamente, na montagem do eletroforese capilar. Aqui, busco, apenas, contextualizar o objetivo do AirCE.

O prof. Claudimir L. Lago iniciou a coordenação de construção de um robô para análise compostos com potencial uso como armas químicas em conjunto com o grupo dos professores Dr. Carlos D. Garcia e Dr. Arturo A. Ayon ambos da *University of Texas at San Antonio* – USA dos Departamentos de Química e Física, respectivamente. O robô foi planejado para contar com dois sistemas de análises: um eletroforese Capilar em *microchip* e um biossensor amperométrico.

O robô foi chamado de LOAR³ (*Lab on a Robot* terceira versão) e construído todo no Brasil por integrantes de nosso grupo de trabalho, a saber: prof. Dr. Claudimir L. do Lago, Dr. Carlos A. Neves, Dr. Denis Tadeu Rajh Vidal, Eng. Fernando Silva Lopes, Guilherme Minoru Otta, Marcelo Fagundes Barros, Thiago Garcia e por mim.

O veículo foi montado a partir de um quadriciclo (modelo ATV-3050C, Coolster, Jinhua, China) equipado com um motor de quatro tempos de 110 cm³. O banco e o guidão foram removidos, o tanque reposicionado. Dois conjuntos de quatro baterias de chumbo de 12 V e 7 Ah (Unipower, São Paulo, Brasil) foram colocadas em cada lado do veículo para manter a estabilidade. As baterias foram usadas quando o veículo estava em repouso e eram recarregadas quando ele estava em movimento. O robô possui 72 cm de largura por 122 cm de profundidade e 97 cm de altura mais uma antena de comunicação de 79 cm de altura. Foi adicionada uma câmera IP (Wanscam, Shenshen, China), um sensor GPS

(LS20031, GPSLO-COSYS Technology, New Taipei, Taiwan), compasso (HMC6352, Parallax, Rocklin, CA, USA), dois giroscópios (IXZ-650 e IDG-640, InvenSense, Sunnyvale, CA, USA), um sensor de distância por infravermelho (GP2Y0A02Yk0F, Sharp, Camas, WA, USA) e sensor de orientação de 3 eixos (MMA7660FC, Freescale Semiconductor, Austin, TX, USA). Uma placa-mãe Intel Atom (D945GCLF2D, Intel, Santa Clara, CA, USA) rodando o sistema operacional Linux distribuição Ubuntu para o gerenciamento do robô. Essa é uma placa-mãe de netbook de baixo consumo, leve, compacta e dissipa pouco calor.

O controle dos sensores e da direção foram feitos por duas microcontroladoras Teensy. O computador e a câmera foram conectadas em um ponto de acesso sem fio de 800 mW (Buller 2HP, Ubiquiti Networks, San Jose CA, USA) e uma antena omnidirecional de alto ganho (Hypersat Omni 12 dBi, Sat5, Pará de Minas, Brasil). Uma antena e um ponto de acesso similares foram mantidos na estação base. Essa configuração garante aproximadamente 8 km de comunicação em condições ideais. O sistema de comunicação e controle foi implementado com um protocolo ASCII encapsulado num protocolo TCP/IP.

Na figura 32 há duas fotos do veículo robotizado, mostrando todos os lados dele.

Figura 32: Fotos dos quatro lados do robô. O robô possui 72 cm de largura por 122 cm de profundidade e 97 cm de altura mais uma antena de comunicação de 79 cm de altura.

Na figura 33 é mostrada a foto da lateral do veículo sem a tampa onde o AirCE foi projetado para ficar acondicionado.

Figura 33: Foto do robô sem a tampa lateral com o AirCE dentro.

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A escolha da utilização de um capilar de sílica fundida ao invés de um canal feito no próprio acrílico se deve a vários fatores (Tabela 1): (1) A irregularidade dos canais feitos por ablação a laser de CO₂ em PMMA é a principal limitação do método de fabricação de microchip voltados para eletroforese capilar. As ondulações nas paredes dos canais geram gradientes de pressão, causando, assim, turbulência, alargando os picos e podendo misturar banda já separadas. (2) As propriedades elétricas do capilar permitem a aplicação de potenciais elétricos mais elevados sem que haja fuga de alta-tensão. (3) A maior razão área/volume faz com que o calor gerado internamente ao capilar seja melhor dissipado para fora do capilar. Segundo Evenhuis e colaboradores, uma potência elétrica de 7,5 W·m⁻¹ aplicada num capilar PMMA elevou a temperatura para 33,4 °C. Já para o capilar de sílica fundida, a elevação da temperatura foi de 20,4 °C. Isso é consequência da alta resistência térmica do PMMA. (4) Eficiência de separação, ela é matematicamente interpretada como o número de pratos. Um valor alto de pratos significa que os picos das amostras são estreitos, consequentemente, maior poder de separação. Porém, a fórmula para estimar o número de prato comumente encontrados na literatura [113, 114], permite concluir que o tamanho do capilar é irrelevante para o aumento da eficiência. Isso acontece porque os modelos simplificados consideram como infinitesimais a largura da região de detecção e a largura ocupada pela amostra e, em alguns casos, ignoram a diferença que há entre o detector e o fim do capilar.

A equação mais completa do número de pratos (N) está representada na equação 1:

$$N = \frac{L_D^2}{\frac{2k_B T L_D L_T}{zeV} + \frac{(\Delta x_i)^2}{12} + \frac{(\Delta x_d)^2}{12}} \quad (3)$$

Sendo k_B a constante de Boltzmann, T a temperatura absoluta, z a carga do íon, e a carga elementar, V a voltagem aplicada, Δx_i a extensão do capilar ocupada pela amostra ao ser introduzida, e Δx_d a extensão do capilar coberto pelo detector.

A distância entre o detector e fim do capilar ($L_T - L_D$), para o caso da detecção condutométrica sem contato, não pode ser zero, devido à questão da impedância. De forma resumida, devido aos eletrodos da fonte de alta tensão, qualquer uma das extremidades do capilar é uma região de baixa impedância para um sinal de rádio frequência, como o do detector C⁴D. Assim, como a impedância da parede do capilar é elevada, o eletrodo da fonte de alta tensão pode drenar o sinal do detector, diminuindo a sensibilidade dele [115, 116]. O tempo e modo de introdução da amostra determinam a largura da banda da amostra. A largura da região sensível do detector é característica do próprio sistema de detecção.

Tabela 3: Comparação, aproximada, de algumas propriedades físicas entre a sílica e o PMMA

	<i>Sílica Fundida</i>	<i>PMMA</i>	<i>Unidade</i>
Condutividade térmica	1,38	0,19 - 0,24	W·m ⁻¹ ·K ⁻¹
Resistividade elétrica	1,15 x 10 ¹⁸	10 ¹⁵	Ω·cm
Rigidez dielétrica	1,5 x 10 ⁷	1,8-6,0 x 10 ⁷	V·m ⁻¹
Razão área/volume	0,05	0,007	μm ⁻²

A eficiência calculada pela fórmula (3) para capilares com comprimento de 58 cm fica em torno de 90 % da eficiência máxima, o que somente seria possível com capilares infinitamente longos. O cálculo foi realizado considerando uma

separação eletroforética de analitos monocarregados, com potencial de separação de 10 kV, L_T-L_D de 6,4 cm, a largura do detector C⁴D de 0,05 cm [117, 106] e para a banda de amostra 0,05 cm. A Figura 34 ilustra o exposto para outros valores da eficiência em função do comprimento do capilar de sílica fundida. É fácil constatar que quanto menor o capilar, menos eficiente será o método. Por exemplo, para um capilar de 12,8 cm e eficiência é apenas de 50 %.

Figura 34: Gráfico da eficiência em função do comprimento do capilar e Tabela com alguns valores do gráfico. Observa-se que o tamanho do capilar influencia na eficiência de separação, principalmente para comprimentos de capilares menores.

6.1 ELETRÓLISE SEPARADA

Como descrito na introdução, um canal largo e comprido junto com um estreito e curto é a melhor geometria para retardar a contaminação proveniente da eletrólise. Na foto da Figura 35 A é mostrado, em perspectiva, três dos 6 círculos com um canal atravessando-os de fora a fora. A foto ao lado (Figura 35 B) é a ampliação da Figura 35 A destacando o fundo do rebaixo e o estrangulamento.

O rebaixo é mostrado na foto da Figura 35 C visto de lado na parte superior da peça. Para obter estas imagens, o microchip foi quebrado ao longo do canal. Os círculos possuem 4,0 mm de diâmetro e foram rebaixados até aproximadamente 450 μm . O canal que os corta possui a largura de 200 μm e profundidade média de 430 μm . Na Figura D, dentro da elipse desenhada, é possível ver o serrilhado do fundo do canal cuja amplitude é de aproximadamente 230 μm . No estreitamento, a distância entre o topo do canal e o topo do fundo do canal é de 300 μm , o comprimento do estrangulamento nessa profundidade é de aproximadamente 780 μm e no topo do canal, o comprimento é de aproximadamente 180 μm .

Figura 35: Fotos dos rebaiços circulares da eletrólise separada. As fotos (A) e (B) foram tiradas em perspectiva e (C) e (D) de lado. (B) e (D) são uma amplificação das imagens (A) e (C), respectivamente. O círculo em D indica o fundo do canal. A profundidade aproximada no centro do rebaiço circular é de 450 μm e no estrangulamento é de 300 μm .

Esse modelo de eletrólise separada apresentou dificuldades para a remoção de bolhas de ar. O líquido percorre com velocidade maior no canal feito no modo vetorial do que nos círculos feitos no modo *raster*. Isso faz com que o líquido dentro do canal passe para o próximo compartimento antes de preencher todo o círculo.

Nessa primeira parte, a eletrólise separada não foi otimizada. Entretanto, algumas estratégias podem ser tomadas para solucionar o problema, como, por exemplo, promover as ablações dos canais somente entre os círculos e não por toda a extensão. Outra alternativa seria aproximar os círculos uns nos outros até que os

canais não fossem mais necessários. Também seria possível, substituir os círculos por canais feitos fora do foco do laser. Os canais fora do foco são mais largos e menos rugosos. Além disso, talvez fosse possível trocar os círculos por uma geometria ovalada fazendo com que os líquidos não se expandissem abruptamente quando esses atravessassem os estrangulamentos. Por fim, poder-se-ia modificar quimicamente as paredes do PMMA para torná-las mais hidrofílicas. Lembrando que não é possível substituir o canal vetorial por um canal *raster*, os canais neste modo são necessariamente mais largos.

6.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ELETRODOS

Os eletrodos para a aplicação da alta-tensão devem ser de material inerte para não contaminar a amostra e nem se degradar durante o funcionamento. O mais comumente usado é feito com platina, mas utilizá-lo na fase de prototipagem é muito caro e o reaproveitamento é trabalhoso. Embora tenham sido usadas agulhas hipodérmicas de aço inox de 0,8 mm, estas não apresentaram alterações visuais durante os testes.

6.3 Acoplamento do capilar e das agulhas no microdispositivo

Os dois modos de fixação de agulhas e capilares no microchip com septos não apresentaram vazamentos de líquidos. Contudo, o segundo método no qual o capilar é prensado por dois discos de silicone foi escolhido por ser mais rápida a

colocação e remoção do capilar e por não ter o risco de entupir o capilar ao introduzi-lo.

Na figura 36 são mostrados fotos de frente do canal com o capilar de sílica fundida imobilizada pelo septo. Nela é possível ver a geometria do canal comparativamente a do capilar. Ela deixa evidente a limitação desse método devido ao volume morto entre o capilar e o começo do septo. E, além disso, o septo da alta-tensão ocupa uma grande área no microchip aumentando o tamanho do dispositivo e dificultando a remoção de calor gerado no capilar.

Figura 36: Fotos tiradas de frente do local por onde o capilar foi fixado. (a) O septo está em vermelho. (b) canal feito no PMMA. (c) capilar de sílica fundida. A direita detalhe do canal, do capilar e suas dimensões.

6.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE A MEMBRANA

Neste tópico serão confrontado os três modos de fixação das membranas de Oxyphan.

6.4.1 FIXAÇÃO DA MEMBRANA POR COLAGEM DIRETA AO CORPO DE PROVA

O corpo de prova possuía canais pelos quais foram passados uma solução de azul de metileno para visualizar vazamentos. Acompanhando a Figura 15 na página 61, a solução foi introduzida pelo orifício de entrada (a). Ao atingir o canal em forma de semicírculo (b), o líquido chegava na entrada de todas as membranas com aproximadamente a mesma pressão, visto que o semicírculo possuía uma largura muito superior do que as membranas. Após passar por dentro dos Oxyphans (c), a solução confluía no centro do dispositivo (d) em direção ao orifício de saída (e).

Esse dispositivo não apresentou vazamentos, a cola aderiu bem ao acrílico e ao polipropileno. Visualmente, o Oxyphan não apresentou nenhuma alteração após o processo de selagem do corpo de prova. Mas, não foi verificado se o aquecimento danificou a sua permeabilidade aos gases. Vale ressaltar que a transição vítrea do polipropileno é de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a temperatura de fusão é superior a $145\text{ }^{\circ}\text{C}$. Embora, a viscosidade do verniz seja a mais adequada para a fixação das membranas, a utilização da cola de acrílico é a mais recomendável. Isso porque, ele possui menos compostos químicos, reduzindo a chance de possíveis interferências. Além disso, o

verniz de acrílico perde volume durante a polimerização, devido a evaporação do solvente, o que não acontece com a cola de acrílico.

