

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Avaliação do desempenho analítico de
microsistemas eletroforéticos fabricados em
poliéster-toner**

ELLEN FLÁVIA MOREIRA GABRIEL

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás como exigência parcial, para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro

Goiânia
2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Avaliação do desempenho analítico de
microsistemas eletroforéticos fabricados em
poliéster-toner**

ELLEN FLÁVIA MOREIRA GABRIEL

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás como exigência parcial, para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro

Goiânia
2012

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG mr**

G118a Gabriel, Ellen Flávia Moreira.
Avaliação do desempenho analítico de microssistemas eletroforético fabricados em poliéster-toner [manuscrito] / Ellen Flávia Moreira Gabriel. – 2012.
xv, 102 f. : il., figs, tabs.

Orientador: Prof. Dr. Wendell Karlos Tomazelli Coltro.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química, 2012.

Bibliografia.

Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.

Apêndices.

1. Poliéster-toner – Avaliação química. 2. Microssistema eletroforético – Fabricação. I. Título.

CDU: 544.638.3-036.6

Dedico este trabalho

“A Deus e a minha família, em especial a minha mãe **Shirley Moreira** que é meu exemplo de mulher. Mãe muito obrigada pela educação e apoio em todos os momentos da vida, e principalmente obrigada por todo amor dedicado.”

AGRADECIMENTOS

Todos que realizam um trabalho de pesquisa bem sabem que não é capaz de fazê-lo sozinho, embora se faça necessário alguns momentos solitários como ao passo da leitura e da escrita. Sendo assim, quero agradecer a todos aqueles que torceram por mim, que foram solidários e que acima de tudo se fizeram presente direta ou indiretamente, a cada momento vivido, nesse estágio da vida.

A começar, quero agradecer a Deus por me dar força interior para superar os momentos de dificuldade, mostrar os caminhos nas horas incertas e me amparar nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Wendell Karlos T. Coltro, por acreditar em mim, me mostrar o caminho da ciência, pela confiança, pelas infinitas oportunidades oferecidas, por ser meu exemplo de profissional dedicado, enfim por fazer parte da minha vida. E não menos importante estendo meu agradecimento a sua esposa Monise Casanova Coltro por todo seu carinho. Obrigada ao dois por serem meus “pais”.

A minha mãe Shirley Moreira, meu pai José Luiz, meu irmão Willian Moreira, ao meu amado vizinho Cidalino e ao meu padrasto e amigo Claudio Diniz, pelo carinho, paciência e incentivo. Amo muito vocês.

Aos meus amigos-irmãos: Camila, Eulício (ridículo), Fabrício, Gerson (de Paulo), Guilherme, Karoliny, Laura, Lucas (luquete), Paula e Paulo (de Gerson). Pela amizade, companheirismo, apoio, críticas e por horas e mais horas de descontração proporcionando um maravilhoso ambiente trabalho.

Um agradecimento especial ao Gerson, exemplo de dedicação e humildade. Sempre abrindo mão de suas obrigações para poder ajudar o próximo. Obrigado por todas as horas dedicadas a mim a ao desenvolvimento do meu trabalho.

Ao Fabrício, pelo carinho, paciência, dedicação, compreensão e companheirismo. Afinal, já dizia nosso orientador “não basta ser namorado, tem que participar”.

Aos meus grandes amigos desde a época da graduação: Karoliny Almeida, Kelly da Silva, Tiago Moreira, Maria Carolina e Weine Amorim. Por estarem ao meu lado nos momentos bons e ruins da vida.

Ao Prof. Dr. Dossil Pereira de Jesus e a todos do seu grupo de pesquisa, pela ótima recepção e ajuda no período que estive em seu laboratório. Assim como ao Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva e o pesquisador Alexandre Zatkovskis Carvalho pela melhoria na eletrônica do detector utilizado neste trabalho e pelo “empréstimo” das fontes miniaturizadas de alta tensão.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) pelo suporte e acesso à infra-estrutura, em especial a Maria Helena (Laboratório de Microfabricação) pelo apoio técnico, ensinamento mais principalmente pela sua alegria contagiante.

Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LABMIC) – IF/UFG, coordenada pela prof. Dra. Tatiane Oliveira do Santos, pela análise de MEV e AFM.

Ao Laboratório da central analítica – IQ/UFG pela realização das demais análises.

Ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação do IQ/UFG, pela assistência acadêmica no decorrer do mestrado.

Ao Instituto Nacional de Ciência de Tecnologia de Bioanalítica (INCT-Bioanalítica) pelo suporte financeiro.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida e pelo auxílio à pesquisa (Processo N° 477067/2010-7).

Enfim, ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás (IQ/UFG), pelo suporte físico e apoio institucional.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE SÍMBOLOS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Sistemas Miniaturizados	1
1.2. Microfluídica.....	3
1.2.1. Microfluídica no Brasil.....	4
1.3. Eletroforese Capilar	8
1.4. Eletroforese em Microsistemas.....	14
1.4.1. Introdução de Amostra em Microsistemas Eletroforéticos	16
1.5. Plataformas Microfluídicas.....	17
1.6. Dispositivos de Poliéster-Toner	20
1.7. Métodos de Detecção para Sistemas Microfluídicos	22
2. OBJETIVOS	25
2.1. Objetivos Principais.....	25
2.2. Objetivos Secundários	25
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	26
3.1. Reagentes e Preparo de Soluções	26

3.1.1. Amostras Reais	27
3.2. Materiais	27
3.3. Fabricação dos Microchips de PT	28
3.4. Procedimentos Eletroforético.....	30
3.4.1. Controle Eletrocinético.....	30
3.4.2. Determinação da Magnitude do Fluxo Eletrosmótico (FEO)....	32
3.4.3. Detecção C ⁴ D	32
3.5. Técnicas de Caracterização	33
3.5.1. Análise Elementar.....	33
3.5.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	33
3.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDS) e Microscopia de Força Atômica (MFA) ...	34
3.5.4. Medidas Perfilométricas	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
PARTE-I	
4.1. Uso do Toner Convencional.....	36
4.1.1. Efeito da Composição do Substrato Sobre a Magnitude do FEO.....	36
4.1.2. Efeito da Dimensão do Canal na Magnitude do FEO	40
4.1.3. Influência da Adição do Solvente Orgânico na Separação	42
4.1.4. Efeito da Configuração do Canal de Injeção	45
4.1.4.1. Dispositivo na Configuração Simples-T (CS)	50
4.1.5. Repetibilidade Analítica	51
4.1.6. Curva Analítica e Limite de Detecção	53
4.1.7. Tempo de Vida Estendido.....	55
4.1.8. Detecção de Cátions Inorgânicos em Amostra Real	58

PARTE-II	
4.2. Uso do Toner Colorido para Fabricação dos Dispositivos de PT.....	60
4.2.1. Caracterização do Toner da Impressora Monocromática e Policromática.....	60
4.2.1.1. Análise Elementar.....	62
4.2.1.2. Análise por Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDS).....	63
4.2.1.3. Análise por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	64
4.2.2. Caracterização do Processo de Impressão.....	66
4.2.3. Análise Dimensional.....	68
4.2.4. Análise Perfilométrica e Morfológica.....	70
4.2.5. Caracterização Elétrica.....	73
4.2.6. Fluxo Eletrosmótico (FEO).....	76
4.2.7. Desempenho Analítico.....	78
4.2.7.1. Dispositivo Amarelo.....	84
4.2.7.2. Dispositivo Ciano.....	85
4.2.7.3. Dispositivo Magenta.....	86
4.2.7.4. Dispositivo Preto (IPC).....	87
4.2.7.5. Dispositivo Preto (IMC).....	88
5. CONCLUSÕES.....	90
6. PERSPECTIVAS.....	93
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Evolução do número de publicações de trabalhos desenvolvidos por pesquisadores brasileiros na área da microfluídica em função do ano. Os dados foram extraídos do banco de dados <i>ISI Web of Knowledge</i> usando as seguintes palavras-chave: <i>microfluidic or microchip electrophoresis or microchips or microdevices or miniaturized devices</i> em 03/04/2012. Para o ano de 2012, foi feita uma estimativa visando um aumento no número de publicações de aproximadamente 30% até o mês de Dezembro, em relação aos números encontrados no mês de Abril.....	7
Figura 1.2 Esquema da instrumentação básica requerida para um sistema EC.....	9
Figura 1.3 Representação da geração do FEO no interior do capilar..	11
Figura 1.4 Esquema de ordem de migração das espécies no capilar..	12
Figura 1.5 Diagrama esquemático de MSE (A), evidenciando arranjos dos canais nas configurações em simples-T ou duplo-T (B). Em (A), os reservatórios para amostra, descarte de amostra, tampão e descarte do tampão estão representados pelos números 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As indicações e0 e e1 representam os eletrodos utilizados no sistema C ⁴ D.....	15
Figura 3.1 Esquema simplificado do processo de fabricação dos microchips em PT. I, filme de transparência; II, impressão do dispositivo sobre o filme de poliéster; III e IV alinhamento e selagem do dispositivos, formando canais com SCT e DCT, V, colagem dos reservatórios e obtenção do dispositivo final.....	29
Figura 3.2 <i>Layout</i> dos dispositivos utilizados no desenvolvimento do trabalho. (A) microchip de canal único empregado nas medidas de FEO e (B) dispositivo utilizado nas separações eletroforéticas.....	30

