

DESENVOLVIMENTO DE UM AMOSTRADOR AUTOMÁTICO PARA A TÉCNICA DE IONIZAÇÃO POR PAPER SPRAY

GUILHERME BRITO RODRIGUES*, JONATHAN ALVES MELQUIADES*, ALAN KARDEK RÊGO SEGUNDO*, THAYS COLLETES DE CARVALHO†, BONIEK GONTIJO VAZ†

**Departamento de Engenharia de Controle e Automação
Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto
Ouro Preto, MG, Brasil*

*†Instituto de Química
Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia
Goiânia, GO, Brasil*

Emails: guilherme.brito@aluno.ufop.edu.br, jonathan.melquiades@aluno.ufop.edu.br, alankardek@ufop.edu.br, thayscolletesc@gmail.com, boniek@ufg.br

Abstract— In the last years, the need for automated processes has become common in our society. Therefore, automation is of great value in many processes, including the execution of experiments in laboratory practices. This work aims at the development of an embedded system that will be coupled to a mass spectrometer with the objective of significantly reducing the time required for the setting of the paper spray ionization technique, allowing the analysis of different samples through a user friendly interface.

Keywords— Embedded systems, Mass spectrometry, Laboratorial automation, Paper spray ionization.

Resumo— Nas últimos anos, tornou-se comum em nossa sociedade a necessidade de processos automatizados. Diante disso, a automatização é de grande valia a inúmeros processos, inclusive na execução de experimentos em práticas laboratoriais. Este trabalho visa o desenvolvimento de um projeto de um sistema embarcado que será acoplado a um espectrômetro de massas com objetivo de reduzir significativamente o tempo necessário para montagem do ensaio para a técnica de ionização por *paper spray*, possibilitando a análise de diferentes amostras por meio de uma interface gráfica amigável.

Palavras-chave— Sistemas embarcados, Espectrometria de massas, Automação laboratorial, Ionização por paper spray.

1 Introdução

Com origem do latim *automatus*, que significa mover por si só, a palavra automação recebe diversas definições. Em suma, a automação consiste no uso de comandos programados para realizar um dado processo, com o intuito de torná-lo mais eficiente, aumentando a produtividade e reduzindo tempo de uso de mão de obra especializada para a realização de atividades de baixa geração de valor (Mahoney, 2002).

Diante disso, a automatização é de grande valia a inúmeros processos, inclusive na execução de experimentos laboratoriais, por meio do uso de instrumentos e de sistemas de supervisão computadorizados, ela pode facilitar e agilizar a operação e os procedimentos dos ensaios, bem como a análise e o processamento de dados.

O presente estudo consiste no desenvolvimento de um sistema mecânico automatizado, de baixo custo, facilmente acoplado a um espectrômetro de massas, para carregamento de cartuchos de amostras descartáveis até uma posição pré-determinada, possibilitando analisá-las por meio de um sistema de supervisão, com o objetivo de reduzir significativamente o tempo gasto para montagem do ensaio para a técnica de ionização por *Paper Spray* (ou em inglês, *Paper Spray Ionization-PSI*).

Apesar de todo o desenvolvimento já realizado em Espectrometria de Massas, atualmente essa técnica analítica vem experimentando novas tendências. Esse novo rumo, tem como objetivo aumentar a variedade de aplicações da técnica e torná-la apta para os novos desafios analíticos: como a portabilidade do espectrômetro de massas (Ouyang and Cooks, 2009) e a simplicidade, expressa pelo desenvolvimento de fontes de ionização direta (Huang et al., 2010), o que proporciona análises rápidas, eficiente e de baixo custo.

Diante disso, o trabalho proposto visa a criação de um amostrador automático que será utilizado no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM) da Universidade Federal de Goiás, otimizando a montagem dos ensaios para técnica de ionização por *paper spray*, a qual é realizada de forma totalmente manual, demandando maior tempo do pesquisador na montagem e análise de diferentes amostras.

A partir da necessidade, foi realizado um estudo com a finalidade de adquirir conhecimento teórico da técnica de ionização por *paper spray* e de entender como eram executados os ensaios com PSI no LaCEM. Em seguida, foi realizada a modelagem de um sistema mecânico no software de CAD SolidWorks, onde foi desenvolvido o projeto da estrutura mecânica do amostrador automático.

