



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Ricardo Dagnoni Huelsmann

Extração em ponteiros descartáveis: desenvolvimento de estratégias de mecanização,
avaliação de suas potencialidades e limitações

Florianópolis

2023

Ricardo Dagnoni Huelsmann

**Extração em ponteiros descartáveis: desenvolvimento de estratégias de mecanização,
avaliação de suas potencialidades e limitações**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do título de Doutor em Química
Orientador: Prof. Eduardo Carasek da Rocha, Dr.

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra

Huelsmann, Ricardo Dagnoni

Extração em ponteiras descartáveis : desenvolvimento de estratégias de mecanização, avaliação de suas potencialidades e limitações / Ricardo Dagnoni Huelsmann ; orientador, Eduardo Carasek, 2023.

128 p.

2. Extração em ponteiras descartáveis. 3. Mecanização de métodos analíticos. 4. Preparo de amostras. 5. Química Analítica Verde. I. Carasek, Eduardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Ricardo Dagnoni Huelsmann

Extração em ponteiros descartáveis: desenvolvimento de estratégias de mecanização, e avaliação de suas potencialidades e limitações

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Fabio Augusto

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Profa. Dra. Andréa Rodrigues Chaves

Universidade Federal de Goiás (UFG)

Profa. Dra. Tatiane de Andrade Maranhão

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Química.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Daniel Lázaro Gallindo Borges

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Orientador

Florianópolis, 2023.

Este trabalho é dedicado à minha amada Ana Beatriz e à minha querida família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pela oportunidade de estar em suas vidas, vocês são maravilhosos. Em especial à Ana Beatriz, companheira de vida, obrigado pela sua força e luta, por estar sempre ao meu lado e me fazer acreditar que o futuro será ainda melhor. Aos meus pais Milton e Vilma, e irmã Ana Julia, pelas palavras de apoio, pelo incentivo incondicional, e pelo suporte. Aos meus sogros Tarcisio e Sandra igualmente, e também pela confiança e disponibilidade, pelo espaço cedido em sua residência para a construção mecânica e eletrônica do dispositivo desenvolvido. Sem vocês todos, nada disso seria possível.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Carasek, pelo aprendizado científico e técnico, sua disponibilidade e apoio. Obrigado por transmitir seus amplos conhecimentos, especialmente nas áreas de métodos de separação e preparo de amostras, desde sua questão técnica à resolução de problemas. Agradeço também por ser um exemplo de humanidade, onde durante uma pandemia, se importou enormemente com a saúde de seus orientados.

Aos colegas do laboratório Cromaas pelo compartilhamento de experiências, aprendizados em trabalhos do grupo e auxílio no desenvolvimento da tese.

Agradeço aos amigos da UDESC Joinville (mestres Tiago Vignola, André Vailati, Andrei Vailati e Angelo Apel, e Prof. Dr. Edmar Martendal) pela oportunidade de desenvolver o trabalho em seu laboratório, e pelas muitas horas de discussão técnica, aprendizado coletivo, auxílio nas correções do protótipo e sua construção.

Agradeço especialmente aos professores da banca de defesa de tese, pelas avaliações e preciosas observações e correções que aprimoraram o documento final.

À Ferramentaria Betta pelo auxílio na construção das peças mecânicas desse trabalho.

A todos os professores, técnicos e demais trabalhadores da educação, que permitem que a excelência em educação e pesquisa continue e cresça sempre mais.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Química pelo espaço concedido e oportunidade e pelo ensino público e de qualidade.

Ao CNPq pela bolsa de estudos permitindo dedicação exclusiva durante um grande período do doutorado.

“Cleveland, this is for you!” (JAMES, LeBron, 2016).

RESUMO

Neste trabalho foi proposta a avaliação da aplicabilidade de novas estratégias para mecanização da técnica de extração em ponteiros descartáveis (DPX), através de metodologias de baixo custo. A DPX é uma técnica recente, que tem se apresentado uma ferramenta interessante nas metodologias de preparo de amostra. Ela consiste no uso de um dispositivo patenteado pelo Dr. Willian Brewer em 2003, desenvolvido como uma modificação da SPE convencional. O dispositivo de DPX pode ser entendido como uma ponteira de micropipeta que contém em seu interior certa quantidade de sorvente aprisionado entre dois filtros: um fixo (inferior) e outro que pode ser removido (superior). Seu princípio de funcionamento é baseado em uma mistura dinâmica entre a amostra (matriz) e a fase extratora (sorvente), que permite uma rápida e eficaz extração dos analitos, e assim também permitindo limpeza das amostras. A técnica de DPX tem ampla aplicação, podendo ser utilizada em diferentes matrizes, para determinação de ampla gama de analitos em variadas faixas de concentração, sendo uma técnica em ascensão. O primeiro estudo desta tese apresenta desenvolvimento de aparato para semi-mecanização da técnica de DPX, onde se permite a realização de extrações simultâneas. O aparato chamado de Pa-DPX (DPX paralela) foi construído unindo linearmente cinco seringas tipo Luer Lock. Aplicou-se o novo aparato na determinação da migração de ésteres de ftalato (PAE) de materiais plásticos comuns (brinquedos infantis, material escolar, brinquedos para cães e itens de contato oral) para simulador de saliva, usando cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). As condições otimizadas de extração foram 5 ciclos de extração com 1600 μL de simulador de saliva e dessorção com 200 μL de acetato de etila usando 5 ciclos com a mesma alíquota. As curvas de calibração resultaram em coeficientes de determinação superiores a 0,9915, limites de detecção em 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e limites de quantificação em 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ótimos resultados foram obtidos para repetibilidade (desvio padrão relativo variando de 8,7% a 20,1% para 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) e precisão intermediária, variando o dia das análises (7,9% a 16,2%). A recuperação dos analitos variaram de 75% a 114% para duas amostras diferentes, em quatro níveis diferentes de concentração. O método Pa-DPX-GC-MS foi aplicado com sucesso para determinar a migração de PAE de 21 amostras. Pelo menos um PAE foi detectado em 81% das amostras, e o di-n-octil ftalato foi encontrado em maior concentração, atingindo a migração de quase 30 $\mu\text{g g}^{-1}$. O aparato desenvolvido permitiu desenvolvimento de um método robusto, eficiente e com extrações muito rápidas, com menos de 40 segundos em média. A segunda proposta da tese demonstra a completa mecanização do dispositivo de Pa-DPX. Construiu-se instrumento com materiais reaproveitados e eletrônica de baixo custo, onde o sistema é controlado por um computador. As eficiências mecânica e analítica do sistema foram avaliadas, assim como sua segurança de operação. Este sistema permite a aplicação da técnica de DPX de seis amostras simultâneas, e permitiu análise de ésteres de ftalato em simulador de saliva com bons níveis de precisão (7% a 15% de desvio padrão relativo). Os dispositivos desenvolvidos permitem aumentar a frequência analítica das análises via DPX, além de promover conceitos de Química Analítica Verde, aumentando a segurança do analista e minimizando impactos ambientais.

Palavras-chave: Extração em ponteiros descartáveis. Mecanização de métodos analíticos. Preparo de amostras. Química Analítica Verde.

ABSTRACT

In this work, it was proposed to evaluate the applicability of new strategies for mechanizing the disposable pipette extraction technique (DPX), through low-cost methodologies. DPX is a recent technique that has been presented as an interesting tool in sample preparation methodologies. It consists of the use of a device patented by Dr. Willian Brewer in 2003, developed as a modification of conventional SPE. The DPX device can be understood as a micropipette tip, containing in its interior a certain amount of sorbent trapped between two filters, one fixed (lower) and another that can be removed (upper). Its working principle is based on a dynamic mixture between the sample (matrix) and the extractor phase (sorbent) that allows a fast and efficient extraction of the analytes, allowing the cleaning of the samples. The DPX technique has wide application, and can be used in different matrices, for the determination of a wide range of analytes in different concentration ranges, being a growing technique. The first study of this work presents the development of an apparatus (Pa-DPX) for semi-mechanization of the technique, which allows simultaneous extractions. The apparatus was constructed by linearly joining five Luer Lock syringes. The new apparatus was applied to determine the migration of phthalate esters from common plastic materials (children's toys, school supplies, dog toys and oral contact items) to saliva simulator, using gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). The optimized conditions were 5 cycles of extraction with 1600 μL of saliva simulant and desorption with 200 μL of ethyl acetate using 5 cycles with the same aliquot. Calibration curves resulted in determination coefficients greater than 0.9915, detection limits at 1.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ and quantitation limits at 5.0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Excellent results were obtained for repeatability (relative standard deviation ranging from 8.7% to 20.1% for 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) and intermediate precision, varying the day of analysis (7.9% to 16.2%). The analyte recovery ranged from 75% to 114% for two different samples at four different concentration levels. The Pa-DPX-GC-MS method was successfully applied to determine the PAE migration of 21 samples. At least one PAE was detected in 81% of the samples, and di-n-octyl phthalate was found in the highest concentration, reaching a migration of almost 30 $\mu\text{g per g}$ of sample. The developed apparatus allowed the development of a robust, efficient method with very fast extractions, on average less than 40 seconds. The second proposal demonstrates the complete mechanization of the Pa-DPX device. An instrument was built with reused materials and low-cost electronics, where the system is controlled by a computer. The mechanical and analytical efficiency of the systems was evaluated, as well as its operational safety. This system allows the application of the DPX technique to six simultaneous samples, and allowed the analysis of phthalate esters in a saliva simulator with excellent levels of precision (7% to 15% of relative standard deviation). The developed devices make it possible to increase the analytical frequency of analyzes via DPX, in addition to promoting Green Analytical Chemistry concepts, increasing analyst safety and minimizing environmental impacts.

Keywords: Disposable pipette extraction. Mechanization of analytical methods. Sample preparation. Green Analytical Chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da sequência de etapas do processo analítico.....	20
Figura 2. Distribuição aproximada do tempo gasto em laboratório para uma análise.....	21
Figura 3. Visão geral da ponteira de DPX.....	26
Figura 4. Fotografias de diferentes ponteiras de DPX.....	27
Figura 5. Exemplificação da mistura dispersiva na extração via DPX.....	28
Figura 6. Procedimento experimental geral do método DPX.....	29
Figura 7. Ilustração das estratégias de automatização/mecanização do preparo de amostra....	31
Figura 8. Ilustração do funcionamento de braço robótico para coleta de amostra e análise tridimensional via espectrometria de massas.....	33
Figura 9. Apresentação do microcontrolador Arduino Uno e CNC Shield, nas formas individuais e montada.....	38
Figura 10. Representação e descrição do dispositivo desenvolvido em (a) posição de carga e (b) posição de descarga.....	42
Figura 11: Fotografias do dispositivo desenvolvido.....	42
Figura 12. Gráfico de contorno do planejamento simplex-centróide, modelo quadrático ($R^2 = 0,974$), para a otimização do solvente de dessorção.....	48
Figura 13. Superfície de resposta do planejamento Doehlert, modelo quadrático ($R^2 = 0,986$), para a otimização da condição de dessorção.....	49
Figura 14. Superfície de resposta ajustada usando um projeto Doehlert, modelo quadrático ($R^2 = 0,962$), para a otimização da etapa de extração.....	50
Figura 15. Gráfico de Lenth para a avaliação de robustez do método Pa-DPX-GC-MS.....	51
Figura 16. Cromatogramas de sobreposição dos principais fragmentos dos analitos na análise da migração de PAE via Pa-DPX-GC-MS em amostras de brinquedos infantis.....	52
Figura 17: Representação das ligações entre os cabos dos motores de passo na CNC Shield.	62
Figura 18. Representação da base do protótipo e de sua torre de sustentação.....	64
Figura 19. Representação da base de sustentação do aparato de Pa-DPX.....	64
Figura 20. Representação do aparato de Pa-DPX e sua localização no protótipo.....	65
Figura 21. Representação do porta amostras e sua localização no protótipo.....	66
Figura 22. Exemplo de movimentação da Pa-DPX no eixo Z.....	67
Figura 23. Exemplo de movimentação da Pa-DPX para aspiração/ejeção da amostra.....	68

Figura 24. Exemplo de movimentação da Pa-DPX no eixo X.....	68
Figura 25. Fim de curso para o eixo Z.....	72
Figura 26. Fim de curso para os motores do eixo Y.....	73
Figura 27. Fim de curso para o motor X.....	73
Figura 28. Novo porta amostra (em preto) sobre a placa inicial (PEAD, em branco) e frascos de PP utilizados para extração e dessorção.....	74
Figura 29. Visão do interior da caixa controladora do protótipo.....	75
Figura 30. Caixa controladora com o botão de emergência em foco.....	76
Figura 31. Protótipo em sua versão final.....	77
Figura 32. Operação do protótipo na extração de amostras de água.....	78
Figura 33. Visão detalhada dos motores e cabeamento.....	78
Figura 34. Fluxograma de funcionamento do código do projeto (em caixas pretas as atividades do sistema, e em laranja as atividades que o usuário executa).....	79
Figura 35. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 1.....	80
Figura 36. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 2.....	80
Figura 37. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 3.....	81
Figura 38. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 4.....	81
Figura 39. Avaliação da variação de temperatura dos motores de passo e da placa controladora com o tempo de uso do instrumento.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos 12 princípios da Química Analítica Verde.....	19
Tabela 2: Descrição das características dos principais elementos de hardware para prototipação.....	36
Tabela 3. Analitos, suas abreviações e informações.....	40
Tabela 4: Matriz de experimentos para avaliação do solvente de dessorção (composição do solvente de dessorção).....	44
Tabela 5: Matriz de experimentos para otimização da etapa de dessorção.....	44
Tabela 6: Matriz de experimentos para otimização da etapa de extração.....	45
Tabela 7. Descrição das condições experimentais para o teste de avaliação da robustez do método.....	46
Tabela 8. Parâmetros analíticos de mérito (limites de detecção e quantificação, coeficientes de correlação, faixa linear e precisão) para o método desenvolvido.....	53
Tabela 9. Resultados de recuperações nas duas amostras analisados com o método desenvolvido.....	53
Tabela 10. Comparação com outros métodos na literatura.....	55
Tabela 11. Resultados da aplicação do método nas 21 amostras diferentes.....	57
Tabela 12. Código Arduino responsável pelo funcionamento do protótipo.....	82
Tabela 13. Avaliação dos tempos de extração para cada combinação de número de ciclos de extração e de dessorção.....	87
Tabela 14. Análise de precisão do dispositivo eletromecânico em método analítico.....	89
Tabela 15. Descrição dos componentes utilizados para produzir o instrumento de mecanização da DPX e seus respectivos valores no momento da compra (meados de 2020).....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3D	Tridimensional (3 dimensões)
ACN	Acetonitrila
AcOEt	Acetato de etila
BBP	Ftalato de benzilbutila, do inglês <i>benzyl butyl phthalate</i>
CFA	Análise contínua em fluxo, do inglês <i>continuous flow analysis</i>
CNC	Controle numérico computadorizado, do inglês <i>Computer numeric control</i>
CPU	Unidade Central de Processamento, do inglês <i>Central Processing Unit</i>
DART	Análise direta em tempo real, do inglês <i>direct analysis in real time</i>
DBP	Ftalato de dibutila, do inglês <i>dibutyl phthalate</i>
DEHP	Ftalato de bis 2-etilhexila, do inglês <i>bis(2-ethylhexyl) phthalate</i>
DEP	Ftalato de dietila, do inglês <i>diethyl phthalate</i>
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês <i>dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DMIMs-SPE	Extração em fase sólida de microesferas com impressão molecular, do inglês <i>dummy molecularly imprinted microbeads solid-phase extraction</i>
DMP	Ftalato de dimetila, do inglês <i>dimethyl phthalate</i>
DNOP	Ftalato de di-n-octila, do inglês <i>di-n-octyl phthalate</i>
DPX	Extração em ponteiros descartáveis, do inglês <i>disposable pipette extraction</i>
DPX-RP	DPX Fase reversa
DSPE	Extração em fase sólida dispersiva, do inglês <i>dispersive solid phase extraction</i>
FIA	Análise de injeção em fluxo, do inglês <i>flow-injection analysis</i>
GAC	Química Analítica Verde, do inglês <i>Green Analytical Chemistry</i>
GC-MS	Cromatografia a gás com detector espectrometria de massas, do inglês <i>gas chromatography-mass spectrometry</i>
GC-FID	Cromatografia a gás acoplada a detector de ionização em chama, do inglês <i>Gas chromatography-flame ionization detector</i>
GPIO	Entrada/Saída de Uso Geral, do inglês <i>General Purpose Input/Output</i>
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos, do inglês <i>high performance liquid chromatography-diode array detector</i>

HPLC-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta, do inglês <i>high performance liquid chromatography- ultraviolet detector</i>
IDE	Ambiente de desenvolvimento integrado, do inglês <i>integrated development environment</i>
IoT	Internet das coisas, do inglês <i>Internet of Things</i>
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LED	Diodo emissor de luz, do inglês <i>light-emitting diode</i>
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês <i>liquid-liquid extraction</i>
LOD	Limite de detecção, do inglês <i>limit of detection</i>
LOQ	Limite de quantificação, do inglês <i>limit of quantification</i>
MCB	Placa microcontrolada, do inglês <i>microcontrolled board</i>
MDF	Chapa de fibra de madeira de média densidade, do inglês <i>Medium density fiber</i>
MeOH	Metanol
MSPE	Extração em fase sólida magnética, do inglês <i>magnetic solid phase extraction</i>
NEMA	Associação Nacional de Fabricantes Elétricos, do inglês <i>National Electrical Manufacturers Association</i>
Pa-DPX	DPX Paralela, do inglês <i>Parallel DPX</i> .
PAE	Ésteres do ácido ftálico (ftalatos), do inglês <i>phthalic acid ester</i>
PCB	Placa de circuito impresso, do inglês <i>printed circuit board</i>
PEAD	Poletileno de alta densidade
PFSPE	Extração em fase sólida de fibra empacotada, do inglês <i>packed-fiber solid-phase extraction</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
POP	Procedimento Operacional Padrão
PWM	Modulação de largura de pulso, do inglês <i>pulse-width modulation</i>
RAM	Memória de acesso aleatório, do inglês <i>random access memory</i>
ROM	Memória somente para leitura, do inglês <i>Read-Only Memory</i>
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês <i>relative standard deviation</i>
SBC	Computador de placa única, do inglês <i>single-board computer</i>
SD	Desvio padrão, do inglês <i>standard deviation</i>
SPE	Extração em fase sólida, do inglês <i>solid phase extraction</i>

SPME Microextração em fase sólida, do inglês *solid phase microextraction*

SRAM Memória de acesso aleatório estática, do inglês *static random access memory*

Stir-bead- μ SPE Micro-extração de fase sólida de agitação, do inglês *stir-bead micro-solid phase extraction*

UA-DLLME Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom, do inglês *ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction*

USB Porta universal, do inglês *Universal Serial Bus*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1 QUÍMICA ANALÍTICA VERDE.....	18
3.2 O PROCESSO ANALÍTICO.....	19
3.3 PREPARO DE AMOSTRAS.....	21
3.3.1 Extração líquido-líquido.....	23
3.3.2 Extração em fase sólida.....	24
3.3.3 Tendência de miniaturização.....	25
3.3.4 Extração em Ponteira Descartável.....	26
3.4 AUTOMATIZAÇÃO E MECANIZAÇÃO EM QUÍMICA ANALÍTICA.....	30
3.4.1 Uso de robótica de baixo custo em Química Analítica.....	33
3.4.2 Hardware.....	34
3.4.3 Plataforma Arduino.....	37
4 DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE EXTRAÇÃO EM PONTEIRAS DESCARTÁVEIS SIMULTÂNEAS (Pa-DPX).....	39
4.1 INTRODUÇÃO.....	39
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.2.1 Reagentes e materiais.....	40
4.2.2 Instrumentação.....	41
4.2.3 Dispositivo de DPX simultâneas (Pa-DPX).....	41
4.2.4 Otimização do método.....	43
4.2.5 Robustez.....	45
4.2.6 Parâmetros analíticos de mérito.....	47

4.2.7 Aplicação do método.....	47
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47
4.3.1 Solvente de dessorção.....	47
4.3.2 Ciclos de dessorção e volume AcOEt.....	48
4.3.3 Ciclos de extração e volume de amostra.....	50
4.3.4 Robustez do método.....	51
4.3.5 Parâmetros analíticos de mérito.....	51
4.3.6 Comparação com a literatura.....	54
4.3.7 Aplicação a amostras reais.....	56
4.4 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	58
5 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMA MECANIZADO DE BAIXO CUSTO PARA EXECUÇÃO DE EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DESCARTÁVEL PARALELA.....	60
5.1 INTRODUÇÃO.....	60
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	60
5.2.1 Instrumentos e reagentes.....	60
5.2.2 Construção do protótipo.....	61
5.2.3 Configuração elétrica e eletrônica.....	61
5.2.4 Configuração e estrutura mecânica.....	63
5.2.5 Programação do protótipo.....	69
5.2.6 Avaliação da robustez do protótipo – Tempos de extração.....	69
5.2.7 Avaliação da robustez do protótipo – Comportamento térmico do sistema.....	69
5.2.8 Avaliação da robustez do protótipo – Eficiência analítica.....	70
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	70
5.3.1 Construção do protótipo.....	70
5.3.2 Programação do protótipo.....	79
5.3.3 Avaliação da robustez do protótipo – Tempos de extração.....	86

5.3.4 Avaliação da robustez do protótipo – Comportamento térmico do sistema.....	88
5.3.5 Avaliação da robustez do protótipo – Eficiência analítica.....	89
5.4 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	90
6 CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS.....	93
REFERÊNCIAS.....	94
APÊNDICE A – Informações das amostras utilizadas na aplicação do método Pa-DPX.....	101
APÊNDICE B – Informações complementares sobre os dispositivos alternativos desenvolvidos para melhoria do projeto de Pa-DPX.....	103
APÊNDICE C – Procedimento operacional padrão Pa-DPX mecanizada... 	110
APÊNDICE D – Material digital para visualização do instrumento mecanizado.....	118
APÊNDICE E – Fotografias do novo instrumento em desenvolvimento.....	119
APÊNDICE F – Resumo da produção científica no período de doutorado..	123

1 INTRODUÇÃO

Discussões sobre mudanças climáticas, poluição ambiental e seus riscos para a saúde humana, vegetal e animal têm crescido significativamente nos últimos anos. Frente a essa condição, a ciência Química se mostra ainda mais importante, seja estudando alternativas para fontes limpas de energia, para a diminuição na produção de resíduos e esforços para sua remediação, ou para análise do ambiente (SOUZA et al., 2020). Dentro deste contexto, a Química Analítica ocupa importante posição, mediando evoluções e resultados dos diversos campos da Química (KAYA; CETINKAYA; OZKAN, 2022; SAJID; PŁOTKA-WASYLKA, 2022).

Os laboratórios de análise apresentam papel essencial na proteção ambiental, desenvolvendo e aplicando estratégias para o monitoramento de poluentes, fornecendo informações importantes e fidedignas sobre a concentração dos mais variados compostos na natureza, seja em água, ar, solo ou amostras biológicas.

Estas atividades, embora essenciais, não vêm sem custo: muitas vezes empregam uso de muitos reagentes e solventes, e acabam por gerar ainda mais resíduos, que podem agravar o problema de poluição ambiental. Assim, a atividade analítica requer ainda mais atenção, visando o máximo de qualidade em relação aos resultados que ela busca, sendo estes obtidos por caminhos seguros e gerando menor impacto possível (LÓPEZ-LORENTE et al., 2022).

Historicamente dentro do processo analítico, a etapa que mais consome tempo, reagentes e solventes é o preparo de amostras. Métodos clássicos como a extração líquido-líquido e extração em fase sólida são exemplos de técnicas de preparo de amostras. Muito utilizadas desde o século passado, estas técnicas vêm dando espaço para outras que consomem menos tempo de análise, utilizam de menor quantidade de amostra, reagentes e solventes, sendo assim mais ambientalmente amigáveis (PAWLISZYN, 2012).

Estas técnicas, geralmente de microextração, estão sendo amplamente estudadas e aprimoradas, na maioria das vezes indo ao encontro dos princípios da Química Analítica Verde (e conseqüentemente da Química Verde), tornando-se técnicas cada vez mais seguras ao analista, com menor exposição a reagentes tóxicos, menor geração de resíduos e maior agilidade (IMAM; ABDELRAHMAN, 2023).

Dentre estas técnicas, encontra-se a extração em ponteiros descartáveis (DPX, do inglês *disposable pipette extraction*). Mesmo tendo sido desenvolvida há mais de uma década,

esta técnica ainda é pouco explorada, se comparada a outras técnicas como a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*), a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) e as extrações em fase sólida dispersiva e magnética (DSPE e MSPE, respectivamente do inglês *dispersive solid phase extraction* e *magnetic solid phase extraction*).

A técnica de DPX apresenta vantagens como: fácil execução, baixo custo e baixo consumo de amostras e solventes, que aliados à diversidade de seletividade de suas fases extratoras a faz muito aplicável a diversas amostras, sejam ambientais ou biológicas. Um dos pontos mais altos é sua possibilidade de mecanização ou automatizaçã¹, já desenvolvida por empresas do ramo. No entanto, o alto custo destes instrumentos por vezes inviabiliza sua utilização na maioria dos laboratórios (CARASEK; MORÉS; HUELSMANN, 2022).

Uma alternativa para unir as vantagens de mecanizações e da DPX, é a utilização de robótica *open-source* (código aberto) em dispositivos feitos no laboratório, que podem sanar deficiências e promover o desenvolvimento de métodos mais seguros, sustentáveis e precisos (CADEADO et al., 2022).

¹Embora cotidianamente mais difundida, a tarefa de automatização não se refere diretamente a mecanização de ações de forma automática. De acordo com o Gold Book da IUPAC, o termo automatização em análise química se refere a mecanização com controle de processos (sequência de manipulações, uma ou várias funções), enquanto mecanização é referente ao uso de dispositivos para substituir, refinar, ampliar ou complementar o esforço humano. Dessa forma, automatização é mais ampla e envolve tomada de decisões, enquanto a mecanização se refere à realização de tarefas físicas. Assim, os trabalhos desenvolvidos nesta tese se referem à mecanização de análise química.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e avaliar a mecanização de baixo custo de estratégias de preparo de amostras baseadas na extração em ponteiras descartáveis, de modo eficiente e seguro, para aplicações em análises ambientais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e avaliar potencialidade de um novo dispositivo, elaborado com material de baixo custo, para execução simultânea de mais de uma extração via DPX.
- Aplicar o aparato criado no desenvolvimento, otimização, validação e aplicação de método analítico para análise de migração de ésteres de ftalato de matrizes plásticas cotidianas em simulador de saliva.
- Desenvolver instrumento mecanizado para aplicação da técnica de extração em ponteiras descartáveis, com materiais simples e programação *open-source*.
- Avaliar as potencialidades e limitações do instrumento de mecanização total da DPX, como alternativa a outros métodos de análise.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 QUÍMICA ANALÍTICA VERDE

A preocupação e o interesse com o meio ambiente estão em constante crescimento (ELSHEIKH et al., 2023; KAYA; CETINKAYA; OZKAN, 2022). Conhecidos os impactos do desenvolvimento científico, tecnológico e industrial, fez-se necessária uma profunda reflexão na atividade e importância de trabalho da Química, desenvolvendo-se os conceitos de Ecologia Química, Química Verde e Métodos Analíticos Limpos, que originaram a atual Química Analítica Verde (ARMENTA; GARRIGUES; DE LA GUARDIA, 2008).

Para entender o conceito de Química Analítica Verde (GAC, do inglês *Green Analytical Chemistry*), é interessante esclarecer dois termos que o compõe: Química Analítica e Química Verde.

A Química Analítica pode ser entendida como a área da ciência que desenvolve instrumentos, aplica métodos e estratégias para obter informações químicas (e bioquímicas) sobre a composição da natureza e da matéria (KELLNER et al., 2004).

A Química Verde é uma abordagem no projeto de produtos e processos e no uso de produtos químicos que reduzem os riscos para os seres humanos e o meio ambiente (ANASTAS, 1999; IMAM; ABDELRAHMAN, 2023).

Assim, GAC pode ser compreendida como um conceito ao avanço da Química Analítica, pela execução de seus processos através dos princípios da Química Verde. Os objetivos a serem atingidos pela GAC podem ser resumidos da seguinte forma (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013):

- (1) eliminar ou pelo menos reduzir o uso de substâncias químicas,
- (2) minimizar consumo de energia
- (3) gerenciar os resíduos adequadamente
- (4) proporcionar maior segurança ao analista (operador)

Estes objetivos se encontram nos 12 princípios da GAC, desenvolvidos para complementar os outros 12 princípios inicialmente descritos para a Química Verde (Tabela 1). A diferença entre os dois é o foco maior na questão do processo analítico.

Tabela 1. Descrição dos 12 princípios da Química Analítica Verde

1	Uso de métodos diretos
2	Redução do número e tamanho de amostras
3	Priorizar medições <i>in situ</i>
4	Integrar processos e operações
5	Selecionar métodos automatizados e miniaturizados
6	Evitar derivatização
7	Minimizar geração de resíduos, e condicionar este adequadamente
8	Aplicar métodos multianalito e multi-parâmetro
9	Reduzir o uso de energia
10	Preferir reagentes de fontes renováveis
11	Trocar ou eliminar reagentes e solventes tóxicos
12	Aprimorar a segurança do analista

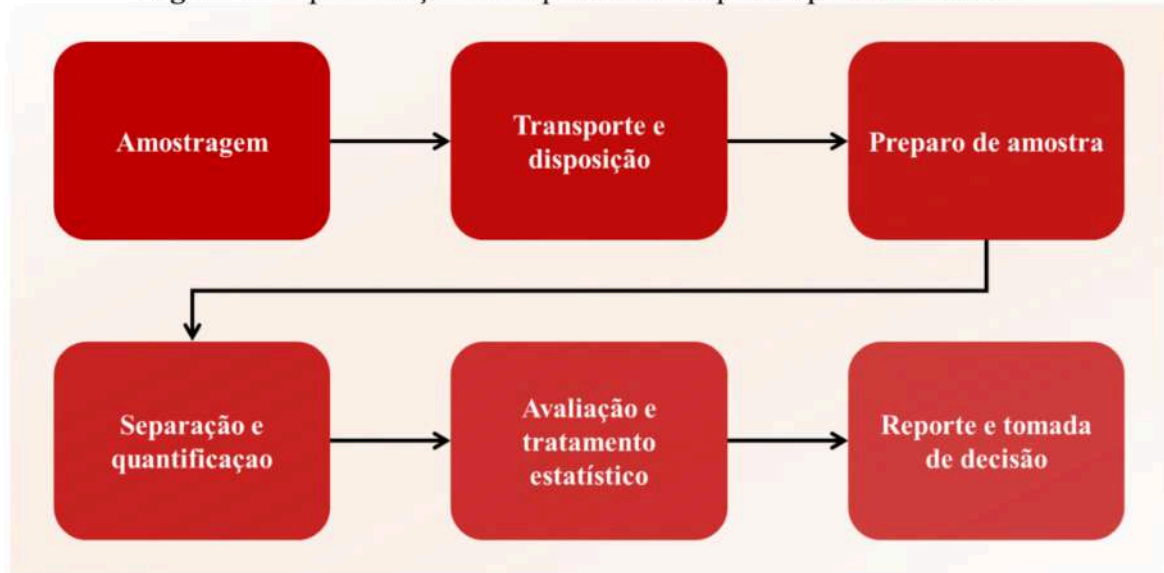
Elaborado pelo autor (2023) baseado em Gałuszka, Migaszewski e Namieśnik (2013)

O cerne da GAC está nas reduções: as propostas envolvem reduzir tamanhos de amostra, uso de reagentes, geração de resíduos, assim como os perigos aos quais o analista está exposto. Um problema para a aplicação completa da GAC é a necessidade de encontrar um compromisso entre seus requerimentos e a *performance* dos parâmetros analíticos. Alguns dos doze princípios podem, por exemplo, afetar a exatidão, precisão e sensibilidade do método analítico. Desta forma, o desafio dos químicos analíticos não está apenas em aplicar os princípios da GAC, mas conseguir fazer isso de maneira a não perder a qualidade dos dados a serem obtidos.

3.2 O PROCESSO ANALÍTICO

Um procedimento analítico para amostras complexas consiste em várias etapas, que tipicamente incluem: amostragem, transporte e disposição, preparo de amostras, separação, quantificação, avaliação e tratamento estatístico, reporte e tomada de decisões. A Figura 1 permite compreender a relação entre todas estas etapas. Cada uma delas é crítica na obtenção de resultados (PAWLISZYN, 2012).

Figura 1. Representação da sequência de etapas do processo analítico



Elaborado pelo autor (2023)

A amostragem inclui decisão de local de coleta, de modo a caracterizar adequadamente o problema ou objeto, e escolhendo a forma de coletar quantidade correta de amostra, sendo esta suficientemente representativa do todo (HARRIS, 2016).

A etapa de transporte e disposição das amostras deve ser feita de maneira ágil e de forma a não alterar a composição da amostra, sem produzir artefatos e perder analitos.

O preparo de amostra tem por objetivo o isolamento dos componentes de interesse a partir da matriz da amostra, visto que a maioria dos instrumentos analíticos não são adequados para trabalhar diretamente com as amostras (ROUESSAC; ROUESSAC, 2007). Esta etapa inclui a limpeza de amostras complexas, trazendo a concentração dos analitos a níveis suscetíveis de detecção e quantificação (PAWLISZYN, 2011). No preparo de amostra também pode ser necessário o mascaramento e/ou remoção de espécies que interfiram na análise (HARRIS, 2016).

A etapa de separação do processo analítico consiste geralmente na aplicação de métodos cromatográficos ou eletroforéticos, para subsequente identificação e quantificação dos analitos. A identificação/quantificação pode ser realizada por meio de comparação com padrões e/ou por meio de métodos espectrométricos, como a espectrometria de massas (PAWLISZYN, 2011).

A avaliação e o tratamento estatístico dos resultados fornecem estimativas de concentração dos analitos na amostra, que permitem posterior reporte para tomada de decisões, como futuras investigações ou finalização das conclusões (HARRIS, 2016).

Uma importante observação, como enfatizado na Figura 1, indica que as etapas do processo analítico são subsequentes, onde uma etapa não pode ser executada sem a finalização da outra. Assim, as etapas lentas se tornam gargalos na obtenção dos resultados, e acelerando a velocidade de um processo individual, não significa aumento de rendimento. De mesma forma, erros em qualquer uma das etapas resultam em erro final (PAWLISZYN, 2011).

3.3 PREPARO DE AMOSTRAS

Uma vez entendido o processo analítico, o foco deste documento será o preparo de amostras. Inúmeros autores citam este como uma etapa crucial (BURATO et al., 2020; VYVIURSKA; ŠPÁNIK, 2020), muito laboriosa, tediosa e lenta, sendo estimada que pode representar cerca de 60% a 80% do tempo total da análise (ANDRADE-EIROA et al., 2016). A Figura 2 exemplifica a distribuição do tempo gasto em laboratório para obtenção da informação desejada de uma determinada amostra.

Figura 2. Distribuição aproximada do tempo gasto em laboratório para uma análise



Elaborado pelo autor (2023) com base em Andrade-Eiroa e colaboradores (2016) e Pawliszyn (2011)

O preparo de amostra é um dos momentos onde o analista mais se expõe aos perigos das amostras, de solventes e reagentes químicos, muitas vezes tóxicos. Assim, busca-se nesta etapa maior agilidade, com uso de métodos seguros: mínimo uso de reagentes e solventes, mínima exposição do analista, numa estratégia de baixo custo e alta eficiência (LÓPEZ-LORENTE et al., 2022; ZHU et al., 2023).

