



Instituto de Química

Programa de Pós – Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM QUÍMICA ANALÍTICA

**Microsistema de análise em fluxo controlado por smartphone para
determinação quimiluminométrica de captopril em comprimidos**

Aluno: Lucas Rodrigues de Freitas

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fonseca

Brasília / DF

2026



Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

MICROSSISTEMA DE ANÁLISE EM FLUXO CONTROLADO POR
SMARTPHONE PARA DETERMINAÇÃO QUIMILUMINOMÉTRICA DE
CAPTOPRIL EM COMPRIMIDOS

Lucas Rodrigues de Freitas

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Química. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Fonseca

Brasília/DF

2026

Dedicatória e Agradecimentos

Dedico esta jornada e todo o esforço que a tornou realidade à minha mãe, meu porto seguro e alicerce inabalável.

À Camila, pelo amor e pela luz serena que transformaram desafios em caminhos de esperança.

À Nizamara, professora e amiga, cuja trajetória é fonte constante de inspiração.

Meu agradecimento mais sincero ao Professor Alexandre Fonseca, cuja integridade humana e excelência profissional foram fundamentais para moldar minha trajetória. Mais do que um orientador, uma referência de conduta e saber: suas conversas, orientações e profunda humanidade redirecionaram não apenas o rumo desta pesquisa, mas a forma como enxergo o mundo e meu lugar nele.

Agradeço igualmente ao Gerson, cujas conversas tão pertinentes foram de grande valor para este projeto e desenvolvimento pessoal.

Ao Flávio, parceiro essencial, pela cumplicidade, apoio e colaboração; e aos colegas do LIAMA, pela acolhida tão fraterna no laboratório, que fez deste espaço uma verdadeira segunda casa.

Resumo

Este trabalho propõe o desenvolvimento, a fabricação e a avaliação de um sistema microfluídico miniaturizado, equipado com bombas piezoelétricas para o controle preciso de fluidos. Foram construídos dois dispositivos com geometrias equivalentes, utilizando técnicas distintas de micro fabricação: ablação a laser e usinagem (Router CNC) o que permitiu avaliar a viabilidade e o desempenho de ambas as abordagens na construção de microcanais. Os dispositivos viabilizam a detecção quimiluminescente por meio da análise de imagens digitais, utilizando um smartphone para a quantificação de captopril em comprimidos comerciais. A arquitetura miniaturizada favorece a redução dos volumes de amostra e reagentes, o aumento da frequência analítica e a melhoria da eficiência de detecção. O método baseia-se na supressão da quimiluminescência do sistema luminol–hipoclorito (OCl^-) provocada pela ação redutora do captopril, cuja presença reduz progressivamente a intensidade da emissão à medida que sua concentração aumenta. O sistema foi validado na faixa de concentração de 2 a 25 mg L^{-1} , com soluções preparadas a partir de comprimidos triturados e dissolvidos em água purificada. A aquisição do sinal foi otimizada com foco no canal azul (B) do sistema RGB, devido à sua maior sensibilidade à emissão quimiluminescente. A plataforma integrada ao smartphone, operada por meio de um aplicativo desenvolvido no laboratório, permitiu o posicionamento preciso do microchip e a otimização em tempo real dos parâmetros de imagem, como tempo de exposição, contraste, balanço de branco e intensidade de cor, garantindo estabilidade analítica. O sistema apresentou linearidade ($R^2 = 0,9968$) na faixa de trabalho, além de um limite de detecção (LoD) de 0,72 mg L^{-1} , validando sua eficácia, sensibilidade e potencial de aplicação em análises portáteis e de baixo custo.

Palavras-chave: imagens digitais, microdispositivos, *smartphone*.

Abstract

This study presents the development, fabrication, and evaluation of a miniaturized microfluidic system equipped with piezoelectric pumps for precise fluid control. Two devices with equivalent geometries were fabricated using distinct microfabrication techniques—laser ablation and CNC router micromachining—allowing a comparative assessment of the feasibility and performance of both approaches in microchannel construction. The proposed devices enable chemiluminescent detection based on digital image analysis, employing a smartphone for the quantification of captopril in commercial pharmaceutical tablets. The miniaturized architecture promotes reduced consumption of samples and reagents, increased analytical throughput, and improved detection efficiency. The analytical method is based on the suppression of chemiluminescence of the luminol–hypochlorite (OCl^-) system caused by the reducing action of captopril, which progressively decreases the emission intensity as its concentration increases. The system was validated over a concentration range of 2 to 25 mg L^{-1} using solutions prepared from crushed tablets dissolved in purified water. Signal acquisition was optimized by monitoring the blue (B) channel of the RGB system, due to its higher sensitivity to chemiluminescent emission. The smartphone-integrated platform, operated through a laboratory-developed application, enabled precise positioning of the microchip and real-time optimization of image parameters such as exposure time, contrast, white balance, and color intensity, ensuring analytical stability. The method exhibited good linearity ($R^2 = 0.9968$) within the working range and a limit of detection (LoD) of 0.72 mg L^{-1} , confirming its effectiveness, sensitivity, and potential for portable, low-cost analytical applications.

Keywords: digital imaging, microdevices, smartphone.

Sumário

Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica	12
1.1 Sistemas analíticos miniaturizados	12
1.2 Técnicas de fabricação dos dispositivos	15
1.3 Sistemas de bombeamento de soluções	17
1.4 Quimiluminescência	20
1.4.1 Quimiluminescência do luminol	21
1.5 Imagens digitais	25
1.5.1 Detecção analítica baseada no uso de imagens digitais	27
1.6 Determinação do captopril	29
Objetivos	33
Capítulo 2 – Metodologia	34
2.1 Construção do microsistema por ablação a laser	34
2.1.1 Gravação dos canais no substrato	35
2.1.2 Segunda etapa: Selagem	36
2.1.3 Montagem do aparato para medidas	38
2.2 Construção do microsistema por usinagem	42
2.3 Aplicativo microFIA.....	43
2.4 Soluções de Trabalho.....	47
2.4.1 Preparo de Soluções e Reagentes	47
2.4.2 Preparo de Amostras de Comprimidos	48
2.4.3 Procedimento de Análise	48
2.4.4 Princípios da Medida	49
Capítulo 3 – Resultados e Discussão	51
3.1 Microsistema fabricado por ablação a laser	52
3.2 Microsistema Fabricado por Usinagem	54
3.3 Determinação do Captopril	57
3.4 Análise da Amostra	60
3.5 Efeito da concentração de hipoclorito	62
3.6 Efeito do tempo de reação	63
3.7 Estudo da Vazão	64
3.8 Análise comparativa FIA-HPLC: Desempenho analítico	65
Capítulo 4 – Conclusões e Perspectivas	71
Referências	73

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

ANOVA – Análise de Variância (*Analysis of Variance*)
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC – *Association of Official Analytical Chemists* (atualmente *AOAC INTERNATIONAL*)
AWB – Balanço Automático de Branco (*Auto White Balance*)
BPF – Peptídeo Potenciador da Bradicininina (*Bradykinin-Potentiating Factor*)
CCD – Dispositivo de Carga Acoplada (*Charge-Coupled Device*)
CFC – Célula de Fluxo Contínuo
CMYK – Ciano, Magenta, Amarelo, Preto (*Cyan, Magenta, Yellow, Key*)
CMFA – Análise em Fluxo Contínuo com Mistura
CNC – Router CNC (Equipamento de Controle Numérico Computadorizado)
CYC – Número de Ciclos
ECA – Enzima Conversora de Angiotensina
EXP – Tempo de Exposição (*Exposure Time*)
FIA – Análise por Injeção em Fluxo (*Flow Injection Analysis*)
G-code – Código de linguagem de programação para máquinas CNC
GL – Graus de Liberdade
HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*)
ICP – Plasma Indutivamente Acoplado (*Inductively Coupled Plasma*)
ISO – Sensibilidade à Luz (*International Organization for Standardization*)
LD / LoD – Limite de Detecção (*Limit of Detection*)
LOC – Lab-on-a-Chip
LQ – Limite de Quantificação
MEAS – Número de Medidas (*Measurements*)
MQ – Média dos Quadrados
 μ FIA – Micro Análise por Injeção em Fluxo (*Micro Flow Injection Analysis*)
 μ TAS – Micro Sistemas de Análise Total (*Micro Total Analysis Systems*)
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)
PDMS – Polidimetilsiloxano
PLA – Ácido Polilático (*Polylactic Acid*) – material para impressão 3D
PMMA – Polimetilmetacrilato
PMT – Fotomultiplicadora (*Photomultiplier Tube*)
POC – *Point of Care* (Ponto de Atendimento/Cuidado)
RC – Bobina de Reação (*Reaction Coil*)
RGB – Red, Green, Blue (Vermelho, Verde, Azul) – sistema de cores
ROI – Região de Interesse (*Region of Interest*)
RSD – Desvio Padrão Relativo (*Relative Standard Deviation*)
SIA – Análise por Injeção Sequencial (*Sequential Injection Analysis*)
SLA – Estereolitografia (*Stereolithography*)
SLS – Sinterização Seletiva a Laser (*Selective Laser Sintering*)
SQ – Soma dos Quadrados
SSW – Amostradores de Sinal (*Signal Sampling Windows*) – no contexto do aplicativo

TI – Tempo de Injeção

UA – Resina Uretano-Acrilato (*Urethane-Acrylate*)

USP – *United States Pharmacopeia*

UV – Ultravioleta

Lista de Figuras

Figura 1 – (a) Modelo comercial de bomba peristáltica; (b) Vista interna do dispositivo, destacando seus principais componentes.

Figura 2 – Bombas Piezoelétricas. Modelo mp6 Bartels.

Figura 3 – Imagem do sistema de controle das microbombas piezoelétricas. Adaptado de “Operating Manual for the Micropump Driver mp6-QuadKEY”.

Figura 4 – Representação simplificada da reação entre o luminol e o íon hipoclorito em meio básico. Adaptado de Albertin e Colaboradores.

Figura 5 – Proposta do mecanismo de Reação de Albertin e Colaboradores [18] para a reação de quimiluminescência do luminol em meio básico. Destacando também a presença de íons de metal de transição (M^+), utilizando H_2O_2 , como oxidante.

Figura 6 – Sistema de imagens RGB.

Figura 7 – Fórmula estrutural da molécula de captopril.

Figura 8 – Esquema do módulo analítico para a determinação de captopril, onde M1 e M2 representam pontos de confluência e PMT corresponde ao detector com fotomultiplicadora.

Figura 9 – *Layout* dos canais para gravação por ablação a laser em PMMA. As áreas em vermelho indicam as cavidades/reservatórios; as linhas pretas representam os microcanais de fluxo.

Figura 10 – Placa de PMMA (a) antes do polimento e (b) após o polimento.

Figura 11 – Morsa abarcando duas placas de vidro, o substrato e a cobertura para a selagem.

Figura 12 – Placas de PMMA (a) antes da selagem e (b) depois da selagem.

Figura 13 – Conexão da agulha na cavidade da placa.

Figura 14 – Dimensões da estrutura suporte para acomodação do sistema de análise.

Figura 15 – Seção superior da estrutura suporte.

Figura 16 – Esquema de fixação do smartphone para a realização das medidas.

Figura 17 – Seção dois utilizada para acomodação do microssistema.

Figura 18 – Fotografia do compartimento inferior da estrutura. 1- Microbombas piezoelétricas; 2- Arduino nano; 3- fonte de alimentação do sistema (bateria 9V); 4- dispositivo para conexão *bluetooth* (HC-05).

Figura 19 – Chip microfluídico construído por usinagem em Router CNC.

Figura 20 – Ícone do aplicativo microFIA.

Figura 21 – Tela inicial do aplicativo microFIA.

Figura 22 – Tela de ajustes. (1) Tela de detecção em tempo real, (2) controle de exposição, (3) controle de sensibilidade a luz, (4) controle de branco, (5) controle de ajuste do tamanho dos amostradores, (6) amostradores RGB, (7) nome do arquivo, (8) número de injeções por segundo, (9) número de medidas, (10) número de ciclos, botões para condicionamento do sistema “pumps on” e “pumps off”, iniciar e finalizar medidas “start” e “reset”.

Figura 23 – Tela observada durante a aquisição do sinal analítico.

Figura 24 – Microsistema de análise em fluxo com as microbombas piezoelétricas representadas por P1, P2, P3 e P4; S1 Água destilada; S2- padrão (solução de hipoclorito); S3- Amostra; S4 – luminol 0,06 % (m/v) em tampão carbonato pH 11; W- resíduo; RC- bobina de reação; C - Confluência e CFC- Célula de fluxo. Elaborada por: Carolina Félix.

Figura 25 – Representação esquemática da oxidação do captopril (CP) ao seu correspondente dissulfeto (CPDS), ilustrando a reação redox envolvida na supressão do sinal quimiluminescente.

Figura 26 – Seção transversal representando o perfil triangular do canal microfluídico no dispositivo confeccionado por ablação a laser.

Figura 27 – Processo de usinagem do chip microfluídico. Representando o momento de gravação dos canais por fresa e solução água e sabão sobre o substrato polimérico.

Figura 28 – Representação da seção transversal dos canais do dispositivo construído por usinagem.

Figura 29 – Perfil transversal do canal microfluídico fabricado por usinagem. A imagem detalha a geometria trapezoidal resultante do processo de fresagem, delimitando o perfil do canal. São indicadas as dimensões que definem a seção: a altura de 1,0 mm, a base maior de 0,55 mm e 0,30 de base menor.

Figura 30 – Curva analítica para o dispositivo fabricado por micro usinagem.

Figura 31 – FIAgramas comparativos obtidos com os dispositivos fabricados por ablação a laser (E, painel esquerdo) e por usinagem em Router CNC (D, painel direito).

Figura 32 – Curvas de calibração para os dispositivos fabricados por ablação à laser e usinagem, respectivamente.

Figura 33 – (a) Efeito da concentração de Hipoclorito; (b) Efeito do tempo reacional.

Figura 34 – Curvas analíticas referentes ao teste de diferença de potencial; Curva Preta (150V); Curva Vermelha (50V)

Figura 35 – FIAgrama referente à leitura dos padrões (2 a 12 mg/L) e amostras farmacêuticas (A – E); curva de calibração.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Protocolo operacional sequencial do sistema μ FIA para a determinação quimiluminescente de captopril.

Tabela 2 - Teores de captopril em mg/comprimido determinados pelo método proposto e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Tabela 3 - ANOVA utilizando os dados médios de μ FIA e HPLC (n=5 amostras).

Tabela 4 - Resultados do Teste t para Comparação entre os Métodos μ FIA e HPLC na Determinação de Captopril em Comprimidos.

Tabela 5 - Dados da amostra comparados com o rótulo dos comprimidos comerciais.

Tabela 6 - Avaliação da conformidade dos resultados obtidos pelo método μ FIA para a determinação de captopril em comprimidos comerciais, com base nos erros relativos e nos limites de aceitação estabelecidos pelas diretrizes farmacopeicas da ANVISA e da *United States Pharmacopeia*.

Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica

1.1 Sistemas analíticos miniaturizados

A miniaturização de componentes eletrônicos, iniciada nos anos 1960, revolucionou a eletrônica e a computação, tornando-se um pilar fundamental para o avanço tecnológico em diversas áreas. Esse progresso resultou na ampla disseminação de dispositivos compactos (como rádios, TVs, telefones, unidades de armazenamento e computadores) no cotidiano, refletindo tanto a evolução técnica quanto a integração irreversível da miniaturização no estilo de vida moderno [1].

A miniaturização de sistemas analíticos tem redefinido os paradigmas da química analítica contemporânea, consolidando-se como uma tendência essencial para a modernização de metodologias laboratoriais na química. Inicialmente impulsionada pela proposta de *Micro Sistemas de Análise Total (μ TAS)*, a integração de etapas analíticas em dispositivos miniaturizados ganhou força com o avanço da microfluídica, que permite manipular fluidos em escalas de poucos microlitros, reduzindo drasticamente o consumo de reagentes e otimizando a eficiência energética [2].

O trabalho pioneiro de Ruzicka e Hansen na área de sistemas de análise em fluxo, particularmente o desenvolvimento da Análise por Injeção em Fluxo (FIA), aconteceu na década de 1970 como resposta às limitações dos métodos analíticos tradicionais, que eram lentos, demandavam grandes volumes de reagentes e dependiam fortemente de operações manuais. Em um contexto de crescente necessidade de automação laboratorial, eficiência e sustentabilidade, Ruzicka e Hansen propuseram um sistema inovador que integrava a injeção precisa de amostras em um fluxo contínuo de solvente, permitindo a realização de análises químicas rápidas, com alta reprodutibilidade e consumo mínimo de reagentes.

A FIA contribuiu significativamente com a química analítica ao permitir análises automatizadas em tempo real, adaptabilidade a amostras diversas e aplicações em controle ambiental, diagnóstico clínico e aplicações industriais. Além de otimizar a produtividade laboratorial a FIA foi crucial para a evolução rumo à miniaturização analítica [1,2]. Tais princípios fundamentaram a ascensão da microfluídica e o aprimoramento do conceito de Sistemas de Análise Total Miniaturizados (TAS), comumente referidos como *Lab-on-a-Chip* (LOC).

Essas tecnologias potencializaram vantagens analíticas cruciais, como a redução no consumo de reagentes e na geração de resíduos, alinhando-se aos preceitos da Química Verde. Além disso, possibilitaram a integração de múltiplas etapas analíticas, desde o processamento da amostra até a detecção do analito, em dispositivos compactos e portáteis. Dessa forma, esses sistemas miniaturizados tornam-se ferramentas fundamentais para impulsionar diagnósticos *point-of-care* (POC), monitoramento ambiental e a automação laboratorial com elevada frequência analítica [2].

Historicamente, o interesse na miniaturização de sistemas analíticos remonta à década de 1940, consolidando-se em 1975 com o primeiro cromatógrafo gasoso em microescala; no entanto, a aceitação limitada pela comunidade científica na época deveu-se à complexidade dos processos de separação em dimensões reduzidas. Com o avanço da microeletrônica e a crescente demanda por diagnósticos *point-of-care*, tornou-se imperativo o desenvolvimento de métodos que unam rapidez, precisão e portabilidade para aplicações clínicas e ambientais. Nesse contexto, a detecção baseada em imagens digitais surge como uma alternativa disruptiva aos detectores convencionais de alto custo, como as fotomultiplicadoras. Através de sensores integrados em *smartphones* ou *webcams* comerciais, é possível monitorar fenômenos colorimétricos em tempo real, utilizando a decomposição das cores no sistema RGB (vermelho, verde e azul) para a quantificação analítica com alta frequência e custo reduzido [2,3].

Além de oferecer portabilidade, redução de custos e aplicabilidade em POC, esse conceito permite a realização de ensaios químicos descentralizados diretamente no local de necessidade. As plataformas analíticas integradas processam amostras biológicas ou ambientais em resultados quantitativos ou qualitativos em tempo real, dispensando infraestrutura laboratorial centralizada [3]. Entretanto, entende-se que miniaturização enfrenta desafios técnicos, incluindo a reprodução precisa de fluxos microfluídicos, a integração de sensores miniaturizados (eletroquímicos ou ópticos) e a detecção confiável de analitos em baixas concentrações. Sensores baseados em nanotubos de carbono ou nanopartículas têm mitigado parcialmente essas limitações, oferecendo alta seletividade em matrizes complexas. Contudo, a transição de protocolos convencionais para sistemas miniaturizados ainda exige adaptações metodológicas e investimento em infraestrutura de fabricação [3,4].

De acordo com Zagatto et al. (1999), a classificação dos métodos de análise em fluxo evoluiu significativamente quando a transição entre os regimes de amostragem contínua e intermitente superou as limitações da instrumentação convencional. Embora a segmentação por bolhas de ar tenha sido eficaz no controle da dispersão, sua rigidez operacional impulsionou o desenvolvimento de sistemas mais robustos e versáteis, como a Análise por Injeção Sequencial (SIA) e a multicomutação, que elevaram os níveis de automação e gerenciamento de fluidos [5].

Contemporaneamente, essa trajetória culminou nos Sistemas de Análise Total Miniaturizados (TAS), ou *Lab-on-a-Chip* (LOC), nos quais os princípios da análise em fluxo são transpostos para plataformas microfluídicas. Esses sistemas não apenas herdaram a flexibilidade operacional de seus predecessores, mas revolucionaram a prática analítica ao viabilizar uma redução drástica nos volumes de amostras e reagentes, operando em escalas de microlitros a nanolitros, o que minimiza a geração de resíduos e alinha o método às premissas da Química Verde.