Após implementação física do sistema, iniciou-se o desenvolvimento dos projetos eletroeletrônicos e escolha dos atuadores para automatizar o amostrador projetado. Para facilitar sua utilização pelos pesquisadores, foi desenvolvido um sistema de supervisão em linguagem C Sharp (C#), como interface gráfica amigável. Para comunicação do software com o amostrador desenvolvido, foi utilizado o barramento de comunicação USB.

2 Fundamentação Teórica

2.1 Espectrometria de massas

De acordo com Alberici et al. (2010), a espectrometria de massas é uma técnica analítica com aplicação nas mais diversas áreas da ciência, sendo capaz de detectar e quantificar os constituintes, que são ionizados de uma matriz complexa com alta sensibilidade e seletividade, consistindo em uma técnica versátil em análises químicas.

A análise é realizada por um espectrômetro de massas, que consiste em um equipamento no qual os constituintes de uma amostra são convertidos em íons, gerados a partir de um agente ionizante, seguido por um analisador que faz a separação de acordo com a relação massa/carga (m/z). Além disso, o sistema possui um detector com a função de contabilizar o número de íons de cada m/z gerado, transformando a corrente de íons em sinais elétricos que, posteriormente, são enviados para um sistema computacional, para análise dos dados e geração de um espectro de massas.

Na Figura 1, pode-se observar o esquema de funcionamento de um espectrômetro de massas.

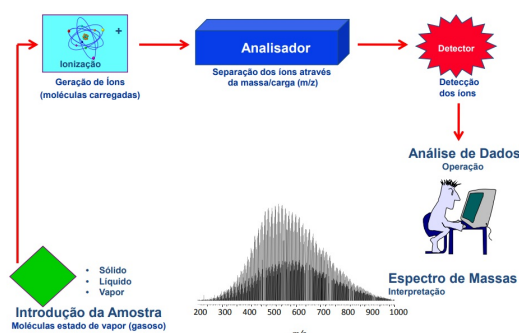


Figura 1: Esquema de funcionamento espectrômetro de massas.

Fonte: Adaptado de Vaz (2014).

O primeiro passo para a simplicidade e portabilidade em espectrometria de massas ocorreu em 2004, com a revolução representada pela criação de uma nova família de técnicas de ionização, que agora são conhecidas como técnicas de ionização ambiente (Alberici et al., 2010). Elas proporcionam uma análise com o mínimo ou nenhum preparo da amostra, sendo que a ionização é realizada no ambiente natural do analito, diretamente

na amostra, revolucionando a espectrometria de massas, que passou a apresentar simplicidade nas análises. A análise é realizada diretamente sobre a superfície da amostra e informações sobre sua composição podem ser obtidas em tempo real no espectrômetro de massas (Huang et al., 2010).

Dentre as técnicas de ionização ambiente, Liu et al. (2010) desenvolveram a fonte de ionização por *Paper Spray* (PSI), que apresenta grande potencial, devido simplicidade e possibilidade de acoplá-las a qualquer sistema que opere com uma fonte de ionização atmosférica.

2.2 Ionização por Paper Spray acoplada a Espectrometria de Massas

O método de ionização por *Paper Spray* é utilizado para analisar misturas complexas por espectrometria de massas, sem a necessidade de preparação da amostra. Apresentando análises rápidas de amostras biológicas complexas como urina, sangue, tecidos biológicos, realização do monitoramentos de drogas, análise de inorgânicos, análise da concentração de açúcares entre outras.

A montagem da fonte PSI, consiste em um fio soldado a uma garra de jacaré fixada em um suporte, na qual é preso um papel de filtro ou cromatográficos, no formato triangular, umedecido com uma solução do analito que é depositado no centro do papel (a solução é espalhada por capilaridade).

O método consiste na aplicação de uma alta voltagem (3 – 5 kV) no papel (Liu et al., 2010). O campo elétrico, oriundo da aplicação da alta voltagem, induz a formação de um spray (Yang et al., 2012). PSI é essencialmente um processo baseado na ionização por eletrospray: o forte campo elétrico na ponta afiada do papel resulta na formação de um cone de Taylor invadindo uma pluma de gotículas carregadas que após a dessolvatação, geram íons na fase gasosa, possibilitando a análise a nível molecular pelo espectrômetro de massas (Liu et al., 2010).

