



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Microfabricação de um Analisador em Fluxo-
Batelada (Micro *Flow-Batch*) à Base de Polímero
Fotocurável Uretano-Acrilato**

Severino Sílvio do Monte Filho

**Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Co-Orientador: Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos**

João Pessoa – PB – Brasil - 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Microfabricação de um Analisador em Fluxo-
Batelada (Micro *Flow-Batch*) à Base de Polímero
Fotocurável Uretano-Acrilato**

Severino Sílvio do Monte Filho

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal da Paraíba.

**Orientador: Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Co-Orientador: Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos**

***Bolsista CNPq**

João Pessoa – PB – Brasil – 2010

M772m Monte Filho, Severino Sílvio do.

Microfabricação de um analisador em Fluxo-Batelada (Micro Flow-Batch) à base de polímero fotocurável Uretano-Acrilato / Severino Sílvio do Monte Filho. - - João Pessoa: [s.n.], 2010.

79f. : il.

Orientador: Mario César Ugulino deAraújo.

Co-orientador: Sherlan Guimarães Lemos.

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN.

1. Química. 2. Microfabricação. 3. Flow-batch . 4. μ TAS. 5. Lab-on-a-chip. 6. Fotômetro.

UFPB/BC

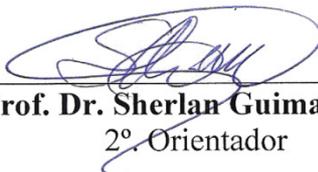
CDU: 54(043)

Microfabricação de um Analisador em Fluxo-Batelada (Micro Flow-Batch) à Base de Polímero Fotocurável Uretano-Acrilato.

Aprovada pela banca examinadora:



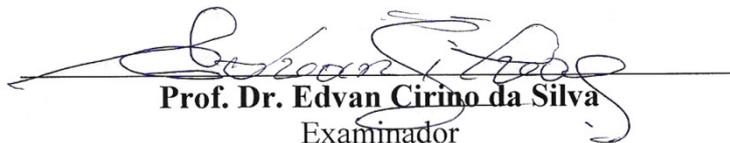
Prof. Dr. Mário César Ugulino de Araújo
Orientador/Presidente



Prof. Dr. Sherlan Guimarães Lemos
2º. Orientador



Prof. Dr. Marcelo Fabian Pistonesi
Examinador



Prof. Dr. Edvan Cirino da Silva
Examinador

DEDICATÓRIA

*"Não contavam com minha astúcia"
Roberto Gómez Bolaños*

Dedico este trabalho primeiramente ao *acaso*, única fonte de
justiça do universo.

Ao meu irmão Silmar, e Cunhada Elizete pelo apoio incondicional,
grande exemplo, direcionamento, dedicação e incentivo.

À Raquel Cabral, companheira dedicada e querida, com todo meu
carinho.

AGRADECIMENTOS

"Pedir não mais que permitir"
Byafra

- Aos meus pais, por possibilitarem a passagem a este plano, e à sua maneira contribuírem para minha formação pessoal.
- Ao Departamento de Química da UFPB, inaugurado à mesma época em que eu inaugurava minha conscientização.
- Aos meus avôs Alaíde e Gustavo (*in memoriam*) pelo exemplo vivo.
- Ao Engenheiro Químico e inventor Frank Nasworthy (*Mr. Cadillac*), "reinventor da roda", pelas suas realizações utilizando o poliuretano, cruciais às minhas escolhas pessoais, educacionais e profissionais.
- Ao Professor Mário Ugulino, um dos idealizadores do *Flow-Batch*, pela confiança, orientação, paciência, oportunidade e apoio.
- Ao Professor Sherlan Guimarães, pelos direcionamentos dados aos trabalhos, equilíbrio e sabedoria compartilhados e confiança a mim depositada.
- Aos colegas do LAQA, em especial a Marcelo, Stefani, Yebá e Sófacles, pelo companheirismo, grande auxílio e espírito de equipe.
- Ao CNPQ pela bolsa de mestrado.
- Aos demais que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

"They say the fittest shall survive
Yet the unfit may live
So I do this and I do that
It's never straight up and down
I got to tell you
I've been living in a wiggly world "
DEV-O

LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	13
RESUMO.....	15
ABSTRACT	16
Capítulo 1: Introdução e Objetivos.....	17
1.1. Analisadores Automáticos.....	19
1.1.1. Análise em Fluxo Não-Segmentado	20
1.1.2. Análise por Injeção em Fluxo	20
1.1.3. Análise por Injeção Seqüencial	21
1.1.4. Análise em fluxo Monossegmentado	21
1.1.5. Análise em Fluxo com Multicomutação.....	22
1.1.6. Análise em Fluxo-Batelada (<i>Flow-Batch</i>) (FBA).....	22
1.2 Microfabricação	26
1.2.1. Microfabricação Clássica.....	26
1.2.2. Microfabricação com Base Polimérica.....	30
1.3. Microssistemas	32
1.3.1. Miniaturização de Sistemas Analíticos.....	32
1.4. Resinas à Base de Uretano-Acrilato (UA)	34
1.5. Objetivos.....	43
Capítulo 2: Aspectos da Microfabricação em Uretano-Acrilato (UA)	45
2.1. A superfície de contato	45
2.2. Selagem e Formação de Canais.....	46
2.2.1. A Fonte de Radiação UV.....	50
2.3. Teste de Injeção	52
2.4. Aparato	54
Capítulo 3: Resultados e Discussão	60
3.1. Microfabricação do <i>Flow-Batch</i>	60

3.1.1. Primeiras Concepções e Desafios	62
3.1.2. Microfabricação – da Cura ao Acabamento Final	66
3.1.3. A Agitação no Micro <i>Flow-Batch</i> (μ FBA).....	71
3.2. Parte Experimental.....	73
3.2.1. Aferição das Mini-Válvulas Solenóides	73
3.2.2. Determinação Fotométrica de Ferro (II) em Suplementos Minerais Ferrosos.....	74
3.2.3. Reagentes e Soluções.....	76
3.2.4. Visão Geral do Sistema Analítico	77
Capítulo 4: Conclusões e Propostas Futuras.....	85
4.1. Conclusões.....	85
4.2. Propostas Futuras	87
Referências Bibliográficas	89

LISTA DE FIGURAS

“Eu avalio o preço no nível mental que
você anda por aí usando, então eu lhe digo
o preço que sua cabeça agora está custando”
Raul Santos Seixas

Figura 1: Configuração geral de um sistema de análise em fluxo. 1:Fluido carregador, 2: Bomba peristáltica ou dispositivo de propulsão, 3: Amostra, 4: Injetor, 5: Reator, 6: Detector, 7: Descarte.....	19
Figura 2: Diagrama esquemático generalizado de um sistema FBA, constituído por: Câmara de reação em teflon® (CR), Agitador Magnético (AGM), Barra de Agitação (BA), Bomba Peristáltica (BB), Recipientes das n soluções envolvidas no método analítico, do descarte e da solução de limpeza, n válvulas solenóides (V1, V2, V3,...Vn, Vrc), Módulo de Controle (MC), Detector (DT), Computador (PC)	24
Figura 3: Visão geral esquemática do processo de fabricação de dispositivos fluídicos. Projeto de criação de imagem (A), confecção da máscara (B), Técnica de transferência de imagem (C); processo de gravação por ambiente abrasivo, corrosivo, ou radiação eletromagnética (D), Substrato (E), Revelação e tratamento da superfície para fechamento (F), Canais gravados (G), Fechamento da peça com o mesmo substrato ou não (H), Compartimentos, capilares, mini tubos, joelhos, celas por onde o fluido pode ser manipulado (I).	27
Figura 4: Simplificação do processo de microfabricação clássica, após a selagem, a peça é cortada e montada adequadamente para o fim desejado.	27
Figura 5: Etapas da fotolitografia clássica: deposição de filme metálico ou SiO ₂ (A), deposição de fotorresiste (B), fotoexposição (C), revelação (D), corrosão da máscara e remoção do fotorresiste (E), corrosão do substrato (F), remoção da máscara de corrosão (G), e seus componentes principais: metal ou SiO ₂ (1), substrato de vidro ou silício (2), fotorresiste (3), radiação (4), máscara (5).	28
Figura 6: Esquema simplificado de selagem a quente utilizada (com retirada da água) na construção de micro sistemas em silício.	29
Figura 7: Imagem ilustrativa do dano provocado por um único grão de poeira na superfície de um “CHIP”	29
Figura 8: Um iniciador da fotopolimerização, o HMPP (2-hidróxi-2-metil-1-fenil-propan1-ona).	35
Figura 9: formação do radical benzoíla, uma importante espécie iniciadora na cura por UV.	35
Figura 10: Representação de um diacrilato, etilenoglicoldiacrilato quando R = H e n = 1. Se R = CH ₃ , o composto é um metacrilato.....	36
Figura 11: Representação da polimerização de um oligômero uretano-acrilato (UA).....	37
Figura 12: Comportamento mecânico dos polímeros, por classe.....	37
Figura 13: Relação entre o tipo de cadeia e a resistência mecânica do polímero.	38
Figura 14: Ilustração da deformação e retorno causado por tensão aplicada a um polímero com ligações cruzadas.	38
Figura 15: Ilustração bidimensional do que ocorre na maioria dos polímeros onde estão mostrados os sítios cristalinos e amorfos.....	39
Figura 16: Reação de rearranjo e obtenção de um PU genérico.	39
Figura 17: Interação intermolecular entre mesmos domínios de uma possível cadeia de PU.....	40
Figura 18: Interação intermolecular entre domínios distintos de uma possível cadeia de PU	40
Figura 19: fórmula estrutural provável da cadeia do oligômero UA, apresentado pela Cytec®.....	41

Figura 20: Fórmula estrutural genérica do produto comercial Ebecryl® 8402, mostrando as terminações acrilato, sensíveis ao UV.....	41
Figura 21: Esquema bidimensional geral para um elastômero, representado por molas e corpos rígidos relacionados aos seus domínios “moles” e “duros”.....	42
Figura 22: (a) Molde metálico aplicado à resina em UA, (b,c) peça pronta com “cicatriz” deixada pela retirada do molde, detalhe (c) do fio de aço (~0,1mm) introduzido no canal formado, (d) ilustração da peça antes e depois de retirado o molde.	46
Figura 23: Verificação da capacidade de vedação do polímero sem selagem por cura, (a) montagem, (b) compactação do elastômero devido à pressão exercida.....	48
Figura 24: Obstrução ocorrida ao se utilizar uma única transparência na fotolitografia.....	48
Figura 25: Ilustração representativa do efeito causado pela superposição de duas transparências. A região à esquerda representa a porção polimerizada, e a da direita representa a que vai ser retirado com o auxílio do ultra-som na etapa de revelação.....	49
Figura 26: Foto de uma linha impressa na transparência utilizada como máscara de revelação na fotolitografia profunda em UV da resina baseada em UA.	49
Figura 27: Ilustração a nível microscópico da diminuição do ruído nas bordas causada pela sobreposição de duas transparências.	50
Figura 28: Variação da intensidade de radiação de lâmpadas UV com o tempo de operação, apagando-se e acendendo uma vez por dia (utilização típica).	51
Figura 29: <i>Layout</i> de um protótipo FIA em espiral. O destaque em vermelho indica a alça de amostragem (cerca de 0,2 μ L), os canais possuem espessura de aproximadamente 0,45mm.	52
Figura 30: Protótipo para injeção hidrodinâmica antes (A) e depois da selagem (B).	52
Figura 31: Dimensões do protótipo para teste de injeção hidrodinâmica.	53
Figura 32: Ilustração da injeção hidrodinâmica, na qual o corante deveria percorrer apenas a alça de amostragem (A), e o espalhamento do mesmo além da alça de amostragem (B).....	53
Figura 33: Expositora Fotolight utilizada para polimerização do substrato, com tampa superior aberta à esquerda e parte inferior em detalhe à direita.....	54
Figura 34: Aparelho de banho ultrassônico utilizado no processo de revelação do sistema.	55
Figura 35: Ilustração da limpeza do substrato utilizando ultra-som.....	56
Figura 36: Bomba peristáltica Ismatec modelo IPC, com doze roletes e oito canais.	56
Figura 37: Mini válvula solenóide de 3 vias utilizada para direcionamento de fluidos.....	57
Figura 38: Motor de <i>driver</i> de CD utilizado para girar o eixo misturador.	57
Figura 39: Esquema de montagem do circuito do fotômetro do μ FBA, LED verde (D3), fototransistor infravermelho (Q2), pilha de 12 volts (BAT 1), diodo zener (D2), resistores R2, R4, R5.	58
Figura 40: Gráfico ilustrativo mostrando o espectro de emissão do LED utilizado no μ FBA e seu comprimento de onda máximo (530nm), e largura de banda efetiva de 35 nm.....	58
Figura 41: Módulo de controle utilizado no sistema fotométrico μ FBA.....	59
Figura 42: Espectrofotômetro HP utilizado para comparação com o sistema fotométrico μ FBA	59
Figura 43: Gráfico dos espectros no IV da resina à base de UA obtido utilizando-se intervalo de tempo de exposição ao UV de 20 a 420 s. O eixo das ordenadas está em unidades arbitrárias de absorbância.	61
Figura 44: Gráfico da variação de absorbância no IV em função do tempo, para um pico de absorção de 8840 cm^{-1} , mostrando que a cinética de polimerização é linear numa certa faixa.....	61

- Figura 45:** Fotos de uma câmara de mistura de um dos primeiros FBA produzidos. Com 2,0 cm de diâmetro, e altura de 3 cm. A saída do líquido se dá pela parte inferior cônica da peça, (a), a conexão para o exterior é feita por encaixe (b).....62
- Figura 46:** Ilustração simplificada da formação da gota *g*, na peça construída originalmente, composta de um tanque *t*; dois canais de injeção *i*₁ e *i*₂; uma haste misturadora *m*; um canal *h*; sistemas de entrada e saída..... 63
- Figura 47:** Fotos da primeira peça testada para o μ FBA de dimensões 2,0 cm x 1,5 cm e capacidade aproximada de 50 μ L.....63
- Figura 48:** Vista espacial em perspectiva (fora de escala real) das Figuras geométricas constituintes do μ FBA. (a) ilustra a sobreposição de duas camadas poliméricas, o que resulta em um prisma de base retangular, e mostra internamente os espaços vazios também em forma de prismas (b, d), e cilindro(c) que são o “sistema circulatório” do dispositivo.64
- Figura 49:** Foto do μ FBA após a primeira selagem nota-se a profundidade acentuada onde será inserido o LED e o detector. 64
- Figura 50:** Ilustração em perspectiva das duas camadas poliméricas que unidas e preenchidas pelas partes componentes formam o μ FBA.65
- Figura 51:** Ilustração do caminho óptico *b* de 0,5 cm entre o LED e detector após o corte e polimento.....65
- Figura 52:** Atenuação de um feixe incidente de radiação de potência radiante *P*₀ a uma potência transmitida *P*, passando através da área cilíndrica obtida na concepção do micro-sistema em UA.....66
- Figura 53:** Foto do μ FBA e suas dimensões 1,8 cm x 2,4 cm e, *a* e *b* = 0,6 cm;..... 67
- Figura 54:** Diagrama esquemático das etapas de construção do micro *Flow-Batch*. (A) montagem do molde com as duas transparências superpostas, (B) derramamento da resina no molde, (C) acondicionamento da resina líquida entre as placas de acrílico, mediante a utilização de grampos para mantê-los unidos, (D) Exposição à luz UV, por um tempo de 50s para a parte superior e 100s para a inferior (mesmo para as fases I e II), (E) União e exposição das camadas na fase (III) por 15 min., possibilitando a adesão e selagem, (F) Término da fabricação do μ FBA, mostrando o ajuste dos tubos e do LED/detector. Nesta etapa a peça é deixada em exposição (IV) por 15 min., para assegurar a fixação apropriada.69
- Figura 55:** Foto do sistema montado mostrando os seus componentes principais: *a* e *a'*: tubos de teflon conectados ao exterior e selados à peça; *b*: plataforma de acrílico onde se encontra o motor acionador de leitor de CD; *c*: interruptor de acionamento do LED; *d*: corpo do μ FBA; *e*: detector; *f*: LED; *g* e *g'*: pinos de fixação e acionamento do sistema; *h*: bateria (12V); *i*: parafuso tipo borboleta; *j*: o plug ligado diretamente ao módulo de controle; *n*: haste de nylon; *s*: saída.....70
- Figura 56:** Foto ilustrativa da capacidade do μ FBA, na altura do LED e detector, com 0,75cm de altura, e que comportará aproximadamente 100 μ L (verde) e pelo menos mais 100 μ L até próximo do limite do reservatório (vermelho).71
- Figura 57:** Ilustração do efeito de vórtice em tanques diferentes. 72
- Figura 58:** Perfis de velocidades ao longo do eixo X dependentes do número de RPM..... 72
- Figura 59:** Foto ampliada do fio de nylon® com diâmetro 0,4mm utilizado como haste misturadora no μ FBA.73
- Figura 60:** Gráfico de aferição da mini-válvula solenóide com a bomba peristáltica operando a 5,0 RPM, a mesma apresenta boa linearidade com coeficiente de correlação: 0,9999.74
- Figura 61:** Gráfico dos espectros na região visível, de soluções com concentrações de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ do complexo ferro-fenantrolina, obtidos com o espectrofotômetro HP.75
- Figura 62:** Imagem ilustrativa da janela da interface gráfica do programa de gerenciamento do sistema de determinação fotométrica com o micro *Flow-Batch*. 77

- Figura 63:** Imagem ilustrativa da proporção dos líquidos nas diluições efetuadas através do gerenciamento do sistema de determinação fotométrica μ FBA. Na codificação das cores temos as soluções de:  **B** (fenantrolina + acetato) que sempre é adicionada na mesma quantidade (17,0 μ L).  **P** refere-se aos padrões ou amostras, e  **H₂O** água deionizada. Na seqüência temos: **A** (medida do branco), **B** (Padrão de 10,0 mg L⁻¹ ou amostras), **C** (padrão de 8,0 mg L⁻¹), **D** (padrão de 6,0 mg L⁻¹), **E** (padrão de 4,0 mg L⁻¹), **F** (padrão de 2,0 mg L⁻¹), **G** (padrão de 1,0 mg L⁻¹). O tempo total de enchimento é de 11 s.....79
- Figura 64:** Diagrama esquemático do sistema para determinação fotométrica. Tubos de teflon® (**a**, **b**, **c**, **d**) ligados a tubos tygon® para condução dos fluidos, cela de fluxo (μ FB); bomba peristáltica (**BB**); miniválvulas solenóides (**V1**, **V2**, **V3** e **V4**); motor do misturador (**M**); módulo controlador (**CM**); interface USB (**USB**); estação de trabalho (**PC**); LED (**L**); fotodiodo (**D**); interruptor (**S**); resistores (**R1**, **R2**, **R3** de respectivamente 1K, 4,7 K, 2,2 M Ohms); diodo zener (**ZD**) (regulador de voltagem-5V) ligados a uma bateria de 12 V (**BT**). Esquema interno da válvula (**VG**) nas posições desligada (**a'**) e ligada (**b'**); Os fluidos que constituem a solução reagente, do branco ou de limpeza (água deionizada, solução B, padrões ou amostra), são acondicionados nos recipientes **RG₁**, **RG₂** e **RG₃**, e eliminados através do descarte (**W**).80
- Figura 65:** Foto do sistema μ FBA em uso, a caixa onde se encontra a câmara de mistura, e detecção permanece fechada durante a operação. Observa-se a janela da interface gráfica de gerenciamento, desenvolvida em Labview® 5.1.81
- Figura 66:** Curva analítica obtida pelo μ FBA bem função da concentração de Fe²⁺ com coeficiente de correlação linear = 0,9968 e boa linearidade de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ de Fe²⁺.81
- Figura 67:** Distribuição dos resíduos do modelo obtidos na ANOVA para os valores de calibração utilizando o μ FBA. A distribuição dos mesmos obedece a uma aleatoriedade, indicando que o mesmo é bem representado pelo modelo linear.83
- Figura 68:** Selagem de um protótipo do μ FBA com janelas formadas por tubos abertos em apenas uma das extremidades, possibilitando acoplamento de fontes diferentes de emissão e detecção. O material pode ser de vidro ou quartzo, dependendo da aplicação.87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

"The mountains that we moved...
Wish I didn't know now what I didn't know then
The years rolled slowly past...
I was living to run and running to live
Moving eight miles a minute for months at a time
I'm older now but still runnin' against the wind
Searching for shelter again and again
Against the wind"
Bob Seger

μTAS	Micro Total Analysis Systems (Micro sistemas de análises totais)
CI	circuito integrado
LED	Light Emitting Diode (Diodo Emissor de Luz)
UV	Ultravioleta
UVA.....	Ultravioleta A (350 nm)
SFA	Segmented Flow Analysis (Análise em fluxo segmentado)
IUPAC.....	International Union for Pure and Applied Chemistry (União Internacional para a química pura e aplicada)
FIA	Flow injection analysis (Análise por injeção em fluxo).
ANOVA.....	Analysis of Variance (Análise de Variância)
CG.....	Cromatógrafo a Gás
PDMS.....	Poli(dimetilsiloxano)
Lab-on-a-chip.....	Laboratório em um chip
FBA.....	Flow-Batch Analysis (Análise em Fluxo-Batelada)
μFBA.....	micro Flow-Batch Analysis (micro Análise em Fluxo-Batelada)
MSFA	Monosegmented Flow Analysis (Análise em fluxo monossegmentado)
PMMA.....	poli(metilmetacrilato)
PET.....	poli(etilenotereftalato)
PTFE.....	poli(tetrafluoroetileno) (ou Teflon®).
UA.....	uretano-acrilato
PUA.....	poliuretano-acrilato
PC.....	policarbonato

IV.....Infravermelho
RPM.....Rotações por minuto
LOD.....Limit of detection (Limite de detecção)
LOQ.....Limit of quantification (Limite de quantificação)

RESUMO

“Tudo que (se) vai deixa o gosto,
deixa as fotos, deixa a memória...”
Capital Inicial

No presente trabalho é descrita a construção de um novo analisador *Flow-Batch* (FB) em escala micro (micro *Flow-Batch* - μ FBA) utilizando a técnica de fotolitografia profunda no ultravioleta com resina comercial à base de oligômeros uretano e acrilato (UA). O dispositivo foi construído a partir da união de duas camadas da resina pré-polimerizada de 3,4 mm de espessura cada uma, formando assim uma estrutura única. A característica principal do novo dispositivo é o pequeno volume da câmara de análise, que pode ser de 100 a 200 μ L, permitindo a homogeneização das soluções reagentes em um tempo de 2 s. Nesse sentido, a diminuição do consumo de reagentes e, conseqüentemente, de resíduos gerados (dez vezes menor que um *FB* convencional), apontam na direção dos requisitos da química verde e se alinham com a nova postura da ecoeficiência. O sistema apresenta os seguintes avanços em relação à microfabricação com resina uretano-acrilato: (i) controle da profundidade dos canais durante a fotolitografia; (ii) agitador do tipo axial incorporado; (iii) LED emissor de luz (530nm) e detector (fotodiodo) acoplados ao corpo do dispositivo. O controle da profundidade permitiu o ajuste do volume da câmara e do LED à câmara de mistura. Os próprios pinos conectores do LED e do detector foram utilizados como elementos de fixação da peça em sua caixa. Nesta primeira montagem, o sistema foi empregado na determinação fotométrica de Fe (II) em medicamentos. O modelo para a curva de calibração foi validado através da Análise de Variância (ANOVA), e seus resultados analíticos foram comparados com aqueles obtidos em análises de referência através da aplicação do teste-*t* emparelhado, não apresentando diferenças estatísticas significativas a um nível de confiança de 95%.

Palavras-chave: Química, Microfabricação, Flow-Batch, μ TAS, Lab-on-a-chip, Fotômetro.

ABSTRACT

“Pobre de mim, pobre de nós,
via Láctea, brilha por nós,
vidas pequenas da esquina.”
14 Bis

This work describes the construction of a new flow-batch analyzer (FB) in micro scale (micro Flow-Batch- μ FBA) using the technique of deep ultraviolet photolithography with commercial resin based in urethane acrylate oligomers (UA).

The device was constructed from the union of two layers of pre-polymerized resin of 3.4 mm thick each, thus forming a single structure. The main feature of the new device is the small volume of its analysis chamber, which can be 100-200 μ L, allowing the homogenization of reagent solutions in a time of 2.s. In this sense, the decrease in reagents consumption and hence generation of waste (ten times smaller than a conventional FB), wich is in line with the requirements of green chemistry and with the new position of the eco-efficiency. The system offers the following progress in relation to micro fabrication with urethane acrylate resin: (i) depth control of the channels during photolithography; (ii) axial mixer incorporated; (iii) LED - Light emitting diode (530 nm) and detector (photodiode) coupled to the device body; The depth control of the channels allows adjustment of the volume of the chamber and the LED to the mixing chamber. The LED and detector connector pins is the elements that makes the device fixed on its box. In this first assembly, system were used in photometric determination of Fe (II) in pharmaceuticals. The model for the calibration curve was validated by analysis of variance (ANOVA), and their analytical results were compared with those obtained in batch by the reference method, the application of paired t-test found no statistically significant differences at a confidence level of 95%.