Reconhece-se que a situação ideal envolve mínimo contato humano na análise, onde o instrumento obtém dados diretamente no local onde a amostra está disposta. Como ainda nem toda análise pode ser realizada assim (na verdade, uma mínima quantidade), situações de excelência envolvem miniaturização, automação e hifenação de técnicas de preparo de amostra com análise instrumental (PAWLISZYN, 2011).

Um preparo de amostra ideal extrai seletivamente os analitos, eliminando interferentes, com alta eficiência (recuperação), proporcionando adequação do extrato ao sistema instrumental, e protegendo o mesmo de deterioração causada pela amostra (VYVIURSKA; ŠPÁNIK, 2020).

Entre as técnicas de preparo de amostra, uma das mais antigas é a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*), que faz parte de diversos métodos oficiais internacionais e locais. É uma técnica muito simples, altamente aplicável em variadas amostras para diversos analitos, apresentando ótima reprodutibilidade e recuperações. Entretanto, a LLE necessita de grande volume de solventes, o que vai contra os princípios de Química Analítica Verde (PŁOTKA-WASYLKA; NAMIEŚNIK, 2019).

Nos últimos 20 anos, a LLE foi sendo amplamente substituída pela extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid-phase extraction*). A SPE utiliza sorventes sólidos como meio de pré-concentração, enquanto analitos de interesse são sorvidos, impurezas passam através da fase e são descartadas. Os analitos são então dessorvidos com uso de eluente adequado. Neste caso, volumes de solvente são sensivelmente menores que os usados em LLE, mas ainda não ideal (VYVIURSKA; ŠPÁNIK, 2020). Juntas, LLE e SPE são as técnicas convencionais mais conhecidas e utilizadas em análises químicas (BURATO et al., 2020; KATAOKA, 2021).

Métodos atuais focam majoritariamente na miniaturização destas técnicas, além de sua automatização ou mecanização. Em geral, esses novos métodos se baseiam nos métodos clássicos (convencionais), com minimização do tamanho (volume) das amostras, dos aparatos necessários e de acordo com o conceito de ser ambientalmente amigável reduzindo o volume de solventes (KAILASA et al., 2021).

3.3.1 Extração líquido-líquido

A LLE é uma das técnicas das mais antigas técnicas utilizadas na química, em extensas aplicações, que envolve a separação de componentes de uma mistura, com intuito de concentrar determinados componentes ou para limpeza, na remoção de interferentes (CLEMENT; HAO, 2012). Sua definição, de acordo com a IUPAC é a seguinte: “o processo de transferência de uma substância dissolvida de uma fase líquida para outra fase líquida (imiscível ou parcialmente miscível) em contato com ela”.

A LLE é então um processo de distribuição, onde substâncias se dividem entre dois líquidos imiscíveis (ou parcialmente miscíveis). O caráter dessa distribuição se dá de acordo com características dos dois solventes, assim como, da individualidade de cada composto ou substância a ser separada. A maneira mais comum de execução de LLE é com uma fase aquosa, e uma fase orgânica. Outros nomes para esta técnica são: extração por solvente e partição por solvente (CLEMENT; HAO, 2012).

A termodinâmica do processo é definida pela constante de distribuição da fase-extratora/matriz (a constante de distribuição também é chamada de coeficiente de distribuição, taxa de partição, coeficiente de partição ou constante de partição). Quando um líquido é utilizado para extração, a constante de distribuição (K_{es} , Equação 1) define as condições de equilíbrio e conseqüentemente o fator de enriquecimento permitido para determinada técnica (PAWLISZYN, 2012).

$$K_{es} = \frac{a_e}{a_s} = \frac{C_e}{C_s} \quad \text{Equação 1}$$

a_e e a_s são as atividades do analito nas fases extratora e amostra, respectivamente. Considerando situações ideais, pode-se aproximar as atividades como a concentração nas fases descritas (C_e e C_s).

A constante de distribuição depende de variados parâmetros, como temperatura e pressão, além de condições da amostra como pH e concentração de sais (força iônica). Dessa forma, para encontrar uma condição ideal de extração, deve-se otimizar estes parâmetros (PAWLISZYN, 2012).

A possibilidade de executar extrações em múltiplos estágios é uma das maiores vantagens da LLE, o que pode garantir alta eficiência de extração, e conseqüentemente, alta pureza dos extratos. Esta técnica apresenta a flexibilidade de trabalhar em diferentes condições de operação, como alterações do pH e força iônica da amostra, e uso de diferentes volumes e tipos de solvente na extração.

As escalas de trabalho da LLE podem ser desde pequenos volumes como mililitros, até macrovolumes que superam toneladas de material. Obviamente, o trabalho com grandes volumes de solvente é uma desvantagem da técnica, sendo elas muitas vezes lentas e que necessitam de intensidade de trabalho. Um problema muito citado para LLE é a formação de emulsões, que dificulta em grande proporção a execução da mesma (CLEMENT; HAO, 2012).

3.3.2 Extração em fase sólida

A SPE se tornou muito popular no preparo de amostras. Suas maiores vantagens são a menor quantidade de solvente requerida frente a LLE. Na SPE, um cartucho (geralmente polimérico) é utilizado para acondicionar partículas adsorptivas de fase estacionária, assim como para servir de reservatório para a amostra. O cartucho é colocado num sistema de vácuo, utilizado para eluir amostra e solventes pelo cartucho.

Primeiramente a fase estacionária é lavada e ativada pela adição de solventes (geralmente entre 1 e 3 mL de cada solvente), no processo de condicionamento, essencial para evitar a canalização (processo em que amostra passa pelo cartucho por canais, sem interagir efetivamente com a fase estacionária). A matriz (amostra) é então adicionada ao cartucho, e lentamente passada pela fase estacionária, onde diversas interações ocorrem, como adsorção e partição. Após passagem da amostra, executa-se uma limpeza, para então eluição dos analitos com solvente adequado (geralmente 1 a 2 mL), em um tubo colocado abaixo do cartucho de SPE. Este solvente é frequentemente evaporado com fluxo de gás nitrogênio e calor, de modo a melhorar a sensibilidade pela ressuspensão do extrato em menor volume de solvente (0,1 mL).

A SPE se desenvolveu a partir da cromatografia clássica, onde o uso de meio adsorvente separa compostos (analitos) de acordo com suas diferentes afinidades com o meio (LIŠKA, 2000; SIMPSON, 2000; THURMAN; MILLS, 1998). A cromatografia clássica

(cunhada inicialmente por Tswett em 1906) muito se desenvolveu no século XX. Um marco em sua expansão foi o trabalho de Martin e Synge (laureados em 1952 com o prêmio Nobel de Química) sobre cromatografia de partição, em 1941. Estes pesquisadores aderiram água (solvente polar) por adsorção em sílica gel, e passaram um segundo solvente (clorofórmio modificado com etanol) como fase móvel para separar derivados de aminoácidos. Nestes sistemas, a separação cromatográfica não envolvia mais somente adsorção, mas também a partição dos analitos entre duas fases líquidas (MARTIN; SYNGE, 1941).

Alguns anos depois, Howard e Martin (1950) publicaram o primeiro uso que se conhece como cromatografia em fase reversa: em vez de usar uma fase estacionária polar (como sílica e carbonato de cálcio), opta-se por uma fase apolar para sorver compostos apolares. Estes pesquisadores trataram sílica com diclorodimetilsilano, modificando a polaridade da superfície dela. Assim, a fase estacionária pôde reter n-octano saturado com metanol, particionando os analitos (ácidos graxos de cadeia longa) com a fase móvel aquosa (com 20% de metanol) (HOWARD; MARTIN, 1950; THURMAN; MILLS, 1998).

3.3.3 Tendência de miniaturização

Embora a SPE tenha trazido avanços perante a LLE, ela também tem suas desvantagens: o grande volume de amostra necessário, aliado à grande quantidade de fase sólida, e à tendência de o cartucho ser descartável, tornam a técnica oposta aos principais chamados da Química Analítica Verde. Frente a isso, diversas técnicas de microextração foram desenvolvidas nas últimas décadas, cada qual apresentando suas vantagens diante das técnicas clássicas. Técnicas de microextração têm como benefícios serem fáceis de usar, acessíveis, rápidas de extrair e muito promissoras aplicações (KAILASA et al., 2021; KAMAL EL-DEEN et al., 2023).

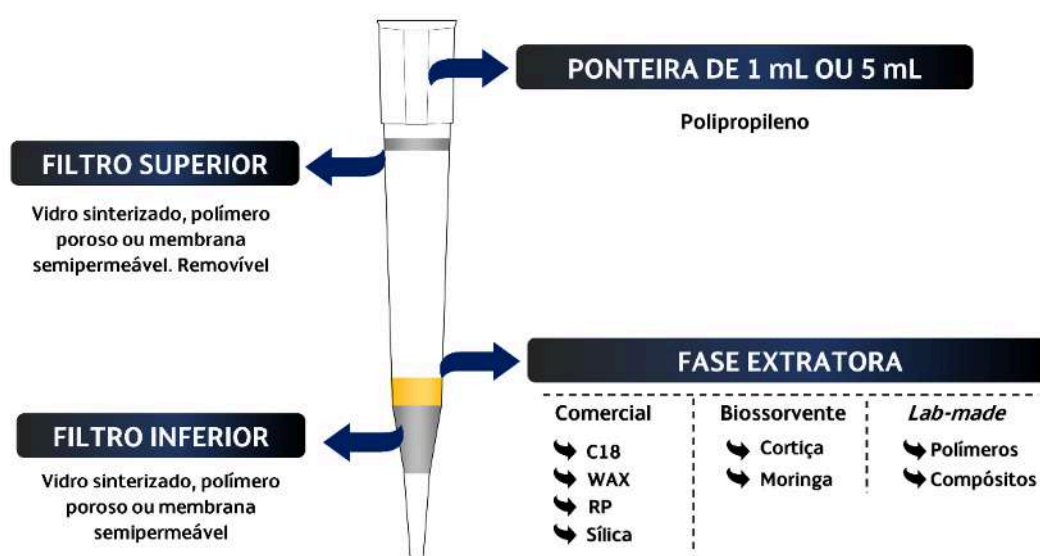
Destaca-se a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid-phase microextraction*) desenvolvida por Pawlyszin em 1990 (KATAOKA, 2021) e atualmente muito empregada em variadas áreas, assim como a extração em fase sólida dispersiva (DSPE, do inglês *dispersive solid-phase extraction*) e extração em fase sólida magnética (MSPE, do inglês *magnetic solid-phase extraction*), que permitem uso de menor massa de fase extratora, sendo esta frequentemente reutilizada sem perda de eficiência (SOARES et al., 2023). Uma das técnicas mais recentes é a extração em ponteiros descartáveis (DPX, do inglês *disposable*

pipette extraction), que une benefícios da SPE em um formato compacto e de simples uso (BORDIN et al., 2023; GOMES et al., 2022).

3.3.4 Extração em Ponteira Descartável

A técnica de extração em ponteira descartável (DPX) foi desenvolvida e patenteada pelo Dr. William Brewer (Universidade da Carolina do Sul, Estados Unidos da América, 2003), sendo uma modificação da técnica SPE (BREWER, 2003). Enquanto esta clássica estratégia consiste no uso de um cartucho que contém a fase extratora sólida compactada, exigindo frequentemente uso de bomba de vácuo para eluição da amostra através do cartucho, o aparato da DPX consiste numa simples ponteira típica de micropipetadores, adaptada com uso de dois filtros (um inferior, fixo, e outro superior, removível), que retêm em seu interior uma fase extratora sólida, que desta vez não fica compactada, e sim livre para se dispersar na amostra quando requerida. Uma visão geral da ponteira de DPX pode ser encontrada na Figura 3, e algumas fotos de exemplo na Figura 4.

Figura 3. Visão geral da ponteira de DPX.



Elaborado pelo autor (2023)

Figura 4. Fotografias de diferentes ponteiros de DPX.

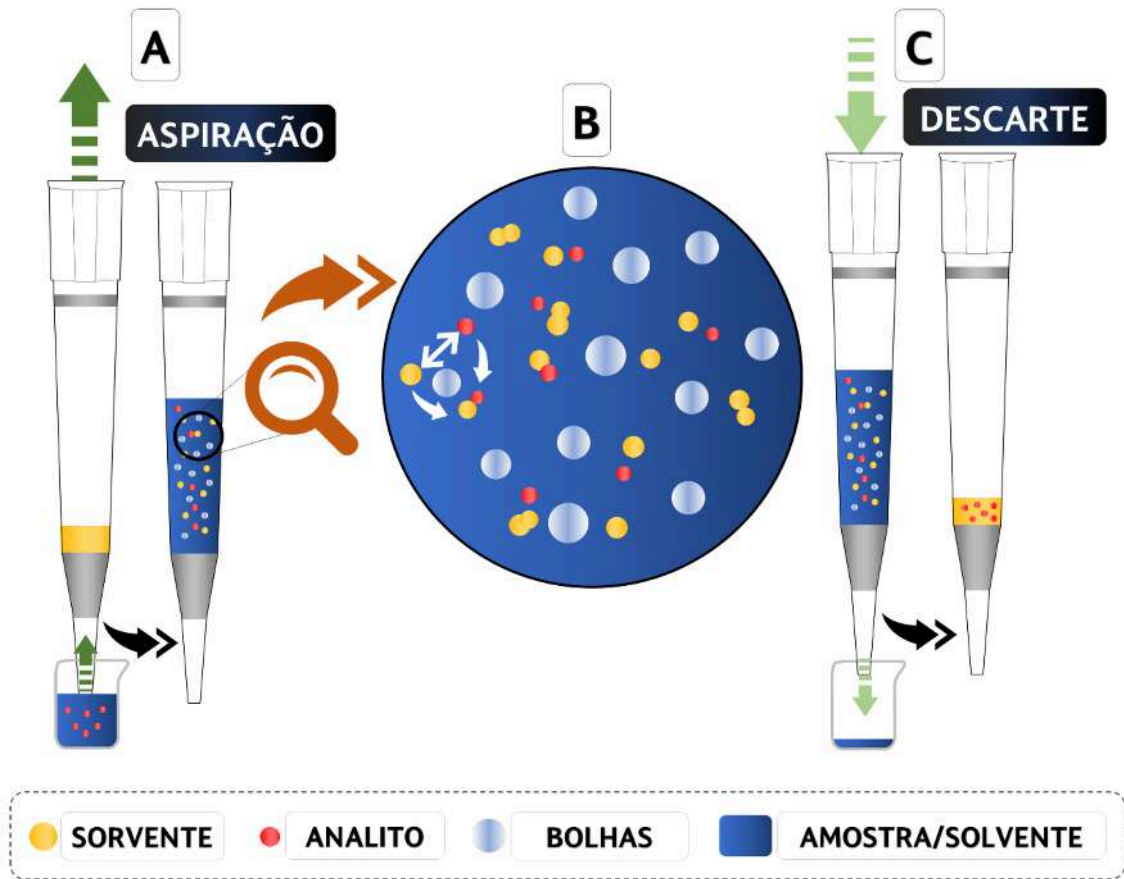


Elaborado pelo autor (2023) baseado em Gerstel (2023), DPX Technologies (2023) e Sigma Aldrich (2023)

A ponteira é produzida com material polimérico (polipropileno), enquanto os filtros são de vidro sinterizado, polímero poroso, e até mesmo de metal ou lã de vidro. O filtro inferior é rigidamente fixado, e serve para impedir a perda de fase extratora, permitindo a passagem de amostra/solvente e de ar. O filtro superior (que pode ser removido para inserção e/ou remoção de fase extratora na ponteira), por sua vez, serve para manter a mesma confinada e evitar contaminação, permitindo a passagem de ar para sucção (OLIVEIRA; LANÇAS, 2023). A fase extratora tem composição variável, havendo disponibilidade comercial de diversas alternativas, também sendo possível o uso de biossorventes e fases desenvolvidas em laboratório.

O princípio de operação da DPX é muito relacionado com da SPE, onde a extração ocorre devido à interação dos analitos com a fase extratora, e a dessorção pela passagem de solvente capaz de remover o analito da fase sólida. A grande diferença está na disposição física da fase extratora, que na DPX fica livre para se dispersar na amostra líquida, permitindo a existência do processo chamado de mistura dispersiva, onde bolhas de ar auxiliam o processo de extração, favorecendo a interação entre as fases. O processo de interação da fase extratora com os analitos é representado na Figura 5.

Figura 5. Exemplificação da mistura dispersiva na extração via DPX.

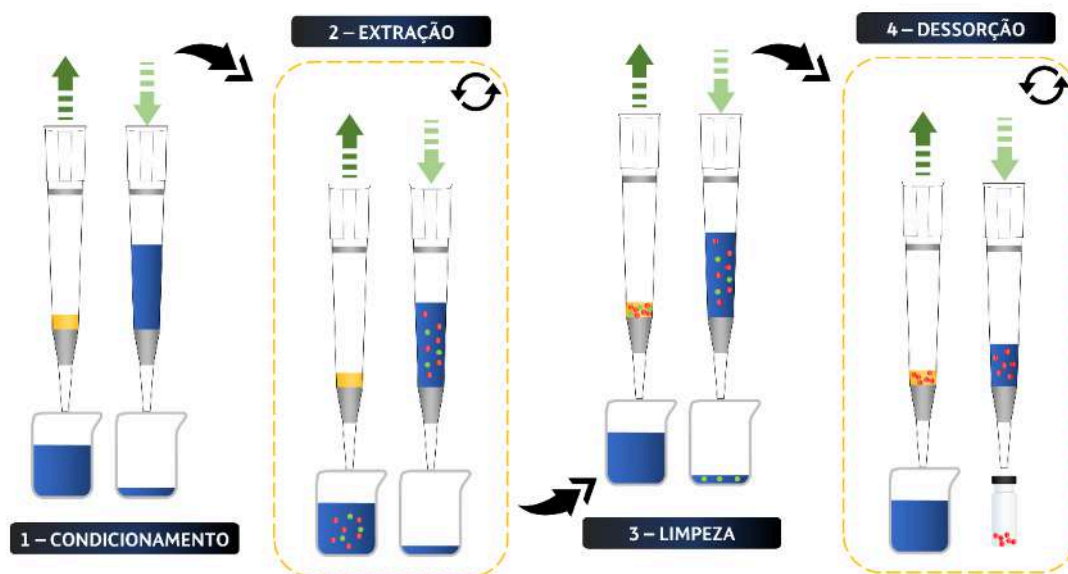


Em (A) a amostra é aspirada para a ponteira, junto de certo volume de ar. Em (B), numa representação ampliada, as bolhas de ar auxiliam na mistura e favorecem o contato da fase extratora com o analito. Em (C) se apresenta o descarte da amostra, onde os analitos ficam retidos na ponteira.

Elaborado pelo autor (2023)

O processo de extração por DPX é simples e rápido, sendo realizado em poucos minutos, com uso da ponteira contendo a fase extratora, devidamente conectada ao micropipetador (ou a uma seringa). A Figura 6 exemplifica este processo.

Figura 6. Procedimento experimental geral do método DPX



Elaborado pelo autor (2023)

Inicialmente os sítios de sorção podem ser ativados com condicionamento feito com uso de solvente (ou mistura deles) apropriado, permitindo ideal interação entre analito e a fase extratora. A amostra então é aspirada para o interior da ponteira, misturando-se à fase extratora e dispersada com a posterior aspiração de ar². Dado o tempo de extração (que deve ser otimizado), a amostra é descartada. Esta etapa de extração pode ser repetida em variados ciclos (tipicamente de 1 a 9), com novas alíquotas de amostra, incrementando a quantidade de analito extraída, e melhorando a sensibilidade (CARASEK; MORÉS; HUELSMANN, 2022).

Uma etapa de limpeza pode ser realizada após a extração, para remover interferentes, se necessário. Para finalizar, os analitos são dessorvidos com solvente adequado, havendo também aspiração de ar para favorecer o processo. De forma semelhante à extração, variados ciclos podem ser executados na dessorção, mas desta vez com reuso da alíquota de solvente de dessorção, favorecendo a pré-concentração dos analitos. Após eluição do solvente contendo os analitos, o extrato é encaminhado para análise em instrumento adequado, sendo os métodos cromatográficos os mais utilizados (BORDIN et al., 2016).

² É importante ressaltar que a aspiração de ar é realizada no mesmo processo da aspiração da amostra. Para aspirar 600 µL de amostra, por exemplo, o pipetador é ajustado para sucção de 900 µL, sendo os últimos 300 µL correspondentes a aspiração do ar após a amostra ter sido aspirada.

Uma das características positivas da DPX é a grande gama de parâmetros que podem ser estudados e otimizados. É possível, por exemplo, utilizar diferentes fases extratoras e diferentes solventes de condicionamento, alterando a faixa de polaridade e variando as interações intermoleculares entre analitos e fases extratoras possíveis.

Além disso, é possível alterar condições físico-químicas da amostra, como seu pH e força iônica. Também se pode otimizar a composição do solvente de dessorção, e em todas as etapas, volumes e número de ciclos a serem realizados, dependendo do objetivo analítico.

3.4 AUTOMATIZAÇÃO E MECANIZAÇÃO EM QUÍMICA ANALÍTICA

Historicamente, a Química Analítica sempre esteve perto das tecnologias e automatizações, quando comparadas às outras principais áreas da Química, possivelmente por lidar mais diretamente com instrumentos de análise, e se beneficiar enormemente dos avanços computacionais e eletrônicos da indústria e da academia. Pensando numa linha de evolução, as primeiras tentativas de automatização e/ou mecanização em Química remetem à mecanização de tarefas singulares, como pipetar, centrifugar e realizar misturas, havendo referências do meio do século XIX. Demorou-se muitos anos para haver ferramentas multifuncionais compatíveis com laboratórios químicos, sendo a automatização reconhecida como aspecto importante em Química Analítica somente na década de 1980 (PRABHU; URBAN, 2017).

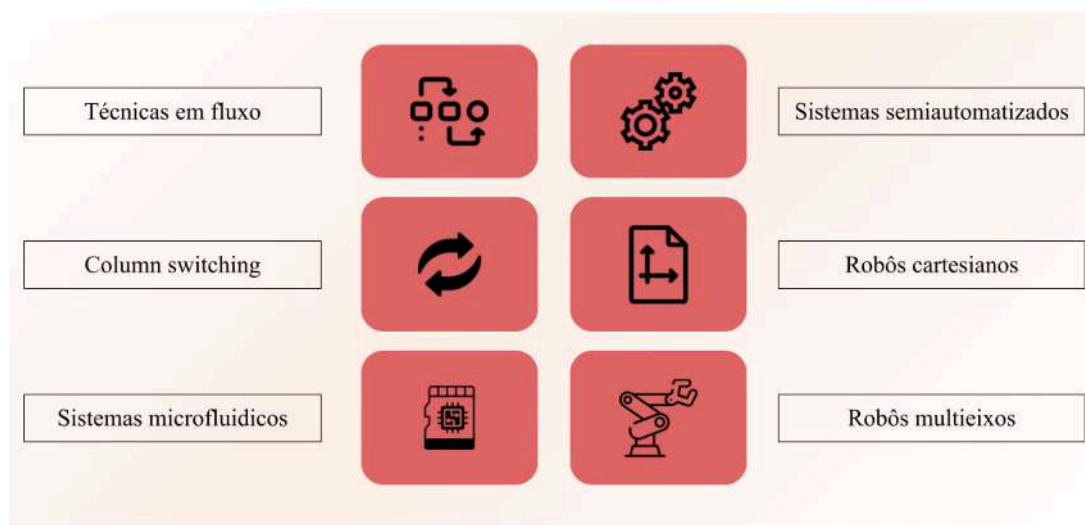
Prabhu e Urban (2017) afirmam que o século XX trouxe uma enorme evolução no que tange ao desenvolvimento de instrumentação para análise química. No entanto, existe uma grande necessidade de trabalho humano nas análises. Agora no século XXI, vista a necessidade de processar centenas, senão milhares, de amostras diariamente, os laboratórios têm demandado ainda mais a necessidade de automatizar e mecanizar grande parte do trabalho analítico laboratorial. Desta forma, vêm sendo desenvolvidos trabalhos nas áreas de injeção em fluxo, sistemas microfluídicos, amostradores automáticos, robôs multi-eixo e demais facilitadores de trabalho automatizados. Os mesmos autores citam algumas vantagens da automatização de análises químicas, como a melhora na frequência analítica, diminuição de erros, e aumento da reprodutibilidade mesmo em trabalhos longos e tediosos. O uso de equipamentos automatizados ou mecanizados permite que estudantes e trabalhadores economizem um terço de seu tempo de trabalho, podendo despendê-lo em questões mais

importantes, que só a criatividade humana permite (CHECK HAYDEN, 2014). Por fim e não menos importante, a saúde do analista é aprimorada com automatizações: sistemas automatizados ou mecanizados permitem que o analista seja menos exposto a reagentes e solventes, assim como amostras infectadas. De maneira geral, sistemas analíticos automatizados/mecanizados vão ao encontro de muitos princípios da Química Analítica Verde (PRABHU; URBAN, 2020).

Equipamentos analíticos automatizados/mecanizados podem ser divididos em dois grandes grupos: os que têm funcionamento independente (em inglês, *standalone*), e aqueles que são integrados com outros instrumentos como cromatógrafos e espectrômetros. Embora as versões integradas minimizem profundamente e cheguem a eliminar a intervenção do analista em alguns casos, as versões *standalone* podem ter o benefício de manter instrumentos caros desocupados enquanto amostras são preparadas. Além disso, versões integradas geralmente são muito específicas, enquanto versões independentes podem ser aplicadas a maior gama de análises (variados instrumentos de separação e/ou detecção) (MEDINA, 2018).

As estratégias de automatização/mecanização em Química Analítica são variadas, e extremamente dependentes da necessidade da análise. Além da divisão quanto à integração dos equipamentos analíticos, pode-se classificar as estratégias de automatização/mecanização em seis grandes grupos, como pode ser observado na Figura 7.

Figura 7. Ilustração das estratégias de automatização/mecanização do preparo de amostra



Elaborado pelo Autor com base em Medina (2008)

As técnicas de análise em fluxo, foram umas das primeiras a ganharem popularidade, com o desenvolvimento da análise de fluxo contínuo (CFA, do inglês *continuous flow analysis*) e da análise de injeção de fluxo (FIA, do inglês *flow-injection analysis*), que há décadas mostraram repetibilidade sem precedentes, onde erros humanos eram minimizados pelo uso de bombas peristálticas e canais interconectados.

A excelente performance da CFA e da FIA geraram interesse em miniaturizações, criando sistemas microfluídicos, também chamados de *lab-on-a-chip*, cujos microchips podem ser fabricados de diversas formas, como fotolitografia e impressão 3D. Estes sistemas permitem o uso de pequenos volumes de amostra e reagentes, na ordem de microlitros até picolitros (URBAN, 2015).

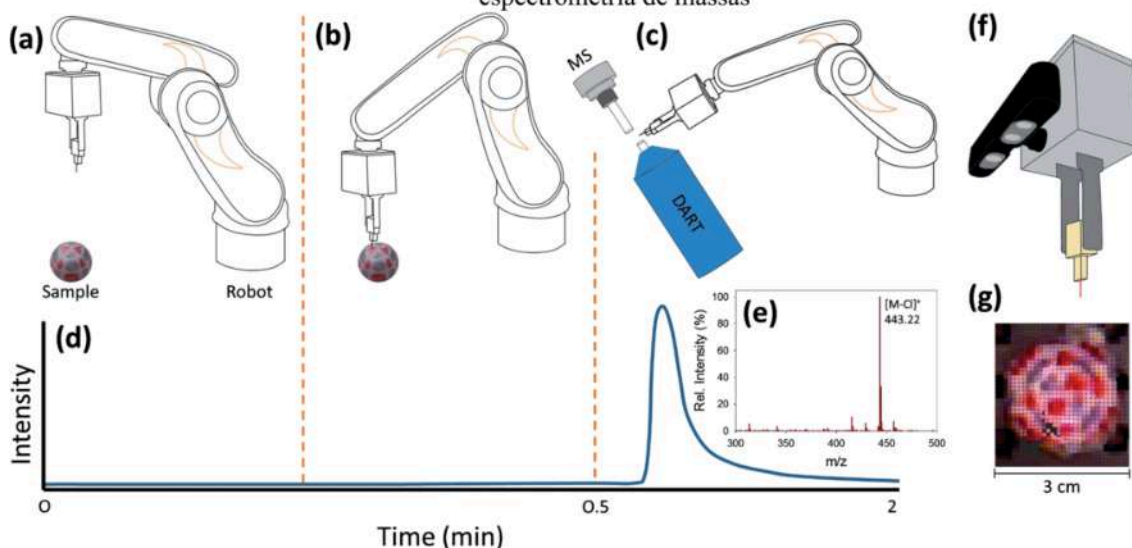
Outra forma muito comum de automatização/mecanização consiste no uso de sistemas de transferências de líquido. Um exemplo são micropipetadores multicanal, que quando usados em consonância com microplacas (*microtiter plates* e *96-well plates*), permitem alta agilidade em análises colorimétricas, fluorimétricas e com detecção quimioluminescente. O uso de micropipetadores multicanal pode ser manual, sendo uma técnica semiautomatizada, ou totalmente automatizada com uso de robôs (PRABHU; URBAN, 2020).

O uso de robôs, por sua vez, trouxe grandes possibilidades de avanço para o preparo de amostra. Um exemplo são os amostradores automáticos (ou robôs cartesianos). Enquanto amostradores automáticos geralmente são conhecidos por coletar alíquotas de amostra para injeção em instrumentos, os exemplares mais modernos permitem também incubação de amostras, adição de reagentes e até mesmo extração com fibras de SPME. Outros robôs cartesianos (com movimentação em eixo XYZ) permitem análises de espectrometria de massa com dessorção/ionização a laser, possibilitando gerar dados sobre a distribuição espacial de analitos em espécies heterogêneas como tecidos e células.

Já os robôs multieixo têm capacidade exponencial quando comparados com robôs cartesianos (Figura 8). Braços robóticos são capazes de movimentação tridimensional, seja para manuseio de amostra, transferência, adição de reagentes e/ou injeções em instrumentos. Um exemplo recente foi o mapeamento de analitos na superfície de amostra através de análises de espectrometria de massas. De acordo com os autores, amostras de teste hemisféricas foram amostradas pelo braço robótico, e direcionadas à fonte de íons de análise direta em tempo real (DART, do inglês *direct analysis in real time*). Posteriormente, foram

construídos mapas de distribuição química baseada na intensidade de sinal dos íons (BENNETT et al., 2014).

Figura 8. Ilustração do funcionamento de braço robótico para coleta de amostra e análise tridimensional via espectrometria de massas



Robô na posição inicial (a), posição de amostragem (b) e posição de análise na qual a agulha é colocada entre a fonte de íons DART e a interface do separador de gás-íon MS (c). Cronograma de intensidade de íons selecionados (d). Espectro de massa da amostra observado durante a análise (e). Sistema de amostragem (f) para geração de nuvem de pontos (g). Bennet e colaboradores (2014). Reproduzido com permissão de RSC.

3.4.1 Uso de robótica de baixo custo em Química Analítica

É fato que a automatização/mecanização impulsiona a Química Analítica e traz inúmeros benefícios. Mas uma ressalva merece destaque: a acessibilidade. Instrumentos comerciais automatizados tendem a ter alto custo de aquisição e manutenção, inviabilizando sua aplicação em muitos casos. Por melhores que sejam seus resultados, seu uso é restrito a grandes empresas. Assim, um foco importante é o desenvolvimento de estratégias de automatização/mecanização eficientes, e de baixo custo. Um artigo da revista Nature cita que aparelhos automatizados/mecanizados feitos no laboratório, custam em torno de 90% menos que automatizações disponíveis comercialmente (CHECK HAYDEN, 2014).

Afortunadamente, a popularização de módulos eletrônicos *open-source* viabilizou o desenvolvimento de vários projetos de automatização/mecanização para Química Analítica. Plataformas de prototipação como o Arduino encabeçam essa lista, cujos projetos são amplamente utilizados em pesquisa acadêmica e como recurso didático (URBAN, 2015).

A plataforma Arduino e seus similares (Teensy, Raspberry Pi e BeagleBone), junto com impressão 3D e a internet das coisas (IoT, do inglês *Internet of Things*), são correntes que vêm transformando a forma de criação de instrumentos e dispositivos, através do movimento *maker*³ (CADEADO et al., 2022). Módulos eletrônicos de prototipagem universal (também chamados em unidades genéricas de programação) como Arduino não requerem grande investimento financeiro para sua aquisição, assim como precisam de pequenos treinamentos para sua correta programação (são dispositivos muito amigáveis a usuários não especialistas), visto que há amplo material disponível gratuitamente para aprendizado, baseado em linguagens de programação de alto nível (mais semelhantes com a linguagem natural humana) como C++ e Python (URBAN, 2015). Estes módulos permitem coleta de dados com alta precisão, assim como de atuadores mecânicos como motores e atuadores (PRABHU; URBAN, 2020).

3.4.2 Hardware

A maioria dos dispositivos analíticos atuais utiliza de energia elétrica para seu funcionamento. Deste modo, o controle destes dispositivos é feito a partir da modulação e controle de corrente elétrica. O desenvolvimento de instrumentação automatizada/mecanizada esbarra na necessidade de construir as partes eletrônicas dos sistemas. Para não ser necessário desenvolver os próprios circuitos integrados e processadores, é muito mais fácil a utilização de microcontroladores genéricos ou universais, disponíveis no mercado, visto que estes são pequenos e flexíveis, ótimos para prototipação. Deste modo, não é necessária a produção das próprias placas de circuito impresso (PCB, do inglês *printed circuit board*), evitando a necessidade de conhecimento avançado em engenharia eletrônica, pois muitos microcontroladores já vêm integrados com diversos elementos eletrônicos. Placas como Arduino já oferecem dezenas de entradas e saídas digitais, entradas analógicas, conectividade com computador (via porta USB) e possibilidade de programação em alto nível (MCROBERTS, 2015).

As entradas e saídas digitais, são portas (canais) de comunicação com diversos tipos de dispositivos, como sensores e atuadores. Por meio de sinais digitais como pulsos de

³ Movimento *maker* ou cultura *maker* é um fenômeno social nascido nos EUA como modelo educacional, baseado no fato de que a pessoa realize seus próprios projeto e produtos, com auxílio de tecnologia e do conhecimento existente, compartilhados pela internet. (DE SOUZA GOMES et al., 2021; PIMENTEL et al., 2019; SALAS-VALDIVIA; GUTIERREZ-AGUILAR, 2021),

potencial 0 V e 5 V (*high* e *low*, respectivamente, para o Arduino), a comunicação elétrica é feita com sensores de temperatura, pressão, umidade, ou então relês que controlam dispositivos de maior tensão, como aparelhos elétricos e lâmpadas. Através do controle de corrente via modulação de largura de pulso (PWM, do inglês *pulse-width modulation*), é possível também controlar a velocidade de motores de corrente contínua, por exemplo (KENSHIMA, 2021).

Já as entradas analógicas geralmente são utilizadas para medições de potencial elétrico de sensores. A performance dos microcontroladores depende de suas características de hardware, como sua central de processamento, memória RAM, número de bits processados por tempo, e velocidade de *clock*. A maioria dos dispositivos disponíveis comercialmente trabalha com arquiteturas na faixa de 8 a 32 bits, em velocidade de clock de 16 a 700 MHz. A Tabela 2 apresenta diversas informações sobre os principais itens disponíveis no mercado para prototipação.