O esquema de PSI é apresentado na Figura 2.

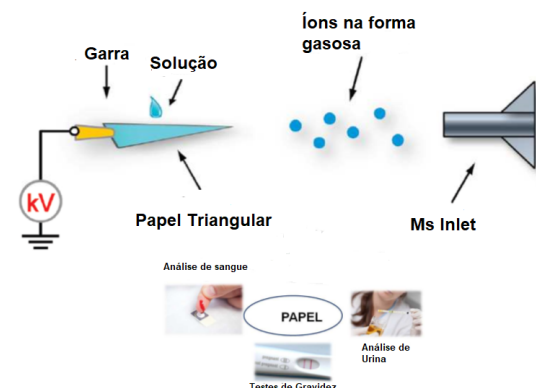


Figura 2: Esquema de ionização *paper spray* por um espectrômetro de massas.

Fonte: Adaptado de Cooks (2010).

Grças a este processo, tem-se a dessorção do analito em sua forma iônica a partir do papel (Yang et al., 2012). O papel triangular deve ter um ponto macroscopicamente acentuado com ângulo de ponta entre 60° e 90°. A duração do spray é em torno de um minuto, pois neste intervalo o solvente evapora ou é pulverizado.

3 Desenvolvimento do Protótipo

3.1 Ensaio de ionização por paper spray, no LaCEM

Na Figura 3, é apresentada a montagem para análise pelo PSI no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM) da Universidade Federal de Goiás.

A amostra é posicionada em frente ao *inlet* do espectrômetro de massas Q-Exactive, de onde é fornecida a tensão necessária para a dessolvatação e geração dos íons na fase gasosa, formando um cone de Taylor. A tensão chega ao papel triangular a partir do fio soldado à garra jacaré, que é ligado a uma fonte de alta tensão presente no espectrômetro.



Figura 3: Montagem de uma fonte de ionização por *paper spray* no LaCEM.

A substituição das amostras e montagem deste ensaio é feita de forma totalmente manual, consumindo maior tempo dos pesquisadores para análise de diversas amostras. Diante disso, este trabalho apresenta o desenvolvimento de um amostrador automático, de baixo custo, com intuito de automatizar a montagem e facilitar a análise de analitos diferentes, sem a necessidade de realizar uma nova montagem.

3.2 Desenvolvimento do projeto do sistema mecânico do amostrador automático

Baseado na fonte comercial Velox 360, da Proslolia, foi iniciado um estudo da melhor maneira para desenvolver um amostrador automático portátil, que fosse desacoplado facilmente do espectrômetro de massas, para que fossem realizadas as demais técnicas de análise.

De acordo com a necessidade de realizar a ionização de diversas amostras, foi desenvolvido um protótipo de um cartucho em acrílico, de acordo com a Figura 4. Cada cartucho foi projetado para receber um papel triangular onde serão depositadas as amostras distintas. Com a finalidade de realizar o contato elétrico com a fonte de alta tensão, indispensável ao processo de ionização, o papel é posicionado em uma placa de fenolite cobreada.

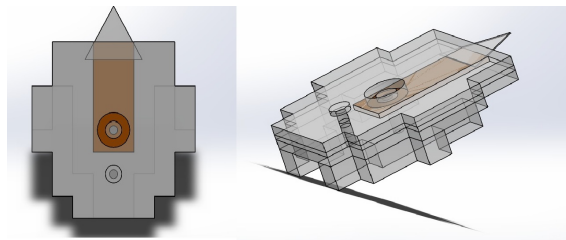


Figura 4: Desenho esquemático de um cartucho de amostras.

Os cartuchos foram projetados para serem empilhados em um trilho, e são dispensados posteriormente de acordo com a sequência de análises, sendo controlado pelo pesquisador por meio de uma interface gráfica amigável.

Após dispensados, os cartuchos entram em uma mesa giratória, com a finalidade de serem posicionados em frente ao *inlet* do espectrômetro de massas para que seja realizada a técnica PSI. Na Figura 5, é apresentada a mesa giratória acoplada a uma base móvel.