A vantagem desse método é a possibilidade de colocar múltiplas membranas num espaço diminuto. Sua principal desvantagem é a troca obrigatória de todo o dispositivo quando um Oxyphan for danificado.

6.4.2 FIXAÇÃO DA MEMBRANA NA FORMA DE CARTUCHOS

A alternativa ao primeiro método foi construir um coletor em forma de cartucho que fosse facilmente removível. Mas, para isso, foi necessário superar dois desafios: vazamentos na junção Oxyphan/microchip e a fragilidade mecânica da membrana.

A discussão da resolução do primeiro problema é semelhante à da fixação do capilar no microchip. Caso seja necessário, é possível substituir a agulha de aço inox pelo capilar de sílica fundida.

Um teste qualitativo foi feito para verificar a qualidade da vedação entre a agulha e o Oxyphan. Uma agulha foi introduzida em um dos lados de uma membrana de 10 cm, do outro lado, a extremidade do Oxyphan obstruída. Como a agulha não teve seu suporte plástico removido, ela foi encaixada numa seringa cheia com água. Então, o embolo foi empurrado e foi verificada a ausência de vazamento. Como resultado, não foi constatado nenhum vazamento sob pressão manual.

6.4.3 FIXAÇÃO DAS MEMBRANAS UTILIZANDO TYGON

O último método foi considerado o melhor dos três, principalmente, pela facilidade e rapidez na substituição das membranas e pelo fato de não necessitar de septo. O segundo modo tende a ocupar mais espaço no microchip, pois necessita de uma área mínima de 2 cm² para a fixação de cada agulha nos septos. Além disso, a solução deve possuir compatibilidade química com o aço e o silicone, além do polipropileno e PMMA.

Segundo os fabricantes, haveria uma diferença em torno de 80 µm entre o diâmetro externo do Oxyphan e o interno do Tygon. Isso explica a facilidade com que a membrana extremamente flexível entrou no Tygon sem amassar. Nos experimentos com solução aquosa sem surfactante, não houve vazamentos. Porém, com a adição do CTAB no eletrólito de corrida, houve vazamento do líquido na junção entre os materiais após 24 h. Apesar do ocorrido, isso não inviabiliza o uso da técnica, visto que, também ocorreu vazamento por entre os poros da membrana, obrigando a sua substituição. O vazamento provavelmente se deve a diminuição da tensão superficial da água e a diminuição da hidrofobicidade da superfície do polímero causado pelo surfactante.

Vale ressaltar que esta montagem também não passou no teste de obstruir uma das saídas do Oxyphan, introduzir uma agulha no outro lado e pressurizar manualmente com uma seringa cheia de água. Houve vazamentos na interface dos materiais com facilidade.

6.5 VÁLVULA SERVOMOTOR

Em eletroforese capilar é necessário lavar internamente os canais e o capilar antes das corridas, preenchê-los com eletrólito de suporte no início e, de tempos em tempos, renovar o eletrólito interno no capilar. Além disso, é necessário movimentar a amostra coletada até a entrada do capilar para dar processo às análises. Acompanhando a Figura 37, observa-se que o reservatório está diretamente conectado ao descarte e ao capilar através de uma bifurcação. Entre o descarte e o capilar foi adicionada uma válvula servomotor que abre ou fecha o acesso ao descarte. Quando a válvula servomotor está fechada, o líquido segue para dentro do capilar, e, quando a válvula servomotor está aberta, o líquido segue para o descarte, uma vez que, a resistência ao fluxo no capilar é muito maior. A área da seção transversal do capilar é de aproximadamente $4,4 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ao longo de 46,5 cm enquanto que no canal do descarte é de $4,3 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ em menos de 10 cm. O valor de 10 cm foi obtido descontando as distâncias entre o capilar e os descartes da entrada e da saída.

Figura 37: Ilustração do sistema da válvula servomotor. Quando a válvula servo era fechada, a solução era impulsionada para dentro do capilar. Ao abrir a válvula servo, a solução não entrava no capilar devido à resistência gerada pelo menor diâmetro interno do capilar

O mecanismo de funcionamento da válvula baseada em servomotor é ilustrada na Figura 38 cujo desenho foi feito com o sistema visto de lado. O servomotor e os imobilizadores da porca e da borracha foram omitidos para simplificar o desenho. Na ilustração, o fluxo do líquido sai do primeiro canal, passa pela borracha e sobe para o segundo canal. Quando o parafuso gira para direita, ele sobe pressionando a borracha contra a abertura do primeiro canal, bloqueando-o. O servo é um motor no qual é possível ajustar de 0 a 180 graus com resolução de 1 grau. Ele é de custo reduzido (cerca de US\$ 2,00), compacto (30 x 25 x 32 mm), facilmente controlado via software, seu torque é de 1,6 Kg·cm², tempo de reação de 2 ms por grau e sua massa de 9 g. Não há necessidade de eletrônica suplementar para fazê-lo funcionar.

Figura 38: Desenho simplificado do sistema de válvula baseada em servomotor. Quando o eixo do servomotor gira, o parafuso sobe pressionando a borracha contra o canal, fechando-o. Os imobilizadores da porca e do septo foram omitidos no desenho.

Essa montagem se mostrou adequada durante os testes, mas durante os experimentos rotineiros, ela apresentou problemas. O percurso do parafuso entre o septo fechado e aberto era muito pequeno, aproximadamente 0,5 mm. Embora esta diferença seja suficiente para vedar um canal, esse deslocamento diminuto exige a fixação das peças com muita precisão e sem folgas. Como consequência, essas pequenas variações resultavam em grandes alterações no formato dos picos nos eletroferogramas.

Considerando que o principal problema da válvula seja a diferença entre o estado aberto e fechado, há inúmeras estratégias para resolver o problema, como, por exemplo, pode-se empregar servomotor com giros maiores que 180 graus. Adicionar engrenagens para aumentar o número de giros. Usar o servomotor na vertical fazendo com que ele levante ou abaixe um braço contra a borracha. Tirando o primeiro e o último, todos os outros métodos requerem maior espaço. O último, embora mais fácil, é o que pode gerar maior irreprodutibilidade em virtude das variações na compressibilidade do ar devido à variação do volume de ar e líquido dentro do descarte e do reservatório.

6.6 O MICROCHIP

O bloco da alta-tensão foi conectado na saída do capilar de sílica fundida. Nesse bloco, o sistema de pressurização serve para preencher com eletrólito os canais no lado da alta-tensão. A princípio, não seria necessária uma bomba de ar nessa parte do sistema. Porém, utilizando somente uma bomba no lado da baixa tensão, o líquido deveria passar pelo capilar de sílica fundida antes de chegar ao lado da alta-tensão. Como é sabido, o pequeno diâmetro interno do capilar faz com que a vazão seja reduzida, aumentando, assim, o tempo para o preenchimento do bloco da alta-tensão.

Um furo foi feito em cada frasco de descarte para aliviar a pressão e gerar um gradiente de pressão. Contudo, no microchip da alta-tensão, o eletrodo está próximo a essa saída, aumentando, assim, a possibilidade de fuga de alta-tensão. Para evitar isso, foi feito um canal longo ligando o descarte com o ambiente. O canal poder ser observado na foto do microchip de alta-tensão na Figura 39, à esquerda, próximo as letras I e H.

Figura 39: Fotografias dos módulos de alta e baixa tensão. (a) e (i) reservatórios, (b) e (h) descartes, (c) válvula servomotor, (d) e (g) eletrólise separada, (e) e (j) septo do capilar de sílica fundida, (f) Membrana tubular, (k) e (l) Conexões com as bombas, (m) e (n) Conexões com a fonte de alta-tensão.

Fugas de alta-tensão foram visualizadas por entre o septo e o capilar quando a alta-tensão era ajustada acima de 8 kV com o septo de 6 mm na alta-tensão. As fugas de alta-tensão podem ser observadas como ruídos sonoros semelhantes a estalos, caso a fuga seja mais intensa, por uma descarga corona visível e, se prolongado, pelo olfato devido à formação de odor característico. Isso foi resolvido aumentando o comprimento do septo da alta-tensão de um círculo de 6 mm para elipse de 30 mm como mostrado pela letra j na Figura 39.

O microchip também apresentou fuga de alta-tensão na região próxima ao prensa cabo (letra n Figura 39) quanto a diferença de potencial foi ajustada em 13 kV. A resolução desta limitação não foi explorada, visto que, a diferença de potencial nessa magnitude associada ao comprimento médio do capilar de sílica fundida do AirCE, em torno de 40 cm, gera campos elétricos por volta de $300 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$. Intensidade de campo elétrico bastante comum em eletroforese capilar.

O tempo necessário para esvaziar o reservatório de solução (letra a Figura 39) de 7,5 mL foi de 8,5 min com um Oxyphan de 12 cm. Ou seja, a vazão para este sistema foi de aproximadamente $0,89 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Esse é um volume adequado para eletroforese capilar, porém para sistemas de análises em fluxo que necessitem de lavagens constantes o volume poderá ser limitado.

Os canais microfluídicos foram feitos na base do microchip para permitir melhor visualização dentro deles, visto que, a rugosidade no fundo do canal, gerada pela ablação, constitui um empecilho à observação.

6.7 ELETRÔNICA DO AirCE

Nesta seção está descrito algumas considerações sobre a eletrônica escolhida e suas implicações.

6.7.1 PLACA ELETRÔNICA PRINCIPAL

A placa principal foi gerenciada pela microcontroladora Teensy [118] cujo processado é baseado na arquitetura RISC de 8 bit ATmega32U4 [119] com *clock* de 2 a 16 MHz, 32 kb de memória flash, 2,5 kb de memória SRAM e 1 kb de EEPROM, conversor analógico digital de 10 bits. Ele custa US\$ 16,00. É alimentado pela USB ou por alimentação externa entre 2,4 V a 5,5 V. Contudo, com tensões baixas, a frequência do processador não passa de 2 MHz [120]. Possui 25 portas digitais, 12 analógicas e 7 PWM, comunica-se por I2C, UART ou SPI. É um ambiente facilitado de programação, possui uma comunidade ativa, diversos tutoriais e fórum na internet. Possui a interface Arduino [121] para programação, mas pode ser programado via linguagens C [122], Python [123] LabView [124], Java [125], entre outras. É uma solução barata e de baixo consumo elétrico.

O Teensy controla os componentes eletrônicos do AirCE pelo envio e recebimento de sinais elétricos. Contudo, cada componente trabalha uma determinada faixa de tensão e corrente. Então, parte da eletrônica utilizada foi justamente para converter esses sinais para a faixa de atuação de cada dispositivo. Para o caso do Teensy, as correntes foram convertidas em potenciais, os sinais negativos foram transformados em positivos e os sinais com escala maior ou menor do que 0 e 5 V foram reescalados para evitar perdas de resolução.

6.7.2 ACIONAMENTO DAS BOMBAS, VÁLVULAS E VENTONHA

As bombas, as válvulas e a ventoinha devem ser alimentadas com +3,0 V e 460 mA; 3,0 V e 75 mA; 12 V e 160 mA, respectivamente. Contudo, o Teensy só é capaz de fornecer 5 V e 40 mA. Isso inviabiliza o acionamento direto desses componentes pelo Teensy. Para contornar essa limitação, esses componentes foram alimentados diretamente pela placa principal e para permitir o controle pelo Teensy, foram adicionados transistores. Os transistores, nessa montagem, funcionam como chaves. Isto é, através deles o Teensy pode ligar e desligar os componentes. Os transistores possuem três terminais nomeados de base, coletor e emissor. A base foi ligada no Teensy, o coletor foi ligado em série com o componente eletrônico e o emissor em série com o terra (Figura 40). Neste ponto, não há passagem de corrente e os componentes estão desligados. A corrente só fluirá quando o Teensy aplicar 5V no resistor da base, o que faz fluir corrente entre base e emissor e uma corrente ainda maior entre coletor e emissor.

Figura 40: Esquema eletrônico de acionamento das bombas, válvulas e ventoinha. Para as Bombas e válvulas o potencial (Vcc) foi +3,3 V e para a ventoinha +12 V.

O resistor de 5,11 k Ω foi adicionado entre o Teensy e o transistor para limitar a intensidade da corrente, caso contrário o Teensy queimaria. Com esse resistor, quando o Teensy aplica 5 V, a corrente consumida do mesmo é menor que 1 mA.

O diodo (1N4148) funciona como proteção do circuito, uma vez que, as bombas, as válvulas e a ventoinha possuem solenoides internamente. O solenoide acumula energia em forma de campo magnético quando ligado e devolve esta energia quando cessa o potencial. Além de inversão do potencial, isso pode gerar um pico de corrente capaz de queimar o circuito. Ao adicionar o diodo, o pico de corrente passa por ele e não pelo sistema.

6.7.3 FONTE DE ALTA-TENSÃO

A escolha da fonte de alta-tensão deve ser embasada em alguns critérios: os campos elétricos normalmente aplicados em eletroforese capilar variam entre 100 V·cm⁻¹ e 500 V·cm⁻¹, já as correntes são inferiores a 100 μ A. Considerando uma coluna capilar de 50 cm, é necessária uma fonte capaz de aplicar uma tensão de 5 a 25 kV. Ademais, é necessário monitorar a corrente e potencial, ajustar o potencial da alta-tensão e ligar e desligar a fonte.