Tabela 2: Descrição das características dos principais elementos de hardware para prototipação

Dispositivo	Tipo	CPU (bits)	Velocidade de processamento (<i>clock</i>)	Entradas		SRAM (RAM)	ROM (Flash)	Voltagem de operação	Dimensões (mm)	Massa (g)
				Digitais	Analógicas					
Arduino Uno	MCB	8	16 MHz	14	6	2 kB	32 kB	5 V	53 x 69	25
Arduino Nano	MCB	8	16 MHz	14	8	2 kB	32 kB	5 V	18 x 45	5
Arduino Mega	MCB	8	16 MHz	54	16	8 kB	256 kB	5 V	53 x 102	37
Arduino Leonardo	MCB	8	16 MHz	14	6	2.5 kB	32 kB	5 V	53 x 69	20
NodeMCU ESP32	MCB	32	160 MHz	36	15	512 kB	4 MB	3,3 V	26 x 48	10
NodeMCU ESP8266	MCB	32	80 MHz	17	1	160 kB	4 MB	3,3 V	25 x 49	7
Raspberry Pi Pico	MCB	32	Até 133 MHz	26	3	256 kB	2 MB	3,3 V	21 x 51	15
Raspberry Pi 3 Model B+	SBC	64	1.4 GHz	40	NA	1 GB	NA	3,3 – 5 V	56 x 85	50
BeagleBone Black	SBC	32	1 GHz	65	7	512 MB	4 GB	5 V	53 x 86	40

NA – Não se aplica ou não encontrado. GPIO – (*General Purpose Input Output*). MCB – Placa microcontroladora (*microcontroller boards*). SBC – Microcomputadores (*single-board computers*).

3.4.3 Plataforma Arduino

Frequentemente o termo Arduino é ligado somente a algumas placas eletrônicas, mas, na verdade, ele é maior que isso: é uma plataforma eletrônica de código aberto (*open source*), baseada em eletrônica de fácil uso (MCROBERTS, 2015; OLIVEIRA; ZANETTI, 2020).

Inicialmente, Arduino era um dispositivo (placa) eletrônica, desenvolvido no *Ivrea Interaction Design Institute*, (Itália). Este dispositivo é capaz de ler entradas (sensores como sensor de luz, movimento, ou programação via software) e transformá-las em saída (acender um LED, movimentar um motor). É uma ferramenta muito utilizada em eletrônica digital, e ferramentas didáticas dada sua ampla funcionalidade e facilidade de trabalho (DI NONNO; ULBER, 2022; SOUSA et al., 2022).

O baixo custo se dá pela característica de ser um dispositivo muito simples eletronicamente, aliado ao seu código aberto, ou seja: qualquer empresa pode produzir e vender microcontroladores alternativos (sem usar a marca “Arduino”), que têm todas as suas funções. O custo do modelo mais comum (Arduino Uno) é próximo a 50 reais no mercado brasileiro, podendo chegar a menos de 5 dólares em sites internacionais (valores referentes a meados de 2022-2023).

Ao Arduino podem ser adicionadas *shields*, verdadeiros escudos que ampliam sua funcionalidade, sem perder a característica de ser economicamente viável. Estas *shields* também são placas eletrônicas que facilitam o acesso de novas informações e/ou ações do Arduino, como ser receptor Bluetooth, tocador MP3, ter acesso à internet, ser receptor de dados digitais ou então controlar simultaneamente vários motores de passo (DA SILVA SOUSA et al., 2022; DI NONNO; ULBER, 2022; DZIEKONSKI et al., 2023; MAGNAGHI et al., 2022; MORAIS; ARAÚJO, 2023). Um exemplo deste último caso é a *CNC Shield*, que permite aos usuários desenvolverem máquinas de CNC caseiras (o termo CNC vem do inglês *Computer Numeric Control*, e significa comando numérico computadorizado) pelo controle de vários eixos simultaneamente. A Figura 9 apresenta a forma de montagem da *CNC Shield* no Arduino Uno (adicionados também os *drivers* para os motores de passo).

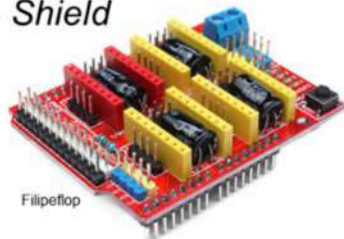
Figura 9. Apresentação do microcontrolador Arduino Uno e CNC Shield, nas formas individuais e montada

Arduino Uno



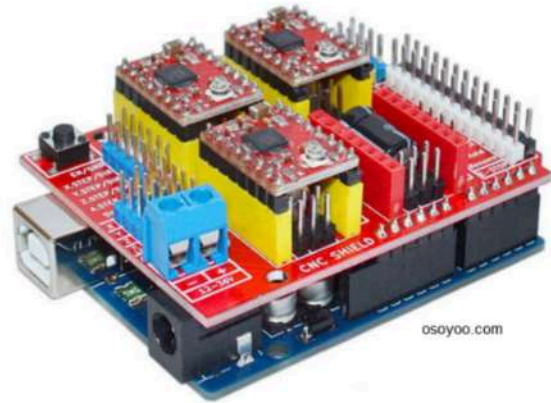
Filipeflop

CNC Shield



Filipeflop

Arduino Uno + CNC Shield + drivers



osoyoo.com

Elaborado pelo autor (2023)

A possibilidade de adaptação do Arduino para diferentes fins é muito interessante no campo do preparo de amostras, pois com o controle de motores e uso de sensores é possível automatizar/mecanizar sistemas, como o proposto para Pa-DPX.

4 DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE EXTRAÇÃO EM PONTEIRAS DESCARTÁVEIS SIMULTÂNEAS (PA-DPX)

4.1 INTRODUÇÃO

A forma convencional e cotidiana de executar o procedimento de extração por DPX é com micropipetador monocanal de 1 mL, ou com uso de seringa *Luer Lock*, também de forma manual. Este procedimento pode se tornar tedioso, uma vez que é uma tarefa repetitiva e totalmente dependente do operador.

Nesta seção, a proposta envolve uma evolução do aparato de DPX, onde é possível executar simultaneamente cinco extrações. O dispositivo criado, chamado de Pa-DPX (DPX paralela) foi construído com materiais de baixo custo e é facilmente reproduzido com outros materiais, até mesmo com materiais reciclados, por exemplo.

Para aplicar o dispositivo desenvolvido, estudou-se a migração de seis ésteres de ácido ftálico (PAE) de matrizes plásticas cotidianas (brinquedos de criança, materiais escolares e brinquedos de cachorro) em simulador de saliva. Os PAE, também chamado de ftalatos, são um grupo de compostos químicos com estrutura similar, utilizados como plastificantes, com intuito de aprimorar a flexibilidade de determinados polímeros (HEUDORF; MERSCH-SUNDERMANN; ANGERER, 2007; SU et al., 2019). Os ftalatos, no entanto, não são quimicamente ligados à matriz polimérica, sendo possível sua migração quando em contato com materiais como água, alimentos e saliva, potencializando o contato desta classe de compostos com humanos.

O problema se dá pelo risco desta exposição, visto que os ftalatos podem estar relacionados como aterosclerose (SU et al., 2019), problemas no sistema reprodutivo (VENTRICE et al., 2013), obesidade (XIA et al., 2018), e desregulação endócrina (MANKIDY et al., 2013). Muitos estudos já demonstraram o risco da migração de PAE de amostras como brinquedos de cachorro (WOOTEN; SMITH, 2013), alimentos (SAJID et al., 2016) e brinquedos infantis (OSMAN et al., 2013), por exemplo.

A análise da migração de PAE geralmente não é realizada diretamente na amostra, visto que a concentração geralmente é baixa, e a matriz incompatível com o sistema instrumental. Assim, o preparo de amostra é importantíssimo e necessário, pré-concentrando os analitos e adequando a amostra ao sistema.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Reagentes e materiais

Como solução padrão de trabalho, duas soluções estoque contendo uma mistura dos seis analitos (200 mg L^{-1} e 20 mg L^{-1} cada) foram preparadas em metanol, a partir de uma mistura de ésteres de ftalato CRM EPA contendo ftalato de dimetila (DMP), ftalato de dietila (DEP), ftalato de dibutila (DBP), ftalato de benzilbutila (BBP), ftalato de bis 2-etil-hexila (DEHP) e ftalato de di-n-octila (DNOP), obtido de Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). Uma descrição de todos os analitos é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Analitos, suas abreviações e informações

Analito	Abreviação	Íon de	Íon de identificação			
		quantificação (m/z)	(m/z)			
Ftalato de dimetila	DMP	163	77	164	76	135
Ftalato de dietila	DEP	149	177	150	65	176
Ftalato de dibutila	DBP	149	150	41	223	205
Ftalato de benzilbutila	BBP	149	91	206	65	104
Ftalato de bis 2-etil-hexila	DEHP	149	167	57	279	71
Ftalato de di-n-octila	DNOP	149	279	57	57	150

Elaborado pelo autor (2020)

A água ultrapura (resistividade de $18,3 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) foi produzida diariamente em um sistema de purificação (Mega Purity, Billerica, EUA). Acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH) foram adquiridos da J.T. Baker (Center Valley, EUA) e acetato de etila (AcOEt) da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA), sendo todos os solventes de grau HPLC/espectroscopia. O sulfato de sódio anidro usado para secar os extratos antes da análise por GC-MS foi obtido da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). As ponteiros de DPX de 5 mL (em branco) e 1 mL contendo 20 mg de estireno-divinilbenzeno (DPX-RP) foram adquiridas da DPX Technologies (Columbia, EUA).

O simulador de saliva foi preparado adaptando diferentes estratégias da literatura (AL-NATSHEH et al., 2015; LV et al., 2017; ÖZER; GÜÇER, 2011): solução contendo 0,75 g de cloreto de potássio (Sigma Aldrich, St. Louis EUA), 0,33 g de cloreto de sódio

(Dinâmica Química, Indaiatuba, Brasil), 0,57 g de fosfato dipotássico (Dinâmica Química, Indaiatuba, Brasil) e 0,11 g de cloreto de magnésio hexa-hidratado (Sigma Aldrich, EUA) foi diluído em 1 L de água ultrapura e ajustado para pH 6,8 com ácido clorídrico 3 mol L⁻¹ (VETEC, Duque de Caxias, Brasil).

As amostras foram compradas em mercados e lojas locais de duas cidades: Joinville e Florianópolis (Brasil). Tratam-se de brinquedos infantis (n = 8), material escolar (n = 6), outros materiais de contato oral (n = 4) e brinquedos para animais de estimação (n = 3), totalizando 21 amostras, e suas informações completas são apresentadas no Apêndice A.

4.2.2 Instrumentação

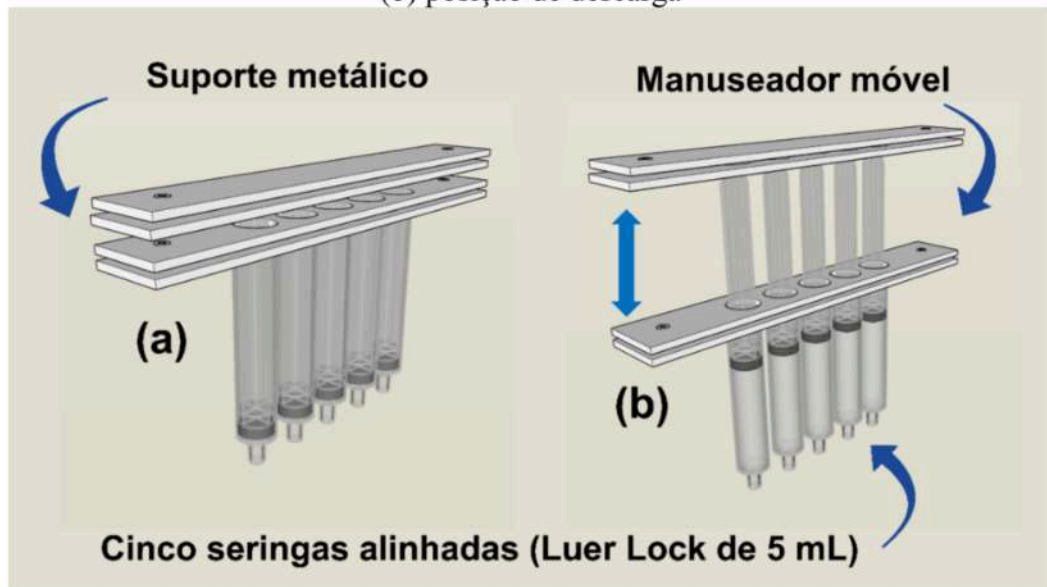
Como instrumento para executar a separação e detecção dos sinais analíticos de cada analito, utilizou-se de um cromatógrafo a gás modelo GC-MS QP 2010 Plus, acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu, Kyoto, Japão). A separação ocorreu em uma coluna capilar Zebron TM Zb-5MS (Phenomenex, Torrance, EUA) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de fase estacionária. A temperatura do injetor, interface e detector foram de 300 °C, 280 °C e 200 °C, respectivamente. A fase móvel foi hélio ultrapuro (White Martins, Brasil), com fluxo constante de 1,2 mL min⁻¹. A temperatura inicial do forno foi ajustada para 100 °C, mantida por 0,5 min, aumentada para 300 °C a uma taxa de 35 °C min⁻¹ (temperatura de 300 °C mantida por 2,5 min).

Foi utilizada injeção manual no modo sem divisão de fluxo e o volume de injeção foi de 1 µL. O modo de ionização eletrônica a 70 eV foi definido para a operação do espectrômetro de massa. Utilizou-se o monitoramento de íons selecionados, e os fragmentos selecionados para quantificação e identificação de cada analito são apresentados na Tabela 3.

4.2.3 Dispositivo de DPX simultâneas (Pa-DPX)

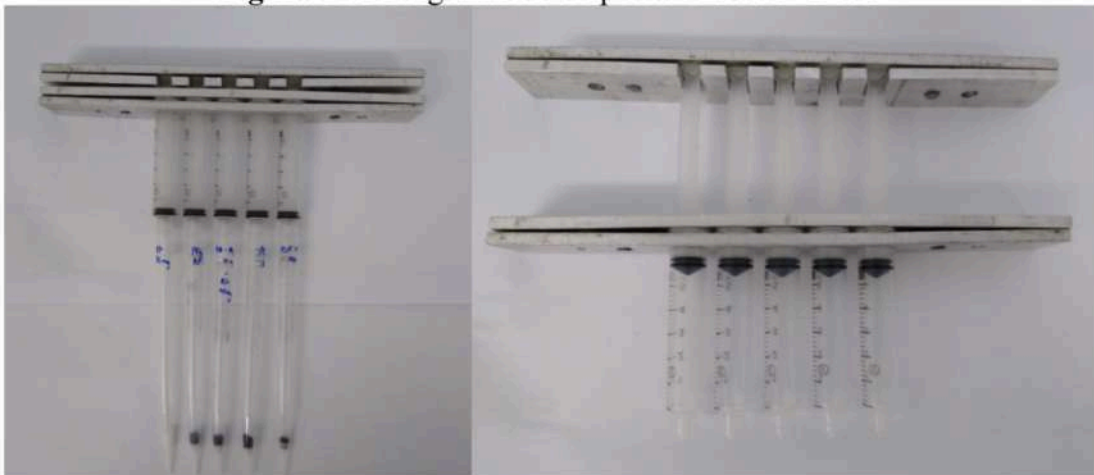
O novo dispositivo desenvolvido para DPX é apresentado na Figura 10 e sua versão final construída está apresentada na Figura 11. Consiste em cinco seringas *Luer Lock* de 5 mL unidas por um aparelho de metal, que permite cinco extrações simultâneas. Este dispositivo pode ser facilmente reproduzido com material de baixo custo, como alguns polímeros, impressão 3D, placas de metal recicladas e/ou materiais híbridos.

Figura 10. Representação e descrição do dispositivo desenvolvido em (a) posição de carga e (b) posição de descarga



Elaborado pelo autor (2023)

Figura 11: Fotografias do dispositivo desenvolvido



Elaborado pelo autor (2023)

Como pode ser visto nas figuras anteriores, o dispositivo consiste na união de cinco seringas tipo *Luer Lock*, através de quatro chapas (réguas) de alumínio. Duas dessas chapas fazem a fixação do corpo base das cinco seringas, sendo unidas com parafusos de inox. Já as outras duas chapas fazem a fixação dos êmbolos das cinco seringas alinhadas. Dessa forma, quando o analista movimentar linearmente as duas chapas que unem os êmbolos, as cinco

seringas fazem a sucção e ejeção de ar simultaneamente. Uma vez inseridas as ponteiros de DPX, esse movimento permite a realização simultânea de processos de extração e dessorção.

Para a usinagem da parte metálica, contou-se com apoio técnico especializado, sendo o trabalho realizado pela equipe técnica da Ferramentaria Betta (localizada na Rua Dorothevio do Nascimento, 3648 - Zona Industrial Norte, Joinville - SC, 89219-750) com peças de alumínio reaproveitadas da indústria metalmeccânica.

As ponteiros em branco de DPX de 5 mL foram preenchidas com 20 mg de estireno-divinilbenzeno (obtido de ponteiros de DPX-RP de 1 mL) e seladas com filtros. Cada ponteira, contendo o material de extração, foi condicionada usando 2 ciclos de 200 μ L de MeOH antes da extração.

4.2.4 Otimização do método

Como procedimento inicial, cada experimento foi realizado com 4 ciclos de extração (amostras de 1000 μ L de simulador de saliva fortificada com todos os analitos a uma concentração de 100 μ g L⁻¹), seguida de uma dessorção com 250 μ L de solvente (5 ciclos com a mesma alíquota). O extrato final do solvente foi seco com 160 \pm 2 mg de Na₂SO₄ anidro, antes da análise por GC-MS. Os resultados desses experimentos foram todos avaliados através da média geométrica normalizada da área do pico cromatográfico para o íon de quantificação de cada analito usando o Microsoft Excel e o Statsoft Statistica 13.

Primeiramente, o solvente de dessorção foi avaliado por um planejamento simplex-centróide com triplicata do ponto central para avaliar a eficiência de dessorção de acetato de etila, metanol e acetonitrila, em suas formas puras e em misturas entre si. A matriz de experimentos para avaliação do solvente de dessorção pode ser vista na Tabela 4.

Tabela 4: Matriz de experimentos para avaliação do solvente de dessorção (composição do solvente de dessorção)

Experimento	Acetato de etila (AcOEt)	Metanol (MeOH)	Acetonitrila (ACN)
1	100%	0%	0%
2	0%	100%	0%
3	0%	0%	100%
4	50%	50%	0%
5	50%	0%	50%
6	0%	50%	50%
7	66,66%	16,67%	16,67%
8	16,67%	66,66%	16,67%
9	16,67%	16,67%	66,66%
10	33,33%	33,33%	33,33%
11	33,33%	33,33%	33,33%
12	33,33%	33,33%	33,33%

Em seguida, um planejamento Doehlert foi realizado para avaliar simultaneamente a influência do volume de solvente de dessorção e o número de ciclos de dessorção. Volumes de 200, 250 e 300 μL foram investigados, com 1 a 5 ciclos de dessorção (usando a mesma alíquota de solvente), como pode ser visualizado na Tabela 5.

Tabela 5: Matriz de experimentos para otimização da etapa de dessorção

Experimento	Volume de solvente de dessorção (μL)	Nº de ciclos de dessorção
1	200	2
2	200	4
3	250	1
4	250	3
5	250	3
6	250	3
7	250	5
8	300	2
9	300	4

Finalizando a etapa de otimização, outro planejamento Doehlert foi utilizado para avaliar o volume da amostra e o número de ciclos de extração. Foram testados volumes de amostra de 1000 μL a 1600 μL , com o número de ciclos de extração variando de 1 a 5 (usando novas alíquotas), como pode ser visto na Tabela 6.

Tabela 6: Matriz de experimentos para otimização da etapa de extração

Experimento	Volume de amostra (μL)	Nº de ciclos de extração
1	1000	2
2	1000	4
3	1300	1
4	1300	3
5	1300	3
6	1300	3
7	1300	5
8	1600	2
9	1600	4

4.2.5 Robustez

Finalizada a otimização do método, para garantir sua qualidade através de pequenos erros experimentais comuns que podem ocorrer durante a aplicação do método, a robustez do método foi avaliada, pela aplicação do teste de Youden (KARAGEORGOU; SAMANIDOU, 2014), onde foram analisados os efeitos de sete variáveis.

As variáveis escolhidas foram volume de amostra, tempo de equilíbrio de extração, volume de dessorção, tempo de equilíbrio de dessorção, número de ciclos de dessorção, massa de sal de secagem e possibilidade de repetir uma extração na mesma alíquota. A matriz final de experimentos com as combinações das variáveis e seus limites é apresentada na Tabela 7.

Foi considerada possibilidade de erro de $\pm 1\%$ de erro nas adições de volume (amostra e solvente de dessorção), além de haver ou não um tempo de equilíbrio na extração e dessorção. Também foi avaliada a massa de sal para secar o extrato, entre 160 e 240 mg. O número de ciclos de dessorção também foi avaliado (entre 4 e 6), além de estudar a possibilidade de extrair uma alíquota mais de uma vez.

Tabela 7. Descrição das condições experimentais para o teste de avaliação da robustez do método

Experimento	Volume de amostra (µL)	Tempo de equilíbrio na extração (s)	Repetições (mesma alíquota)	Volume de dessorção (µL)	Tempo de equilíbrio de dessorção (s)	Ciclos de dessorção	Massa de Na₂SO₄ (mg)
1	1616	5	1	202	5	6	240
2	1616	5	0	198	5	4	160
3	1616	0	0	202	0	6	160
4	1616	0	1	198	0	4	240
5	1584	5	0	202	0	4	240
6	1584	5	1	198	0	6	160
7	1584	0	1	202	5	4	160
8	1584	0	0	198	5	6	240

Elaborado pelo autor (2023)

4.2.6 Parâmetros analíticos de mérito

A extração de saliva simulada em branco, enriquecida com sete concentrações de cada analito, foi usada para construir curvas de calibração, onde a área do pico cromatográfico obtida para o íon de quantificação de cada analito, apresentada na Tabela 3, foi usada para obter curvas de regressão linear *versus* a concentração. A faixa linear e o coeficiente de determinação (R^2) foram obtidos com regressão dos dados de calibração. O limite de quantificação (LOQ) foi definido como a menor concentração em que a precisão e a exatidão atingiram valores aceitáveis (se comparados aos limites estabelecidos pela AOAC), e o limite de detecção (LOD) foi definido como $LOQ/3,33$.

A precisão do método foi avaliada na forma de repetibilidade (conhecida como precisão intradia), medida em quatro concentrações diferentes em triplicata e na forma de precisão intermediária, estudando a aplicação do método com diferentes análises realizadas em diferentes dias (precisão interdia, três dias seguidos) totalizando nove experimentos. A exatidão do método foi verificada através de recuperações relativas (Equação 2) de cada analito, em quatro concentrações diferentes, usando extração em duas amostras diferentes.

$$Recuperação\ relativa(\%) = \frac{(Concentração\ encontrada - Concentração\ amostra\ real)}{Concentração\ adicionada} * 100$$

Equação 2

4.2.7 Aplicação do método

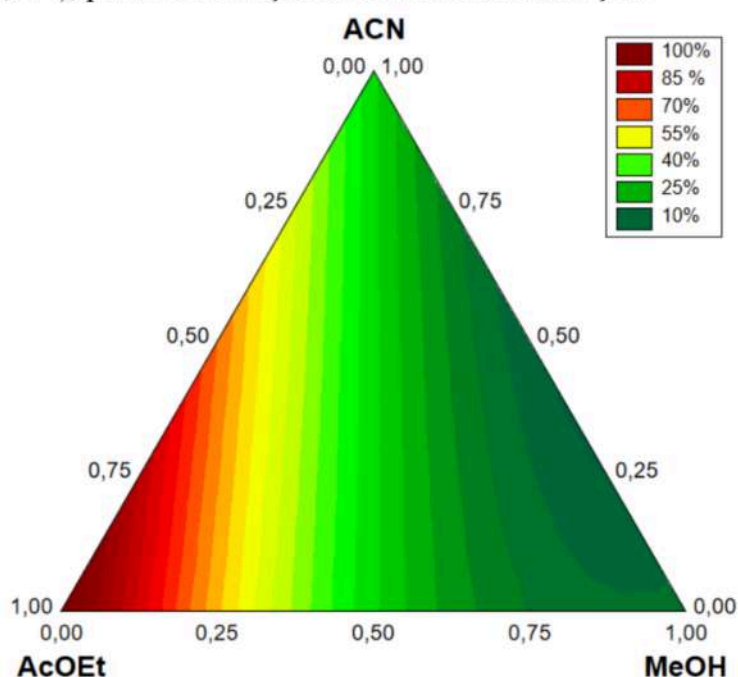
Os testes de migração foram todos realizados em triplicata. Pedacos pequenos ($\sim 1\text{ cm}^2$ cada) das amostras (totalizando 2,0 g) foram imersos em 10 mL de simulador de saliva por 2 h a 37 °C, sob agitação. Todos os extratos das amostras foram preparados e analisados diretamente após o teste de migração.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.3.1 Solvente de dessorção

Para garantir a melhor eficiência de dessorção dos analitos da fase de extração e evitar o efeito de memória, o primeiro fator otimizado foi o solvente de dessorção por um planejamento simplex-centróide. Analisando o gráfico de contorno (Figura 12), obtido através de um modelo quadrático (com R^2 de 0,974) que envolve os três solventes escolhidos, bem como misturas entre eles, percebe-se que há uma tendência de resposta máxima na região onde há principalmente acetato de etila.

Figura 12. Gráfico de contorno do planejamento simplex-centróide, modelo quadrático ($R^2 = 0,974$), para a otimização do solvente de dessorção.



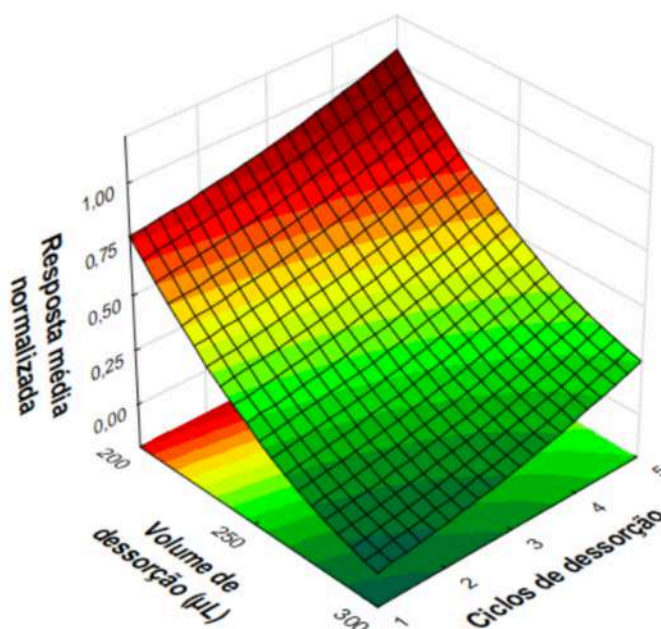
Condições da Pa-DPX: 1000 μL de simulador de saliva enriquecido com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de PAE, 4 ciclos de extração e 5 ciclos de dessorção com 250 μL com a mesma alíquota.
Elaborado pelo autor (2023)

Observou-se que os solventes mais polares (acetonitrila e metanol) não foram tão eficientes, apresentando menor capacidade de dessorção mesmo em misturas com AcOEt. Portanto, o AcOEt puro foi escolhido como solvente de dessorção, dada sua melhor resposta, possivelmente causada por sua característica menos polar, o que permitiu melhor interação com a classe dos ftalatos.

4.3.2 Ciclos de dessorção e volume AcOEt

Como dito anteriormente, a otimização criteriosa da etapa de dessorção é muito importante para garantir a melhor eficiência de dessorção dos analitos e, também, para evitar possíveis efeitos de memória. Em relação à etapa de dessorção, diferentes números de ciclos (1 a 5) com diferentes volumes de AcOEt (200 a 300 μL) foram avaliados, utilizando uma metodologia de superfície de resposta. Como pode ser visto na Figura 13, foram obtidas melhores condições de dessorção com o menor volume de solvente usado (200 μL). O uso de um volume maior de solvente minimiza drasticamente a resposta analítica, devido à diluição do extrato.

Figura 13. Superfície de resposta do planejamento Doehlert, modelo quadrático ($R^2 = 0,986$), para a otimização da condição de dessorção.



Condições da Pa-DPX: 1000 μL de simulador de saliva enriquecido com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de PAE, 4 ciclos de extração e ciclos variáveis de dessorção com volumes variáveis de AcOEt com a mesma alíquota.

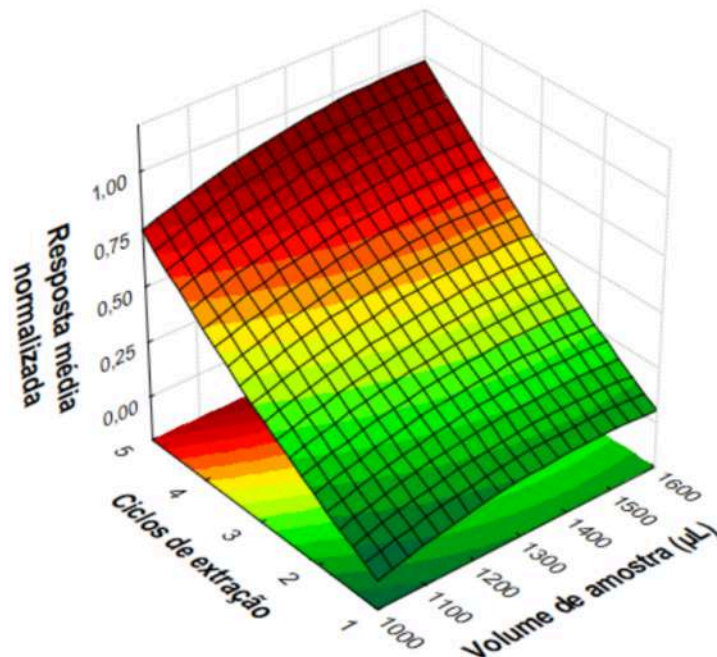
Elaborado pelo autor (2023)

O número de ciclos, por outro lado, mostra variação menos intensa, sendo ideal na região com o número máximo de ciclos. Assim, para garantir a melhor sensibilidade, 5 ciclos de dessorção, usando a mesma alíquota de 200 μL de AcOEt, foram escolhidos como a condição ideal e foram utilizados nas experiências subsequentes.

4.3.3 Ciclos de extração e volume de amostra

Também por meio de um planejamento Doehlert, as condições de extração foram otimizadas. O volume da amostra foi avaliado simultaneamente com o número de ciclos de extração (com novas alíquotas), e a Figura 14 mostra a superfície obtida. As eficiências máximas de extração foram obtidas usando o número máximo de ciclos (5) e o maior volume de amostra por ciclo (1600 μL). A fase de extração apresentou excelente desempenho mesmo nas condições máximas (5 ciclos e 1600 μL por ciclo), encontrando assim a condição de trabalho mais sensível.

Figura 14. Superfície de resposta ajustada usando um projeto Doehlert, modelo quadrático ($R^2 = 0,962$), para a otimização da etapa de extração.



Condições da Pa-DPX: volume variável de simulador de saliva acrescido de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de PAE, ciclos de extração variável e 5 ciclos de dessorção com $200 \mu\text{L}$ de AcOEt com a mesma alíquota.

Elaborado pelo autor (2023)

Como conclusão das otimizações, a condição final envolve 5 ciclos de extração com $1600 \mu\text{L}$ de amostra (com alíquotas diferentes), seguida de dessorção com $200 \mu\text{L}$ de acetato de etila em cinco ciclos (com mesma alíquota). O extrato final é seco com 160 mg de sulfato de sódio antes da análise por GC-MS. Nessas condições, portanto, é necessário um total de apenas 8 mL de amostra para concluir a extração, realizada em menos de 40 segundos para

cada amostra (o tempo necessário para 5 extrações usando o aparelho proposto de Pa-DPX é de cerca de 3 minutos).

4.3.4 Robustez do método

A Figura 15 apresenta o Gráfico da Lenth, que apresenta os efeitos das sete variáveis avaliadas na robustez do método, relacionando-as às margens de erro (ME) e margens de erro simultâneas (SME).

Figura 15. Gráfico de Lenth para a avaliação de robustez do método Pa-DPX-GC-MS.



A - Volume da amostra; B - Tempo de equilíbrio da extração; C - Repetições (mesma aliquota); D - volume de dessorção; E - tempo de equilíbrio da dessorção; F - Ciclos de dessorção e massa de G - Na₂SO₄; ME - margens de erro; SME - margens de erro simultâneas.

Elaborado pelo autor (2023)

O método apresentou-se bastante robusto dentro da condição otimizada, pois nenhum dos fatores teve um efeito maior que a margem de erro. Como esperado, um efeito positivo para o volume da amostra foi observado, mas dentro da faixa aceitável. Todos os outros fatores apresentaram efeitos ainda menores, mostrando que o tempo de equilíbrio não afeta a extração ou a dessorção, bem como a massa de Na₂SO₄ utilizada.

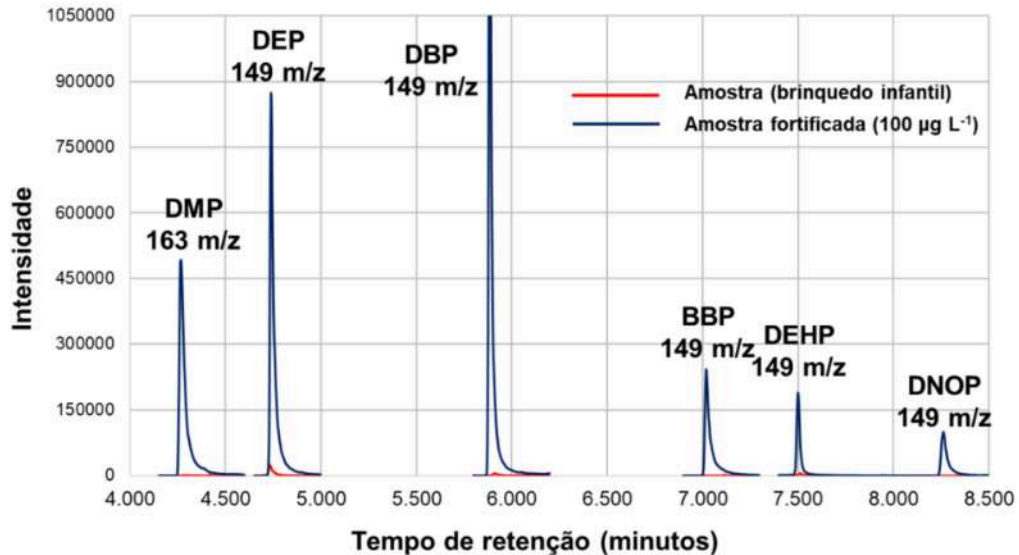
4.3.5 Parâmetros analíticos de mérito

Os parâmetros analíticos de mérito obtidos através de condições otimizadas estão descritos na Tabela 8. Indicando boas relações lineares, os coeficientes de determinação foram todos superiores a 0,9915 para todos os analitos. Foram alcançados LOD de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, e a faixa linear atingiu $200 \mu\text{g L}^{-1}$.

A precisão do método mostrou-se aceitável frente aos valores definidos pela AOAC, avaliada em quatro concentrações diferentes na forma de repetibilidade, e um nível para precisão intermediária. Para o LOQ ($5,0 \mu\text{g L}^{-1}$), o desvio padrão relativo variou de 8,7% a 20,1%.

Além disso, a exatidão (Tabela 9) alcançou ótimos valores, nos mesmos quatro níveis diferentes de concentração avaliadas na repetibilidade. Para o LOQ, as recuperações relativas variaram de 80 a 114%, com todos os valores aceitáveis de acordo com as diretrizes internacionais (RAMBLA-ALEGRE; ESTEVE-ROMERO; CARDA-BROCH, 2012). Um cromatograma exemplificativo é apresentado na Figura 16.