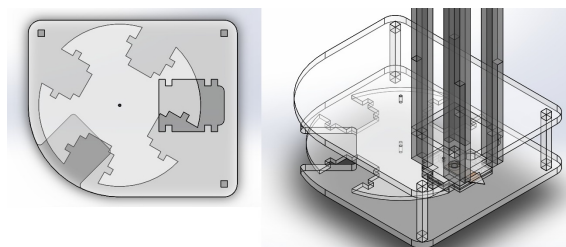


Figura 5: Desenho do acoplamento na base móvel da mesa giratória e do dispenser de cartuchos.

Na Figura 6, é exibido a montagem mecânica, que será fixada ao espectrômetro de massas.

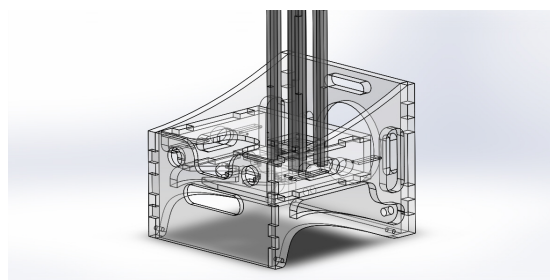


Figura 6: Montagem do amostrador automático.

3.3 Desenvolvimento do sistema eletroeletrônico

Com a finalidade de automatizar o sistema mecânico projetado, permitindo o dinamismo necessário para realização da técnica PSI foram selecionados dois tipos de atuadores: servomotores e motor de passo.

Os servomotores são responsáveis por garantir a alimentação de cartuchos para a mesa giratória de forma ordenada, carregando um cartucho por vez. Por meio do controle de abertura de garras na saída do dispenser.

Para atuação no posicionamento do cartucho a ser analisado, a mesa giratória foi conectada ao eixo de um de motor de passo que, a partir de incrementos é responsável por posicionar o cartucho com papel triangular em frente ao *inlet* do espectrômetro de massas.

O acionamento dos atuadores e a comunicação do computador com o amostrador automático são realizados por meio de um circuito eletrônico projetado no software Proteus. Dentre as vantagens desse software, destacam-se: bibliotecas com diversos modelos e marcas dos principais componentes eletrônicos existentes e a possibilidade de simular o funcionamento dos circuitos.

Devido à necessidade de realizar a comunicação USB do dispositivo com uma interface gráfica amigável, e à quantidade de entradas e saídas requeridas para acionar e controlar os atuadores, foi selecionado o microcontrolador PIC18F2550, da Microchip, como unidade de processamento. Ele possui parte do hardware necessário à comunicação embutida no próprio chip.

Na figura 7 é apresentada o esquemático do circuito eletrônico projetado para realizar a automação do amostrador.

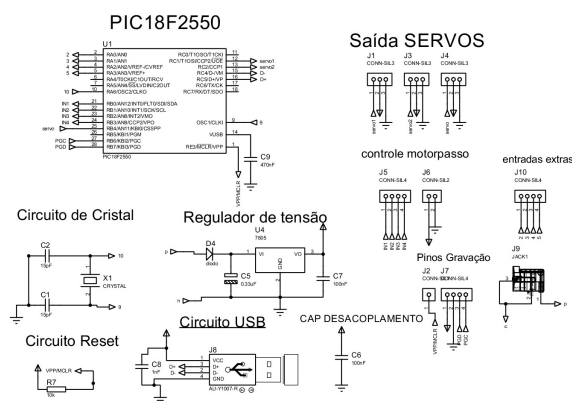


Figura 7: Esquemático do Circuito Eletrônico.

O barramento USB foi desenvolvido a partir do consórcio de empresas, dentre elas pode-se destacar: Compaq, DEC, IBM, Intel, Microsoft, Nec e North Telecom. Como o próprio nome sugere, é um barramento serial para conexão de periféricos a um PC. Para comunicação do amostrador automático com a interface gráfica, foi utilizada a co-

municação USB no modo HID (*Human Interface Device*), que basicamente é utilizada em dispositivos como mouses, teclados, entre outros. Para isso foi criado um protocolo de comunicação em que os dados são enviados em pacotes de 8 bits.