Tendo isso em mente, nota-se que as principais características da fonte Ultravolt são adequadas, já que ela possui corrente máxima de 133 μ A, tensão máxima de 30 kV, e máxima potência de 4 W. Ela vem com sensor interno de corrente e de tensão. Ela possui 9 pinos pelos quais são feitas a alimentação e a comunicação de entrada e de saída. Ela pode ser alimentada com uma voltagem de

11 a 16 V pelo pino 2. Para ligar a alta-tensão, basta aplicar entre 2,4 V e 32 V no pino número 4 e para desligar entre 0 V e 0,7 V. A diferença de potencial da fonte varia linearmente de 0 V a 32.250 V quando é aplicado de 0 V a 5 V no pino 6. O pino 3 é o sensor interno de corrente e o 9 é o de potencial. O pino 7 é a saída do potencial de referência de 5 V e os restantes dos pinos são os terras.

Para habilitar ou desabilitar a saída da alta-tensão, o pino 4 da fonte de alta-tensão foi conectado diretamente no Teensy. Além disso, essa conexão foi ligada ao terra através de um resistor de 4,7 k Ω , numa montagem conhecida como *pull-down*. Ela faz com que a tensão no pino 4 fique sempre igual a 0 V quando o Teensy não está aplicando nenhum potencial, evitando, assim, o acionamento imprevisto da fonte. Não obstante, o potencial não é alterado quando o Teensy está aplicando uma determinada tensão.

O amplificador operacional utilizado para as leituras de corrente é bastante versátil. Ele pode funcionar como filtro, amplificador, conversor de corrente em tensão ou de tensão em corrente, como operador matemático, entre outros. Basicamente, as funcionalidades mais simples são determinadas por resistores e capacitores conectados em seus terminais, como está mostrado adiante.

A medida da corrente proveniente da fonte de alta-tensão foi realizada de duas formas: (i) utilizando o medidor interno da própria fonte e (ii) através de um circuito leitor de corrente montado com o amplificador operacional, que foi conectado diretamente no eletrodo de baixa tensão do sistema de eletroforese.

O medidor interno de corrente da fonte de alta-tensão fornece a informação da corrente aplicada através do pino 3 da fonte de alta-tensão na forma de diferença de potencial negativa. Por isso, seu sinal foi invertido pela eletrônica ilustrada na Figura 41. Isso foi feito conectando o pino 3 da fonte à entrada inversora do amplificador operacional (pino 2 do OPA2735). A amplificação é proporcional aos

resistores. Como o resistor de $1000\text{ k}\Omega$ é 5 vezes maior que o resistor $200\text{ k}\Omega$, o sinal foi amplificado 5 vezes. Os capacitores servem apenas como filtros de ruídos elétricos.

Figura 41: Esquema eletrônico do sensor de corrente total. Esse sistema inverte e amplifica 5 vezes o sinal de saída do pino 3 da fonte para que o Teensy seja capaz de realizar a leitura.

Mesmo possuindo um medidor de corrente interno, foi montado outro circuito leitor de corrente conectado diretamente no eletrodo de baixa tensão do sistema de eletroforese. O sensor de corrente proveniente da eletroforese foi implementado por dois motivos: (1) o sensor interno mede a corrente total da fonte de alta-tensão, mas não é toda a corrente que passa por dentro do capilar do sistema de eletroforese. Parte dessa corrente é desviada para os sensores de corrente e tensão internos da fonte. (2) O monitoramento simultâneo da corrente total e da corrente eletroforética ajudam a detectar fuga de alta-tensão. Por exemplo, se a corrente total variar sem alteração da corrente eletroforética, é um indício que parte da corrente está fluindo

por outros caminhos. Dependendo da intensidade da fuga e do caminho, ela danifica equipamentos e/ou causa ruídos.

O amplificador operacional na configuração mostrada Figura 42 converte a corrente eletroforética em potencial para que o Teensy efetue a leitura. Nele, o potencial na entrada do Teensy varia de 0 a 5 V quando a corrente no eletrodo do CE varia de $+125 \mu\text{A}$ a $-125 \mu\text{A}$.

Figura 42: Esquema eletrônico do medidor de corrente eletroforética. Esse sistema transforma a corrente que sai do eletrodo do CE em diferença de potencial para que o Teensy seja capaz de realizar a leitura.

Esse esquema eletrônico pode ser melhor entendido do ponto de vista matemático. Matematicamente essa conversão de corrente em tensão é dada pela seguinte equação da reta:

$$V = -\alpha \times I + \beta \quad (4)$$

Na qual V é a tensão, I a corrente a ser convertida, α é o coeficiente angular da reta e β o linear.

O resistor de 20 k Ω paralelo ao OPA2735 (em cima dele na figura 42) faz o papel do coeficiente angular, ou seja, o valor do resistor reescala a corrente na faixa desejada. O coeficiente linear é dado pelo valor da diferença de potencial na entrada não inversora do OPA2735 (pino 3), no caso 2,5 V. Esse valor foi ajustado pelos dois resistores de 500 k Ω operando com divisores de tensão. Eles dividem por dois o potencial 5 V que sai pelo pino 7 da fonte de alta-tensão.

Substituindo os valores na equação da reta e rearranjando os termos, é possível calcular a corrente eletroforética a partir o potencial recebido pelo Teensy de acordo com a função:

$$I = \frac{(2,5 - V)}{20000} \quad (5)$$

Sendo I a corrente eletroforética, V a diferença de potencial gerada pelo medidor de corrente, 2,5 é a diferença de potencial na entrada não inversora do OPA2735 (pino 3) e 20000 é a resistência do resistor em cima do OPA2735 na figura.

Além disso, a máxima corrente gerada pela fonte de alta-tensão quando ela está trabalhando em 30 kV é de 133 μ A, isso implicaria em potenciais mais elevados do que 5 V gerados pelo sensor de corrente. Caso a corrente passe de 125 μ A a

amplificação saturará em 5 V protegendo o Teensy. O valor máximo e mínimo é definido pela alimentação do OPA2735 (pinos 8 e 4 da Figura 42).

E por fim, o conversor foi projetado para efetuar leitura de correntes positivas, para manter a compatibilidade com fontes de alta-tensão negativas.

6.8 AJUSTE DO POTENCIAL DA FONTE DE ALTA-TENSÃO

O potencial da fonte de alta-tensão é ajustado pela aplicação de uma diferença de potencial entre 0 e 5 V no pino 6 da fonte de alta-tensão. Contudo, o Teensy não possui um conversor de digital/analógico (DA). Essa limitação foi contornada adicionando um filtro RC na saída de uma das portas PWM do Teensy e a utilizando como conversor D/A.

O PWM é a sigla em inglês para modulação por largura de pulso. O sinal do PWM possui a forma de uma onda retangular na qual o tempo em amplitude máxima é ajustável entre 0 e 100 % (Figura 43). Esse tempo é conhecido como *Duty Cycle*. Durante os ciclos, a frequência da onda permanece constante cujo valor é de 976,56 Hz no pino 5 do Teensy e de 3921,57 Hz nos pinos restantes. Caso necessário, a frequência do PWM do Teensy pode ser alterada modificando os *timers* da microcontroladora, mas isso pode acarretar em mau funcionamento das outras funções que utilizam esses recursos.

Figura 43: Ilustrações das ondas retangulares do PWM em três diferentes *Duty Cycles* para uma mesma frequência. Os *Duty Cycles* são as porcentagens em tempo que a onda permanece em amplitude máxima. As faixas verticais pontilhadas representam o intervalo de tempo da frequência.

Os filtros RC são constituídos por um capacitor e um resistor. Neste trabalho, eles foram interconectados como mostrado na Figura 44. A função do filtro é atenuar a amplitude do sinal do PWM tornando-o mais linear possível. O valor médio da tensão na saída do filtro varia agora de 0 a 5 V quando o *Duty Cycle* varia de 0 a 100 %.

Figura 44: Esquema eletrônico do filtro RC. Ele converte o *Duty Cycle* do PWM do Teensy em voltagens de 0 a 5 V na entrada da fonte.

O sinal quando passa pelo filtro não é totalmente retificado, ele possui uma oscilação. A Intensidade da oscilação depende dos valores da resistência de R e da capacitância de C. Quanto maior forem esses valores, melhor o sinal será retificado. Em contrapartida, maior será o tempo de estabilização da voltagem. As simulações da Figura 45 exemplificam o exposto. No gráfico da esquerda o resistor possui 10 k Ω e o capacitor 1 uF, ou seja, os mesmos valores do filtro no AirCE. Já no gráfico da direita, o valor da resistência foi abaixado para 1 k Ω . Como resultado, a amplitude do ruído aumentou 10 vezes, de 15 mV para 150 mV, e o tempo, para atingir 90 % do potencial desejado, passou de 20 ms para somente 2 ms. Se o resistor fosse aumentado para 100 k Ω , o ruído seria de apenas 1,5 mV, mas demoraria 200 ms para chegar a 90 % do potencial requerido de 2,5 V. As simulações foram feitas com PWM com potencial mínimo de 0 V e máximo de 5 V, frequência de 4 kHz e *Duty Cycle* de 50 %.

Figura 45: Simulação do sinal de saída de um filtro RC com PWM de 0 a 5 V e *Duty Cycle* de 50 %. À esquerda, gráfico com resistência de 10 k Ω e capacitância de 1 μ F e à direita com 1 k Ω e 1 μ F. No gráfico da esquerda o ruído é menor, mas demora 0,04 s para atingir 90 % da tensão desejada de 2,5 V. Já o potencial do gráfico da direita esse valor em menos de 0,004 s, porém com um ruído maior. A simulação foi extraída e adaptada do sítio: <http://sim.okawa-denshi.jp/en/PWMtool.php> acessado em 23/09/2013

Um tempo de décimos de segundos para atingir o potencial desejado não acarretaria num grande prejuízo na maioria das separações eletroforéticas. Todavia, durante a injeção eletrocinética, cuja aplicação de potenciais são de poucos segundos, a demora em atingir o potencial é indesejada.

6.9 PLACA DE TERMOSTATIZAÇÃO

A placa de termostatização foi separada da placa principal para aumentar a segurança do sistema. Correntes em torno de 5 A passam pela placa de termostatização enquanto que, na placa principal, a maioria dos componentes não suportam correntes superiores a 200 mA. Além disso, essa placa é idêntica à placa

de controle de direção utilizada no projeto do robô, não havendo a necessidade de tornar a projetá-la.

No elemento Peltier, o aquecimento/resfriamento é explicado por um fenômeno de mesmo nome, o Efeito Peltier. Esse efeito ocorre na junção entre dois materiais distintos, metais ou semicondutores. Ao aplicar uma diferença de potencial entre eles, um aquece simultaneamente enquanto o outro esfria. Ao trocar os polos de alimentação, inverte-se, também, os lados de aquecimento e esfriamento. A intensidade do aquecimento e do esfriamento é proporcional à corrente elétrica aplicada e depende da eficiência de remoção do calor de uma das faces, uma vez que o calor poder ser transmitido para o lado no qual está sendo refrigerado.

O Peltier demanda elevada corrente elétrica para funcionar. Ele pode consumir até 12 A, porém, neste projeto, ele consome em média 5 A. Já o Teensy não suporta correntes superiores a 40 mA. Então, para permitir que o Teensy controle o Peltier sem risco de ser queimado, o contato elétrico entre eles foi fisicamente separado. A comunicação se deu por luz, através de um componente chamado de optoacoplador. Internamente, ele possui um diodo emissor de luz (LED) de um lado e um fototransistor do outro. O LED é conectado à parte de baixa corrente enquanto que o fototransistor, à de alta. Quando uma baixa corrente liga o LED, seus fótons sensibilizam o fototransistor que, por sua vez, liga o circuito de alta corrente. O funcionamento do optoacoplador é semelhante ao transistor utilizado como chave.

Para permitir a inversão entre o aquecimento e a refrigeração, é necessário construir um sistema eletrônico que inverta os polos de alimentação entre si. Isso foi feito por uma montagem conhecida como Ponte H. Uma ponte H genérica está representada na Figura 46, na qual o Peltier está no centro da figura. O sistema possui quatro chaves, mas somente duas delas devem estar ligadas

simultaneamente. No primeiro momento, as chaves 1 e 4 estão ligadas, fazendo com que o lado direito do Peltier fique em 12 V enquanto que o lado esquerdo fique em 0 V. Ao fechar as chaves que estão abertas e abrir as que estão fechadas, inverte-se também a polaridade. Na prática, estas chaves podem ser substituídas por relês ou transistores. Optou-se por transistores neste trabalho.

Figura 46: Ilustração de uma ponte H. A ponte H é uma estratégia eletrônica para inverter a polaridade de alimentação dos componentes. No primeiro desenho, as chaves 1 e 4 estão fechadas fazendo com que o lado esquerdo do Peltier fique em 12 V enquanto o lado direito fique em 0 V. Ao inverter as chaves também inverte-se a polaridade.

Como pode ser imaginado, o acionamento das chaves deve ser sincronizado e sem erros, caso contrário, o sistema pode entrar em curto-circuito danificando o equipamento ou, até mesmo, incendiando-o, devido à alta corrente. As portas lógicas inversoras com *Schmitt Trigger* foram usadas para permitir a inversão das polaridades nos terminais do Peltier sem o risco de conflito.

Esse componente eletrônico gera um potencial de 5 V em sua saída, quando o potencial em sua entrada está abaixo de 1,0 V. Ou 0 V quando está acima de 1,6 V.