Figura 16. Cromatogramas de sobreposição dos principais fragmentos dos analitos na análise da migração de PAE via Pa-DPX-GC-MS em amostras de brinquedos infantis



Elaborado pelo autor (2023)

Tabela 8. Parâmetros analíticos de mérito (limites de detecção e quantificação, coeficientes de correlação, faixa linear e precisão) para o método desenvolvido

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Coeficiente de determinação (R^2)	Repetibilidade (n=3)				Precisão intermediária (n=9)
					LOQ	50 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	200 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$
DMP	1,5	5,0	5,0 - 200	0,9989	10,5	15,7	6,2	3,1	10,6
DEP	1,5	5,0	5,0 - 200	0,9993	13,5	15,2	3,5	2,2	8,2
DBP	1,5	5,0	5,0 - 200	0,9986	8,7	11,4	12,5	2,3	7,9
BBP	1,5	5,0	5,0 - 200	0,9985	20,1	18,5	19,9	4,3	12,6
DEHP	1,5	5,0	5,0 - 200	0,9915	17,0	8,9	17,7	13,1	13,7
DNOP	1,5	5,0	5,0 - 200	0,9971	12,6	9,2	19,0	9,6	16,2

Elaborado pelo autor (2023)

Tabela 9. Resultados de recuperações nas duas amostras analisados com o método desenvolvido

Amostra/analito	Recuperação relativa (%)							
	Material escolar				Brinquedo infantil			
	LOQ	50 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	200 $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ	50 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	200 $\mu\text{g L}^{-1}$
DMP	86%	81%	96%	77%	111%	97%	106%	102%
DEP	80%	88%	100%	81%	91%	88%	105%	103%
DBP	90%	82%	97%	78%	110%	86%	101%	101%
BBP	83%	79%	86%	76%	88%	80%	96%	105%
DEHP	107%	77%	82%	79%	102%	85%	102%	105%
DNOP	106%	77%	75%	78%	114%	95%	108%	104%

Elaborado pelo autor (2023)

4.3.6 Comparação com a literatura

Os principais parâmetros analíticos de mérito e algumas características do presente método foram comparados com outros previamente publicados na literatura, como pode ser visto na Tabela 10.

O método Pa-DPX-GC-MS precisa de uma quantidade baixa de amostra (menos de 10 mL), usando também uma quantidade baixa de solvente orgânico não clorado. Os LOD e LOQ são equivalentes aos outros métodos publicados, com uma ampla faixa linear. Uma melhoria importante é a alta frequência analítica, com tempo de extração menor que 40 segundos para cada amostra.

Tabela 10. Comparação com outros métodos na literatura

Analito	Preparo de amostra	Instrumento	Amostra	Volume de amostra	Volume de solvents	Tempo total necessário	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
DEP, DBP, BBP e DEHP	DLLME	GC-MS	Plasma	5 mL	750 μL de acetoneitrila e 10 μL de clorobenzeno	-	1,5 – 2,5	50 – 1.000	(EBRAHIM; POURSAFA; AMIN, 2017)
DEHP	<i>in-syringe</i> DLLME	GC-FID	Urina	1 mL	300 μL de ácido acético e 300 μL de n-hexano	> 15 min	2,5	20 – 3.000	(SARGAZI et al., 2017)
DBP, BBP e DNOP	UA-DLLME	GC-FID	Água mineral	5 mL	800 μL de metanol e 20 μL de tetracloreto de carbono	> 7 min	1,0 – 1,1	6,9 – 444	(YAN et al., 2010)
DMP, DEP, DBP e DEHP	<i>Stir-bead-</i> μSPE	HPLC-DAD	Solução de armazenamento de lentes de contato e saliva artificial	1 mL	1000 μL de acetate de etila e 200 μL de acetoneitrila	35 min	3,916 - 6,07	5,0 - 750	(MAKKLIANG et al., 2017)
DEP, DBP, DEHP e DNOP	PFSPE	GC-MS	Urina	500 μL	200 μL de metanol e 100 μL de acetoneitrila	< 5 min	0,1 – 0,5	10 – 10.000	(TANG et al., 2017)
BBP	MSPE	HPLC-UV	Água ambiental	30 mL	2,7 mL de acetoneitrila	> 44 min	0,26	0,5 – 100	(ZHOU et al., 2016)
DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP e DNOP	DMIMs-SPE	GC-MS	Água mineral e saliva artificial	200 mL	5 mL de diclorometano	115 min	0,31– 0,41	12,5–250	(ÖZER; OSMAN; YAZICI, 2017)
DMP, DEP e DBP	<i>on-line</i> SPE	LC-UV	Água mineral	18 mL	1 mL de acetoneitrila	48 min	0,7 – 2,4	2,5 – 100	(SALAZAR-BELTRÁN et al., 2017)
DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP e DNOP	Pa-DPX	GC-MS	Simulador de saliva	8 mL	400 μL de metanol (condicionamento) e 200 μL de acetato de etila (extração)	< 40 s	1,5	5 - 200	Esta proposta

DMIMs-SPE: extração em fase sólida de microesferas com impressão molecular, do inglês dummy molecularly imprinted microbeads solid-phase extraction; HPLC-UV: cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta, do inglês high performance liquid chromatography- ultraviolet detector; PFSPE: extração em fase sólida de fibra empacotada, do inglês packed-fiber solid-phase extraction; Stir-bead- μSPE : micro-extração de fase sólida de agitação, do inglês stir-bead micro-solid phase extraction; UA-DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom, do inglês ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction. Elaborado pelo autor (2023)

4.3.7 Aplicação a amostras reais

Analisar a migração do PAE das amostras em questão é de grande importância, pois todas foram escolhidas como itens com grande propensão de crianças os levarem à boca e, portanto, podem representar um grande risco de exposição a esses compostos químicos, relacionados a diferentes doenças. Os dados quantitativos relacionados à aplicação do método são apresentados na Tabela 11.

Para o cálculo da quantidade de migração, foram levados em consideração a massa da amostra e o volume de simulador de saliva, de acordo com a Equação 3 (onde $[PAE]_{saliva}$ é a concentração de PAE obtido através da análise dos extratos utilizando as curvas de calibração).

$$Migração\ de\ PAE\ (\mu g\ g^{-1}) = \frac{[PAE]_{saliva} (\mu g\ L^{-1}) \times Volume\ de\ saliva\ (mL)}{Massa\ de\ amostra\ (g) \times 1000} \quad \text{Equação 3}$$

Nesse sentido, o LOD e LOQ do método podem ser transformados em unidade de migração ($\mu g\ g^{-1}$), com a ajuda da Equação 3, uma vez que o volume do simulador foi de 10 mL e a massa da amostra foi de 2,0 g. Isso resulta em $0,0075\ \mu g\ g^{-1}$ e $0,025\ \mu g\ g^{-1}$ para o LOD e LOQ, respectivamente. Da mesma forma, a faixa linear atingiu $1,00\ \mu g\ g^{-1}$. É importante ressaltar que algumas amostras resultaram em migrações superiores à faixa linear. Nesses casos, a migração exata foi calculada após análise de amostras diluídas.

Na análise de amostras de material escolar, um brinquedo de caneta resultou em uma migração de $29,5 \pm 6,6\ \mu g\ g^{-1}$ para DNOP, o maior valor observado. O desvio padrão relativo de cerca de 22% para este caso pode ser explicado pela heterogeneidade da amostra. Na mesma amostra, o DEHP migrou a $0,042 \pm 0,019\ \mu g\ g^{-1}$. A migração do DEHP também foi detectada na amostra do corpo da caneta.

Tabela 11. Resultados da aplicação do método nas 21 amostras diferentes

Classe	Amostra	Migração média \pm SD ^a ($\mu\text{g g}^{-1}$)					
		DMP	DEP	DBP	BBP	DEHP	DNOP
Materiais escolares	Capa de borracha	ND ^b	ND	ND	ND	ND	ND
	Corpo de caneta	ND	ND	ND	ND	<LOQ	ND
	Fundo de caneta	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Tampa de caneta	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Tampa de caneta 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Brinquedo na tampa da caneta	ND	<LOQ	ND	<LOQ	0,042 \pm 0,019	29,5 \pm 6,6 ^c
Brinquedos infantis	Boneco militar	ND	<LOQ	0,586 \pm 0,034	<LOQ	1,05 \pm 0,14 ^c	4,33 \pm 0,35 ^c
	Braço de boneca	ND	0,126 \pm 0,019	ND	<LOQ	<LOQ	0,123 \pm 0,024
	Perna de boneca	ND	<LOQ	ND	<LOQ	<LOQ	0,037 \pm 0,004
	Cavalo de fazenda	<LOQ	0,172 \pm 0,007	ND	<LOQ	0,959 \pm 0,099	4,55 \pm 0,06 ^c
	Boi de fazenda	ND	ND	ND	<LOQ	ND	ND
	Mini câmera	ND	<LOQ	ND	<LOQ	0,240 \pm 0,005	0,122 \pm 0,054
	Mini espátula de cozinha	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,329 \pm 0,022	1,02 \pm 0,17 ^c
	Macaco	ND	<LOQ	ND	ND	ND	0,096 \pm 0,006
Material de contato oral	Flauta	ND	ND	ND	<LOQ	ND	8,89 \pm 0,33 ^c
	Gaita	ND	<LOQ	ND	<LOQ	0,194 \pm 0,017	0,152 \pm 0,016
	Bico (chupeta)	ND	0,109 \pm 0,021	0,068 \pm 0,017	0,044 \pm 0,023	0,326 \pm 0,124	0,036 \pm 0,016
	Dentadura de vampiro	ND	<LOQ	ND	<LOQ	0,202 \pm 0,007	0,101 \pm 0,022
Brinquedos caninos	Mordedor canino	0,031 \pm 0,002	<LOQ	ND	<LOQ	ND	ND
	Brinquedo canino (halter)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,963 \pm 0,132	0,036 \pm 0,004
	Brinquedo canino (bola)	<LOQ	0,314 \pm 0,023	ND	<LOQ	<LOQ	0,123 \pm 0,079

^aSD - desvio padrão; ^bND – Não detectado; ^cCalculado após diluição da amostra.

Elaborado pelo autor (2023)

Os brinquedos infantis foram as amostras mais analisadas, devido ao alto contato com crianças. Nas oito amostras, pelo menos um PAE foi detectado, e o DNOP foi o mais encontrado (7 amostras com média de $1,29 \mu\text{g g}^{-1}$), seguido pelo DEHP (6 amostras com média de $0,37 \mu\text{g g}^{-1}$). Esses valores são altos, indicando que a composição dos brinquedos contém ésteres de ácido ftálico, sendo que isso pode representar uma fonte de exposição dos PAE às crianças. O DMP (PAE de menor peso molecular) foi detectado em apenas uma amostra (brinquedo de cavalo de fazenda).

Os valores de migração são compatíveis com outros encontrados na literatura. Özer e Güçer (2011) detectaram PAE em 75% de suas amostras de brinquedos, com migração nas amostras positivas variando de $3,77$ a $49,9 \mu\text{g g}^{-1}$ (ÖZER; GÜÇER, 2011).

Outros materiais de proposital contato oral (flauta, gaita, chupeta e dentes de vampiro) também foram analisados. A migração do DNOP foi quantificada em todas as quatro amostras, sendo a amostra com maior migração ($8,89 \pm 0,33 \mu\text{g g}^{-1}$). A chupeta foi a amostra com maior número de PAE migrados: DEP, DBP, BBP, DEHP e DNOP.

Não foram apenas analisados os materiais plásticos de contato humano. A análise de brinquedos para cães resultou na detecção ou quantificação de todos os seis PAE. O mordedor de cães foi o único com quantificação de DMP, enquanto o DEHP tem a maior migração no haltere de brinquedos para cães ($0,963 \pm 0,132 \mu\text{g g}^{-1}$).

4.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Um método robusto e eficiente para PAE migrado para a saliva simulada foi desenvolvido para análise de rotina. Com a ajuda do GC-MS, foram obtidas boas recuperações e precisão (repetibilidade e precisão intermediária) para todos os seis PAE, em um método extremamente rápido e fácil. O limite de detecção foi de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$, com faixa linear de $5,0$ a $200 \mu\text{g L}^{-1}$ para todos os seis analitos. O novo aparelho é fácil de usar, de baixo custo e representa uma melhoria no campo da preparação de amostras.

O método desenvolvido foi utilizado para avaliar a migração do PAE de materiais plásticos convencionais (brinquedos infantis, material escolar, brinquedos para cães e outros materiais de contato oral), e em 81% das amostras pelo menos um PAE foi detectado. O DNOP foi o PAE mais quantificado, seguido pelo DEHP. Essa migração é motivo de grande preocupação, devido aos possíveis efeitos e diferentes alterações na

saúde humana da exposição a PAE, como problemas no sistema reprodutivo, distúrbios endócrinos, sobrepeso e obesidade.

Quanto ao uso do aparato, percebeu-se que havia uma oportunidade de melhoria. O dispositivo apesar de permitir a rápida e fácil extração simultânea de cinco amostras, tinha uma limitação mecânica quanto a ergonomia do analista. O dispositivo era levemente rígido para executar os ciclos de extração e dessorção, e o contínuo uso do mesmo levava o analista ao cansaço e fadiga das mãos. Dessa forma, novos desenhos foram projetados a esta ideia, e novos dispositivos foram desenvolvidos, com pegada mais ergonômica, e alteração no número de análises simultâneas possíveis.

Tais dispositivos foram preparados com usinagem de placas de PEAD, desenhadas de forma a permitir um uso mais anatômico, diminuindo a fadiga dos analistas, e buscando facilitar o uso e agilidade nas extrações. Tais dispositivos foram utilizados por colegas em outros trabalhos acadêmicos, como dissertações de mestrado e tese de doutorado (MORÉS, 2022), e os mesmos podem ser visualizados no Apêndice B, onde figuras ilustram suas novas e variadas formas, que mantendo as qualidades do aparato aqui citado, tiveram também melhoria na ergonomia e na capacidade analítica.

5 DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SISTEMA MECANIZADO DE BAIXO CUSTO PARA EXECUÇÃO DE EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DESCARTÁVEL PARALELA

5.1 INTRODUÇÃO

Os resultados obtidos no capítulo anterior, com a elaboração de dispositivo semi-mecanizado para execução da DPX, deram início ao projeto de um sistema totalmente mecanizado. Partindo do princípio geral do dispositivo manual de execução simultânea, que faz uso de seringas *Luer Lock* paralelas, esta seção apresenta um protótipo de baixo custo para mecanização completa da DPX.

Sabendo que o processo de DPX a partir do sistema semi-mecanizado precisa fazer com que os eixos dos êmbolos das seringas se movam linearmente (para cima e para baixo) para permitir a entrada e saída da amostra, a proposta é a criação de um sistema mecanizado de movimentos lineares. Um grupo de motores de passo acoplados a barras roscadas fornecem energia para o movimento linear dos êmbolos, enquanto outro motor permite o movimento de entrada e saída das seringas do porta-amostra, e um terceiro eixo faz a movimentação do porta-amostra perpendicularmente, permitindo a execução de vários ciclos com novas porções de amostra. Todo esse sistema é ligado a um controlador, que faz a conversão dos sinais declarados pelo usuário para movimentação mecânica.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Instrumentos e reagentes

Para os trabalhos de análises cromatográficas pertinentes a este capítulo, foi utilizado um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas modelo GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Kyoto, Japão), operando com amostrador automático AOC-20i, gentilmente disponibilizado pelo Laboratório de Análise Instrumental, no Departamento de Química da Universidade do Estado de Santa Catarina, na cidade de Joinville. Os demais reagentes são os mesmos detalhados no capítulo anterior.

5.2.2 Construção do protótipo

Relembrando que o objetivo de construção do dispositivo em questão é dar acessibilidade ao uso de instrumentos mecanizados em laboratórios, os materiais utilizados para sua construção são de baixo custo. Por baixo custo, entende-se uso de materiais alternativos, reaproveitados, e de menor custo financeiro quando comparado às alternativas convencionais e/ou padrão.

5.2.3 Configuração elétrica e eletrônica

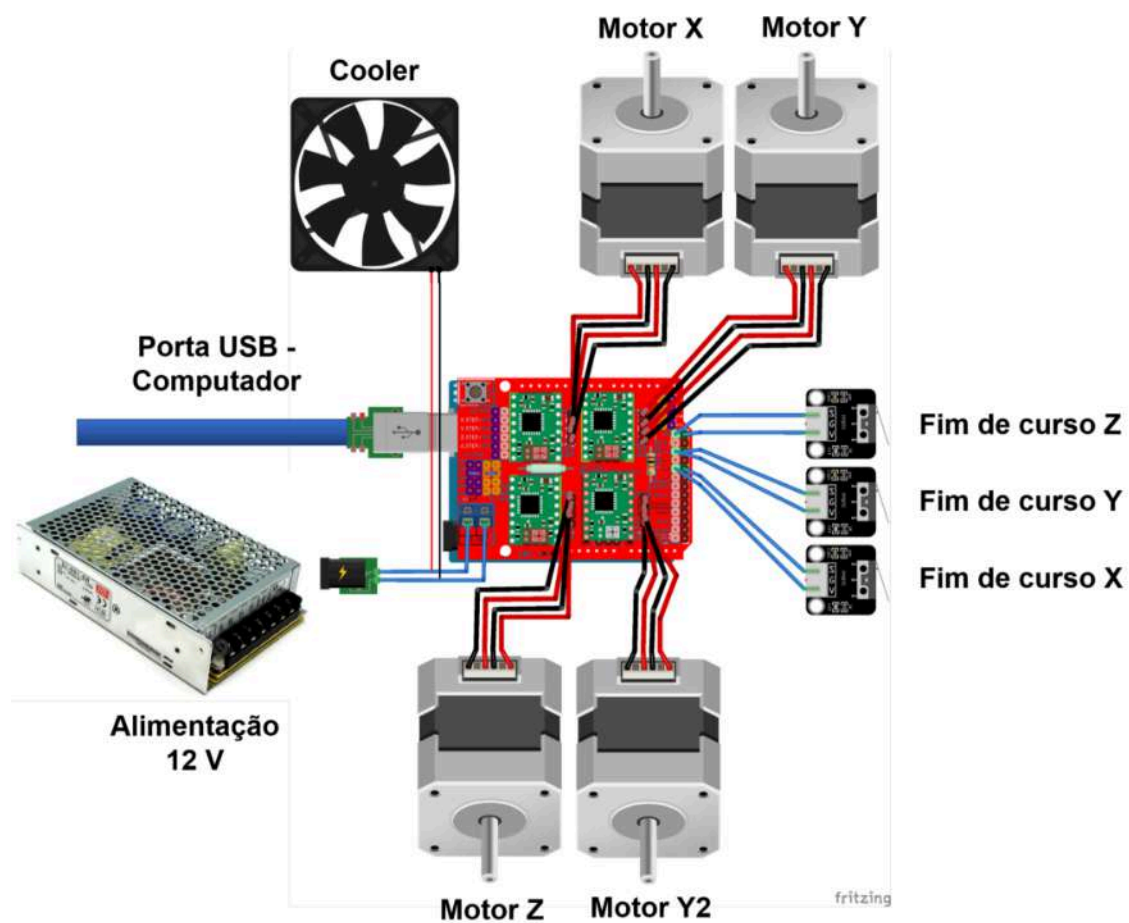
Para o desenvolvimento da parte eletrônica do projeto, foi utilizada a plataforma de prototipagem eletrônica de *hardware* livre Arduino. Mais especificamente, o modelo Arduino Uno foi escolhido como placa principal para controle eletrônico e de programação, dada robustez e ampla gama de aplicações conhecidas. Anexa ao Arduino Uno foi utilizada uma *CNC Shield*, acoplada com quatro *drivers* de motores de passo, modelo A4988 (Pololu, Las Vegas, EUA). Com este conjunto, alimentado por fonte chaveada (12 V e 10 A, MCK S-120-12), é possível controlar motores de passo bipolares. Para este protótipo, foram utilizados três motores de passo NEMA 17 (3,5 kgf·cm⁴ e 0,4 A, de marca Wotiom) e um motor de passo NEMA 17 (7,0 kgf·cm e 1,5 A, de marca Wotiom). Três chaves fim de curso modelo KW11-3Z-5 também foram acopladas à *CNC Shield*, que era mantida sobre ventilação constante provida por um ventilador (*cooler* DESA0938B2M, 12 V e 0,75 A, marca AVC) reaproveitado de um computador desktop descontinuado.

A representação do cabeamento dos elementos citados pode ser visualizada na Figura 17. Como pode ser visualizado na mesma figura, que apresenta um esquema do módulo completo com o cabeamento, não é necessária a soldagem de componentes, apenas o encaixe da *CNC Shield* no Arduino Uno, a colocação dos drivers na *CNC*

⁴ Kilograma-força-centímetro (kgf·cm) é uma unidade de medida relativa ao torque do motor, comumente usada na descrição dos motores de passo. Sua correspondente no Sistema Internacional é o Newton-metro (N·m), onde 1 kgf·cm é 0,09807 N·m.

Shield, e a fixação dos cabos respectivos aos motores e aos fins de curso. Por fim, faz-se a energização com a fonte 12 V.

Figura 17: Representação das ligações entre os cabos dos motores de passo na CNC Shield



Elaborado pelo autor (2023)

A voltagem de referência dos drivers A4988 foi ajustada conforme Equação 4 , disponibilizada pelo fabricante.

$$V_{ref} = 8 \times R_{sense} \times I_{m\acute{a}xima} \quad \text{Equa\c{c}\~{a}o 4}$$

Considerando que para os drivers utilizados o R_{sense} é de $0,1 \Omega$, utilizando também apenas 70% da amperagem indicada nos motores (por questões de segurança e para aumentar a vida útil dos mesmos), para os motores de passo de $3,5 \text{ kgf}\cdot\text{cm}$, o V_{ref} calculado foi de $0,22 \text{ V}$ e para o motor maior, de $7,0 \text{ kgf}\cdot\text{cm}$ o V_{ref} foi ajustado para $0,84 \text{ V}$. O ajuste é realizado pelo controle do *trimpot* do próprio driver, quando comparado com o neutro da fonte⁵.

Com controle eletrônico via *Arduino-CNC Shield*, um dispositivo mecânico é responsável pela execução das etapas de extração e dessorção da Pa-DPX, de maneira totalmente mecanizada.

5.2.4 Configuração e estrutura mecânica

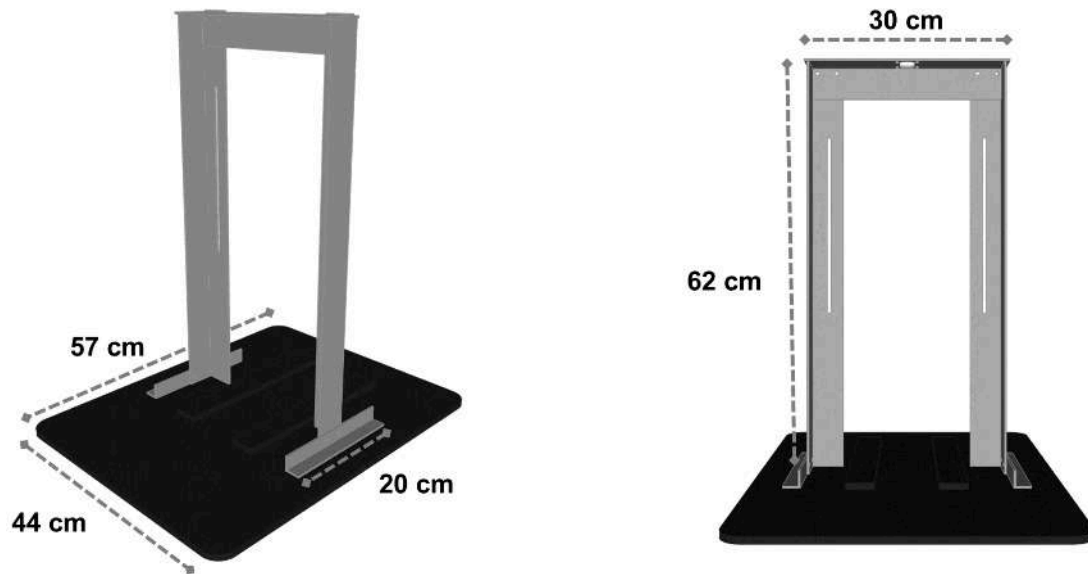
Para a confecção da parte mecânica, contou-se com a cooperação de técnico especializado em produção mecânica e usinagem, e da estrutura de uma ferramentaria profissional. A usinagem das peças metálicas e plásticas foi realizada, na Ferramentaria Betta (localizada na Rua Dorothevio do Nascimento, 3648 - Zona Industrial Norte, Joinville - SC, 89219-750).

O aparato mecânico é fabricado com materiais metálicos, poliméricos e de MDF. Sua base estrutural externa é constituída de cantoneiras de metal (aço), obtidas de reciclagem (Sucaville, Joinville, Santa Catarina). Uma base de MDF ($570 \times 440 \times 9 \text{ mm}$) permite que todo o sistema metálico fique fixo na bancada, evitando quedas e trepidações. A estrutura interna é composta também por cantoneiras de metal recicladas, que unidas a barras de alumínio reaproveitadas dão a firmeza e estrutura para a Pa-DPX, composta por seis seringas *Luer Lock*, que executam simultaneamente a processo de DPX.

Cantoneiras de aço de duas polegadas (aproximadamente 5 cm) formam uma torre de sustentação externa (Figura 18), com altura de 62 cm e largura de 30 cm . Cantoneiras de uma polegada ($2,54 \text{ cm}$) e 20 cm de comprimento foram utilizadas para sustentação na base dessa torre estrutural. Esta estrutura permite que o protótipo realize movimentos verticais, acessando a amostra para execução da técnica.

⁵ Para mais informações de como ajustar a voltagem de referência dos drivers A4988, é possível encontrar material explicativo nos seguintes locais web: <https://blog.eletrogate.com/driver-a4988-motor-de-passo-usando-o-arduino/> e <http://download.fernandok.com/Motor-Passo-com-a4988.pdf>.

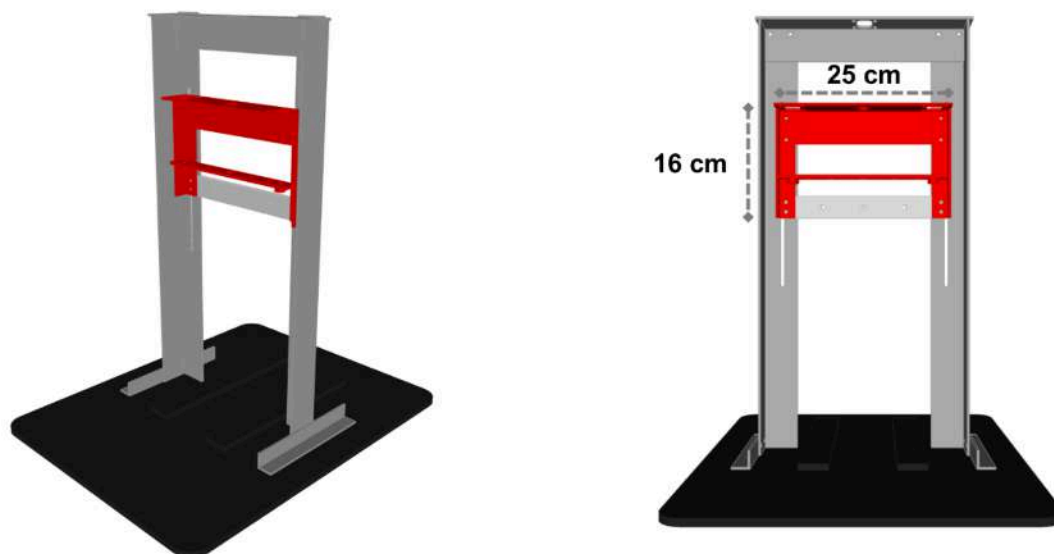
Figura 18. Representação da base do protótipo e de sua torre de sustentação



Elaborado pelo autor (2023)

Internamente à torre estrutural, mais seções de cantoneiras fazem um outro arco (16 x 25 cm), que dará sustentação ao aparato de PEAD que contém as seringas alinhadas da Pa-DPX (Figura 19).

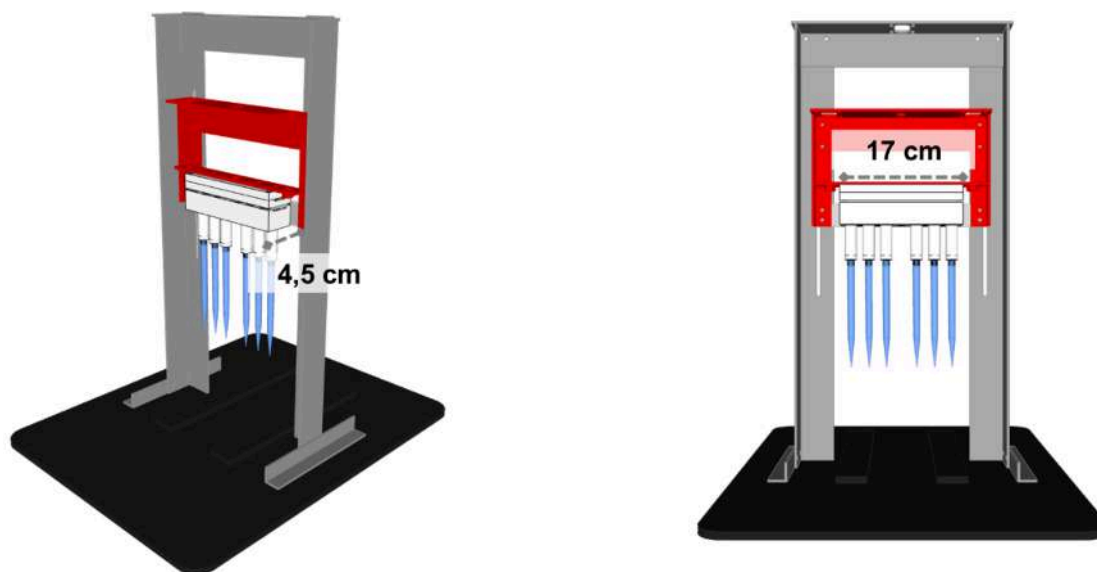
Figura 19. Representação da base de sustentação do aparato de Pa-DPX



Elaborado pelo autor (2023)

O aparato de Pa-DPX foi produzido utilizando chapas de PEAD de 12 mm e 30 mm (17 cm x 4,5 cm), em conjunto com uma chapa de alumínio de 3 mm, conforme possibilidade previamente indicada no capítulo anterior (Figura 20). Desta vez, foram utilizadas seis seringas de 10 mL, melhorando a capacidade do aparato inicial.

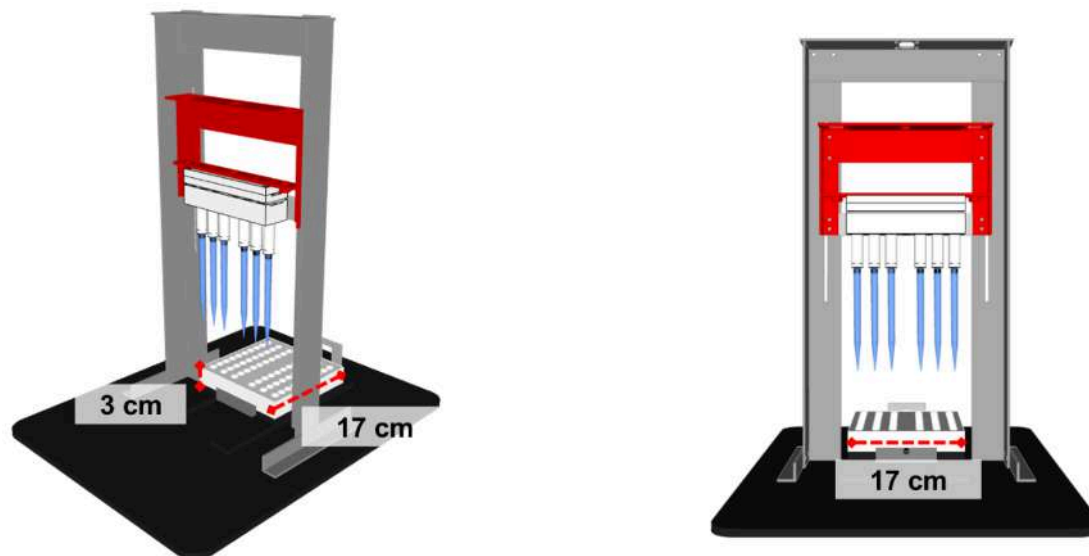
Figura 20. Representação do aparato de Pa-DPX e sua localização no protótipo



Elaborado pelo autor (2023)

O porta amostra é produzido em PEAD usinado (17 x 17 x 3 cm), comportando 60 frascos de 2 mL (sendo 10 frascos para cada uma das 6 ponteiras), como pode ser visualizado na Figura 21, permitindo extração de até 9 alíquotas diferentes, e dessorção na última etapa.

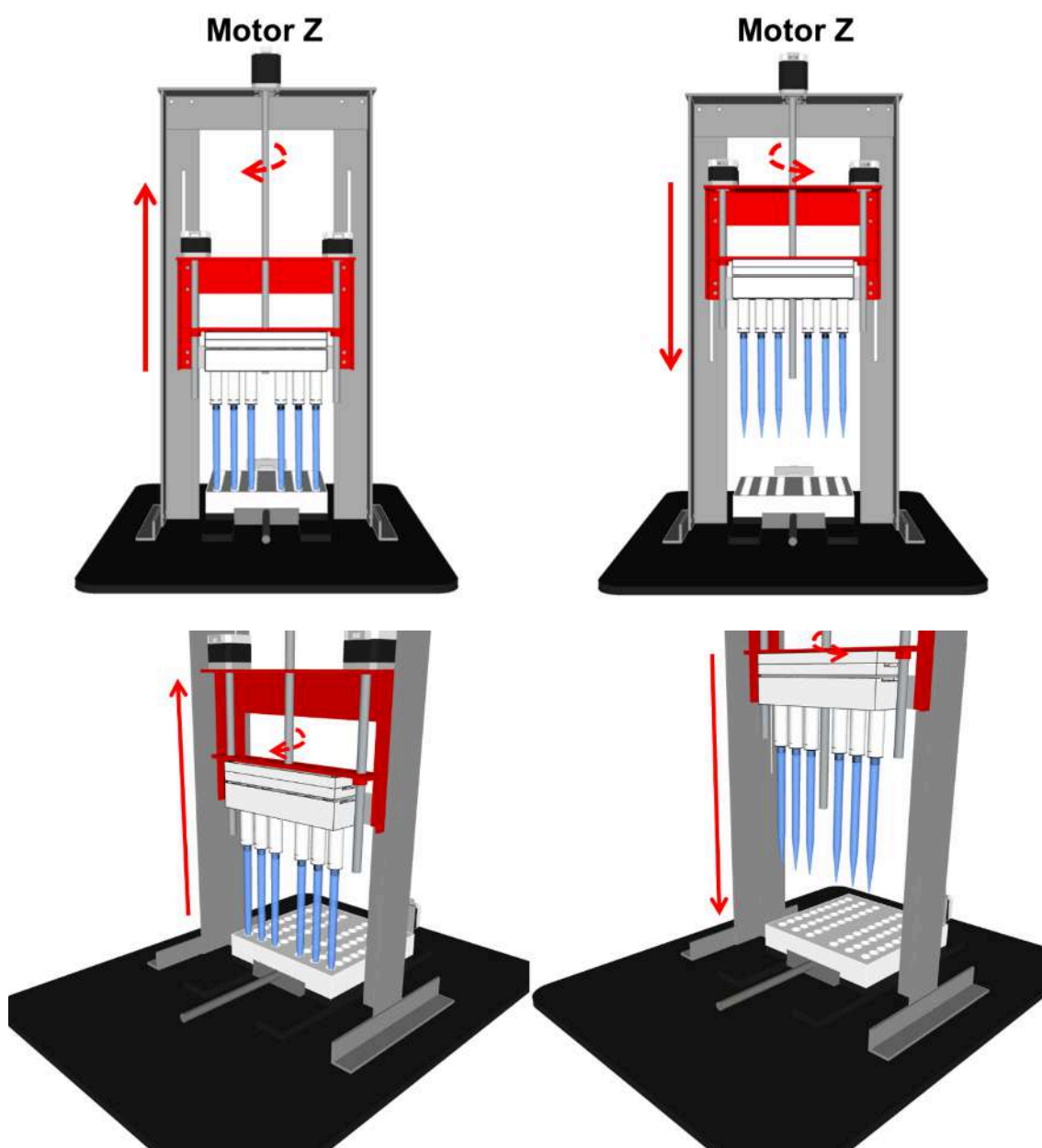
Figura 21. Representação do porta amostras e sua localização no protótipo



Elaborado pelo autor (2023)

Com uso de motores de passo (comandados por computador via Arduino), a estrutura permite reproduzir de maneira mecanizada, a extração da Pa-DPX. Um motor de passo de 7,0 kgf·cm é responsável pelo movimento vertical de todo o sistema Pa-DPX (este movimento faz com que as ponteiros adentrem na amostra no movimento de descida, e sejam retiradas da mesma no movimento de subida). A Figura 22 exemplifica a movimentação.