3.4 Interface Gráfica Amigável ao Usuário

Para interface e envio de comandos pelo usuário, foi desenvolvido um programa em linguagem C#, por meio do ambiente de desenvolvimento Visual Studio, tornando o sistema interativo com o usuário.

Na Figura 8, é exibida a tela principal do sistema de supervisão. Na barra de ferramentas do programa, tem-se a opção “Menu”, que permite ao usuário iniciar a comunicação USB ou sair fechando o programa. Após iniciada a comunicação, o usuário pode iniciar o posicionamento de cartuchos por meio do botão “Iniciar”. As próximas amostras podem ser posicionadas por meio do botão “Próxima Amostra”.



Figura 8: Tela principal Interface Gráfica.

3.5 Fluxograma Microcontrolador

Na Figura 9 é apresentado o fluxograma de ações programadas no microcontrolador PIC18F2550, com a finalidade de automatizar o amostrador.

Por meio da interface gráfica, o pesquisador inicia a comunicação com o dispositivo, que fica em estado de espera para iniciar o carregamento de amostras a serem analisadas. Ao pressionar o botão “iniciar”, abrem-se as garras superiores para posicionamento de um cartucho na saída do trilho. Ao retornar as garras para a posição inicial ele prende os demais cartuchos empilhados, permitindo dispensar apenas um cartucho por vez.

O cartucho é liberado para a mesa giratória a partir da abertura das garras inferiores, que são fechadas na sequência. Dispensado, o cartucho cai na mesa giratória que inicia um movimento circular até posicionar a amostra a ser analisada, permanecendo na posição de análise, aguardando o comando do usuário para carrear os próximos

cartuchos. Ao pressionar o botão “Próxima Amostra”, o sistema volta a atuar nas garras superiores, sendo reiniciado o procedimento de amostragem. Ao atuar sobre motor de passo novamente, o cartucho anterior é descartado ao passar pelo corte existente na base móvel.

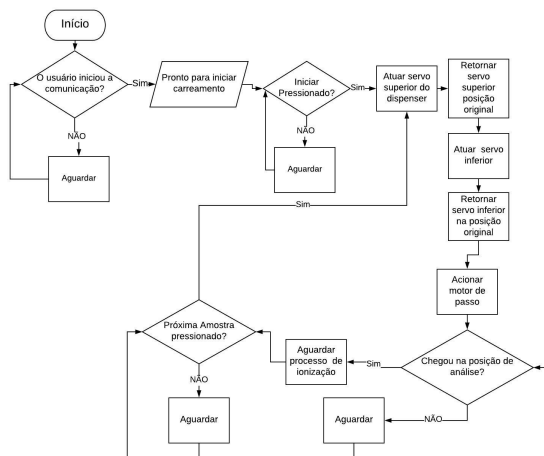


Figura 9: Fluxograma.

4 Resultados

4.1 Montagem física do sistema mecânico

Após projetado os constituintes do sistema mecânico proposto, foi realizada a prototipagem das peças em acrílico, por meio de uma máquina de corte a laser. Pode ser vista na Figura 10 a montagem do cartucho onde será fixado o papel triangular, explicitando o contato elétrico proporcionado pela placa de fenolite cobreada e o encaixe dos cartuchos na mesa giratória, que é responsável pelo posicionamento da amostra em frete ao *inlet* do espectrômetro de massas.

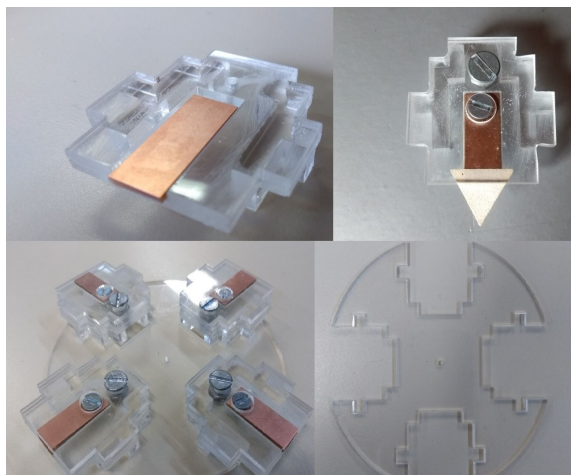


Figura 10: Montagem cartucho e encaixe da mesa giratória.