Além disso, a integração de múltiplas etapas, como zonas de mistura, bobinas reacionais e células de detecção integradas em um único substrato, confere a portabilidade e automação do protocolo analítico [5].

Desse modo, a evolução dos sistemas analíticos miniaturizados alterou os princípios da prática analítica ao integrar processos em plataformas compactas. Essa integração é viabilizada pelos avanços na microfluídica e pelas técnicas de fabricação de microdispositivos, os quais permitem o controle preciso de fluidos em volumes reduzidos. A consequência direta é a otimização de parâmetros analíticos fundamentais: a redução no consumo de amostras e reagentes, o aumento da frequência analítica e a diminuição na geração de resíduos. Dessa forma, a miniaturização consolida-se não como uma tendência, mas como uma abordagem metodológica que atende a demandas contemporâneas por eficiência e análise descentralizada.

O desenvolvimento recente do campo é marcado pela incorporação de *smartphones* como núcleos multifuncionais para detecção e controle. Esses dispositivos operam como interfaces integradas, desempenhando simultaneamente as funções de detector óptico (por meio de sua câmera), unidade de processamento de dados (via aplicativos dedicados), controlador de atuadores (como bombas piezoelétricas) e terminal de comunicação. Essa convergência entre a plataforma microfluídica e o *hardware* de consumo gera sistemas analíticos portáteis e autônomos.

Portanto, o estado atual da miniaturização é definido pela criação de sistemas híbridos microfluídico-digitais, nos quais o desempenho analítico é assegurado pela sinergia entre o controle físico em microescala e o poder de processamento computacional embarcado.

1.2 Técnicas de Fabricação dos Dispositivos

A fabricação de microdispositivos analíticos inicia-se com a gravação de microcanais em substratos vítreos ou poliméricos, como polidimetilsiloxano (PDMS), polimetilmetacrilato (PMMA) e policarbonato. Esse processo pode ser realizado por diferentes técnicas de fabricação, incluindo a ablação a laser, que promove a remoção localizada de material por meio de feixe pulsado; a usinagem CNC, baseada na remoção mecânica do material por fresagem; pressão a quente, na qual a microestrutura é conformada pela aplicação simultânea de pressão e temperatura; e a fotolitografia, que utiliza processos fotoquímicos para a definição de padrões microestruturados sobre substratos adequados.

Posteriormente, essas estruturas são submetidas à vedação térmica, adesiva ou por plasma, formando assim canais fechados para escoamento controlado de fluidos. Essa abordagem viabiliza a produção de sistemas miniaturizados, onde a manipulação de soluções em pequenos volumes é otimizada para análises químicas automatizadas, sensibilidade, e portabilidade em aplicações analíticas [5,6].

Entre as técnicas tradicionais de fabricação, a fotolitografia destaca-se pela alta resolução na criação de microcanais em substratos de silício ou vidro. Desenvolvida originalmente para a indústria de semicondutores, essa abordagem utiliza máscaras ópticas e radiação UV para transferir padrões a materiais fotossensíveis, permitindo a construção das estruturas. No entanto, seu alto custo e dependência de infraestrutura especializada podem limitar sua aplicação. Essa técnica, é amplamente empregada em sistemas de eletroforese capilar e dispositivos ópticos integrados [6].

A (*soft lithography*) com PDMS revolucionou a criação rápida de dispositivos microfluídicos ao permitir a produção de estruturas minúsculas como um carimbo flexível. Nessa técnica, um molde rígido (gerado por fotolitografia) recebe uma mistura líquida de PDMS que, após cura térmica, forma uma réplica elástica e transparente das microestruturas. O PDMS curado é então selado permanentemente a uma superfície (como vidro), resultando em canais e câmaras microscópicas. Suas vantagens incluem custo reduzido, transparência óptica e facilidade de funcionalização química, tornando-a ideal para diversas aplicações analíticas.

Contudo, a absorção de moléculas hidrofóbicas e a deformação sob pressão são limitações críticas que exigem otimização [6,7].

A impressão 3D emergiu como uma alternativa versátil, permitindo a fabricação de dispositivos com geometrias complexas e componentes integrados. Técnicas como estereolitografia (SLA) e modelagem por fusão a laser (SLS) utilizam resinas foto polimerizáveis ou termoplásticos para produzir estruturas 3D funcionais [7].

Essa abordagem é particularmente útil na criação *chips* para testes farmacológicos e sensores, embora a resolução espacial limitada (50 µm) e a restrição a materiais biocompatíveis ainda representem desafios.

Enquanto a impressão 3D permite a prototipagem de geometrias complexas e componentes integrados, os dispositivos baseados em matrizes de celulose padronizadas destacam-se como plataformas de baixo custo que utilizam a capilaridade para o gerenciamento de fluidos, eliminando a necessidade de bombas externas para diagnósticos rápidos [7,8]. No entanto, a eficácia desses sistemas está condicionada à sensibilidade analítica e à reprodutibilidade da detecção, particularmente em dispositivos baseados em papel, nos quais limitações do substrato e da leitura colorimétrica podem afetar a confiabilidade dos resultados. Assim, sensores de imagem digital, como *smartphones* ou *webcams*, têm sido empregados como alternativas de baixo custo para a detecção analítica [8].

Diante dessas limitações, Fonseca e colaboradores [9] propuseram uma alternativa: a combinação das vantagens de materiais poliméricos com um método de fabricação ágil e de simples aplicação. Os pesquisadores demonstraram a eficácia de microdispositivos produzidos com resina uretano-acrilato (UA) foto polimerizável, empregando fotolitografia profunda por ultravioleta. Essa técnica permitiu a fabricação de sistemas microfluídicos funcionalmente complexos a custos reduzidos, com a vantagem crítica de não exigir ambientes controlados superando assim as restrições de sensibilidade ambiental inerentes aos dispositivos de papel.

Portanto, os dispositivos analíticos miniaturizados demonstram significativas aplicações em diagnósticos clínicos rápidos, monitoramento ambiental sensível e modelos farmacêuticos avançados. Contudo, a plena realização de seu potencial enfrenta obstáculos técnicos, como limitações na escalabilidade industrial e na integração multifuncional de sensores.

O futuro da área aponta para a convergência de soluções interdisciplinares, com a nanotecnologia e a inteligência artificial impulsionando a sensibilidade e a automação, enquanto a priorização de materiais sustentáveis, como biopolímeros, orienta a evolução da área rumo a práticas ambientalmente responsáveis.

1.3 Sistemas de bombeamento de soluções

O bombeamento de fluidos em sistemas analíticos emprega dispositivos cuja seleção é determinada pelos requisitos de precisão e pela aplicação do método. Conforme descrito por Sotomayor (2008), as bombas peristálticas são aplicadas em sistemas de análise em fluxo (FIA) e injeção sequencial (SIA) para o controle de múltiplos canais com vazões constantes.

As seringas motorizadas são utilizadas quando é necessária injeção volumétrica de alta precisão, como em cromatografia ou dosagem de volumes na escala de microlitros. Já as minibombas solenoide e as bombas de aquário são opções para prototipagem ou sistemas que não demandam controle rigoroso de vazão. O gás comprimido aplica-se em sistemas que requerem ausência de contaminação por componentes mecânicos móveis. A seleção do dispositivo baseia-se, portanto, na adequação de suas características operacionais à aplicação analítica específica.

As bombas peristálticas (Figura 1) operam pelo princípio da compressão sequencial de um tubo flexível por um rotor dotado de roletes, gerando um movimento de onda que impulsiona o fluido. Este mecanismo, que evita o contato direto entre o líquido e os componentes mecânicos da bomba, confere a versatilidade necessária para o transporte de uma ampla gama de fluidos, incluindo líquidos, emulsões e suspensões com diferentes viscosidades, em múltiplos canais de forma independente [10]. Sua operação ocorre sem contato direto com componentes mecânicos, exceto pelo tubo flexível comprimido por um rotor, que gera movimentos peristálticos.

A vazão pode ser ajustada de forma contínua ou incremental, seja por meio da alteração da velocidade de rotação da bomba, seja pela modificação do diâmetro interno dos tubos empregados, o que confere elevada flexibilidade operacional para diferentes configurações experimentais e aplicações analíticas. Em razão dessas características, as bombas peristálticas são amplamente utilizadas em sistemas FIA e microfluídicos; contudo, apesar de sua versatilidade e facilidade de operação, apresentam limitações que comprometem aplicações que exigem elevado controle hidrodinâmico e alta precisão analítica.

A pulsação do fluxo, inerente ao mecanismo de compressão e relaxamento periódico do tubo durante a rotação dos roletes, resulta em flutuações periódicas de vazão e pressão. Essas oscilações comprometem a estabilidade do escoamento, introduzindo ruído hidrodinâmico que pode afetar processos sensíveis, como a detecção espectrofotométrica e a formação reprodutível de zonas de reação, além de prejudicar a repetibilidade das medições e a confiabilidade dos resultados analíticos [10–13].

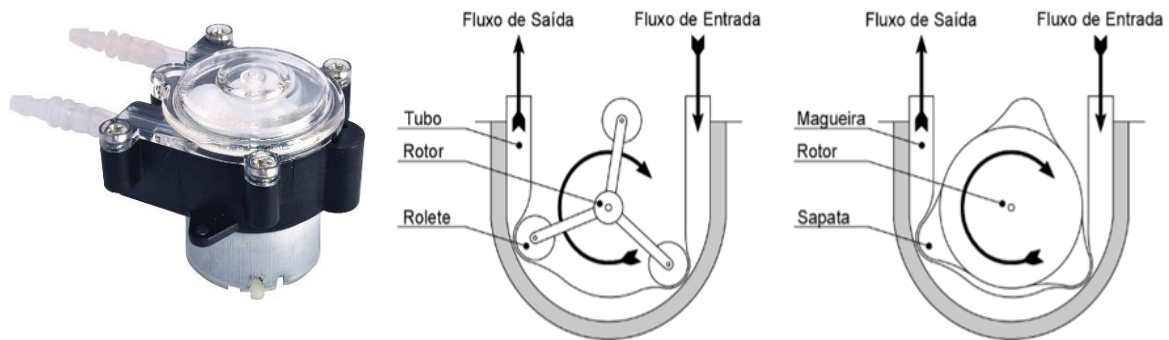


Figura 1 – (a) Modelo comercial de bomba peristáltica; (b) Vista interna do dispositivo, destacando seus principais componentes.

As microbombas piezoelétricas sem válvulas, representadas pela Figura 2, operam pelo princípio da deformação induzida por um potencial elétrico alternado aplicado a um elemento piezoelétrico. Essa deformação cíclica causa a expansão e contração do elemento, alterando o volume de uma câmara de bombeamento acoplada, conforme descrito por [14].

A retificação do fluxo, responsável por assegurar um sentido preferencial de escoamento, é obtida por meio da geometria assimétrica dos microcanais de entrada e saída. Esses microcanais são projetados com formatos distintos, resultando em resistências hidrodinâmicas diferenciadas de acordo com a direção do fluxo. Durante a fase de expansão da câmara de bombeamento, o fluido é aspirado predominantemente pelo canal de entrada, enquanto, na fase de contração, é ejetado majoritariamente pelo canal de saída. Como consequência, a oscilação volumétrica da câmara é convertida em um bombeamento líquido efetivo e contínuo [14,15].

Essa abordagem dispensa válvulas mecânicas móveis, reduzindo a complexidade e os riscos de falha, além de favorecer a miniaturização, a integração e a portabilidade de sistemas microfluídicos e plataformas analíticas compactas [15].



Figura 2 – (a) Bombas Piezoelétricas. Modelo mp6 Bartels. (b) mecanismo de deformação do diafragma para fluxo.

No microsistema proposto, o controle das microbombas piezoelétricas modelo Bartels MP6 é implementado mediante uma placa de circuito dedicada mp6-QuadKEY (Figura 3). Esta placa integra um microcontrolador Arduino Nano e um driver mp6-QuadOEM, formando uma arquitetura de controle centralizada, assegurando portabilidade (consumo total < 3W) e operação simplificada em ambientes de campo. O conjunto compacto (dimensões máximas: 50 × 50 mm) demonstra integração otimizada para sistemas *lab-on-a-chip*, com interligação dos componentes detalhada na Figura 3 [15,16].

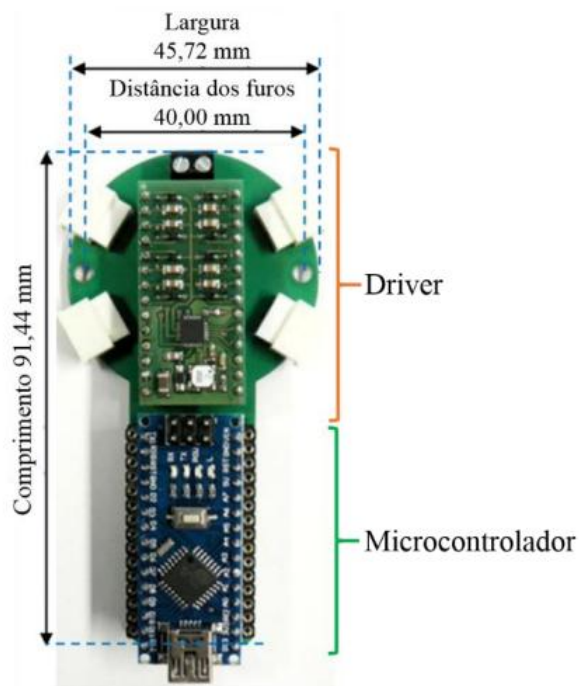


Figura 3 - Imagem do sistema de controle das microbombas piezoelétricas. Adaptado de “Operating Manual for the Micropump Driver mp6-QuadKEY”

Embora as bombas piezoelétricas ofereçam vantagens em miniaturização e controle, sua operação apresenta limitações para aplicações analíticas críticas. A principal delas é a necessidade de operar em vazões mínimas relativamente elevadas para garantir a estabilidade do sinal. Essa condição pode gerar pulsos de pressão que comprometem a estabilidade hidrodinâmica em sistemas microfluídicos, o que introduz variabilidade nos sinais analíticos e aumenta o consumo de reagentes [16]. Outras limitações também devem ser consideradas, uma vez que o desempenho dessas bombas é altamente sensível à presença de bolhas de ar ou partículas em suspensão, as quais podem provocar obstruções nos microcanais e resultar em interrupções abruptas do fluxo.

Por fim, a degradação progressiva do elemento piezoelétrico, associada à fadiga mecânica, pode limitar a vida útil do dispositivo. Adicionalmente, o controle preciso em faixas de vazão muito baixas permanece um desafio, o que restringe sua aplicação em protocolos que exigem manipulação delicada de fluidos ou volumes de injeção reduzidos [16,17].

De forma complementar, o custo unitário aproximado de 60 dólares, embora viável em pesquisa acadêmica, pode representar uma limitação orçamentária em projetos de maior escala ou voltados a aplicações descentralizadas, especialmente quando determinados microssistemas demandam o uso de múltiplas unidades. Nesse cenário, a estratégia de bombeamento deve ser compatível com o método de detecção adotado, assegurando desempenho analítico adequado. Assim, destaca-se a adoção de técnicas de detecção que combinem alta sensibilidade com configurações instrumentais mais simples e estáveis, como a quimiluminescência, abordada no tópico a seguir.

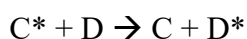
1.4 Quimiluminescência

A quimiluminescência é um fenômeno fotoquímico no qual a energia liberada em reações químicas exotérmicas é diretamente convertida em emissão luminosa, sem a necessidade de excitação externa por radiação eletromagnética. Esse processo ocorre quando espécies intermediárias formadas durante a reação atingem estados eletronicamente excitados e, ao retornarem ao estado fundamental, liberam energia na forma de fótons, geralmente na região do visível ou do ultravioleta próximo [18].

Na natureza, mecanismos análogos são explorados por sistemas biológicos altamente especializados, como os observados em vaga-lumes e diversos organismos marinhos, nos quais variações controladas desse processo, conhecidas como bioluminescência, desempenham funções biológicas específicas [18,19].

O mecanismo químico fundamental da quimiluminescência, conforme descrito por Albertin e colaboradores [18], inicia-se quando, em uma reação, os reagentes adquirem energia suficiente para formar um complexo ativado intermediário, o qual evolui para uma espécie produto em estado eletronicamente excitado. Se essa espécie excitada for intrinsecamente emissiva, ocorre a liberação direta de radiação luminosa. Alternativamente, pode ocorrer um mecanismo indireto, no qual a energia do estado excitado é transferida para uma molécula aceptora adequada, que então emite radiação. Esse fenômeno de transferência energética permite que mesmo intermediários não emissivos gerem luminescência, ampliando significativamente o escopo analítico do método [18,19].

Durante o curso de determinadas reações químicas, pode-se formar uma espécie em estado eletronicamente excitado (C^*), a qual, ao relaxar para o estado fundamental, dissipa o excesso de energia sob a forma de radiação eletromagnética. Esse processo de relaxamento pode ocorrer por dois mecanismos distintos: direto ou indireto. No mecanismo direto, a espécie excitada libera diretamente a energia excedente na forma de emissão luminosa, conforme descrito na Equação 1. No mecanismo indireto, a energia da espécie excitada é transferida a outra molécula, promovendo sua excitação eletrônica [19].



Equação 1: Esquema de reação com formação de espécie excitada e emissão de radiação eletromagnética: (a) mecanismo direto e (b) mecanismo indireto [19].

1.4.1 Quimiluminescência do Luminol

A quimiluminescência do luminol (5-amino-2,3-di-hidroftalazina-1,4-diona) constitui um fenômeno amplamente investigado devido à sua elevada eficiência luminogênica e aplicabilidade em análises forenses, bioquímicas e ambientais.

O mecanismo reacional clássico envolve a oxidação do luminol em meio alcalino (pH 10–12), na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e catalisadores, como íons metálicos (Fe^{2+} , Cu^{2+}) ou enzimas (peroxidase), resultando na emissão de radiação visível na faixa do azul (~425 nm) [19,20].

Uma estratégia analítica baseia-se diretamente na reação de oxidação do luminol pelo íon hipoclorito (OCl^-) em meio básico. Nesta condição, o hipoclorito atua como agente oxidante, iniciando uma sequência reacional que envolve a formação de intermediários instáveis, conforme representado na Figura 4.

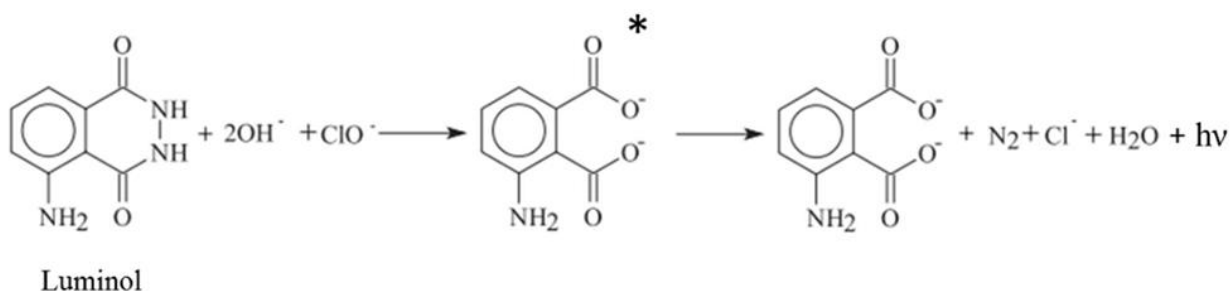


Figura 4 - Representação simplificada da reação entre o luminol e o íon hipoclorito em meio básico.

Adaptado de Albertin e Colaboradores

A cinética da reação entre o luminol e o íon hipoclorito (OCl^-) segue um mecanismo análogo, no qual a etapa limitante também é a formação do endoperóxido. Em condições controladas, essa etapa apresenta cinética de primeira ordem em relação tanto ao luminol quanto ao OCl^- . A presença de catalisadores, como íons metálicos (por exemplo, de cobre ou ferro), reduz significativamente a energia de ativação do processo, acelerando a reação e intensificando a emissão de luz.

Além disso, a eficiência quimiluminescente permanece sensível a parâmetros como temperatura, força iônica e concentração de oxigênio dissolvido, fatores que influenciam criticamente a estabilidade dos intermediários reacionais e a intensidade do sinal final [20].

Em sistemas analíticos avançados, a transferência de energia do 3-aminofatalato excitado para moléculas aceptoras permite modular o comprimento de onda da emissão, ampliando a versatilidade do método. Esse fenômeno é explorado para aumentar a sensibilidade ou adaptar a detecção a instrumentos específicos, como em ensaios imunológicos ou na quantificação de espécies reativas de oxigênio.