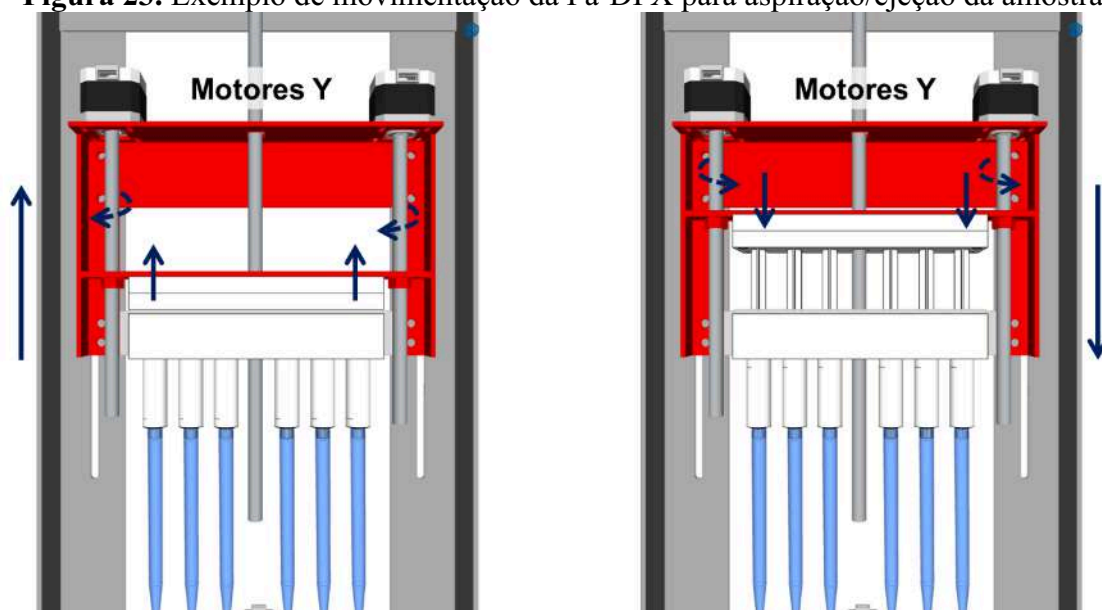
Figura 22. Exemplo de movimentação da Pa-DPX no eixo Z



Elaborado pelo autor (2023)

Dois motores de passo de 3,5 kgf·cm operando sincronamente são responsáveis pelo movimento de aspiração e ejeção da amostra, efetuando propriamente a extração. Quando os dois motores elevam os êmbolos das seringas, a amostra é aspirada e junto dela um volume de ar permite a mistura dispersiva, grande vantagem da DPX. No momento que os motores empurram os êmbolos das seringas para baixo, a amostra é ejetada da ponteira. Este movimento pode ser visualizado na Figura 23.

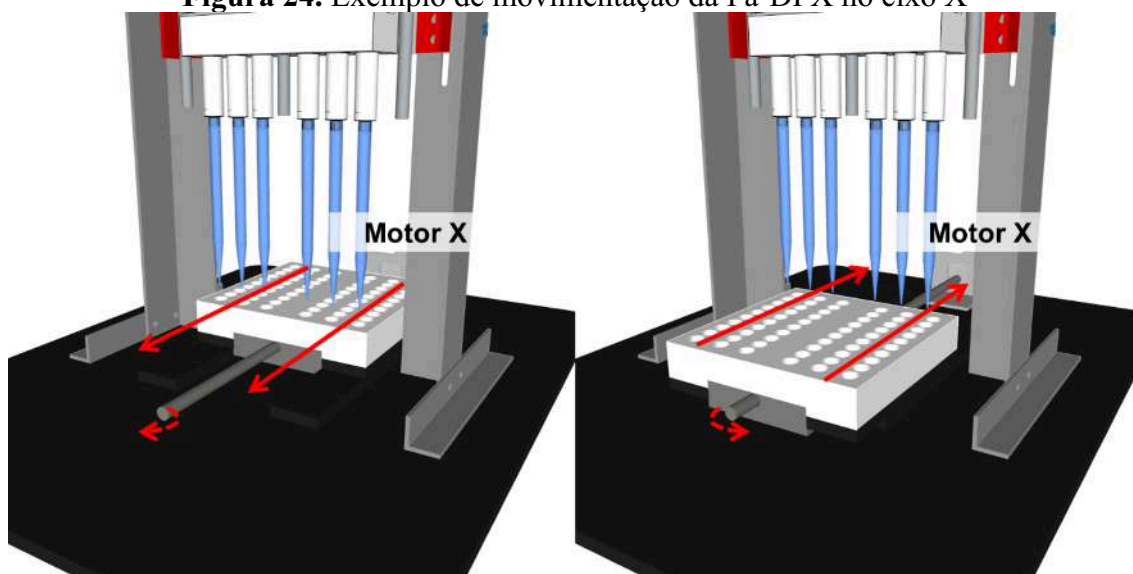
Figura 23. Exemplo de movimentação da Pa-DPX para aspiração/ejeção da amostra



Elaborado pelo autor (2023)

Entre as seguidas etapas de abaixar o sistema Pa-DPX e realização aspiração/ejeção, um quarto motor de passo (também de 3,5 kgf·cm) é responsável por mover o porta amostra horizontalmente, permitindo a análise de várias frações de material, e posteriormente a dessorção dos analitos em solvente adequado (Figura 24).

Figura 24. Exemplo de movimentação da Pa-DPX no eixo X



Elaborado pelo autor (2023)

Acoplados aos motores, os elementos de máquina responsáveis pela transmissão do movimento são barras roscadas de 10 mm, e porcas compatíveis. As guias de movimento nos eixos são a própria estrutura, enquanto no porta amostra foi utilizado um par de corrediças telescópicas de 30 cm.

5.2.5 Programação do protótipo

Por utilizar da placa Arduino para seu funcionamento, a programação para controle do dispositivo foi realizada em linguagem de programação C++, compatível com o microcontrolador utilizado. Para isso se fez uso do ambiente de desenvolvimento integrado (IDE, do inglês *integrated development environment*) Arduino.

Para tornar o desenvolvimento do código mais fácil, uma biblioteca *open-source* foi utilizada. Esta biblioteca (SpeedyStepper⁶) é capaz de controlar o movimento de motores de passo, controlando suas acelerações e velocidades, assim como fazer o controle de fins de curso, necessário ao protótipo.

5.2.6 Avaliação da robustez do protótipo – Tempos de extração

Para avaliar a robustez do protótipo, todas as possibilidades de combinação entre o número de ciclos de extração e o número ciclos de dessorção foram avaliadas experimentalmente, de modo a verificar o tempo necessário para cada condição, e também o funcionamento correto do sistema mecânico, eletrônico e de código.

5.2.7 Avaliação da robustez do protótipo – Comportamento térmico do sistema

Por se tratar de um dispositivo eletromecânico, onde parte da energia elétrica consumida é convertida em calor, faz-se necessário o monitoramento da temperatura do sistema. Deste modo, dividiu-se a análise em dois grandes grupos: a temperatura dos motores de passo, que realizam grande trabalho, e a temperatura da placa controladora

⁶ A biblioteca SpeedyStepper foi desenvolvida por Stan Reifel sob licença aberta MIT e está disponível gratuitamente em sua página no GitHub (<https://github.com/Stan-Reifel/SpeedyStepper>).

com os drivers dos motores, que distribuem a corrente e a potência necessária aos motores.

Assim, fazendo uso contínuo do protótipo (simulando dezenas de ciclos de extração e dessorção seguidos), avaliou-se a variação de temperatura dos motores e do Arduino, em relação à temperatura ambiente, de modo a avaliar possível superaquecimento de alguma parte do sistema. A partir do início de operação, aferiu-se a temperatura dos quatro motores e do Arduino com os drivers, a cada cinco minutos durante meia hora, a cada trinta minutos por duas horas, e depois, a cada sessenta minutos, num período total de cinco horas de uso contínuo do protótipo. Para isso, fez-se uso de um termômetro infravermelho Scantemp ST-600.00, marca Incoterm (Porto Alegre, Brasil), com aferições manuais. Todas as aferições foram realizadas em triplicata, onde durante três dias o instrumento foi avaliado por cinco horas consecutivas. A temperatura ambiente nos dias de testes estava 20 ± 2 °C.

5.2.8 Avaliação da robustez do protótipo – Eficiência analítica

Uma vez construído e avaliado mecânica e eletronicamente, o protótipo foi avaliado em relação à sua eficiência na execução de preparo de amostra, quanto aos parâmetros analíticos de mérito. Para isso, o método desenvolvido previamente para determinação de migração de PAE a partir de amostra de saliva simulada, será novamente empregado, de modo a permitir comparação do instrumento mecanizado com a técnica de execução manual.

Foram realizados testes de repetibilidade e de reprodutibilidade, comparando as duas estratégias, assim como tempos necessários para efetuar cada uma delas.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1 Construção do protótipo

O início da produção do protótipo se deu pela produção das peças metálicas e plásticas. Uma vez adquiridos os materiais base para a confecção do protótipo (cantoneiras metálicas de 1 e 2 polegadas e chapas de PEAD), os mesmos foram

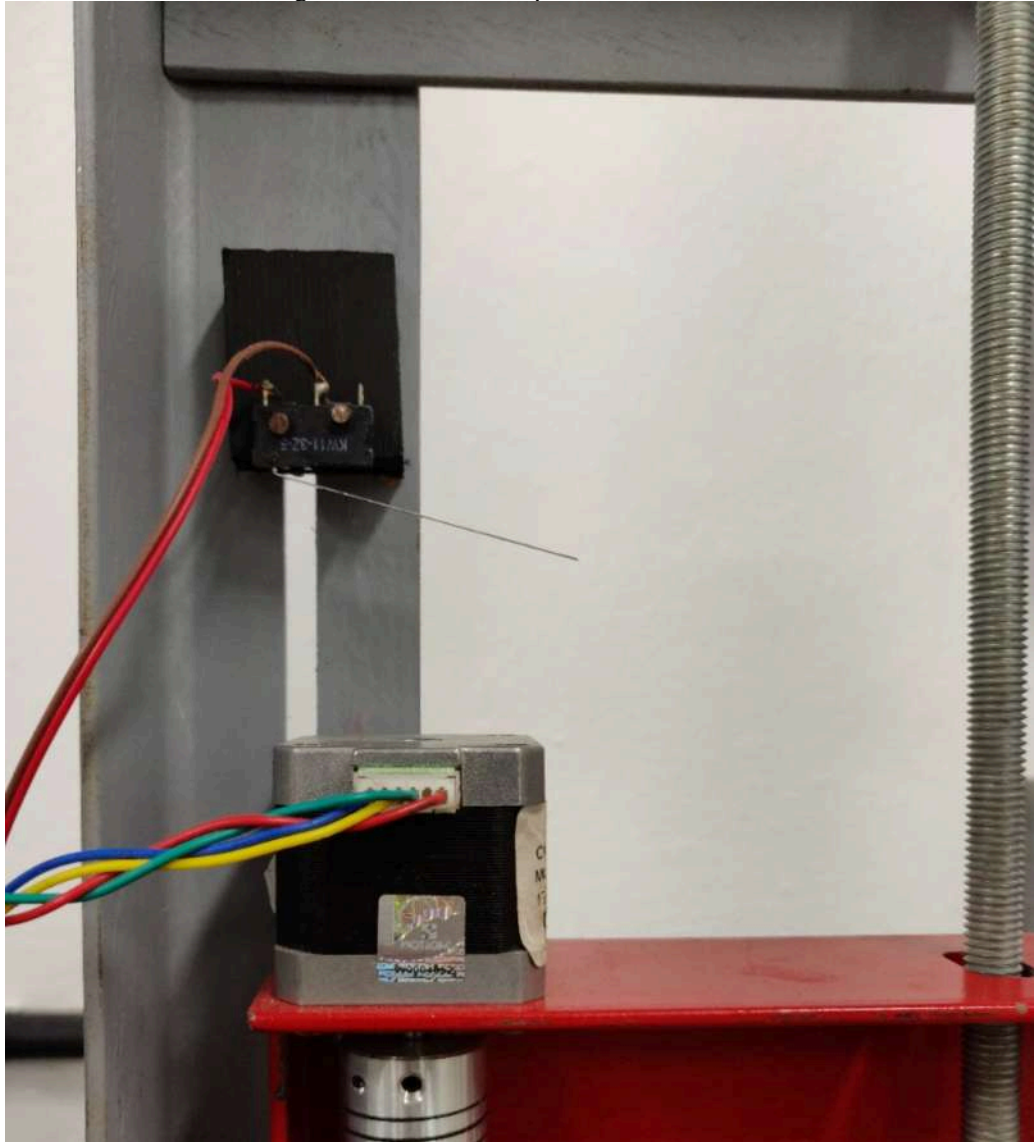
usinados em fresadora convencional por profissional habilitado. Todo o processo tomou cerca de 8 horas do operador especializado.

As demais construções foram realizadas na residência do estudante e de colaboradores, visto que durante esse processo o país enfrentava o auge da pandemia de COVID-19, e os laboratórios estavam em sua grande maioria, desativados.

Uma vez produzido o instrumento mecânico, testes foram sendo realizados para avaliação do funcionamento técnico do dispositivo. Desta forma, observou-se a necessidade de alteração no projeto inicial, para melhor funcionamento da técnica. A principal alteração foi a adição de sensores de fim de curso para os três eixos de atuação. Isto se dá devido à necessidade do aparelho realizar sempre o movimento em posições precisas e exatas, a fim de acessar com sucesso a amostra com a ponteira, fazer a completa sucção do líquido, para então processar a DPX.

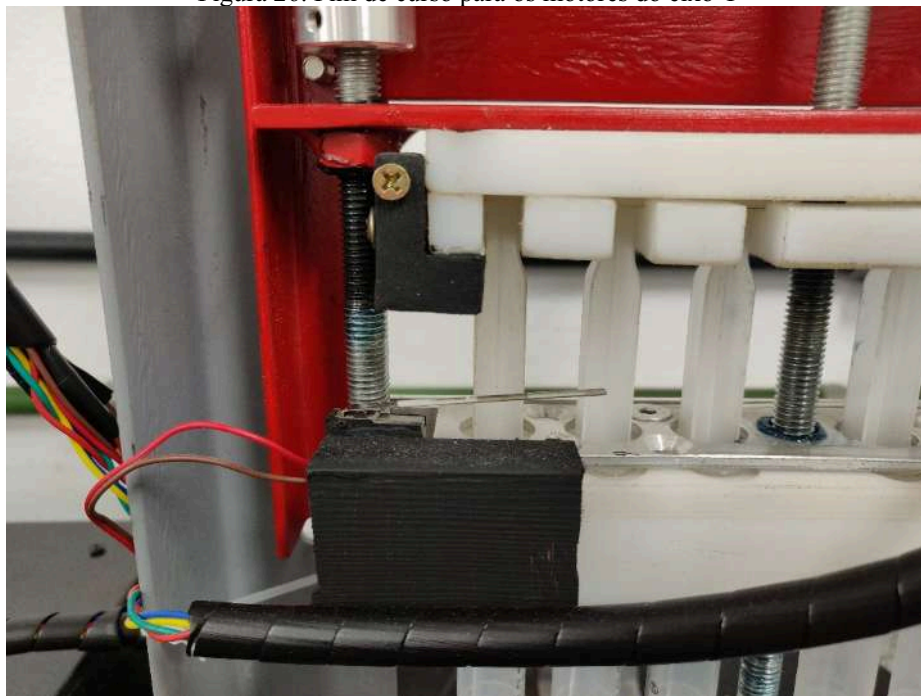
Em outras palavras, antes de iniciar a execução da técnica, o instrumento precisa estar sempre na posição inicial correta. Como quando não estão em operação, os motores podem ser movimentados com a mão, estes podem ser deslocados da posição correta, e quando o instrumento fosse requisitado a fazer sua operação, ela não teria sucesso, pois as posições estariam desbalanceadas. Desta forma, em cada um dos eixos dos motores foi adaptado um sensor de fim de curso, para que sempre que inicie uma extração, o dispositivo estabilize sua posição e permita funcionamento correto. Estes sensores foram fixados no protótipo através de pequenos pedaços de MDF, por meio de adesivo instantâneo, como pode ser visto na Figura 25 para o motor Z, na Figura 26 para os motores Y e na Figura 27 para o motor X.

Figura 25. Fim de curso para o eixo Z



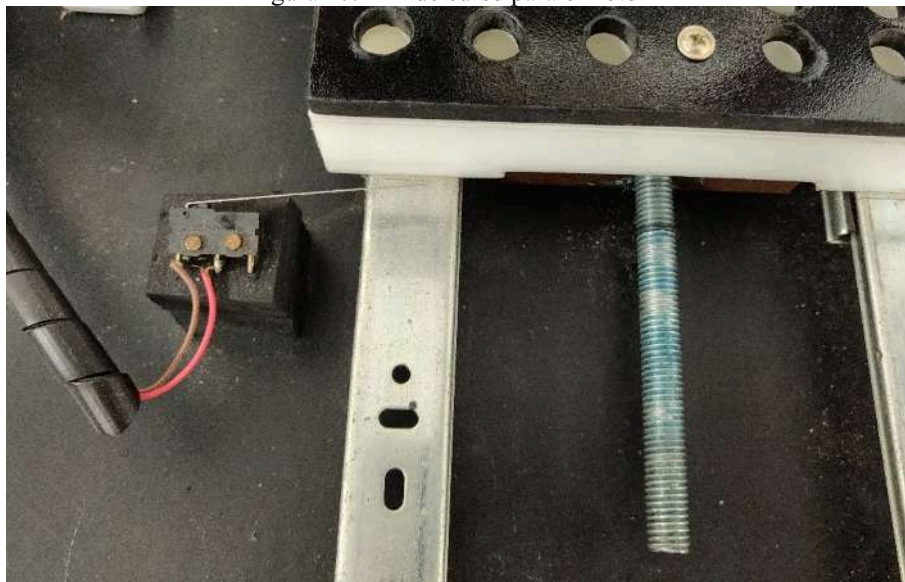
Elaborado pelo autor (2023)

Figura 26. Fim de curso para os motores do eixo Y



Elaborado pelo autor (2023)

Figura 27. Fim de curso para o motor X



Elaborado pelo autor (2023)

Outra adequação necessária foi a adição de uma nova placa sobre o porta amostra, com propósito de melhor comportar os frascos de amostra. Inicialmente o projeto se deu em função de um pequeno copo de béquer de vidro com capacidade de 2

mL. No entanto, devido à indisponibilidade de compra de mais quantidade do mesmo, optou-se por usar frascos tipo *Eppendorf* (de 2 mL e de 1,5 mL) de polipropileno, facilmente encontrados no mercado nacional. Assim, o porta amostra precisava ter orifícios mais estreitos, de modo a deixar os frascos bem encaixados na base, sem nenhum balanço. Para isso, uma pequena chapa de MDF de 6 mm foi preparada, e fixada sobre o porta amostra original (Figura 28).

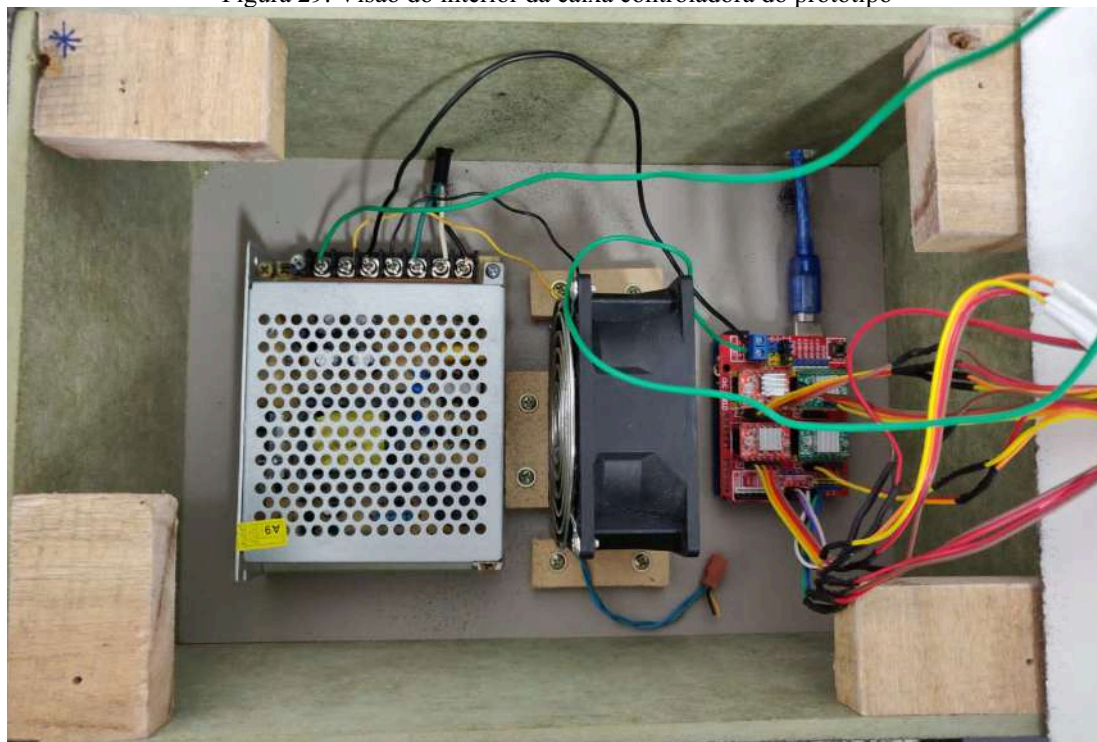
Figura 28. Novo porta amostra (em preto) sobre a placa inicial (PEAD, em branco) e frascos de PP utilizados para extração e dessorção.



Elaborado pelo autor (2023)

Além dessas alterações na estrutura do protótipo, viu-se a necessidade de organizar a parte controladora (Arduino e fonte de alimentação), como pode ser visto na Figura 29. Para isso, construiu-se uma caixa de MDF, de dimensões 31 cm de comprimento, 22 cm de largura e 16 cm de altura, onde os equipamentos foram fixados e mantidos protegidos. Para passagem dos cabos de alimentação, dados via computador e controle dos motores e sensores, orifícios foram produzidos na caixa.

Figura 29. Visão do interior da caixa controladora do protótipo



Elaborado pelo autor (2023)

Além disso, por se tratar de um dispositivo eletromecânico, um botão de emergência foi instalado, de modo a proteger o usuário (Figura 30). Em caso de emergência, o botão pode ser pressionado e a alimentação dos motores é cessada, fazendo com que o aparato pare imediatamente. Uma citação muito importante deve ser feita: Prabhu e Urban (2017) reiteram que de forma geral, módulos eletrônicos de pequena escala (não industriais) não devem ser utilizados para controle de funções críticas ou sistemas mecânicos complexos/grandes, de modo a prevenir erros e possíveis acidentes.

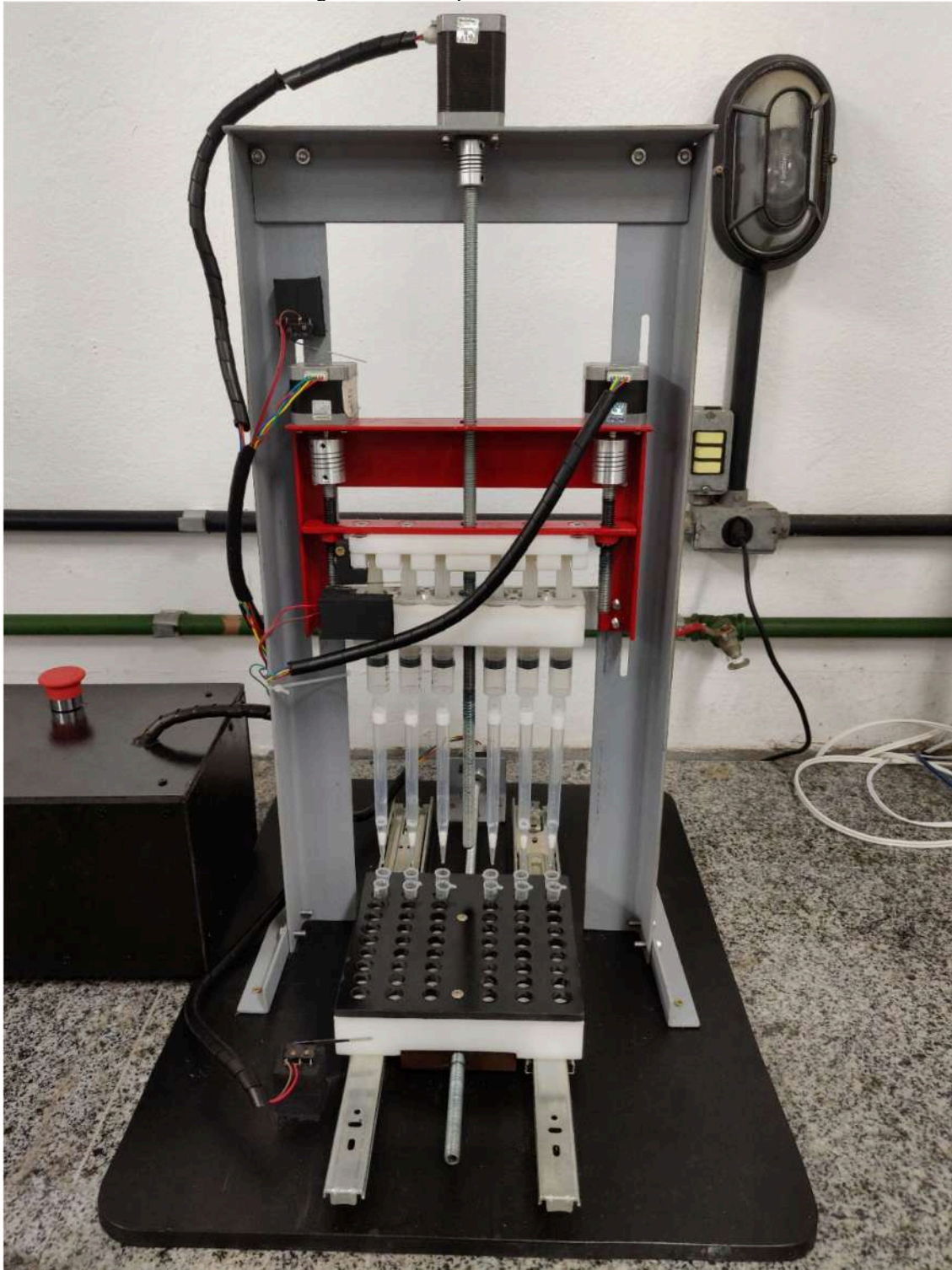
Figura 30. Caixa controladora com o botão de emergência em foco



Elaborado pelo autor (2023)

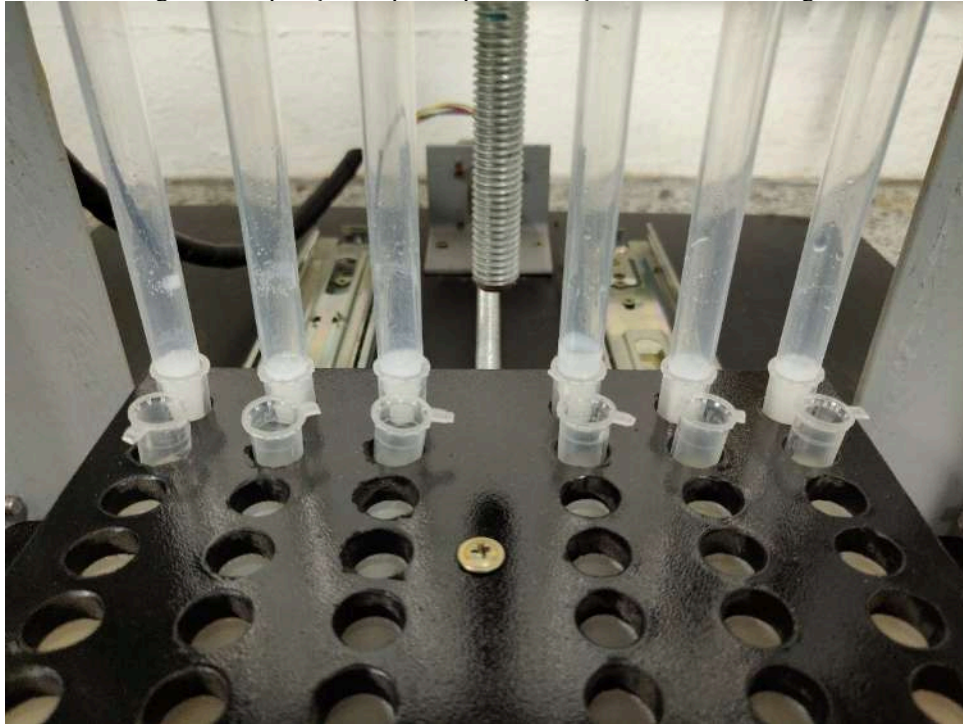
O dispositivo final pode ser visualizado na Figura 31, com detalhamento da coleta de amostra na Figura 32, e da organização dos motores e seu cabeamento na Figura 33.

Figura 31. Protótipo em sua versão final



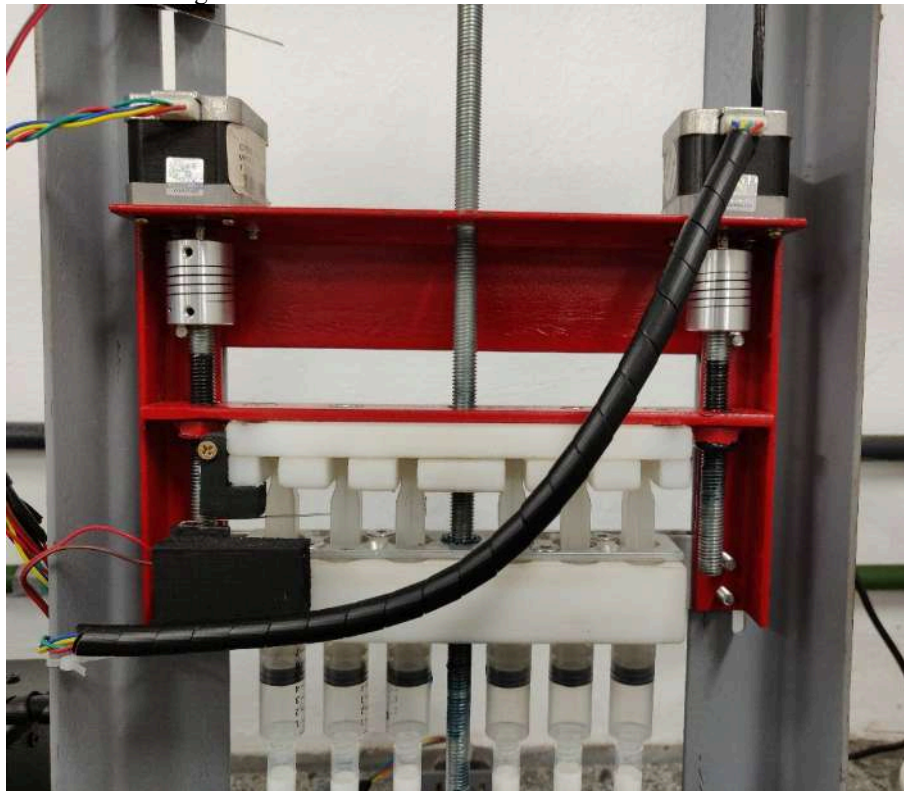
Elaborado pelo autor (2023)

Figura 32. Operação do protótipo na extração de amostras de água



Elaborado pelo autor (2023)

Figura 33. Visão detalhada dos motores e cabeamento



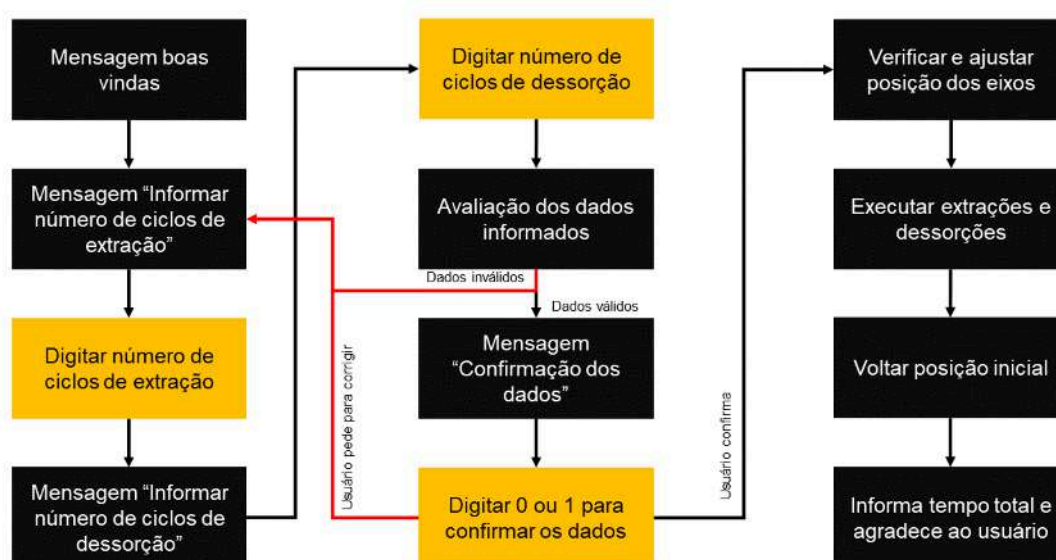
Elaborado pelo autor (2023)

5.3.2 Programação do protótipo

A programação do sistema implica na geração de código que será responsável pela interação com o usuário, que deve informar o número de ciclos de extração e de dessorção desejados ao sistema (através de um computador munido da IDE Arduino, conectado via cabo USB ao protótipo) e pela transformação dessas informações em movimento mecânico que efetivamente executará o preparo de amostra.

Buscou-se trabalhar de maneira a facilitar a experiência do usuário, pela criação de uma comunicação explícita entre o sistema e o mesmo, através do monitor serial da IDE. Também foi trabalhada uma forma de evitar erros do usuário, como por exemplo, a inserção de dados incorretos ou impossíveis de serem executados pelo dispositivo. Cabe ressaltar que o número máximo de ciclos de extração e dessorção é nove, ou seja, o usuário precisa informar para cada uma dessas variáveis um número inteiro entre 1 e 9. O programa, por sua vez, busca avaliar se estas condições são satisfeitas (se o usuário indicou condições válidas para execução), impedindo que o sistema encontre erros durante sua execução. Para exemplificar o código, o seguinte fluxograma foi desenvolvido Figura 34.