No AirCE, as duas portas lógicas com *Schmitt Trigger* foram montadas em série como mostrado na Figura 47. Consequentemente, se a saída da primeira porta lógica estiver em 5 V, obrigatoriamente a saída da segunda estará em 0 V e vice-versa. Então, se o primeiro par de chaves da ponte H for conectado à primeira porta lógica e o segundo par de chaves à segunda porta, elimina-se o risco de curto-circuito.

Figura 47: Portas lógicas para evitar o conflito entre os pólos de alimentação do Peltier. Nessa montagem, as saídas das portas lógicas são 0 ou 5 V. Sendo que sempre que um está em 0 V a outra está em 5 V. A saída da porta lógica é representada pelo lado do triângulo que possui o círculo.

6.10 DETECTOR

O C⁴D [26–33] é um detector não seletivo ideal em técnicas de separação na qual são necessárias análises exploratórias, em equipamentos que analisam uma grande variedade de amostras, ou em análises de muitos componentes. Em contrapartida, a identificação de um determinado composto depende da comparação com padrões ou da utilização, em conjunto, de outro detector específico. Um diferencial do C⁴D é que, apesar de ser eletroquímico, seus eletrodos não entram em contato com a amostra. Eles são posicionados do lado externo do capilar, evitando, assim, contaminação e desgaste dos eletrodos. Outra vantagem é o desacoplamento com o alto campo elétrico dentro do capilar. Além disso, essa técnica não fragiliza o capilar, pois não necessita de aberturas de janelas, como é o caso da detecção UV-Vis quando é utilizado capilares não transparentes ao UV-Vis, por exemplo. Em compensação, quando comparado com outros detectores, ele possui limite de detecção [126] moderado (10^{-5} - 10^{-6} mol·L⁻¹) quando comparado à espectrometria de massas (10^{-4} - 10^{-9} mol·L⁻¹), fluorescência induzida por laser (10^{-9} - 10^{-12} mol·L⁻¹) e amperométrica (10^{-8} - 10^{-9} mol·L⁻¹).

Um sinal de radiofrequência de amplitude de tensão constante é aplicado sobre os dois eletrodos, de modo que variações da amplitude de corrente que flui pelo circuito é proporcional à admitância da região entre os eletrodos. Considerando que a composição da região dielétrica da cela (parede de sílica, camada de poliimida, ar que envolve a região) não se altera, essa variação de admitância será reduzida a variações de condutividade da solução no interior do capilar.

O sinal gerado pelo oscilador, que por sua vez é aplicado ao primeiro eletrodo, oscila numa frequência de 1,1 MHz e possui amplitude de 4 Vpp entre o pico e o vale.

O segundo eletrodo é mantido em terra virtual e conectado em um circuito de transcondutância (conversor corrente-tensão). Em seguida, o sinal alternado proporcional às variações de condutividade passa por um retificador de onda completa e por um filtro passa-baixa, para então, ser amplificado e convertido de sinal analógico a sinal digital por um conversor de 22 bits. Os limites de detecção para metais alcalinos estão na ordem de $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

6.11 CONSUMO DE CORRENTE

O consumo de corrente do AirCE, quando diferentes partes do sistema estão ligadas, está discriminado na tabela 4. O consumo dos Teensys não foram contabilizados porque eles foram alimentados diretamente pela USB do computador, mas segundo o fabricante, o consumo dele está entre 4,5 a 27 mA [35].

Tabela 4: Amperagem dos diferentes componentes eletrônicos

Sistemas	Ampere (A)
Ventoinha do Peltier	0,186
Detector	0,460
Peltier	4,700
Servomotor, bombas, ventoinha de amostragem, detector, Peltier a 30 °C, fonte de alta-tensão a 20kV	5,840

Os resultados demonstram que a maior parte do consumo de corrente é causado pelo Peltier quando ele está fornecendo calor para atingir 30 °C a partir da temperatura ambiente de 22 °C. Vale ressaltar que o consumo de corrente diminui à medida que a temperatura se aproxima do valor programado e, uma vez nesse valor, quando a temperatura ajustada está próxima a do ambiente.

6.12 OS SOFTWARES

Neste tópico, está descrito a metodologia utilizada na programação da microcontroladora e da interface do programa com o usuário.

A microcontroladora foi programada usando a linguagem de programação Arduino baseada no projeto Wrinig [36]. O Arduino agrega uma série de bibliotecas e outros programas que automatizam e simplificam o procedimento de programação da microcontroladora. A linguagem é basicamente C++, mas sem o cabeçalho e funções comumente presentes, como por exemplo, a função *main*. O Arduino adiciona esses itens no momento da compilação. Ele executa o aplicativo GNU-toolchain e AvrLib para compilar os programas para código de máquina e Avrdude para fazer o *upload* do programa na microcontroladora.

Como descrito anteriormente, todos os componentes eletrônicos foram conectados direta ou indiretamente à microcontroladora, e essa controla-os mediante aplicação ou recebimento de potenciais elétricos. Contudo, o processador da microcontroladora computa números binários e não potenciais elétricos. Isso

obriga o programador a fazer conversões entre voltagens e números binários na hora de escrever os programas. Além disso, cada componente elétrico foi conectado à microcontroladora em pontos distintos dela. A esses pontos, dá-se o nome de portas.

O Teensy possui um conversor de sinal analógico em sinal digital (AD) cuja função é transformar os sinais elétricos recebidos pelas portas em números binários para o processador. A qualidade da conversão está associada ao número máximo de algarismos disponíveis para o feito, quanto maior, melhor a resolução. O AD do Teensy possui 10 bits que correspondem a 1024 unidades decimais. Isso implica que quando a tensão aplicada na porta do Teensy variar continuamente entre 0 e 5 V, a microcontroladora receberá números inteiros variando de 0 a 1023. Ou seja, cada unidade decimal recebida pelo processador corresponde a 4,89 mV na porta. Se fosse utilizado o conversor AD de 22 bits (4.194.304 unidades decimais) do detector C⁴D, cada unidade corresponderia 1,2 nV.

Como descrito anteriormente, o Teensy não possui um conversor de sinal digital em sinal analógico (DA). Para contornar essa limitação foi usado um PWM de 8 bit (256 unidades decimais), ou seja, o *Duty Cycle* do PWM varia de 0 a 100 % quando o processador varia de 0 a 255 unidade decimais. Como resultado, ele possui resolução de 0,39 % de *Duty Cycle* por unidade

6.12.1 PROGRAMAÇÃO DO SENSOR DE TENSÃO

Para saber a tensão que está sendo aplicada pela fonte de alta-tensão, basta solicitar ao Teensy que informe qual é potencial que o sensor de tensão da fonte

está enviando. Quando o potencial da fonte de alta-tensão variar de 0 a 30 kV, o sensor de tensão da fonte varia de 0 a 4 V, que por sua vez, é convertido de 0 a 818 pelo AD do Teensy. Logo, a seguinte função correlaciona a tensão aplicada com o número obtido pelo processador:

$$V = b \times \left(\frac{30000}{818} \right) \quad (6)$$

No qual V é a diferença de potencial que a fonte está aplicando, b é o número recebido pelo conversor AD do Teensy, 30000 é a janela de potencial e 818 é a correspondente janela da conversão em decimais. Logo, o sistema de sensoramento da tensão possui resolução de 37 V por unidade.

6.12.2 PROGRAMAÇÃO DO CONVERSOR DE CORRENTES

O mesmo raciocínio é válido para a leitura de corrente. Quando a corrente eletroforética varia de 125 μA a -125 μA , o potencial na porta do Teensy varia de 0 a 5 V, que por sua vez, varia de 0 a 1023 no processador, logo a equação que correlaciona bits em valores de corrente é:

$$A = 125 - \left(\frac{b * 250}{1023} \right) = 125 - b \times 0,244379 \quad (7)$$

Na qual A é o valor da corrente medida, 125 corresponde ao *offset* da curva, 250 é o tamanho da janela de corrente, 1023 é a correspondente janela da conversão em decimais e b é o valor fornecido pelo Teensy. Assim, a resolução do sensor de corrente é de 244 nA por unidade.

6.12.3 AJUSTE DO POTENCIAL DA FONTE DE ALTA-TENSÃO

A fonte de alta-tensão varre de 0 a 32,25 kV quando o potencial na entrada varia de 0 a 5 V. Como o potencial é ajustado por PWM e esse possui resolução de 8 bits, a fonte de alta-tensão varre de 0 a 32,25 kV quando for varrido de 0 a 255 no programa. Portanto, a função que converte a tensão desejada em *Duty Cycle* é:

$$DC = V \times \left(\frac{255}{32250} \right) = V \times 7,9 \times 10^{-3} \quad (8)$$

No qual DC é o valor do *Duty Cycle* que deve ser enviado ao PWM, V é o potencial desejado, 255 é o máximo valor em decimal enviado pela microcontroladora e 32250 é a diferença de potencial máxima gerada pela fonte de alta-tensão. Logo, a resolução é de 26 V por bit.

6.12.4 AJUSTE DO SERVOMOTOR

O ângulo do giro do eixo do servomotor também é comandado por PWM. Quando a largura do *Duty Cycle* varia de 0 a 2 ms, o eixo do servomotor motor gira de 0 a 180 graus. Para esse fim, a biblioteca servo do Arduino foi utilizada. Ela facilita a programação, pois, basta informar o ângulo desejado que ela automaticamente executa as conversões. Caso contrário, além de lidar com as conversões, seria necessário lidar diretamente com os *timers* do Teensy para configurar a largura da frequência do PWM.

6.12.5 PROGRAMAÇÃO DO SENSOR DE TEMPERATURA

O sensor de temperatura comunica-se com o Teensy via protocolo I²C (*Inter-Integrated Circuit*). O I²C é bastante popular e por esse motivo, o Arduino possui um conjunto de terminas elétricos e a biblioteca Wire que facilitam sua implementação.

O sensor envia dois bytes para cada valor de temperatura. O primeiro bit é o sinal do valor da temperatura, os próximos 11 bits correspondem à temperatura e o restante não é utilizado. Para determinar a temperatura, o programador deve receber esses bytes, juntá-los para formar um número de 16 bits, extrair os 11 bits correspondentes a temperatura, multiplicá-lo pela resolução do sensor e adicionar o sinal. A seguinte equação exemplifica o exposto:

$$T = b \times 0,0652 \quad (9)$$

No qual T é a temperatura, b são os 11 bits, com o sinal, recebidos do sensor e 0,0625 é a resolução do sensor de temperatura.

6.12.6 PROGRAMAÇÃO DO SISTEMA DE TERMOSTATIZAÇÃO

Como descrito anteriormente, o sistema de termostatização foi composto pelo Peltier e pelo sensor de temperatura. O aquecimento ou o resfriamento eram ligados até o sensor acusar a temperatura desejada, e quando a temperatura se afastava desse valor, o sistema era religado. O problema inerente ao método é o atraso entre o ajuste da temperatura e a resposta do sensor, devido ao tempo de dissipação do calor entre os dois componentes. Se a variação de temperatura for muito maior que a resposta do sensor, a temperatura oscilará muito, caso contrário, demorará para atingir o valor desejado. Então, um bom controle da taxa de aquecimento é necessário. Tendo isso em mente, um *proportional-integral-derivative* (PID) foi implementado via software para o controle da temperatura. Ele é uma função composta por três termos cujos os coeficientes são ajustáveis:

$$DC = K_p e(t) + K_i \int_0^t e(z) dz + K_d \frac{d}{dt} e(t) \quad (10)$$

K_p é o ganho do termo proporcional, K_i é o ganho do termo integral e K_d do derivativo e a função $e()$ a diferença entre a temperatura requerida e a atual. O valor DC era enviado ao PWM do sistema de termostatização. Os valores de DC eram limitados entre 0 a 255, e caso fossem negativos, invertia-se a polaridade do Peltier para esfriar o sistema. Além disso, o valor do DC para o aquecimento eram dividido por 10 porque o Peltier aquece mais intensamente do que esfria.

Os coeficientes K_p , K_i e K_d determinam a influência de cada termo na função, são valores arbitrários que devem ser determinados empiricamente. No AirCE, dentro do laboratório, o valor de K_p foi mantido em 0,5 e zero para o restante.

6.12.7 DEMAIS FUNÇÕES

O Teensy aplicava 5 V nas respectivas portas para habilitar a alta-tensão, o aquecimento, para ligar as bombas, as válvulas, a ventoinha e o sistema de termostatização, e 0 V para desligar os sistemas e para habilitar a refrigeração.

6.12.8 PROGRAMA DE INTERFACE COM O USUÁRIO

O AirCE foi construído para ser modular. A modularidade é centrada na comunicação entre os componentes para torná-los independentes. Por exemplo, ao invés do programa central controlar diretamente o detector, ele solicita informações a outro programa cuja função é controlar diretamente o detector. Isso traz vantagens, pois, caso seja necessário trocar o detector, basta introduzir o novo detector na

comunicação, e, não, reprogramar o software central. Além disso, a modularidade facilita a manutenção dos programas e possibilita que diferentes linguagens de programação sejam usadas. Essa solução permite, inclusive, que celulares controlem facilmente os periféricos.

A obrigatoriedade do uso de microcontroladora em cada periférico e o vínculo a um padrão de comunicação pode ser uma desvantagem em alguns casos. Deve-se escolher um padrão de comunicação que satisfaça as necessidades do projetista no presente e no futuro, pois fazer alterações no padrão de comunicação depois de estabelecido pode vir a reverter o ganho da modularidade.