A aplicação forense do luminol, por exemplo, baseia-se na detecção de traços de hemoglobina em cenas de crime, onde o ferro presente no grupo heme atua como catalisador, produzindo luminescência mesmo em concentrações nanomolares [20].

A relevância do sistema luminol-H₂O₂ na química analítica moderna reside em sua combinação única de sensibilidade, seletividade e simplicidade operacional [20, 21].

Albertin (1999) apresenta uma explicação detalhada do fenômeno da quimiluminescência do luminol (Figura 5), destacando o papel das interações entre íons metálicos e moléculas orgânicas ao longo da reação. De acordo com o modelo proposto, íons metálicos, como ferro ou cobre, não apenas aceleram o processo reacional, mas também exercem uma função estrutural, favorecendo a organização das moléculas de luminol e peróxido de hidrogênio em arranjos propícios à transferência de energia [21].

Nesse contexto, a reação tem início com a desprotonação do luminol em meio fortemente alcalino, formando um dianion altamente reativo, que é subsequentemente oxidado pelo H₂O₂, resultando na formação de um intermediário endoperóxido instável. A decomposição desse intermediário leva à formação do 3-aminofatalato em estado eletronicamente excitado, o qual, ao retornar ao estado fundamental, emite radiação luminosa característica [21].

Essa organização facilitaria a formação de compostos intermediários instáveis, que rapidamente se decompõem, liberando energia na forma de luz. Além disso, os autores sugerem que a presença de radicais livres no meio reacional (gerados a partir do próprio peróxido de hidrogênio) contribui para a quebra controlada desses intermediários, garantindo a produção eficiente do estado excitado responsável pela emissão luminosa [18-21].

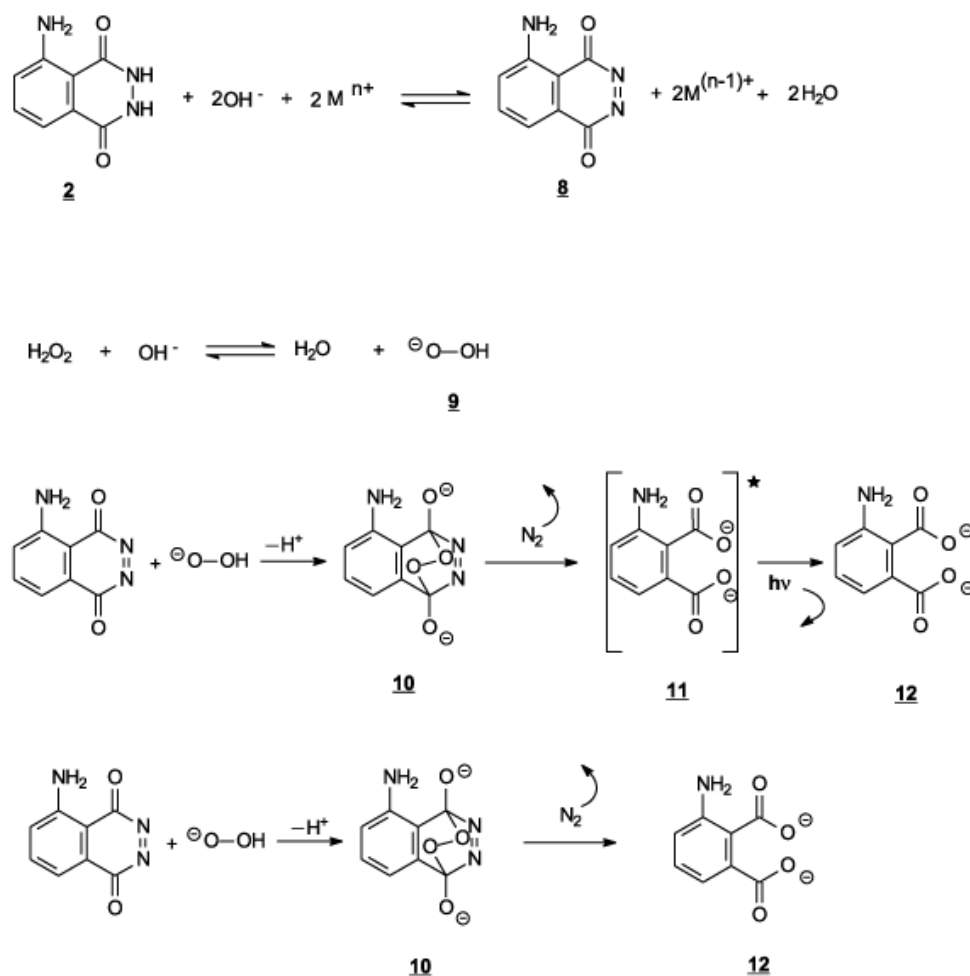


Figura 5 - Proposta do mecanismo de Reação de Albertin e Colaboradores [18] para a reação de quimiluminescência do luminol em meio básico. Destacando também a presença de íons de metal de transição (M^+), utilizando H_2O_2 , como oxidante.

Nesta proposta, a emissão de luminescência está associada à geração da forma eletronicamente excitada do 3-aminofталato (espécie 11). A formação dessa espécie depende de fatores do meio reacional, como o pH, a concentração dos reagentes e a composição do tampão. O produto da reação (espécie 12) pode ser obtido de forma direta, sem emissão de luz, ou por meio do relaxamento da espécie excitada 11, acompanhado de luminescência [21,22].

Diversas etapas intermediárias são cruciais, como a conversão do luminol em diazoquinona (espécie 8) e a geração do ânion HO_2^- (espécie 9), que participam da formação do intermediário endo-peróxido (espécie 10), cuja decomposição pode ou não resultar em quimiluminescência [22].

A detecção quimiluminescente representa uma alternativa vantajosa em relação a métodos ópticos convencionais, como a espectrofotometria UV-Vis, por dispensar o emprego de fontes de radiação externas e de conjuntos ópticos complexos. Essa característica resulta em redução de custos, menor complexidade instrumental e maior potencial de integração em sistemas compactos [22,23]. Nesse contexto, tornam-se viáveis abordagens baseadas em aquisição de imagens digitais, nas quais câmeras de smartphones ou *webcams* adaptadas são utilizadas para registrar a emissão luminosa proveniente das reações quimiluminescente.

Estudos recentes demonstram que essa abordagem alcança limites de detecção comparáveis a equipamentos tradicionais (na faixa de nmol L^{-1} para analitos como peróxido de hidrogênio e íons metálicos), com vantagens decisivas em portabilidade, custo (até 100x menor) e adaptabilidade a ambientes remotos [23]. A integração entre quimiluminescência e análise de imagens digitais representa, portanto, um paradigma emergente para desenvolvimento de sensores analíticos acessíveis e descentralizados [23,24].

1.5 Imagens Digitais

A imagem digital consiste em uma representação discreta de uma cena física por meio de uma matriz bidimensional de elementos pictóricos (pixels), cada um codificado numericamente para descrever atributos de intensidade luminosa. Em sistemas de tons de cinza, cada pixel assume um único valor escalar (0–255), correspondente à intensidade de luz refletida ou emitida. Para a representação cromática, utiliza-se o modelo aditivo RGB (Figura 6), no qual três valores independentes representam as componentes vermelho (R), verde (G) e azul (B) [24]. A intensidade luminosa de cada pixel, portanto, está associada à combinação desses três canais de cor, cuja variação conjunta gera uma ampla gama de cores observáveis [24,25].

Essa estrutura matricial constitui a base das técnicas quantitativas de análise de imagens aplicadas à química analítica, permitindo a extração de parâmetros instrumentais, como intensidade média, distribuição de frequências (histogramas) e perfis de cor, diretamente a partir das medidas colorimétricas. No modelo de cores RGB, cada pixel é descrito pela combinação das três componentes primárias (vermelho, verde e azul), resultando em uma resposta tricromática capaz de fornecer um conjunto diversificado de informações quantitativas relevantes para aplicações analíticas [24,25]. As medidas baseadas em imagens digitais estão diretamente relacionadas às variações de cor e intensidade luminosa da imagem. Para compor uma cor, combinações proporcionais das componentes cromáticas são realizadas.

De forma análoga, o sistema CMYK descreve as cores a partir das componentes ciano (C), magenta (M), amarelo (Y) e preto (K). Já no modelo RGB, cada canal de cor é representado por uma matriz de dados tipicamente codificada em 8 bits, com valores de intensidade variando de 0 a 255. Essa representação digital possibilita a discriminação precisa de cores com base nas respostas luminosas individuais de cada componente, permitindo a extração de informações quantitativas a partir da análise das imagens [25].

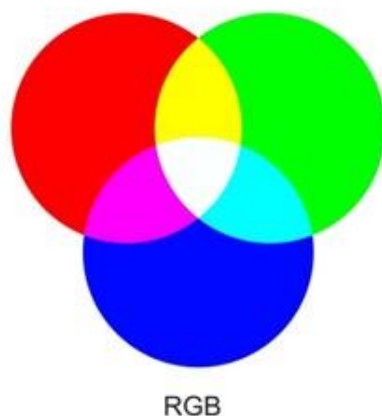


Figura 6 – Sistema de imagens RGB

Assim, sistemas que permitem a comparação quantitativa de perfis cromáticos com padrões de referência mostram-se adequados para aplicações analíticas quantitativas. Dispositivos de aquisição de imagem, como câmeras digitais, webcams e scanners, geralmente equipados com sensores do tipo CCD ou CMOS, são capazes de registrar a radiação refletida ou emitida após a interação do analito com o sistema analítico [25].

A decomposição das imagens no espaço de cores RGB gera respostas tricromáticas (R, G e B) para cada pixel, resultando em matrizes multidimensionais de dados colorimétricos. Esses dados, armazenados em formato digital, constituem a base para técnicas de processamento e interpretação quantitativa, configurando o fundamento da detecção analítica baseada em imagens digitais, abordada no tópico a seguir [25,26].

1.5.1 Detecção analítica baseada no uso de imagens digitais

Os métodos analíticos tradicionais empregados na quantificação de espécies químicas em amostras coloridas, como as técnicas fotométricas e espectrofotométricas, estão frequentemente associados a custos elevados e limitações quanto à mobilidade e portabilidade dos sistemas. Em contraste, abordagens baseadas na análise de imagens digitais, amplamente descritas na literatura, apresentam maior flexibilidade instrumental e potencial de redução de custos, configurando-se como alternativas atrativas para aplicações analíticas [25-27].

Nesse contexto, dispositivos comerciais de fácil acesso, como câmeras digitais, webcams, scanners e smartphones, destacam-se como detectores versáteis, capazes de extrair informações quantitativas de maneira rápida e eficiente. A maioria desses dispositivos opera no espaço de cores RGB (vermelho, verde e azul), o que possibilita a decomposição e a interpretação da informação cromática associada ao sistema em estudo [26,27].

Além da vantagem econômica, a utilização de imagens digitais obtidas por smartphones destaca-se pela elevada adaptabilidade operacional, facilidade de uso e potencial para aplicação em ambientes diversos, reduzindo a dependência de infraestrutura laboratorial complexa [26,27]. Nesse contexto, a quantificação analítica baseada em imagens digitais fundamenta-se na conversão de respostas químicas, como variações cromáticas ou emissões luminescentes, em dados digitais passíveis de tratamento e interpretação quantitativa.

Em geral, a quantificação analítica baseada em imagens digitais é conduzida por meio de três etapas sequenciais e interdependentes:

(i) aquisição da imagem da reação química em plataformas analíticas, como tiras de papel ou microdispositivos, utilizando a câmera do dispositivo de captura;

(ii) processamento digital da imagem, definição da região de interesse (ROI) e extração dos valores de intensidade nos canais de cor do sistema RGB, com priorização do canal azul (B), que apresenta maior correlação com a cor produzida pelo sistema; e

(iii) tratamento matemático dos parâmetros ópticos obtidos, estabelecendo-se a correlação entre a intensidade luminosa registrada e a concentração do analito por meio da construção de curvas de calibração.

Esta abordagem viabiliza limites de detecção relevantes, custo operacional reduzido e capacidade de análise multiplexada, superando limitações de equipamentos convencionais como espectrofotômetros UV-Vis, que demandam infraestrutura laboratorial e investimentos substanciais [25-27].

Dessa forma, a seguir são descritas algumas aplicações representativas em que detectores alternativos foram utilizados, com o objetivo de destacar sua eficácia e potencial em diferentes contextos analíticos.

Andrade e colaboradores [27] empregaram o sistema de cores RGB para a determinação simultânea de alumínio (III) e cromo (IV) em águas naturais. O método envolveu a utilização de uma câmara reacional de 800 μ L, onde os reagentes foram injetados por meio de micro tubos acoplados a uma bomba peristáltica, sob agitação magnética para homogeneização da mistura contendo os íons metálicos e o agente cromogênico quercetina. Os resultados demonstraram limites de detecção inferiores para alumínio (III) e equivalentes para cromo (IV), além de faixas de trabalho ampliadas em comparação ao método convencional de fotometria de chama, destacando a eficiência analítica da abordagem.

No estudo de Lopez e colaboradores [28], o sistema RGB foi aplicado na quantificação de titânio em amostras de plásticos. Uma câmera digital capturou as variações de coloração geradas por uma reação colorimétrica, com as análises realizadas em uma cubeta de 2 mL inserida em uma câmera escura. Os resultados obtidos apresentaram concordância estatística com os valores de referência determinados por plasma indutivo acoplado (ICP), validando o método.

Já Lyra e colaboradores [29], desenvolveram uma metodologia inovadora para a determinação de lítio em antidepressivos, sódio em soro fisiológico e cálcio em águas de irrigação, utilizando uma webcam para capturar a emissão luminosa dos íons em fotometria de chama. Um software customizado foi criado para processar as imagens, calculando a média dos valores RGB em regiões específicas e construindo curvas analíticas individualizadas. O método superou a fotometria de chama convencional, apresentando limites de detecção e quantificação mais baixos.

Em uma abordagem semelhante, Gaião e colaboradores [30] demonstraram a viabilidade da análise por imagens digitais para automação de processos químicos, determinando a alcalinidade de águas.

A inovação centrou-se no uso de uma *webcam* como sensor óptico para monitorar a titulação espectrofotométrica. Através de um *software* dedicado, as variações de cor do indicador foram capturadas e convertidas em curvas de titulação com base nos valores dos canais RGB. Esta estratégia substituiu o detector convencional, automatizando integralmente a identificação do ponto final e validando um protocolo de custo significativamente reduzido e de fácil implementação [29,30].

Apesar das vantagens inerentes à detecção baseada em imagens digitais, como o monitoramento contínuo de sistemas dinâmicos, a simplicidade operacional, a redução de custos e a facilidade de integração instrumental, sua aplicação em sistemas miniaturizados, especialmente em medições fundamentadas em processos luminescentes, ainda é pouco explorada na literatura. Em parte, essa limitação está associada às restrições dos aplicativos de aquisição de imagem, que, em geral, não operam com leitura RGB em tempo real, baseando-se predominantemente na análise de imagens estáticas, além da necessidade de desenvolvimento de aplicativos específicos para cada tipo de operação analítica.

Considerando essas restrições, a investigação de novas abordagens que associem microdispositivos a detectores alternativos configura-se como uma estratégia relevante para ampliar a portabilidade analítica e a qualidade dessas plataformas. À luz dessas considerações, o tópico a seguir apresenta a aplicação dessa abordagem na determinação analítica de captopril.

1.5 Determinação do Captopril

A descoberta do captopril (Figura 7) está diretamente vinculada às pesquisas do médico brasileiro Sérgio Ferreira e colaboradores, que em 1965 isolaram do veneno da jararaca (*Bothrops jararaca*) o peptídeo potenciador da bradicinina (BPF). Este achado seminal elucidou o mecanismo de inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), pavimentando o caminho para o desenvolvimento racional do primeiro fármaco da classe dos inibidores da ECA [30-32].

O captopril, inicialmente comercializado como Capoten®, é um pó cristalino branco administrado por via oral. Em adultos saudáveis, apresenta uma meia-vida plasmática de aproximadamente 1,9 horas. Sua principal aplicação terapêutica é no controle da hipertensão arterial e no manejo da insuficiência cardíaca, atuando como um vasodilatador eficaz por meio do bloqueio do sistema renina-angiotensina-aldosterona [31].

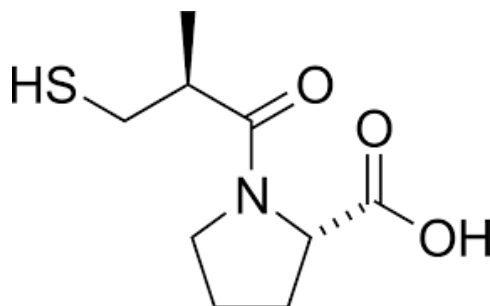


Figura 7 - Fórmula estrutural da molécula de captopril

A análise química do captopril em formulações farmacêuticas é amplamente documentada na literatura, que descreve uma variedade de métodos desenvolvidos para sua quantificação. Entre as abordagens mais empregadas, destacam-se os métodos iodimétricos [31], amplamente utilizados em análises clássicas, bem como técnicas espectrofotométricas [32] e voltamétricas [33]. Adicionalmente, são relatadas técnicas espectroscópicas mais avançadas, como fluorescência e quimiluminescência, métodos eletroquímicos baseados em amperometria e técnicas cromatográficas, tanto em fase gasosa quanto líquida.

Estes métodos se consolidam na literatura analítica contemporânea por combinarem precisão e sensibilidade adequadas ao controle de qualidade farmacêutico, com uma tendência crescente para a automação dos protocolos. Essa automação visa minimizar erros operacionais de origem humana e otimizar a produtividade analítica, aumentando a confiabilidade e a eficiência dos processos de determinação [31-33].

Em 2002, Economou e colaboradores [33] desenvolveram um método de análise em fluxo (ilustrado na Figura 8) para determinação de captopril, baseado no aumento do sinal quimiluminescente proporcional à concentração do fármaco em um sistema reacional envolvendo luminol e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em meio alcalino. O método apresentou faixa linear de 5 a 5000 $\mu g L^{-1}$, limite de detecção de 2 $\mu g L^{-1}$ e desvio padrão relativo de 3,1% ($n = 8$) para 100 $\mu g L^{-1}$, com uma frequência analítica de 180 injeções por hora, demonstrando alta eficiência para análises em série.

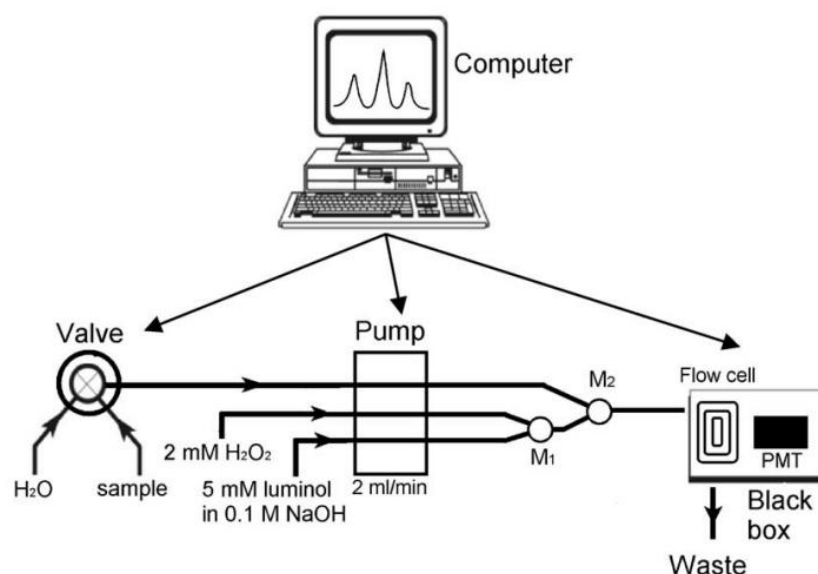


Figura 8 - Esquema do módulo analítico para a determinação de captopril, onde M1 e M2 representam pontos de confluência e PMT corresponde ao detector com fotomultiplicadora.

Entretanto, apesar da alta frequência de análise e sensibilidade, o método proposto, baseado em técnicas voltamétricas, não garante portabilidade, uma vez que depende de uma configuração de fluxo contínuo com bombeamento de reagentes e controle automatizado, características que limitam seu uso em ambientes descentralizados ou com infraestrutura reduzida.

Contudo, essa limitação inerente aos sistemas analíticos convencionais contrasta com a crescente demanda por metodologias portáteis, confiáveis e de operação simplificada, voltadas a contextos com restrições de infraestrutura. Situações como o monitoramento farmacêutico em campo, a verificação da qualidade de medicamentos em unidades de saúde remotas ou a análise em regiões com infraestrutura laboratorial limitada requerem soluções que superem a dependência de equipamentos volumosos, de alto custo e que demandem operadores especializados. É nesse cenário, marcado pela necessidade de maior democratização e descentralização das análises químicas, que se insere a presente proposta de pesquisa [34].