Para que a tensão fornecida pelo espectrômetro chegue ao papel, ao ser posicionado, o cartucho move uma haste de alumínio, que apresenta pequena mobilidade no eixo vertical, no qual será feito contato com o fio da fonte de alta tensão através de um parafuso. Ao chegar na posição de análise, é estabelecido contato elétrico com o fenolite cobreado presente no cartucho, como pode ser visto na Figura 11.

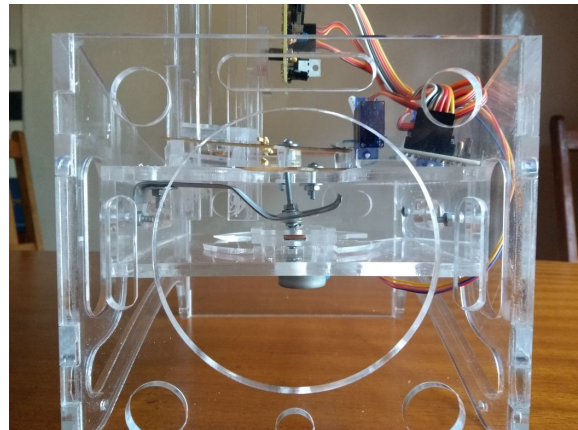


Figura 11: Contato elétrico entre cartucho e fonte de alta tensão.

Devido à necessidade de variar a distância entre o papel triangular e o *inlet* do espectrômetro de acordo com o analito a ser analisado, a base foi fixada ao suporte por quatro parafusos, apresentando mobilidade no eixo horizontal em relação ao *inlet*.

Foi desenvolvido um sistema com duas garras acionadas por dois servomotores, como mostra a Figura 12. Os servomotores são acionados de forma sequencial, com o propósito de permitir a passagem de somente um cartucho de amostra por vez.

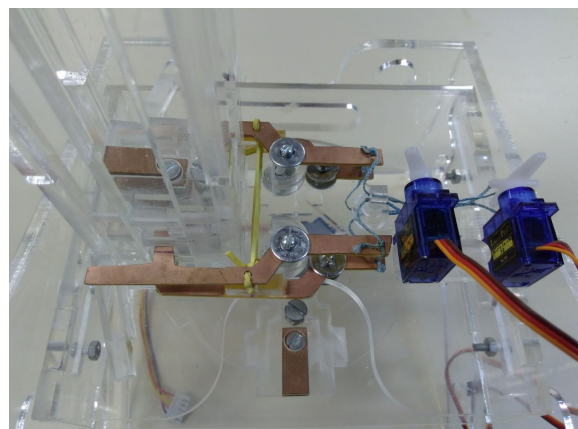


Figura 12: Sistema de abertura do dispenser.

Na Figura 13, nota-se o eixo do motor de passo interligado à mesa giratória.

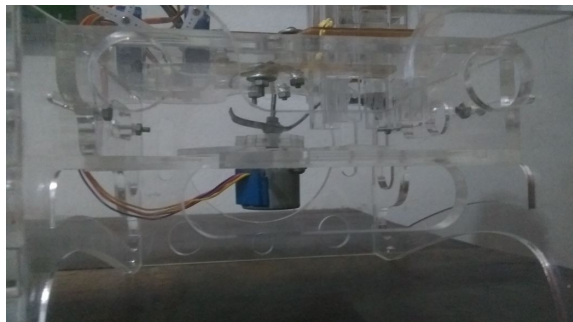


Figura 13: Motor de passo.

Integrando os sistemas desenvolvidos, foi obtida a montagem final do primeiro protótipo (Figura 14), que será acoplado ao espectrômetro de massas Q-Exactive, fabricado pela Thermo Scientific.