Figura 34. Fluxograma de funcionamento do código do projeto (em caixas pretas as atividades do sistema, e em laranja as atividades que o usuário executa).



Elaborado pelo autor (2023)

Conforme pode ser visto no fluxograma, o usuário é ativo em apenas uma pequena fração do funcionamento do protótipo, visto que a grande parte das etapas é mecanizada.

Quanto ao funcionamento do programa, inicialmente, ao abrir o monitor serial da IDE Arduino, o programa dará boas-vindas ao usuário, e iniciará perguntando qual o número de ciclos de extração o usuário deseja executar (Figura 35).

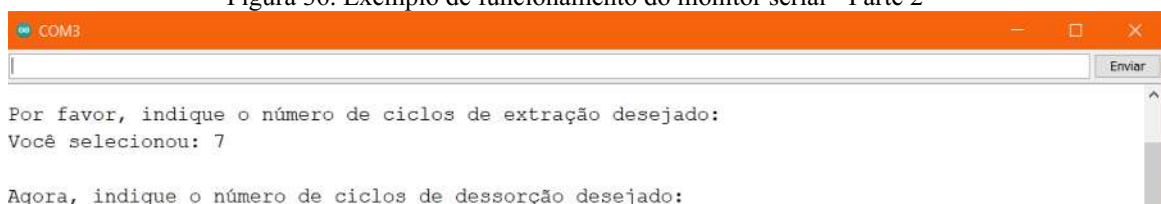
Figura 35. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 1



Elaborado pelo autor (2023)

Então o usuário deve digitar o número desejado, e teclar ENTER (ou clicar em “Enviar”). O programa então pergunta qual o número de ciclos de dessorção desejado (Figura 36).

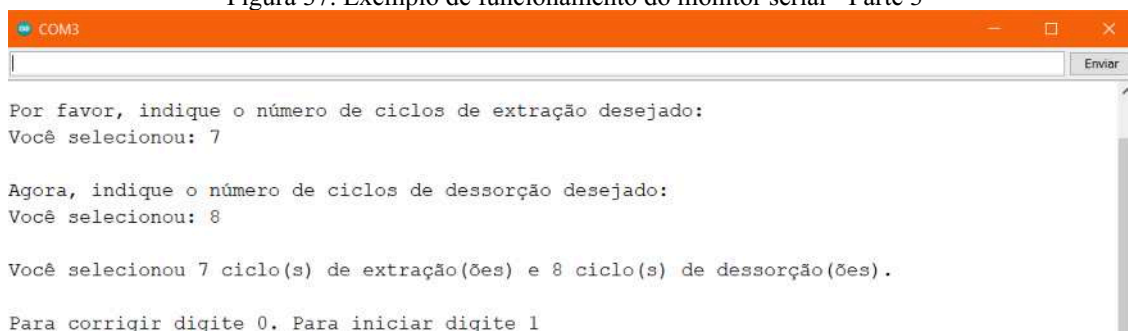
Figura 36. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 2



Elaborado pelo autor (2023)

Após o usuário fornecer essas informações, o programa verifica se os valores são válidos, e em caso positivo faz a confirmação com o usuário. Neste momento o usuário pode confirmar para seguir com o procedimento, ou corrigir o que for necessário. Caso os valores informados pelo usuário sejam inválidos (um número menor que 1, maior que 9, ou outro caractere aleatório), o sistema automaticamente pede que o usuário informe novamente os valores desejados, indicando esta condição (Figura 37).

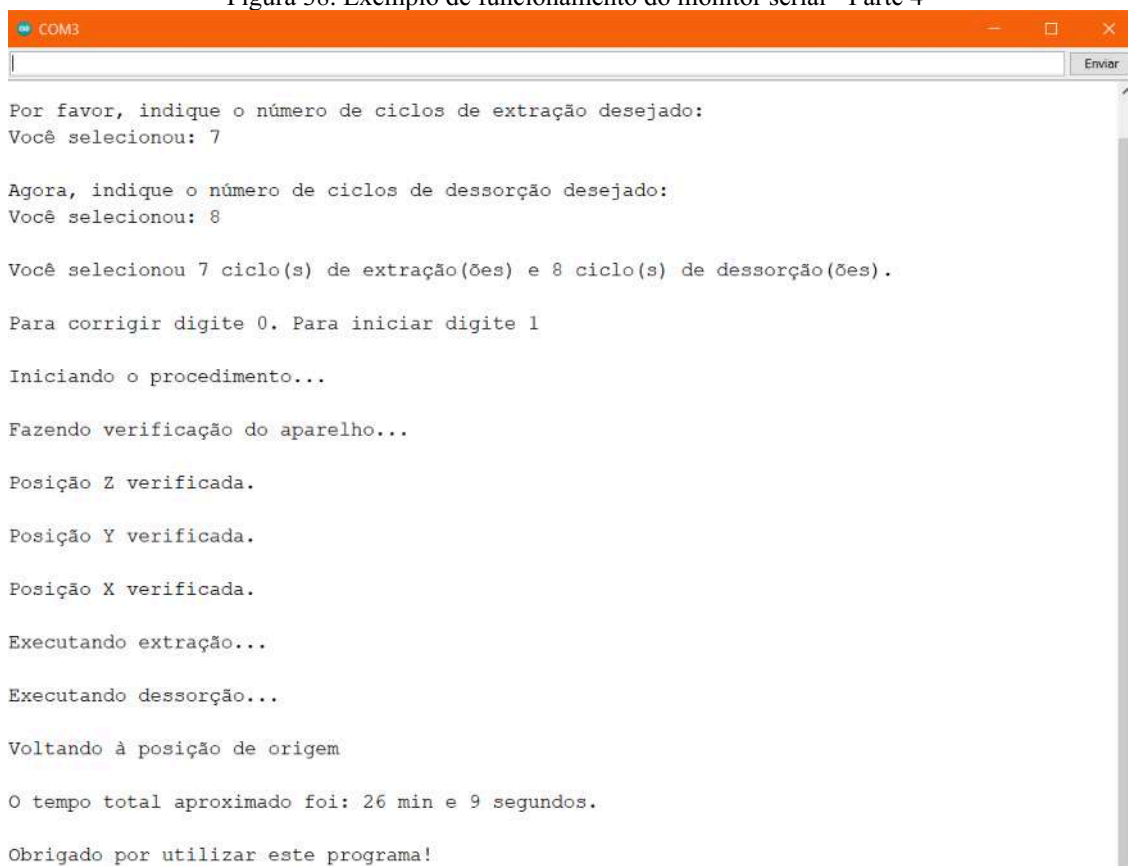
Figura 37. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 3



Elaborado pelo autor (2023)

Considerando que o usuário confirmou a operação, o sistema iniciará seu trabalho mecânico, fazendo o ajuste das posições dos três eixos dos motores, e então dará início às etapas de extração e dessorção. Por fim, o sistema informa ao usuário o tempo total gasto para sua extração, e termina com uma mensagem de agradecimento (Figura 38).

Figura 38. Exemplo de funcionamento do monitor serial - Parte 4



Elaborado pelo autor (2023)

Com intuito de fomentar o desenvolvimento de estratégias como esta, o código⁷ desenvolvido para este protótipo é aberto e está apresentado na Tabela 12, acompanhado da sua descrição detalhada.

Tabela 12. Código Arduino responsável pelo funcionamento do protótipo

<code>#include <SpeedyStepper.h></code>	Faz a inclusão da biblioteca SpeedyStepper, responsável pelo controle dos motores de passo.
<code>const int MOTOR_X_STEP_PIN = 2;</code> <code>const int MOTOR_Y_STEP_PIN = 3;</code> <code>const int MOTOR_Z_STEP_PIN = 4;</code> <code>const int MOTOR_X_DIR_PIN = 5;</code> <code>const int MOTOR_Y_DIR_PIN = 6;</code> <code>const int MOTOR_Z_DIR_PIN = 7;</code> <code>const int STEPPERS_ENABLE_PIN = 8;</code> <code>const int LIMIT_SWITCH_X_PIN = 9;</code> <code>const int LIMIT_SWITCH_Y_PIN = 10;</code> <code>const int LIMIT_SWITCH_Z_PIN = 11;</code>	Faz a atribuição dos pinos digitais do Arduino, definindo sua responsabilidade no código. Neste caso define-se os responsáveis pelo controle dos passos dos motores, assim como da direção dos mesmos. Também é definido o pino de habilitação de movimento dos motores, e os sensores de fim de curso necessários para zerar a posição dos motores.
<code>SpeedyStepper stepperX;</code> <code>SpeedyStepper stepperY;</code> <code>SpeedyStepper stepperZ;</code>	Faz-se a instanciação dos motores (nomeadamente motores X, Y e Z), a partir de modelo definido pela biblioteca SpeedyStepper.
<code>long int diferenca_tempo = 0;</code> <code>unsigned long tempo_1 = 0;</code> <code>unsigned long tempo_2 = 0;</code> <code>int num_ext;</code> <code>int num_des;</code> <code>int conf = 1;</code> <code>long int trajeto_volta;</code> <code>long int movimento_x = 533*15;</code> <code>long int movimento_y = 533*20;</code> <code>long int movimento_z = 533*42;</code> <code>long int movimento_y_curto = 533*12;</code> <code>long int movimento_z_curto = 533*15;</code> <code>long int movimento_y_restante = movimento_y - movimento_y_curto;</code> <code>long int movimento_z_restante = movimento_z - movimento_z_curto;</code> <code>int trajeto_x = 533;</code> <code>int trajeto_y = 533;</code> <code>int trajeto_z = 533;</code>	Atribuição de variáveis necessárias para o funcionamento do programa. Estas variáveis servem para questões de controle de tempo total de execução, confirmação de dados com o usuário, e constantes relacionadas ao número de passos que os motores precisam realizar para movimentação em mm.
<code>void setup() {</code> <code> Serial.begin(9600);</code> <code> pinMode(STEPPERS_ENABLE_PIN,</code> <code> OUTPUT);</code> <code> pinMode(LIMIT_SWITCH_X_PIN,</code> <code> INPUT_PULLUP);</code> <code> pinMode(LIMIT_SWITCH_Y_PIN,</code> <code> INPUT_PULLUP);</code> <code>}</code>	Estas instruções são executadas uma única vez, no início do programa. Aqui vão configurações dos pinos do Arduino e de seu funcionamento. Inicialmente se inicia a comunicação serial, a 9600 bps. Isso será responsável pela comunicação da placa com o usuário, através do

⁷ O código pode ser baixado a partir do link a seguir: <https://github.com/ricardodhuelmann/arduino>

```

        pinMode(LIMIT_SWITCH_Z_PIN,
INPUT_PULLUP);

stepperX.connectToPins(MOTOR_X_STEP_PIN,
MOTOR_X_DIR_PIN);

stepperY.connectToPins(MOTOR_Y_STEP_PIN,
MOTOR_Y_DIR_PIN);

stepperZ.connectToPins(MOTOR_Z_STEP_PIN,
MOTOR_Z_DIR_PIN);
digitalWrite(STEPPERS_ENABLE_PIN,
HIGH);
stepperX.setSpeedInStepsPerSecond(1350);

stepperX.setAccelerationInStepsPerSecondPerSecond(400);
stepperY.setSpeedInStepsPerSecond(500);

stepperY.setAccelerationInStepsPerSecondPerSecond(100);
stepperZ.setSpeedInStepsPerSecond(1350);

stepperZ.setAccelerationInStepsPerSecondPerSecond(400);
}

void mover_x(long int x) {
stepperX.moveRelativeInSteps(x);
delay(100);
}

void mover_y(long int y) {
stepperY.moveRelativeInSteps(y);
delay(100);
}

void mover_z(long int z) {
stepperZ.moveRelativeInSteps(z);
delay(100);
}

void extrair(int num_ext) {
Serial.println("Executando extração... \n");
for(int n = 0; n < num_ext; n++) {
mover_x(-movimento_x);
mover_z(-movimento_z);
mover_y(movimento_y_curto);
delay(2500);
mover_z(movimento_z_curto);
mover_y(movimento_y_restante);
delay(1000);
mover_y(-movimento_y);
mover_z(movimento_z_restante);
}
}

void dessorver(int num_des) {
Serial.println("Executando dessorção... \n");
mover_x(-movimento_x);
mover_z(-movimento_z);
for (int n = 0; n < num_des; n++) {
mover_y(movimento_y_curto);

```

monitor serial, onde serão inseridas informações de número de ciclos de extração e de dessorção.

Faz-se a declaração dos pinos referentes aos fins de curso, do tipo INPUT_PULLUP, para evitar interferências de sinal através dos fios, o que poderia acarretar mal funcionamento do programa (verificação incorreta de posição). Define-se também os pinos para cada um dos motores instanciados anteriormente, e faz-se a definição de condições de movimento para cada um deles: velocidade e aceleração.

Criação de funções responsáveis pelo movimento dos motores. Cada função recebe como parâmetro um número de passos, que é passado para cada motor instanciado, que então executa o comando, movimentando seu respectivo eixo.

Esta seção de código cria uma função responsável por executar os ciclos de extração, recebendo como parâmetro o número de ciclos informado pelo usuário.

Ela então executa uma estrutura de repetição, que faz o movimento de extração pelo número de vezes necessário.

Já esta seção é semelhante a anterior, mas desta vez responsável pela execução dos ciclos de dessorção. De mesma forma, a partir de número informado pelo usuário, executa os ciclos de dessorção.

	<pre> delay(2500); mover_z(movimento_z_curto); mover_y(movimento_y_restante); delay(1000); mover_y(-movimento_y); if (n < (num_des-1)) { mover_z(-movimento_z_curto); } else { mover_z(movimento_z_restante); } } } </pre>	
LOW);	<pre> void inicia_tempo() { tempo_1 = millis()/1000; digitalWrite(STEPPERS_ENABLE_PIN, delay(50); } </pre>	A função <code>inicia_tempo</code> é responsável por iniciar a contagem de tempo, para que seja possível ao final informar ao usuário o tempo total
HIGH);	<pre> void termina_tempo() { digitalWrite(STEPPERS_ENABLE_PIN, delay(50); tempo_2 = millis()/1000; diferenca_tempo = tempo_2 - tempo_1; int minutos = (diferenca_tempo/60)%60; int segundos = diferenca_tempo%60 + 1; Serial.print("O tempo total aproximado foi: "); Serial.print(minutos); Serial.print(" min e "); Serial.print(segundos); Serial.println(" segundos."); } </pre>	Funcionando de forma complementar a função <code>inicia_tempo</code> , a função <code>termina_tempo</code> é responsável por terminar a contagem de tempo, calcular o tempo total gasto, e informar o usuário esta informação.
n");	<pre> void executa (int num_ext, int num_des) { extrair(num_ext); dessorver(num_des); trajeto_volta = (num_ext+1)*movimento_x; Serial.println("Voltando à posição de origem \ n"); mover_x(trajeto_volta); } </pre>	A função <code>executa</code> é responsável por realizar o processo, passando informações de extração e de dessorção para suas respectivas funções, a por fazer o movimento final, retornando o porta amostra para a posição de origem
de ciclos de extração desejado:");	<pre> void pergunta1() { Serial.println("\nPor favor, indique o número de ciclos de extração desejado:"); while (Serial.available() == 0) {} num_ext = Serial.parseInt(); Serial.print("Você selecionou: "); Serial.println(num_ext); delay(500); } </pre>	Esta função é responsável pela interação com o usuário, perguntando qual o número de ciclos de extração desejado.
ciclos de dessorção desejado:");	<pre> void pergunta2() { Serial.println("\nAgora, indique o número de ciclos de dessorção desejado:"); while (Serial.available() == 0) {} num_des = Serial.parseInt(); Serial.print("Você selecionou: "); Serial.println(num_des); delay(500); } </pre>	De forma similar a anterior, esta função interage com o usuário fazendo a pergunta de qual o número de ciclos de dessorção desejado.


```

}
void confirmacao() {
  if (num_ext>9 || num_ext<1) {
    Serial.println("Você escolheu um número
não permitido de ciclos de extração. Escolha um valor de 1
a 9. \n");
    principal();
  }
  if (num_des>9 || num_des<1) {
    Serial.println("Você escolheu um número
não permitido de ciclos de desorção. Escolha um valor de 1
a 9. \n");
    principal();
  } else {
    Serial.print("Você selecionou ");
    Serial.print(num_ext); Serial.print(" ciclo(s)
de extração(ões) e ");
    Serial.print(num_des);
    Serial.println(" ciclo(s) de desorção(ões). \
nPara corrigir digite 0. Para iniciar digite 1 \n");
    while (Serial.available() == 0) {}
    conf = Serial.parseInt();
    if (conf>1 || conf<0) {
      Serial.println("Você escolheu um número
não permitido. Favor inserir 1 para confirmar e 0 para
cancelar: \n");
      while (Serial.available() == 0) {}
      conf = Serial.parseInt();
      confirmacao();
    }
  }
}

```

Função de controle de dados informados pelo usuário. Dadas limitações físicas do protótipo, verifica se os números de ciclo de extração e de desorção estão entre 1 e 9.

Também permite que o usuário revise os dados informados antes de executar o processo.

```

void zerar_posicao(){
  const long directionTowardHome = 1;
  const float speedInStepsPerSecond = 100;
  const long maxDistanceToMoveInSteps =
9999999;
  stepperZ.moveToHomeInSteps(directionTowardHome,
  15*speedInStepsPerSecond, maxDistanceToMoveInSteps,
  LIMIT_SWITCH_Z_PIN);
  Serial.println("Posição Z verificada.\n");
  delay(100);
  stepperY.moveToHomeInSteps(-
  directionTowardHome, 8*speedInStepsPerSecond,
  maxDistanceToMoveInSteps, LIMIT_SWITCH_Y_PIN);
  Serial.println("Posição Y verificada.\n");
  delay(100);

  stepperX.moveToHomeInSteps(directionTowardHome,
  20*speedInStepsPerSecond, maxDistanceToMoveInSteps,
  LIMIT_SWITCH_X_PIN);
  Serial.println("Posição X verificada.\n");
  delay(100);
  mover_x(-500);
  mover_y(3*533);
  mover_z(-13*533);
}

```

Esta função é responsável por colocar o protótipo na posição correta antes de iniciar o processo de extração. Isso é importante pois entre usos, os eixos podem ser movimentados manualmente. Assim, independentemente da posição em que o protótipo é deixado, o programa é responsável por colocar ele na posição correta através dos limitadores de fim de curso instalados.

<pre> } void principal() { Serial.println("Olá, bem-vindo!"); delay(1000); if (conf == 1) { pergunta1(); delay(250); pergunta2(); delay(250); confirmacao(); if (conf == 0) { Serial.println("\nOK! Vamos começar novamente. \n"); delay(2500); conf = 1; principal(); } if (conf == 1) { Serial.println("Iniciando o procedimento... \n"); delay(500); Serial.println("Fazendo verificação do aparelho...\n"); inicia_tempo(); zerar_posicao(); executa(num_ext, num_des); termina_tempo(); Serial.println("\nObrigado por utilizar este programa!"); Serial.end(); } } } </pre>	<p>Principal função do programa, centraliza todas as ações, desde iniciar contato com o usuário para obter informações, até chamar os contadores de tempo, zerar posição dos eixos, executar todo o processo e se despedir do usuário.</p>
<pre> void loop(){ principal(); } </pre>	<p>Inicia automaticamente a função principal.</p>

Elaborado pelo autor (2023)

5.3.3 Avaliação da robustez do protótipo – Tempos de extração

A Tabela 13 traz o compilado de tempos necessários para cada uma das 81 combinações possíveis entre número de ciclos de extração e número de ciclos de desorção. Tal avaliação se fez necessária para avaliar a funcionalidade de código e trabalho mecânico do instrumento, em todas as combinações de uso possíveis, de modo a perceber e corrigir eventuais falhas.

Tabela 13. Avaliação dos tempos de extração para cada combinação de número de ciclos de extração e de dessorção

		Ciclos de extração								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ciclos de dessorção	1	05:02	07:10	09:02	11:08	12:59	15:04	16:55	18:59	20:51
	2	06:30	08:18	10:26	12:16	14:24	16:21	18:21	20:17	22:16
	3	07:39	09:49	11:37	13:44	15:35	17:39	19:29	21:36	23:33
	4	09:08	10:59	13:05	14:54	17:01	18:57	20:56	22:54	24:49
	5	10:16	12:25	14:13	16:20	18:12	20:17	22:07	24:13	26:11
	6	11:46	13:36	15:39	17:33	19:37	21:37	23:32	25:32	27:22
	7	12:56	15:03	16:54	18:57	20:54	22:52	24:45	26:48	28:48
	8	14:22	16:13	18:17	20:14	22:14	24:11	26:09	28:04	30:09
	9	15:33	17:37	19:30	21:34	23:30	25:29	27:27	29:26	31:19

Fonte: O autor (2023)

Como pode ser observado, a extração mais simples (1 ciclo de extração com 1 ciclo de dessorção) leva pouco mais de 5 minutos para ser concluída. Dividindo o tempo pela quantidade de amostras (seis), tem-se um valor pouco menor que 1 minuto por amostra. Já casos mais longos, onde o número de extrações e dessorções é maior, o tempo total necessário pode chegar a mais de 30 minutos (sendo em média cinco minutos por amostra). Comparando esses tempos com o tempo obtido no dispositivo semi-mecanizado, percebe-se que o dispositivo mecanizado é mais lento.

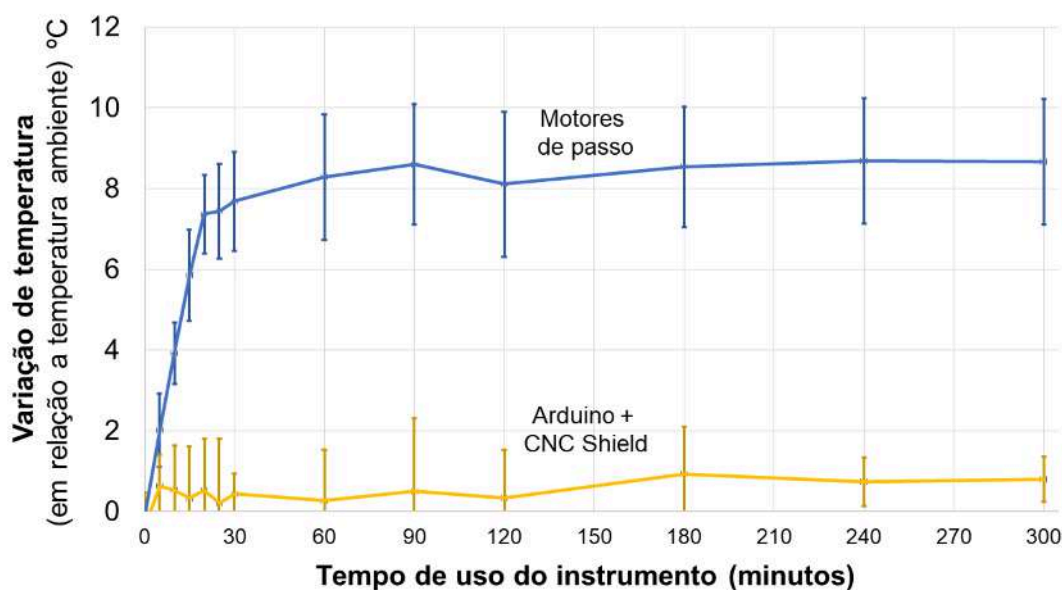
Isso se deve ao fato de o dispositivo precisar sempre zerar sua posição, e principalmente, pelas características de seus atuadores lineares: barras roscadas não são o material ideal para essa função, mas mesmo assim, não deixam de realizar o processo, sendo um dos materiais mais baratos para efetuar tal trabalho. Usar materiais mais avançados como fusos de esferas, e motores mais fortes, pode reduzir significativamente o tempo total necessário para efetuar as análises. No entanto, o custo do sistema seria significativamente elevado.

5.3.4 Avaliação da robustez do protótipo – Comportamento térmico do sistema

Inicialmente observou-se empiricamente que os motores - quando atuavam por horas seguidas - tinham um aquecimento sensível ao toque, ficando levemente mornos/quentes. Esta observação levou ao estudo do comportamento térmico do sistema, avaliando-o em situação de uso contínuo prolongado, verificando se havia superaquecimento.

A Figura 39 apresenta um gráfico de variação da temperatura do sistema em relação a temperatura ambiente, no período de 5 horas (300 minutos) de uso contínuo.

Figura 39. Avaliação da variação de temperatura dos motores de passo e da placa controladora com o tempo de uso do instrumento



Elaborado pelo autor (2023)

Como pode ser observado, o Arduino e a *CNC Shield* que contém os drivers dos motores de passo, mantêm uma temperatura constante, levemente acima da temperatura ambiente. Isso pode ser justificado pelo uso de um *cooler* para resfriamento desta parte do sistema, de modo a proteger os componentes eletrônicos que fazem o controle do dispositivo, fazendo a regulação de corrente e potência para os atuadores mecânicos.

Já em relação aos motores de passo, foi observado que nos primeiros 20 minutos há uma taxa de aquecimento aproximadamente linear, onde a temperatura sobe pouco menos de 2 °C a cada cinco minutos (aproximadamente 0,4 °C min⁻¹). No entanto, depois de 30 minutos há uma estabilização, onde os motores permanecem a 8 ± 2 °C acima da temperatura ambiente até cinco horas de uso contínuo, não havendo superaquecimento. Esta variação de temperatura é algo natural, visto que os motores estão realizando trabalho continuamente, movendo os eixos para realização das extrações e dessorções. Cabe salientar que a temperatura ambiente estava em torno de 20 °C, ou seja, a temperatura dos motores não ultrapassava 30 °C, estando todos eles numa condição aceitável.

5.3.5 Avaliação da robustez do protótipo – Eficiência analítica

Para avaliação da precisão do dispositivo, o método de análise de migração de ftalatos previamente desenvolvido e validado foi utilizado, a fim de comparar o protótipo eletromecânico com a extração manual. Foram realizadas análises nas mesmas concentrações do estudo anterior (repetibilidade em 5, 50, 100 e 200 µg L⁻¹, e precisão intermediária – análise em dias diferentes – em 100 µg L⁻¹). Os dados obtidos estão presentes na Tabela 14.

Tabela 14. Análise de precisão do dispositivo eletromecânico em método analítico

	DMP	DEP	DBP	BBP	DNOP
LOQ (5 µg L⁻¹)	7.2	8.8	10.0	8.3	15.0
50 µg L⁻¹	13.2	11.8	13.5	14.5	12.8
100 µg L⁻¹	8.8	9.2	8.5	8.4	4.6
200 µg L⁻¹	10.0	9.9	11.7	9.7	9.6
INTER 100 µg L⁻¹	10.5	10.8	9.4	9.3	8.8

Como pode ser visto, a precisão do método aplicado com o protótipo manteve as excelentes respostas quanto a precisão, onde a repetibilidade variou entre 4,6 e 15,0% (enquanto o método manual flutuou entre 2,2 e 20,1%), e a precisão intermediária situou-se entre 8,8 e 10,8% (método manual foi de 7,9 a 16,2%). O conjunto de dados de comparação é finito, mas já pode ser observado que a precisão para o dispositivo

mecanizado foi aprimorada, sendo essas uma das maiores vantagens de se utilizar dispositivos mecanizados para o preparo de amostras.

5.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Para permitir ampla utilização do instrumento criado, foi desenvolvido um Procedimento Operacional Padrão (POP), que apresenta seu funcionamento e permite ao usuário compreender os passos necessários para sua operação. Tal documento pode ser encontrado no Apêndice C. Um vídeo demonstrativo do instrumento em operação pode ser acessado através de *link* disponível no Apêndice D.

Para complementar o objetivo de desenvolver instrumento de baixo custo, a Tabela 15 (a seguir) exemplifica os gastos com cada material necessário para a elaboração eletrônica e mecânica do instrumento.

Tabela 15. Descrição dos componentes utilizados para produzir o instrumento de mecanização da DPX e seus respectivos valores no momento da compra (meados de 2020)

Item	Descrição	Quantidade	Valor unitário aproximado (R\$)	Valor total aproximado (R\$)
1	Arduino Uno R3 + Cabo Usb 2.0	1	49,89	49,89
2	CNC Shield V3	1	25,11	25,11
3	Motor de Passo NEMA 17 – 3,5 kgf.cm / 0,4 A - Wotiom	3	53,98	161,97
4	Motor de Passo NEMA 17 – 7,0 kgf.cm / 1,5 A - Wotiom	1	79,16	79,16
5	Driver de motor de passo A4988	4	13,41	53,64
6	Conector Mini Jumper Sem Aba	5	0,08	0,40
7	Barra roscada M10 (metro)	2	8,00	16,00
8	Cantoneiras de ferro sucata (kg)	2	8,00	16,00
9	Barra de alumínio	0,5	30,00	15,00

	sucata (kg)			
10	PEAD (300x300x15 mm)	1	40,00	40,00
11	Parafusos variados	50	0,25	12,50
12	Corrediça telescópica (par)	1	30,00	30,00
13	Base MDF 15 mm	1	5,00	5,00
14	Fim de curso	3	1,50	4,50
15	Fonte chaveada (12 V e 10 A)	1	50,00	50,00
16	Acopladores de motor de passo	3	15,00	45,00
Estimativa de total				~600

Elaborado pelo autor (2023)

Como pode ser visto na tabela acima, o custo total de aquisição do material necessário para construção do protótipo é de aproximadamente R\$ 600 (US\$ 120 a US\$ 150, considerando câmbio médio do período de compra das peças), um valor bastante acessível quando comparado a dezenas ou centenas de milhares de reais necessários para aquisição de sistemas automatizados comerciais. O custo operacional para usinagem das peças aproximado seria de R\$ 300 a R\$ 500, mas foi isentado pela parceria realizada.

Um aspecto importante a ser discutido é o tempo total necessário para realizar o preparo de amostras. Enquanto o método manual necessitava de aproximadamente 40 segundos por amostra (considerando que eram cinco extrações simultâneas), o método mecanizado com o protótipo precisa de 3 minutos por amostra (considerando seis extrações simultâneas) para realizar os mesmos cinco ciclos de extração e de dessorção. Este tempo é significativamente maior, mas ainda sim um tempo extremamente baixo quando comparado com técnicas clássicas e convencionais. O protótipo tem sua velocidade determinada pelos aspectos mecânicos para execução dos movimentos, limitados pelos motores de passo e pelas barras roscadas que transmitem a energia. O dispositivo foi otimizado para executar da maneira mais rápida, dentro do limite de segurança e de boa funcionalidade, mas sua característica estrutural pode ser aprimorada, permitindo extrações mais rápidas.

Comparando a precisão entre os dois sistemas, ambos apresentaram resultados satisfatórios, mas o dispositivo mecanizado foi melhor. Para afirmar essa melhora significativa, novos estudos comparativos devem ser realizados.

O melhor funcionamento do instrumento, que pode ser produzido com materiais ligeiramente mais caros e robustos, mas mais apropriados e avançados, tem intenção de ser estudado, como a construção de um novo instrumento (Apêndice E). Para esse novo protótipo, uma nova interface gráfica também será proposta, onde a experiência do usuário será mais fluida, através de uma janela própria, sem a necessidade de utilizar a IDE Arduino.

6 CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

Através do uso de materiais acessíveis, foi possível desenvolver estratégias de preparo de amostra baseadas na extração em ponteiras descartáveis de modo semi-mecanizado e mecanizado. As estratégias desenvolvidas se mostraram robustas, eficientes e seguras, e estão de acordo com um grande número de princípios da Química Analítica Verde. Os dispositivos manuais semi-mecanizados foram utilizados também por outros colaboradores do grupo, que puderam comprovar sua eficiência e alta frequência analítica.

Com o método de Pa-DPX desenvolvido nesse trabalho foram obtidas excelentes eficiências de extração para os PAE estudados. O tempo de extração médio foi inferior a 40 segundos por amostra, a precisão se apresentou na faixa aceitável pelos principais órgãos regulatórios, o limite de detecção foi de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$, com faixa linear de $5,0$ a $200 \mu\text{g L}^{-1}$ para todos os seis analitos, sendo possível analisar um grande número de amostras, encontrando a migração de PAE em mais de 80% das amostras. Tais resultados são facilmente comparáveis aqueles obtidos com outras técnicas de microextração, sendo eles às vezes melhores que os demais.

O dispositivo mecanizado, por sua vez, apresentou vantagens semelhantes, permitindo maior segurança ao analista. Contudo, há um conjunto de fatores que podem ser aplicados para melhoria da experiência do usuário. A mecanização e sua relação com a Química Analítica tem sido uma crescente, onde suas potencialidades ainda estão pouco exploradas. Procedimentos de preparo de amostra diminuem o esforço manual, permitem ao analista maior foco em atividades de criação e menos em atividades de repetição, facilitando o desenvolvimento de métodos rápidos, precisos e reproduzíveis.

Espera-se que com as discussões e desenvolvimentos dessa tese, as distâncias entre a Química Analítica, Programação e Eletromecânica sejam encurtadas, encorajando novos pesquisadores a mergulhar nessa junção que pode ser muito promissora, trazendo resultados positivos para ambas as áreas. Através de abordagens multidisciplinares, podem ser alcançados resultados que permitem aumento de eficiência, segurança, diminuam a frequência de erros e impactem menos o meio-ambiente.

REFERÊNCIAS

- AL-NATSHEH, M. et al. Simultaneous GC–MS determination of eight phthalates in total and migrated portions of plasticized polymeric toys and childcare articles. **Journal of Chromatography B**, v. 985, p. 103–109, mar. 2015.
- ANASTAS, P. T. Green Chemistry and the Role of Analytical Methodology Development. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 167–175, set. 1999.
- ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641–654, jun. 2016.
- ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Green Analytical Chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 497–511, jun. 2008.
- BENNETT, R. V. et al. Robotic plasma probe ionization mass spectrometry (RoPPI-MS) of non-planar surfaces. **The Analyst**, v. 139, n. 11, p. 2658, 2014.
- BORDIN, D. C. M. et al. Disposable pipette tips extraction: Fundamentals, applications and state of the art. **Journal of Separation Science**, v. 39, n. 6, p. 1168–1172, 2016.
- BORDIN, D. M. et al. Analysis of Stimulants in Sweat and Urine Using Disposable Pipette Extraction and Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry in the Context of Doping Control. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 46, n. 9, p. 991–998, 24 jan. 2023.
- BREWER, W. E. **Disposable pipette extraction**. US6566145B2, mai. 2003.
- BURATO, J. S. DA S. et al. Recent advances and trends in miniaturized sample preparation techniques. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 1, p. 202–225, jan. 2020.
- CADEADO, A. et al. Internet of Things as a Tool for Sustainable Analytical Chemistry: A Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2022.
- CARASEK, E.; MORÉS, L.; HUELSMANN, R. D. Disposable pipette extraction: A critical review of concepts, applications, and directions. **Analytica Chimica Acta**, v. 1192, p. 339383, fev. 2022.
- CHECK HAYDEN, E. The automated lab. **Nature**, v. 516, n. 7529, p. 131–132, dez. 2014.
- CLEMENT, R. E.; HAO, C. Liquid–Liquid Extraction. Em: **Comprehensive Sampling and Sample Preparation**. [s.l.] Elsevier, 2012. p. 51–63.

DA SILVA SOUSA, D. et al. An Automated, Self-Powered, and Integrated Analytical Platform for On-Line and In Situ Air Quality Monitoring. **Chemosensors**, v. 10, n. 11, p. 454, 2 nov. 2022.