Diante dos resultados documentados na literatura com o uso de dispositivos miniaturizados frente à prova de conceito escolhida, e alinhado às vantagens oferecidas pela detecção baseada em imagem digital (como portabilidade, baixo custo e simplicidade operacional), este projeto avança ao propor a integração sinérgica desses dois conceitos.

Em síntese, a arquitetura dos microdispositivos fluídicos discutidos ao longo desta revisão favorece a automação de protocolos analíticos, possibilitando maior padronização das etapas experimentais, redução da intervenção manual e, conseqüentemente, a minimização de erros operacionais. Associadas à miniaturização, à integração funcional e ao uso de estratégias de detecção alternativas, tais características conferem a essas plataformas, elevado potencial para o desenvolvimento de sistemas analíticos eficientes, acessíveis e compatíveis com análises de rotina em diferentes contextos de aplicação.

Diante desse cenário, esta dissertação dedica-se ao desenvolvimento e à aplicação de um microsistema quimiluminescente integrado à detecção baseada em smartphone, com o objetivo de explorar sua viabilidade analítica, desempenho instrumental e potencial de aplicação.

Objetivos

Geral

Desenvolver e avaliar o uso de sistemas μ FIA (análise por injeção em fluxo em microescala) acoplados a minibombas piezoelétricas, empregando quimiluminescência e imagens digitais, controlado por smartphone, na quantificação de captopril em comprimidos farmacêuticos.

Específicos

- Fabricar microssistemas em PMMA via abração a laser e fresagem com CNC Router;
- Comparar o desempenho analítico dos dispositivos fabricados por ablação a laser e por usinagem com Router CNC, avaliando sensibilidade, resolução de sinal e estabilidade hidrodinâmica;
- Verificar o potencial de detecção para medidas quimiluminescentes em um μ FIA, baseada no uso de imagens digitais;
- Desenvolver e otimizar um microssistema de análise em fluxo (μ FIA) com minibombas piezoelétricas para manipulação de soluções;
- Implementar um sistema de controle via *smartphone* para operação remota do microssistema e detecção por imagens digitais;
- Realizar a validação do método analítico proposto, avaliando parâmetros como linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão.
- Aplicar o sistema validado na quantificação de captopril em amostras comerciais de comprimidos.

Capítulo 2 – Metodologia

Este capítulo descreve os protocolos de fabricação dos dois dispositivos microfluídicos avaliados neste trabalho, um fabricado por ablação a laser e outro mediante usinagem com Router CNC, bem como a montagem e a operação da plataforma analítica completa. A plataforma integra o microssistema selecionado, um sistema de bombeamento baseado em microbombas piezoelétricas, uma estrutura de suporte fabricada por impressão 3D e um *smartphone* para controle e detecção por imagens digitais. Os procedimentos detalhados a seguir permitiram a construção, a caracterização hidrodinâmica e a aplicação analítica dos dispositivos, com o objetivo de comparar seu desempenho na determinação quimiluminescente de captopril.

2.1 Construção do Microssistema por Ablação a Laser

O microssistema desenvolvido neste trabalho foi fabricado em PMMA por meio da técnica de ablação a laser, empregada para a gravação dos microcanais. Esse processo utiliza um feixe de laser focalizado sobre o substrato, promovendo degradação fototérmica localizada e remoção controlada do material, o que permite definir a microarquitetura do dispositivo com alta reprodutibilidade.

A construção do dispositivo compreendeu duas etapas fundamentais: (i) gravação, na qual o feixe de laser define a microarquitetura dos canais por meio de ablação fototérmica localizada do substrato; e (ii) selagem, etapa crucial para assegurar a integridade estrutural e a vedação hermética entre as camadas de PMMA, resultando em canais fechados aptos ao escoamento controlado de fluidos.

Posteriormente, a etapa de selagem térmica foi conduzida para unir hermeticamente a placa gravada a uma lâmina de PMMA lisa (2 mm de espessura), atuando como cobertura. Este processo foi realizado sob condições controladas de temperatura (100 a 110°C) e pressão por um período de 50 minutos, garantindo a integridade estrutural do canal fechado e prevenindo vazamentos ou obstruções que comprometeriam o desempenho hidrodinâmico do dispositivo final.

Neste trabalho, o microssistema fabricado por ablação a laser serve como plataforma central para a integração das etapas analíticas subsequentes. O captopril foi selecionado como uma prova de conceito, permitindo avaliar o desempenho do dispositivo frente a uma reação de detecção por quimiluminescência representativa e demonstrar a eficiência e viabilidade analítica do sistema miniaturizado proposto.

2.1.1 Primeira etapa: Gravação dos canais no substrato

Para a etapa de gravação, o procedimento iniciou com o projeto do *layout* dos microcanais, desenvolvido em ambiente de desenho assistido por computador utilizando o software AutoCAD. Nessa fase, foram definidas com precisão as dimensões e a geometria dos canais e reservatórios que compõem a arquitetura microfluídica. O arquivo resultante foi posteriormente transferido para o programa de controle *LightBurn 8.01*, responsável por converter o projeto vetorial em comandos operacionais e gerenciar os parâmetros do sistema de gravação a laser de diodo com potência de 5 W. Essa sequência de etapas digitais assegurou a reprodutibilidade e o controle dimensional durante a gravação física do substrato (Figura 9).

A definição da profundidade dos canais configura-se como um parâmetro crítico no processo de fabricação, sendo controlada principalmente pela velocidade de varredura do feixe de laser. Contudo, outros fatores como a potência do laser e o tempo de exposição também exercem influência significativa no resultado, demandando ajustes cuidadosos para garantir a reprodutibilidade e a integridade geométrica das estruturas microfluídica.

A escolha das velocidades de gravação e corte foi resultado de um protocolo sistemático de otimização baseado em testes experimentais iterativos. Este processo envolveu a variação controlada de múltiplos parâmetros, incluindo potência do laser, frequência de pulsos, número de passadas, tempo de exposição e a avaliação subsequente da qualidade geométrica e superficial dos canais produzidos. O objetivo central foi estabelecer condições operacionais que garantissem a profundidade e a definição dimensional necessárias para o escoamento microfluídico, sem induzir danos térmicos ou mecânicos ao substrato de PMMA, como carbonização, fusão localizada ou surgimento de microfissuras.

A combinação de velocidades selecionada, 300 mm/min para a gravação das cavidades e 40 mm/min para o corte dos canais, representa um compromisso otimizado entre eficiência de remoção de material e preservação da integridade estrutural do dispositivo. Conforme ilustrado na Figura 9, as cavidades (destacadas em vermelho) foram produzidas por meio da função de preenchimento, na qual ocorre a remoção do material localizado no interior das circunferências definidas, demandando velocidades mais elevadas para garantir eficiência no processo.

Em contraste, os canais (representados em preto) foram obtidos pela função de contorno, que promove a remoção localizada de material ao longo das linhas de gravação, com velocidades mais reduzidas para garantir maior controle dimensional e preservar a integridade estrutural.

Esta otimização assegurou que os microcanais apresentassem perfis regulares e paredes suficientemente lisas, condições essenciais para a posterior selagem hermética e para a estabilidade hidrodinâmica do sistema durante a operação analítica.

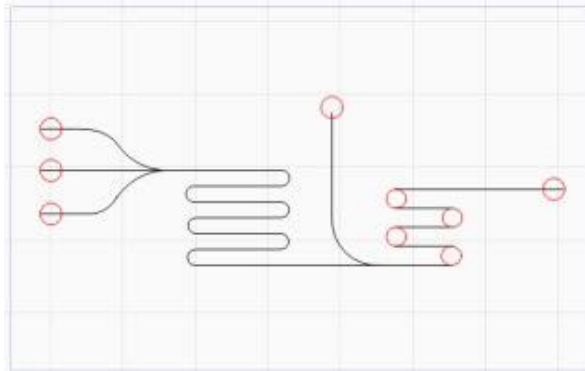


Figura 9 – *Layout* dos canais para gravação por ablação a laser em PMMA. As áreas em vermelho indicam as cavidades/reservatórios; as linhas pretas representam os microcanais de fluxo.

O substrato empregado consistiu em uma placa de PMMA com dimensões de $8,0 \times 5,0$ cm e coloração vermelha. A seleção desta tonalidade deve-se à sua elevada absorção na região espectral correspondente à emissão do laser de diodo utilizado (comprimento de onda próximo a 450 nm). Em contraste, placas de PMMA transparente apresentam baixa absorção nessa faixa, o que impede a conversão eficiente da energia luminosa em calor e, conseqüentemente, a ablação controlada do material. Dessa forma, a coloração vermelha atuou como um elemento fundamental para viabilizar o processo de gravação térmica seletiva, possibilitando a transferência localizada de energia e a remoção precisa do polímero nas regiões predefinidas do desenho microfluídico.

2.1.2 Segunda etapa: Selagem

Após a ablação a laser, observam-se irregularidades superficiais nos canais da placa de PMMA conforme ilustrado pela Figura 10a, as quais podem comprometer a vedação durante a selagem. Para garantir uma superfície lisa e homogênea, realiza-se um polimento sequencial: inicia-se com lixa de grão 280 para remoção de saliências grossas, seguidas por lixas de grão 400 e 600 para refinar o acabamento, e finaliza-se com a aplicação de uma suspensão polidora (Kaol®) em algodão, eliminando micro arranhões (Figura 10b).

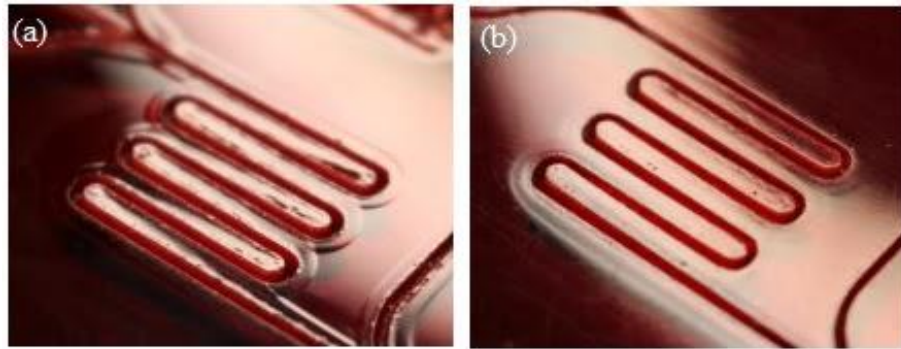


Figura 10 – Placa de PMMA (a) antes do polimento e (b) após o polimento.

A etapa de selagem do dispositivo foi realizada pelo método térmico. Para isso, uma placa lisa de PMMA transparente, com 2 mm de espessura, foi utilizada como cobertura sobre o substrato gravado. Esta montagem foi posicionada entre duas placas de vidro para distribuição uniforme de pressão e submetida a compressão em uma morsa (Figura 11). O conjunto foi então levado a uma estufa, onde foi mantido a 110 °C por aproximadamente 50 minutos. Este protocolo promove a fusão interfacial controlada das superfícies de PMMA, resultando na vedação hermética e definitiva dos microcanais.



Figura 11 - Morsa abarcando duas placas de vidro, o substrato e a cobertura para a selagem.

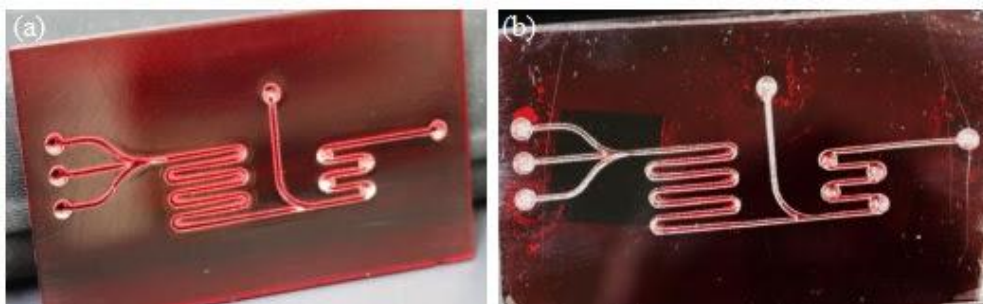


Figura 12 - Placas de PMMA (a) antes da selagem e (b) depois da selagem.

Após a selagem, foram realizadas as conexões nas cavidades previamente perfuradas nos pontos de entrada e saída do sistema, utilizando uma broca de 1,5 mm de diâmetro. Para estabelecer a interface fluídica, agulhas hipodérmicas com diâmetro externo de 1,6 mm foram inseridas nos orifícios, criando uma junta de pressão justa. Posteriormente, segmentos de tubo Tygon® foram acoplados a essas agulhas. Para assegurar uma vedação completa e evitar vazamentos, à base externa de cada conexão foi fixada à placa de PMMA com cola instantânea, conforme ilustrado na Figura 13.

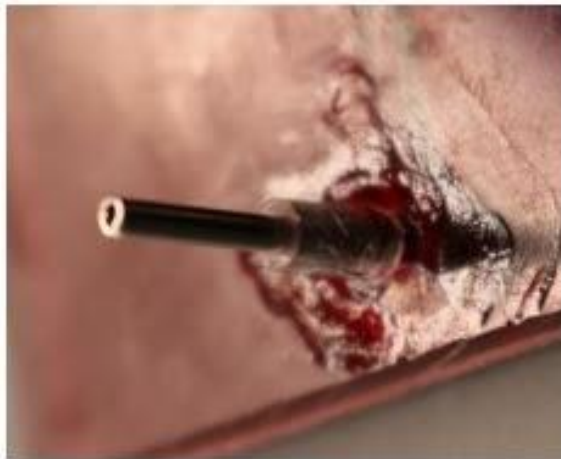


Figura 13 - Conexão da agulha na cavidade da placa.

2.1.3 Montagem do aparato para medidas

O sistema analítico integrado compreende o microsistema de PMMA, quatro microbombas piezoelétricas para controle de fluxo, circuitos eletrônicos de acionamento e controle, uma fonte de alimentação e um *smartphone* para detecção por imagens digitais. Todos esses componentes foram montados em uma estrutura de suporte fabricada por impressão 3D utilizando filamento de ácido polilático (PLA). A impressão foi realizada em uma impressora do modelo Cliever – CL1 Black.

A estrutura, ilustrada na Figura 14, foi projetada em três compartimentos funcionais: (i) superior (Figura 15), para fixação do microsistema do *smartphone* (Figura 16); (ii) intermediário, para acomodação do microsistema (Figura 17); e (iii) inferior, para organização das bombas e circuitos eletrônicos (Figura 18). Com dimensões compactas (14 cm × 13 cm × 9 cm), a montagem prioriza ergonomia, estabilidade mecânica e portabilidade.



Figura 14 - Dimensões da estrutura suporte para acomodação do sistema de análise.

Na primeira seção a estrutura conta com um apoio para o *smartphone* (Samsung J5 Pro), uma janela para aquisição das medidas via câmera do *smartphone*, além de quatro compartimentos onde são colocados os recipientes contendo as soluções (Figura 15).

A estrutura de suporte do *smartphone* consiste em uma tampa que evita a entrada de luz no sistema durante as medições. Ela apresenta duas perfurações para pinos de fixação que se acoplam à face posterior do aparelho, garantindo alinhamento, estabilidade e reprodutibilidade do posicionamento entre diferentes ensaios. Ressalta-se que essa estrutura foi projetada especificamente para o modelo de *smartphone* utilizado neste estudo; contudo, a detecção também pode ser realizada com outros modelos mediante as devidas adaptações.



Figura 15 - Seção superior da estrutura suporte.

Com base na estrutura do documento, o segundo compartimento abriga o microsistema de PMMA (Figura 16), que é fixado à base da estrutura por meio de fita dupla-face (modelo 3M VHB®) para garantir estabilidade mecânica durante a operação. Nesta mesma seção, realiza-se a interface fluídica entre o dispositivo e o sistema de bombeamento: os tubos de Tygon® provenientes das microbombas piezoelétricas são conectados diretamente às agulhas hipodérmicas previamente inseridas nas cavidades de entrada e saída do chip. Essas conexões são posicionadas na face inferior do microsistema, conforme ilustrado na Figura 17, organizando os acessos fluídicos de modo a minimizar interferências na aquisição óptica e facilitar a troca de soluções durante os ensaios analíticos.

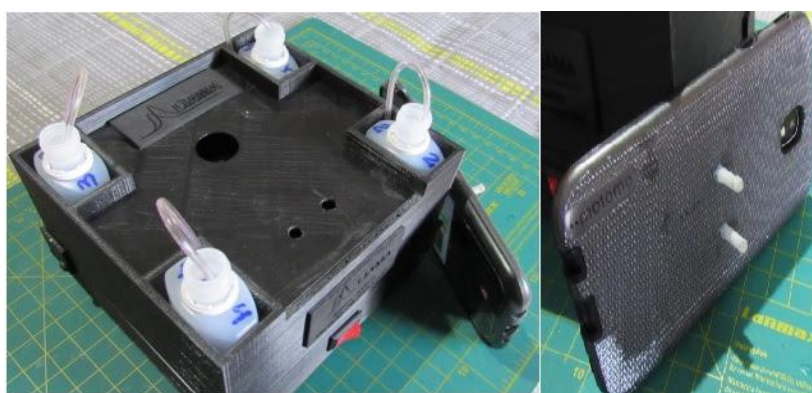


Figura 16 - Esquema de fixação do smartphone para a realização das medidas.

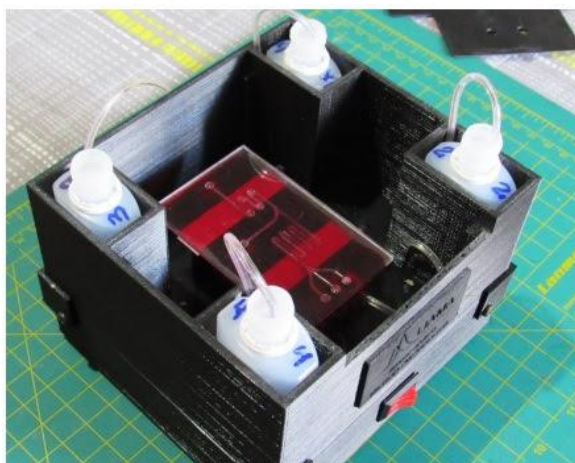


Figura 17 - Seção dois utilizada para acomodação do microsistema.

O compartimento inferior da estrutura abriga os componentes eletrônicos e de controle que conferem autonomia operacional ao sistema. Conforme ilustrado na Figura 18, o núcleo de controle é constituído por um microcontrolador Arduino Nano, programado para gerenciar a sequência analítica e o acionamento dos atuadores. A comunicação com o *smartphone* é estabelecida sem fios por meio de um módulo *Bluetooth* HC-05, que recebe comandos do aplicativo microFIA e os transmite ao microcontrolador. Por sua vez, o Arduino comanda um *driver* específico, responsável pelo controle individualizado das quatro microbombas piezoelétricas (P1 a P4), assegurando a precisão dos tempos de injeção e das vazões durante o protocolo analítico.

A alimentação de todo o conjunto é fornecida por uma bateria recarregável de 9V, a qual confere autonomia de aproximadamente duas horas, viabilizando a portabilidade do sistema para operações de campo. Entretanto, uma fonte externa DC de 9V foi utilizada durante os ensaios.

A interface fluídica entre as bombas e os reservatórios de solução é estabelecida por meio de tubos flexíveis de Tygon®. Esta integração entre componentes eletrônicos, mecânicos e fluídicos em um volume reduzido resulta em uma plataforma compacta e funcional, adequada para a automação de processos microfluídicos em aplicações portáteis.

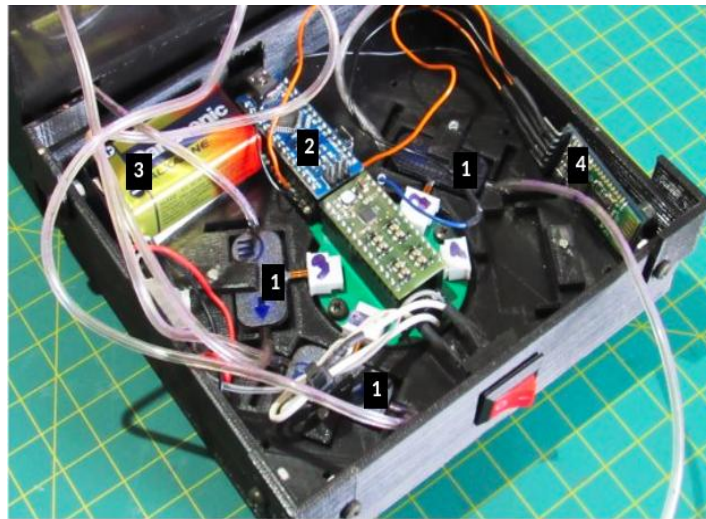


Figura 18- Fotografia do compartimento inferior da estrutura. 1- Microbombas piezoelétricas; 2- Arduino nano; 3- fonte de alimentação do sistema (bateria 9V); 4- dispositivo para conexão *bluetooth* (HC-05).