Na figura 48 são imagens dos softwares de comunicação conectados ao detector e ao AirCE. Eles devem ser executados no computador ligado ao equipamento.

Figura 48: Imagens dos softwares de comunicação. À esquerda, a foto da janela do runC4D mostrando os valores da detecção. À direita, a janela do runCE esperando o início da comunicação.

Na foto da figura 49 é mostrada a imagem do programa que faz a interface com o usuário. Na ilustração à esquerda, o usuário configura os parâmetros de comunicação, como: endereço IP, porta de comunicação, frequência de aquisição. Na figura à direita é mostrada a tela principal do programa com o gráfico do sinal do detector, botões de acionamento dos componentes e valores dos parâmetros recebidos.

Figura 49: Imagens da interface com o usuário do AirCE. À esquerda, tela de configuração da comunicação com o AirCE e do detector. À direita, foto da tela com as funções de comando do AirCE.

Além disso, o programa salva automaticamente os eletroferogramas num arquivo de backup e também há uma janela com o gráfico para o monitoramento da temperatura. No futuro, será implementado o gráfico das correntes e um sistema de agendamento de comandos para permitir o acionamento dos componentes em tempos pré-determinados de forma automática.

6.13 CONSIDERAÇÕES SOBRE A TERMOSTATIZAÇÃO

No gráfico da Figura 50 é mostrado a variação da temperatura do bloco de alumínio em função do tempo. No experimento, a refrigeração foi ligada por 32 min, desligada por 17 min, seguido de aquecimento por 6 min.

Figura 50: Gráfico da taxa de aquecimento e resfriamento do sistema em função do tempo.

A temperatura ambiente estava em 22 °C quando refrigeração foi ligada, após 32 minutos, a temperatura estabilizou-se próximo a 15 °C. Quando a refrigeração foi desligada, a temperatura voltou à ambiente em 17 minutos, indicando uma alta troca de calor com o ambiente. Em seguida, o aquecimento foi ligado. Passados 6 minutos, a temperatura estava acima de 50 °C, quando foi novamente desligado para não danificar os componentes.

A estabilização da temperatura nessa faixa de 15 a 50 °C é interessante para um equipamento que pretende trabalhar remotamente. Esses resultados dão um indício de que talvez seja possível estabilizar a temperatura numa faixa de 25 ± 5 °C numa ampla janela de temperatura externa.

Caso necessário, o isolamento térmico do equipamento e do robô podem ser melhorados. Além disso, o robô também pode ser termostatizado.

6.14 CONSIDERAÇÕES SOBRE A EFICIÊNCIA DO DISSIPADOR DE CALOR

A estabilização da temperatura no interior do capilar é fundamental em eletroforese capilar. Portanto, a qualidade da dissipação de calor entre o bloco e o capilar deve ser estudada. Uma das formas de avaliar a eficiência do dissipador em remover calor do capilar é construir um gráfico da corrente em função do potencial. Em eletroforese capilar a solução no interior do capilar de sílica fundida comporta-se como um resistor. Pela Lei de Ohm, a corrente e potencial são diretamente proporcionais. Qualquer desvio da linearidade se deve às alterações da resistência da solução no capilar. Considerando, que não houve alteração da composição química do eletrólito e que o equipamento esteja funcionando corretamente, a única fonte de alteração da resistência da solução é atribuída à modificação da viscosidade do meio, devido ao aquecimento da solução. Lembrando que, a corrente elétrica aumenta com a diminuição da viscosidade.

Nos experimentos da figura 51, cinco diferentes modos de dissipação de calor foram comparados. No primeiro, o capilar foi deixado ao ar. No segundo, foi colocado sobre a superfície do bloco de alumínio. No terceiro, o capilar foi posicionado entre o bloco e uma folha de alumínio. Por fim, nos dois últimos experimentos foram colocadas graxa térmica preenchendo os espaços vazios ao redor do capilar entre o bloco e a folha de alumínio, eliminando, assim, o ar. As pastas térmicas IPT ($0,4 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$, Implastec, Votorantim, Brasil) e a pasta a base de prata TG-2 ($1,5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$, Thermaltake, Beijing, China) foram as testadas. Células foram construídas para acomodar os eletrodos próximos à saída e à entrada do capilar de sílica fundida $75 \mu\text{m}$ de d.i., $360 \mu\text{m}$ de d.e., $43,3 \text{ cm}$ de comprimento. A voltagem foi variada de $0,5$ a $8,0 \text{ kV}$, em temperatura ambiente de 22°C (termostatização desligada) e o capilar foi preenchido com solução de KCl

100 mmol·L⁻¹. Essa solução é mais concentrada que os eletrólitos comumente empregados em eletroforese capilar, mesmo assim, ela foi empregada nos experimentos para evidenciar os desvios de linearidade. Uma tampa foi colocada em todos os experimentos para evita a dissipação convectiva do calor com o ambiente. Após o ajuste dos potenciais, em menos de 5 s, a corrente se estabilizava e, só então, o valor da corrente era registrado. Ao término de cada curva, alguns pontos foram repetidos, e não houve variação nos valores de corrente.

Figura 51: Gráfico da corrente em função da voltagem (lei de Ohm). Para o capilar de sílica fundida (75 μm d.i.) ao ar, sobre a placa de alumínio, com adição de uma manta de alumínio, com pasta térmica a base de zinco e prata. Solução de KCl 100 mmolL⁻¹

Esse estudo mostra que o ar em repouso não é eficiente na remoção do calor gerado no interior do capilar porque o ar possui baixa condutividade térmica (entorno de 0,02 W·m⁻¹·K⁻¹) e que o bloco de alumínio foi capaz de manter a linearidade somente até 30 μA. Ele também mostra que houve pouca diferença entre as outras

três curvas. Portanto, por simplicidade, somente a folha e o bloco de alumínio podem ser empregados para uma satisfatória dissipação de calor.

7 ELETROFEROGRAMAS

Embora desenvolvido originalmente para a detecção de compostos químicos proveniente de armas químicas, o sistema não pode ser testado com amostra reais por impedimento legal. Assim, para demonstrar a funcionalidade do mesmo, dois tipos de experimentos foram projetados: (1) demonstrar que o sistema é capaz de amostrar compostos ionizáveis presentes no ar e realizar eletroferogramas para separação e quantificação dos mesmos; (2) demonstrar que é possível realizar a separação eletroforética dos fosfonatos, que seriam produzidos pela hidrólise das armas químicas, de componentes comuns do ar.

O método foi realizado em um equipamento convencional e não no AirCE, em virtude dos constituintes da amostra não serem voláteis, e o AirCE não possuir um método para a introdução de amostras líquidas.

O equipamento convencional também foi construído em nosso laboratório [127]. Ele possui dois detectores do tipo C4D, cada um deles localizado a 11 cm das extremidades do capilar. Esse equipamento foi o primeiro modelo do grupo a contar com um sistema de refrigeração utilizando Peltier para resfriar o ar ao redor do capilar.

A escolha dos constituintes do eletrólito de corrida é pautada: (1) na estabilidade das propriedades físico-químicas do eletrólito durante os experimentos; (2) na diferença da intensidade de sinal detectado na presença do analito, o que é válido para os detectores sensíveis à composição do eletrólito, de maneira que quanto maior for a diferença entre os dois, a princípio, mais sensível será o método; (3) na interação com o analito, já que a presença de aditivos, como complexantes, tampões e surfactante pode modificar diferentemente a mobilidade dos analitos promovendo a separação; (4) na interação com os componentes do equipamento, já

que surfactantes e tampões podem modificar as paredes do capilar alterando a velocidade do fluxo eletrosmótico, invertendo o sentido do mesmo, ou impedindo que o soluto adsorva no capilar.

A concentração do eletrólito de corrida deve ser adequada para realizar as funções descritas acima, mas deve ser baixa o suficiente para não ocasionar superaquecimento. Normalmente, a concentração do eletrólito de corrida está na faixa de 2 a 200 mmol·L⁻¹ [128, 129].

7.1 SEPARAÇÃO E DETECÇÃO DE AGENTES NERVOSOS EM ELETRÓLITO DE MES/HISTIDINA

O primeiro ensaio foi baseado nos trabalhos de Ding *et al.* [130], que descrevem um método de identificação dos produtos de degradação de agentes nervosos, usando MES/His 5 mmol·L⁻¹ (pH = 6,1) como eletrólito de corrida e detecção condutométrica sem contato num eletroforese capilar em microchip feito de PDMS.

O método consiste na análise dos subprodutos da hidrólise desses agentes nervosos. Neste caso, o objetivo não é a identificação da presença dos agentes no ar, mas se ele foi aplicado na região anteriormente, o que é possível pelo fato desses compostos possuírem tempo de permanência no ambiente entre um e seis dias [92]. Logo, para análises pós-ataque ou em fiscalizações de fronteiras esses compostos também são o alvo.

Os métodos desenvolvidos por Ding e colaboradores não contém as substâncias presentes no ar que podem causar sobreposição de picos nos eletroferogramas, uma vez que, os objetos de estudo foram matrizes de água de rio.

No presente trabalho, ácidos sulfúrico, clorídrico, nítrico, fórmico e acético foram adicionados à amostra sintética de agentes neurotóxicos para mimetizar os possíveis interferentes do ar. Esses ácidos são gerados naturalmente ou pela ação do ser humano devido, por exemplo, a queima de combustíveis fósseis. Outros gases presentes na atmosfera não foram adicionados por não serem ionizáveis (N_2 , O_2 , Ar, Ne, He, CH_4 , H_2) ou, se ionizável, por dar origem a um íon de carga positiva (NH_3/NH_4^+). A composição da atmosfera também inclui particulados líquidos e sólidos [131], mas esses não foram considerados nos testes.

Os eletroferogramas do primeiro e segundo detectores da análise da mistura sintética estão apresentados na Figura 52. Os picos correspondem à: cloreto (1), nitrato (2), sulfato (3), metanoato (4), etanoato (5), EMPA (6), PMPA (7) e às espécies cuja mobilidade aparente são idênticas ao fluxo eletrosmótico (8). As concentrações das espécies para os diferentes eletroferogramas foram: (A) $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de PMPA; (B) $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de EMPA $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de PMPA e $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ para as demais espécies; (C) $300\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de EMPA; (D) $100\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para todas as espécies. O capilar de sílica fundida utilizado tinha $50\text{ }\mu\text{m}$ de diâmetro e 77 cm de comprimento. As distâncias entre o ponto de injeção e de detecção foram de 11 cm para o primeiro detector e de 66 cm para o segundo. Um tampão $30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de MES/His (pH 6,1) com $0,2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de CTAB foi usado como eletrólito de corrida a $25\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram injetadas hidrodinamicamente por 3 s a $3,5\text{ psi}$. O potencial de separação aplicado foi de -25 kV .

Figura 52: Eletroferogramas do primeiro e segundo detector da análise de mistura sintética de: cloreto (1), nitrato (2), sulfato (3), metanoato (4), etanoato (5), EMPA (6), e PMPA (7). O pico 8 corresponde às espécies cuja mobilidade são idênticas ao fluxo eletrosmótico. As concentrações das espécies para os diferentes eletroferogramas foram: (A) 2 mmol·L⁻¹ de PMPA; (B) 200 μmol·L⁻¹ de EMPA, 100 μmol·L⁻¹ de PMPA e 1 mmol·L⁻¹ para as demais espécies; (C) 300 μmol·L⁻¹ de EMPA; (D) 100 μmol·L⁻¹ para cada ânion. O capilar de sílica fundida utilizado tinha 50 μm de diâmetro interno e 77 cm de comprimento. As distâncias entre o ponto de injeção e de detecção foram de 11 cm para o primeiro detector e de 66 cm para o segundo. Um tampão de MES/His 30 mmol·L⁻¹ (pH 6,1) com 0,2 mmol·L⁻¹ de CTAB foi usado como eletrólito de corrida a 25 °C. As amostras foram injetadas hidrodinamicamente por 3 s a 3,5 psi com potencial de -25 kV para a separação.

A resolução dos picos desse método foi maior do que a obtida por Ding devido, principalmente, à diferença do comprimento do canal de separação (66 cm neste trabalho contra 6,5 cm no de Ding). Já o tempo de análise foi similar. Tal fato se deve a adição de CTAB ao eletrólito de corrida, o qual inverteu o fluxo eletrosmótico, colocando-o no mesmo sentido de migração dos ânions, em contraste com os estudos realizados por Ding, no qual foi conduzida no contrafluxo.

7.2 SEPARAÇÃO E DETECÇÃO DE AGENTES NERVOSOS EM ELETRÓLITO DE CARBONATO/BICARBONATO

Embora, o método anterior seja funcional para amostras de solo e rios, ele não é o mais indicado para amostragens de ar, em decorrência de alguns fatores: (1) a hidrólise dos Agentes Nervosos ocorrem mais prontamente em meios alcalinos ou ácidos, diferente do eletrólito anterior cujo pH era 6; (2) caso a amostragem ocorra por muito tempo, um pico proveniente do CO_2 aparecerá próximo ao pico do PMPA. Tendo isso em mente, as análises anteriores foram repetidas em tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ (pH 10,2).