Keywords: Chemistry, Microfabrication, Flow-Batch, μ TAS, Lab-on-a-chip, Photometer.

Capítulo 1: Introdução e Objetivos

My body, My hand
My heaven, My land
My guardian angel is mine

My Skin, My blood
My devil, My God
My freedom is what You see

BRAINSTORM

Nas ciências analíticas, onde a química analítica está inserida, a idéia de se obter um dispositivo capaz de realizar com precisão uma tarefa específica com demandas mínimas tanto do ponto de vista energético quanto material, justifica a busca pela miniaturização. Se, aliada a esses fatores, ainda houver a possibilidade de aumento do desempenho analítico, entre outras vantagens, consegue-se facilmente uma motivação para empreender neste campo.

Porém, há outro fator motivador importante: as novas demandas ambientais. Nesses novos tempos, exige-se cada vez menos impacto ambiental na produção de bens. Muito mais que conceitos, química verde [1] e ecoeficiência [2] estão se tornando exigências, tanto de mercado quanto governamentais. Desde que foi lançada a idéia de análise total (μ TAS- “*Micro-Total Analysis Systems*”) por Manz e Widmer [3], tem sido frenética a busca por dispositivos que atendam a maioria das operações requeridas a uma determinação analítica. Esse conceito também é denominado de *laboratório em um chip* (“*Lab-on-a-chip*”).

Embora a idéia de miniaturizar seja fascinante, esta apresenta muitos desafios devido à necessidade do controle do transporte de fluidos, que se torna cada vez mais complexo à medida que se reduzem as dimensões da seção ao longo da qual o mesmo escoar. Com isso, cresce também a dificuldade em realizar operações de bombeamento, mistura, transferência, detecção e separação, com eficiência e confiabilidade.

A microeletrônica em muito auxiliou na criação de microdispositivos com canais em arranjos os mais diversos possíveis. Porém, esta tecnologia, específica para fabricação de circuitos integrados ou outra estrutura microscópica em quartzo, silício ou vidro, não se aplica sem condições especiais de controle e produção, e seu alto custo, dificulta a sua disseminação em laboratórios convencionais. Daí nasce a necessidade de adaptação.

As técnicas de fabricação utilizadas na microeletrônica são conhecidas como técnicas clássicas, e suas etapas já estão bem determinadas e desenvolvidas, enquanto que as técnicas envolvendo polímeros são recentes, e se baseiam em reproduzir em um substrato polimérico, a estrutura contida em um molde. Polímeros são materiais que apresentam uma grande diversidade e plasticidade, o que torna estes materiais uma alternativa satisfatória na construção de microdispositivos fluídicos. Assim, é possível escolher um polímero adequado para fabricação de dispositivos com finalidade analítica [4].

Um desafio importante para a microanálise diz respeito à construção do dispositivo fluídico. A primeira etapa deste processo consiste na escolha do material adequado. O uretano-acrilato (UA), assim como outros materiais poliméricos, apresenta características apropriadas para esse tipo de construção. Fernandes e Ferreira [5] construíram o primeiro dispositivo microfluídico utilizando UA. Este sistema foi posteriormente aprimorado por Fonseca e colaboradores [6].

Pode-se dizer que a análise em fluxo [7], área das ciências analíticas com conhecimento estabelecido, vem ressurgindo com novas aplicações, na medida em que melhores recursos computacionais tornam-se mais acessíveis, e novos materiais vêm sendo utilizados. Honorato e colaboradores [8] introduziram um novo conceito de análise em fluxo chamado *Flow-Batch* (FBA). Este sistema se destaca por, entre outras características, sua versatilidade. No FBA utiliza-se a agitação magnética, ou um misturador axial, conforme descrito no trabalho de Boaventura e colaboradores [9]. Dependendo da técnica utilizada, a câmara de mistura do FBA pode conter o detector.

1.1. Analisadores Automáticos

Algumas motivações para se automatizar um método analítico podem ser citadas, tais como: demanda existente, principalmente na área clínica, melhoria da confiabilidade da análise, minimização da geração de resíduos e possibilidade de se implementar novos métodos. Além destas melhorias, outras vantagens podem ser descritas:

- Pouca intervenção do analista, baixo consumo de reagentes, menor tempo de análise em geral, simplicidade e versatilidade de operação, boa precisão e reprodutibilidade satisfatória.
- Possibilidade de exploração de aspectos cinéticos reacionais, e de exploração de gradientes de concentração.

São citadas como etapas da análise em fluxo, e ilustradas no diagrama esquemático (Figura 1):

- Propulsão dos fluidos;
- Injeção da amostra;
- Reação;
- Detecção.

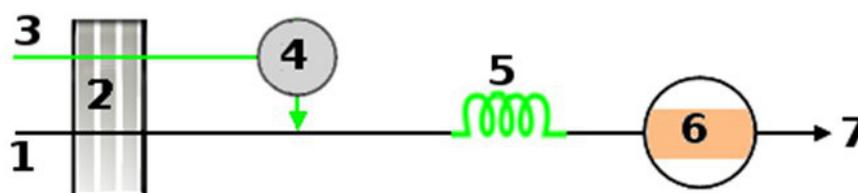


Figura 1: Configuração geral de um sistema de análise em fluxo. 1:Fluido carregador, 2: Bomba peristáltica ou dispositivo de propulsão, 3: Amostra, 4: Injetor, 5: Reator, 6: Detector, 7: Descarte.

Ziegel [10] propôs um sistema de análise automático em batelada, iniciando assim a automação em química analítica. Sistemas em batelada apresentam a

limitação de requererem limpeza da câmara a cada término de análise, diminuindo a frequência analítica, e aumentando a quantidade de produto descartado.

O primeiro analisador em fluxo foi proposto por Skeggs [11]. Neste caso ocorreu intercalação de líquido com ar, tornando a composição fluídica transportada não mais incompressível, ficando assim conhecida como análise em fluxo segmentado chamada SFA (*Segmented Flow Analysis*), onde um fluido inerte para a análise em questão é utilizado e chamado de fluido carregador. Neste sistema há a necessidade de retirada das bolhas de ar para uma detecção adequada, o que representa uma etapa analítica a mais.

A grande disseminação e a variedade de aplicações para a técnica de análise em fluxo culminaram com a classificação das técnicas e o reconhecimento por parte da IUPAC. Pode-se dizer que a classificação é feita, principalmente em torno do tipo de amostragem envolvida [12]. As diferentes combinações de características como o tipo de inserção de amostras e reagentes, definem o caráter de cada método, e alguns são classificados a seguir.

1.1.1. Análise em Fluxo Não-Segmentado [13-19]

Não há segmentação por bolhas de ar nesta técnica, na qual os fluidos são bombeados continuamente em direção à unidade de detecção.

1.1.2. Análise por Injeção em Fluxo [20-28]

A análise por injeção em fluxo, FIA (*Flow injection analysis*) foi proposta por Ruzicka e Hansen [4], na Dinamarca e por Stewart e colaboradores nos Estados Unidos [20], na metade da década de 70. A introdução da técnica FIA revolucionou o conceito de automatização em análise química, pois a realização das medidas instrumentais se dá em condições de ausência de equilíbrio físico e químico. Conceitualmente, pode-se dizer que a técnica FIA é uma técnica de microanálise que se baseia na intercalação de pequenos volumes reproduzíveis de amostra, de

maneira rápida, em um fluxo laminar constituído por uma solução carregadora inerte sem segmentação por bolhas de ar, em direção a um detector.

A dispersão sofrida pela amostra provoca um gradiente de concentrações ao longo do tubo por onde o fluxo é bombeado. A dispersão é reprodutível e produz uma zona detectada sob a forma de um sinal transiente, o que reduz significativamente o tempo de análise.

Contudo, o bombeamento contínuo implica em um consumo elevado de soluções, e se cada solução possui um canal próprio, a montagem pode se tornar mais complexa. Geralmente, o sistema FIA necessita de reconfiguração física para cada determinação, que são monoparamétricas. O tamanho do reator também é outro fator limitante, pois é função da vazão de bombeamento e do tempo de reação. A viscosidade das soluções, o diâmetro interno dos tubos, a vazão e o volume de amostra também afetam a dispersão.

1.1.3. Análise por Injeção Seqüencial [29-32]

Proposta por Ruzicka e Marshall [29] a análise por injeção seqüencial (*Sequential Injection Analysis* - SIA) caracteriza-se pela presença de uma válvula seletora de fluidos, devidamente controlada para que estes sejam aspirados em uma ordem adequada ao processo analítico, e logo depois injetados para possibilitar a detecção.

1.1.4. Análise em fluxo Monossegmentado [33-36]

Proposta por Pasquini e Oliveira, a análise em fluxo monossegmentado (*Monosegmented Flow Analysis* - MSFA) é um sistema no qual a amostra e os reagentes são inseridos entre duas bolhas de ar no canal do fluido transportador inerte.

1.1.5. Análise em Fluxo com Multicomutação [37-40]

Em 1994, Reis e colaboradores [37] propuseram a técnica de análise em Fluxo com multicomutação (*Multicommutation in Flow Analysis* - MCFA). Que utiliza o conceito da amostragem binária, na qual, geralmente válvulas solenóides de três vias são utilizadas para a inserção alternada de pequenas porções de amostra e reagente no percurso analítico, possibilitando a formação de zonas reacionais. O baixo consumo de amostra e reagentes consolidou a multicomutação como uma tecnologia típica de microanálise. A reconfiguração dos ciclos de atuação de cada válvula permite um rápido ajuste do sistema para uma determinada aplicação analítica.

1.1.6. Análise em Fluxo-Batelada (*Flow-Batch*) (FBA)

Araújo e colaboradores vêm desenvolvendo analisadores *FBA* para aplicação em diversos procedimentos e métodos de análise química, tais como: titulações [8,41-43], pré-tratamento da amostra como ajuste de pH [45], ou de salinidade [46], adições de padrão [47,48], preparação de soluções multicomponente para calibração multivariada [49,50], *screening analysis* [41,43,51], calibração não-linear [52].

Têm-se obtido êxito com formas alternativas de movimentação de fluidos no analisador *FBA*. Um dos exemplos é a utilização de bomba pistão para preparo de soluções de calibração e microemulsões, descrito por Almeida [53]. Outras importantes aplicações analíticas são encontradas na literatura, e dentre elas destacamos:

- FBA em controle de processo na Indústria petroquímica, por Pasquini [54], na qual o reagente é gerado coulometricamente, e o ponto final da titulação biampérométrica é detectado automaticamente pelo sistema.
- Honorato e colaboradores propuseram uma importante aplicação forense de técnicas analíticas realizada com um sistema FBA [55].
- Grünhut e colaboradores [56] utilizaram o FBA em uma importante aplicação em fármacos.

No FBA, as soluções alimentam uma câmara de mistura, cujo fluxo pode ser interrompido, criando uma situação de batelada. Segundo Almeida [53], um analisador em fluxo-batelada (FBA) tem como principais características:

- A análise é processada em batelada, permitindo assim que se atinjam os equilíbrios físicos e químicos inerentes ao processo analítico;
- Diluição ou não da amostra, possibilitando a preparação de padrões na própria câmara de mistura;
- Permitir análise em fluxo interrompido (stopped flow) podendo inclusive a medida ser realizada diretamente na câmara, (como foi feito no presente trabalho);
- Grande facilidade para automatização de métodos clássicos já bem estabelecidos;
- Permitir, com apenas a modificação do programa de controle, a execução de diferentes processos analíticos;
- Possibilitam a implementação de análises envolvendo reações de cinética lenta;
- De maneira geral possibilitam a incorporação de técnicas de análise em fluxo ou em batelada.

O diagrama apresentado na Figura 2 representa um sistema de análise automática tipo FBA. Percebe-se a convergência de todas as soluções para a câmara de mistura e reação, e depois de cumpridas as etapas, o fluido é enviado para um detector, para ser descartado em seguida. A saída do líquido se dá pela parte inferior da câmara. Após a detecção, o sistema é realimentado. Os dados são tratados e armazenados em um computador.

As dimensões do FBA permitem agitação via barra magnética, o que auxilia muito na eficiência de mistura, enquanto que dispositivos com agitação feita por eixo misturador, com uma pá na extremidade que dependerá do número de rotações por minuto na medida em que a largura da pá for diminuída. Esse efeito será discutido na seção 3.1.3.

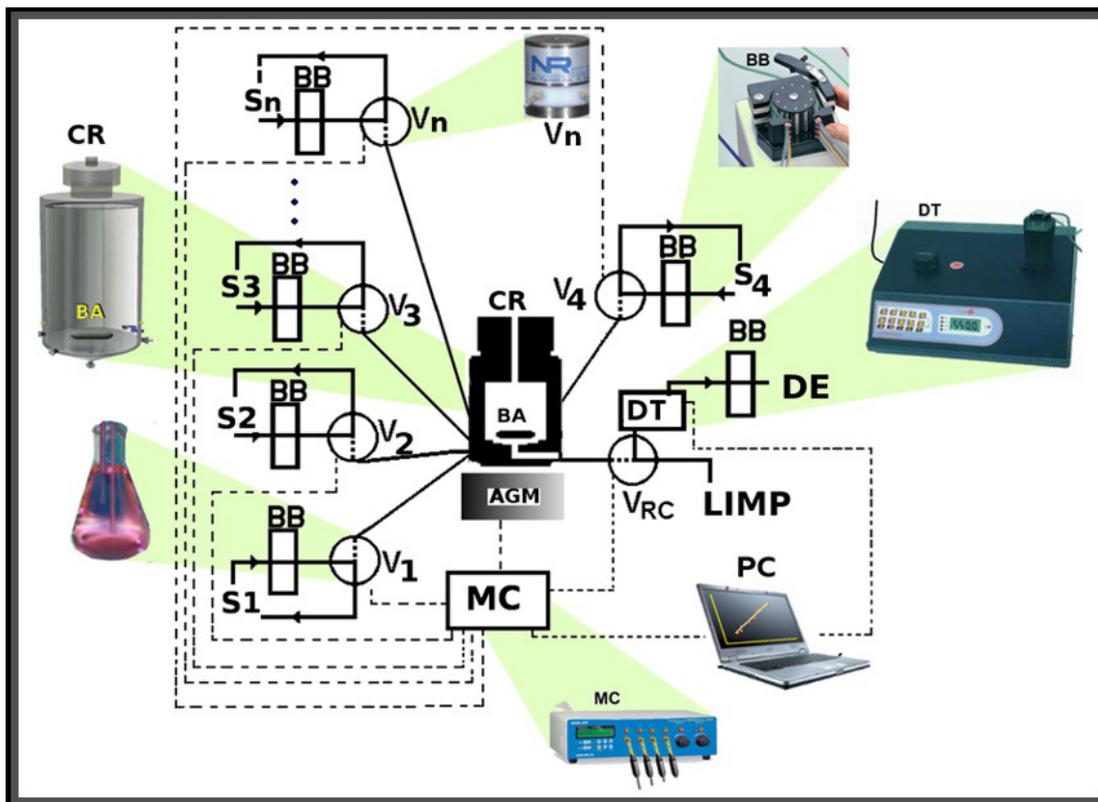


Figura 2: Diagrama esquemático generalizado de um sistema FBA, constituído por: Câmara de reação em teflon® (**CR**), Agitador Magnético (**AGM**), Barra de Agitação (**BA**), Bomba Peristáltica (**BB**), Recipientes das n soluções envolvidas no método analítico, do descarte e da solução de limpeza, respectivamente (**S1**, **S2**, **S3...Sn**, **DE**, **LIMP**), n válvulas solenóides que direcionam os fluidos de dentro dos n recipientes de soluções (ou retornando às mesmas), e válvula responsável pelo direcionamento na aspiração do fluido de limpeza ou do conteúdo da câmara de reação, respectivamente (**V1**, **V2**, **V3...Vn**, **Vrc**), Módulo de Controle (**MC**), Detector (**DT**), Computador para controle, tratamento e armazenamento de dados (**PC**). As setas indicam a direção do bombeamento.

Ainda segundo Almeida [53], apesar de apresentar diversas vantagens e boas figuras de mérito, os analisadores FBA que utilizam bomba peristáltica na propulsão dos fluidos estão sujeitos a alguns inconvenientes, tais como:

- Necessidade de bombeamento de amostra por todo o tubo e válvula na operação, além de limpeza e troca de amostra para evitar contaminações ou bolhas de ar.
- Cuidados com os tubos e necessidade de calibrações constantes na injeção, devido a possíveis alterações físicas do mesmo.

- Pulsação inerente da própria concepção da bomba peristáltica, cujo princípio é o do deslocamento positivo do líquido através de permutação de roletes girando ao redor de um eixo, e deve ser avaliada e levada em conta na medida em que se estreita a faixa de injeção.
- O volume morto, que é função do comprimento das conexões; este deve ser minimizado.
- Custo e portabilidade de uma bomba peristáltica; em se tratando de minissistemas, deve-se pensar em alternativas menos onerosas e mais fáceis de transportar.

Diante do exposto, percebe-se a necessidade de desenvolvimento de alternativas em termos de analisadores automáticos FBA capazes de contornar as limitações apresentadas. Destaca-se então como motivações principais em se construir um micro *Flow-Batch* (μ FBA):

- A possibilidade de se vir a analisar amostras disponíveis apenas em quantidades residuais;
- Buscar realizar o máximo de etapas analíticas possível;
- Criar condições de bombeamento e direcionamento condizentes com as dimensões do analisador;
- Montar *arranjos* de analisadores, a fim de se realizar simultaneamente vários tipos de determinações;
- Alcançar maior portabilidade;
- Minimizar consumo de energia e material na produção, atingindo assim o menor custo
- Obter sistemas mais simples, e dispositivos mais rápidos com eletrônica integrada;
- Desenvolver métodos analíticos menos invasivos;
- Obter favorecimento pelas leis de escalonamento, e possibilidade de exploração de novos efeitos pela quebra da teoria do contínuo em microdomínios.

Para avaliar a atuação do analisador proposto, o mesmo será aplicado na determinação de Fe^{2+} em medicamentos, a fim de se verificar a eficácia da nova proposta de mistura, o tipo de detecção, e se o tipo de bombeamento e calibração dos tempos de abertura das miniválvulas empregadas no desenvolvimento do sistema fornecerão resultados aceitáveis.

1.2 Microfabricação

Em linhas gerais, a microfabricação consiste na reprodução de uma matriz de proporções diminutas em determinado substrato, que sofre modificação em sua superfície e passa a apresentar-se como uma peça na forma desejada. Assim, têm-se apenas sulcos gravados no substrato, apesar de ainda não ser possível a movimentação fluídica no mesmo. Para tanto, realiza-se o fechamento da peça e, conseqüentemente, a formação dos capilares ou minicanais e celas, permitindo a manipulação de fluidos. Esse fechamento é chamado de selagem. A Figura 3 ilustra os procedimentos gerais de construção de um microdispositivo, desde a concepção do modelo até o fechamento da peça.

1.2.1. Microfabricação Clássica

É composta por duas etapas distintas, a gravação dos canais sobre o substrato sólido – fotolitografia – e a selagem da peça [57]. Aplica-se principalmente na fabricação de *microchips*, coração dos computadores atuais. As etapas da microfabricação clássica estão ilustradas de maneira simplificada na Figura 4.

A fotolitografia é usada para reproduzir imagens, usando um fotoresiste sensível à radiação, por meio de exposição controlada. Os componentes principais de um processo fotolitográfico clássico, e suas principais etapas de gravação e tratamento da superfície, estão ilustradas na Figura 5.

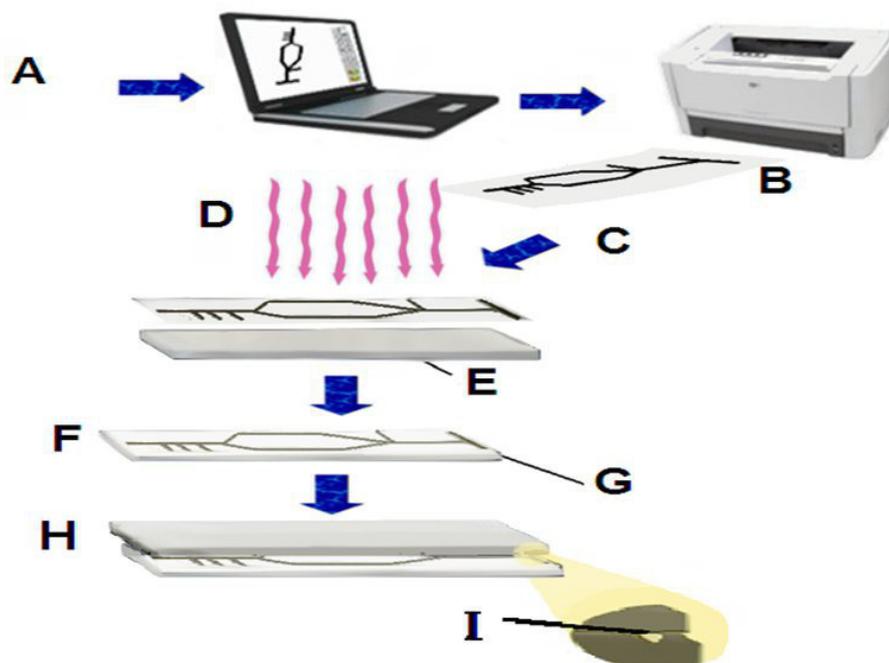


Figura 3: Visão geral esquemática do processo de fabricação de dispositivos fluídicos. Projeto de criação de imagem (A), confecção da máscara (B), Técnica de transferência de imagem (C); processo de gravação por ambiente abrasivo, corrosivo, ou radiação eletromagnética (D), Substrato (E), Revelação e tratamento da superfície para fechamento (F), Canais gravados (G), Fechamento da peça com o mesmo substrato ou não (H), Compartimentos, capilares, mini tubos, joelhos, celas por onde o fluido pode ser manipulado (I).

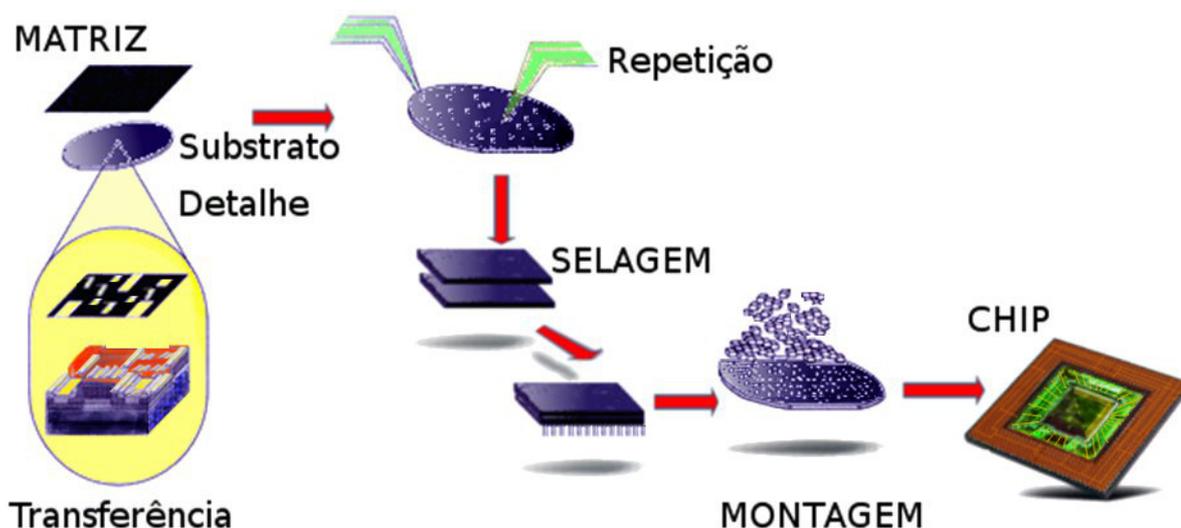


Figura 4: Simplificação do processo de microfabricação clássica, na qual uma matriz é reproduzida repetidamente em um substrato de silício ou vidro, por técnica adequada de transferência de imagem e gravação de canais, e no caso dos microchips, após a selagem, a peça é cortada e montada adequadamente para o fim desejado.