O módulo *Bluetooth* HC-05 estabelece comunicação sem fio entre o smartphone e o Arduino Nano, que atua como unidade de controle central, enviando comandos ao *driver* das microbombas piezoelétricas para operação individualizada de P1 a P4.

Inicialmente, o sistema foi testado com três bombas; no entanto, a versão final passou a incorporar as quatro unidades disponíveis. Nessa configuração, a mistura era preparada previamente antes de ser injetada no sistema, o que eliminou a necessidade de uma bomba adicional. O conjunto completo, incluindo bateria recarregável, circuitos integrados e *smartphone*, apresenta massa total de 600 g e dimensões compactas ($14 \times 13 \times 9$ cm), compatíveis com a palma da mão.

2.2 Construção do Microsistema por Usinagem

A fabricação do dispositivo microfluídico, ilustrado na Figura 19, foi realizada mediante micro usinagem, empregando-se um equipamento genérico e de baixo custo. O substrato utilizado consistiu em uma placa de PMMA transparente, com dimensões de $80,0 \times 45,0 \times 8,0$ mm. O projeto foi desenvolvido no *software* Aspire 9.1, onde vetores 2D dos canais e cavidades foram convertidos em percursos de usinagem 3D (G-code). Para a usinagem dos canais, foi programada uma profundidade total de 0,6 mm, realizada em duas passagens sequenciais de 0,3 mm. Utilizou-se uma fresa piramidal com ponta de 0,1 mm, adequada à definição precisa das geometrias dos canais.



Figura 19 – Chip microfluídico construído por usinagem em Router CNC

As cavidades circulares (0,6 mm de profundidade) foram usinadas em passagem única mediante a função "Percurso de Preenchimento" (*raster*), enquanto os parâmetros operacionais foram definidos como: rotação do mandril a 450 rpm, avanço linear de 700 mm/min e velocidade de mergulho de 400 mm/min.

O controle da *router* CNC foi realizado via *software* Candle, com resfriamento contínuo à água durante a micro usinagem para prevenir deformação térmica do PMMA e preservar a integridade das estruturas.

Após a usinagem, realizaram-se furos de 1,5 mm de diâmetro nas cavidades circulares para conexão com agulhas hipodérmicas. A etapa final consistiu na selagem térmica do dispositivo: a placa usinada foi unida a uma placa lisa de PMMA mediante prensagem em morsa com mordentes de vidro, submetida a 110°C por 50 minutos em estufa laboratorial. Esse protocolo promoveu fusão interfacial das superfícies, assegurando vedação hermética e transparência óptica para operação do sistema microfluídico. Por fim, ressalta-se que o protocolo de selagem e inserção dos tubos para fluxo dos reagentes nos canais são semelhantes entre os dispositivos fabricados por ablação a laser e usinagem.

2.3 Aplicativo microFIA

Os microssistemas propostos e avaliados no presente estudo são inteiramente controlados por meio de um smartphone, utilizando o aplicativo microFIA (Figura 20), desenvolvido no próprio laboratório. Por meio desse aplicativo, realiza-se o acionamento das microbombas piezoelétricas responsáveis pela propulsão das soluções de trabalho, bem como a aquisição e o processamento dos dados para a detecção do analito por imagem digital, baseada no sistema RGB.



Figura 20 - Ícone do aplicativo microFIA.

Para utilizar o aplicativo microFIA, o usuário acessa o ícone correspondente na seção de aplicativos do celular, representado pela Figura 20. Na tela inicial (Figura 21), seleciona a opção HC-05 para parear o smartphone ao sistema de análise. Em seguida, na próxima tela (Figura 22), clica em *pumps on* para acionar todas as bombas simultaneamente, permitindo que as soluções preencham os canais e condicionem o sistema. Então, no canto superior esquerdo, será exibida a imagem da resposta quimiluminescente na célula de fluxo em tempo real, gerada pela reação entre o luminol e o hipoclorito.

Assim, a fim de melhorar a sensibilidade da detecção, é possível ajustar os parâmetros de imagem no canto superior direito, tais como: equilíbrio de branco (AWB), exposição (EXP) e sensibilidade à luz (ISO).

Os amostradores de RGB (SSW), representados pelos círculos coloridos na Figura 22, têm como função delimitar regiões específicas da imagem onde a cor será quantificada. Através de controles deslizantes na interface, o usuário pode ajustar dinamicamente o diâmetro desses amostradores, definindo assim a área de captura de pixels para análise colorimétrica. Essa operação determina a região de interesse (ROI) onde os valores médios de RGB serão extraídos para correlação com parâmetros analíticos.

Ademais, os amostradores podem ser posicionados conforme a escolha do usuário, sendo recomendado arrastá-los até os pontos em que a luminescência esteja mais intensa (como mostrado na figura 23), aumentando a sensibilidade das medidas. O sistema faz a leitura de R, G e B de cada amostrador e o sinal analítico é gerado, sendo este a soma da média do sinal dos seis amostradores. Após realização dos ajustes, as bombas são desligadas pressionando o botão *pumps off*.



Figura 21 - Tela inicial do aplicativo microFIA.



Figura 22 - Tela de ajustes. (1) Tela de detecção em tempo real, (2) controle de exposição, (3) controle de sensibilidade a luz, (4) controle de branco, (5) controle de ajuste do tamanho dos amostradores, (6) amostradores RGB, (7) nome do arquivo, (8) número de injeções por segundo, (9) número de medidas, (10) número de ciclos, botões para condicionamento do sistema “*pumps on*” e “*pumps off*”, iniciar e finalizar medidas “*start*” e “*reset*”.

Antes de iniciar as medidas, definem-se quatro parâmetros operacionais: primeiro, o nome do arquivo de saída; em seguida, o tempo de injeção em segundos, que determina a duração de ativação das microbombas para introdução volumétrica de reagentes ou amostra; além disso, o número de medidas por ciclo; e finalmente, a quantidade total de ciclos de medição. Esta configuração sequencial garante o controle do protocolo analítico. Esses parâmetros são definidos nos campos “FILE”, “TI”, “MEAS” e “CYC” respectivamente.

A injeção das soluções das amostras ou padrões é realizada de maneira direta e o tempo de injeção ajustado define o volume a ser injetado no microsistema. O número de medidas indica o número de aquisições do sinal a serem realizadas, em intervalos de 0,3 s, para adquirir um pico.

O número de ciclos indica quantos picos serão obtidos para a mesma amostra, de modo que quando se define quatro ciclos terão ao final da medida quatro picos. Destaca-se que a primeira injeção de cada ciclo de medidas é realizada com um tempo maior ligeiramente maior, assim garantindo que seja realizada a ambientação dos tubos que liga o reservatório de soluções de amostra/padrão ao microsistema.

Em síntese, ajustando a opção “CYC” em 4 unidades, significa que serão gerados quatro picos, mas o primeiro pico não deve ser utilizado como um sinal analítico pois refere-se a um pico de condicionamento.

Concluídas todas as etapas de ajuste pode-se dar início às medidas. Clicando no botão “start” o aplicativo passa a exibir uma nova tela (Figura 23), onde é possível ver a formação dos picos referentes a resposta analítica em tempo real. Os picos apresentam três linhas, onde cada uma delas representa o sinal de uma componente na escala RGB, sendo a vermelha para a componente R, verde para a componente G e ciano para a componente B.

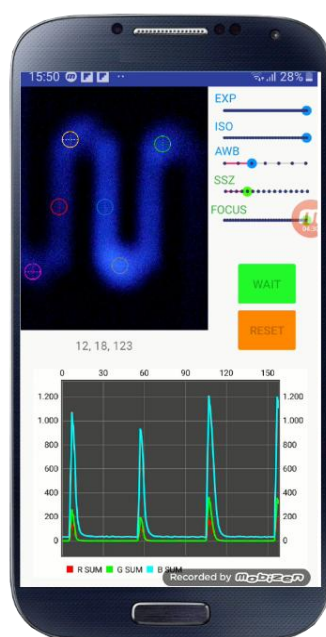


Figura 23- Tela observada durante a aquisição do sinal analítico.

Ao término de cada ciclo de medição, o aplicativo emite um sinal sonoro, indicando ao analista que a amostra ou padrão em análise pode ser substituído. Para iniciar um novo ciclo, basta acionar novamente o botão "start", dando continuidade ao protocolo analítico. Uma vez concluída a análise de todas as amostras, o procedimento é finalizado mediante o acionamento do botão "reset". Esta ação gera e salva automaticamente um arquivo de dados no formato .txt, armazenado em uma pasta interna do *smartphone*. O arquivo contém um registro sequencial de cada medida, incluindo o número de identificação e os valores das intensidades integradas para os canais vermelho (R), verde (G) e azul (B), obtidos a partir dos amostradores de sinal configurados.

Para o processamento e análise estatística desses dados brutos, faz-se necessário o uso de um *software* externo. Por fim, o aplicativo permite a reutilização do mesmo protocolo para novas séries de análises; para isso, o analista deve apenas atribuir um novo nome ao arquivo de saída e acionar "start", sem a necessidade de reconfigurar todos os parâmetros de imagem e operação previamente estabelecidos.

2.4 Soluções de Trabalho

Todas as soluções empregadas neste estudo foram preparadas com água desmineralizada. A água foi obtida por meio de um sistema de purificação por osmose reversa. Os frascos e materiais utilizados no preparo foram previamente lavados para evitar contaminação.

2.4.1 Preparo de Soluções Reagentes

Inicialmente, preparou-se uma solução tampão de carbonato de sódio (Na_2CO_3 , Dinâmica, 99,8%) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 11,0. O ajuste de pH foi realizado mediante adição controlada de ácido clorídrico ($\text{HCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$, Sigma-Aldrich) sobre a solução do sal, utilizando uma pipeta pasteur. Após o ajuste, o volume foi completado para 1000 mL, e a solução foi armazenada.

Posteriormente, uma solução de luminol $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 3,54 mg de luminol (Sigma-Aldrich, $\geq 97\%$) em 10 mL do tampão carbonato (pH 11), sob agitação ultrassônica por 15 minutos. A solução foi protegida da luz e armazenada para evitar degradação fotoquímica.

Uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO), foi preparada a partir de uma solução estoque comercial (10–12% m/v, Dinâmica). Diluições seriadas em água foram realizadas até se obter concentrações adequadas, nas quais o sinal analítico de quimiluminescência atingisse ~ 600 u.a com relação à componente B de RGB. Essa faixa assegurou a linearidade da resposta frente ao branco, mantendo a proporcionalidade entre concentração e intensidade luminosa.

A solução estoque de captopril (500 mg L^{-1}) foi obtida dissolvendo-se 50,0 mg de padrão primário (Sigma-Aldrich, $\geq 99,5\%$) em 100 mL de água. Alíquotas dessa solução foram diluídas para preparar padrões na faixa de $2\text{--}25 \text{ mg L}^{-1}$.

2.4.2 Preparo de Amostras de Comprimidos

Foram analisadas cinco amostras comerciais de comprimidos de captopril, provenientes de diferentes lotes e fabricantes. Para cada amostra, três comprimidos foram pesados individualmente em balança analítica, macerados em almofariz de ágata até completa pulverização e, em seguida, homogeneizados manualmente para garantir uma mistura representativa do material a ser dissolvido.

A massa média equivalente a um comprimido foi dissolvida em 100 mL de água desmineralizada em balão volumétrico de 100 mL, sob banho ultrassônico por 15 minutos, para garantir solubilização completa do composto.

As soluções resultantes foram filtradas a vácuo utilizando filtros de baixa porosidade (porosidade 0,45 μm , Millipore) para remover excipientes insolúveis. Em seguida, diluições adequadas em água ultrapura foram realizadas para ajustar a concentração de captopril à faixa da curva analítica (5–20 mg L^{-1}).

2.4.3 Procedimento de Análise

O sistema microfluídico de análise por injeção em fluxo (μFIA) opera por meio de um protocolo sequencial e automatizado. A Figura 24 mostra um esquema do arranjo proposto para as medidas.

Inicialmente, configura-se o aplicativo, ajustando parâmetros de imagem (exposição, balanço de branco e foco) e posicionando os sensores RGB para captura do sinal luminoso, além de definir o nome do arquivo de saída.

Ao acionar o botão *start*, o sistema inicia um ciclo automatizado: as microbombas P2 e P3 injetam simultaneamente a solução de hipoclorito (S2) e a amostra/padrão de captopril (S3) no canal microfluídico. Esses fluxos se combinam em zonas coalescentes específicas, sendo elas regiões com geometria serpentina. Essa etapa leva à reação entre o hipoclorito e o captopril, favorecendo a detecção analítica.

Decorridos 5 segundos, as bombas P2 e P3 são desativadas. Nesta etapa, a bomba P1 assume a função de carregar o sistema com água, transportando o volume injetado anteriormente. Simultaneamente, a bomba P4 entra em operação, introduzindo a solução de luminol (S4) no circuito.

As duas correntes líquidas confluem no ponto de mistura (C), onde ocorre a homogeneização das soluções. Este encontro promove a reação química entre o hipoclorito e o luminol na célula de fluxo contínuo (CFC), desencadeando o fenômeno de luminescência.

A emissão apresenta um pico espectral característico em torno de 425 nm. Esta radiação luminosa é captada diretamente pela câmera do *smartphone* por meio de um aplicativo dedicado, gerando um gráfico e salvando automaticamente os dados. Posteriormente, os arquivos são exportados para processamento externo em *software* específico, onde são analisados para extrair os dados quantitativos, representados principalmente pela altura dos picos de emissão.

Para garantir a confiabilidade analítica e a fidelidade dos resultados, um intervalo de tempo é inserido intencionalmente entre ciclos analíticos consecutivos. Essa pausa permite a estabilização hidrodinâmica do sistema, a dissipação completa de resíduos luminescentes e o retorno confiável da linha de base antes de cada nova medição.

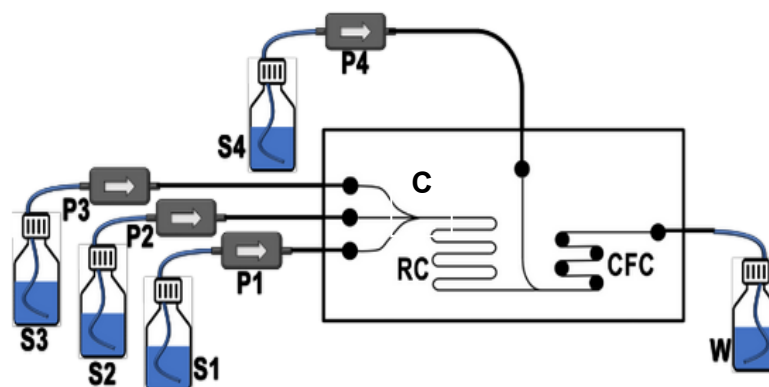


Figura 24 - Microsistema de análise em fluxo com as microbombas piezoelétricas representadas por **P1, P2, P3 e P4**; **S1** Água destilada; **S2**- -padrão (solução de hipoclorito); **S3**- Amostra; **S4** – luminol 0,06 % (m/v) em tampão carbonato pH 11; **W**- resíduo; **RC**- bobina de reação; **C** - Confluência e **CFC**- Célula de fluxo.

Elaborada por: Carolina Félix

2.4.4 Princípios da Medida

O princípio da medida segue um protocolo sequencial automatizado que integra a injeção, mistura e reação dos reagentes para a detecção quimiluminescente do captopril. Inicialmente, as bombas P2 e P3 injetam simultaneamente a solução de hipoclorito (S2) e a amostra contendo captopril (S3), que se misturam em uma zona coalescente, onde ocorre a reação redox inicial entre o analito e o oxidante conforme as etapas representadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Protocolo operacional sequencial do sistema μ FIA para a determinação quimiluminescente de captopril.

Etapa	Bombas	Soluções	Ação	Resultado
1	P2 + P3	S2 (hipoclorito) + S3 (captopril)	Injeção \rightarrow Mistura em zona coalescente	Reação redox inicial
2	OFF	-	Parada 5 segundos	Mistura e transporte
3	P1 + P4	Água (P1) + S4 (luminol)	Transporte do volume + injeção S4 \rightarrow Mistura em C	Homogeneização final
4	P1 + P4	Mistura total	Fluxo para CFC	Luminescência (detecção)

Após um intervalo de 5 s, necessário para assegurar a completa reação do captopril com o hipoclorito, a bomba P1 injeta água para promover o transporte do volume reacional ao longo do sistema microfluídico, enquanto a bomba P4 introduz a solução de luminol (S4).

A confluência desses fluxos no ponto C possibilita a reação do luminol com o hipoclorito remanescente, resultando na emissão de luz na célula de fluxo contínuo (CFC).

A intensidade da luminescência gerada é inversamente proporcional à concentração de captopril presente na amostra, uma vez que o fármaco reage preferencialmente com o hipoclorito, diminuindo a quantidade deste oxidante disponível para excitar o luminol. Assim, maiores concentrações de captopril levam à redução do sinal quimiluminescente. A detecção da emissão luminosa é realizada pela câmera do smartphone, sendo o sinal quantificado por meio da análise dos canais RGB, com predominância do canal azul (B), característico da emissão do luminol.

Esse arranjo experimental possibilita uma quantificação rápida e reprodutível, aliando elevada frequência analítica a um consumo reduzido de reagentes, características desejáveis para aplicações em análises de rotina e sistemas analíticos miniaturizados.

Assim têm-se que o sinal analítico, nos sistemas propostos, é definido como a diferença entre a altura do pico do branco e a da amostra ou padrão, representando a resposta atribuída exclusivamente ao analito e permitindo a minimização de interferências e do efeito de fundo.

Capítulo 3 – Resultados e Discussão

Os resultados obtidos com os microssistemas fabricados são apresentados e discutidos neste capítulo, iniciando pela caracterização dos dispositivos produzidos por ablação a laser e por usinagem com Router CNC. A seguir, detalha-se a otimização dos parâmetros químicos e operacionais do método quimiluminescente – concentração de hipoclorito, tempo de reação e vazão. O princípio analítico fundamenta-se na oxidação do luminol pelo hipoclorito, que gera 3-aminofталato em estado eletronicamente excitado; ao retornar ao estado fundamental, essa espécie emite radiação em cerca de 425 nm.

A presença de captopril consome parte do hipoclorito por meio de uma reação redox competitiva, reduzindo a quantidade de oxidante disponível para formar o 3-aminofталato excitado e, conseqüentemente, diminuindo a intensidade da emissão de forma proporcional à concentração do analito. A quantificação de captopril em comprimidos comerciais, a validação do método, a comparação com cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a análise estatística dos dados constituem a parte final da discussão.

O captopril é suscetível à degradação oxidativa, formando o dissulfeto de captopril por oxidação do grupo tiol (-SH), sendo que, estequiometricamente, meio mol de oxigênio é suficiente para oxidar dois mols do fármaco, conforme a Figura 25. De modo análogo, no sistema analítico, o captopril consome seletivamente o hipoclorito por oxidação competitiva, reduzindo a disponibilidade do oxidante para a reação quimiluminescente do luminol e promovendo a supressão proporcional da intensidade do sinal luminescente [35].

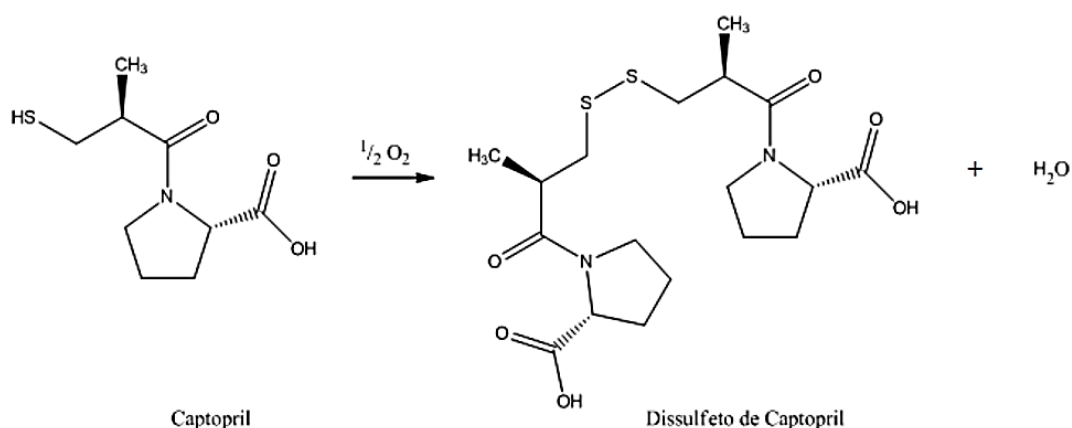


Figura 25 - Representação esquemática da oxidação do captopril (CP) ao seu correspondente dissulfeto (CPDS), ilustrando a reação redox envolvida na supressão do sinal quimiluminescente.