DE SOUZA GOMES, L. O. et al. **Building a Robotics at School Project with Social Transformation**. 2021 Latin American Robotics Symposium (LARS), 2021 Brazilian Symposium on Robotics (SBR), and 2021 Workshop on Robotics in Education (WRE). **Anais...** Em: 2021 LATIN AMERICAN ROBOTICS SYMPOSIUM (LARS), 2021 BRAZILIAN SYMPOSIUM ON ROBOTICS (SBR), AND 2021 WORKSHOP ON ROBOTICS IN EDUCATION (WRE). Natal, Brazil: IEEE, 11 out. 2021. Disponível em: <<https://ieeexplore.ieee.org/document/9605419/>>. Acesso em: 15 maio. 2023

DI NONNO, S.; ULBER, R. Portuino—A Novel Portable Low-Cost Arduino-Based Photo- and Fluorimeter. **Sensors**, v. 22, n. 20, p. 7916, 18 out. 2022.

DZIEKONSKI, E. T. et al. Automated desorption electrospray ionization two-dimensional tandem mass spectrometry: Instrumentation and software for high throughput analysis. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 486, p. 117023, abr. 2023.

EBRAHIM, K.; POURSAFA, P.; AMIN, M. M. Development of a simple and valid method for the trace determination of phthalate esters in human plasma using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 40, n. 22, p. 4403–4410, nov. 2017.

ELSHEIKH, S. G. et al. Green analytical chemistry and experimental design: a combined approach for the analysis of zonisamide. **BMC Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 38, 17 abr. 2023.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, out. 2013.

GOMES, I. C. et al. Molecularly imprinted polymer as sorbent phase for disposable pipette extraction: A potential approach for creatinine analysis in human urine samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 211, p. 114625, mar. 2022.

HARRIS, D. **Quantitative Chemical Analysis**. 9. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2016.

HEUDORF, U.; MERSCH-SUNDERMANN, V.; ANGERER, J. Phthalates: Toxicology and exposure. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 210, n. 5, p. 623–634, out. 2007.

HOWARD, G. A.; MARTIN, A. J. P. The separation of the C12-C18 fatty acids by reversed-phase partition chromatography. **Biochemical Journal**, v. 46, n. 5, p. 532–538, 1 mai. 1950.

IMAM, M. S.; ABDELRAHMAN, M. M. How environmentally friendly is the analytical process? A paradigm overview of ten greenness assessment metric approaches for analytical methods. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 38, p. e00202, jun. 2023.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-). ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.

KAILASA, S. K. et al. Applications of single-drop microextraction in analytical chemistry: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 29, p. e00113, mar. 2021.

KAMAL EL-DEEN, A. et al. Recent advances in dispersion strategies for dispersive liquid–liquid microextraction from green chemistry perspectives. **Microchemical Journal**, v. 191, p. 108807, ago. 2023.

KARAGEORGOU, E.; SAMANIDOU, V. Youden test application in robustness assays during method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1353, p. 131–139, ago. 2014.

KATAOKA, H. In-tube solid-phase microextraction: Current trends and future perspectives. **Journal of Chromatography A**, v. 1636, p. 461787, jan. 2021.

KAYA, S. I.; CETINKAYA, A.; OZKAN, S. A. Green analytical chemistry approaches on environmental analysis. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 33, p. e00157, mar. 2022.

KELLNER, R. et al. **Analytical Chemistry**. 2^a ed ed. Weinheim, Alemanha: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2004.

KENSHIMA, G. **Nas linhas do Arduino Plus: Wiring, hardware e possibilidades**. São Paulo: Novatec, 2021.

LIŠKA, I. Fifty years of solid-phase extraction in water analysis – historical development and overview. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1–2, p. 3–16, jul. 2000.

LÓPEZ-LORENTE, Á. I. et al. The ten principles of green sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 148, p. 116530, mar. 2022.

LV, Q. et al. Determination of Migration of Six Phthalate Esters in Plastic Toys by GC-MS/MS Coupled with Solid-Phase Extraction Using Cucurbit[n]urils as Adsorbent. **The Open Chemical Engineering Journal**, v. 11, n. 1, p. 53–62, 31 out. 2017.

MAGNAGHI, L. R. et al. A green-PAD array combined with chemometrics for pH measurements. **New Journal of Chemistry**, v. 46, n. 40, p. 19460–19467, 2022.

MAKKLIANG, F. et al. A polypyrrole-chitosan cryogel stir-bead micro-solid phase extractor for the determination of phthalate esters in contact lenses storage solutions and in artificial saliva in contact with baby teethers. **Analytica Chimica Acta**, v. 985, p. 69–78, set. 2017.

MANKIDY, R. et al. Biological impact of phthalates. **Toxicology Letters**, v. 217, n. 1, p. 50–58, fev. 2013.

MARTIN, A. J. P.; SYNGE, R. L. M. A new form of chromatogram employing two liquid phases. **Biochemical Journal**, v. 35, n. 12, p. 1358–1368, 1 dez. 1941.

MCROBERTS, M. **Arduino Básico**. São Paulo: Novatec, 2015.

MEDINA, D. A. V. **Aplicação de robótica open-source na automatização do preparo de amostras para a análise cromatográfica de compostos orgânicos**. São Carlos: Universidade de São Paulo, jul. 2018.

MORAIS, C.; ARAÚJO, J. L. An Alternative Experimental Procedure to Determine the Solubility of Potassium Nitrate in Water with Automatic Data Acquisition Using Arduino for Secondary School: Development and Validation with Pre-Service Chemistry Teachers. **Journal of Chemical Education**, v. 100, n. 2, p. 774–781, 14 fev. 2023.

MORÉS, L. **AVALIAÇÃO DA CORTIÇA COMO BIORSORVENTE DA TÉCNICA DE MICROEXTRAÇÃO EM PONTEIRA PARA DETERMINAÇÃO DE DROGAS DE ABUSO E BIOMARCADORES EM URINA HUMANA POR TÉCNICAS CROMATÓGRAFICAS**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2022.

OLIVEIRA, C. L. V.; ZANETTI, H. A. P. **Projetos com Python e Arduino: Como desenvolver projetos práticos de eletrônica, automação e IoT**. 1. ed. São Paulo: Érica, 2020.

OLIVEIRA, T. C.; LANÇAS, F. M. Determination of selected herbicides in sugarcane-derived foods by graphene-oxide based disposable pipette extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1687, p. 463690, jan. 2023.

OSMAN, B. et al. Development and application of a solid phase extraction method for the determination of phthalates in artificial saliva using new synthesised microspheres. **Polymer Testing**, v. 32, n. 4, p. 810–818, jun. 2013.

ÖZER, E. T.; GÜÇER, Ş. Determination of some phthalate acid esters in artificial saliva by gas chromatography–mass spectrometry after activated carbon enrichment. **Talanta**, v. 84, n. 2, p. 362–367, abr. 2011.

ÖZER, E. T.; OSMAN, B.; YAZICI, T. Dummy molecularly imprinted microbeads as solid-phase extraction material for selective determination of phthalate esters in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1500, p. 53–60, jun. 2017.

PAWLISZYN, J. Theory of Extraction. Em: **Handbook of Sample Preparation**. [s.l.] John Wiley & Sons, Ltd, 2011. p. 1–24.

PAWLISZYN, J. Theory of Extraction. Em: **Comprehensive Sampling and Sample Preparation**. [s.l.] Elsevier, 2012. p. 1–25.

PIMENTEL, C. et al. **Active Learning: The Impacts of the Implementation of Maker Education at Sesc High School in Rio de Janeiro**. Proceedings of FabLearn 2019. **Anais...** Em: FL2019: FABLEARN 2019. New York NY USA: ACM, 9 mar. 2019. Disponível em: <<https://dl.acm.org/doi/10.1145/3311890.3311899>>. Acesso em: 15 maio. 2023

PŁOTKA-WASYLKA, J.; NAMIEŚNIK, J. **Green Analytical Chemistry: Past, Present and Perspectives**. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2019.

PRABHU, G. R. D.; URBAN, P. L. The dawn of unmanned analytical laboratories. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 88, p. 41–52, mar. 2017.

PRABHU, G. R. D.; URBAN, P. L. Elevating Chemistry Research with a Modern Electronics Toolkit. **Chemical Reviews**, v. 120, n. 17, p. 9482–9553, 9 set. 2020.

RAMBLA-ALEGRE, M.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. **Journal of Chromatography A**, v. 1232, p. 101–109, abr. 2012.

ROUESSAC, F.; ROUESSAC, A. **Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques**. 2. ed. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2007.

SAJID, M. et al. Development of natural sorbent based micro-solid-phase extraction for determination of phthalate esters in milk samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 924, p. 35–44, jun. 2016.

SAJID, M.; PŁOTKA-WASYLKA, J. Green analytical chemistry metrics: A review. **Talanta**, v. 238, p. 123046, fev. 2022.

SALAS-VALDIVIA, L.; GUTIERREZ-AGUILAR, O. **Appropriation of the Maker methodology to stimulate Invisible Learning in high school students in times of Covid-19**. 2021 XVI Latin American Conference on Learning Technologies (LACLO). **Anais...** Em: 2021 XVI LATIN AMERICAN CONFERENCE ON LEARNING TECHNOLOGIES (LACLO). Arequipa, Peru: IEEE, out. 2021. Disponível em: <<https://ieeexplore.ieee.org/document/9725201/>>. Acesso em: 15 maio. 2023

SALAZAR-BELTRÁN, D. et al. Determination of phthalates in bottled water by automated on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography with uv detection. **Talanta**, v. 168, p. 291–297, jun. 2017.

SARGAZI, S. et al. One-step in-syringe dispersive liquid–liquid microextraction and GC-FID determination of trace amounts of di(2-ethylhexyl) phthalate and its metabolite

in human urine samples. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 72, n. 5, p. 557–561, maio 2017.

SIMPSON, N. J. K. **Solid-phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications**. New York: Taylor & Francis Group LLC, 2000.

SOARES, S. et al. Solid Phase-Based Microextraction Techniques in Therapeutic Drug Monitoring. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 4, p. 1055, 24 mar. 2023.

SOUSA, L. R. et al. A portable tool for colorimetric detection of corrosion inhibitors using paper-based analytical devices. **Microchemical Journal**, v. 183, p. 108024, dez. 2022.

SOUZA, A. C. DE et al. **Química Verde para a sustentabilidade: Natureza, objetivos e aplicação prática**. 1. ed. Curitiba: Appris, 2020.

SU, T.-C. et al. Phthalate exposure increases subclinical atherosclerosis in young population. **Environmental Pollution**, v. 250, p. 586–593, jul. 2019.

TANG, Z. et al. Packed-Nanofiber solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of phthalate esters in urines from children. **Journal of Chromatography B**, v. 1061–1062, p. 342–348, set. 2017.

THURMAN, E. M.; MILLS, M. S. **Solid-Phase Extraction: Principles and Practice**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1998.

URBAN, P. L. Universal electronics for miniature and automated chemical assays. **The Analyst**, v. 140, n. 4, p. 963–975, 2015.

VENTRICE, P. et al. Phthalates: European regulation, chemistry, pharmacokinetic and related toxicity. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 88–96, jul. 2013.

VYVIURSKA, O.; ŠPÁNIK, I. Novel sample preparation approaches in gas chromatographic analysis: Promising ideas. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 1, p. 174–188, jan. 2020.

WOOTEN, K. J.; SMITH, P. N. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: Quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2245–2253, nov. 2013.

XIA, B. et al. Phthalate exposure and childhood overweight and obesity: Urinary metabolomic evidence. **Environment International**, v. 121, p. 159–168, dez. 2018.

YAN, H. et al. Simultaneous determination of four phthalate esters in bottled water using ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by GC-FID detection. **The Analyst**, v. 135, n. 10, p. 2585, 2010.

ZHOU, Q. et al. Determination of phthalate esters at trace level from environmental water samples by magnetic solid-phase extraction with Fe@SiO₂@polyethyleneimine magnetic nanoparticles as adsorbent prior to high-performance liquid chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 19, p. 5211–5220, jul. 2016.

ZHU, Q. et al. Application of three dimensional-printed devices in extraction technologies. **Journal of Chromatography A**, v. 1697, p. 463987, maio 2023.

APÊNDICE A – Informações das amostras utilizadas na aplicação do método Pa-DPX

Tabela A1. Informações das amostras

Classe	Amostra	Descrição	País de origem
Material escolar	Capa da borracha	Capa protetora de borracha escolar	NI ^a
	Caneta	Corpo de caneta esferográfica	NI
	Fundo caneta	Parte inferior (fundo) de caneta esferográfica	NI
	Tampa de caneta	Tampa plástica de caneta esferográfica	NI
	Tampa de caneta 2	Tampa plástica de caneta esferográfica	NI
	Boneco caneta	Boneco maleável decorativo presente na tampa de caneta. Material removível.	NI
Brinquedos infantis	Boneco militar	Boneco militar de brinquedo de plástico com arma acessória. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	China
	Braço de boneca	Boneca. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	Brasil
	Perna de boneca		
	Cavalo de fazenda	Brinquedo de plástico para animais em forma de cavalo. Acompanhado por um arbusto de plástico. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	China
	Boi de fazenda	Brinquedo em forma de boi, acompanhado de caminhão da fazenda	NI
	Brinquedo mini câmera	Câmera de brinquedo de plástico que simula a fotografia de animais. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	China

	Mini espátula de cozinha	Espátula de brinquedo para simular utensílios de cozinha. Outros utensílios acompanhados e uma panela	Brasil
	Macaco	Brinquedo em forma de macaco derivado de um famoso videogame	NI
Itens de contato oral	Flauta	Flauta de poliestireno. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	Brasil
	Gaita de boca	Gaita de boca infantil. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	China
	Chupeta	Chupeta infantil de polipropileno e silicone, para crianças maiores de 6 meses	Brasil
	Dentes de vampiro	Próteses de vampiro para festas infantis. Não recomendado para crianças menores de 3 anos	Brasil
Brinquedos de cachorro	Mordedor de cachorro	Mordedor para cachorro, formato circular	China
	Brinquedo para cachorro (haltere)	Brinquedo em forma de haltere para cachorro	China
	Brinquedo para cachorro (bola)	Brinquedo em forma de bola para cachorro	China

^aNI – Não informado pelo produtor/vendedor. Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

APÊNDICE B – Informações complementares sobre os dispositivos alternativos desenvolvidos para melhoria do projeto de Pa-DPX

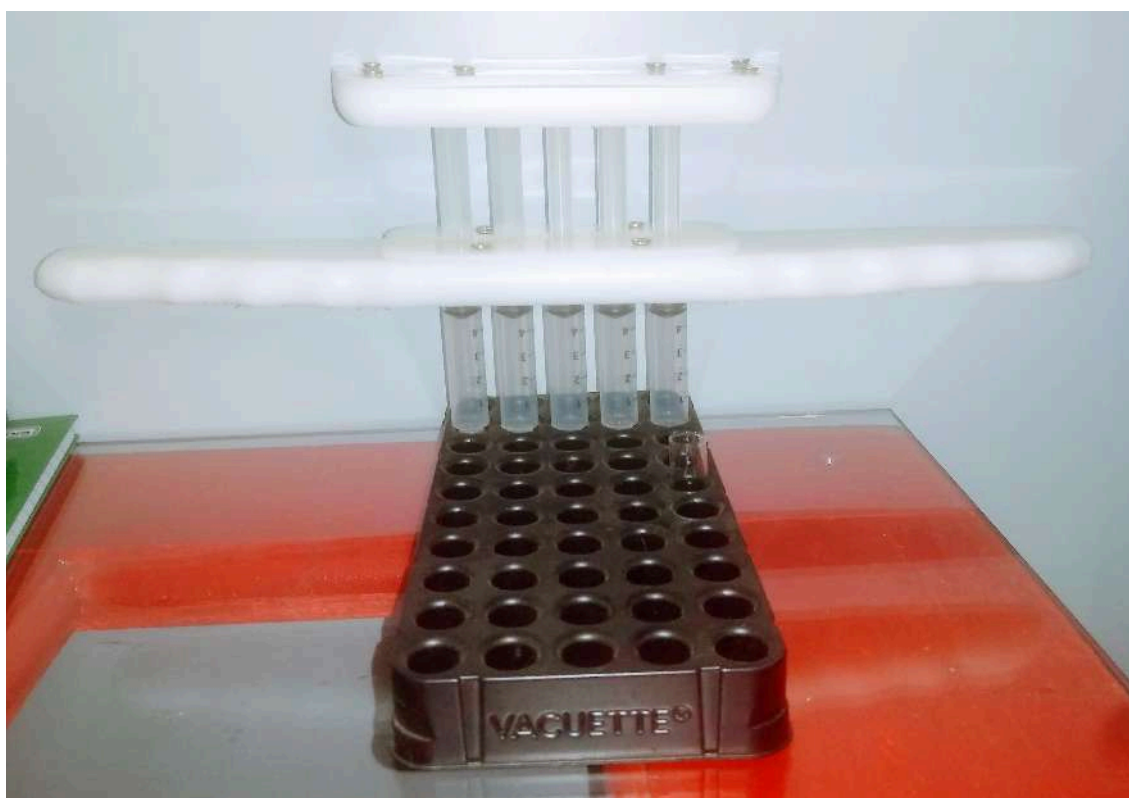
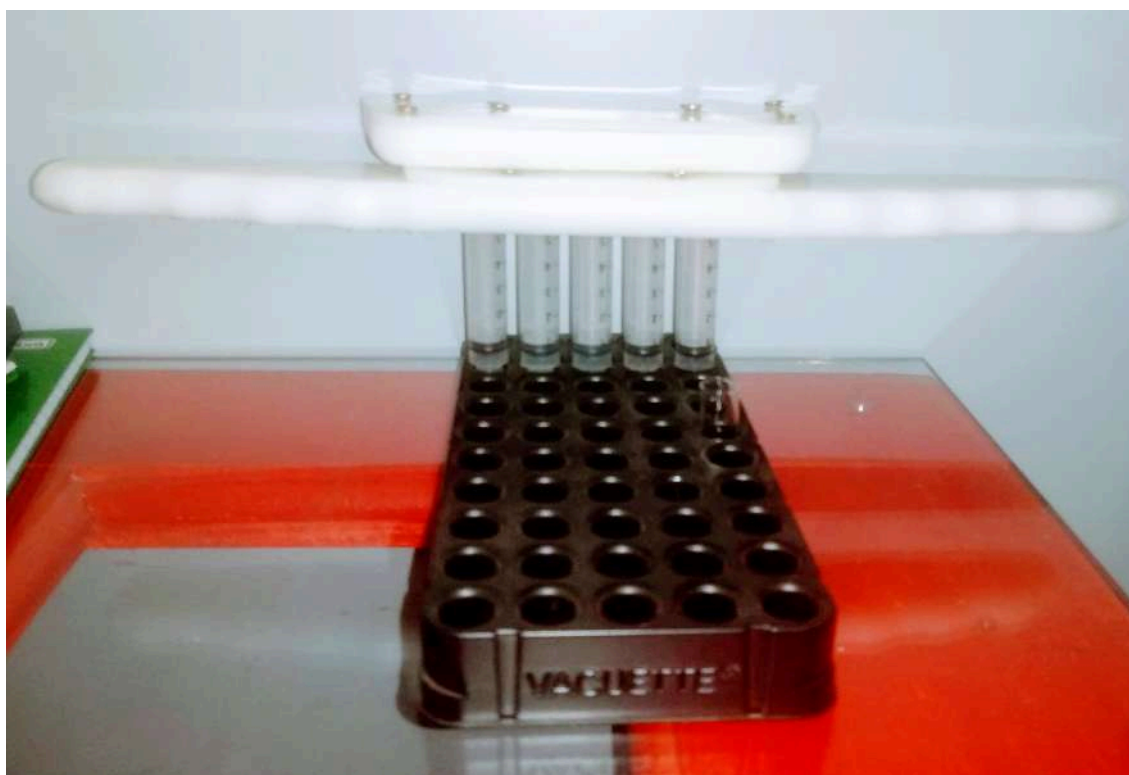
Inicialmente, para exemplificar o dispositivo de Pa-DPX desenvolvido, é possível assistir a um vídeo demonstrativo através do link a seguir (ou pelo escaneamento do QR Code):

<https://youtube.com/shorts/ROMttohNvo>



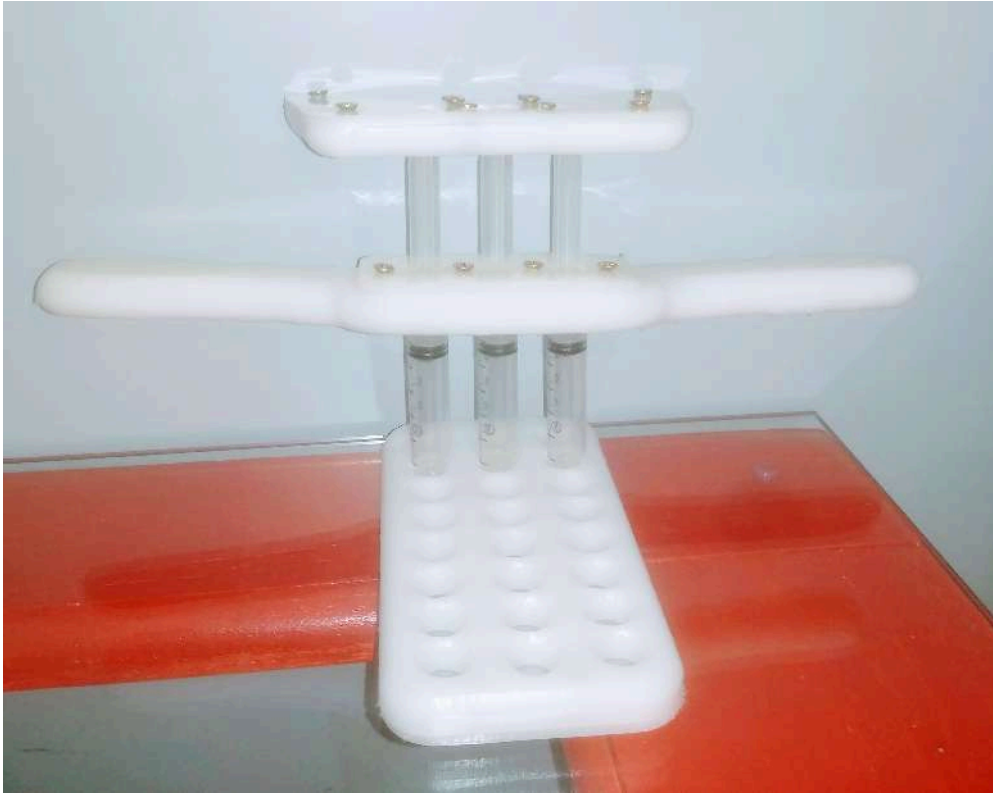
Os novos modelos de Pa-DPX produzidos com usinagem de PEAD buscaram manter a eficiência pelo uso de várias seringas simultaneamente, mas garantindo maior conforto do analista. Uma alternativa pensada foi o aumento do tamanho da base, facilitando o encaixe das mãos do analista. Essa peça também ganhou formas mais arredondadas, facilitando o encaixe dos dedos. Todas as bordas também foram desbastadas, tornando o dispositivo mais suave ao toque.

Inicialmente foram produzidos alternativas similares ao dispositivo anterior, unindo cinco seringas, de modo a aproveitar o mesmo porta-amostra do estudo apresentado.

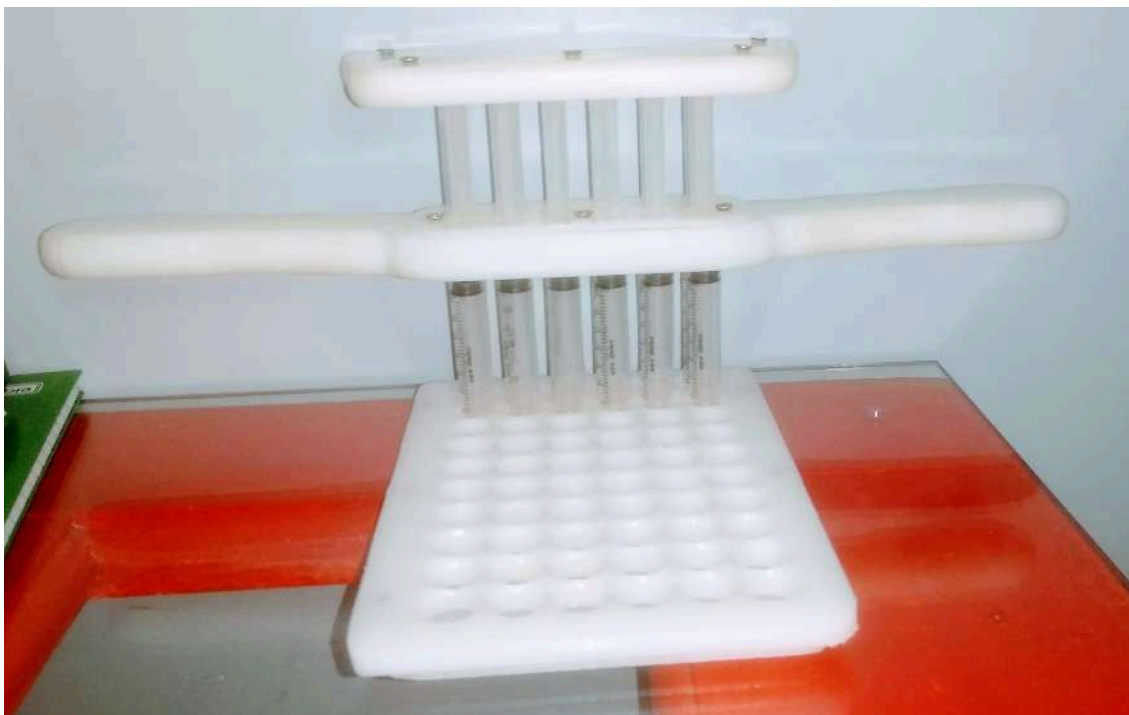


Novos porta-amostra também foram produzidos, a fim de permitir o uso dos novos aparatos, que tem diferentes capacidades de seringas cada um. Uma versão mais

compacta foi produzida, contendo apenas três seringas, que permitem uma análise em triplicata de uma só vez.

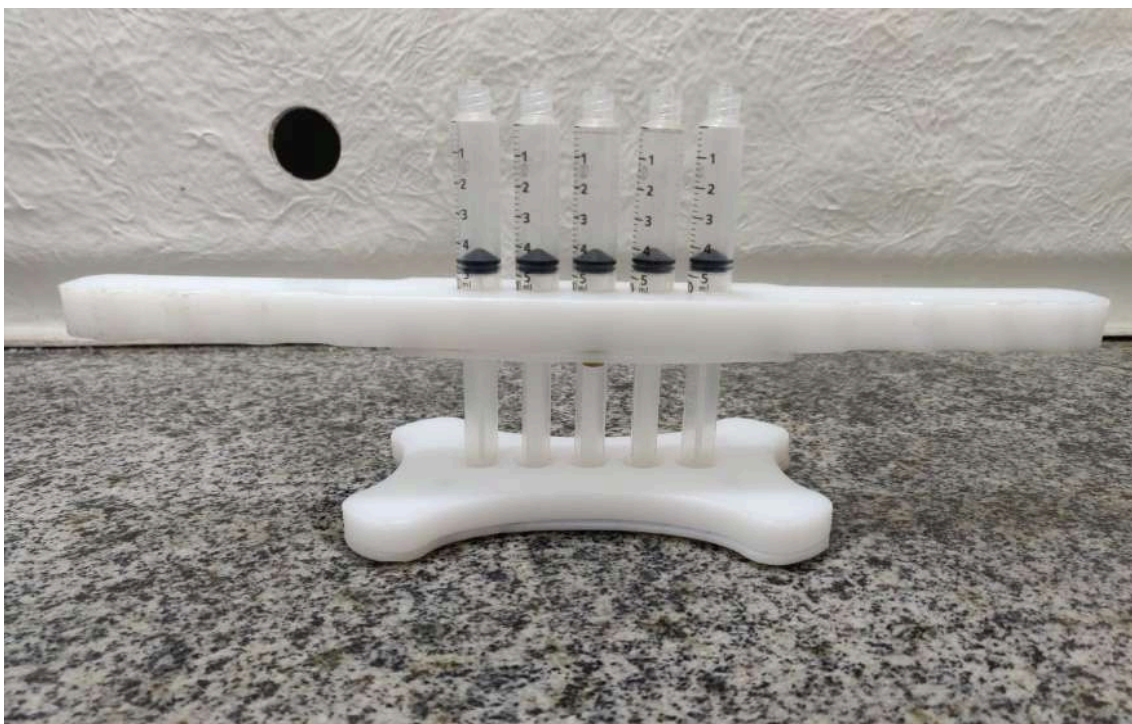


Pensando em expandir a capacidade analítica, uma versão foi desenvolvida para 12 extrações simultâneas. Com esse aparato, os tempos de extração pode chegar na casa de poucos segundos por amostra.



Uma última versão foi desenvolvida, mudando a disposição da seção de manuseio dos êmbolos, permitindo pegada ainda mais facilitada do analista.





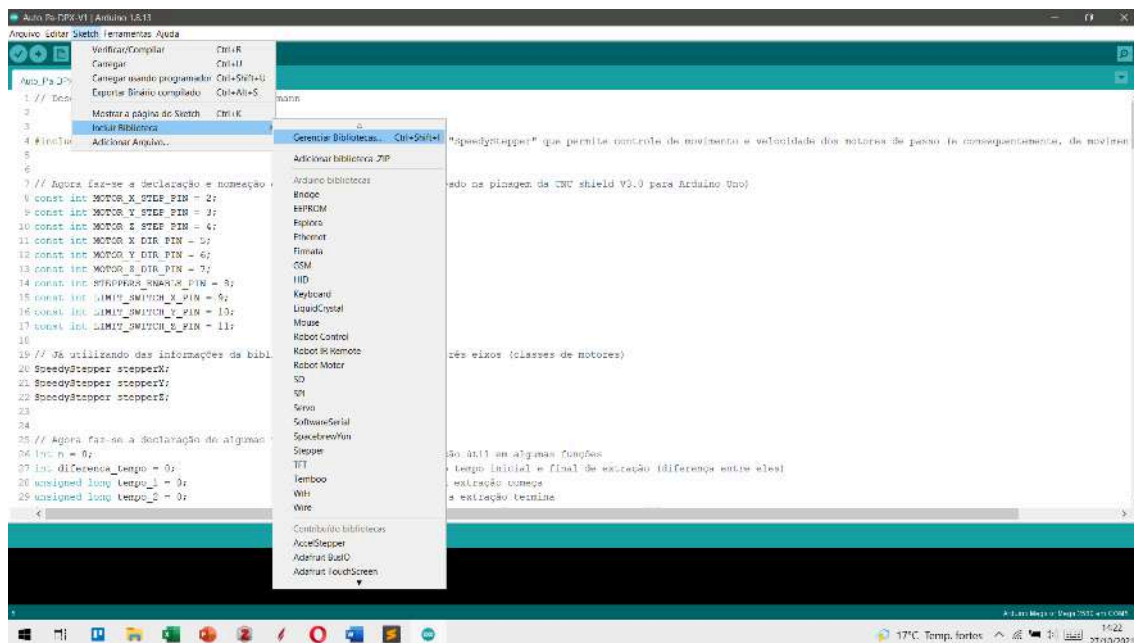
Por fim, um vídeo exemplificando o novo aparato desenvolvido pode ser acessado através do link a seguir (ou pela leitura do QR Code):

https://youtu.be/n_jqLygj7Ag

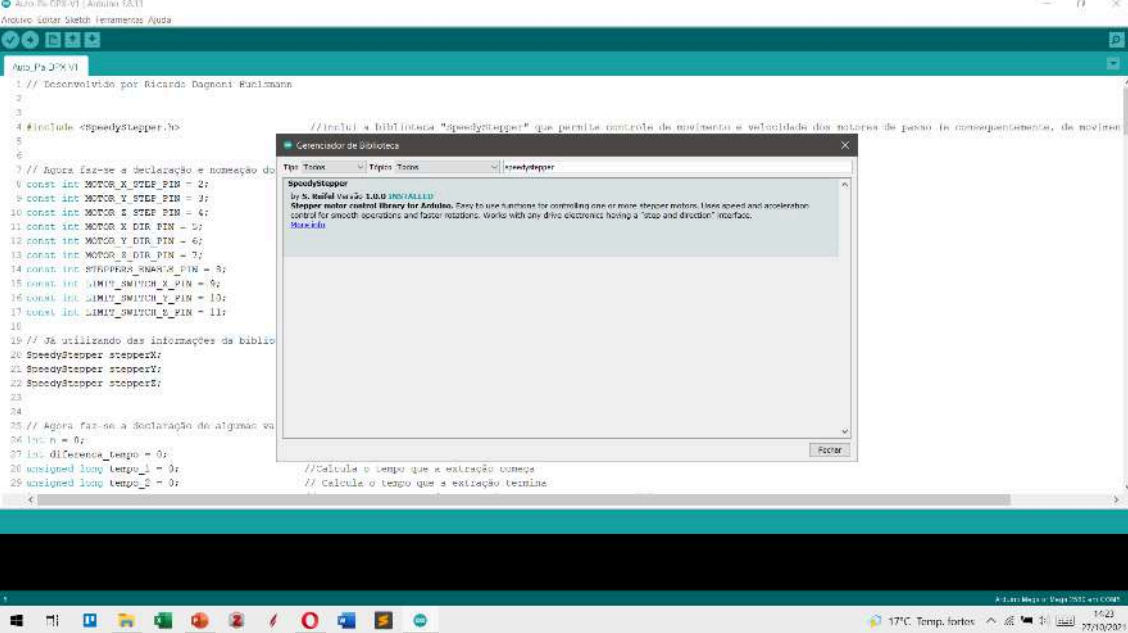


APÊNDICE C – Procedimento operacional padrão Pa-DPX mecanizada

1. Antes de executar qualquer ação, leia atentamente todo o processo de operação. Em caso de dúvidas, consulte alguém com experiência no manuseio do instrumento.
2. Durante a operação mecânica, caso encontre algum erro, **pressione o botão de emergência** para que a máquina pare imediatamente. Caso o botão seja pressionado, a energia que alimenta a máquina será interrompida, e a execução será parada.
3. Para começar, ajuste o computador.
4. Baixe e instale a IDE Arduino (<https://www.arduino.cc/en/software>)
5. Abra o programa e inclua a biblioteca “SpeedyStepper”. Clique em Sketch > Incluir Biblioteca > Gerenciar Bibliotecas



Digite “Speedystepper” no campo de busca e instale a biblioteca.



```
1 // Desenvolvido por Ricardo Dagnost Ranilmann
2
3
4 #include <Speedystepper.h>
5
6
7 // Agora faz-se a declaração e nomeação do
8 const int MOTOR_X_STEP_PIN = 2;
9 const int MOTOR_Y_STEP_PIN = 3;
10 const int MOTOR_Z_STEP_PIN = 4;
11 const int MOTOR_X_DIR_PIN = 5;
12 const int MOTOR_Y_DIR_PIN = 6;
13 const int MOTOR_Z_DIR_PIN = 7;
14 const int STEPPERS_ENABLE_PIN = 8;
15 const int LIMIT_SWITCH_X_PIN = 9;
16 const int LIMIT_SWITCH_Y_PIN = 10;
17 const int LIMIT_SWITCH_Z_PIN = 11;
18
19 // Se utilizando das informações da biblio
20 Speedystepper stepperX;
21 Speedystepper stepperY;
22 Speedystepper stepperZ;
23
24
25 // Agora faz-se a declaração de algumas va
26 int n = 0;
27 int difference_tempo = 0;
28 unsigned long tempo_1 = 0;
29 unsigned long tempo_2 = 0;
30
31 // Calcula o tempo que a extracção começa
32 // Calcula o tempo que a extracção termina
```

Gerenciador de Bibliotecas

Tip: Tarefa

Speedystepper

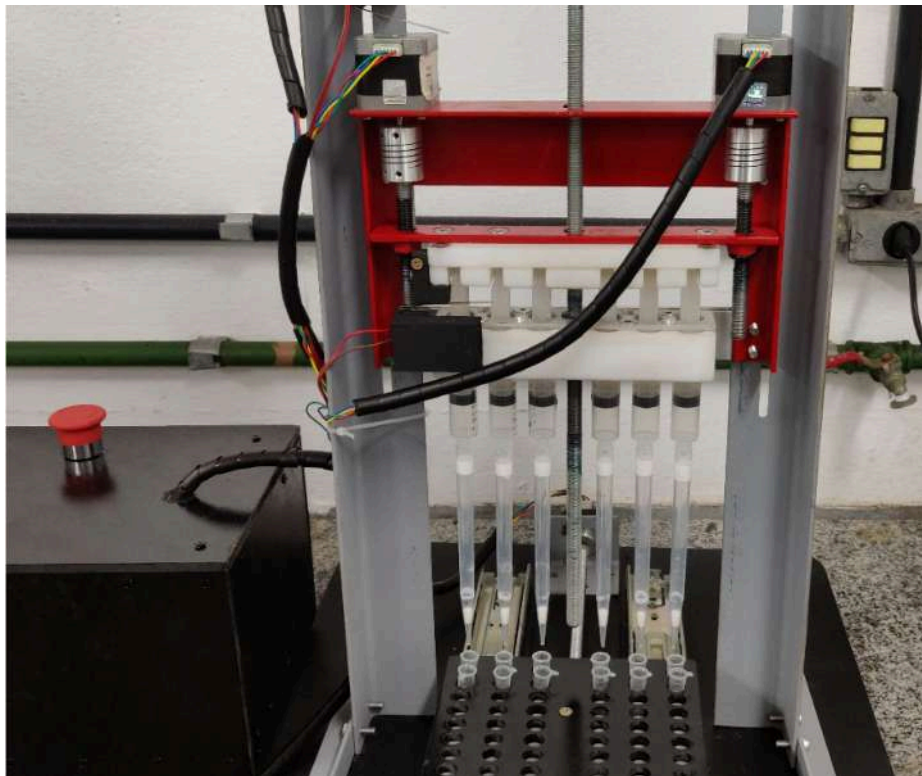
by S. Reul (v.2.1.0) [INSTALL](#)

Stepper motor control library for Arduino. Easy to use functions for controlling one or more stepper motors. Uses speed and acceleration control for smooth operations and faster rotations. Works with any driver electronics having a "step and direction" interface.