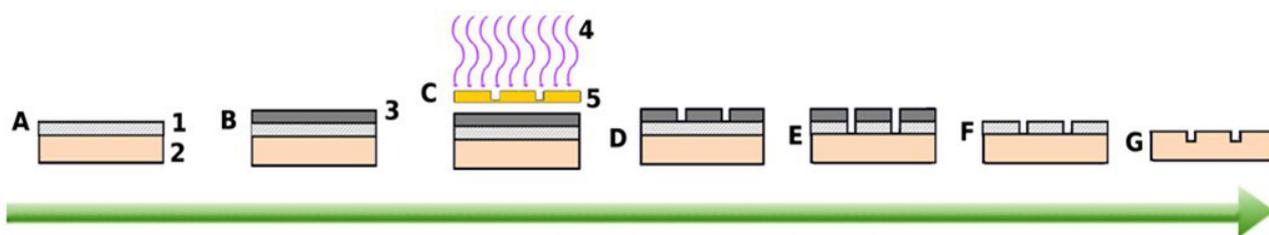


Figura 5: Etapas da fotolitografia clássica: deposição de filme metálico ou SiO_2 (A), deposição de fotorresiste (B), fotoexposição (C), revelação (D), corrosão da máscara e remoção do fotorresiste (E), corrosão do substrato (F), remoção da máscara de corrosão (G), e seus componentes principais: metal ou SiO_2 (1), substrato de vidro ou silício (2), fotorresiste (3), radiação (4), máscara (5).

A obtenção de microcanais através do método clássico pode ocorrer por via úmida ou seca. Por via úmida, utiliza-se uma máscara (Fig.5-5), que consiste em uma lâmina de vidro ou quartzo, adequadamente recoberta por metal de modo a definir a configuração dos canais, que se pretende produzir. A máscara é interposta entre a fonte de radiação e o substrato recoberto com o metal e o polímero, fazendo com que, apenas regiões específicas da superfície do polímero recebam radiação UV (Fig.5-C).

Retirando-se a parte menos solúvel com um solvente adequado, obtém-se a estrutura em relevo que se pretende, ocorrendo assim, a gravação dos canais no polímero de recobrimento. Entretanto, deve-se proceder a revelação (Fig.5-D), eliminando-se a camada metálica exposta (Fig.5-E). Para se efetuar a gravação dos canais no substrato, mergulha-se o sistema em uma solução que ataca o substrato nas partes não protegidas. O processo pode demorar algumas horas (Fig.5-F). Depois de gravados os canais, elimina-se o resiste e a cobertura metálica para se proceder a selagem da peça. (Fig.5-G)

Por via seca, recobre-se previamente o substrato com um fotorresiste, e procede-se tal qual por via úmida. Estando a superfície preparada, então a corrosão pode acontecer em um reator apropriado pela produção de uma atmosfera de plasma formada por íons altamente reativos, que interagem com a superfície desprotegida do substrato após adsorção destes, e posterior dessorção da espécie gasosa formada até um desgaste que reproduza o perfil dos canais requeridos.

Depois de cumprida a etapa de confecção dos canais, procede-se a etapa de selagem, esta pode ser realizada a quente, como ilustrado na Figura 6:

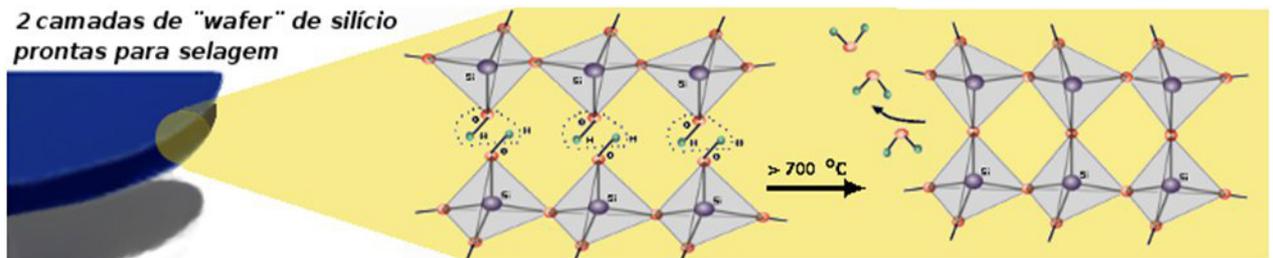


Figura 6: Esquema simplificado de selagem a quente utilizada (com retirada da água) na construção de micro sistemas em silício. A adesão das camadas com retirada da água é função da superfície de contato, que deve ser menos rugosa possível.

A produção de canais, trilhas ou conexões microscópicas exigem a ausência de partículas de poeira, pois um único grão pode causar dano considerável, como mostra a Figura 7:



Figura 7: Imagem ilustrativa do dano provocado por um único grão de poeira na superfície de um "CHIP"[58].

Dispositivos deste tipo só podem ser construídos em ambientes conhecidos como "salas limpas", que possuem as seguintes particularidades: (i) filtros especiais que limitam o tamanho das partículas sólidas suspensas no ar; (ii) o revestimento do ambiente é feito com material que não desprende partículas de dimensões indesejadas; (iii) a ventilação é mantida de forma que a atmosfera interior possua pressão ligeiramente maior que a exterior, e; (iv) os trabalhadores usam vestimentas

apropriadas totalmente vedadas. Existem diversos tipos de “salas limpas” de acordo com sua finalidade que engloba desde a produção de medicamentos até “microchips”, de acordo com o material particulado admissível em sua atmosfera. A construção e manutenção deste tipo de ambiente é extremamente cara e existem poucas disponíveis no Brasil.

1.2.2. Microfabricação com Base Polimérica

Novas aplicações envolvendo polímeros estão em ampla fase de desenvolvimento, incluindo a microfabricação [59-68]. Os métodos empregados para os polímeros estão de alguma forma vinculados àqueles aplicados aos circuitos integrados, isto é, operações que são empregadas na microfabricação convencional podem aparecer em alguma proposta de microfabricação com polímeros.

Entre as vantagens da microfabricação com base polimérica sobre a microfabricação clássica, podem-se destacar as seguintes:

- Baixo custo de obtenção, armazenagem e tratamento da matéria-prima, facilidade de manipulação em laboratório de ensino e/ou pesquisa.
- Boa precisão e repetibilidade, por utilizarem, com as devidas adaptações, algumas etapas provenientes da microfabricação clássica, utilizam conceitos e propriedades de média complexidade.
- Aparatos mais simples de operação relativamente fácil, o que requer pessoal não tão qualificado quanto às técnicas clássicas.
- Montagem mais fácil e possibilidade de mais testes e otimização mais rápida.
- Demanda latente, pois o fim é mais específico (ciências analíticas).

A disponibilidade da técnica para construção do dispositivo, o custo, e a aplicação a que o dispositivo se destina são fatores importantes na seleção do material a ser utilizado. Os tipos mais comuns de técnicas para microfabricação com base polimérica são:

- **Deformação por pressão e calor**

Um molde sólido que reproduza os canais do microssistema que se dispõe a produzir é pressionado contra o substrato (um polímero termoplástico) em presença de calor suficiente para tornar o polímero flexível o bastante para permitir a acomodação do molde. A gravação dos canais no material ocorre devido à pressão exercida.

- **Ablação à laser**

Foi introduzida por M.A. Roberts [69]. Nesta técnica, a energia proveniente da luz pulsada de um laser é absorvida pelo substrato, promovendo ruptura de ligações da cadeia polimérica, e ondas de choque com produção de gases como etileno, monóxido e dióxido de carbono.

A profundidade dos canais é função da energia e quantidade dos pulsos incidentes em determinado tempo. Polímeros como poli(metilmetacrilato) (PMMA), nitrocelulose, poli(etileno tereftalato) (PET), poliestireno e poli(tetrafluoroetileno) (PTFE ou Teflon®) são os mais empregados em microssistemas preparados por ablação.

- **Moldagem por Injeção**

Descrita por Hopper e colaboradores [70], é uma técnica versátil (pode-se obter canais de 10 a centenas de μm), possibilita a fabricação de uma grande variedade de estruturas e o uso de materiais termoplásticos (PMMA, PC). Uma grande vantagem também é o seu curto ciclo de fabricação (alguns segundos), o que garante uma alta produtividade deste processo. A qualidade da estrutura depende da qualidade e precisão da matriz, que pode ser metálica (Ni).

O substrato pode se apresentar de forma líquida e sofrer a polimerização dentro da câmara onde foi injetada, e após a polimerização, com aumento de temperatura, separa-se o polímero do molde, obtendo-se a gravação dos canais. Moldes de silício ou metal podem ser utilizados nesta técnica.

A forma dos canais por onde se movimentam os fluidos é função de como a transferência do padrão (imagem, molde, etc.) para o substrato foi realizada, e de como a retirada do “excesso” foi feita. Logo, essas etapas devem ser reproduzíveis.

Outras técnicas utilizando materiais de acesso relativamente fácil e baixo custo vem sendo utilizadas [71-73], dentre as técnicas alternativas de desenvolvimento de microssistemas destaca-se a fotolitografia. Esta possui alguma similaridade com o método clássico, e é aplicável ao polímero fotossensível UA.

Trata-se de um meio óptico de baixo custo, através do qual se transfere um padrão (preto e branco, sem tons de cinza) para um substrato, e o mesmo, após tratamento específico, se traduz em espaços vazios ou preenchidos, os quais são posteriormente selados. O polímero UA é um fotorresiste negativo, pois a exposição à radiação UVA (350 nm) o torna rígido. Para retirar os espaços vazios deste material, utiliza-se um banho ultra-sônico em solução aquosa de aproximadamente 2% (volume/volume) de surfactante (detergente comum) por 10 minutos. Esta etapa denomina-se “revelação”.

1.3. Microssistemas

1.3.1. Miniaturização de Sistemas Analíticos

O primeiro microssistema analítico foi um CG em substrato de silício [74]. Apesar da capacidade de realizar rápidas separações, o mesmo não foi prontamente aceito pela comunidade científica [75]. Na década de 80, a microfabricação ficou restrita ao desenvolvimento de microbombas, microválvulas e sensores químicos [76]. Com o conceito de μ TAS, ou *lab-on-a-chip* (LOC) [3], e com ele, a idéia de se integrar várias etapas analíticas, desde a introdução da amostra, até a detecção em um único dispositivo, abriu-se uma nova fronteira em expansão nas ciências analíticas. Sua relativa fácil automação, aplicabilidade em áreas diversas, tais como farmacológica, ambiental e clínica, bem como a possibilidade de aplicação “in situ”, se traduz em aplicações das mais diversas como em cromatografia líquida com injeções de sub-nanolitros [77].

Na medida em que se reduzem as dimensões dos sistemas analíticos, fenômenos, tais como fricção, difusão, eletrostática, forças de interação intermoleculares e tensão superficial, vão se tornando cada vez mais pronunciados, e conviver com estes fenômenos, até o ponto de aproveitá-los positivamente, é um dos maiores desafios da miniaturização. Alguns exemplos de sistemas miniaturizados são descritos a seguir.

Lago e colaboradores [78] propuseram em 2003 um microssistema de baixa complexidade de produção, confeccionado em toner-poliéster, cuja base foi impressa em poliéster e recebeu outra cobertura de poliéster com furos para os reservatórios de líquidos. O dispositivo final é uma camada de toner e reservatórios para líquidos, respectivamente. O *microchip* produzido foi capaz de realizar a separação eletroforética de K^+ , Na^+ e Li^+ com concentrações de 50 mmol L^{-1} cada.

Burns e colaboradores [79] incorporaram várias etapas analíticas em um complexo microdispositivo integrado para análise de DNA, com capacidade de nanolitros.

Para o bombeamento de fluidos em microdispositivos fluídicos, o fluxo eletroosmótico é o mais usado, ou seja, imersão de eletrodos metálicos em reservatórios abertos posicionados ao final de cada canal. Não há inconveniente de bolhas de ar (poderiam interromper o contato elétrico), pois estas são geralmente eliminadas ao migrarem para a superfície do líquido no reservatório.

Handique e colaboradores [80] propuseram um sistema de bombeamento termopneumático como alternativa de transporte de fluidos para microanalísadores.

Quake e colaboradores [81] propuseram uma microbomba peristáltica de $100 \mu\text{m}$ largura x $10 \mu\text{m}$ altura, confeccionada através da técnica de litografia rasa. Funciona através de um arranjo de tubos que se inter cruzam. O dispositivo tem capacidade de bombear até cerca de dois nanolitros por segundo.

Qui e colaboradores [82] desenvolveram um microssistema óptico de detecção por fluorescência fabricado em PMMA com técnica de gravação à quente, com uma fibra ótica adaptada para detecção. Os canais capilares e fibras óticas foram tratados com HF para ajustar seu diâmetro entre 70 e $75 \mu\text{m}$. O dispositivo foi selado com uma placa de PMMA de $0,5 \text{ mm}$ com temperatura de endurecimento de $85 \text{ }^\circ\text{C}$.

Lu e colaboradores [83] desenvolveram um *microchip* para separações de íons de metais de transição Co(II), Ni(II), Cu(II), Fe(II), Mn(II), Cd(II), com detecção da ordem de 2 ppm.

Petsul e colaboradores [84] desenvolveram um analisador de nitrato com redutor de cádmio em um chip.

Chen e Colaboradores [85] propuseram um microsistema de detecção amperométrica com canais em acrílico, impressos com fio de 90 µm de diâmetro. Os microsistemas de detecção eletroquímicos do tipo potenciométrico, amperométrico ou condutimétrico, tem algumas vantagens devido à sua simplicidade. O detector é facilmente integrado ao sistema, o que garante a portabilidade, e a perda na detecção não é significativa.

Fonseca e colaboradores [6] propuseram um dispositivo micro-FIA em UA com detecção fotométrica, com volume total de 7,0 µL onde foram utilizadas microbombas para movimentação dos fluidos.

Wang e colaboradores [86] produziram um microdispositivo com aplicação clínica bastante relevante para o controle do diabetes. O analisador era dedicado à determinação simultânea de glicose e insulina (proporção insulina/glicose) através utilizando ensaios enzimáticos e imunológicos.

Recentemente Fonseca e colaboradores [87] desenvolveram um micro-FIA com detecção fluorimétrica integrada em polímero UA. Como sistema de propulsão optou-se pela utilização de microbombas. Diante do exposto, percebe-se a demanda por estudos e desenvolvimentos em sistemas de base polimérica em PUA.

1.4. Resinas à Base de Uretano-Acrilato (UA)

Algumas observações acerca dos polímeros que podem ser utilizados no desenvolvimento de dispositivos microfluídicos estão brevemente destacadas nesta seção. Para um maior e melhor aprofundamento, podem-se consultar as referências disponíveis[88-112].

Polímeros elastômeros são aqueles que podem ser alongados em até duas ou mais vezes seu comprimento original à temperatura ambiente, retornando

rapidamente ao comprimento original. Eles são comumente conhecidos como borrachas.

A resina à base de UA é um produto comercial, utilizado amplamente na construção de carimbos e sensível à radiação UV. A mesma recebe a denominação de fotorresiste ou resiste, e é formada basicamente por oligômeros uretano e acrilato, além de fotoiniciadores, formadores de cadeias cruzadas, antioxidantes, entre outros, que conferem ao substrato um alto grau de complexidade. O UA, após polimerizado, apresenta-se como um elastômero.

Na Figura 8 é mostrada a representação de uma molécula que pode ser utilizada como iniciador no processo de cura por UV, pelo fato de a mesma apresentar uma carbonila ligada ao anel aromático, proporcionando assim uma quebra homolítica da ligação C-C sob exposição a esta radiação, conforme mostra a Figura 9.

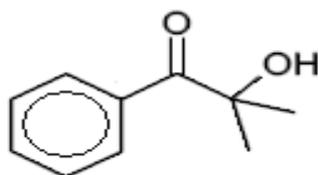


Figura 8: Um iniciador da fotopolimerização, o HMPP (2-hidróxi-2-metil-1-fenil-propan1-ona).

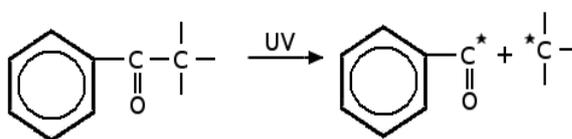


Figura 9: formação do radical benzoíla, uma importante espécie iniciadora na cura por UV.

Acrilatos e metacrilatos apresentam diversas aplicações, principalmente devido à sua alta reatividade e baixo custo. A Figura 10 ilustra a cadeia de um diacrilato:

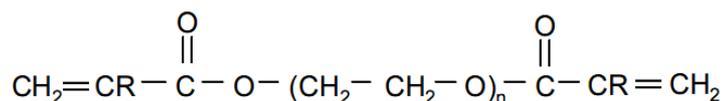


Figura 10: Representação de um diacrilato, etilenoglicoldiacrilato quando $R = \text{H}$ e $n = 1$. Se $R = \text{CH}_3$, o composto é um metacrilato.

Polímeros acrílicos possuem alta rigidez e resistência química, e em geral os mais utilizados são formulados a partir de monômeros de baixa massa molecular, onde há apenas pequenas ramificações do próprio monômero, o que os torna frágeis. São termoplásticos, isto é, ao serem aquecidos amolecem e permitem que sejam moldados e adquiram o formato desejado. Suas interações intermoleculares são facilmente rompidas com o aquecimento.

Considerando um oligômero diacrilato com cadeia de PU, a reação de polimerização pode ser similar à apresentada na Figura 11, e tridimensionalmente, pode-se admitir um modelo para a polimerização do diacrilato conforme pode ser observado. Há um número significativo de ligações cruzadas, portanto, o modelo apresentado na Figura 11 é consistente com a estrutura de um elastômero.

Na Figura 12 é mostrada uma família de curvas de deformação em função da tensão aplicada, obtidas em ensaios com polímeros, nota-se a deformação muito maior apresentada por um elastômero frente à tensão [113]. Quando comparado com outros materiais poliméricos, o acrílico estaria representado pelo material frágil enquanto que o UA pelo elastômero. Uma vantagem em se utilizar o elastômero descrito está, entre outras, na possibilidade de encaixe de tubos ou agulhas sem que o material se rompa, oferecendo boa acomodação e vedação, pelo fato do mesmo admitir altas deformações mantendo sua integridade.

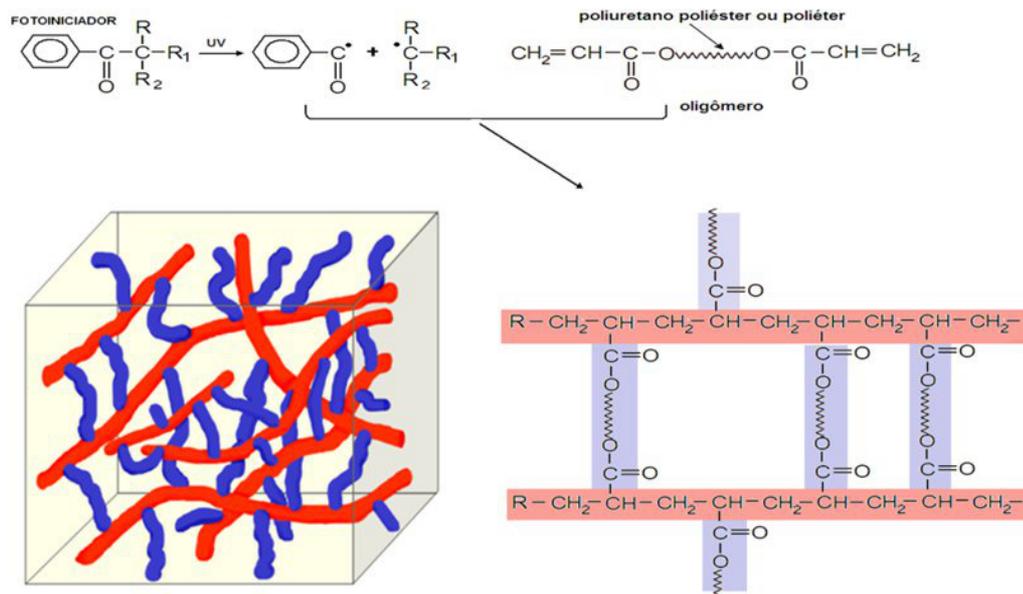


Figura 11: Representação da polimerização de um oligômero uretano-acrilato (UA), na qual o domínio do acrílico foi destacado em vermelho.

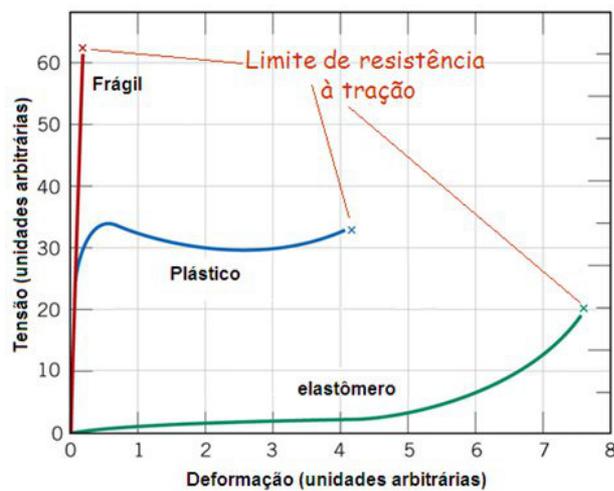


Figura 12: Comportamento mecânico dos polímeros, por classe.

Intuitivamente compreende-se que a maior resistência mecânica [58] oferecida por polímeros se relaciona com o maior grau de “entrelaçamentos”, conforme a Figura 13, na qual é mostrada a relação entre o tipo de cadeia e o aumento de sua resistência mecânica.

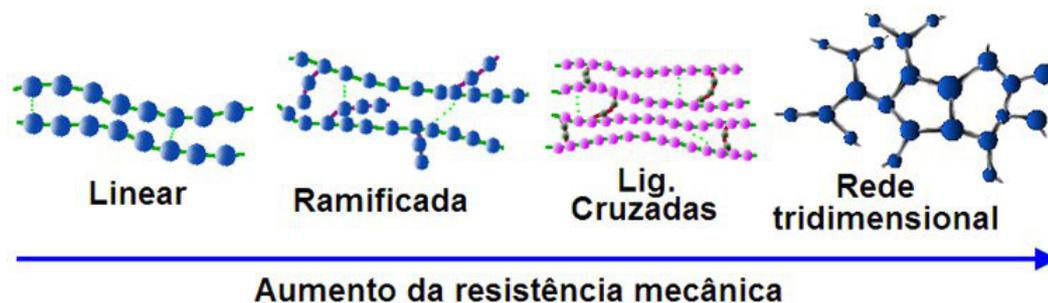


Figura 13: Relação entre o tipo de cadeia e a resistência mecânica do polímero.

As ligações cruzadas exercem um efeito importante sobre os polímeros, aqueles com grau de ligações cruzadas alto o bastante apresentam a propriedade de retornarem à posição original após serem esticados [58], pois as ligações cruzadas previnem deslizamento de cadeias umas sobre as outras, e assim que a tensão diminui e a cadeia retorna à posição original, como mostrado na Figura 14:

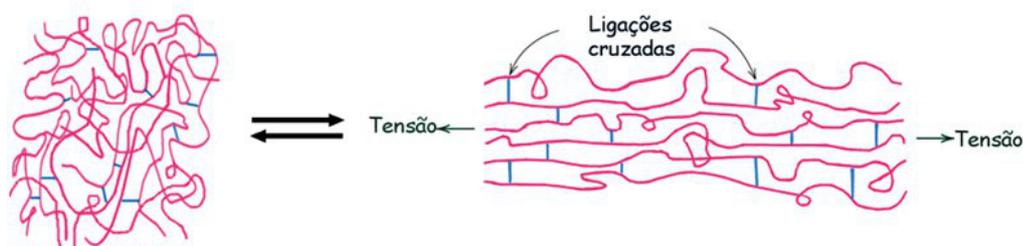


Figura 14: Ilustração da deformação e retorno causado por tensão aplicada a um polímero com ligações cruzadas.

A cadeia do polímero acrílico é quebradiça, pois as pequenas camadas reticulares escorregam umas sobre as outras devido ao seu baixo grau de ligações cruzadas, o que em dimensões macroscópicas representa o rompimento da estrutura.

O poliuretano-acrilato (PUA), assim como o acrílico, é em grande parte amorfo, mas com áreas cristalinas envolvidas pelo emaranhado de cadeias com ligações cruzadas. O amorfismo contribui para sua claridade ótica, e junto com as ligações cruzadas, para o alongamento e resistência à tração e certa elasticidade.

A formação de canais com bordas arredondadas após polimerização por técnica fotolitográfica confirma o amorfismo do PUA (Figura 15) [58].

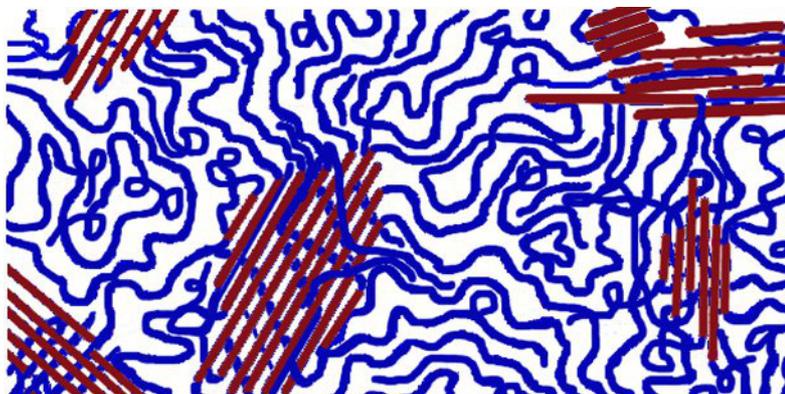


Figura 15: Ilustração bidimensional do que ocorre na maioria dos polímeros onde estão mostrados os sítios cristalinos e amorfos. Havendo ligações cruzadas, estas podem ser covalentes e/ou ligações de hidrogênio.