A redução na concentração de OCl^- disponível limita a oxidação do luminol e, conseqüentemente, diminui a formação da espécie eletronicamente excitada responsável pela emissão luminosa. Como resultado, estabelece-se uma relação inversamente proporcional entre a intensidade do canal azul (B) do sistema RGB e a concentração do analito, o que possibilita a quantificação indireta do captopril com sensibilidade analítica adequada à aplicação proposta.

3.1 Microssistema fabricado por ablação a laser

A fabricação do microssistema por ablação a laser foi viabilizada em substratos de PMMA vermelho, material com coloração selecionada em razão de sua elevada eficiência na absorção da radiação azul emitida pelo laser de diodo, garantindo condição essencial para promover a remoção térmica controlada do material e assegurar a reprodutibilidade do processo de gravação dos microcanais. Essa característica permitiu a obtenção de estruturas bem definidas, com preservação da integridade do substrato e minimização de danos térmicos indesejados.

Após a etapa de selagem térmica, o desempenho hidrodinâmico do microssistema foi avaliado por meio do bombeamento de soluções aquosas utilizando microbombas piezoelétricas, conectadas aos microcanais por agulhas hipodérmicas e tubos flexíveis de Tygon®. Previamente ao acionamento das microbombas, os microcanais foram lavados manualmente com água deionizada utilizando uma seringa médica, com o objetivo de remover resíduos do processo de fabricação e realizar uma verificação preliminar da ausência de vazamentos nas regiões de selagem e nas conexões.

Em seguida, o escoamento foi acompanhado visualmente ao longo de todo o percurso fluídico, possibilitando confirmar a inexistência de obstruções nos microcanais, bem como a estabilidade do fluxo sob as condições avaliadas. Esses testes permitiram comprovar a integridade estrutural do dispositivo e a viabilidade do fluxo contínuo e reprodutível, requisitos fundamentais para a aplicação analítica do sistema microfluídico.

A seleção do PMMA vermelho como substrato não apenas viabilizou o processo de ablação, como também resultou em uma geometria de canal otimizada para o escoamento microfluídico. Conforme evidenciado pelos cortes transversais apresentados na Figura 26, os microcanais exibem um perfil triangular bem definido, com largura aproximada de 0,5 mm e profundidade de cerca de 1,5 mm.

Essa geometria, característica do processo de remoção térmica por laser, favorece um escoamento laminar estável e reduz a dispersão axial do analito e uma resposta analítica mais reprodutível. O volume interno total do dispositivo foi calculado com base na área da seção transversal (Figura 26) e comprimento linear dos canais, em aproximadamente 120 μL , dimensão compatível com a miniaturização do sistema e com o consumo reduzido de reagentes, mantendo condições adequadas para a detecção quimiluminescente em estudo.

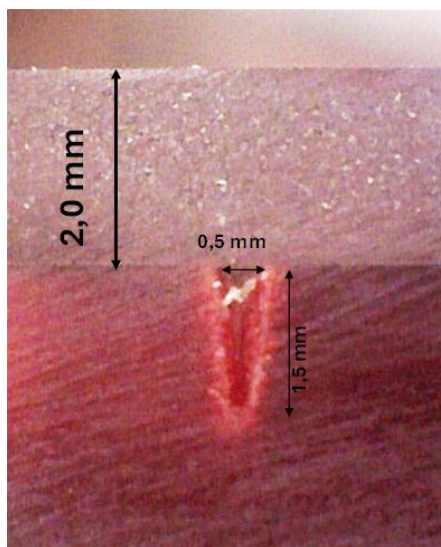


Figura 26 – Seção transversal representando o perfil triangular do canal microfluídico no dispositivo confeccionado por ablação a laser.

3.2 Microssistema fabricado por usinagem

O microssistema fabricado por micro usinagem (Figura 27) demonstrou integridade estrutural satisfatória, confirmada por testes hidrodinâmicos prévios à análise de amostras. Durante a usinagem a aplicação contínua de água com sabão sobre o substrato foi essencial para minimizar o atrito térmico da fresa, reduzir a rugosidade superficial e remover resíduos de usinagem dos microcanais. Este procedimento resultou em canais fluídicos livres de obstruções e com paredes menos ásperas, garantindo ausência de vazamentos e permitindo um fluxo laminar adequado.

A estrutura dos microcanais, com seus parâmetros dimensionais preservados, possibilitou a implementação eficiente da detecção por quimiluminescência baseada em imagens digitais, favorecida pela otimização da mistura reacional.



Figura 27 – Processo de usinagem do chip microfluídico. Representando o momento de gravação dos canais por fresa e solução água e sabão sobre o substrato polimérico.

A Figura 28 apresenta a seção transversal do microcanal principal do dispositivo fabricado pela técnica de micro usinagem com *router* CNC. A imagem revela que o perfil do canal resultante deste processo é trapezoidal, uma geometria característica e diretamente influenciada pelo movimento rotativo da fresa de corte durante a fabricação.

Este formato difere do perfil triangular típico obtido por ablação a laser e tem implicações diretas nas propriedades hidrodinâmicas do sistema, afetando parâmetros como a razão superfície/volume, o atrito parietal e o padrão de escoamento dentro do chip microfluídico.

Conforme ilustrado na Figura 29, as dimensões que definem este perfil trapezoidal são especificadas por uma base maior de 0,55 mm, uma base menor de 0,30 mm e uma profundidade de 1,1 mm, ao longo de um comprimento total dos canais de aproximadamente 21 cm. Considerando essa geometria transversal, bem como a presença de cinco cavidades cilíndricas adicionais com 2 mm de diâmetro e 1,3 mm de profundidade, o volume total estimado do dispositivo microfluídico é da ordem de **0,13 mL (130 μ L)**.

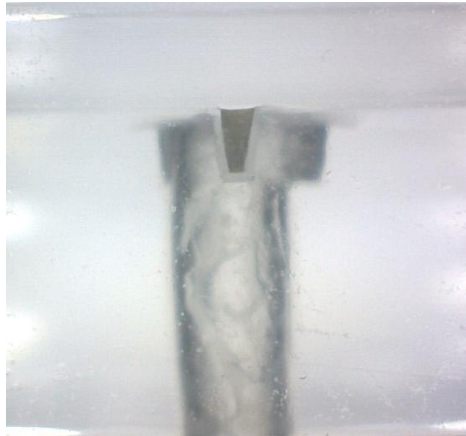


Figura 28 – Representação da seção transversal dos canais do dispositivo construído por usinagem.

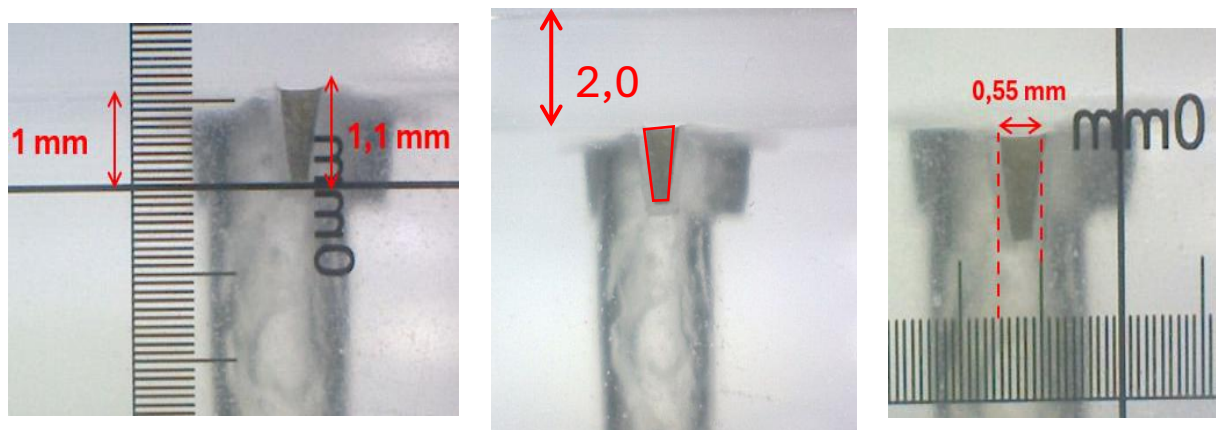


Figura 29 – Perfil transversal do canal microfluídico fabricado por usinagem. A imagem detalha a geometria trapezoidal resultante do processo de fresagem, delimitando o perfil do canal. São indicadas as dimensões que definem a seção: a altura de 1,0 mm, a base maior de 0,55 mm e 0,30 de base menor.

As dimensões dos canais no dispositivo de micro usinagem favoreceram uma maior dispersão do analito no fluxo, resultando em diluição e redução da concentração efetiva na zona de detecção. Isso pode explicar diferenças de sensibilidade ou sinal entre os dispositivos, ainda que ambos tenham geometrias microfluídicas funcionais. Além dos testes apresentados, foi realizado também um ensaio de resistência dos canais microfluídicos sob aplicação de pressão, com o objetivo de avaliar a integridade estrutural do dispositivo e a ausência de vazamentos.

Os *chips* microfluídicos demonstraram desempenho satisfatório, resistindo a pressões de até 20 psi, mesmo quando submetidos à circulação de diferentes solventes orgânicos, tais como propanol, etanol, metanol e acetonitrila. A estrutura dos microcanais, com seus parâmetros dimensionais foram preservados

Essa característica, aliada a possíveis variações na homogeneidade da mistura reacional, pode contribuir para explicar a performance analítica observada. Os resultados obtidos evidenciam a influência crítica das técnicas de fabricação na sensibilidade de microssistemas microfluídicos, reforçando a vantagem de métodos como a ablação a laser em aplicações que demandam elevada precisão em escala micrométrica. Uma análise comparativa mais detalhada entre as técnicas de fabricação empregadas será apresentada na Seção 3.3.

No contexto da fabricação dos dispositivos microfluídicos, a resposta analítica obtida na determinação de captopril na faixa de 5 a 25 mg L⁻¹ (Figura 30) foi influenciada por características inerentes ao processo de usinagem empregado. A técnica de *Router* CNC resultou em microcanais com perfil trapezoidal, o qual difere da geometria obtida por ablação a laser e deve ser considerado como um fator metodológico relevante. Essa geometria pode alterar o volume interno do canal, a área de contato fluido–superfície e o regime de escoamento, influenciando as condições de mistura e o tempo de residência dos reagentes na região reacional.

Além disso, o acabamento superficial decorrente do processo de usinagem pode afetar tanto a interação do fluido com as paredes do microcanal quanto a propagação e a coleta da radiação quimiluminescente. Dessa forma, as particularidades geométricas e superficiais associadas à técnica de fabricação por usinagem constituem variáveis metodológicas que devem ser consideradas na construção e no desempenho do microssistema analítico.

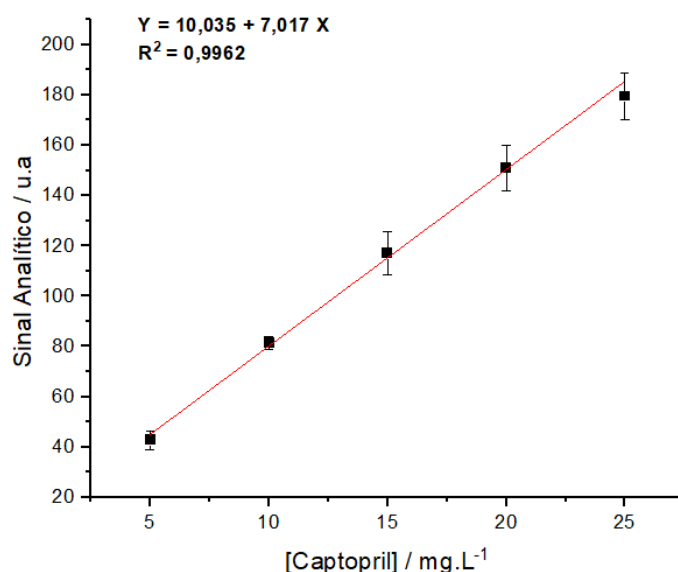


Figura 30 - Curva analítica para o dispositivo fabricado por micro usinagem.

3.3 Determinação de Captopril

Para a análise das amostras de comprimidos de captopril disponíveis comercialmente, optou-se pelo microssistema desenvolvido por ablação a laser, cuja maior sensibilidade analítica foi determinante para sua escolha em relação aos dispositivos fabricados por micro usinagem. Ao longo desta seção, serão apresentados os FIAGramas obtidos, bem como as respectivas curvas de calibração para os dispositivos construídos por ambos os protocolos de fabricação. Essa abordagem possibilitou a detecção adequada do analito, evidenciando o desempenho superior do microssistema produzido por ablação a laser para aplicações analíticas.

Previamente à etapa analítica, foram investigados e otimizados parâmetros que assegurem a eficiência do método, incluindo a influência da concentração de hipoclorito de sódio e do tempo de reação sobre a resposta analítica. Tais avaliações foram essenciais para estabelecer condições experimentais ideais, garantindo que as medições quimiluminescentes refletissem com melhor precisão a concentração do princípio ativo nas amostras em estudo.

Assim, têm-se que a Figura 31 apresenta um comparativo entre os sinais quimiluminescentes obtidos com dispositivos microfluídicos fabricados por ablação a laser (E) e por usinagem em Router CNC (D), evidenciando a influência do método de fabricação sobre o desempenho analítico do sistema proposto.

Observa-se que ambos os dispositivos são capazes de gerar resposta quimiluminescente detectável; entretanto, diferenças significativas na intensidade do sinal são verificadas.

A Figura 32, indica que, para a concentração de 25 mg L^{-1} de captopril, por exemplo, o dispositivo fabricado por ablação a laser apresentou um sinal inicial de aproximadamente 450 unidades de intensidade luminosa, valor consideravelmente superior aos cerca de 300 u.a. obtidos com o dispositivo confeccionado por usinagem em Router CNC. A maior intensidade de sinal proporcionada pelo dispositivo a laser resultou em uma melhor distinção entre os picos correspondentes às diferentes concentrações, refletindo diretamente em uma superior sensibilidade (inclinação das curvas analíticas).

Do ponto de vista analítico, a maior intensidade do sinal obtida com o dispositivo por ablação a laser favorece uma maior discriminação entre concentrações próximas, reduzindo a sobreposição de sinais e aumentando a sensibilidade do método.

Em sistemas quimiluminescentes, nos quais a resposta analítica depende diretamente da eficiência da reação e da estabilidade hidrodinâmica, esse incremento de sinal contribui para leituras mais claras, reprodutíveis e com menor incerteza associada à quantificação.

Dessa forma, a maior intensidade inicial do sinal, aproximadamente 450 u.a. a 25 mg L^{-1} , e a melhor resolução entre os picos obtidas com o dispositivo fabricado por ablação a laser justificam sua escolha como plataforma padrão neste trabalho. No FIAGrama, essa resolução é evidenciada pela clara distinção entre o pico do branco analítico, correspondente à água e identificado como B e 0,0, que representa a concentração zero de captopril, e os picos referentes às amostras contendo o analito.

Destaca-se que o desempenho analítico observado não está relacionado à coloração do substrato utilizado na fabricação do microssistema. A escolha do PMMA vermelho no dispositivo obtido por ablação a laser deve-se exclusivamente à maior eficiência de absorção da radiação azul incidente, condição necessária para viabilizar o processo controlado de ablação. Após a fabricação e selagem do chip, a cor do material não exerce influência significativa sobre o sinal quimiluminescente detectado, uma vez que a emissão é coletada diretamente na região ativa do microssistema, ou seja, a radiação emitida atravessa a lâmina transparente de PMMA usada na selagem e não o PMMA vermelho, assegurando que os resultados obtidos estejam associados às características geométricas e hidrodinâmicas do dispositivo, e não à coloração do substrato.

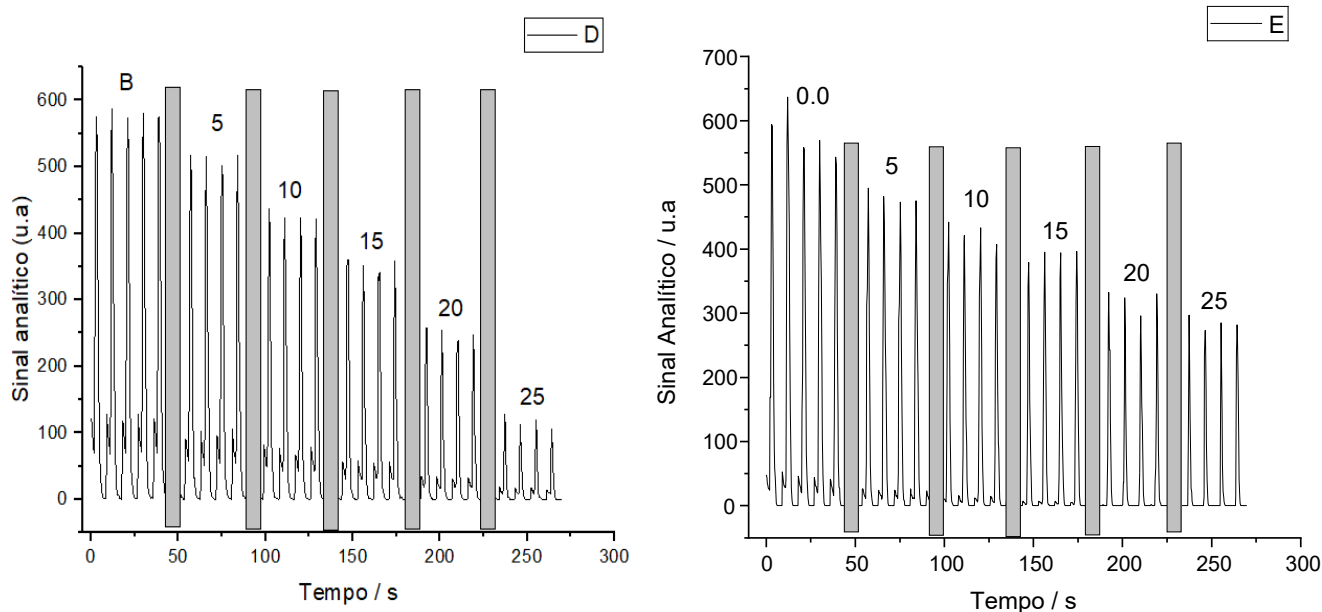


Figura 31 – FIAGRAMas comparativos obtidos com os dispositivos fabricados por ablação a laser (D, painel esquerdo) e por usinagem em Router CNC (E, painel direito).

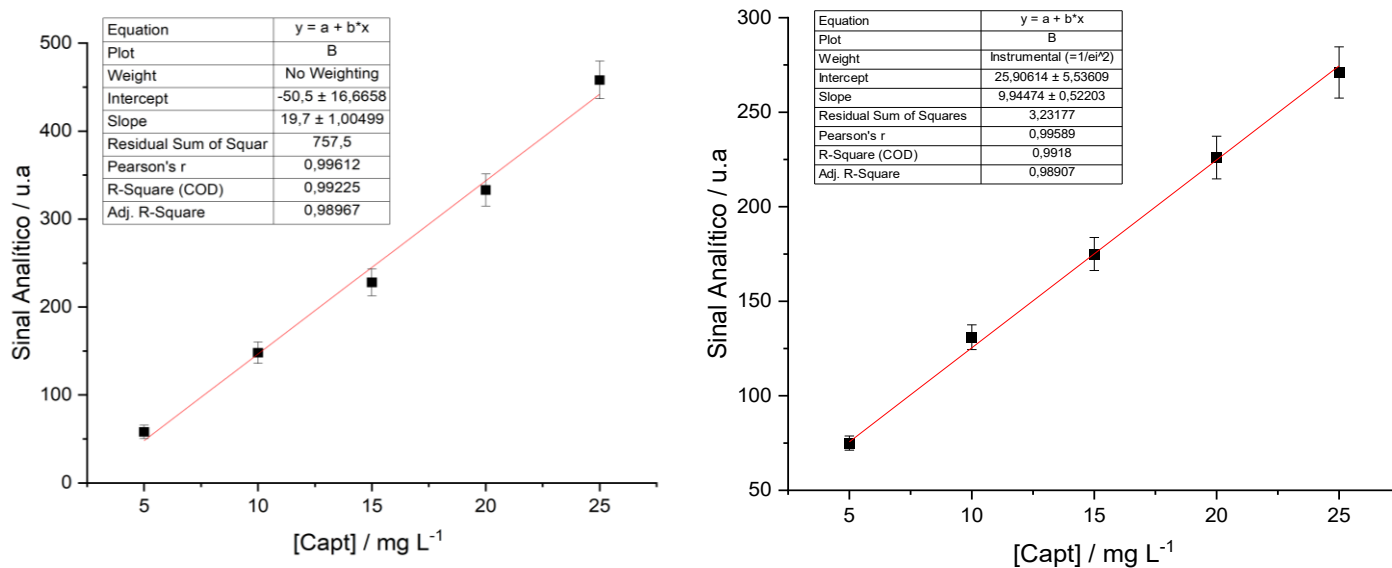


Figura 32 - Curvas de calibração para os dispositivos fabricados por ablação à laser e usinagem, respectivamente.