[More Info](#)

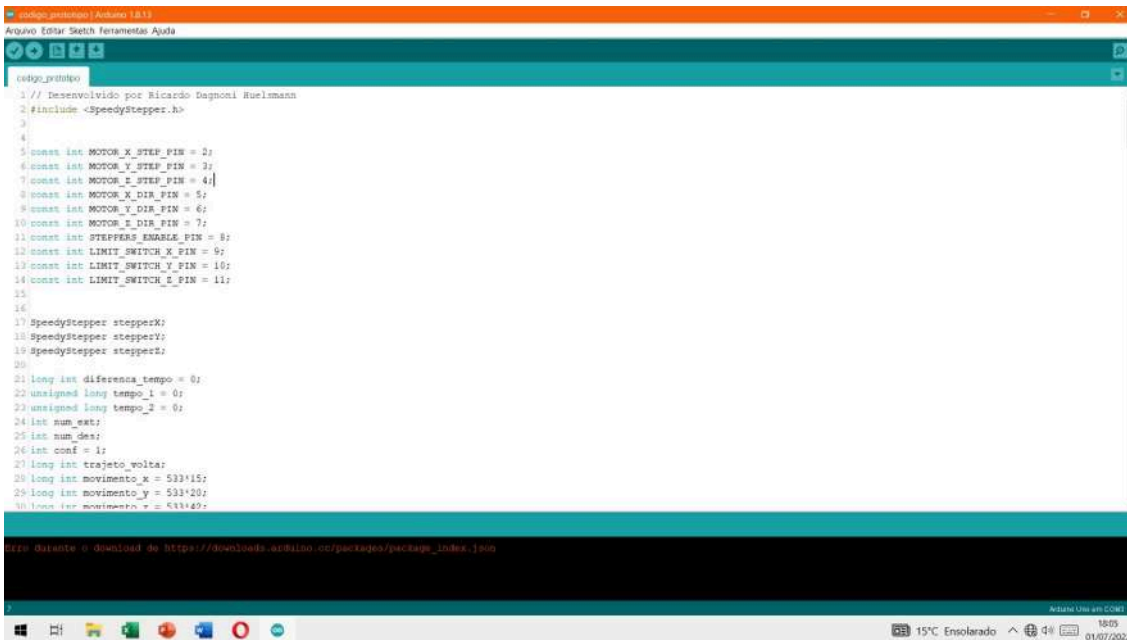
Fechar

6. Encaixe uniforme e firmemente as ponteiras no dispositivo, e coloque os frascos das amostras. Garanta que as ponteiras estejam bem alinhadas, caso contrário, irão se chocar no porta amostra e se danificar, ou danificar o equipamento.



Nota: Durante a primeira operação após colocar as ponteiras, é fortemente sugerido que se tenha atenção na entrada da ponteira nos vials. Faça ajustes manuais se necessário, a fim de alinhar todas as ponteiras e impedir que ela se choque com o porta amostras.

7. Abra a o código fornecido (Arquivo “codigo_prototipo.ino”).



```

1 // Desenvolvido por Ricardo Dagmon Ruelmann
2 #include <SpeedyStepper.h>
3
4
5 const int MOTOR_X_STEP_PIN = 2;
6 const int MOTOR_Y_STEP_PIN = 3;
7 const int MOTOR_Z_STEP_PIN = 4;
8 const int MOTOR_X_DIR_PIN = 5;
9 const int MOTOR_Y_DIR_PIN = 6;
10 const int MOTOR_Z_DIR_PIN = 7;
11 const int STEPPERS_ENABLE_PIN = 8;
12 const int LIMIT_SWITCH_X_PIN = 9;
13 const int LIMIT_SWITCH_Y_PIN = 10;
14 const int LIMIT_SWITCH_Z_PIN = 11;
15
16
17 SpeedyStepper stepperX;
18 SpeedyStepper stepperY;
19 SpeedyStepper stepperZ;
20
21 long int diferenca_tempo = 0;
22 unsigned long tempo_1 = 0;
23 unsigned long tempo_2 = 0;
24 int num_ext;
25 int num_des;
26 int cont = 1;
27 long int trajeto_voltar;
28 long int movimento_x = 533*15;
29 long int movimento_y = 533*20;
30 long int movimento_z = 533*20;

```

12: Durante o download de https://downloads.arduino.cc/packages/package_index.json

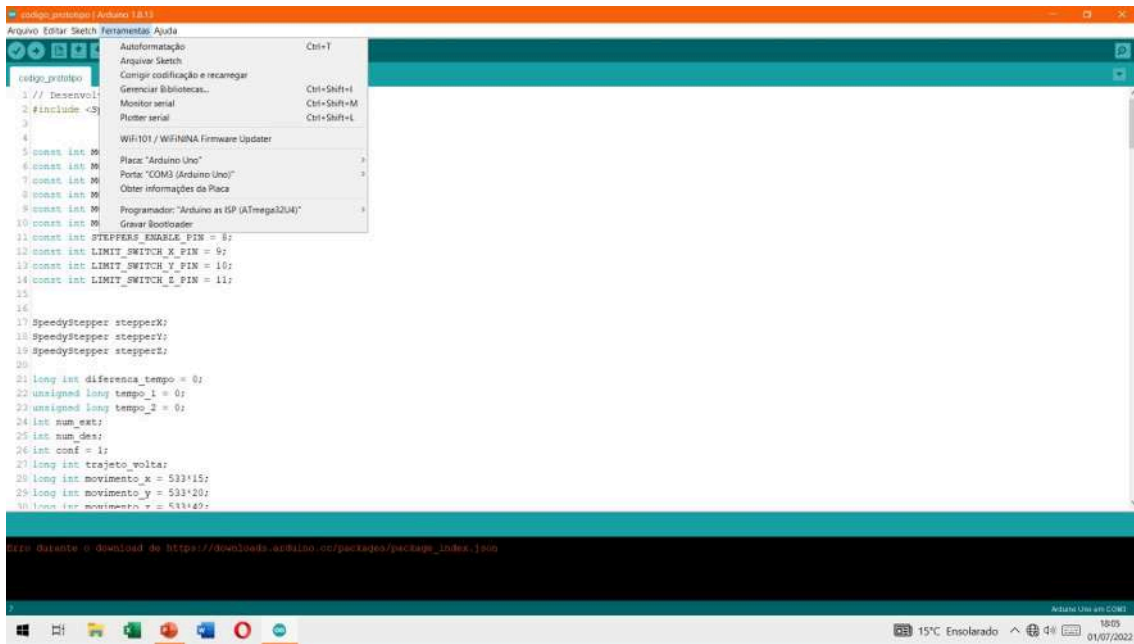
Arduino Uno em C/C++

15°C Ensolarado 18:05 01/07/2022

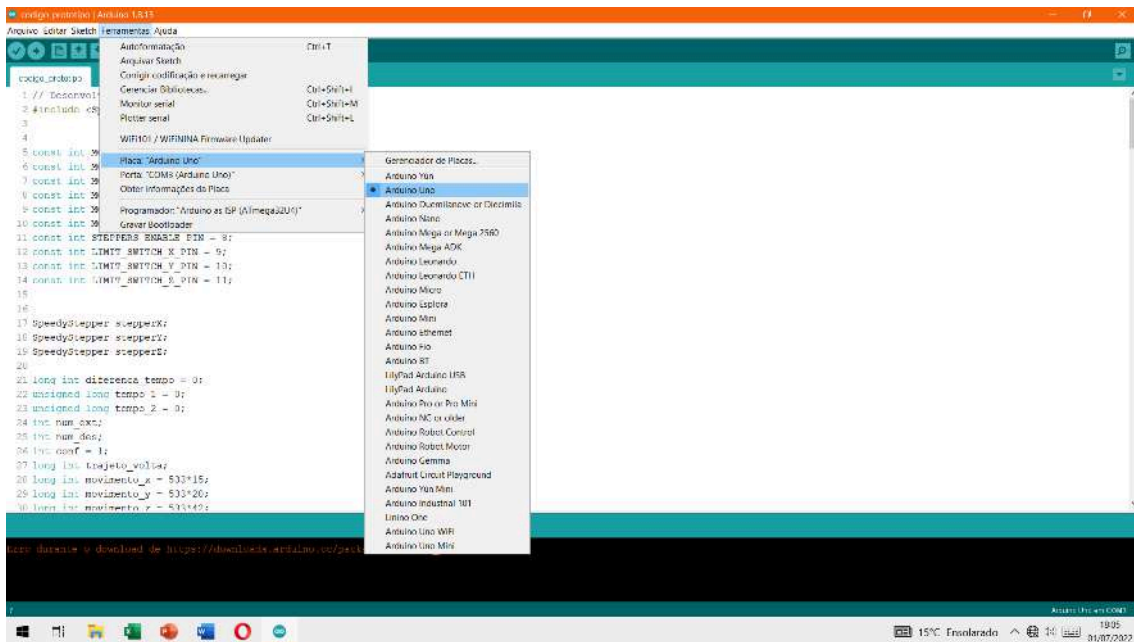
8. Conecte o cabo USB do protótipo no seu computador.

9. Conecte o protótipo na tomada (alimentação 220 V).

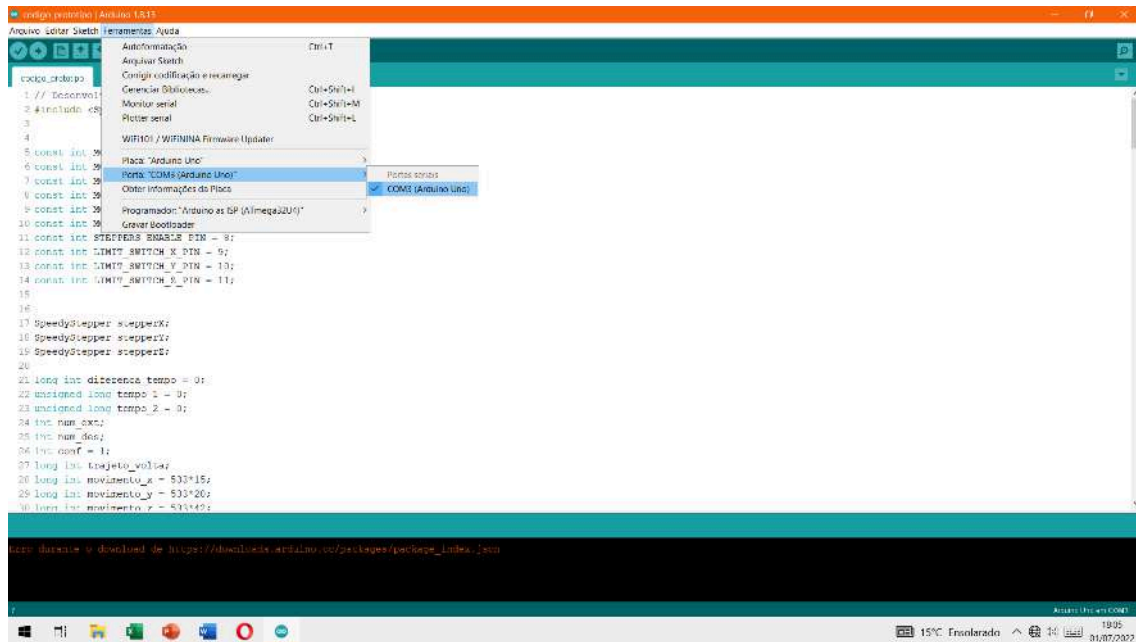
10. Abra a aba “Ferramentas” na IDE Arduino



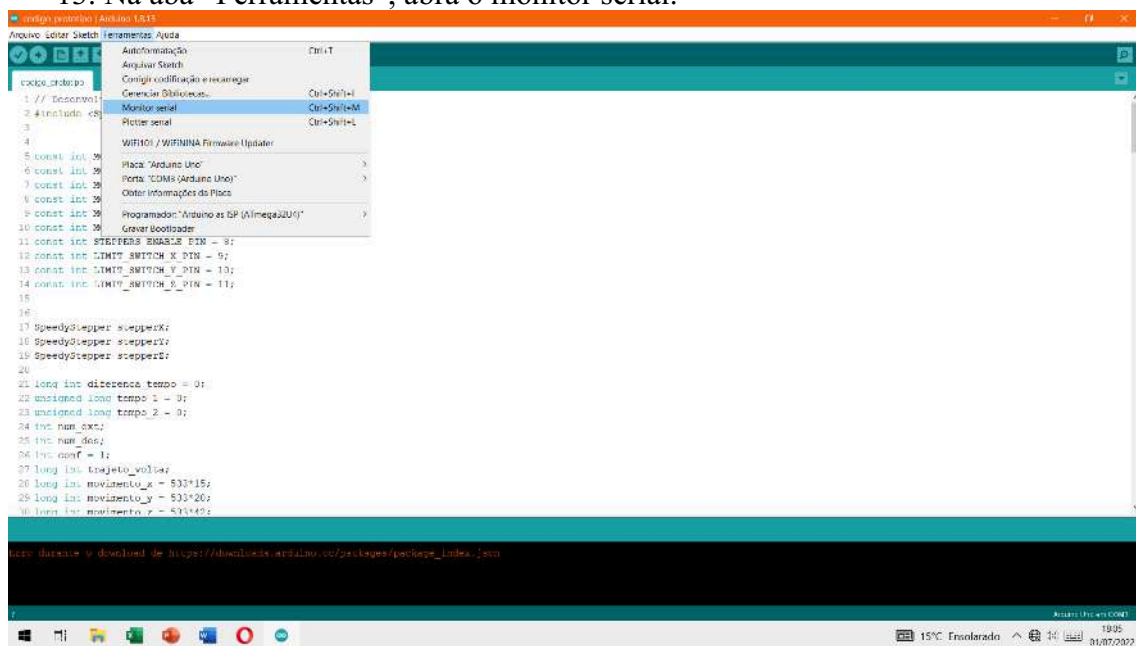
11. Selezione a placa “Arduino Uno”



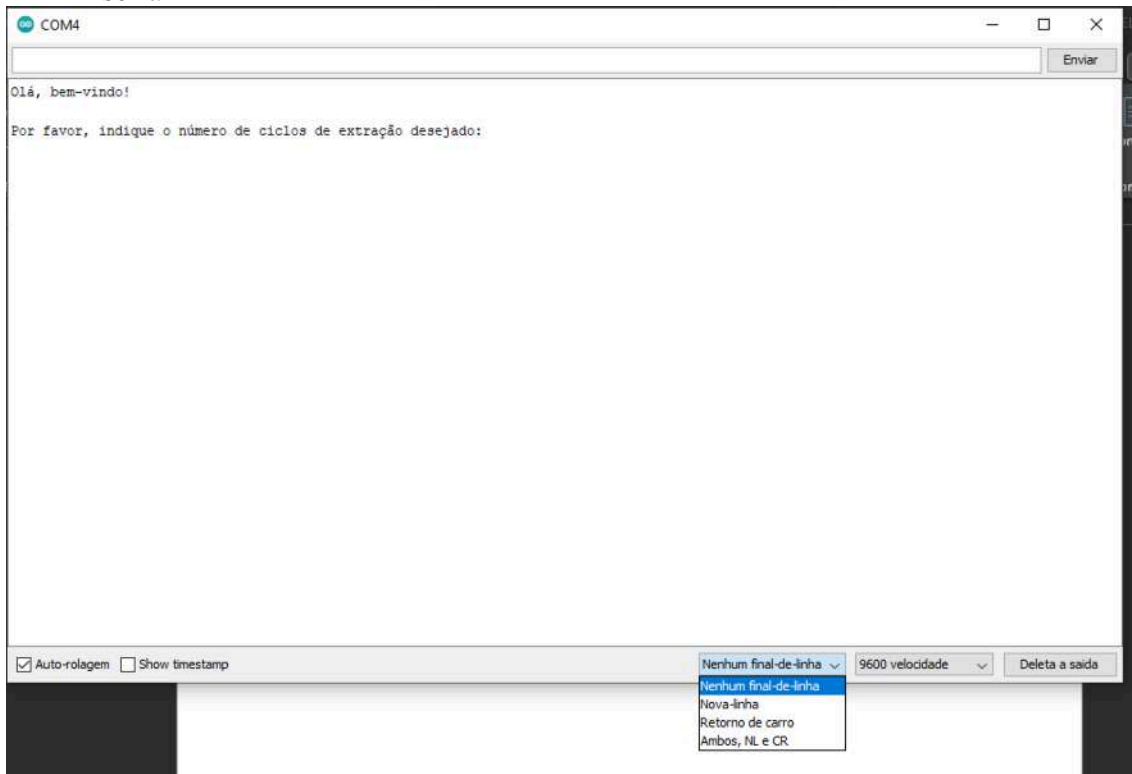
12. Selecione a Porta COM correspondente ao Arduino Uno.



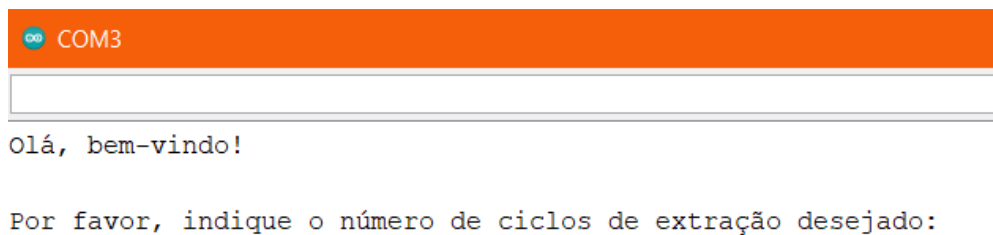
13. Na aba "Ferramentas", abra o monitor serial.



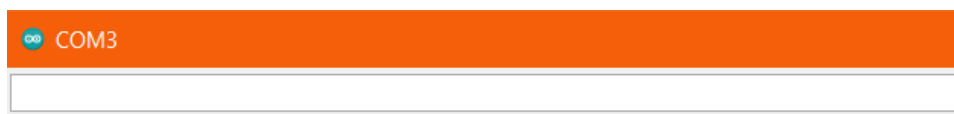
14. Adicionar a instrução da seleção de “Nenhum final-de-linha” dentro do monitor serial



15. Escolha o número de ciclos de extração (digite o número desejado e tecla ENTER)



16. Escolha o número de ciclos de dessorção (digite o número desejado e tecla ENTER).



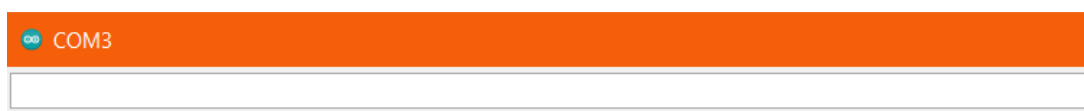
Olá, bem-vindo!

Por favor, indique o número de ciclos de extração desejado:

Você selecionou: 1

Agora, indique o número de ciclos de dessorção desejado:

17. Confirme a escolha (digite 1 e tecla ENTER) ou faça uma nova escolha (digite 0 (zero) e tecla ENTER).



Olá, bem-vindo!

Por favor, indique o número de ciclos de extração desejado:

Você selecionou: 1

Agora, indique o número de ciclos de dessorção desejado:

Você selecionou: 1

Você selecionou 1 ciclo(s) de extração(ões) e 1 ciclo(s) de dessorção(ões).
Para corrigir digite 0. Para iniciar digite 1

18. Aguarde execução. O instrumento irá ajustar as posições de todos os eixos, fazendo auto zero da máquina. Então, irá seguir com as etapas de extração e dessorção conforme informado.

The logo for COM3, featuring a small circular icon with a stylized 'C' and the text 'COM3' to its right.

Olá, bem-vindo!

Por favor, indique o número de ciclos de extração desejado:

Você selecionou: 1

Agora, indique o número de ciclos de dessorção desejado:

Você selecionou: 1

Você selecionou 1 ciclo(s) de extração(ões) e 1 ciclo(s) de dessorção(ões).
Para corrigir digite 0. Para iniciar digite 1

Iniciando o procedimento...

Fazendo verificação do aparelho...

Posição Z verificada.

Posição Y verificada.

Posição X verificada.

Executando extração...

Executando dessorção...

Voltando à posição de origem

O tempo total aproximado foi: 5 min e 7 segundos.

Obrigado por utilizar este programa!

Nota: Após a verificação dos eixos, preste atenção para que as ponteiros entrem nos vials do porta amostra, evitando choques.

19. Caso deseje repetir extrações, feche o monitor serial e volte ao passo 15.

APÊNDICE D – Material digital para visualização do instrumento mecanizado

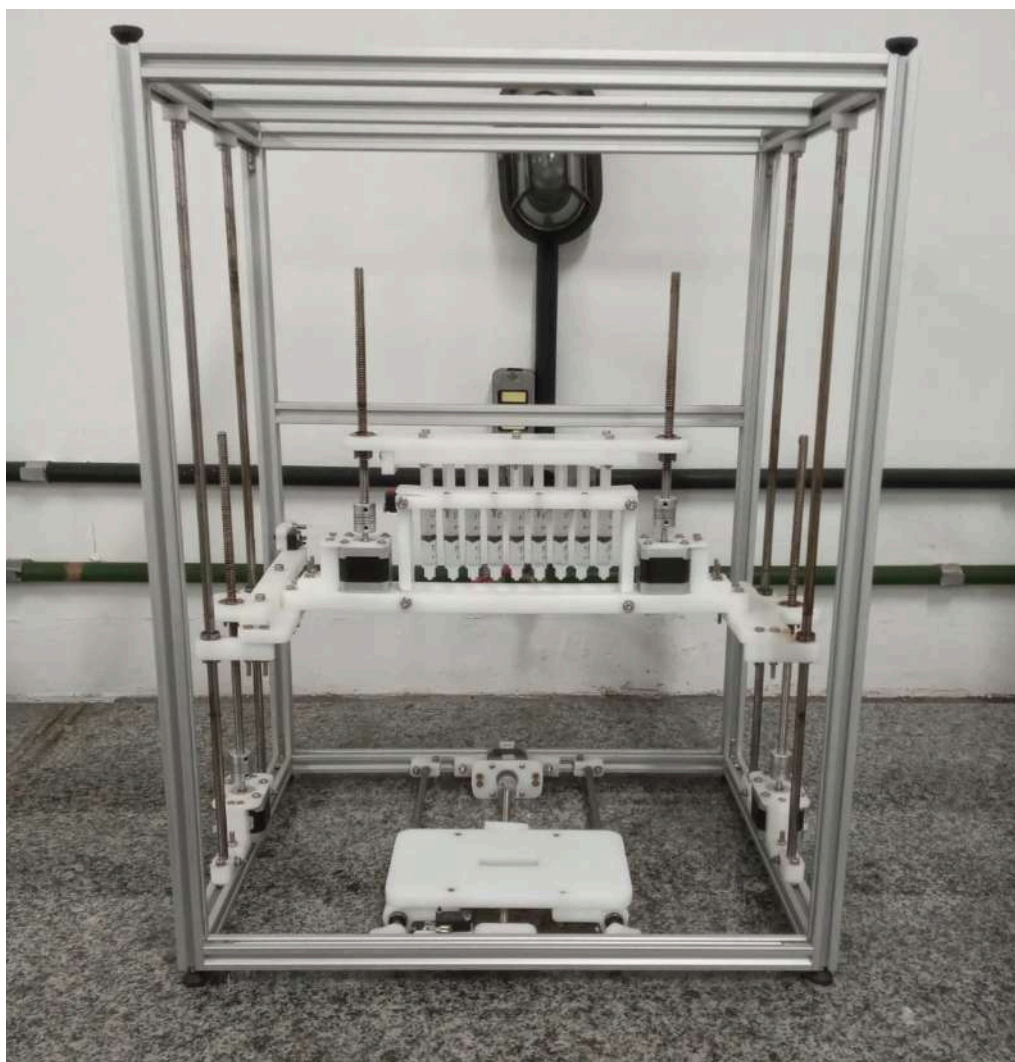
Um vídeo exemplificando o funcionamento do instrumento mecanizado desenvolvido pode ser acessado através do link a seguir (ou pela leitura do QR Code):

<https://youtu.be/jHsp5xdHRIo>



APÊNDICE E – Fotografias do novo instrumento em desenvolvimento

Uma visão geral da proposta de novo instrumento construído com materiais de mais fácil manuseio e construção pode ser vista abaixo.

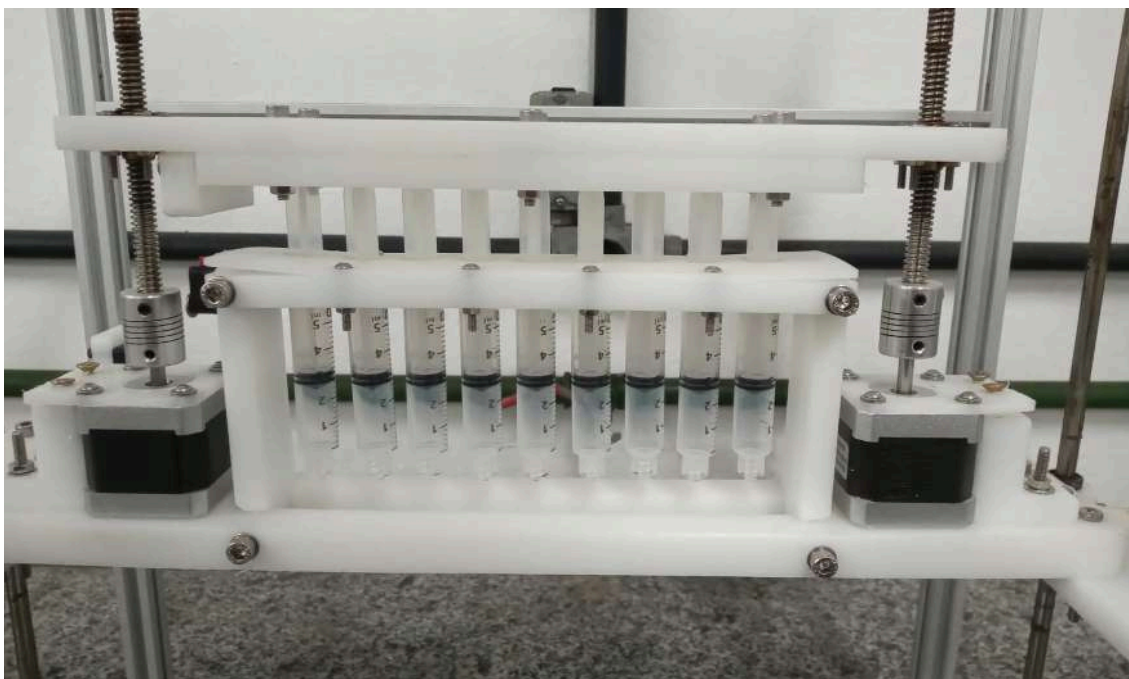


Em vez de utilizar cantoneiras metálicas recicladas, o novo instrumento tem estrutura em perfis de alumínio estrutural, com encaixes rápidos via cantoneiras internas para perfil V-slot. Todo o material é comprado em dimensões adequadas, não sendo necessário o corte ou adaptação mecânica.



O movimento do eixo Z (movimento horizontal do sistema Pa-DPX) agora tem previsão de uso de dois motores de passo, dividindo o esforço e mantendo o movimento mais uniforme.

Os motores de passo utilizados são equivalentes aos usados no primeiro instrumento. No entanto, em vez de usar barras roscadas para transmissão do movimento, agora são aplicados fusos metálicos com castanhas acopladas, permitindo movimento mais rápido e suave aos eixos.



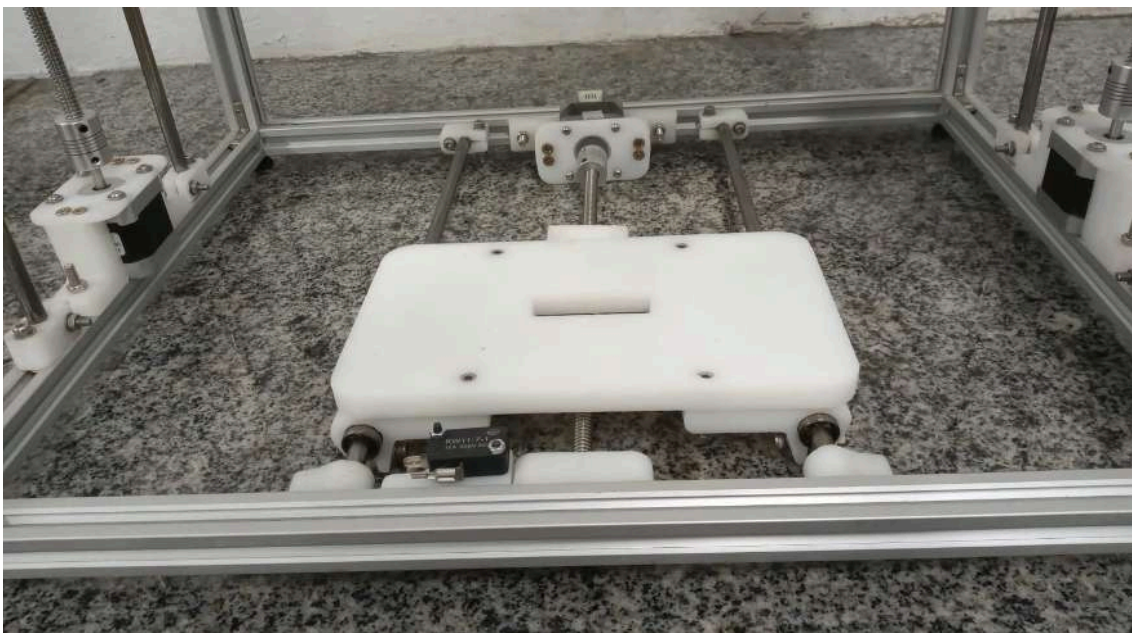
O dispositivo de Pa-DPX também foi aprimorado, permitindo execução de nove extrações simultâneas.



Auxiliando o movimento do eixo Z, eixos lineares retificados foram adaptados para melhor movimentação.



Similarmente, ao movimento do eixo X (porta amostra) foram adicionados os mesmos eixos lineares retificados.



APÊNDICE F – Resumo da produção científica no período de doutorado

HUELSMANN, Ricardo D.; TURAZZI, Francielle; BARRA, Guilherme; CARASEK, Eduardo. Exploring Polypyrrole as Extraction Phase for Disposable Pipette Extraction Method for Multiclass Organic Micro-Pollutant Determination in River and Tap Water Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S.L.], 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200119>.

HUELSMANN, Ricardo D.; WILL, Camila; CARASEK, Eduardo. Novel strategy for disposable pipette extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate migration from common plastic materials to saliva simulant with GC-MS. **Talanta**, 221, 121443, 2021. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121443>

CARASEK, Eduardo; MORÉS, Lucas; HUELSMANN, Ricardo Dagnoni. Disposable pipette extraction: a critical review of concepts, applications, and directions. **Analytica Chimica Acta**, [S.L.], v. 1192, p. 339383, fev. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2021.339383>.

SCUR, Rafael; HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; CARASEK, Eduardo. Polyamide-coated paper-based sorptive phase applied in high-throughput thin film microextraction designed by 3D printing. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 189, p. 108515, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2023.108515>.

HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; LAIA, Lucas Ribeiro de; CARASEK, Eduardo. Seleção que veste a camisa. **Química Nova**, v 44, n,7, p 908. 2021. Sociedade Brasileira de Química, <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170729>.

MAFRA, Gabriela; WILL, Camila; HUELSMANN, Ricardo; MERIB, Josias; CARASEK, Eduardo. A proof-of-concept of parallel single-drop microextraction for the rapid and sensitive biomonitoring of pesticides in urine. **Journal Of Separation**

Science, [S.L.], v. 44, n. 9, p. 1961-1968, 24 mar. 2021. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1002/jssc.202001157>.

HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; WILL, Camila; CARASEK, Eduardo. Determination of bisphenol A: old problem, recent creative solutions based on novel materials. **Journal Of Separation Science**, [S.L.], v. 44, n. 6, p. 1148-1173, 15 out. 2020. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1002/jssc.202000923>.

WILL, Camila; HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; MAFRA, Gabriela; MERIB, Josias; ANDERSON, Jared L.; CARASEK, Eduardo. High-throughput approach for the in situ generation of magnetic ionic liquids in parallel-dispersive droplet extraction of organic micropollutants in aqueous environmental samples. **Talanta**, [S.L.], v. 223, p. 121759, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121759>.

MORÉS, Lucas; HUELSMANN, Ricardo D.; BERNARDI, Gabrieli; MERIB, Josias; CARASEK, Eduardo. Application of Parallel-DPX for the determination of potential cancer biomarkers in urine samples using cork as natural extraction phase followed by GC-MS. **Green Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 5, p. 100061, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.greeac.2023.100061>.

MORÉS, Lucas; HUELSMANN, Ricardo D.; BERNARDI, Gabrieli; MERIB, Josias; CARASEK, Eduardo. In-situ Derivatization of Lung Cancer Biomarker Aldehydes by Parallel-DPX-Cork and Quantification by HPLC-DAD . **Journal of the Brazilian Chemical Society**. In press. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230098>.

CARASEK, E.; BERNARDI, G.; HUELSMANN, R. D.. Switchable Hydrophilicity Solvents (SHSs) in Green Sample Preparation. **Green Sample Preparation Techniques**, [S.L.], p. 279-305, 30 jun. 2023. The Royal Society of Chemistry. <http://dx.doi.org/10.1039/bk9781839166419-00279>.