Tanto o PU quanto o poliácrlato possuem muitas variantes de acordo com a aplicação a que se destinam. Um PU pode possuir configuração distinta que se traduz em suas propriedades físicas e químicas, bastando variar os segmentos de cadeia do mesmo.

A Figura 16 ilustra a reação de síntese de um PU genérico. A ligação uretânica é destacada em amarelo.

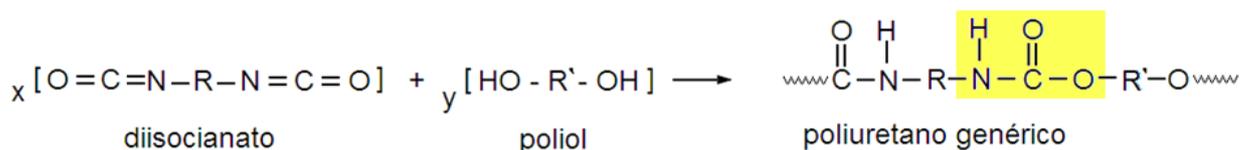


Figura 16: Reação de rearranjo e obtenção de um PU genérico.

Se o poliol da reação acima for o glicerol o produto é um PU com ligações cruzadas. Geralmente, quanto mais ligações cruzadas um polímero elastômero possuir, mais rígido e resistente será. Como exemplo, vale lembrar a vulcanização

da borracha, causada por ligações cruzadas de enxofre, que conferem à mesma grande resistência mecânica e flexibilidade.

Uma ligação uretânica, ou um radical R ou R` (Fig.16) que possuir hidroxila poderá realizar ligação de hidrogênio com outro segmento de cadeia que possuir afinidade para esta interação, ou com um segmento de poliácrlato, assumindo que são utilizados como extensores de cadeias poliméricas um diol ou polioliol de cadeia curta e outro de cadeia longa. Intuitivamente concluí-se que os de cadeia curta geralmente formarão estruturas mais rígidas.

Imaginando uma cadeia poliuretânica com apenas dois domínios distintos, um flexível, com polióis de cadeia mais longa e um rígido, com polióis de cadeia mais curta. Então, os segmentos rígidos podem sofrer interações intermoleculares mais fortes que os segmentos flexíveis. A Figura 17 ilustra essa situação.



Figura 17: Interação intermolecular entre mesmos domínios de uma possível cadeia de PU, causando com isso separação de fases.

Esta configuração não impede que haja interações entre segmentos de domínios diferentes, como mostra a Figura 18.



Figura 18: Interação intermolecular entre domínios distintos de uma possível cadeia de PU, causando com isso a mistura de fases.

Se uma grande quantidade de ligações de hidrogênio e ligações cruzadas estão presentes no polímero com segmentos longos e curtos, pode-se esperar o comportamento semelhante ao da borracha vulcanizada.

A estrutura do UA deverá apresentar tanto regiões similares ao acrílico quanto ao PU, e materiais com diferentes propriedades podem ser conseguidos através de variações nos segmentos rígidos ou flexíveis contidos em sua estrutura.

O UA é classificado como termorrígido, pois não amolece com o aquecimento, e caso continue recebendo calor pode vir a se decompor, indicando a intensidade das ligações cruzadas de sua cadeia.

Muitos produtos comerciais estão disponíveis como oligômeros sensíveis ao UV. A Figura 19 mostra a representação de um desses produtos.

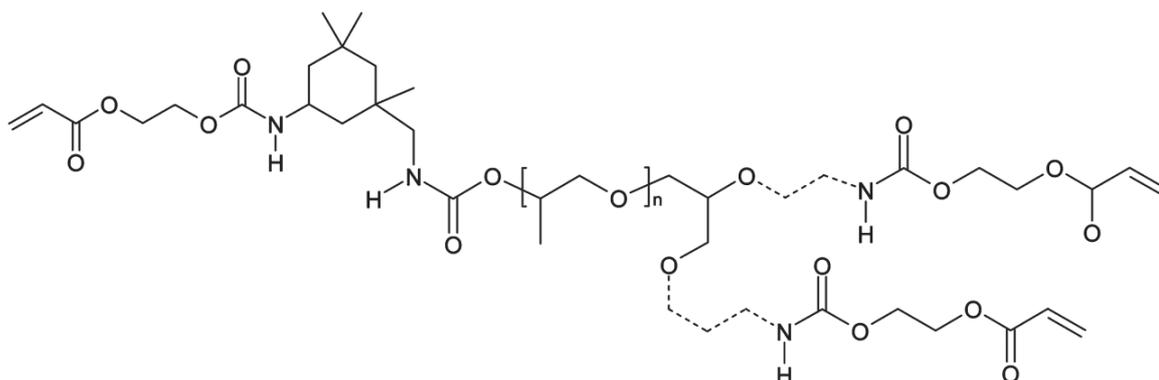


Figura 19: fórmula estrutural provável da cadeia do oligômero UA, apresentado pela Cytec® - empresa belga, uma das produtoras dessa matéria-prima.

Pré-polímeros ou oligômeros dessa natureza geralmente são preparados por finalização da cadeia com grupos acrilatos, como é mostrado em outro exemplo de oligômero uretano diacrilato alifático (Ebecryl® 8402), mostrado na Figura 20.

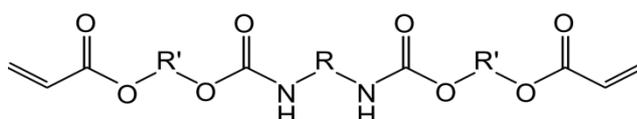


Figura 20: Fórmula estrutural genérica do produto comercial Ebecryl® 8402, mostrando as terminações acrilato, sensíveis ao UV.

Devido à grande variedade de produtos comerciais contendo oligômeros provenientes do UA, não é uma tarefa fácil conhecer, a partir do processo de polimerização, qual a estrutura final formada. Este é um dos desafios da área de microfabricação utilizando UA, pois pode prejudicar a reprodutibilidade na construção dos sistemas.

Imagens do processo de polimerização do UA obtidas por microscopia eletrônica [114,115] mostram que, onde antes havia uma mistura sem distinção de fases, passam a apresentar aglomerados de poliácrlato visivelmente dispersos pelas cadeias poliuretânicas na medida em que a cura vai se realizando logo após a gelatinização. A estrutura descrita na Figura 15 pode ser considerada aceitável para esse tipo de polímero, acrescentando-se um número maior de ligações cruzadas.

Um modelo macroscópico da estrutura do polímero UA poderia ser representado por um esquema bidimensional geral para um elastômero composto de corpos rígidos unidos por segmentos flexíveis, conforme mostrado na Figura 21.

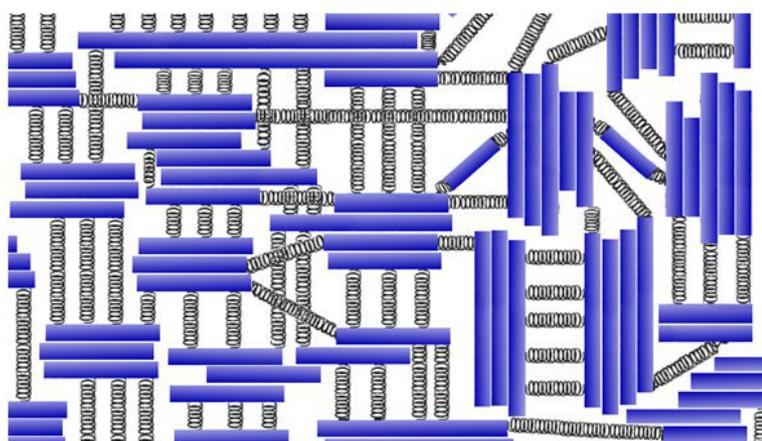


Figura 21: Esquema bidimensional geral para um elastômero, representado por molas e corpos rígidos relacionados aos seus domínios “moles” e “duros”.

Pode-se encontrar também descrição das regiões “duas” do polímero relacionadas às ligações uretânicas formando aglomerados unidos por ligações de hidrogênio [116], o que diverge do observado na microscopia eletrônica.

1.5. Objetivos

Este trabalho teve como objetivos gerais:

- O estudo e aprimoramento das técnicas de microfabricação com base polimérica, utilizando especificamente um produto comercial fotocurável à base de UA;
- O estabelecimento da racionalização da técnica descrita acima, adequada às condições locais;
- O desenvolvimento de um microanalisador, elucidando as etapas de confecção, e tornando-as reproduzíveis passo a passo.
- Teste do analisador em uma aplicação analítica.

E como objetivos específicos, a melhoria de etapas de fabricação, tais como:

- Modelagem e *layout* do sistema.
- Tempos de polimerização (cura);
- Transferência da imagem impressa da máscara para o substrato;
- Selagem das partes componentes;
- Definição e resolução dos microcanais e câmaras;
- Escolha e adaptação de tubos de comunicação e conexões, bem como dispositivos de emissão e leitura.
- Reprodutibilidade de cada etapa do método.

Buscou-se ainda manipular, modelar e controlar, além do comprimento e da largura dos canais e câmaras dos microdispositivos fluídicos produzidos, a profundidade das mesmas, a fim de iniciar a microfabricação em três dimensões (Fig. 49) com esse tipo de técnica.

Procurou-se trabalhar com as matérias-primas e insumos, estocadas ou em uso, por um período de pelo menos dois anos, por questão de custos.

O Analisador proposto foi um μ FBA, que efetuasse intervenções na amostra até a aquisição do respectivo sinal analítico, ou seja, pretendeu-se dar o passo

inicial em termos de FB a fim de se alcançar posteriormente um μ TAS (*micro total analysis system*).

Espera-se por fim, que outras propostas utilizando um μ FBA venham a ser implementadas a partir dos resultados deste trabalho, e constantes aprimoramentos possam ser conseguidos, na busca por um μ TAS.

Capítulo 2: Aspectos da Microfabricação em Uretano-Acrilato (UA)

"Você tem as respostas das perguntas,
resolveu as equações que não sabia".
Raul Seixas

O material comercial, UA, de consistência resinosa, possui código de venda M50-LBS e foi adquirido da Indústria de Carimbos Medeiros Ltda. O mesmo possui grande inércia química frente às soluções aquosas concentradas de ácidos e bases fortes [5].

2.1. A superfície de contato

Com objetivo de buscar a eficácia e reprodutibilidade da selagem entre interfaces pré-polimerizadas de UA, decidiu-se por efetuar cortes na peça (ainda gelatinosa), retirando do seu interior um molde metálico ali previamente colocado, após os cortes e a retirada do molde, aparentemente as interfaces se apresentavam ajustadas, e se imaginava que a selagem definitiva iria ocorrer de maneira satisfatória. A retirada do molde daria ao monobloco, uma forma similar a um micro sistema em fluxo, que posteriormente poderia vir a ter a forma de uma câmara μ FB. As etapas do processo da pré-polimerização do UA ocorreram por cerca de 3 minutos e posterior polimerização por 15 minutos:

- (i) Inicialmente foi preparado um molde metálico feito com fio de cobre devidamente dobrado, soldado e fixado com "clip" a uma piscina de acrílico com moldura de borracha (Figuras 22(a) e 2(d));
- (ii) Após a polimerização definitiva, já sem o molde metálico, as marcas da retirada da peça metálica permanecem como cicatrizes, indicando que não permitiram o contato satisfatório entre as superfícies de modo que a selagem não foi realizada a contento, sendo formada uma peça única e irregular (Figura 22(b)).

Os detalhes dos canais obtidos, marcas deixadas pela retirada do molde (Figura 22(c)) indicam que não há reprodutibilidade neste tipo de operação em resinas do tipo UA aqui utilizadas.

Este fato é um alerta para o cuidado que se deve ter ao se juntar duas faces pré-polimerizadas do UA visando a selagem definitiva. As mesmas devem estar o mais regular possível e serem unidas corretamente, sob pena de ocorrer bolhas ou selagem insuficiente.

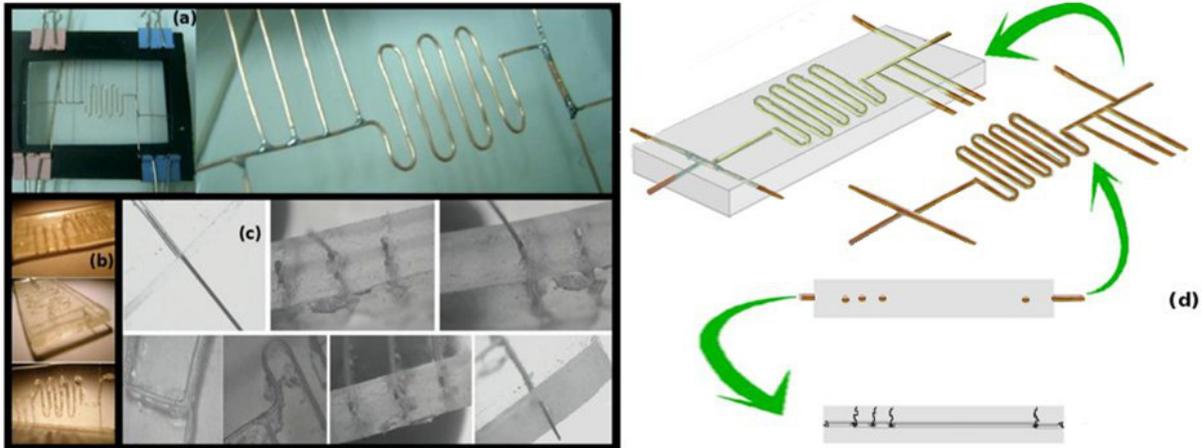


Figura 22: (a) Molde metálico aplicado à resina em UA, (b,c) peça pronta com “cicatriz” deixada pela retirada do molde, detalhe (c) do fio de aço ($\sim 0,1\text{mm}$) introduzido no canal formado, (d) ilustração da peça antes e depois de retirado o molde.

2.2. Selagem e Formação de Canais

Em dispositivos microfluidicos, a selagem pode ser:

- Irreversível ou Reversível:

Onde a selagem não é facilmente revertida ou pode ser revertida facilmente, respectivamente;

- Indireta ou Direta:

Com ou sem o auxílio de camada intermediária.

As características desejáveis de uma selagem são:

- Hermeticidade;
- Alta resistência mecânica, química e térmica;
- Simplicidade de obtenção;
- Baixa deformação da estrutura microfluídica;
- Baixa temperatura de processo.

O processo de selagem também interfere na forma dos canais, pois nesta etapa, uma “cobertura” será colocada onde esses canais se formaram. Assim, o que ocorre na interface pode ser determinante até para a integridade dos mesmos, pois sua altura média é muito menor que a altura da camada aplicada.

Woolley e colaboradores [117] propuseram um método de selagem com solvente, no qual, uma camada de PDMS foi aplicada sobre outra de PMMA com os canais já gravados. Neste método, os canais foram previamente preenchidos com parafina, e o solvente acetonitrila foi utilizado para a selagem, a parafina é então retirada e a peça está pronta.

Uma selagem irreversível também é possível entre PDMS e vidro, silício, dióxido de silício, quartzo, nitreto de silício, polietileno e carbono vítreo, após tratamento com plasma. Sistemas selados com esta técnica podem apresentar canais de diâmetros capilares, além de resistirem a altas pressões em relação a outros tipos de selagem.

Quando no momento da selagem o substrato não se encontra sólido, como é o caso do polímero em UA, a situação é um pouco mais complexa, tanto na pré-cura como na selagem, pois uma cobertura gelatinosa pode facilmente ceder por acomodação ou pela gravidade e obstruir os canais.

Dois camadas de UA polimerizadas separadamente apresentam aderência insuficiente para conter a pressão e permitir o transporte dos fluidos, mesmo na montagem apresentada abaixo, onde são pressionadas por parafusos em duas placas de acrílico (Figura 23). Neste caso não houve contenção do fluido nos canais e, aumentando-se a pressão sobre as duas camadas ocorre o achatamento e consequente obstrução dos canais. Devido ao fato, descartou-se a selagem por pressão.

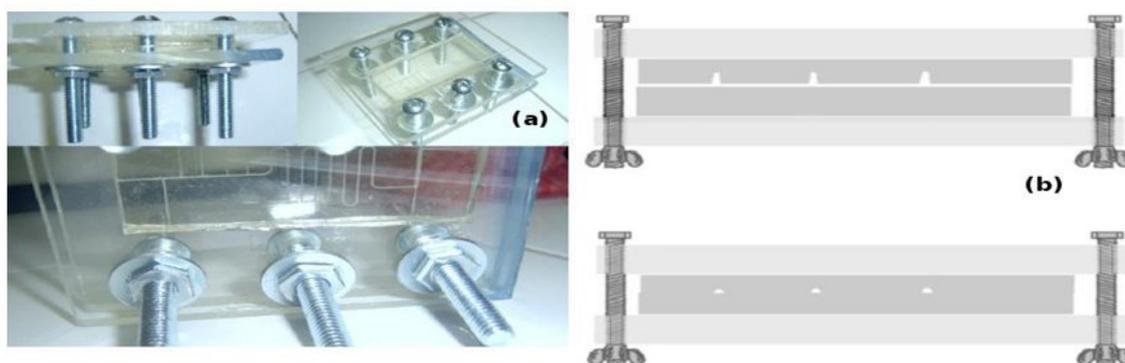


Figura 23: Verificação da capacidade de vedação do polímero sem selagem por cura, (a) montagem, (b) compactação do elastômero devido à pressão exercida

A fotolitografia profunda em UV é bem reproduzível e utiliza a selagem adesiva [32], na qual duas lâminas parcialmente polimerizadas devido à exposição ao UV, por tempo inferior ao necessário para cura total, são postas em contato e polimerizadas. Devido ao risco de entupimento, a técnica exige cautela e otimização de tempos de exposição.

Utilizando apenas uma transparência impressa na construção de microssistemas em UA nas condições descritas neste trabalho, não foi possível obter canais com a profundidade adequada, de modo que, na etapa de selagem, ocorre a obstrução dos mesmos, conforme pode ser observado na Figura 24:



Figura 24: Obstrução ocorrida ao se utilizar uma única transparência na fotolitografia.

Uma das possíveis causas da formação de canais de profundidade insuficiente pode ser polimerização insuficiente. A solução encontrada foi tentar direcionar melhor a radiação UV visando maior aproveitamento da mesma. Na

prática, isso representou a superposição de duas transparências, o que permitiu a formação de canais bem definidos e sem obstrução.

Na Figura 25 é ilustrado o possível efeito da sobreposição em relação à extremidade da fonte de UV com as duas transparências. Como pode ser observado, há um maior ângulo de incidência de radiação (de θ_1 para θ_2), conferindo assim uma maior profundidade à região não polimerizada, bem como bordas com melhor definição.

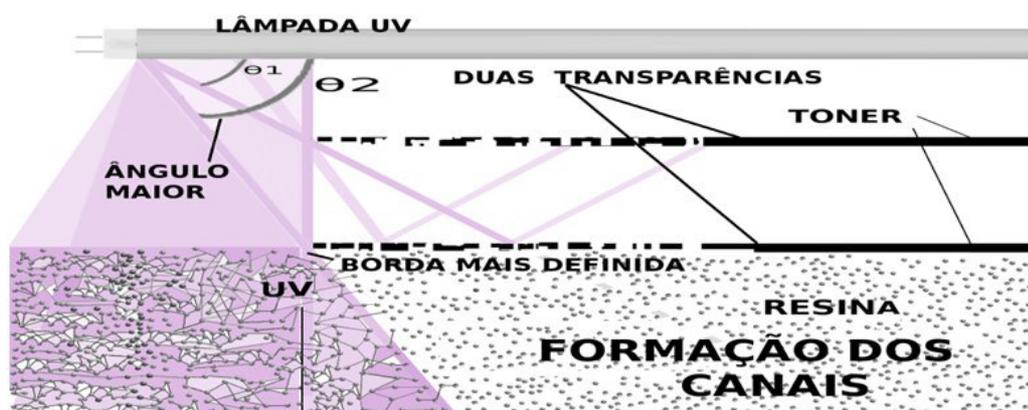


Figura 25: Ilustração representativa do efeito causado pela superposição de duas transparências. A região à esquerda representa a porção polimerizada, e a da direita representa o que vai ser retirado com o auxílio do ultra-som na etapa de revelação.

A impressão utilizando uma impressora *laser* em transparência tem a desvantagem da irregularidade da borda da linha impressa, devido à deposição do *toner*, como pode ser visto na Figura 26.



Figura 26: Foto de uma linha impressa na transparência utilizada como máscara de revelação na fotolitografia profunda em UV da resina baseada em UA.

Sobrepor duas transparências, além de proporcionar canais sem obstrução, ainda confere melhor definição aos mesmos. Imaginando-se uma linha ideal, como mostrada na Figura 27, pode-se considerar como ruído a parte não preenchida pelo *toner*, no limite dessa linha, ou seja, os espaços vazios. Como o ruído é aleatório, pode-se assumir que sobrepondo duas transparências, as sobreposições coincidentes são desprezíveis, de modo que o ruído resultante será, portanto, menor.

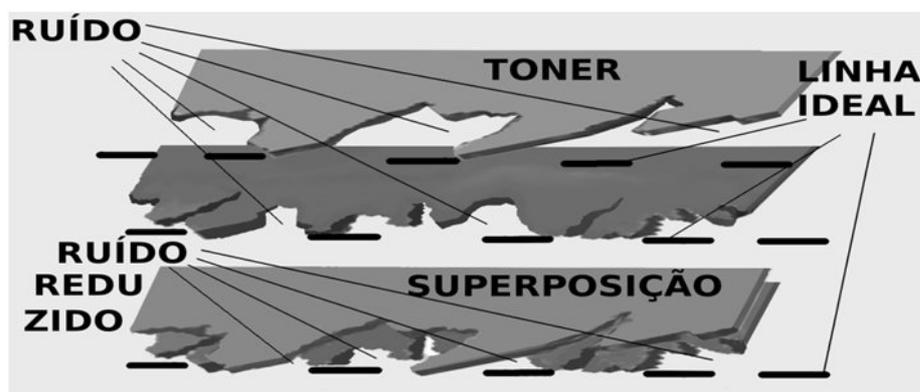


Figura 27: Ilustração a nível microscópico da diminuição do ruído nas bordas causada pela sobreposição de duas transparências.

2.2.1. A Fonte de Radiação UV

Pelo fato do UA ser fotopolimerizável, é necessária uma fonte de radiação UV confiável (dentro das especificações). A Figura 28 mostra o comportamento normal de uma lâmpada UV com um acionamento e um desligamento diário [118]. Contudo, para a microfabricação, o elevado número de ciclos de liga-desliga necessários para os testes, pode diminuir ainda mais a vida útil das lâmpadas para cerca de 75% da intensidade inicial em um curto espaço de tempo.

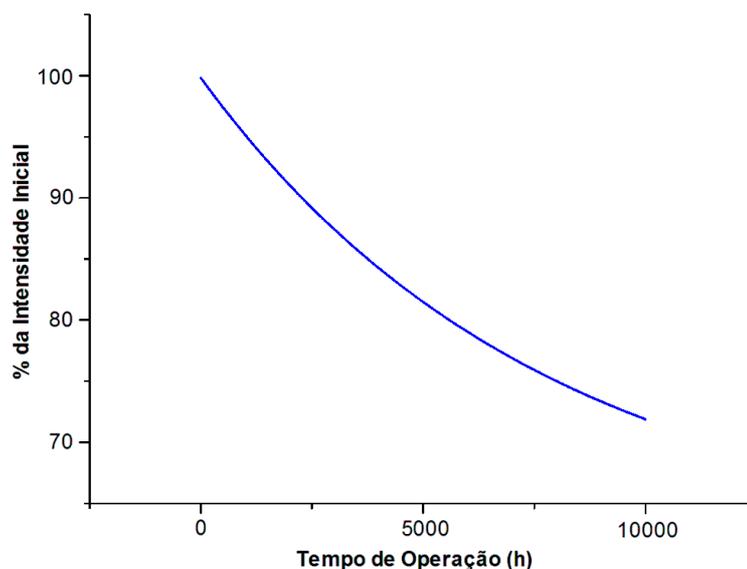


Figura 28: Variação da intensidade de radiação de lâmpadas UV com o tempo de operação, apagando-se e acendendo uma vez por dia (utilização típica).

A situação se agrava mais para lâmpadas de maior potência, como as utilizadas em microfabricação. Neste caso, a intensidade pode decair para cerca de 60%. Ao longo do tempo em que foram efetuados testes para selagem e formação de canais, mantendo-se as mesmas condições de fabricação, evidenciou-se mudanças nas características do produto final, tais como:

❖ **Consistência ligeiramente pegajosa:**

Possivelmente alguma aeração do líquido devido à exposição ao ar, com conseqüente oxigenação, e com isso ocorrência em algum grau, mesmo que reduzido, de reações paralelas com oxigênio, prejudiciais à polimerização.