Figura 3.3 Processo de injeção de amostra pelo método <i>unpinched</i> . (A) Injeção da amostra, no qual aplica-se potencial de 1 kV por durante 10 s entre os reservatórios 1 e 2. (B) Separação do <i>plug</i> de amostra, aplicando o mesmo valor de potencial entre os reservatórios 3 e 4. As indicações e0 e e1 indicam os eletrodos de excitação e receptor do sistema C ⁴ D.....	31
Figura 3.4 Microchip de eletroforese acoplado a eletrodos externos para medidas C ⁴ D. Os números 1, 2, 3 e 4 indicam o tampão, lixo do tampão, amostra e lixo de amostra, respectivamente. Os eletrodos de excitação e receptor estão indicados por e0 e e1, respectivamente.....	33
Figura 4.1 (A) Medidas de monitoramento da corrente para determinação do FEO nos dispositivos impressos na transparência 3M e FP e (B) estabilidade do FEO ao longo de 25 sucessivas injeções nos microchips fabricados com a transparência FP.....	38
Figura 4.2 Caracterização espectroscópica de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos dois filmes de poliéster (3M e Filipaper).....	39
Figura 4.3 Efeitos dos parâmetros geométricos (A) largura e (B) profundidade na magnitude do FEO em pH 9. Em (A) e (B) os canais de PT produzidos com 5 µm de profundidade e 200 µm de largura, respectivamente.....	41
Figura 4.4 Eletroferogramas obtidos com tampão MES/His que contém 0%, 3% e 7% de MeOH em sua composição.....	44
Figura 4.5 Esquema dos dispositivos para introdução de amostras nos microcanais. (A) cruz (CC); (B), duplo-T (CD); (C) simples-T (CS). As indicações em e0 e e1 são os eletrodos de excitação e receptor para as medições C ⁴ D, respectivamente. Em 1, 2, 3 e 4 são representados os reservatórios de amostra, descarte de amostra, tampão e descarte de tampão, respectivamente.....	46