Por fim, superioridade do desempenho do dispositivo fabricado por ablação a laser pode ser atribuída à melhor definição geométrica dos microcanais, à menor rugosidade superficial e à maior uniformidade dimensional proporcionadas por essa técnica de fabricação.

Quanto ao desempenho analítico, o sistema demonstrou sensibilidade adequada para a quantificação de captopril.

Uma curva analítica linear foi obtida na faixa de trabalho investigada, validando a resposta proporcional do método. A determinação do fármaco foi realizada pelo microsistema fabricado por ablação a laser, técnica que conferiu maior intensidade de sinal analítico e estabilização eficaz das espécies reativas, sendo um dos fatores decisivos para o desempenho metodológico. A análise detalhada do FIAGrama, que comprova a reprodutibilidade e da curva de calibração linear ($R^2 = 0,99683$), demonstrando a relação concentração-resposta, serão apresentadas nas seções seguintes.

Esta faixa de trabalho operacional, aliada à precisão do método, reforça sua aplicabilidade em análises farmacêuticas, particularmente onde a detecção em baixas concentrações é crítica. A supressão proporcional e reprodutível do sinal quimiluminescente pelo captopril permitiu uma quantificação de captopril em comprimidos vendidos comercialmente.

Essas características favorecem um regime de escoamento mais estável e uma mistura mais eficiente dos reagentes, resultando em maior eficiência da reação quimiluminescente na região de detecção. Em contraste, a usinagem por Router CNC pode introduzir irregularidades superficiais que intensificam a dispersão do analito e limitam a intensidade do sinal observado.

De modo anterior à análise das amostras, foram realizados estudos prévios de otimização, tais como os que serão discutidos nas seções à seguir.

3.4 Efeito da concentração de hipoclorito

Nesse estudo, foram mantidas constantes a concentração de luminol (2 mmol L^{-1}) e a concentração de captopril ($0,0460 \text{ mmol L}^{-1}$), enquanto a concentração de hipoclorito foi sistematicamente variada. Conforme apresentado na Figura 33(a), a maior intensidade de emissão foi observada para a concentração de $4,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de hipoclorito. Entretanto, verificou-se que, com o aumento da concentração de hipoclorito, ocorre também elevação significativa do sinal do branco, devido à intensificação da reação quimiluminescente do sistema luminol-hipoclorito na ausência do analito. Esse aumento do sinal de fundo reduz a diferença relativa entre o branco e as soluções contendo captopril, comprometendo a capacidade de discriminação analítica do método. Embora a concentração de $4,5 \text{ mmol L}^{-1}$ tenha proporcionado maior intensidade absoluta de sinal, a concentração de 6 mmol L^{-1} apresentou melhor reprodutibilidade (menor desvio padrão) e uma relação sinal/branco mais estável, favorecendo a diferenciação entre as amostras e o branco.

Assim, a concentração de 6 mmol L⁻¹ foi selecionada como condição operacional, por representar um compromisso adequado entre intensidade do sinal, estabilidade do sistema e capacidade de discriminação analítica.

3.6 Efeito do tempo de reação

Conforme demonstrado na Figura 33(b), verifica-se que o prolongamento do tempo reacional acarreta decréscimo significativo na intensidade do sinal analítico, comportamento correlacionado à diluição progressiva do analito no meio reacional.

Tal fenômeno é atribuído predominantemente a mecanismos difusivos inerentes à dinâmica do sistema microfluídico, os quais favorecem a dispersão espacial do sistema reativo e a possível detecção de produtos de reação da oxidação, reduzindo sua concentração efetiva na zona de detecção.

Para a quantificação de Captopril, definiu-se o intervalo de 15 segundos como tempo reacional ideal, baseando-se na combinação entre intensidade máxima do sinal analítico e variabilidade mínima dos dados (desvio padrão relativo inferior a 5%).

Essa otimização fundamentou-se na necessidade de equilibrar sensibilidade analítica e precisão, minimizando interferências associadas à degradação do analito ou à formação de subprodutos.

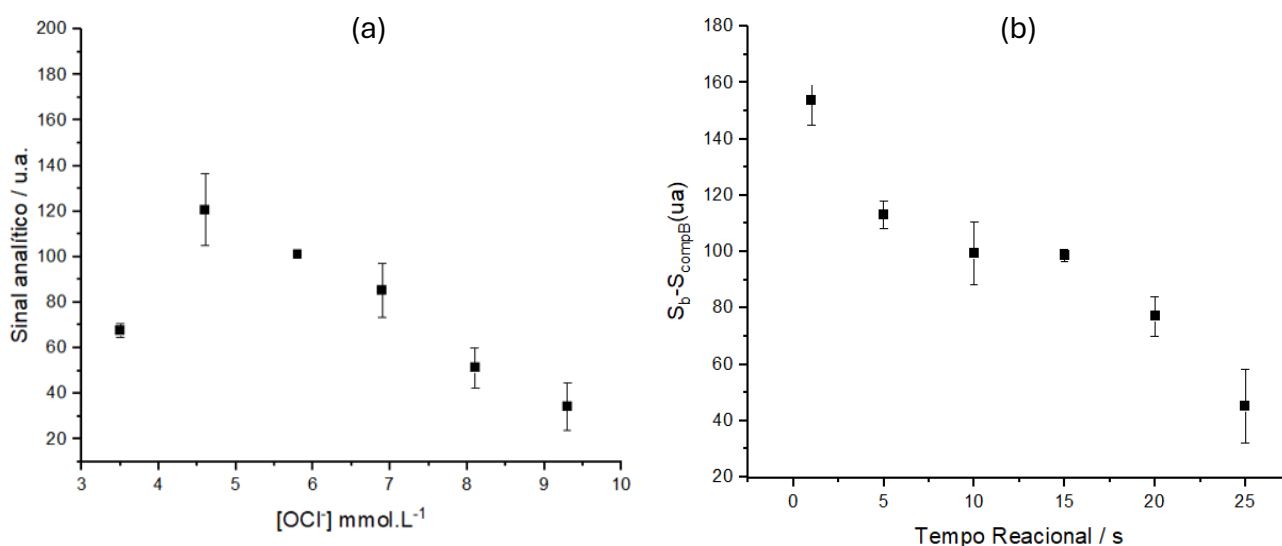


Figura 33 - (a) Efeito da concentração de Hipoclorito; (b) Efeito do tempo de reação

3.7 Estudo da Vazão

Conforme ilustrado na Figura 34, avaliou-se a influência de diferentes vazões (1,5 e 2,7 mL/min) sobre o desempenho analítico do sistema. Verificou-se que a redução da vazão para 1,5 mL/min acarretou diminuição da sensibilidade, expressa pela menor inclinação da curva analítica, além de reduzir a frequência analítica de amostras, em razão do aumento do tempo de residência do fluido nos microcanais. Em contrapartida, a vazão de 2,7 mL/min proporcionou uma condição mais favorável, otimizando o compromisso entre sensibilidade e produtividade analítica, com geração de sinais quimiluminescentes mais intensos e maior capacidade de quantificação.

A adoção dessa vazão mais elevada justifica-se pela minimização da dispersão axial do analito, o que contribui para a preservação da solidez do sinal quimiluminescente, além de atender a aplicações analíticas que demandam maior rapidez. Dessa forma, a vazão de 2,7 mL/min foi estabelecida como condição operacional padrão no protocolo experimental.

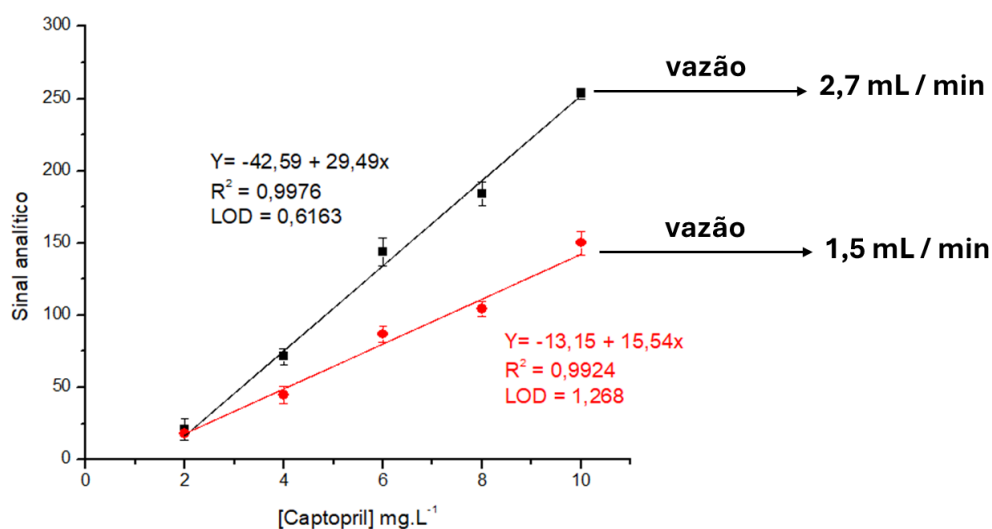


Figura 34- Curvas analíticas referentes ao teste de diferença de potencial.
Curva Preta (150V); Curva Vermelha (50V).

Diante dos resultados obtidos, a vazão de 2,7 mL/min foi definitivamente estabelecida como a condição ideal de operação do sistema. Esta conclusão baseia-se no desempenho superior observado, que garantiu o equilíbrio ótimo entre alta sensibilidade analítica, máxima frequência de amostragem e a minimização da dispersão do analito. Destaca-se também que a diferença de potencial apresentada anteriormente, está diretamente relacionada à tensão aplicada às bombas por meio da programação do microcontrolador Arduino Nano, a qual foi ajustada para controlar a vazão do fluido no sistema em estudo.

Dessa forma, os valores de tensão refletem as condições operacionais selecionadas para o acionamento das bombas e, conseqüentemente, para o estabelecimento do fluxo analisado.

O estudo de otimização da vazão demonstrou que este parâmetro define um compromisso crítico entre a qualidade do sinal e a produtividade do método. Vazões elevadas prejudicam a resolução do pico quimiluminescente, reduzindo o tempo de reação e a intensidade do sinal detectado. Por outro lado, vazões muito baixas alongam desnecessariamente o tempo de análise sem aumentar a sensibilidade, uma vez que o sistema de detecção por imagem atinge rapidamente seu limite intrínseco de captação luminosa.

Portanto, a vazão de 2,7 mL/min foi estabelecida como o ponto ideal, garantindo tempo de residência suficiente para uma reação completa e um sinal analítico adequado.

3.4 Análise das Amostras

Os perfis de sinal quimiluminescente resultantes da interação entre hipoclorito de sódio e soluções de captopril são apresentados na Figura 35(a), observando-se supressão progressiva da intensidade luminescente com o incremento da concentração do analito na faixa de 2 a 25 mg L⁻¹. A curva analítica (Figura 33b) exibiu regressão linear significativa ($R^2 = 0,9968$).

O limite de detecção (LOD) de 0,72 mg L⁻¹ foi calculado conforme a expressão $3\sigma/S$, onde σ representa o desvio padrão de 10 medidas do branco e S a sensibilidade (inclinação da curva de calibração). De acordo com a RDC nº 166/2017 da ANVISA e com os capítulos gerais da *United States Pharmacopeia* (USP), o LOD deve ser compatível com a finalidade do método, apresentando sensibilidade adequada em relação à faixa de concentração de interesse.

A faixa de 90 a 110%, estabelecida nos monógrafos farmacopeicos para o ensaio de teor, refere-se aos limites de aceitação do conteúdo do princípio ativo em relação ao valor rotulado.

Nesse contexto, o valor de LOD obtido é significativamente inferior às concentrações empregadas no ensaio de doseamento, evidenciando que o método desenvolvido apresenta sensibilidade adequada para a quantificação confiável do captopril em formas farmacêuticas sólidas.

A precisão do método, expressa por um desvio padrão relativo (RSD) de 5,8% (n = 5), foi considerada compatível com a faixa de concentração analisada (2 a 12 mg/L), atendendo aos critérios de validação.

Esse comportamento inversamente proporcional sugere um possível mecanismo de *quenching* dependente da concentração, no qual o excesso de analito interfere na reação redox, reduzindo a emissão luminosa associada à oxidação do luminol.

A partir do mecanismo químico, a oxidação do captopril (CP) por hipoclorito (ClO^-) inicia-se pelo ataque ao grupo tiol ($-\text{SH}$) altamente reativo, resultando na formação do Captopril Dissulfeto (CPDS) como produto primário. Este processo ocorre através de uma reação de dimerização mediada pelo hipoclorito, onde duas moléculas de CP oxidam-se formando uma ponte dissulfeto ($-\text{S}-\text{S}-$).

Em condições de excesso de hipoclorito, o CPDS sofre oxidação adicional, levando à formação do Captopril Dissulfeto S-Dióxido como produto secundário, onde os átomos de enxofre da ponte dissulfeto são oxidados a grupos S-dióxido.

Embora este último produto tenha sido identificado em condições de biodegradação avançada, sua formação é quimicamente consistente com a ação de oxidantes fortes como o hipoclorito. A supressão do sinal em altas concentrações requer otimização da faixa de trabalho para mitigar interferências da matriz, assegurando a confiabilidade dos resultados. O limite de detecção de $0,72 \text{ mg L}^{-1}$ demonstra sensibilidade adequada para quantificar captopril mesmo em formas farmacêuticas sólidas como os comprimidos.

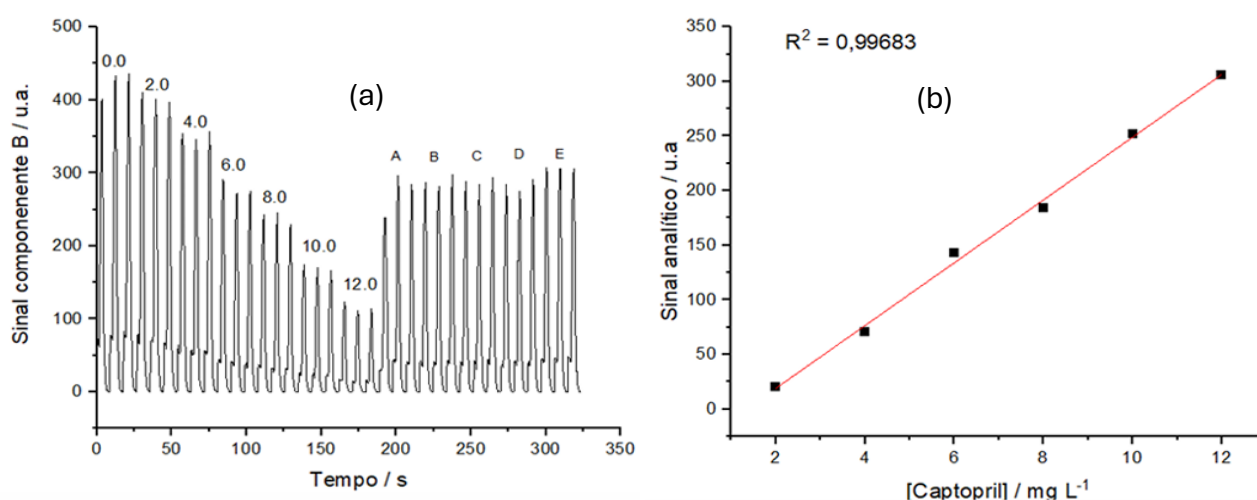


Figura 35 – (a) FIAGRAM referente à leitura dos padrões (2 a 12 mg/L) e amostras farmacêuticas (A – E);
(b) curva de calibração.

A validação do método quimiluminométrico proposto demonstra estrita conformidade com os critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 166/2017, e com as diretrizes internacionais da AOAC INTERNATIONAL para métodos não cromatográficos. Esta aderência foi verificada nos parâmetros fundamentais de linearidade, precisão e faixa de trabalho. O coeficiente de determinação ($R^2 = 0,99683$) atende e supera o requisito mínimo de $R^2 \geq 0,990$, confirmando a relação linear inversa entre concentração e sinal, conforme exigido para a confiabilidade dos resultados quantitativos.

A precisão do método, avaliada na concentração de 10 mg L^{-1} de captopril, apresentou um desvio padrão relativo (RSD) de 5,8%, valor que se encontra dentro do limite de $\leq 6\%$ recomendado pela AOAC para esse nível de concentração, assegurando a reprodutibilidade necessária para análises de controle de qualidade. Quanto à sensibilidade, o método atende integralmente aos rigorosos critérios farmacopeicos universais. Esses critérios exigem que o Limite de Detecção (LOD) seja suficientemente baixo para garantir a confiabilidade analítica e a precisão necessária na quantificação do princípio ativo em sua formulação farmacêutica.

O LOD de $0,72 \text{ mg L}^{-1}$ aqui demonstrado assegura, portanto, uma sensibilidade amplamente adequada para a análise de captopril em comprimidos. Essa sensibilidade permite detectar e quantificar o analito em concentrações significativamente inferiores à faixa de dosagem terapêutica, um princípio analítico fundamental e expressamente requerido tanto pela Farmacopeia Brasileira quanto pela *United States Pharmacopeia* (USP), que validam este requisito para garantir a análise físico-química do fármaco.

Esta performance, combinada com a concordância estatística dos resultados com o método de referência por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e com os teores declarados pelos fabricantes, valida o método proposto não apenas como uma alternativa analítica viável, mas como uma ferramenta confiável e em conformidade com os padrões de qualidade exigidos pelos órgãos reguladores para o monitoramento de medicamentos.

3.8 Análise comparativa FIA-HPLC: Desempenho Analítico

Nesta seção, são apresentados e discutidos os resultados obtidos na determinação de captopril em formulações farmacêuticas, os quais estão sumarizados na Tabela 2.

Os valores determinados pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), método de referência amplamente empregado para essa finalidade. Observa-se que os resultados apresentam concordância estatística satisfatória, com erros relativos inferiores a 10%, evidenciando a aplicabilidade do sistema desenvolvido.

Tabela 2 - Teores de captopril em mg/comprimido determinados pelo método proposto e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Amostra	μ Fia	HPLC	Erro Relativo (%)
A	24,74 \pm 1,20	23,10 \pm 0,02	7,1
B	24,96 \pm 1,16	23,19 \pm 0,02	7,6
C	25,60 \pm 0,73	24,26 \pm 0,01	5,5
D	25,30 \pm 1,12	24,00 \pm 0,01	5,4
E	22,56 \pm 0,08	23,58 \pm 0,03	-4,3

Com o objetivo de validar o método proposto (μ FIA) frente à técnica de referência (HPLC), foi conduzida uma análise estatística comparativa dos resultados.

Para avaliar a existência de diferenças significativas entre os dois conjuntos de dados, aplicou-se a Análise de Variância (ANOVA), cujos resultados são apresentados na Tabela 3. Esta técnica estatística foi selecionada por sua capacidade de comparar globalmente as médias obtidas pelos dois métodos, permitindo testar a hipótese de igualdade entre elas quando consideradas múltiplas amostras e réplicas.

A aplicação da ANOVA é particularmente adequada em estudos de comparação de métodos analíticos, pois quantifica e separa as fontes de variância (intra-metodologia e inter-metodologia), oferecendo uma base robusta para concluir sobre a equivalência estatística e, portanto, sobre a aceitabilidade do método alternativo em relação ao padrão estabelecido.