❖ **Menor rigidez:**

Pode ter sido causada por formação de menor quantidade de ligações cruzadas ao longo da estrutura, haja vista a possibilidade de menor irradiação, passando a peça a apresentar mais flexibilidade, no entanto, sem prejuízo à consistência necessária para se preparar o microssistema desejado. Isso sugere um cuidado adicional que se deve ter quanto a esses fatores.

2.3. Teste de Injeção

Com finalidade de observar o comportamento físico do material frente à injeção de fluidos em um sistema fechado, testou-se inicialmente um sistema para injeção em fluxo do tipo FIA com percurso analítico em espiral (Figura 29).

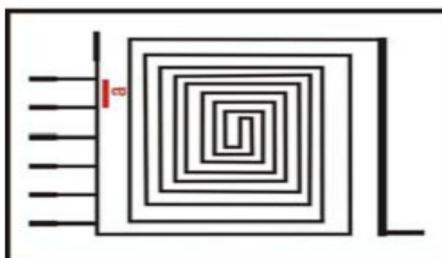


Figura 29: *Layout* de um protótipo FIA em espiral. O destaque em vermelho indica a alça de amostragem (cerca de $0,2 \mu\text{L}$), os canais possuem espessura de aproximadamente $0,45\text{mm}$.

Um protótipo perfeitamente selado foi obtido (Figura 30) onde se testou a injeção hidrodinâmica de um líquido colorido utilizando a alça de amostragem. Uma solução de aproximadamente 1000 mg L^{-1} de corante alimentício vermelho 40 (E-129, Sigma-Aldrich) foi preparada por dissolução de quantidade apropriada de soluto em água deionizada.

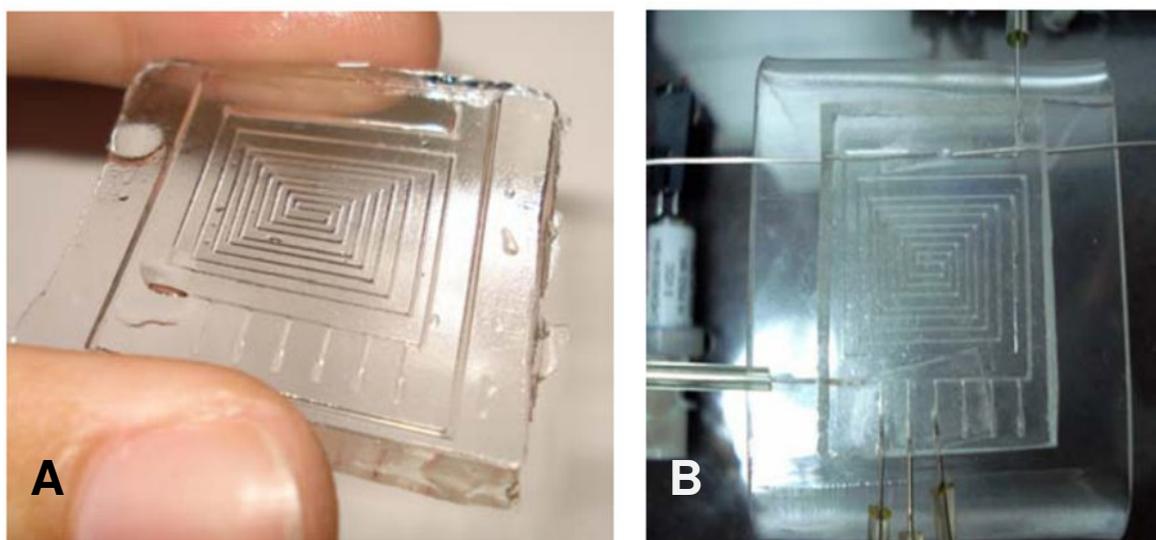


Figura 30: Protótipo para injeção hidrodinâmica antes (A) e depois da selagem (B).

O protótipo de dimensões 18 mm x 28 mm x 6,8 mm (Figura 31), apresentou espalhamento do líquido colorido quando estes deveriam preencher apenas a alça de amostragem (Figura 32), indicando que os canais se alargaram, sendo esse alargamento é imperceptível a olho nu.

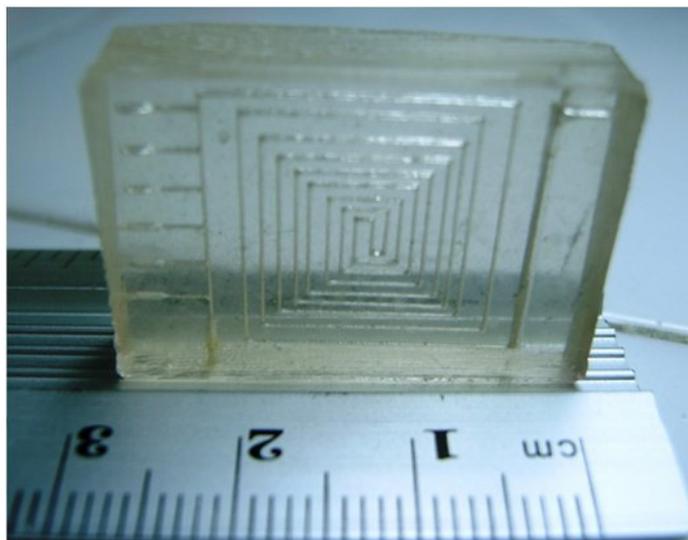


Figura 31: Dimensões do protótipo para teste de injeção hidrodinâmica.

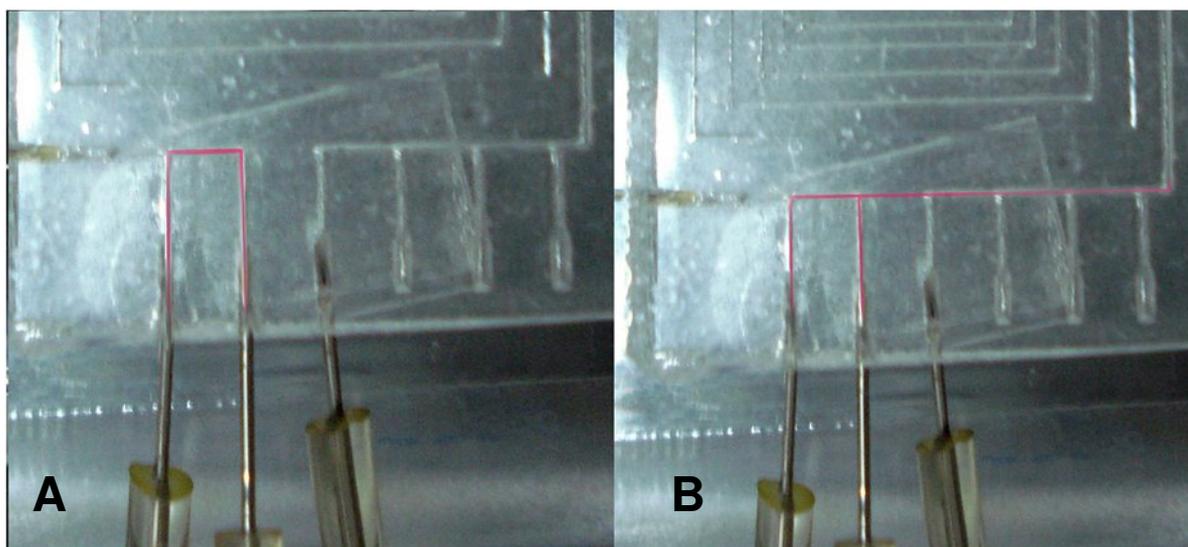


Figura 32: Ilustração da injeção hidrodinâmica, na qual o corante deveria percorrer apenas a alça de amostragem (A), e o espalhamento do mesmo além da alça de amostragem (B).

]

Nas condições estudadas não se conseguiu o bombeamento sem que o corante se difundisse além da alça de amostragem, provavelmente relacionada à pulsação inerente da bomba peristáltica. Entretanto, a selagem foi satisfatória, pois os canais suportaram a pressão sem nenhum rompimento.

2.4. Aparato

Para construção do μ FBA uma fotoexpositora (Fotolight-MD2-A4, Carimbos Medeiros Ltda, Brasil), com dois conjuntos de lâmpadas (superior e inferior) foi usada para efetuar a exposição do substrato à radiação UV, como é mostrado na Figura 33.



Figura 33: Expositora Fotolight utilizada para polimerização do substrato, com tampa superior aberta à esquerda e parte inferior em detalhe à direita.

Para cada molde, transparências utilizadas como máscara foram impressas com uma impressora laser (HP LaserJet P2014). O desenho do sistema foi feito utilizando o *software* Corel Draw-X3[®]. A revelação do substrato após a cura foi efetuada empregando-se um banho ultrassônico [119] UNIQUE 800 mostrado na Figura 34.

O fenômeno de interesse, relacionado com o banho ultrassônico é a cavitação, ou aumento e diminuição sucessivos de pressão. Este efeito é responsável pela formação e destruição simultânea de microbolhas gasosas no interior do líquido, gerando pequenos jatos de líquido localizados. Estes jatos provocam erosão na interface sólido-líquido. As ondas de ultra-som são geradas por um dispositivo de transdução piezoelétrico. Este dispositivo gera ondas mecânicas amplificadas. Estas ondas quando em contato com o sistema, no caso da revelação do UA, realiza a retirada da parte que não foi fixada por cura, ou seja, justamente a que permaneceu na “sombra” (porção impressa do fotolito ou máscara) e que não interessa ao processo. A Figura 35 ilustra a ação do ultra-som realizando a erosão pretendida.



Figura 34: Aparelho de banho ultrassônico utilizado no processo de revelação do sistema.

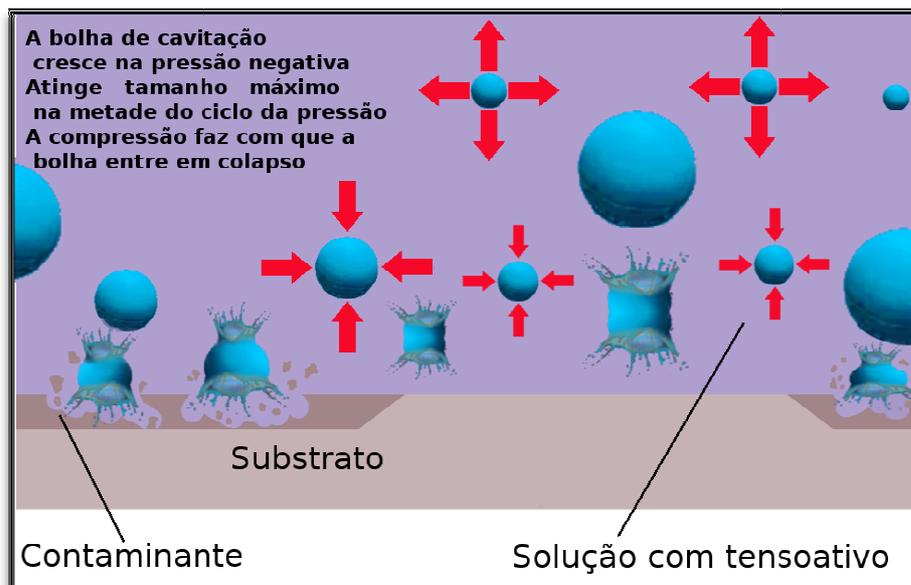


Figura 35: Ilustração da limpeza do substrato utilizando ultra-som.

Para impulsionar e drenar as soluções foi utilizada uma bomba peristáltica Ismatec®, IPC de doze roletes e oito tubos (Figura 36) operando a 5,0 RPM.



Figura 36: Bomba peristáltica Ismatec modelo IPC, com doze roletes e oito canais.

Mini válvulas solenóides (modelo LHDA 0531415H), da *Lee Company*, foram utilizadas para direcionar o fluxo dos líquidos e assim controlar o volume de líquido bombeado em função do tempo (Figura 37).



Figura 37: Mini válvula solenóide de 3 vias utilizada para direcionamento de fluidos.

Fios de nylon de 0,4mm diâmetro foram utilizados como haste misturadora. Tubos de teflon[®] de 0,5mm de diâmetro interno foram utilizados para transportar os fluidos, e um motor de *driver* de CD (modelo MDN3GT3CPAC, Figura 38), de corrente contínua, 5V e 2000 RPM, foi utilizado para girar a haste misturadora.



Figura 38: Motor de *driver* de CD utilizado para girar o eixo misturador.

Utilizou-se um fotômetro, que foi construído conforme esquema mostrado na Figura 39. Um LED verde (D3) com emissão máxima em 530nm (Figura 40) e um fototransistor (Q2) com máximo de sensibilidade em aproximadamente 850 nm, ambos com 0,5cm de diâmetro foram inseridos à peça por encaixe e posterior selagem. O fotômetro é alimentado por uma pilha de 12 V (BAT 1), estabilizada por meio de um diodo zener (D2), cuja a tensão regulada é de 5V. A variação da tensão sobre o resistor R5, que ocorre devido à variação da radiação incidente no fototransistor, é registrada por um software desenvolvido em LabVIEW 5.1[®], através de uma interface National Instruments[®] modelo USB6009 conectada ao módulo de controle (*Lab Made*) utilizado para promover acionamento das mini válvulas e do misturador (Figura 41).

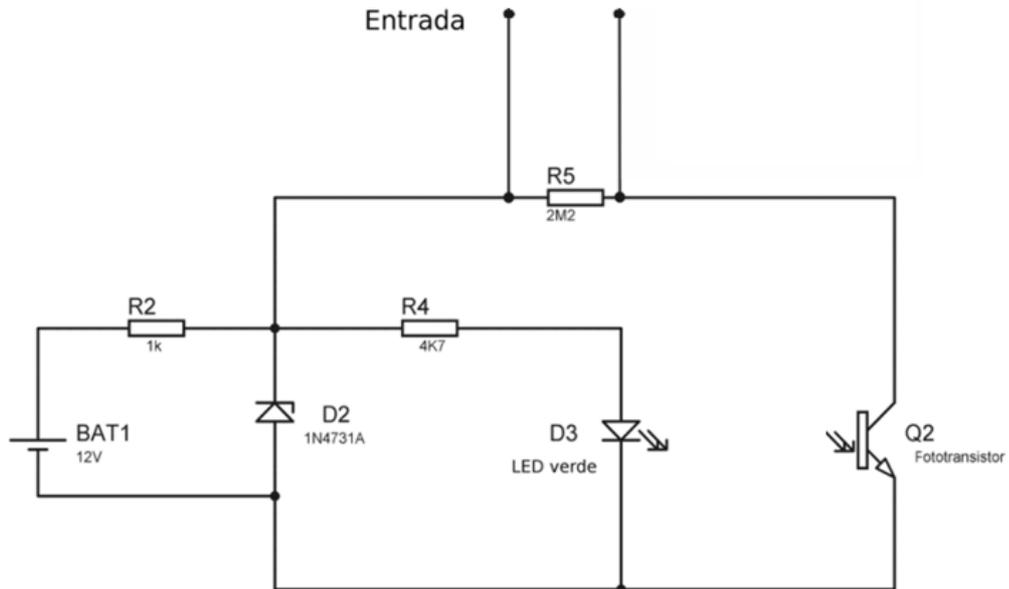


Figura 39: Esquema de montagem do circuito do fotômetro do μ FBA, LED verde (D3), fototransistor infravermelho (Q2), pilha de 12 volts (BAT 1), diodo zener (D2), resistores R2, R4, R5.

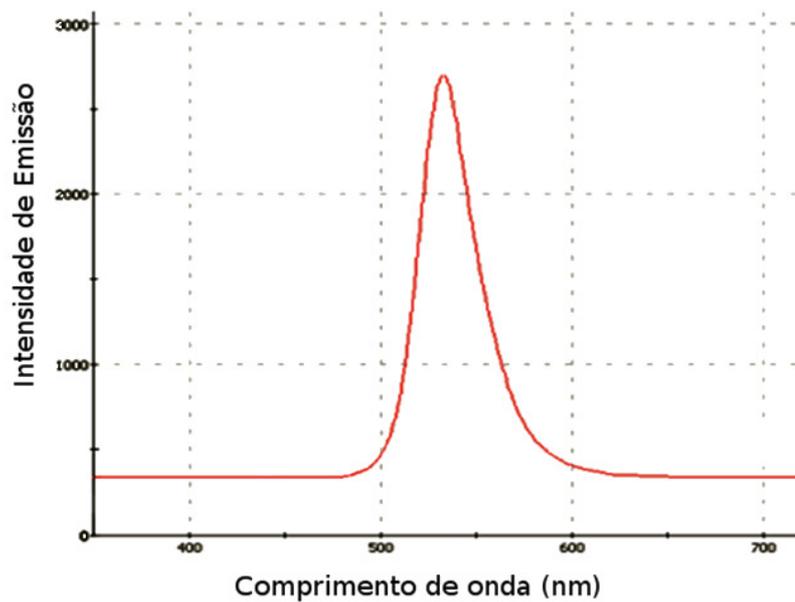


Figura 40: Gráfico ilustrativo mostrando o espectro de emissão do LED utilizado no μ FBA e seu comprimento de onda máximo (530nm), e largura de banda efetiva de 35 nm.

Um módulo de controle (*Lab Made*) foi utilizado (Fig.41) para acionar as mini-válvulas solenóides (4), e o motor do misturador.



Figura 41: Módulo de controle utilizado no sistema fotométrico μ FBA

Para fins de comparação, o instrumento proposto teve seu desempenho avaliado em relação a um espectrofotômetro com arranjo de fotodiodos da HP®, modelo 8453 (Figura 42). Também foi utilizada uma balança analítica Scientech, modelo SA 120 para determinação das massas, e conseqüentemente, dos volumes dispensados pelas microbombas.



Figura 42: Espectrofotômetro HP 8453 utilizado para comparação com o sistema fotométrico μ FBA

Capítulo 3: Resultados e Discussão

"And the men who hold high places, Must be the ones who start
to mold a new reality, Closer to the Heart
Philosophers and Plowmen, Each must know his part
To sow a new mentality, Closer to the Heart
The Blacksmith and the Artist
Reflected in their art
They forge their creativity
Closer to the Heart".
Rush

3.1. Microfabricação do *Flow-Batch*

Medidas de absorvância no IV foram realizadas na resina comercial logo após sua aquisição, bem como com das lâmpadas UV. A Figura 43 apresenta o espectro obtido na região de interesse em função do tempo de polimerização. Utilizou-se um caminho ótico de 2,0 mm, e intervalo de 20 a 420 s. Os picos foram obtidos em 8840 cm^{-1} e atribuídos às vibrações do CH e CH₂ do acrilato no segundo sobretom. Estes picos foram atenuados à medida que o polímero foi produzido e o cromômero acrilato, situado na extremidade da cadeia dos oligômeros, foi consumido.

Com os resultados da Figura 43 é possível traçar um gráfico da dependência do tempo versus absorvância, conforme Figura 44. Observa-se uma faixa linear compreendida de 20 a aproximadamente 200s, que corresponde ao tempo necessário para que sejam formados os microcanais dos dispositivos. Notou-se ainda que aproximadamente 380 s é o tempo máximo de polimerização conseguido com a dosagem de UV oferecida com uma espessura de resina de 2,0 mm. Com base nessa faixa linear, verifica-se a possibilidade de se preparar peças com espessura um pouco maior que 2,0 cm, o que foi confirmado na prática.

O produto final curado apresentou propriedades suficientemente interessantes para construção de um sistema μ FBA, principalmente pela sua plasticidade, excelente para moldagem, boa transparência, que permite inspeção visual da operação do sistema, facilitando o estabelecimento e otimização dos tempos de enchimento, agitação e descarte.

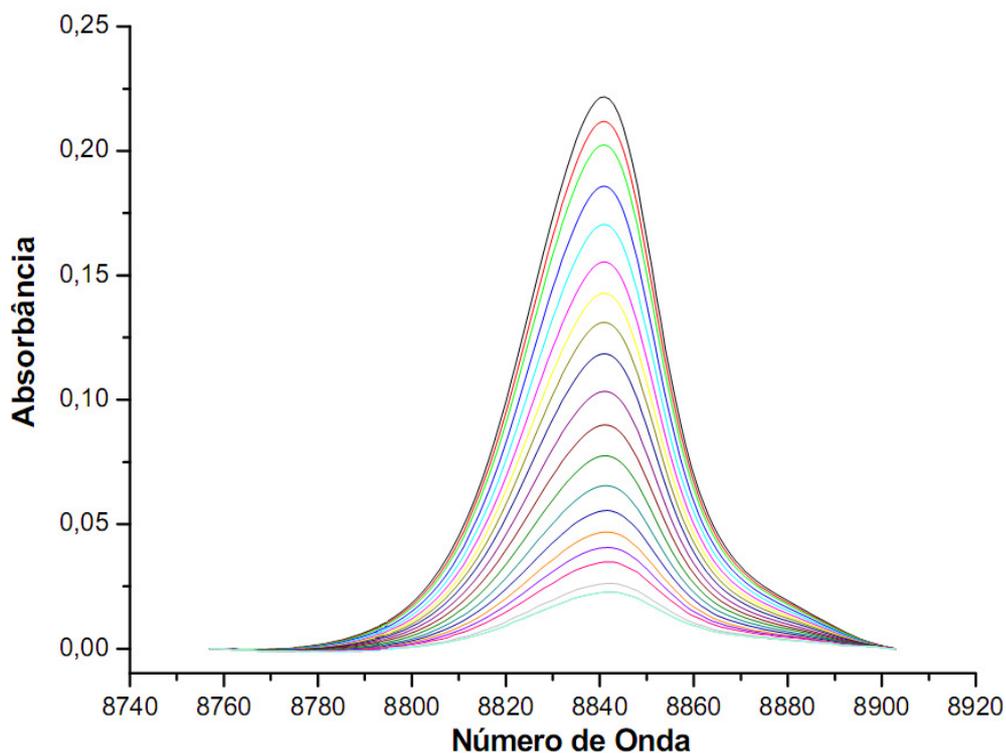


Figura 43: Gráfico dos espectros no IV da resina à base de UA obtido utilizando-se intervalo de tempo de exposição ao UV de 20 a 420 s.

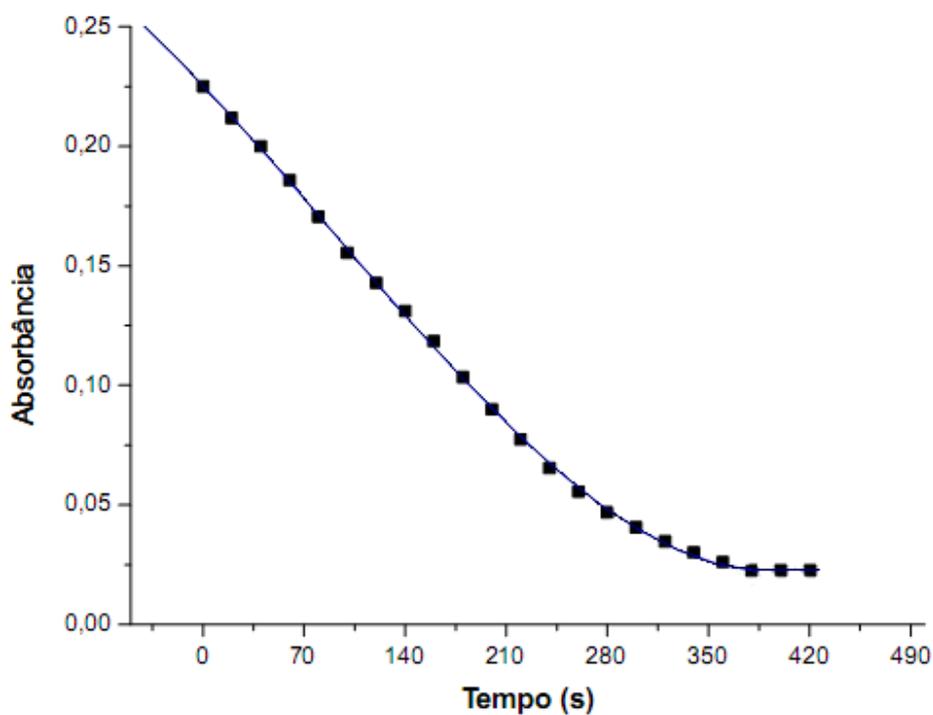


Figura 44: Gráfico da variação de absorbância no IV em função do tempo, para um pico de absorção de 8840 cm^{-1} , mostrando que a cinética de polimerização é linear numa certa faixa.

A configuração do μ FBA em UA difere drasticamente tanto em relação aos dispositivos FBA cilíndricos convencionais (Figura 45), quanto aos microsistemas FIA em UA já produzidos uma vez que estes são dispostos horizontalmente. As limitações impostas na prática exigem mudanças para contornar problemas como o da capilaridade, conforme será discutido nessa seção.

