



Validação de sistema robotizado para diluição automatizada de extratos de tabaco em rotina laboratorial

Júlia L. G. Azevedo¹, Felipe Neves Brum¹

¹Laboratório de Tabaco, BAT Brazil Labs, Cachoeirinha, RS, Brasil

julia_lilian_gauderth_de_azevedo@bat.com

Palavras-Chave: automação laboratorial, preparo de amostras, reprodutibilidade

Introdução

Plataformas dedicadas ao preparo de amostras ampliam a capacidade de processamento, reduzem a variabilidade associada à execução manual e aumentam a consistência dos resultados analíticos. Ao padronizar etapas críticas do fluxo de trabalho, esses sistemas também favorecem a reprodutibilidade e a rastreabilidade entre usuários e ambientes laboratoriais (THUROW, 2023; WATERS CORPORATION, 2023).

O Andrew+ (Waters) é uma plataforma compacta de pipetagem automatizada de bancada, integrada ao ecossistema OneLab. O sistema utiliza pipetas eletrônicas e suportes modulares, denominados Dominos, para executar protocolos de manipulação de líquidos, registrar dados experimentais e documentar as operações realizadas. Essas funcionalidades são particularmente relevantes para laboratórios que processam extratos complexos, como matrizes de tabaco, pois variações na execução manual podem influenciar atributos químicos. Este estudo avaliou o Andrew+ na diluição de extratos de tabaco como alternativa controlada ao procedimento manual. Compararam-se os resultados do sistema com os de operadores de bancada previamente validados, tendo como critério principal a ausência de diferença estatisticamente significativa das médias de três atributos analíticos de uma amostra-controle de tabaco Virgínia, grade BB2P.

Material e Métodos

Utilizaram-se extratos de uma amostra-controle de tabaco Virgínia, grade BB2P. As determinações por HTS-FIA-HRMS (High-throughput screening by flow injection coupled to high-resolution mass spectrometry) seguiram a metodologia de Kaiser et al. (2018). Uma porção da amostra de tabaco foi submetida à extração utilizando solventes de diferentes polaridades. Após a separação das fases aquosa e orgânica, alíquotas de cada fase foram filtradas e posteriormente diluídas pela adição de 950 µL de solvente a 50 µL do extrato, resultando em um fator de diluição de 20 vezes. As fases aquosa e orgânica foram então analisadas por espectrometria de massas nos modos de ionização por eletrospray positivo (ESI+) e negativo (ESI-), gerando quatro espectros (fingerprinting) por amostra. O tempo total de análise instrumental foi de aproximadamente 2 minutos por amostra.

O Andrew+ reproduziu a etapa de diluição normalmente realizada em bancada, sob capela com exaustão. A validação consistiu em comparar os resultados obtidos do sistema robotizado, com os obtidos por operadores humanos, previamente validados no ensaio. Cada grupo reuniu 27 resultados para cada um dos três analitos: NNN, NAB e NAT (nitrosaminas específicas do tabaco).

A análise estatística foi realizada no Microsoft Excel, com nível de significância de 5%. Aplicou-se o teste F para comparação das variâncias e o teste t bicaudal para comparação das médias. Valores de $p > 0,05$ foram interpretados como ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados, enquanto valores de $p < 0,05$ indicaram diferença estatisticamente significativa.



Resultados e Discussão

As médias obtidas com o Andrew+ não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação às dos operadores humanos validados para nenhum dos três analitos avaliados. Os resultados indicam que, nas condições estudadas, o sistema robotizado produziu resultados comparáveis aos observados no procedimento manual. O teste F complementou essa análise ao comparar a variabilidade dos processos. Os resultados apoiam o uso do Andrew+ para reduzir a influência da execução manual e ampliar a rastreabilidade do preparo por meio de protocolos documentados em software (WATERS CORPORATION, 2023; TELEDYNE LABS, s.d.).

Tabela 1. Síntese dos testes estatísticos para comparação entre operadores validados e o robô Andrew+.

Atributo	p F	Interpretação da Variância	p t bicaudal	Interpretação da Média
NNN	0,2431	Sem diferença estatisticamente significativa	0,4257	Sem diferença estatisticamente significativa
NAB	0,2349	Sem diferença estatisticamente significativa	0,4375	Sem diferença estatisticamente significativa
NAT	0,3335	Sem diferença estatisticamente significativa	0,6431	Sem diferença estatisticamente significativa