Os eletroferogramas do primeiro e segundo detector da análise de mistura sintética estão apresentados na Figura 53. Os picos nos eletroferogramas correspondem à: cloreto, nitrato, sulfato, metanoato, bicarbonato e etanoato (pico 2), EMPA (pico 3), PMPA (pico 4), pico das espécies cuja mobilidade são iguais à do fluxo eletrosmótico (5). O uso de um inversor de fluxo contendo brometo provoca o surgimento de um pico de sistema (1) [132–136]. As concentrações das amostras foram de $200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de PMPA e de EMPA e de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para os outros ânions. O capilar possuía $50 \mu\text{m}$ de diâmetro interno e 77 cm de comprimento. Os pontos de detecção foram de 11 cm para o primeiro detector e de 66 cm para o segundo. Um tampão de $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ (pH 10,2) com $0,2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de CTAB foi usado como eletrólito de corrida. As amostras foram injetadas hidrodinamicamente por 3 s a 181 mmHg. O potencial de separação aplicado foi de -25 kV. As temperaturas do equipamento foram ajustadas em 20 °C, 25 °C, 30 °C e 35 °C para os eletroferogramas A, B, C e D, respectivamente.

Figura 53: Eletroferogramas do primeiro e segundo detector de misturas sintéticas contendo: cloreto, nitrato, sulfato, metanoato, bicarbonato, etanoato (2), EMPA (3) e PMPA (4). O número 1 é o pico de sistema devido ao uso do brometo no eletrólito de suporte e o pico 5 é referente às espécies cuja mobilidade são idênticas ao fluxo eletrosmótico. As concentrações das amostras foram de $200 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de PMPA e de EMPA e de $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ para os outros ânions. O capilar possuía $50 \mu\text{m}$ de diâmetro interno e 77 cm de comprimento. Os pontos de detecção foram de 11 cm para o primeiro detector e de 66 cm para o segundo. Um tampão $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ (pH 10,2) com $0,2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de CTAB foi utilizado como eletrólito de corrida. As amostras foram injetadas hidrodinamicamente por 3 s a $3,5 \text{ psi}$. O potencial de separação aplicado foi de -25 kV . As temperaturas do equipamento foram ajustadas em 20°C , 25°C , 30°C e 35°C para os eletroferogramas A, B, C e D, respectivamente.

Analisando os eletroferogramas anteriores, observa-se uma baixa sensibilidade para o pico do acetato (2), enquanto que os outros ânions nem são observados, embora estejam nas mesmas concentrações do eletroferograma D da Figura 52. Isso se deve à mobilidade dos ânions e do bicarbonato do eletrólito de corrida serem próximas, consequentemente as sensibilidades daqueles foram reduzidas. Os picos nos primeiros eletroferogramas foram positivos enquanto que nos últimos foram negativos. Isso também é uma consequência das mobilidades relativas das espécies envolvidas: quando a mobilidade do coíon é inferior à do analito, os picos serão positivos, caso contrário, os picos serão negativos.

Como esperado, o registro do segundo detector, por estar posicionado mais distante do ponto de injeção, apresenta maior eficiência de separação. Por outro lado, é de se esperar que, com o aumento do tempo de permanência dentro do capilar, a intensidade seja diminuída, o que não está evidente nos eletroferogramas

apresentados na Figura 53. Neste ponto, deve-se destacar que, embora de mesma confecção, os detectores apresentam pequenas diferenças estruturais e nos componentes eletrônicos, o que resulta em diferenças de sensibilidade. Assim, não se pode querer comparar diretamente a intensidade dos picos obtidos em diferentes detectores.

Como a análise de outros componentes presentes no ar não é de interesse para o presente propósito, esse método mostrou seletividade adequada para a análise de armas químicas.

Um equipamento de trabalho em campo está sujeito às variações de temperatura do meio ambiente. Por essa razão, os testes foram realizados em quatro diferentes temperaturas mostrando que esta metodologia é robusta o suficiente para trabalhar em uma faixa de temperatura entre 20 °C e 35 °C, no mínimo. A única alteração observável foi o aumento das mobilidades das espécies com o aumento da temperatura, o que já era esperado, e desejável. O aumento da temperatura provoca diminuição da viscosidade do eletrólito de corrida fazendo com que todas as espécies migrem mais rapidamente. Por exemplo, o tempo de migração correspondente ao PMPA (pico 4) foi reduzido em 30 s, já o fluxo eletrosmótico reduziu em quase 1 minuto.

Obviamente, variações de temperatura durante um experimento e mesmo entre os experimentos e a calibração são indesejáveis. O objetivo da realização dos testes em diferentes temperaturas é verificar qual a faixa de temperatura adequada. A decisão final sobre qual a temperatura a ser utilizada fica condicionada ao ambiente onde o equipamento entrará em operação. Por exemplo, a menor e a maior temperatura poderiam ser escolhidas para se trabalhar, respectivamente, num país frio ou no deserto durante o dia. Assim, o sistema de termostatização, que

individualmente é o principal sistema em termos de consumo de energia, sofreria a menor sobrecarga possível.

7.3 SEPARAÇÃO E DETECÇÃO DE UMA MISTURA DE TRÊS ÁCIDOS ADICIONADOS NO AR PELO AirCE

Testes de amostragens, separação e detecção de ácidos voláteis foram realizados no AirCE, já que não é possível realizar testes com armas químicas verdadeiras sem as devidas autorizações.

As soluções de ácidos fórmico, acético e propanóico 25 % (v/v) foram preparadas e colocadas separadamente em frascos de 8 mL com boca de 1,5 cm de diâmetro a 1 cm de distância da entrada da ventoinha de amostragem do AirCE.

Primeiramente, o capilar de sílica fundida foi lavado com NaOH 0,1 mol·L⁻¹ por 15 min, seguido de água deionizada por 5 min e preenchimento com eletrólito de corrida por mais 10 min. Então, o capilar foi fixado no equipamento e todos os canais e o capilar preenchidos com o eletrólito de corrida.

As amostragens eram realizadas quando a ventoinha era ligada. Isso forçava o ar contra a membrana de Oxyphan acelerando a permeação dos gases. Terminada a amostragem, a bomba de baixa tensão era ligada por 1,8 s para mobilizar a amostra até a entrada do capilar. Em seguida, a amostra era introduzida dentro do capilar eletrocineticamente [137, 138] com 1 kV por 2 s e, então, a bomba era ligada novamente por 30 s para que o restante da amostra, que não entrara no capilar, fosse mobilizada até o descarte, para só então ser realizada a separação eletroforética. Terminado o eletroferograma, um processo de limpeza dos canais era realizado antes da próxima corrida: a bomba de baixa pressão era ligada durante

15 s para lavar com eletrólito de corrida os canais da baixa tensão. Logo após, o servomotor fechava a saída do descarte, e a bomba da baixa tensão era ligada novamente por 60 s para lavar com eletrólito de suporte o interior do capilar de sílica fundida.

Os eletroferogramas das amostragens de ar estão apresentados na Figura 38. As amostragens foram realizadas durante 30 s numa membrana de 10 cm de comprimento cujo volume interno é de aproximadamente $3,1 \mu\text{L}$ ($310 \text{ nL}\cdot\text{cm}^{-1}$). Os eletroferogramas à esquerda foram obtidos com: ácido acético (eletroferograma b), ácido acético e fórmico (eletroferograma c), ácidos fórmico, acético e propanóico (eletroferograma d) e amostragem de ar sem ácidos para o branco (eletroferograma a). A diferença de potencial de injeção eletrocinética foi de 1 kV por 2,0 s e de separação foi de 10 kV, ou seja, campo elétrico de aproximadamente $215 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$. O pico número (1) é atribuído ao brometo (pico de sistema devido ao uso do CTAB como eletrólito de corrida), formiato (2), acetato (3), propanoato (4), e o EOF (5). Os eletroferogramas à direita são repetições das análises com os três ácidos, mas com tempos de amostragens distintos de 0, 5 e 15 s

Figura 54: À esquerda, eletroferogramas de amostras de gases coletadas através de tubos de membranas tubulares. (a) água deionizada e soluções de (b) ácido acético, (c) ácido acético e fórmico e (d) ácidos fórmico, acético e propanóico. Cada solução de ácido foi diluída à 25 % (v/v). A amostragem foi realizada por 30 s, com injeção eletrocinética por 2,0 s à 1,0 kV. Os eletroferogramas foram obtidos a -10 kV. O pico número (1) é atribuído ao brometo (pico de sistema devido ao uso do CTAB), formiato (2), acetato (3), propionato (4) e o pico das espécies cujas mobilidades são idênticas ao fluxo eletrosmótico (5). À direita, as análises dos três ácidos foram repetidas, mas com tempos de amostragens distintos de 0, 5 e 15 s

Comparando o eletroferograma A, no qual foi amostrado ar ambiente sem adição dos ácidos, com os outros eletroferogramas, cujas adições de ácidos foram sucessivas, pode-se concluir que houve a permeação, separações e detecção desses ácidos no ar. As relações sinal/ruídos foram de 414, 150 e 115 para ácido fórmico, acético e propanoico, respectivamente.

8 CONCLUSÕES GERAIS

O sistema de termostatização superou as expectativas. A remoção de calor de dentro do capilar foi eficiente usando refrigeração em estado sólido com um bloco de alumínio e uma folha de alumínio de 0,1 mm. Ele também estabilizou a temperatura do sistema de análise entre 15 e 50 °C a partir da temperatura ambiente de 22 °C. Juntando-se a isso, o fato das análises de armas químicas poderem ser realizadas numa faixa de 20 a 35 °C, possibilita análises em ambientes externos cujas temperaturas são um pouco mais extremas. Tudo isso, permite que o robô, num primeiro momento, não necessitasse de seu próprio sistema de termostatização, além de dar maior flexibilidade nas análises de bancada. Caso necessário, pode-se melhorar o isolamento térmico do AirCE e do robô.

A termostatização gerava ruído no detector quando ligada. Esse é um problema de difícil solução, pois envolve muitas variáveis e nem todas facilmente identificáveis.

A estrutura do AirCE ficou compacta e robusta, mas de difícil manutenção das bombas de ar, das válvulas e do sistema de termostatização. Contudo, a manutenção dessas partes não é frequente.

A eletrólise separada, até então, restrita a equipamentos convencionais foi demonstrada pela primeira vez em um dispositivo microfluídico. A sua implementação no microchip foi realizada por um método simples. No entanto, a remoção de bolhas de ar do seu interior ainda permanece como um inconveniente a ser superado.

O acoplamento entre o capilar de sílica fundida e o microchip através do pressionamento do capilar entre dois discos de silicões não apresentou vazamentos de líquidos, é de fácil manutenção e não produz entupimentos no

capilar. Em contrapartida, ela ocupa uma grande área no microchip de alta-tensão dificultando a troca térmica e aumentando o volume do dispositivo.

As análises de armas químicas em tampão $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ em pH 10,2 são viáveis e mais indicadas que o método com MES/His, visto que esse é o melhor meio para hidrólise dos Agentes Nervoso. Nesse pH, a mobilidade do fluxo eletrosmótico é alta e mobilizaria todas as espécies de interesse em sentido contrário da detecção, tornando imprescindível a adição do CTAB, ou outro inversor de fluxo. O CTAB funcionou como previsto, mas aumentou a molhabilidade do polipropileno e diminuiu a tensão superficial da água fazendo com que ela permeasse pela membrana diminuindo sua vida útil. Mesmo assim, é possível realizar experimentos durante 24 h sem a necessidade de trocas. Esse fato reforça a necessidade de um método fácil e rápido de substituição do Oxyphan. Isso foi conseguido através de um método baseado nos trabalhos de Coelho [103, 104] e Rocha [139], no qual o Oxyphan e a cânula foram imobilizados por um tubo de Tygon.

Ainda é necessário uma série de experimentos para caracterizar o equipamento e um conjunto de medidas para torná-lo funcional, visando seu emprego por um analista comum. No entanto, esta tese alcançou o seu objetivo, a qual demonstra o conceito e, principalmente, a viabilidade da integração da microfabricação de componentes com os métodos tradicionais.

9 ETAPAS FUTURAS

O AirCE é muito complexo e possui muitos detalhes. Durante a construção deste primeiro protótipo, as técnicas de fabricação e procedimentos não foram exploradas até o limite, visando a minimização de problemas. Como por exemplo: neste trabalho, os canais do microchip são largos ($775\text{ }\mu\text{m}$), mas a técnica permite fazê-los com dimensões por volta de $120\text{ }\mu\text{m}$. Deve-se levar em consideração que, nessas condições, as dimensões dos canais ficariam próximas às do capilar de sílica fundida. Isso deve provocar quedas relevantes de potencial dentro do microchip, causando aquecimento no microchip e diminuindo o campo elétrico dentro do capilar. Lembrando, a remoção de calor no microchip é dificultada por ser microfabricada em PMMA e por ter paredes espessas. Além disso, a diminuição do canal gera maior resistência ao fluxo de líquido.

As concentrações de ácidos estudados foram elevadas e a proximidade dos frascos contendo a solução ficou próxima ao amostrador. Logo, ao diminuir a concentração e afastar os frascos dos analitos, tem-se um aumento no tempo de amostragem. A amostragem pode ser feita, inclusive durante a corrida eletroforética. Caso seja necessário aumentar a sensibilidade da análise dos ácidos, a concentração do tampão pode ser diminuída para reduzir sua condutividade, reduzindo, assim, o nível de ruído da linha base.