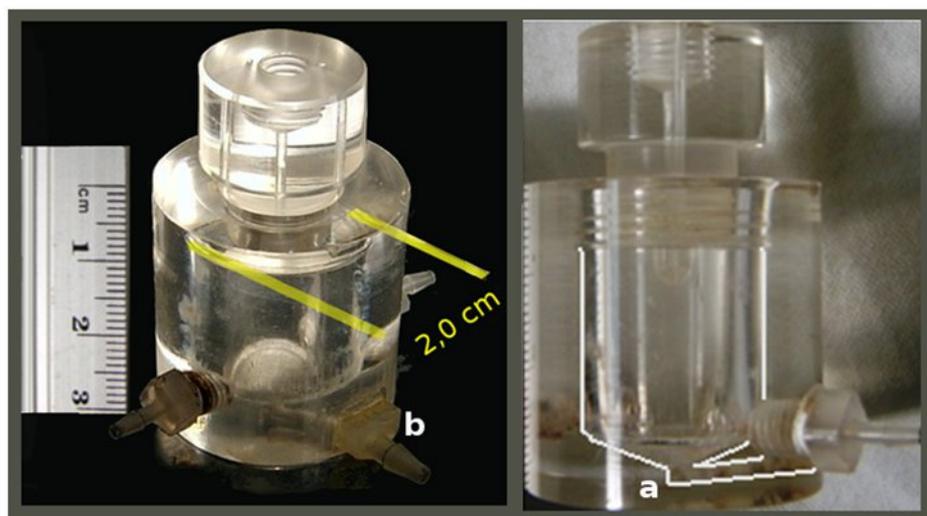


Figura 45: Fotos de uma câmara de mistura de um dos primeiros FBA produzidos. Com 2,0 cm de diâmetro, e altura de 3 cm. A saída do líquido se dá pela parte inferior cônica da peça, (a), a conexão para o exterior é feita por encaixe (b).

3.1.1. Primeiras Concepções e Desafios

Nesta seção pretende-se destacar a importância da modelagem adequada do sistema para o seu bom desempenho.

O primeiro modelo *Flow-Batch*, já com os tempos de polimerização e selagem devidamente otimizados, conforme discutido na seção anterior mostrou problemas de injeção. O sistema consistiu dos seguintes componentes, mostrados na Figura 46: (i) um tanque t; (ii) dois canais de injeção, i_1 e i_2 ; (iii) uma haste misturadora, m; (iv) um canal, h, para acomodar a haste; e, (v) sistema de entrada e saída dos fluidos.

Ao se bombear a solução para dentro da câmara, forma-se uma gota (*g*) que encontra primeiro a haste de nylon® e que é transportada para o exterior da cela por capilaridade (Figura 46).

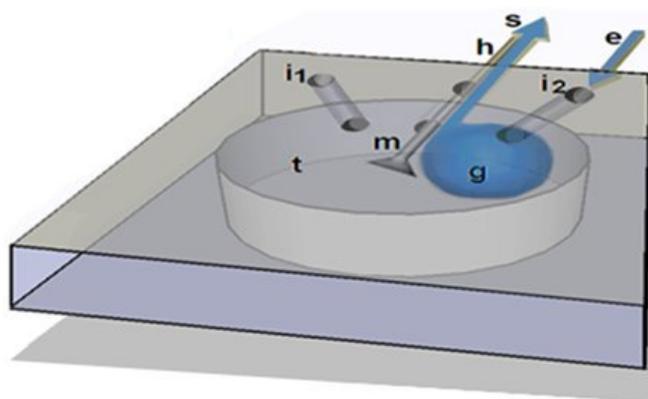


Figura 46: Ilustração simplificada da formação da gota *g*, na peça construída originalmente, composta de um tanque *t*; dois canais de injeção *i*₁ e *i*₂; uma haste misturadora *m*; um canal *h*; sistemas de entrada e saída.

As dimensões do sistema, a forma praticamente cilíndrica da cela de mistura e a proximidade entre o canal de entrada e a haste, (Figura 47) proporcionaram o efeito inesperado de capilaridade.

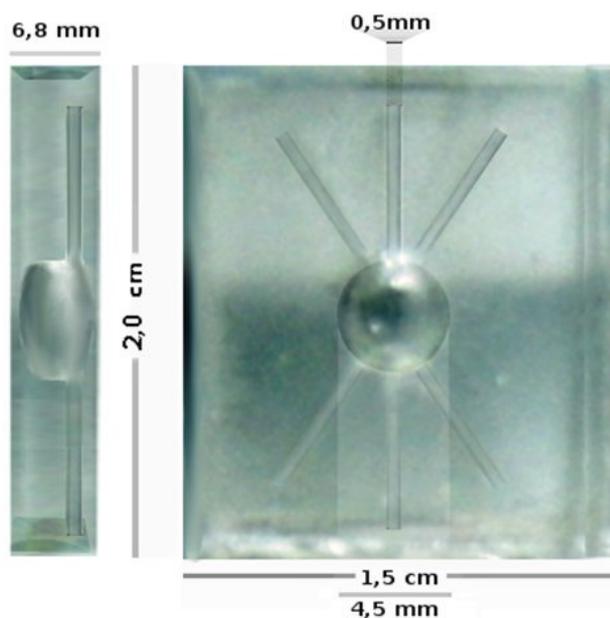


Figura 47: Fotos da primeira peça testada para o μ FBA de dimensões 2,0 cm x 1,5 cm e capacidade aproximada de 50 μ L.

A idéia de se misturar com uma haste já havia se mostrado eficiente, de modo que esta opção foi implementada devido ao impedimento em se utilizar uma barra magnética de agitação em um dispositivo tão reduzido e de características elastoméricas.

A Figura 48 ilustra a sobreposição de duas camadas poliméricas, essa e outras características trazem limitações ao método de fabricação e requerem adaptações no decorrer da execução do projeto.

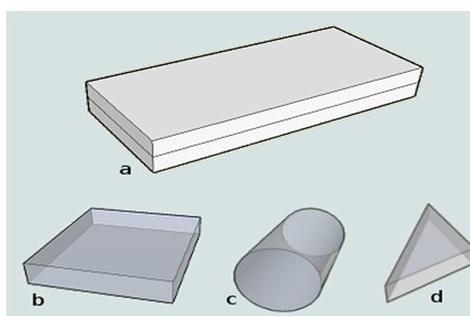


Figura 48: Vista espacial em perspectiva (fora de escala real) das Figuras geométricas constituintes do μ FBA. (a) ilustra a sobreposição de duas camadas poliméricas, o que resulta em um prisma de base retangular, e mostra internamente os espaços vazios também em forma de prismas (b, d), e cilindro(c) que são o “sistema circulatório” do dispositivo.

A cela de detecção c originalmente é um prisma retangular. Porém, ao encaixar-se o LED e o detector na peça, a mesma se molda e assume a forma cilíndrica (Figura 49) devido à plasticidade do UA pré-polimerizado.

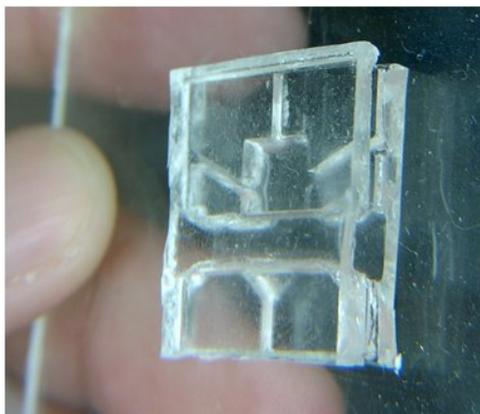


Figura 49: Foto do μ FBA após a primeira selagem nota-se a profundidade acentuada onde será inserido o LED e o detector.

A Figura 50 mostra, em perspectiva, o modelo tridimensional desenvolvido para acomodar, além da haste misturadora e os tubos, o emissor e o detector de radiação.

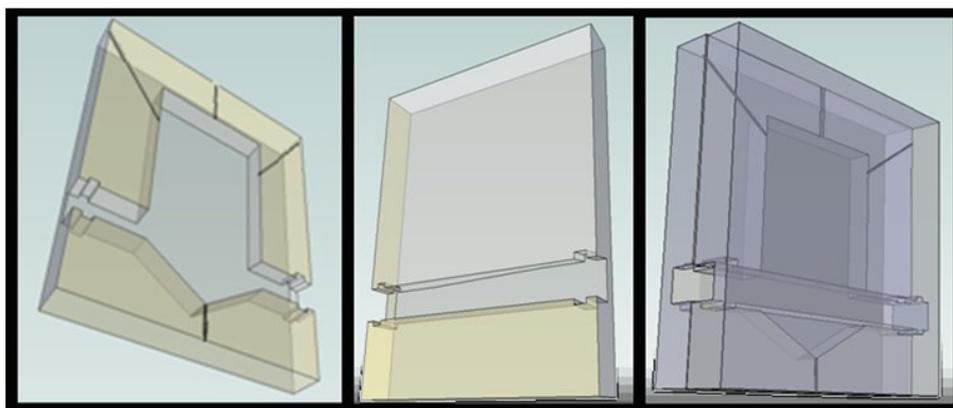


Figura 50: Ilustração em perspectiva das duas camadas poliméricas que unidas e preenchidas pelas partes componentes formam o μ FBA.

Nota-se que a profundidade da cela de mistura é metade da que acomoda o LED e detector, e a entrada retangular se ajusta aos mesmos sem dificuldade, conforme pode ser visto na Figura 50.

Tanto o LED quanto o detector tiveram que ser adaptados a fim de possibilitar um encaixe satisfatório, caminho ótico adequado e prevenir acúmulo de material em suas paredes. A Figura 51 mostra o LED e o detector após o corte e o polimento para que, dentro da cela, o caminho ótico permaneça constante, bem como se minimizem os erros provenientes de reflexão da luz na superfície livre do líquido.

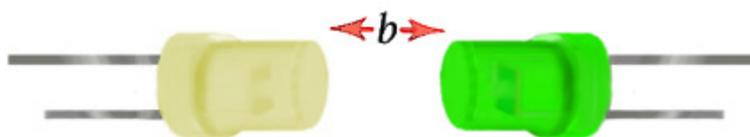


Figura 51: Ilustração do caminho ótico b de 0,5 cm entre o LED e detector após o corte e polimento.

A Figura 52 ilustra a concepção do sistema fotométrico. Nesta figura pode-se observar a haste misturadora **m** inserida na cela de mistura, a mesma foi posicionada acima do caminho óptico a fim de não oferecer interferência, além do sistema de emissão a partir do LED (verde) e detecção no Fotodetector (amarelo). A radiação com potência inicial **P₀** entra, atravessa a solução absorvente e após percorrer o caminho ótico **b** diminui para **P** e é detectada, satisfazendo à seguinte equação:

$$S = KP \quad 3.1$$

Onde **S** é o sinal em termos da diferença de potencial ou a corrente medida, **K** é uma constante de proporcionalidade e **P** é a potência radiante.

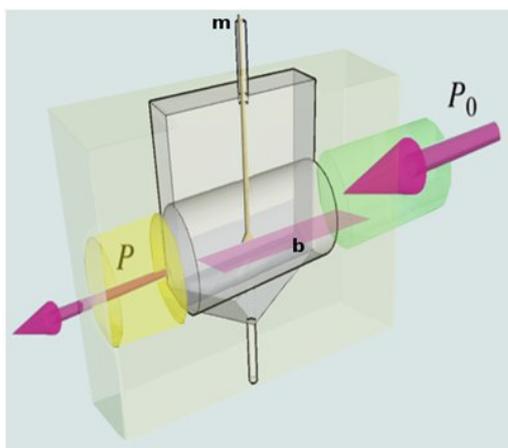


Figura 52: Atenuação de um feixe incidente de radiação de potência radiante **P₀** a uma potência transmitida **P**, passando através da área cilíndrica obtida na concepção do micro-sistema em UA.

3.1.2. Microfabricação – da Cura ao Acabamento Final

O sistema final apresentou dimensões 1,8 cm x 2,4 cm x 0,68 cm, e possui três regiões distintas: prisma retangular, cilindro e prisma triangular. As dimensões estão assinaladas na Figura 53, onde **g** representa o caminho ótico.

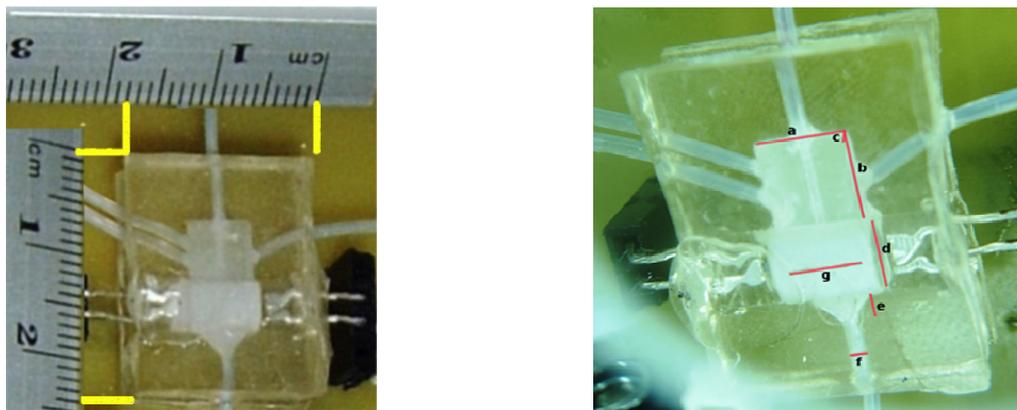


Figura 53: Foto do μ FBA e suas dimensões 1,8 cm x 2,4 cm e, **a e b** = 0,6 cm; **c** = 0,32 cm, **d** = 0,5 cm, **e** = 0,25 cm. **f** = 0,07 cm; **g** = 0,5 cm.

Para se confeccionar a câmara de mistura do μ FBA, com o LED e detector inseridos e selados, deve-se proceder da maneira como é mostrada na Figura 54. Para a confecção das piscinas que acomodarão o substrato (Figura 54A), as transparências, que servirão de máscara, impressas com a mesma imagem são sobrepostas e fixadas com cola em uma placa de acrílico (com a camada de *toner* voltada para o acrílico) adequadamente cortada, uma moldura de borracha também é colada à peça.

Corta-se outro pedaço de acrílico que servirá como tampa para o molde ou piscina, providencia-se os *clips* de sustentação.

Certifica-se que os moldes estão devidamente colados. Feito isso a resina líquida é cuidadosamente espalhada sobre os moldes sem que se formem bolhas, cobrindo-os (Figura 54B). Cada molde é construído com placa de acrílico e moldura de borracha de 3,4mm de espessura (Figura 54A).

As duas partes são cobertas com as placas de acrílico (Figura 54C), fixadas com grampos e submetidas à radiação UV (Figura 54D) por 50s.

Passado-se este tempo, as lâmpadas da parte superior (responsáveis pela formação dos canais) são desligadas, continuando-se a exposição às lâmpadas inferiores por um tempo de até 100s.

Entre a etapa D e E, dado que o interior dos canais e da cela correspondem à porção de resina não polimerizada, esta é removida com banho ultrassônico em solução aquosa de aproximadamente 2% (volume/volume) de surfactante por 10 minutos, e seca em fluxo de gás nitrogênio.

Em seguida, ambas as camadas são unidas por sobreposição, tomando-se a devida precaução para que haja a correta junção das duas partes para selar os canais e a câmara do LED e detector, formados na etapa anterior, e com a atmosfera de nitrogênio mantida, segue-se outra exposição à radiação UV por 15min. (Figura 54E).

Com auxílio de um pincel, aplica-se uma fina camada de resina líquida nos tubos, LED e detector. Encaixam-se então nos canais e câmara (Figura 54F), os tubos de teflon® de 0,5mm de diâmetro, LED e detector.

A composição é então exposta à dosagem final de radiação UV por 15min. Assim termina a terceira fase de selagem, completando-se a montagem da cela de fluxo do μ FBA, com LED e detector inseridos.

Passa-se o fio de nylon® com a extremidade achatada pelo tubo inserido na parte superior do sistema e cola-se o mesmo no eixo do motor do *driver* de CD, que já se encontra fixado na caixa.

Encaixa-se um tubo de silicone no eixo do motor para auxiliar a colagem do fio de nylon, realizada com adesivo araldite®. Para auxiliar no processo de colagem, utiliza-se uma espátula fina construída com uma agulha hipodérmica devidamente cortada e achatada.

Depois de endurecido o adesivo, encaixa-se o sistema através dos pinos, ao circuito elétrico descrito anteriormente, e fazem-se as conexões com os tubos. Assim, o sistema se encontra pronto para uso.

Ao longo do tempo dos testes, as lâmpadas da fotoexpositora foram capazes de polimerizar a resina, produzindo assim sistemas de μ FBA com reprodutibilidade satisfatória, mantendo assim o baixo custo de fabricação.

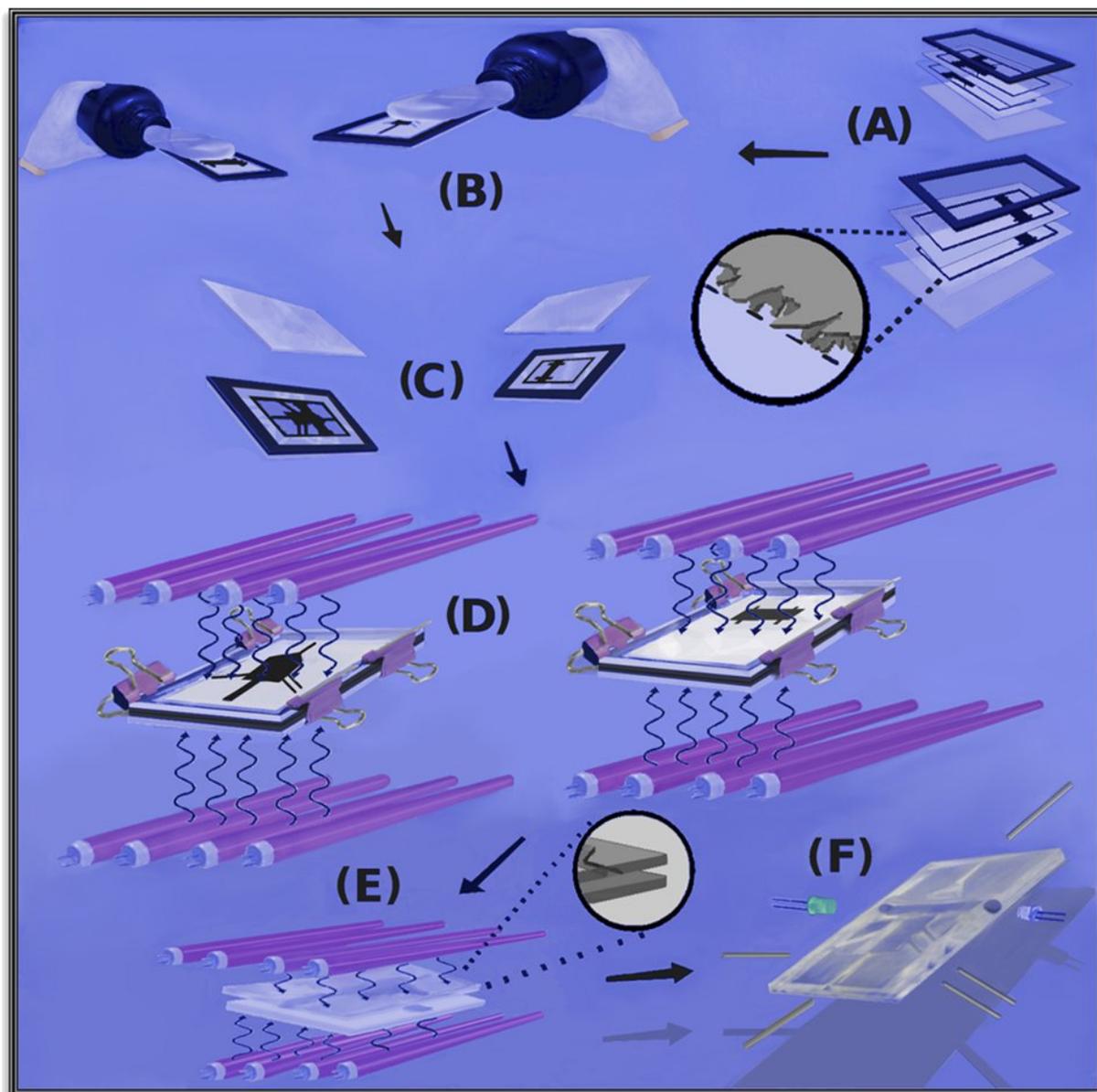


Figura 54: Diagrama esquemático das etapas de construção do micro *Flow-Batch*. (A) montagem do molde com as duas transparências superpostas, (B) derramamento da resina no molde, (C) acondicionamento da resina líquida entre as placas de acrílico, mediante a utilização de grampos para mantê-los unidos, (D) Exposição à luz UV, por um tempo de 50s para a parte superior e 100s para a inferior (mesmo para as fases I e II), (E) União e exposição das camadas na fase (III) por 15 min., possibilitando a adesão e selagem, (F) Término da fabricação do μ FBA, mostrando o ajuste dos tubos e do LED/detector. Nesta etapa a peça é deixada em exposição (IV) por 15 min., para assegurar a fixação apropriada.

Na Figura 55 é mostrado o sistema inserido em uma caixa de 8,5 cm x 10,0 cm x 4,0 cm, que é mantida fechada quando o mesmo se encontra em operação.

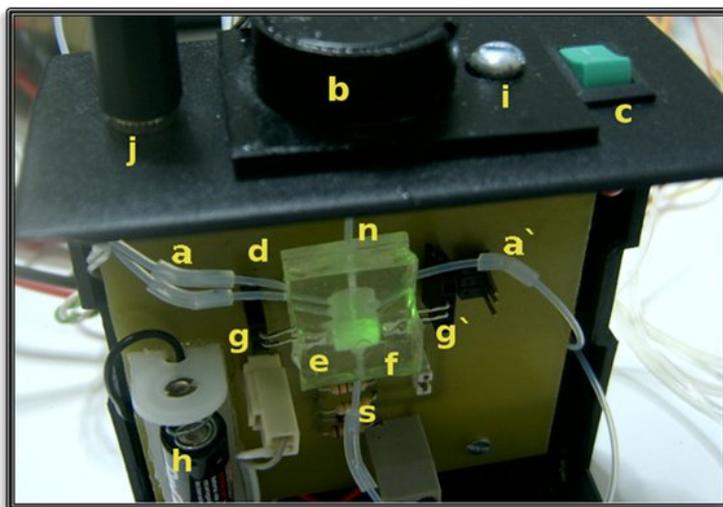


Figura 55: Foto do sistema montado mostrando os seus componentes principais: **a** e **a'**: tubos de teflon conectados ao exterior e selados à peça; **b**: plataforma de acrílico onde se encontra o motor acionador de leitor de CD; **c**: interruptor de acionamento do LED; **d**: corpo do μ FBA; **e**: detector; **f**: LED; **g** e **g'**: pinos de fixação e acionamento do sistema; **h**: bateria (12V); **i**: parafuso tipo borboleta; **j**: o plug ligado diretamente ao módulo de controle; **n**: haste de nylon; **s**: saída.

Na Figura 56 está mostrada aproximadamente a capacidade volumétrica mínima e máxima do sistema. Esta pode ser reduzida ainda mais, mediante pequenas modificações no *layout*. Este sistema representa, portanto, uma redução de uma ordem de grandeza na capacidade de um FBA convencional, o que é bastante satisfatório.

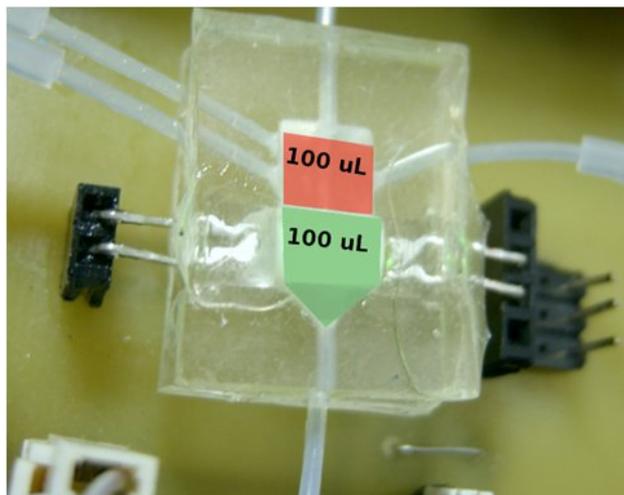


Figura 56: Foto ilustrativa da capacidade do μ FBA, na altura do LED e detector, com 0,75cm de altura, e que comportará aproximadamente 100 μ L (verde) e pelo menos mais 100 μ L até próximo do limite do reservatório (vermelho).

Uma característica importante observada neste sistema, em relação ao anterior (mostrado na seção 4.1.1), diz respeito aos tempos ótimos de cura e selagem. Os valores obtidos diferem significativamente, o que leva a crer que as lâmpadas podem estar em processo de desgaste, ou pode estar ocorrendo uma lenta aeração da resina. Estes dois aspectos são de suma importância para a reprodutibilidade do sistema.