Gráfico 1. Boxplot para NNN

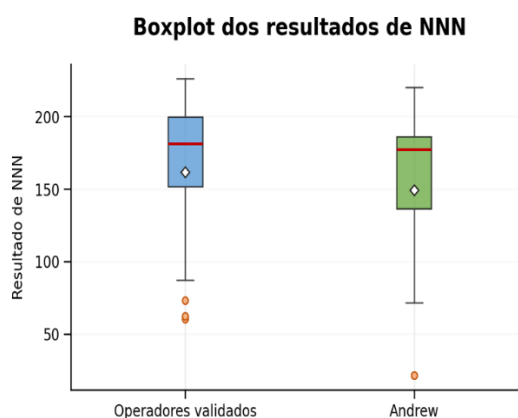


Gráfico 2. Boxplot para NAB

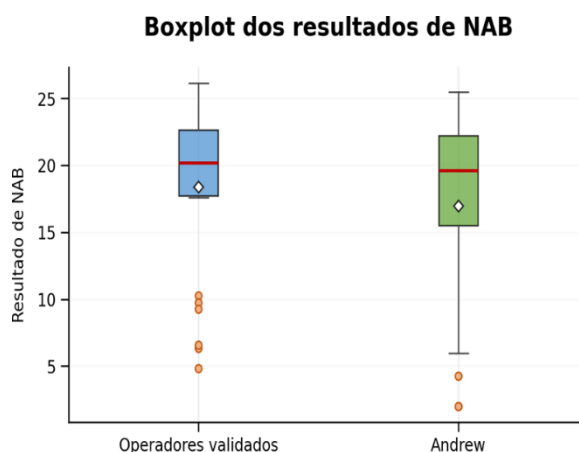
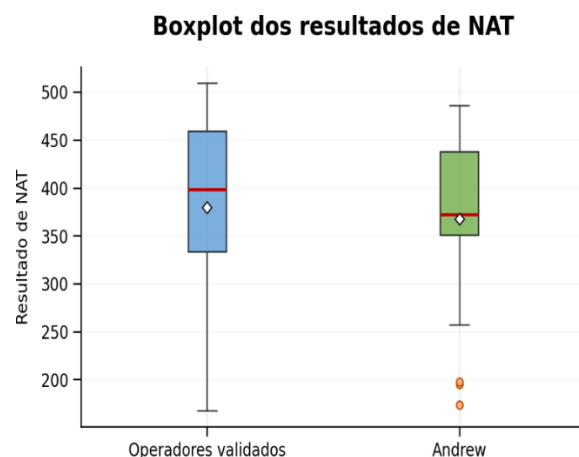


Gráfico 3. Boxplot para NAT



A análise gráfica por meio de boxplots complementou os testes estatísticos, permitindo avaliar a distribuição e a dispersão dos resultados de NNN, NAB e NAT. Observou-se ampla sobreposição dos intervalos interquartílicos e das medianas entre o sistema robotizado Andrew+ e o procedimento manual, indicando comportamento analítico semelhante para os analitos avaliados. Alguns valores extremos foram identificados na região inferior das distribuições, possivelmente associados à variabilidade inerente das amostras, porém sem influência relevante na comparação entre os métodos. As diferenças relativas entre as médias do Andrew+ e do procedimento manual foram de -7,6% para NNN, -7,8% para NAB e -3,1% para NAT. Em concordância com essa avaliação, os testes F e t não identificaram diferenças estatisticamente significativas entre as variâncias ou entre as médias dos grupos ($p > 0,05$). Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que o sistema robotizado produziu resultados comparáveis aos do procedimento manual nas condições avaliadas neste estudo.



Conclusões

O Andrew+ apresentou desempenho compatível com o dos operadores humanos validados nos atributos NNN, NAB e NAT, avaliados durante a diluição dos extratos da amostra-controle de tabaco Virgínia, grade BB2P. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas médias entre os resultados obtidos pelo Andrew+ e pelos operadores humanos validados para os atributos avaliados. O Andrew+ pode, portanto, padronizar as diluições, ampliar a rastreabilidade e reduzir a dependência de operações manuais repetitivas.

Agradecimentos

A autora agradece à equipe do Laboratório de Tabaco (LAT) pelo suporte técnico prestado durante a realização deste estudo.

Referências

- TELEDYNE LABS. SimPrep+ Automated Liquid Handling Station. Disponível em: <https://www.teledynelabs.com/products/sample-prep-injection/sample-prep/simprep-plus>. Acesso em: 19 ago. 2026.
- WATERS CORPORATION. Andrew+ Pipetting Robot: Automated Liquid Handling System. Disponível em: <https://www.waters.com/nextgen/en/products/laboratory-automation-and-equipment/andrew-plus-pipetting-robot.html>. Acesso em: 19 ago. 2026.
- WATERS CORPORATION. Easy and Robust Automated Sample Preparation and Extraction for LC-MS/MS Bioanalytical Workflows. Milford: Waters Corporation, 2023. Application Note. Disponível em: <https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2023/720007906/720007906-en.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2026.
- THUROW, K. Strategies for automating analytical and bioanalytical laboratories. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 415, 2023. DOI: 10.1007/s00216-023-04727-2.
- Kaiser S, Dias JC, Ardila JA, Soares FLF, Marcelo MCA, Porte LMF, et al. High-throughput simultaneous quantitation of multi-analytes in tobacco by flow injection coupled to high-resolution mass spectrometry. *Talanta*. 2018;190:363-374. doi:10.1016/j.talanta.2018.08.007