A substituição das bombas de ar por outro sistema de mobilização também pode trazer benefícios. O principal problema é a falta de controle efetivo sobre a vazão do líquido dentro do canal, o que torna de difícil previsão a correta temporização para a amostragem. Por outro lado, para a extremidade da alta tensão, este sistema continua sendo o mais apropriado, pois o controle fino da

vazão não é necessário e este sistema de bombeamento evita o contato elétrico com o líquido que está submetido a tensões acima de milhares de volts.

Para tentar diminuir o ruído no detector, pode-se reforçar ainda mais os aterramentos, proteger o detector com um invólucro de silicone, ou mais drasticamente, reprojetar a placa principal, com a redistribuição espacial dos componentes e alargamento das trilhas.

A substituição de um sistema de análise em fluxo em linha para múltiplas vias traria muita flexibilidade à técnica. Possibilita amostrar por mais tempo e dissolver a amostra em solução diferente da do eletrólito utilizado na separação.

Por fim, os maiores desafios são: aumentar o potencial elétrico aplicável, sem que ocorra fuga de alta-tensão pelo microchip, e a remoção de calor de dentro do capilar na região do microchip.

10 BIBLIOGRAFIA

- (1) Paixão, T. R. L. C.; Bertotti, M. *Quím. Nova* **2009**, 32, 1306–1314.
- (2) Pedrotti, J. J.; Angnes, L.; Gutz, I. G. R. *Electroanalysis* **1996**, 8, 673–675.
- (3) Ríos, Á.; Zougagh, M.; Avila, M. *Anal. Chim. Acta* **2012**, 740, 1–11.
- (4) Ryvolová, M.; Macka, M.; Ryvolová, M.; Preisler, J.; Macka, M. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2010**, 29, 339–353.
- (5) Lewis, A. P.; Cranny, A.; Harris, N. R.; Green, N. G.; Wharton, J. A.; Wood, R. J. K.; Stokes, K. R. *Meas. Sci. Technol.* **2013**, 24, 042001.
- (6) Kubáň, P.; Seiman, A.; Makarõtševa, N.; Vaher, M.; Kaljurand, M. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 2618–2625.
- (7) Manz, A.; Graber, N.; Widmer, H. M. *Sensors Actuators B Chem.* **1990**, 1, 244–248.
- (8) Reyes, D. R.; Iossifidis, D.; Auroux, P.-A.; Manz, A. *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2623–2636.
- (9) Auroux, P.-A.; Iossifidis, D.; Reyes, D.; Manz, A. *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2637–2652.
- (10) Dittrich, P. S.; Tachikawa, K.; Manz, A. *Anal. Chem.* **2006**, 78, 3887–3908.
- (11) Vilkner, T.; Janasek, D.; Manz, A. *Anal. Chem.* **2004**, 76, 3373–3386.
- (12) Arora, A.; Simone, G.; Salieb-Beugelaar, G. B.; Kim, J. T.; Manz, A. *Anal. Chem.* **2010**, 82, 4830–4847.
- (13) Tomazelli Coltro, W.; Piecin, E.; Carrilho, E.; de Jesus, D.; Fracassi da Silva, J.; Torres da Silva, H.; do Lago, C. *Quím. Nova* **2007**, 30, 1986–2000.
- (14) Terry, S. C.; Jerman, J. H.; Angell, J. B. *IEEE Trans. Electron Devices* **1979**, 26, 1880–1886.
- (15) Terry, S. A gas chromatography system fabricated on a silicon wafer using integrated circuit technology <http://adsabs.harvard.edu/abs/1975PhDT.....35T> (accessed Mar 18, 2008).
- (16) Madou, M. J. *Fundamentals of Microfabrication: The Science of Miniaturization, Second Edition*; 2nd ed.; CRC, 2002.
- (17) Thompson, L. F.; Willson, C. G.; Bowden, M. J. *Introduction to Microlithography*; 2nd ed.; An American Chemical Society Publication, 1994.

- (18) Manz, A.; Miyahara, Y.; Miura, J.; Watanabe, Y.; Miyagi, H.; Sato, K. *Sensors Actuators B Chem.* **1990**, *1*, 249–255.
- (19) Manz, A.; Harrison, D. J.; Verpoorte, E. M. J.; Fettingner, J. C.; Paulus, A.; Lüdi, H.; Widmer, H. M. *J. Chromatogr. A* **1992**, *593*, 253–258.
- (20) Revermann, T.; Götz, S.; Künnemeyer, J.; Karst, U. *Analyst* **2007**, *133*, 167–174.
- (21) Coltro, W. K. T.; Piccin, E.; Carrilho, E.; Jesus, D. P. de; Silva, J. A. F. da; Silva, H. D. T. da; Lago, C. L. do *Quím. Nova* **2007**, *30*, 1986–2000.
- (22) Shang, F.; Guihen, E.; Glennon, J. D. *ELECTROPHORESIS* **2012**, *33*, 105–116.
- (23) Whitesides, G. M. *Nature* **2006**, *442*, 368–373.
- (24) Chen, Y.; Zhang, L.; Chen, G. *ELECTROPHORESIS* **2008**, *29*, 1801–1814.
- (25) Chin, C. D.; Linder, V.; Sia, S. K. *Lab. Chip* **2012**, *12*, 2118–2134.
- (26) Segato, T. P.; Bhakta, S. A.; Gordon, M. T.; Carrilho, E.; Willis, P. A.; Jiao, H.; Garcia, C. D. *Anal. Methods* **2013**, *5*, 1652–1657.
- (27) Becker, H.; Locascio, L. E. *Talanta* **2002**, *56*, 267–287.
- (28) Becker, H.; Gärtner, C. *ELECTROPHORESIS* **2000**, *21*, 12–26.
- (29) Becker, H.; Heim, U. *Sensors Actuators Phys.* **2000**, *83*, 130–135.
- (30) McDonald, J. C.; Duffy, D. C.; Anderson, J. R.; Chiu, D. T.; Wu, H.; Schueller, O. J. A.; Whitesides, G. M. *ELECTROPHORESIS* **2000**, *21*, 27–40.
- (31) Duffy, D. C.; McDonald, J. C.; Schueller, O. J. A.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4974–4984.
- (32) Xu, J.; Locascio, L.; Gaitan, M.; Lee, C. S. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1930–1933.
- (33) Sun, X.; Peeni, B. A.; Yang, W.; Becerril, H. A.; Woolley, A. T. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1162*, 162–166.
- (34) Lee, K. Y.; LaBianca, N.; Rishton, S. A.; Zolgharnain, S.; Gelorme, J. D.; Shaw, J.; Chang, T. H.-P. *J. Vac. Sci. Technol. B* **1995**, *13*, 3012–3016.
- (35) Giboz, J.; Copponnex, T.; Mélé, P. *J. Micromechanics Microengineering* **2007**, *17*, R96.
- (36) Giboz, J.; Copponnex, T.; Mélé, P. *J. Micromechanics Microengineering* **2009**, *19*, 025023.
- (37) Fiorini, G. S.; Jeffries, G. D. M.; Lim, D. S. W.; Kuyper, C. L.; Chiu, D. T. *Lab.*

Chip **2003**, 3, 158–163.

(38) Becker, E. W.; Ehrfeld, W.; Hagmann, P.; Maner, A.; Münchmeyer, D. *Microelectron. Eng.* **1986**, 4, 35–56.

(39) Kupka, R. K.; Bouamrane, F.; Cremers, C.; Megtert, S. *Appl. Surf. Sci.* **2000**, 164, 97–110.

(40) Lucio do Lago, C.; Torres da Silva, H. D.; Neves, C. A.; Alves Brito-Neto, J. G.; Fracassi da Silva, J. A. *Anal. Chem.* **2003**, 75, 3853–3858.

(41) Coltro, W. K. T.; da Silva, J. A. F.; da Silva, H. D. T.; Richter, E. M.; Furlan, R.; Angnes, L.; do Lago, C. L.; Mazo, L. H.; Carrilho, E. *Electrophoresis* **2004**, 25, 3832–3839.

(42) Gabriel, E. F. M.; Duarte Junior, G. F.; Garcia, P. de T.; de Jesus, D. P.; Coltro, W. K. T. *ELECTROPHORESIS* **2012**, 33, 2660–2667.

(43) Tomazelli Coltro, W. K.; Fracassi da Silva, J. A.; Carrilho, E. *Anal. Methods* **2011**, 3, 168.

(44) Coltro, W. K. T.; de Jesus, D. P.; da Silva, J. A. F.; do Lago, C. L.; Carrilho, E. *ELECTROPHORESIS* **2010**, 31, 2487–2498.

(45) Do Lago, C. L.; Neves, C. A.; Pereira de Jesus, D.; da Silva, H. D. T.; Brito-Neto, J. G. A.; Fracassi da Silva, J. A. *ELECTROPHORESIS* **2004**, 25, 3825–3831.

(46) Gabriel, E. F. M.; do Lago, C. L.; Gobbi, Â. L.; Carrilho, E.; Coltro, W. K. T. *ELECTROPHORESIS* **2013**, 34, 2169–2176.

(47) Yetisen, A. K.; Akram, M. S.; Lowe, C. R. *Lab. Chip* **2013**, 13, 2210.

(48) Ellerbee, A. K.; Phillips, S. T.; Siegel, A. C.; Mirica, K. A.; Martinez, A. W.; Striehl, P.; Jain, N.; Prentiss, M.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2009**, 81, 8447–8452.

(49) Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Carrilho, E.; Thomas, S. W.; Sindi, H.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2008**, 80, 3699–3707.

(50) Carrilho, E.; Martinez, A. W.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2009**, 81, 7091–7095.

(51) Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Whitesides, G. M.; Carrilho, E. *Anal. Chem.* **2010**, 82, 3–10.

(52) Yuan, D.; Das, S. *J. Appl. Phys.* **2007**, 101.

(53) Li, L.; Low, D. K. Y.; Ghoreishi, M.; Crookall, J. R. *CIRP Ann. - Manuf. Technol.* **2002**, 51, 153–156.

- (54) Thawari, G.; Sundar, J. K. S.; Sundararajan, G.; Joshi, S. V. *J. Mater. Process. Technol.* **2005**, *170*, 229–239.
- (55) Dubey, A. K.; Yadava, V. *Int. J. Mach. Tools Manuf.* **2008**, *48*, 609–628.
- (56) Khan Malek, C. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *385*, 1351–1361.
- (57) Caiazzo, F.; Curcio, F.; Daurelio, G.; Minutolo, F. M. C. *J. Mater. Process. Technol.* **2005**, *159*, 279–285.
- (58) Klank, H.; Kutter, J. P.; Geschke, O. *Lab. Chip* **2002**, *2*, 242–246.
- (59) Patel, C. K. N. *Phys. Rev.* **1964**, *136*, A1187.
- (60) Nayak, N. C.; Lam, Y. C.; Yue, C. Y.; Sinha, A. T. *J. Micromechanics Microengineering* **2008**, *18*, 095020.
- (61) Snakenborg, D.; Klank, H.; Kutter, J. *JL Micromechanics Microengineering* **2004**, *14*, 182–189.
- (62) Qi, H.; Chen, T.; Yao, L.; Zuo, T. *Opt. Lasers Eng.* **2009**, *47*, 594–598.
- (63) Wang, S.-C.; Lee, C.-Y.; Chen, H.-P. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1111*, 252–257.
- (64) Liu, H.-B.; Gong, H.-Q. *J. Micromechanics Microengineering* **2009**, *19*, 037002.
- (65) Chung, C. K.; Lin, Y. C.; Huang, G. R. *J. Micromechanics Microengineering* **2005**, *15*, 1878–1884.
- (66) Da Costa, E. tavares; Processo de fabricação de mini e microdispositivos fluidicos por ablação a laser de dióxido de carbono. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, **2009**.
- (67) Schneider, L. B. Desenvolvimento de um chip microfluídico para diagnóstico em saúde pública: prova de conceito. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, **2010**.
- (68) Csele, M. *Fundamentals of Light Sources and Lasers*; Wiley-Interscience, **2004**.
- (69) Sun, Y.; Kwok, Y. C.; Nguyen, N.-T. *J. Micromechanics Microengineering* **2006**, *16*, 1681–1688.
- (70) Wang, H. Y.; Foote, R. S.; Jacobson, S. C.; Schneibel, J. H.; Ramsey, J. M. *Sensors Actuators B Chem.* **1997**, *45*, 199–207.
- (71) Chen, Z.; Gao, Y.; Su, R.; Li, C.; Lin, J. *ELECTROPHORESIS* **2003**, *24*, 3246–3252.
- (72) Lee, J. N.; Park, C.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 6544–6554.