Em relação às câmaras FBA, obtidas anteriormente a este trabalho, a eliminação quase completa do volume morto devido à conexão dos tubos com o exterior, a qual não é mais rosqueada, também é uma importante melhoria a ser destacada.

3.1.3. A Agitação no Micro *Flow-Batch* (μ FBA)

Tanques cilíndricos tendem a produzir vórtice ao sofrerem agitação ou escoamento [120-122]. Os planos perpendiculares das paredes de um recipiente com base retangular funcionam como um quebra-vórtice, o que auxilia na mistura dos reagentes e conseqüentemente na eficiência da análise. A situação é ilustrada na Figura 57.



Figura 57: Ilustração do efeito de vórtice em tanques diferentes.

A haste misturadora possui extremidade achatada para servir como pá de agitação e mistura. A eficiência depende da velocidade linear do fluido, que por sua vez é função do número de rotações do motor, do formato e das dimensões da pá.

Perfis de concentração apresentados em regiões distintas do tanque dependem apenas do tempo de mistura, e para um dado tempo e uma geometria estabelecida, este será constante.

Traçando-se um perfil bidimensional de distribuição de velocidades do fluido impelido pela pá agitadora (Figura 58), percebe-se intuitivamente essa dependência, podendo-se concluir assim que o tempo de mistura diminui na medida em que aumenta o número de RPM, e para altas rotações (por exemplo, 2000 RPM), têm-se o tempo de mistura bastante reduzido, o que neste caso foi de 2s.

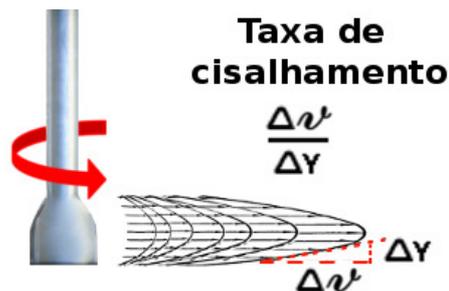


Figura 58: Perfis de velocidades ao longo do eixo X dependentes do número de RPM.

A taxa de cisalhamento é definida como o quociente:

$$\tau = \frac{\Delta v}{\Delta Y} \quad 3.2$$

onde: Δv é a variação da velocidade no eixo X , e ΔY a variação de altura da frente de velocidades, e τ é a taxa de cisalhamento.

Nota-se que os primeiros perfis, com maiores valores de ΔY , serão produzidos com as menores velocidades lineares (e RPM), estes tem menor taxa de cisalhamento. Logo, altas rotações também favorecerão o cisalhamento e conseqüentemente a mistura, pois produzirão perfis com baixo ΔY .

O ideal seria uma pá com a maior largura possível, porém uma limitação material permite apenas algo próximo de 1 mm, como é visto na Figura 59. Mais uma vez a alta rotação permite que este também não seja um fator limitante neste caso. A extremidade do eixo misturador deve ser posicionada acima do caminho óptico de modo que não cause interferência no sinal analítico.



Figura 59: Foto ampliada do fio de nylon® com diâmetro 0,4mm utilizado como haste misturadora no μ FBA.

3.2. Parte Experimental

3.2.1. Aferição das Mini-Válvulas Solenóides

Utilizou-se o tempo de abertura das válvulas para controlar a transferência dos volumes programados das soluções. A Figura 60 mostra o gráfico do volume de água que é bombeado (média de 10 inserções em cada tempo medido) em função

do tempo de abertura das miniválvulas solenóides. Observa-se uma boa correlação linear entre o volume bombeado e o tempo, e desvio-padrão da ordem de 10^{-4} .

Os volumes foram obtidos em função da densidade da água a 23°C, e os resultados das demais válvulas, para rotação de 5,0 RPM se apresentaram sem diferenças significativas entre si.

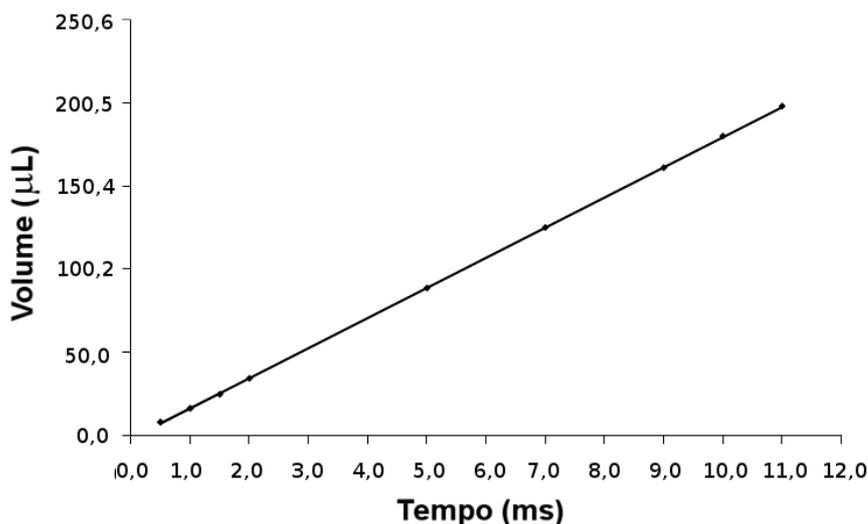
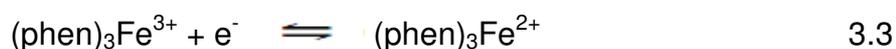


Figura 60: Gráfico de aferição da mini-válvula solenóide com a bomba peristáltica operando a 5,0 RPM, a mesma apresenta boa linearidade com coeficiente de correlação: 0,9999.

3.2.2. Determinação Fotométrica de Ferro (II) em Suplementos Minerais Ferrosos

O desempenho do sistema proposto foi avaliado em uma detecção fotométrica de Fe^{2+} em soluções de suplementos ferrosos, e os resultados expressos em miligramas de Fe^{2+} por litro (mg L^{-1}).

A 1,10-fenantrolina (ortofenantrolina) forma um complexo de transferência de carga estável com íons Fe^{2+} de cor vermelho-alaranjada com máximo de absorção em cerca de 510 nm, cuja intensidade independe do pH na faixa de 2,0 a 9,0 e assim, pode ser determinada espectrofotometricamente [123]. A reação de complexação do ferro com fenantrolina [122] pode ser escrita como:



A Figura 61 apresenta o espectro do complexo ferro-fenantrolina obtido em espectrofotômetro, em concentrações de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ de Fe²⁺.

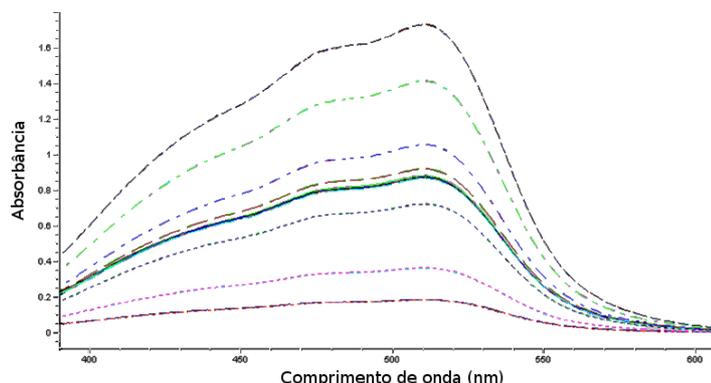


Figura 61: Gráfico dos espectros na região visível, de soluções com concentrações de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ do complexo ferro-fenantrolina, obtidos com o espectrofotômetro HP.

A curva de calibração é um gráfico da absorbância em função da concentração dos padrões de Fe²⁺, obtidos por diluição, manualmente para as análises espectrofotométricas e de modo automático no μ FBA.

Cinco amostras de suplementos ferrosos foram adquiridas em drogarias locais de João Pessoa, e consistem em três marcas de fabricantes diferentes, sendo que as amostras 1,2,3 são de lotes diferentes do fabricante I, as amostra 4 e 5, dos fabricantes II e III, respectivamente.

As mesmas foram submetidas à análise fotométrica (em triplicata) com o μ FBA e espectrofotométrica (com o espectrofotômetro HP) após diluição com água deionizada suficiente para uma concentração final estimada em 5,00 mg L⁻¹ em Fe²⁺, dentro da faixa de trabalho da curva analítica (1,0 a 10,0 mg L⁻¹).

O programa gerenciador da análise, desenvolvido em ambiente Labview[®] 5.1 para o sistema μ FBA gera uma média das “*n*” leituras do branco e de cada sinal produzido após inserção das soluções, e computa a seguinte relação numérica:

$$Abs = \log \frac{P_o}{P} \quad 3.4$$

Onde P_o e P são a potência radiante média do branco e da amostra. A largura efetiva da banda de emissão do LED utilizado no fotômetro (Fig.40), é relativamente

estreita, assume-se então que a relação entre a concentração de Fe^{2+} e a absorvância obedeça à Lei de Beer:

$$\text{Abs} = KC \quad 3.5$$

Onde C é a concentração do analito, e K é a constante de proporcionalidade.

Todas as amostras foram analisadas em triplicata e seus resultados comparados estatisticamente.

3.2.3. Reagentes e Soluções

Reagentes de grau analítico e água deionizada foram utilizados para preparar todas as soluções.

- Uma solução-estoque com 1000 mg L^{-1} em Fe^{2+} foi preparada a partir de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (VETEC) dissolvido em meio ácido com 1% (v/v) de H_2SO_4 concentrado (MERCK), e a partir desta, soluções-padrão de Fe^{2+} (1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; $10,0 \text{ mg L}^{-1}$) foram preparadas a partir da solução-estoque por diluição em água deionizada.

Para determinação de Fe^{2+} pelo método da 1,10-fenantrolina [124] foram utilizadas cinco amostras de soluções orais de suplementos ferrosos, como descrito anteriormente.

- Cinco soluções de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ foram preparadas por adequada diluição com água deionizada a partir das soluções orais de suplementos ferrosos. Essas soluções constituem as amostras.
- Solução de 1,10-fenantrolina (Labsynth) de concentração 0,25% (m/v) foi preparada por dissolução de quantidade apropriada em água deionizada.
- Para ajuste de pH, uma solução de acetato de sódio (F. Maia) $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada por dissolução de quantidade apropriada em água deionizada.
- Misturou-se 93,0 mL de solução 0,25% (m/v) de 1,10-fenantrolina com 7,0 mL de acetato de sódio $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, para que esta (denominada de **solução B**) fosse utilizada em proporção fixa de 1:10 com a solução das amostras ou dos padrões.

3.2.4. Visão Geral do Sistema Analítico

A Figura 62 apresenta a janela de comando do programa de gerenciamento do μ FBA.

A determinação proposta divide-se em: **Análise**, **Limpeza** e **Descarte**. Bastando para tanto o operador acionar com o *mouse*, o respectivo botão visualizado na janela. Do lado direito da janela, vê-se a câmara de mistura em animação gráfica, sendo preenchida ou esvaziada, dependendo da operação desencadeada pelo acionamento do respectivo botão.

O sistema informa ainda qual operação está sendo realizada através de uma mensagem gerada abaixo do gráfico da câmara de mistura.

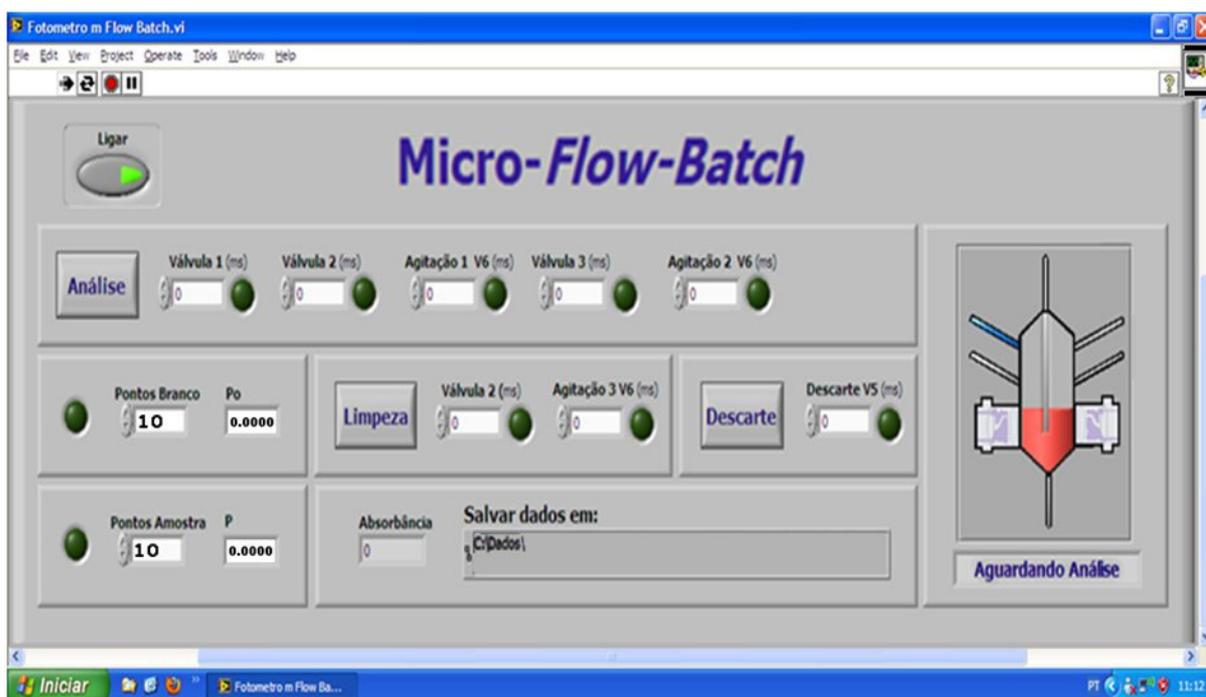


Figura 62: Imagem ilustrativa da janela da interface gráfica do programa de gerenciamento do sistema de determinação fotométrica com o micro *Flow-Batch*.

Os botões de acionamento para análise, limpeza e descarte, dão seqüência à operação de acordo com os tempos de abertura das válvulas (V1, V2, V3, V5), e de agitação (V6), previamente inseridos pelo operador.

Ao início de uma análise, o sistema entra em pausa, gerando uma pequena janela sobreposta à tela, até que o usuário informe se a mesma se refere à medida do branco ou análise propriamente dita, acionando o respectivo botão. Tanto para o branco como para as amostras ou padrões, estabeleceu-se 10 medidas, bastando digitar no quadrinho abaixo de “**Pontos Amostras**” ou “**Pontos Brancos**”, localizados na parte inferior esquerda da janela, assim o sistema dá seqüência às mesmas, computando as médias.

Em 1s de abertura da miniválvula solenóide, são dispensados 17 μL de líquido para o interior da câmara de mistura, assim, os respectivos tempos de abertura podem ser estabelecidos para as diluições requeridas a fim de se construir a da curva de calibração.

Na etapa de análise, adiciona-se na câmara de mistura 17 μL de solução B, em seguida inserem-se quantidades adequadas de água e de solução a ser diluída para gerar os padrões, ou uma quantidade de amostra, perfazendo 170 μL . O total dentro da câmara de reação é de 187 μL . Padrões são produzidos por diluição automática com água deionizada a partir da solução de 10,0 mg L^{-1} de Fe^{2+} , exceto para a medida do padrão de 10,0 mg L^{-1} , onde são adicionados apenas 170 μL do mesmo e 17 μL de solução B. Para o branco, são adicionados 170 μL de água deionizada e 17 μL de solução B.

Na etapa de limpeza, adiciona-se apenas água deionizada. A etapa de descarte é realizada ao fim de cada limpeza ou análise. Efetua-se agitação para homogeneização, por um tempo de 2 s.

Os dados coletados pelo software de gerenciamento são armazenados em local pré-determinado pelo usuário na área da janela: “**Salvar dados em:**” para posterior tratamento dos dados.

A Figura 63 apresenta uma ilustração da proporção de líquidos em função dos tempos utilizados no gerenciamento das diluições para as análises das amostras, bem como para a medida do branco. Todos os tempos de acionamento das válvulas, do misturador e do descarte são previamente digitados na janela do software (Fig. 61). Têm-se assim a proporção adequada entre água e solução padrão ou amostra, de modo que o tempo total seja de 11 s e uma quantidade constante de 17 μL de solução B, seja inserida para todas as medidas.

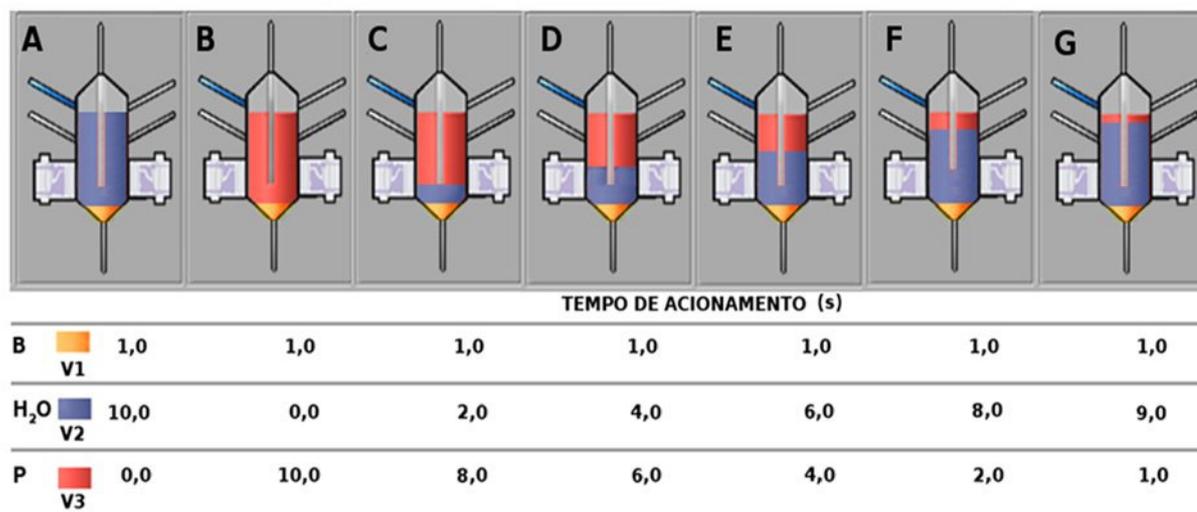


Figura 63: Imagem ilustrativa da proporção dos líquidos nas diluições efetuadas através do gerenciamento do sistema de determinação fotométrica μ FBA. Na codificação das cores temos as soluções de: ■ **B** (fenantrolina + acetato) que sempre é adicionada na mesma quantidade (17,0 μ L). ■ **P** refere-se aos padrões ou amostras, e ■ **H₂O** água deionizada. Na seqüência temos: **A** (medida do branco), **B** (Padrão de 10,0 mg L⁻¹ ou amostras), **C** (padrão de 8,0 mg L⁻¹), **D** (padrão de 6,0 mg L⁻¹), **E** (padrão de 4,0 mg L⁻¹), **F** (padrão de 2,0 mg L⁻¹), **G** (padrão de 1,0 mg L⁻¹). O tempo total de enchimento é de 11 s.

A operação do sistema é feita após se ligar a estação de trabalho, a bomba, o módulo de controle e o LED:

1- Liga-se o sistema:

Acionando o botão “**ligar**”, em seguida coloca-se o número de pontos para a leitura dos sinais em “**pontos do branco**” e “**pontos do sinal**”. (10 pontos).

2- Limpeza:

Escolhe-se o tempo de enchimento (12000 ms), de esvaziamento da câmara (20000 ms) e o de agitação (2000 ms), de modo que se proceda a tal operação, (feita com água deionizada), realizada 3 vezes para cada amostra, acionando-se os botões “**Limpeza**” e em seguida “**Descarte**”. por 3 vezes.

3- Análise ou medida do branco:

Escolhidos os tempos de agitação (2000 ms), inserção de solução B, água deionizada (para as diluições ou para o branco), solução padrão (para a curva de calibração) ou amostras (para verificação do desempenho do sistema), bem como a pasta onde serão armazenados os dados da análise, inicia-se tal etapa acionando o botão “**Análise**”, tal ação gerará a pausa descrita anteriormente, e a escolha entre “análise/branco” deverá ser feita com base no esquema da Figura 63.

A Figura 64 apresenta uma visão geral ilustrativa do sistema proposto para a determinação fotométrica de Fe^{2+} . No centro da figura encontra-se a câmara de mistura, e no canto direito abaixo, o detalhe do funcionamento da miniválvula solenóide. Na Figura 65 é mostrada a foto ilustrativa do sistema em funcionamento.

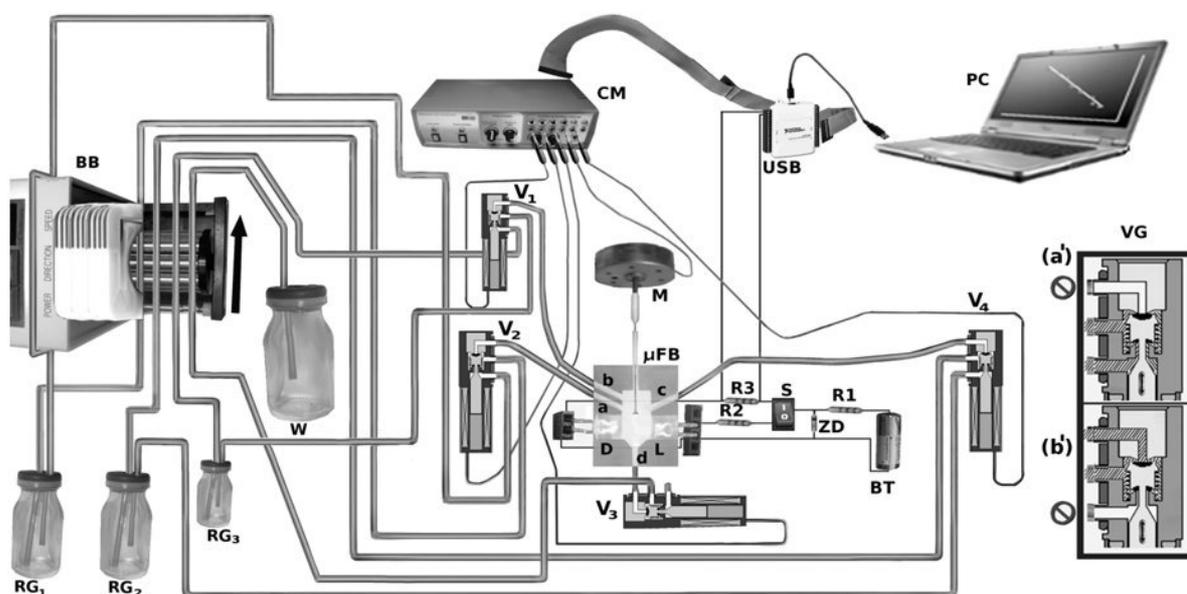


Figura 64: Diagrama esquemático do sistema para determinação fotométrica. Tubos de teflon[®] (a, b, c, d) ligados a tubos tygon[®] para condução dos fluidos, cela de fluxo (μFB); bomba peristáltica (BB); miniválvulas solenóides (V1, V2, V3 e V4); motor do misturador (M); módulo controlador (CM); interface USB (USB); estação de trabalho (PC); LED (L); fotodiodo (D); interruptor (S); resistores (R1, R2, R3 de respectivamente 1K, 4,7 K, 2,2 M Ohms); diodo zener (ZD) (regulador de voltagem–5V) ligados a uma bateria de 12 V (BT). Esquema interno da válvula (VG) nas posições desligada (a') e ligada (b'); Os fluidos que constituem a solução reagente, do branco ou de limpeza (água deionizada, solução B, padrões ou amostra), são acondicionados nos recipientes RG₁, RG₂ e RG₃, e eliminados através do descarte (W).



Figura 65: Foto do sistema μ FBA em uso, a caixa onde se encontra a câmara de mistura, e detecção permanece fechada durante a operação. Observa-se a janela da interface gráfica de gerenciamento, desenvolvida em Labview® 5.1.

Obteve-se uma curva de calibração (Figura 66) a partir dos sinais obtidos pelo μ FBA, a 530 nm (máxima emissão do LED) para as soluções padrão (Fig. 63), a fim de se estimar as concentrações de Fe^{2+} nas amostras de suplementos ferrosos.