Em complemento, aplicou-se o teste *t* de *Student*, apresentado na Tabela 4, com a finalidade de comparar os valores médios obtidos por μ FIA e HPLC para cada amostra individualmente.

Esse teste foi selecionado por sua adequação à comparação direta entre dois conjuntos de dados, permitindo identificar possíveis discrepâncias pontuais entre os métodos em um nível de confiança previamente estabelecido. A aplicação conjunta da ANOVA e do teste *t* assegura uma avaliação estatística confiável da concordância entre o método proposto e a técnica de referência na determinação do captopril.

Tabela 3: ANOVA utilizando os dados médios de μ FIA e HPLC (n=5 amostras):

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados (SQ)	Gl	MQ (SQ/gl)	F calculado	p-valor
Entre grupos (μ FIA vs HPLC)	4,24	1	4,24	3,57	0,116
Dentro dos grupos	9,52	8	1,19	—	—
Total	13,76	9	—	—	—

O nível de significância adotado neste estudo foi $\alpha = 0,05$, valor amplamente utilizado em estudos de validação e comparação de métodos analíticos. Esse critério estabelece uma probabilidade máxima de 5% de rejeição da hipótese nula quando ela é verdadeira.

Dessa forma, considerando que os testes estatísticos aplicados não indicaram rejeição da hipótese nula, conclui-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os métodos avaliados, demonstrando que ambos apresentam desempenho analítico equivalente dentro do nível de confiança estabelecido.

A escolha desse nível de significância representa um compromisso adequado entre rigor estatístico e sensibilidade analítica, garantindo confiabilidade aos resultados sem tornar o teste excessivamente conservador.

Dessa forma, a utilização de $\alpha = 0,05$ assegura que as conclusões sobre a concordância entre os métodos μ FIA e HPLC sejam estatisticamente fundamentadas e aceitas pela comunidade científica, conforme amplamente descrito na literatura estatística e analítica [34].

Tabela 4 - Resultados do Teste t para Comparação entre os Métodos μ FIA e HPLC na Determinação de Captopril em Comprimidos.

Amostra	T calculado	p-valor	Rejeita H_0 ($p < 0,05$)
A	2,37	0,0771	Não
B	2,64	0,0574	Não
C	3,18	0,0336	Sim
D	2,01	0,1148	Não
E	-20,68	0,0000	Sim

Para realizar a comparação entre os métodos μ FIA e HPLC, aplicou-se o teste t para amostras independentes em cada par de valores, utilizando as médias e os desvios padrão apresentados na tabela. Considerou-se que cada média foi obtida a partir de três repetições ($n = 3$), o que permitiu calcular o erro padrão combinado de cada par de dados. A estatística t foi então determinada pela fórmula a seguir:

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Em que \bar{x}_1 e \bar{x}_2 representam as médias obtidas pelos métodos μ FIA e HPLC, respectivamente, e s_1 e s_2 correspondem aos seus desvios padrão.

A partir dos valores da estatística t calculados, determinaram-se os respectivos p-valores, considerando-se um teste bilateral com grau de liberdade igual a 4 ($n_1 + n_2 - 2$), uma vez que cada média foi obtida a partir de três medições independentes para ambos os métodos.

A comparação dos p-valores com o nível de significância de 0,05 permitiu a avaliação da hipótese nula (H_0), a qual postula a inexistência de diferença estatisticamente significativa entre os métodos analíticos.

Os resultados indicaram que, para a maioria das amostras analisadas, a hipótese nula não foi rejeitada, evidenciando boa concordância entre os métodos μ FIA e HPLC. Em dois casos específicos, observou-se a rejeição de H_0 , o que pode ser atribuído a variações experimentais pontuais, não comprometendo a confiabilidade global nem a exatidão do método proposto.

A concordância entre os resultados tornou-se ainda mais evidente quando comparados aos teores declarados pelos fabricantes (Tabela 5), uma vez que as discrepâncias observadas foram, em sua maioria, inferiores a 5%, atendendo aos limites aceitáveis estabelecidos pelas diretrizes farmacopeicas vigentes, como as da ANVISA e da *United States Pharmacopeia* (USP).

Esses dados reforçam a viabilidade do sistema μ FIA como uma alternativa prática à HPLC para análises rotineiras de captopril, aliando rapidez, menor custo operacional e potencial de aplicação em ambientes com infraestrutura analítica limitada.

Tabela 5- Dados da amostra comparados com o rótulo dos comprimidos comerciais.

Amostra	μFia	Rótulo	Erro relativo (%)
A	24,74 \pm 1,20	25,00	-1,0
B	24,96 \pm 1,16	25,00	-0,2
C	25,60 \pm 0,73	25,00	2,4
D	25,30 \pm 1,12	25,00	1,2
E	22,56 \pm 0,08	25,00	-9,8

A partir disso, apresenta a comparação entre os teores de captopril determinados pelo método μ FIA e os valores declarados nos rótulos dos comprimidos comerciais analisados.

De modo geral, observa-se que os resultados obtidos experimentalmente estão em boa concordância com os valores informados pelos fabricantes, com erros relativos, em sua maioria, inferiores a 5%.

Esses valores situam-se dentro dos limites de variação aceitáveis estabelecidos pelas diretrizes farmacopeicas vigentes, como as da ANVISA e da USP (Tabela 6) que admitem desvios percentuais controlados para o teor de princípio ativo em formulações sólidas.

Na amostra E, observou-se um erro relativo mais elevado em comparação às demais, embora seu valor permanecesse dentro das margens aceitas para análises de controle de qualidade farmacêutico. Essa variação pontual pode estar relacionada a fatores multifatoriais, tais como pequenas heterogeneidades na matriz do comprimido, flutuações inerentes ao processo de

fabricação do produto comercial, ou incertezas experimentais associadas às etapas de manipulação, preparo e diluição das amostras comuns mesmo em metodologias validadas.

Apesar do desvio observado, o conjunto dos resultados obtidos indica que o método μ FIA desenvolvido apresenta desempenho analítico satisfatório em termos de exatidão e precisão, atendendo aos requisitos normalmente exigidos para análises de controle de qualidade de medicamentos. Os parâmetros avaliados demonstram que o sistema é capaz de fornecer resultados confiáveis e consistentes dentro da faixa de concentração estudada.

Cabe destacar que, embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e a United States Pharmacopeia (USP) constituam referenciais regulatórios distintos — tanto em termos de natureza institucional quanto de abrangência geográfica e normativa —, observa-se uma convergência técnico-científica significativa no que se refere aos critérios de qualidade aplicáveis às formas farmacêuticas sólidas. Ambas as instituições, amparadas por evidências científicas consolidadas e por diretrizes internacionais de boas práticas de fabricação, estabelecem parâmetros rigorosos para a avaliação do teor de princípios ativos, visando assegurar a padronização, a reprodutibilidade e a confiabilidade terapêutica dos medicamentos disponibilizados à população.

No caso específico dos comprimidos de captopril, as monografias oficiais preconizam que o conteúdo do fármaco deve situar-se entre 90% e 110% do valor declarado no rótulo. Esse intervalo de aceitação não se limita a um critério meramente administrativo ou formal, mas constitui um requisito fundamental para garantir a uniformidade de dose, a manutenção da eficácia clínica esperada e a minimização de riscos associados à subdosagem ou à superdosagem. Dessa forma, o atendimento a tais especificações representa não apenas conformidade regulatória, mas também um compromisso com a segurança do paciente, a qualidade farmacêutica e a efetividade terapêutica do tratamento.

Nesse contexto, o desempenho do método μ FIA proposto, com resultados enquadrados nesses limites de aceitação — inclusive para a Amostra E, que apresentou maior desvio relativo — reforça sua aplicabilidade como uma alternativa analítica viável. Além da conformidade com os critérios normativos, o método apresenta vantagens operacionais relevantes, como rapidez analítica, simplicidade instrumental e potencial redução no consumo de reagentes e volumes de amostra. Essas características tornam o sistema particularmente atrativo para aplicações em rotinas de controle de qualidade e em análises descentralizadas, alinhando-se aos princípios de miniaturização e sustentabilidade analítica.

Tabela 6 - Avaliação da conformidade dos resultados do método μ FIA para a determinação de captopril em comprimidos comerciais, com base nos erros relativos e nos limites de aceitação estabelecidos pelas diretrizes farmacopeicas da ANVISA e da *United States Pharmacopeia*.

Amostra	Erro relativo (%)	Limites farmacopeicos (ANVISA/USP)	Conformidade
A	-1,0	90–110%	Sim
B	-0,2	90–110%	Sim
C	2,4	90–110%	Sim
D	1,2	90–110%	Sim
E	-9,8	90–110%	Sim

Dessa forma, no contexto da validação do método analítico, os critérios estabelecidos por ambas as farmacopeias podem ser considerados equivalentes, não resultando em diferenças relevantes na avaliação do desempenho do método nem na interpretação dos resultados obtidos.

Conforme proposto no início desta seção, os resultados obtidos demonstram que o microsistema microfluídico desenvolvido apresenta desempenho analítico consistente para a aplicação proposta. Os dispositivos fabricados por ablação a laser e por microusinagem exibiram microcanais com geometrias bem definidas e adequada integridade estrutural, confirmada pela estabilidade hidrodinâmica observada durante a operação.

Os FIAGramas obtidos apresentaram elevada intensidade de sinal e clara distinção entre o branco analítico e as amostras contendo captopril, indicando eficiência na mistura dos reagentes e na detecção quimiluminescente.

A análise comparativa evidenciou desempenho superior do dispositivo fabricado por ablação a laser, especialmente em termos de resolução dos picos e reprodutibilidade do sinal, justificando sua seleção como plataforma padrão para os ensaios subsequentes. Um aspecto inovador deste trabalho reside na integração do microsistema microfluídico com uma estratégia de detecção baseada na aquisição de imagens digitais da reação quimiluminescente utilizando um smartphone, associada ao processamento dos dados por meio do aplicativo MicroFIA.

Esse método possibilitou a substituição de sistemas ópticos convencionais por uma alternativa portátil e de baixo custo, sem comprometimento da sensibilidade, da resolução ou da confiabilidade analítica.

4. Conclusões e Perspectivas

O método quimiluminescente miniaturizado desenvolvido neste trabalho, baseado na integração de um dispositivo microfluídico, bombas piezoelétricas e detecção por imagens digitais via smartphone, demonstrou-se uma abordagem analítica eficiente, confiável e economicamente acessível para a determinação de captopril em formulações farmacêuticas. A plataforma proposta atende às demandas atuais por sistemas analíticos portáteis, de baixo consumo de reagentes e elevada frequência analítica, sem comprometer o desempenho metrológico quando comparada a técnicas consolidadas.

A obtenção de uma curva analítica linear, com coeficiente de correlação $R^2 = 0,9968$ na faixa de concentração estudada, associada a uma frequência analítica de aproximadamente 150 determinações por hora, evidencia a elevada produtividade do sistema e sua aptidão para aplicações em análises de rotina. O controle preciso da vazão, estabelecido em 2,7 mL/min por meio do acionamento das bombas piezoelétricas, contribuiu para a minimização da dispersão do analito e para a geração de sinais quimiluminescentes reprodutíveis e estáveis, refletindo diretamente na sensibilidade e na confiabilidade dos resultados obtidos.

A estratégia de detecção baseada em imagens digitais mostrou-se particularmente vantajosa ao reduzir a subjetividade inerente a métodos colorimétricos convencionais, assegurando maior reprodutibilidade e consistência analítica, inclusive em condições fora do ambiente laboratorial tradicional. A validação comparativa com o método de referência por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), aliada à concordância com os teores declarados nos rótulos dos medicamentos comerciais, com erros relativos inferiores a 5%, confirmou a exatidão e a aplicabilidade do método proposto para o controle de qualidade de formulações farmacêuticas. Adicionalmente, o dispositivo microfluídico fabricado em PMMA por ablação a laser apresentou robustez mecânica e hidrodinâmica satisfatória, operando de forma estável e sem vazamentos durante todo o período experimental.

No que se refere às contribuições do presente trabalho, destaca-se a consolidação de uma plataforma analítica integrada que combina microfluídica, quimiluminescência e processamento digital de imagens em um único sistema funcional, de baixo custo e fácil operação. Essa abordagem amplia o escopo de aplicação dos sistemas μ FIA, reforçando seu potencial para análises descentralizadas, monitoramento em campo e ambientes com infraestrutura laboratorial limitada. Além disso, o uso de smartphones como ferramenta de detecção e aquisição de dados contribui para a democratização do acesso a técnicas analíticas avançadas, alinhando-se a princípios de sustentabilidade e inovação tecnológica.

Como perspectivas futuras, estudos adicionais podem ser conduzidos visando a ampliação da aplicabilidade do sistema para a determinação de outros fármacos de interesse farmacêutico que apresentem comportamento quimiluminescente semelhante. A otimização de parâmetros experimentais, como o regime de vazão e o controle mais refinado das microbombas piezoelétricas, pode contribuir para o aprimoramento da sensibilidade analítica, especialmente em faixas de concentração mais baixas.

Por fim, a adaptação da plataforma para análises multianalíticas ou sua integração com novos módulos microfluídicos pode ampliar ainda mais a versatilidade do sistema proposto, consolidando-o como uma ferramenta promissora no contexto da Química Analítica moderna.

Referências Bibliográficas

- 1 COLTRO, W. K. T.; PICOSSO, C. B.; LIMA, R. S.; TAVARES, M. F. M. Microsistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações. *Quim. Nova* 2007, 30 (8), 1986–2000.
- 2 MANZ, A.; GRABER, N.; WIDMER, H. M. Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing. *Sens. Actuators, B* 1990, 1 (1-6), 244–248.
- 3 WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. *Nature* 2006, 442 (7101), 368–373.
- 4 RODA, A.; MICHELINI, E.; CEVENINI, L.; CALABRIA, D.; SIMONI, M. Smartphone-based biosensors: A critical review and perspectives. *TrAC, Trends Anal. Chem.* 2016, 79, 317–325.
- 5 ZAGATTO, E. A. G.; OLIVEIRA, C. C.; COLLINS, C. H. Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (Recomendações - IUPAC 1994). *Quim. Nova* 1999, 22 (1), 143–146.
- 6 BECKER, H.; GÄRTNER, C. Polymer microfabrication technologies for microfluidic systems. *Anal. Bioanal. Chem.* 2008, 390 (1), 89–111.
- 7 LEE, G. B.; CHEN, S. H.; HUANG, G. R.; SUNG, W. C. Microfabricated plastic chips by hot embossing methods. *Sens. Actuators, B* 2001, 75 (1-2), 142–148.
- 8 DUFFY, D. C.; MCDONALD, J. C.; SCHUELLER, O. J. A. Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Anal. Chem.* 1998, 70 (23), 4974–4984.
- 9 FONSECA, A.; RAIMUNDO, I. M.; ROHWEDDER, J. J. R.; FERREIRA, L. O. S. Imaging detection system for chemical analysis. *Anal. Chim. Acta* 2007, 570 (2), 283–289.
- 10 SOTOMAYOR, M. D. P. T. Desenvolvimento de sensores químicos em fluxo para monitoramento ambiental. *Quim. Nova* 2008, 31 (7), 1755–1762.
- 11 SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; COUCH, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*; Thomson: São Paulo, 2005.
- 12 ALMEIDA, M. I. G. S.; LIMA, M. J. A.; SOUZA, C. T.; NÓBREGA, J. A.; FONSECA, A. Smartphone-based chemical analysis: A review. *Anal. Chim. Acta* 2023.
- 13 WU, D.; SUN, D. W. Application of image processing for monitoring food processes. *Trends Food Sci. Technol.* 2013, 29 (1), 5–17.
- 14 RODRIGUES, M. L. Sistema microfluídico equipado com microbombas piezoelétricas para análises por quimiluminescência. *Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.*
- 15 BARTELS MICROTECHNOLOGY. *Operating Manual: Micropump Driver mp6-QuadKEY*, 2020. Acesso em: 4 maio 2025.
- 16 BACK DA TRINDADE, E.; GOMES DA SILVA, E. P.; DE PAULA GONÇALVES, G. J.; FONSECA, A. A Compact Flow-Batch Analyzer Equipped with Mini Piezoelectric Pumps and Image-Based Volume Control. *Anal. Methods* 2025, 17, 2456–2466. DOI:
- 17 MUTHIYAN, M.; WANG, J.; SILVERMAN, A.; et al. High-Resolution Patterned Delivery of Chemical Signals in Synthetic Microbial Consortia Using 3D-Printed Fluidics. *Adv. Mater.* 2025, 37 (5), 2411117.
- 18 ALBERTIN, R.; SANTOS, J. C.; SILVA, S. M.; FERREIRA, A. G. Quimiluminescência orgânica: alguns experimentos de demonstração para a sala de aula. *Quim. Nova* 1998, 21 (6), 772–779.
- 19 FERREIRA, E. C.; ROSSI, A. V. A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. *Quim. Nova* 2002, 25 (6a), 1003–1011.


- 20 CHOUDHURY, A. K. R. *Principles of Color and Appearance Measurement*; Woodhead Publishing: Cambridge, 2014.
- 21 ROCHA E SILVA, M.; BERALDO, W. T.; ROSENFELD, G. Bradykinin release from plasma globulin. In *Proceedings of the First International Congress of Biochemistry*; Cambridge, 1949; p 119.
- 22 LACY, C. F.; ARMSTRONG, L. L.; GOLDMAN, M. P.; LANCE, L. L. *Drug Information Handbook*, 12th ed.; Lexi-Comp: Hudson, 2014.
- 23 ECONOMOU, A.; THEMELIS, D. G.; TZANAVARAS, P. D.; THEMELIS, D. G. Sensitive determination of captopril by flow injection analysis with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta* 2002, 463 (2), 249–255.
- 24 MALEKI, N.; SAFAVI, A.; SEDAGHATPOUR, F. Simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid by orthogonal signal correction. *Talanta* 2004, 64 (4), 830–835.
- 25 SOARES, F. S. C.; SOUZA, R. R.; SILVA, J. A. F.; FONSECA, A. Construção de uma bomba peristáltica e sistema de detecção com Arduino para análise em fluxo. *Quim. Nova* 2018, 41 (10), 1196–1199. DOI: 10.21577/0100-4042.20170289.
- 26 RODRIGUES, M. L. Sistema microfluidico equipado com microbombas piezoelétricas para análises por quimiluminescência. 2019. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2019.
- 27 ANDRADE, S. I. E.; LIMA, M. B.; LYCIA, M. A.; ARAÚJO, M. C. U. Digital image method for determination of nitrite in water. *Microchem. J.* 2013, 109, 106–110.
- 28 LÓPEZ-MOLINERO, A.; CASTILLO, J. R.; CUCALA, A. P. A rapid digital image method for determination of nitrate in plant tissues. *Microchem. J.* 2010, 96 (2), 380–385.
- 29 LYRA, W. S.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U.; FRAGOSO, W. D. Digital image-based method for determination of total phenols in wines. *Talanta* 2009, 77 (5), 1584–1589.
- 30 GAIAO, E. N.; MEDEIROS, E. P.; NASCIMENTO, E. C. L.; SOUZA, S. R.; FONSECA, A. Digital image-based method for microdetermination of chloride in drinking water. *Anal. Chim. Acta* 2006, 570 (2), 283–288.
- 31 SCHIMIDT Jr., E.; MELCHERT, W. R.; ROCHA, F. R. P. Flow-injection iodimetric determination of captopril in pharmaceutical preparations. *J. Braz. Chem. Soc.* 2009, 20 (2), 236–242.
- 32 VICENTINI, F. C.; SUAREZ, W. T.; CAVALHEIRO, É. T. G.; FATIBELLO-FILHO, O. Flow-injection spectrophotometric determination of captopril in pharmaceutical formulations using a new solid-phase reactor containing AgSCN immobilized in a polyurethane resin. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2012, 48 (2), 325–333.
- 33 ECONOMOU, A.; Voulgaropoulos, A.; Ioannides, X. A study of the determination of the hypertensive drug captopril by square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003, 33 (2), 309–316.
- 34 MILLER, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6th ed.; Pearson Education: Harlow, 2010.

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OU TESE DE DOUTORADO

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifique e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 23 de Fevereiro 2026.

Documento assinado digitalmente
 LUCAS RODRIGUES DE FREITAS
Data: 24/02/2026 08:19:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do/a discente: _____

Programa: PPGQ

Nome completo: Lucas Rodrigues de Freitas

Título do Trabalho: Microsistema de análise em fluxo controlado
smartphone para determinação quimiluminométrica de captopril em comprimidos.

Nível: Mestrado Doutorado

Orientador/a: Prof. Dr. Alexandre Fonseca