- (73) Miller-Chou, B. A.; Koenig, J. L. *Prog. Polym. Sci.* **2003**, 28, 1223–1270.
- (74) Koesdjojo, M. T.; Tennico, Y. H.; Remcho, V. T. *Anal. Chem.* **2008**, 80, 2311–2318.
- (75) Song, L.; Fang, D.; Kobos, R. K.; Pace, S. J.; Chu, B. *Electrophoresis* **1999**, 20, 2847–2855.
- (76) Tsao, C.-W.; DeVoe, D. L. *Microfluid. Nanofluidics* **2008**, 6, 1–16.
- (77) Yussuf, A. A.; Sbarski, I.; Hayes, J. P.; Solomon, M.; Tran, N. *J. Micromechanics Microengineering* **2005**, 15, 1692–1699.
- (78) Lei, K. F.; Ahsan, S.; Budraa, N.; Li, W. J.; Mai, J. D. *Sensors Actuators* **2004**, 114, 340–346.
- (79) Liston, E. M. [1]; Martinu, L. [1]; Wertheimer, M. R. [1] *J. Adhes. Sci. Technol.* **1993**, 7, 1091–1127.
- (80) Michael S., B. *J. Chromatogr. A* **1996**, 744, 81–91.
- (81) Macka, M.; Andersson, P.; Haddad, P. R. *Anal Chem* **1998**, 70, 743–749.
- (82) Carson, S.; Cohen, A. S.; Belenkii, A.; Ruiz-Martinez, M. C.; Berka, J.; Karger, B. L. *Anal. Chem.* **1993**, 65, 3219–3226.
- (83) De Jesus, D. P.; Brito-Neto, J. G. A.; Richter, E. M.; Angnes, L.; Gutz, I. G. R.; do Lago, C. L. *Anal Chem* **2004**, 77, 607–614.
- (84) Ghosal, S. *ELECTROPHORESIS* **2004**, 25, 214–228.
- (85) Saito, R. M.; Neves, C. A.; Lopes, F. S.; Blanes, L.; Brito-Neto, J. G. A.; do Lago, C. L. *Anal. Chem.* **2007**, 79, 215–223.
- (86) Saito, R. M. Fundamentos, produção e aplicações de marcas térmicas em eletroforese capilar. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2011.
- (87) Kirby, B. J.; Hasselbrink, E. F. *ELECTROPHORESIS* **2004**, 25, 187–202.
- (88) Kirby, B. J.; Hasselbrink, E. F. *ELECTROPHORESIS* **2004**, 25, 203–213.
- (89) Wang Present address: Departments of, J.; Muck, Jr., A.; Chatrathi, M. P.; Chen, G.; Mittal, N.; Spillman, S. D.; Obeidat, S. *Lab. Chip* **2005**, 5, 226.
- (90) Azadi, G.; Tripathi, A. *ELECTROPHORESIS* **2012**, 33, 2094–2101.
- (91) Nassar, A.-E. F.; Lucas, S. V.; Jones, W. R.; Hoffland, L. D. *Anal. Chem.* **1998**, 70, 1085–1091.
- (92) Delfino, R. T.; Ribeiro, T. S.; Figueroa-Villar, J. D. *J Braz Chem Soc* **2009**, 20, 407–428.

- (93) Silva, G. R.; Borges Jr., I.; Figueroa-Villar, J. D.; Castro, A. T. de *Quím. Nova* **2012**, 35, 2083–2091.
- (94) http://www.un.org/disarmament/content/slideshow/Secretary_General_Report_of_CW_Investigation.pdf. (acessado em 02/10/2013).
- (95) Mäkinen, M. A.; Anttalainen, O. A.; Sillanpää, M. E. T. *Anal Chem* **2010**, 82, 9594–9600.
- (96) Seto, Y.; Kanamori-Kataoka, M.; Tsuge, K.; Ohsawa, I.; Matsushita, K.; Sekiguchi, H.; Itoi, T.; Iura, K.; Sano, Y.; Yamashiro, S. *Sensors Actuators B Chem.* **2005**, 108, 193–197.
- (97) Eiceman, G. A.; Stone, J. A. *Anal. Chem.* **2004**, 76, 390A–397A.
- (98) Domingos, J. B.; Longhinotti, E.; Machado, V. G.; Nome, F. *Quím. Nova* **2003**, 26, 745–753.
- (99) Black, R. M.; Harrison, J. M. In *PATAI'S Chemistry of Functional Groups*; John Wiley & Sons, Ltd, 2009.
- (100) Benschop, H. P.; De Jong, L. P. A. *Accounts Chem. Res.* **1988**, 21, 368–374.
- (101) Janata, J. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2009**, 2, 321–331.
- (102) Chiantore, O.; Luda di Cortemiglia, M. P.; Guaita, M. *Polym. Degrad. Stab.* **1989**, 24, 113–126.
- (103) Coelho, L. H. G.; Gutz, I. G. R. *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, 22, 2157–2164.
- (104) Coelho, L. H. G.; Melchert, W. R.; Rocha, F. R.; Rocha, F. R. P.; Gutz, I. G. R. *Talanta* **2010**, 83, 84–92.
- (105) Francisco, K. J. M.; do Lago, C. L. *ELECTROPHORESIS* **2009**, 30, 3458–3464.
- (106) Francisco, K. J. M. Implementação e otimização de detector condutométrico sem contato para eletroforese capilar. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2010.
- (107) Fracassi da Silva, J. A.; do Lago, C. L. *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4339–4343.
- (108) Coltro, W. K. T.; Lima, R. S.; Segato, T. P.; Carrilho, E.; de Jesus, D. P.; do Lago, C. L.; da Silva, J. A. F. *Anal. Methods* **2012**, 4, 25.
- (109) Fracassi da Silva, J. A.; Guzman, N.; do Lago, C. L. *J. Chromatogr. A* **2002**, 942, 249–258.
- (110) Kubáň, P.; Hauser, P. C. *ELECTROPHORESIS* **2009**, 30, 176–188.

- (111) Silva, J. A. F. da Detecção condutométrica sem contato (oscilométrica) para eletroforese capilar de zona e cromatografia micelar eletrocínética. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, **2001**.
- (112) Vidal, D. T. R. Elaboração de um sistema de controle externo do fluxo eletrosmótico para eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, **2008**.
- (113) Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Principles of Instrumental Analysis*; 6th ed.; Brooks Cole, **2006**.
- (114) Harris, D. C. *Quantitative Chemical Analysis (Loose-Leaf) (Budget Books)*; Eighth Edition edition.; W. H. Freeman, **2010**.
- (115) Brito-Neto, J. G.; Fracassi da Silva, J.; Blanes, L.; do Lago, C. *Electroanalysis* **2005**, 17, 1198–1206.
- (116) Brito-Neto, J. G. A.; Fracassi da Silva, J. A.; Blanes, L.; do Lago, C. L. *Electroanalysis* **2005**, 17, 1207–1214.
- (117) Francisco, K. J. M.; do Lago, C. L. *ELECTROPHORESIS* **2009**, 30, 3458–3464.
- (118) Teensy USB Development Board <http://www.pjrc.com/teensy/> (acessado em 02/10/2013).
- (119) <http://www.pjrc.com/teensy/atmega32u4.pdf> (acessado em 02/10/2013).
- (120) Using External Power and USB with the Teensy USB development board http://www.pjrc.com/teensy/external_power.html (acessado em 02/10/2013).
- (121) Arduino - HomePage <http://www.arduino.cc/> (acessado em 02/10/2013).
- (122) C (programming language) - Wikipedia, the free encyclopedia [http://en.wikipedia.org/wiki/C_\(programming_language\)](http://en.wikipedia.org/wiki/C_(programming_language)) (acessado em 02/10/2013).
- (123) Python Programming Language – Official Website <http://www.python.org/> (acessado em 02/10/2013).
- (124) NI LabVIEW - Mais produtividade para engenheiros e cientistas - National Instruments <http://www.ni.com/labview/pt/> (acessado em 02/10/2013).
- (125) java.com: Java + You <http://www.java.com/en/> (acessado em 02/10/2013).
- (126) Long, G. L.; Winefordner, J. D. *Anal. Chem.* **1983**, 55, 712A–724A.
- (127) Saito, R. M.; Brito-Neto, J. G. A.; Lopes, F. S.; Blanes, L.; Costa, E. T. da; Vidal, D. T. R.; Hotta, G. M.; Lago, C. L. do *Anal. Methods* **2010**, 2, 164–170.
- (128) Reijenga, J. C.; Verheggen, T. P. E. M.; Martens, J. H. P. A.; Everaerts, F. M. J. *Chromatogr. A* **1996**, 744, 147–153.

- (129) Tavares, M. F. . *Quimica Nova* **1997**, 20, 493–511.
- (130) Ding, Y.; Garcia, C. D.; Rogers, K. R. *Anal. Lett.* **2008**, 41, 335–350.
- (131) Hoffmann, T.; Huang, R.-J.; Kalberer, M. *Anal. Chem.* **2011**, 83, 4649–4664.
- (132) Gaš, B.; Hruška, V.; Dittmann, M.; Bek, F.; Witt, K. *J. Sep. Sci.* **2007**, 30, 1435–1445.
- (133) Gaš, B.; Kenndler, E. *ELECTROPHORESIS* **2004**, 25, 3901–3912.
- (134) Štědrý, M.; Jaroš, M.; Gaš, B. *J. Chromatogr. A* **2002**, 960, 187–198.
- (135) Štědrý, M.; Jaroš, M.; Hruška, V.; Gaš, B. *ELECTROPHORESIS* **2004**, 25, 3071–3079.
- (136) Štědrý, M.; Jaroš, M.; Včeláková, K.; Gaš, B. *ELECTROPHORESIS* **2003**, 24, 536–547.
- (137) Blas, M.; Delaunay, N.; Rocca, J.-L. *ELECTROPHORESIS* **2008**, 29, 20–32.
- (138) Pennathur, S.; Santiago, J. G. *Anal. Chem.* **2005**, 77, 6772–6781.
- (139) Rocha, F. R.; Coelho, L. H. G.; Lopes, M. L. A.; Carvalho, L. R. F.; Fracassi da Silva, J. A.; do Lago, C. L.; Gutz, I. G. R. *Talanta* **2008**, 76, 271–275.

11 SÚMULA CURRICULAR

SUMÁRIO

Eric T. Costa possui o título de bacharel em Química e mestre em Ciências (Química) pela Universidade de São Paulo (USP) em 2006 e 2009, respectivamente. Tem experiência na área de Química, com ênfase em instrumentação, detecção condutométrica sem contato, eletroforese capilar, microchip, ablação a laser de dióxido de carbono. Adicionalmente, possui conhecimento em diferentes linguagens de programação, Linux e eletrônica. Foi e é membro de diversos comitês dentro da universidade. Atualmente, possui 4 artigos em periódicos indexados internacionalmente com um total de 18 citações.

DADOS PESSOAIS

Nome: Eric Tavares da Costa

Local e data de nascimento: São Paulo, 23 de Novembro de 1979

E-mail: etcost@yahoo.com.br, etcost@gmail.com

EDUCACIONAL

(2013) Três meses de intercâmbio, modalidade “Doutorado Sanduíche” na *University of Texas at San Antonio* – UTSA, San Antonio, Texas, Estados Unidos; sob supervisão do Prof. Dr. Carlos D. Garcia.

(2009) Pós-Graduação: Mestre em Ciências, área de concentração – Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

(2006) Superior: Bacharel em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

(1997) Ensino Fundamental: E.E.P.S.G “Presidente Roosevelt”, São Paulo, SP, Brasil.

ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS INTERNACIONAIS INDEXADOS

Total 4, Citações 18, índice H 2

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4489-3501>

MyResearcherID: <http://www.researcherid.com/rid/D-5387-2012>

[1] Ferreira, L.M.C; da Costa, E.T.; do Lago, C.L.; Angnes, L.; *Bios. Bioelectron.* 2013, 47, 539-544.

[2] do Lago, C.L.; Vidal, D.T.R.; Rossi, M.R.; Hotta G.M.; da Costa, E.T.; *Electrophoresis*, 2012, 33, 2102 -2111

[3] da Costa, E.T.; Neves, C.A.; Hotta, G.M.; Vidal, D.T.R; Barros, M.F.; Ayon, A.A.; Garcia, C.D.; do Lago, C.L.; *Electrophoresis*, 2012, 33, 2650 – 2659.

[4] Saito, R.M; Brito-Neto, J.G.A.; Lopes, F.S; Blanes, L.; da Costa, E.T.; Vidal, D.T.R.; Hotta G.M; do Lago, C.L.; *Anal. Methods*, 2010, 2, 164-170.

PREMIAÇÕES

(2012) Capa da revista *Electrophoresis* (da Costa, E.T.; Neves, C.A.; Hotta, G.M.; Vidal, D.T.R; Barros, M.F.; Ayon, A.A.; Garcia, C.D.; do Lago, C.L.; *Electrophoresis*, 2012, 33, 2650 – 2659).

(2009) Melhor poster na área de Ciência Tecnológica do I – Encontro da Pós-Graduação do Instituto de Química.

ATIVIDADES ACADÊMICAS EXTRA-CURRICULARES.

(2012 e 2013) Cofundador e membro do Centro de Memória do Instituto de Química – USP -capital.

(2009 – 2012) Estagiário do Programa de Aperfeiçoamento do Ensino (PAE) no Departamento de Química Fundamental do Instituto de Química – USP - capital.

(2009 e 2010) Presidente e membro da representação discente da pós-graduação do IQ-USP.

(2009 e 2010) Presidente e membro do comitê organizador do 1º e 2º Encontro dos Estudantes de Pós graduação do IQ-USP

(2009) Representante discente da pós-graduação junto a Congregação do IQ-USP.

(2006) Representante discente junto ao Grupo de trabalho administrativo do Centro de Vivência – do Conjunto das Químicas – USP- capital.

(2005) Membro da Associação Atlética Acadêmica Ana Rosa Kucinski (AAAARK) do IQ-USP

(2003) Membro do comitê organizador da XX Semana da Química - “A Química da Guerra” no IQ-USP”.

(2001 - 2003) Representante discente da graduação junto a Congregação do IQ-USP.

(2001 – 2002) Membro do Centro Acadêmico do IQ-USP (CEQHR).