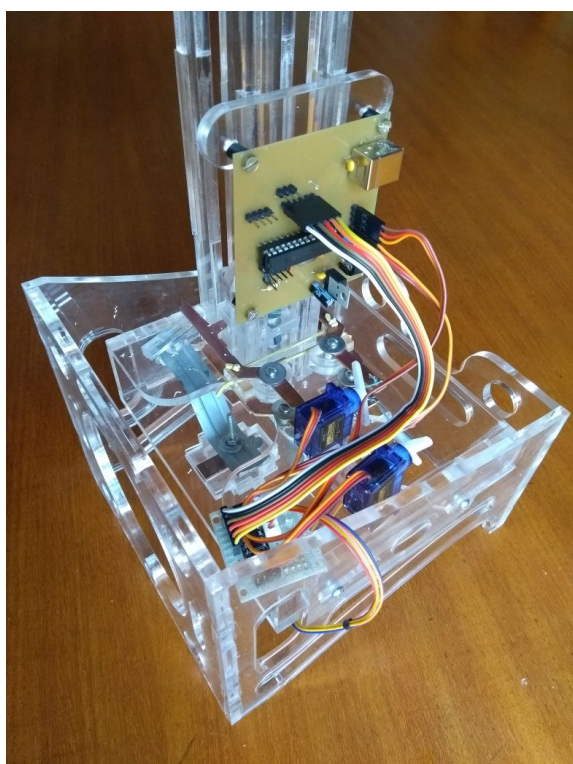


Figura 14: Montagem Final.

4.2 Teste de Repetibilidade

Após a realização da calibração da quantidade de passos requeridos para que a amostra chegue à posição de análise, o sistema proposto apresentou desempenho eficiente na amostragem de diferentes cartuchos, como pode ser visualizado no vídeo disponibilizado on line ¹.

Com a finalidade de avaliar a repetibilidade do amostrador automático, foi realizada uma sequência de testes, mesurando a quantidade de acertos no carregamento de amostras na posição de análise.

Foram realizadas 50 repetições de carregamento de cartuchos, apresentando 38 acertos no posicionamento dos cartuchos para análise, ficando evidente a necessidade de alguns ajustes mecânicos no desenvolvimento do próximo protótipo.

5 Considerações Finais

Neste trabalho foi mostrado o processo de desenvolvimento do protótipo de um amostrador automático que será utilizado durante a técnica de ionização por *paper spray* por um espectrômetro de massas.

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, pôde-se apresentar a montagem física e a avaliação de desempenho do primeiro protótipo para automatizar o uso da técnica PSI.

Em trabalhos futuros, pretende-se realizar testes com o espectrômetro de massas, com a finalidade de calibrar o sistema desenvolvido, corrigir as imperfeições e desenvolver novos protótipos, até atingir uma versão final que, por apresentar baixo custo, será de grande valia na automatização da montagem das análises utilizando a técnica PSI.

Referências

- Alberici, R. M., Simas, R. C., Sanvido, G. B., Romão, W., Lalli, P. M., Benassi, M., Cunha, I. B. S. and Eberlin, M. N. (2010). Ambient mass spectrometry: bringing ms into the “real world”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **398**(1): 265–294.
- Huang, M. Z., Yuan, C. H., Cheng, S. C., Cho, Y. T. and Shiea, J. (2010). Ambient ionization mass spectrometry, *Annual Review of Analytical Chemistry* **3**(1): 43–65.
- Liu, J., Wang, H., Manicke, N. E., Lin, J. M., Cooks, R. G. and Ouyang, Z. (2010). Development, characterization, and application of paper spray ionization, *Analytical Chemistry* **82**(6): 2463–2471.
- Mahoney, K. D. (2002). *Latdict — Latim Dictionary and Grammar Resources*.
- Ouyang, Z. and Cooks, R. G. (2009). Miniature mass spectrometers, *Annual Review of Analytical Chemistry* **2**(1): 187–214.
- Vaz, B. G. (2014). Aplicações do paper spray ionization uma possível interface entre a microfluídica e a espectrometria de massas, *IV Workshop em Microfluídica*.
- Yang, Q., Wang, H., Maas, J., Chappell, W., Manicke, N.E.; Cooks, R. and Ouyang, Z. (2012). Paper spray ionization devices for direct, biomedical analysis using mass spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry*, number 312, pp. 201–207.

¹<https://youtu.be/QGf1ZKo0L58>