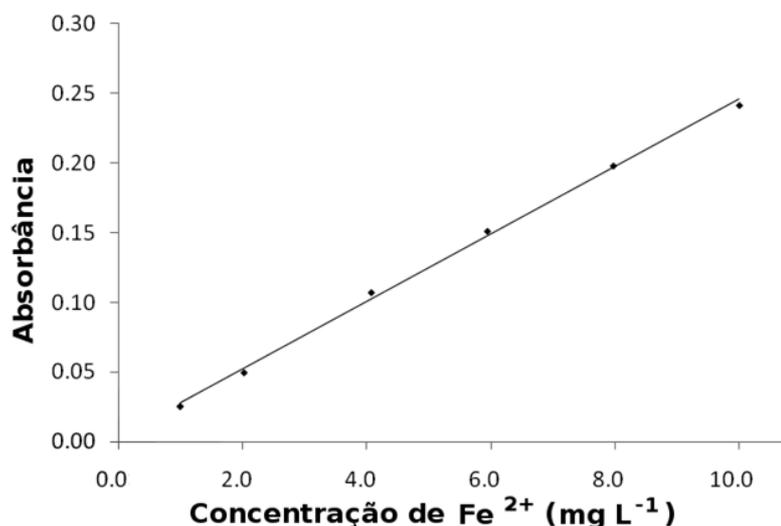


Figura 66: Curva analítica obtida pelo μ FBA bem função da concentração de Fe^{2+} com coeficiente de correlação linear = 0,9968 e boa linearidade de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ de Fe^{2+} .

A curva de calibração do μFBA apresentou boa linearidade na faixa de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ de Fe²⁺. A curva analítica obtida pelo μFBA foi validada pela ANOVA, cujos resultados se encontram na tabela 1.

Tabela 1 – Análise de variância (ANOVA) para o ajuste linear da curva analítica do μFBA , obtida através de padrões de 1,0 a 10,0 mg L⁻¹ de Fe²⁺, utilizada para determinação de teor de ferro em suplemento ferroso.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Núm. de G.L.	Média Quadrática
Regressão	0,1061	1	0,1061
Resíduos	0,0009	16	0,0001
Falta de ajuste	0,0004	4	0,0001
Erro puro	0,0006	12	0,0001
Total	0,1070	17	

% de variação explicada: 99,2
 % de máxima de variação explicável: 99,5

$\frac{\text{MQfaj}}{\text{MQep}}$	= 1,83	$F_{4,12} = 3,26$	<i>Teste de falta de ajuste.</i>
$\frac{\text{MQreg}}{\text{MQr}}$	= 1862,05	$F_{1,16} = 4,49$	<i>Teste de significância da regressão.</i>

Dessa forma conclui-se que a regressão é significativa, pois o teste de significância da regressão apresentou um valor muito maior que o $F_{1,16}$ tabelado, e o teste de falta de ajuste apresentou valor menor que o $F_{4,12}$ tabelado.

Os resíduos obtidos do modelo estão distribuídos aleatoriamente, indicando que os valores observados na calibração são bem representados pelo modelo (Figura 67).

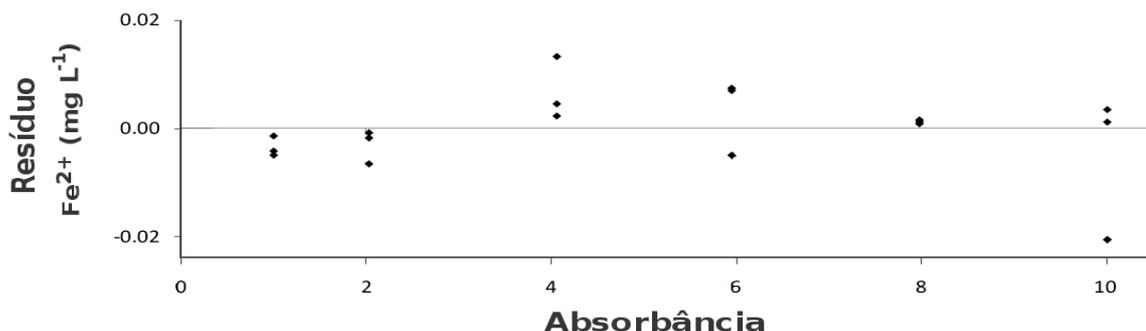


Figura 67: Distribuição dos resíduos do modelo obtidos na ANOVA para os valores de calibração utilizando o μ FBA. A distribuição dos mesmos obedece a uma aleatoriedade, indicando que o mesmo é bem representado pelo modelo linear.

Dentre as figuras de mérito, foram levadas em consideração no presente trabalho:

- **Limite de detecção** (do inglês: *Limit of Detection*, LOD), definido como a menor massa ou concentração do analito que pode ser detectada com determinada certeza estatística, e que foi calculado através da expressão:

$$\text{LOD} = \frac{3\sigma}{a} \quad 3.6$$

onde σ é o desvio padrão das medidas de absorbância da solução do branco e a é a inclinação da curva de calibração.

- **Limite de Quantificação** (do inglês: *Limit of Quantification*, LOQ), que analogamente, é definido como sendo a menor massa ou concentração do analito que pode ser quantificada com determinada certeza estatística e é igual a três vezes o valor do LOD:

$$\text{LOQ} = 3 \times \text{LOD} \quad 3.7$$

Para o μ FBA, os valores obtidos para o LOD e LOQ foram 0,21 e 0,63, respectivamente (em mg L⁻¹ de Fe²⁺).

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos pelo método fotométrico com μ FBA proposto e o procedimento espectrofotométrico de referência. Os resultados obtidos para as cinco amostras de suplemento ferroso não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os mesmos. Para efetuar tal comparação realizou-se o teste-*t* emparelhado a um nível de confiança de 95% [125].

Tabela 2 – Comparação dos resultados obtidos para teor de Fe^{2+} em suplemento ferroso pelos métodos proposto e de referência. Unidade em mg L^{-1} de Fe^{2+} .

Amostra	μ FBA ^a	Referência ^b	Diferença
1	$5,0 \pm 0,1$	$5,0 \pm 0,0$	0,0
2	$4,9 \pm 0,0$	$4,9 \pm 0,0$	0,0
3	$4,9 \pm 0,0$	$4,9 \pm 0,0$	0,0
4	$4,9 \pm 0,0$	$5,0 \pm 0,0$	- 0,1
5	$4,9 \pm 0,0$	$5,0 \pm 0,0$	- 0,1

^{a,b} Média de três determinações \pm desvio padrão

Capítulo 4: Conclusões e Propostas Futuras

"Eu hein, nem pensar
outra vez nem pensar
dá um tempo pra mim
deixa assim, mal ou bem
bem ou mal
Coisas de magia, sei lá
Kleiton e Kleidir

4.1. Conclusões

Neste trabalho foi construído um μ FBA com detecção fotométrica, no qual, foram superadas de maneira satisfatória algumas limitações, tais como: a selagem da peça e das conexões, posicionamento da cela e sistema de mistura satisfatório.

Preenchendo-se a câmara de mistura com volumes diferentes, para uma mesma solução, obteve-se mudança desprezível na intensidade do sinal detectado, o que indica que a reflexão da luz emitida pelo LED na superfície livre do líquido pode ser desprezada para esse tipo de configuração.

Com relação à microfabricação por fotolitografia com uretano-acrilato e à minaturização do FBA convencional, podem-se destacar os seguintes avanços importantes:

- A eliminação quase que completa do volume morto devido às conexões rosqueadas do FBA convencional, e a redução em pelo menos 10 vezes o volume foram conseguidas de maneira satisfatória;
- A utilização de um fio de nylon[®] achatado na borda como haste misturadora foi satisfatória, pois o mesmo é inerte e, posicionado acima do caminho óptico, permite uma excelente agitação dentro de um tempo de 2s quando impelido por motor de 2000 RPM;
- O formato retangular da cela se mostra satisfatório, pois não foi detectado nenhum acúmulo de bolhas, nem de líquido quando do seu esvaziamento;
- A utilização de duas transparências para controlar a profundidade dos canais e das celas surtiu efeito, de modo que não mais ocorreu obstrução nos canais formados;

- As três etapas de selagem foram satisfatórias – terceira selagem relacionada à fixação dos componentes externos à peça – e a troca das agulhas por tubos flexíveis, evitando vazamentos, acidentes e contaminações por íons metálicos também surtiu efeito, de modo que essas inovações poderão ser aproveitadas em outros sistemas;
- Apesar de estabelecido o tempo ótimo de cura, não se pode garantir sua constância dada à mudança inerente da resina e o desgaste das lâmpadas UV com o tempo, sendo necessário, encontrar novos tempos quando a selagem se mostrar insuficiente, ou após a troca das lâmpadas;
- O caminho ótico moldado a partir do LED e do detector, com diâmetro de 0,5cm mostrou-se satisfatório para esse sistema. Porém há diversas alternativas geométricas a serem exploradas para os compartimentos do μ FBA, individualmente ou no projeto como um todo;
- O bombeamento ainda é uma questão em aberto para microssistemas. Esta situação requer alternativas mais confiáveis de bombeamento, com artefatos que possuam dimensões condizentes com as do μ FBA (microbombas);
- Consegue-se, partindo de uma nova configuração, modelar e montar um analisador em aproximadamente 24 horas, confirmando assim a versatilidade da microfabricação por fotolitografia em UA.

Com relação ao desempenho do equipamento, podem-se destacar os seguintes itens:

- Nenhum vazamento ocorreu nas partes introduzidas e seladas nas operações com o μ FBA;
- Conseguiu-se realizar uma análise completa em cerca de 2 minutos, contando-se com a limpeza do sistema;
- O sistema efetuou diluições de soluções, preparo automático de padrões, e poderia ser utilizado ainda em adição de padrões em uma matriz complexa, conferindo mais rapidez na construção de curvas de calibração.

4.2. Propostas Futuras

Outras configurações de μ FBA posteriores a este trabalho já vem apresentando resultados iniciais satisfatórios. O sistema pode ser utilizado para determinações espectrofotométricas ou eletroanalíticas, com pequenas modificações.

Já se encontra em fase experimental, uma configuração para o μ FBA, que possibilita a utilização de outras fontes de emissão e detecção de radiação, como é mostrada na Figura 68, abrindo assim outras possibilidades de configurações.



Figura 68: Selagem de um protótipo do μ FBA com janelas formadas por tubos abertos em apenas uma das extremidades, possibilitando acoplamento de fontes diferentes de emissão e detecção. O material pode ser de vidro ou quartzo, dependendo da aplicação.

O dispositivo em UA suporta temperaturas próximas à ebulição da água. Assim, novas determinações a quente podem ser testadas posteriormente.

O μ FBA é principalmente um ponto de partida para outras configurações e conceitos, espera-se que trabalhos futuros possam se servir de caminhos apontados nesta proposta inicial, e o sistema possa ser otimizado para aplicações do *FBA* convencional com soluções aquosas, sofrendo assim modificações importantes, pois diante do exposto, a modelagem utilizando o UA é um desafio com inúmeras possibilidades a serem exploradas;

De modo a elucidar melhor os fatores responsáveis pela mudança física apresentada pelas peças polimerizadas ao longo do tempo, estudos mais

detalhados envolvendo a polimerização do UA devem ser realizados paralelamente a outros projetos de μ FBA.

Referências Bibliográficas

"I want to reach out And touch the sky
I want to touch the sun But I don't need to die
...I've been through magic and defied reality
I've lived a thousand years and it never bothered me
I've seen the future And I've left it behind"
Black Sabbath

1. S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, *Trends in Analytical Chemistry* **2008**, Vol. 27, No. 6.
2. A. Kicherer, S. Schaltegger, H. Tschöchohei, B. Ferreira Pozo, *J LCA* 12 (7) 537.
3. A. Manz, N. Graber, H. M. Widmer, *Sens. Actuators* **1990**, B1, 244.
4. D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. L. Schueller, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4974.
5. J. C. B. Fernandes, L. O. S. Ferreira, *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, 643, 17.
6. A. Fonseca, et al., *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 603, 159.
7. J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **1975**, 78, 141.
8. R. S. Honorato, M. C. U. Araújo, R. A. C. Lima, E. A. G. Zagatto, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, *Anal. Chim. Acta* **1999**, 396, 91.
9. A. J. C. Garcia, B. F. Reis; *Journal Of Automated Methods And Management In Chemistry*, **2006**, 1.
10. H. Ziegel, *Z. Analytical Chemistry* **1914**, 53, 755.
11. L. T. Skeggs, *American Journal of Clinical Pathology* **1957**, 28, 311.
12. E. A. G. Zagatto, J. F. V. Staden, N. Maniasso, R. I. Stefan, , G. D. Marshall, IUPAC Technical Report, Genebra, **2002**, v. 74, n. 4, 585.
13. Pungor, E., Feher, Z., Nagy, G., Toth, K., Horvai, G., Gratzl, M, *Anal. Chim. Acta*, **1979**, 109, 1.
14. Goto, M.,. *Trac.*, 2, **1983**, 92-94.
15. D. P. Arnold, R. M. Peachey, J. D. Petty, D. R. Sweatman, *Analytical chemistry*, **1989**, 61, 2109-2116.

- 16 T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, G. J. Cross, R. I. Mrzljak, *Analyst*, **1990**, 115, 1235.
- 17 T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, G. J. Cross, G. R. O'connell, J. D. Petty, G. R. Scollary, *Analyst*, **1991**, 116, 1051.
- 18 R. I. Mrzljak, A. M. Bond, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, O. M. G. Newman, G. R. Scollary, *Analyst*, **1992**, 117, 1845.
- 19 T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, G. J. Cross, G. R. O'connell, J. D. Petty, G. R. Scollary, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 308, 197.
- 20 K. K. Stewart, G. R. Beecher, and P. E. Hare, *Anal. Biochem.*, **1976**, 70, 167.
- 21 E. A. G Zagatto, A. O. Jacintho, J. Mortatti, H. Bergamin, *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 120, 399.
- 22 B. F. Reis, A. O. Jacintho, J. Mortatti, F. J. Krug, E. A. G. Zagatto, H. Bergamin, L. C. R. Pessenda, *Anal. Chim. Acta*, **1981**, 120, 221.
- 23 M. Korn, L. F. Gouveia, E. Oliveira, B. F. Reis, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 313, 177.
- 24 M. C. U. Araújo, A. V. Santos, R. S. Honorato, C. Pasquini, *Journal of Automatic Chemistry*, **1997**, 19, 157.
- 25 J. Ruzicka, E. H. Hansen, , *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 99, 37.
- 26 R. H. Taylor, J. Rotermond, G. D. Christian, H. Ruzicka, *Talanta*, **1994**, 41, 31.
- 27 Araújo, M. C. U.; Pasquini, C.; Bruns, R. E.; Zagatto, E. A. G., *Anal. Chim. Acta*, **1985**, v. 171, p. 337.
- 28 E. C. Silva, M. C. U. Araújo, R. S. Honorato, J. L. F. C. Lima, E. A. G. Zagatto, S. M. B. Brienza, *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 319, 153.
- 29 Ruzicka, J.; Marshall, G. D. *Anal. Chim. Acta*, **1990**, 329, 237.
- 30 M. C. U. Araújo, A. V. Santos, R. S. Honorato, C. Pasquini, *Journal of Automatic Chemistry*, **1997**, 19, 157.
- 31 R. H. Taylor, J. Rotermond, G. D. Christian, J. Ruzicka, *Talanta*, **1994**, 41, 31.
- 32 M. C. U. Araújo, C. Pasquini, R. E. Bruns, E. A. G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **1985**, 171, 337.

- 33 C. Pasquini, W. A. Oliveira, *Analytical Chemistry*, **1985**, 57, 2575.
- 34 E. M. Ganzarolli, A. Lehmkuhl, R. R. R. Queiróz, I.G. Souza, *Química Nova*, **1999**, 22, 53.
- 35 I. M. Raimundo, Tese de doutorado, 1995, Campinas, SP.
- 36 R. S. Honorato, M. C. U. Araújo, G. Veras, E. A. G. Zagatto, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, *Analytical Sciences*, **1999**, 15, 665.
- 37 B. F. Reis, M. F. Giné, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, R. A. Lapa, *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 293, 129.
- 38 F. R. P. Rocha, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, R. A. S. Lapa, J. L. M. Santos, *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 468, 1, 119.
- 39 M. C. Ricardo, J. V. G. Mateo, J. M. Calatayud, *Trends in Analytical Chemistry*, **2002**, 21, 5, 366.
- 40 R. S. Honorato, M. C. U. Araújo, R. A. C. Lima, E. A. G. Zagatto, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, , *Anal. Chim. Acta*, v. 396, **1999**, 1, 91.
- 41 R. S. Honorato, E. A. G. Zagatto, R. A. C. Lima, M. C. U. Araujo; *Anal. Chim. Acta* **2000** , 416, 231.
- 42 E. P. Medeiros, M. C. U. Araújo, et al, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 511,113.
- 43 R. A. C. Lima, M. C. U. Araujo, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 518, 25.
- 44 J. M. T. CARNEIRO, R. S.HONORATO, E. A. G. ZAGATTO, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **2000**, 368, 5, 496.
- 45 R.S.Honorato, E.A.G. Zagatto et al, *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 441,309.
- 46 J.M.T.Carneiro, R.S.Honorato, et al, *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 455, 327.
- 47 L.F. Almeida,; M.C.U. Araujo, et al, *J. Braz. Chem Soc.*, **2003**, 14, 249.
- 48 L.F. Almeida, M.C.U. Araujo, *Anal. Chim. Acta*, **2003**, 486, 143.
- 49 Gaião, E. N., Tese de doutorado, UFPE, 2003.
- 50 Visani, V., Dissertação de Mestrado, UFPB, 2002.
- 51 Formiga, F.M.; Araújo, M.C.U.; et al, *Contr. & Instrum.*, **2003**, 83, 65.
- 52 Carmo, M. C., Tese de Doutorado, UFPB, 2004.
- 53 Almeida, L. F., Tese de doutorado, UFPE, 2007.

- 54 Pasquini, C. E.V. de Aquino, M.das Virgens Reboucas, F.B. Gonzaga, *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 600 ,84.
- 55 Silva, M.J. , et al. , *Anal. Chim. Acta*, **2008** 629, 23 98.
- 56 Grünhut, M., et al. *Talanta*, **2008**,75, 950.
- 57 Syed,Rizvi,.*Handbook of Photomask Manufacturing Technology*, San Jose,Taylor & Francis© Group, **2005**.
- 58 <http://forum.outerspace.terra.com.br/showthread.php?p=3682782>
- 59 G. M. Whitesides, *Nature*, **2006**,442,27.
- 60 A. Ajdari, C. R. *Physique*, **2004**, 539,5.
- 61 P. A. Auroux, D. Iossifidis, D. R. Reyes, A. Manz; *Anal. Chem.* **2002**, 2637, 74.
- 62 D. C. Duffy, J. C. McDonald, Olivier J. A. Schueller, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4974.
- 63 M. Pumera, A. Merkoçi, S. Alegret, New materials for electrochemical sensing VII. Microfluidic chip platforms, *Trends in Analytical Chemistry*, **2006** Vol. 25, No. 3
- 64 H. Becker, C. Gartner, *Electrophoresis*, **2000**, 21, 12.
- 65 T. Thorsen, et al; *Science* **2002**, 298, 580.
- 66 A. Ríos, A. Escarpa, M. C. González, A. G. Crevillén; *Trends in Analytical Chemistry* **2006**, 25, 5.
- 67 O. Rotting, W. Ropke, H. Becker, C. Gartner, *Polymer microfabrication Technologies, Microsystem Technologies* **2002**, 8, 32.
- 68 A. Fonseca, Tese de doutorado. 2008, Campinas, SP.
- 69 Roberts, M.A., Rossier, J. S., Bercier, P. e Girault, H., *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 2035.
- 70 *Anal. Chem.* 69, **1997**, 2626.
- 71 Wu, H., Odom, T. W. e Whitesides, J. M., *Anal. Chem.*, **2002**, 74, 3267.
- 72 Watanabe, M., *Sensor Actuat. B*, **2007**, 122, 141.
- 73 Nie, F. Q., Macka, M., Barron L., Connolly, D., Kent, N., Paull, N., *Analyst*, **2007**, 132, 417.

- 74 S. C. Terry, J. H. Jerman, J. B. Angell, *IEEE Trans. Electron Devices* **1979**, 26, 1880.
- 75 Coltro, W. K. T., et al. *Quím. Nova*, **2007**, 30,8.
- 76 D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux, A. Manz, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2623.
- 77 Vahey, P. G., et al. *Talanta*, **2000**, 51, 6, 1205.
- 78 C. L. Lago, et al. *Analytical Chemistry*, **2003**, 75, 3853.
- 79 Burns, et al., *Science*, **1998**, 282, 484.
- 80 Handique, et al., *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 1831.
- 81 Quake et al., *Science*, **2001**, 288, 1831.
- 82 Qi et al., *Lab Chip*, **2002**, 2, 88.
- 83 Lu et al., *Analyst*, **2001**, 126, 429.
- 84 Petsul et al., *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 428, 155.
- 85 Chen et al., *Anal. Chem.* **2001**, 73, 758.
- 86 Wang, J., Ibáñez, A.; Chatrathi, M. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 8444
- 87 Fonseca, A., et al., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 2, **2010**, 1618.
- 88 [w.w.w.poliuretano.com.br](http://www.poliuretano.com.br) (acesso em 26/05/2009)
- 89 www.sorocaba.unesp.br/gpm (acesso em 26/05/2009)
- 90 <http://plc.cwru.edu/tutorial/enhanced/files/polymers/apps/apps.htm> (acesso em 26/05/2009)
- 91 F. Wang, et al., *Progress in Organic Coatings* **2008**, 62, 245.
- 92 C. Gao, D. Yan, *Prog. Polym. Sci.* **2004**, 29, 183.
- 93 H. J. Yoo, Y.-H. Lee, Ji-Yun Kwon, Han-do Kim, *Fibers and Polymers* **2001**, Vol.2, No.3, 122.
- 94 Y. Li, D. Yan, G. Wang, *Journal of Applied Polymer Science* **2001**, 79, 680.
- 95 E. Dzunuzovic, S. Tasic, B. Bozicb, D. Babic, B. Dunjicb, *Progress in Organic Coatings* **2005**, 52, 136.
- 96 K. W. Swiderski, I. V. Khudyakov, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2004**, 43, 6281.
- 97 A. S. Nasar, M. Jikei, M. Kakimoto, *European Polymer Journal* **2003**, 39, 1201.
- 98 G. Strobl, *The Physics of Polymers* 2007 Springer, Berlin.

- 99 E. Andrzejewska, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26, 605.
- 100 N. B. Cramer et al., *Polymer* **2008**, 49, 4756.
- 101 S. Oprea et al., *Polymer* 2001, 42, 7257.
- 102 Yang et al., *Macromolecules* **1996**, 29, No. 22.
- 103 M. Koshiha, K. K. S. Hwang, S. K. Foley, D. J. Yarusso, S. L. Cooper, *Journal of Materials Science* **1982**, 17, 1447.
- 104 J. Yang, M. A. Winnik, D. Ylitalo, R. J. DeVoe, *Macromolecules* **1996**, 29, 7047.
- 105 B. Nabeth, J. P. Pascault, K. Dusek, *Journal of Polymer Science: Part B Polymer Physics* **1996**, 34, 1031.
- 106 Mariani et al. *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry* **2008**, 46, 3344.
- 107 F. Wang, J.Q. Hu, W.P. Tu, *Progress in Organic Coatings* **2008**, 62, 245.
- 108 J. M. Lee, D. Su Kim, *Polymer Composites* **2007**.
- 109 D. Klempner, K. Frisch, *Advances in Urethane Science and Technology*, Rapra Technology Limited, United Kingdom, 2001.
- 110 H. Fujii, T. Miyata, F. Jinno, *J. Photopolym. Sci. Technol.* **2004**, 17, No.1.
- 111 E. Andrzejewska, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, 26, 605.
- 112 P. B. L. Fregolente. Dissertação de mestrado, **2006**, Campinas, SP.
- 113 W. D. Callister, Jr., *Fundamentos da Ciência e Engenharia dos Materiais*, 2ed. Rio de Janeiro: LTC, **2006**, 702p.
- 114 Y. Rharbi, A. Yekta, M. A. Winnik; *Macromolecules* **1999**, 32, 3241.
- 115 Yang et al.; *Macromolecules* **1996**, Vol. 29, No. 22.
- 116 H. Fujii, T. Miyata, F. Jinno; *Journal of Photopolymer Science and Technology* **2004**, 17, 69.
- 117 Woolley, A. T. et al. *Anal. Chem.*, **2005**, 77, 3536
- 118 <http://www.gilbertinc.com/lamprep.htm>.
- 119 J. C. S. Barbosa, A. A. Serra, *Química Nova*, **1992**, 15, 4.

- 120 McCabe, Warren L., Smith, Julian C., Harriot, Peter, Unit Operations of Chemical Engineering, 5. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1993. 1124p.
- 121 Byron R. Bird, Stewart Warren E., Lightfoot Edwin N., Fenômenos de transporte, 2. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2004. 838p.
- 122 Fox, Robert W., McDonald, Alan T., Pritchard, Philip J., Introdução À Mecânica dos Fluidos, 6. Ed., Rio De Janeiro: LTC, 2006. 798p.
- 123 Skoog, D. A.; et al. Fundamentos de Química Analítica. 8.ed. São Paulo: Thomson, 2006.
- 124 Mendham, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M.J.K. Vogel Análise química quantitativa. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.
- 125 Barros Neto, Benício, Scarminio, Ieda Spacino, Bruns, Roy Edward, Como Fazer Experimentos. 3.ed. Campinas: UNICAMP, 2007.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)