Figura 4.6 Efeito do modo de injeção no desempenho analítico do dispositivo de PT. Figuras (A), (B) e (C), mostram os eletroferogramas obtidos utilizando canal nos formatos em cruz (CC), simples-T (CS) e duplo-T (CD), respectivamente. Todos os dados foram obtidos com uma mistura equimolar de K ⁺ , Na ⁺ e Li ⁺ (100 μmolL ⁻¹ cada). Solução tampão: MES/His 20 mmolL ⁻¹ , pH 6,1. O procedimento eletroforético: 1 kV de injeção e 1 kV de separação. Tempo de injeção: 10s.....	47
Figura 4.7 Imagens ópticas referentes ao processo de injeção nos dispositivos de PT impressos na configuração (A) CC, (B) CD e (C) CS.....	49
Figura 4.8 (A) Eletroferogramas obtido no dispositivo com canal em cruz em diversos tempos de injeção. (B) Influência do tempo de injeção na altura do pico do potássio. Condições experimentais: ver Figura 4.6.....	51
Figura 4.9 Eletroferogramas mostrando a separação sequencial (n = 4) dos íons K ⁺ , Na ⁺ e Li ⁺ na concentração de 100 μmolL ⁻¹ (cada). Condições experimentais: ver Figura 4.6.....	52
Figura 4.10 Curva de calibração para os cátions inorgânicos no intervalo de concentração entre 25 e 100 μmolL ⁻¹	54
Figura 4.11 Eletroferogramas mostrando a detecção de cátions inorgânicos em (A) bebida energética e (B) mistura de formulações farmacêuticas contendo diclofenaco de potássio, diclofenaco de sódio e carbonato de lítio.....	59
Figura 4.12 Resultados das análises de espectroscopia dispersiva de energia de raios-X (EDS) para toner preto da (A) IMC e (B) IPC.....	64
Figura 4.13 Espectro do FTIR do toner pigmentado (A) e para o toner convencional (B).....	65
Figura 4.14 Micrografias obtidas da deposição do toner sobre o filme de transparência. Impressão do toner utilizando (A) IMC, com ênfase para lacunas existentes e (B) IPC.....	66

Figura 4.15 Gráfico de largura real <i>versus</i> nominal para canais impressos com (A) IMC e (B) IPC.....	69
Figura 4.16 Medidas do perfil dos canais impressos com a IPC (Magenta, Ciano, Amarelo e Preto) e com a IMC.....	71
Figura 4.17 Imagem de MFA da superfície da camada toner impressa com IMC. Área analisada: 80 x 80 μm	72
Figura 4.18 Imagem de MFA da superfície da camada toner impressa com IPC. Área analisada: 80 x 80 μm	72
Figura 4.19 Curvas obtidas para a corrente eletroforética em função do potencial aplicado. Medidas realizadas para os dispositivos a base de toner pigmento (amarelo, ciano, magenta e preto) e o dispositivo preto da IMC.....	74
Figura 4.20 Efeito do pH sobre a mobilidade do FEO determinado utilizando o método do monitoramento de corrente com soluções tampão fosfato com pH variando entre 2 e 12. A determinação foi realizada nos dispositivos amarelo, ciano, magenta, preto (IPC) e preto (IMC), n = 3.....	77
Figura 4.21 Representação microchip colorido de PT. Os pontos e0 e e1 representam os eletrodos de fita adesiva de cobre para as medidas de condutividade.....	79
Figura 4.22 Exemplos de eletroferogramas obtidos nos dispositivos PT fabricados na IPC e IMC sob as mesmas condições de análise. O controle eletrocinético foi realizado pela aplicação de 1 kV no reservatório de amostra e no reservatório do tampão enquanto os reservatórios de descarte de amostra e tampão foram mantidos constantes. Tempo de injeção de 10 s. A solução tampão utilizada foi de MES/ His 20 mmol L ⁻¹ , pH 6,1.....	79
Figura 4.23 Eletroferogramas apresentando a repetibilidade analítica do chip amarelo em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.....	85

Figura 4.24 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip ciano em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.....	86
Figura 4.25 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip magenta em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.....	87
Figura 4.26 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip preto (IPC) em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.....	88
Figura 4.27 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip preto (IMC) em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação de reagentes utilizados no desenvolvimento da parte experimental.....	26
Tabela 2. Parâmetros eletroforéticos avaliados durante a investigação do tempo de vida de único dispositivos por três dias consecutivos.....	57
Tabela 3. Dados de composição de cada tipo de toner. Informações fornecidas pelo fabricante.....	61
Tabela 4. Resultados de Análise Elementar de CHNO-S para os tipos de toner provenientes da IMC e IPC.....	62
Tabela 5. Comparação da eficiência de separação e magnitude do FEO obtido para os dispositivos fabricados com as impressoras IMC e IPC.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS

C ⁴ D	Detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente
CC	Canal em cruz
CD	Canal duplo-T
CG	Cromatografia em fase gasosa
CL	Cromatografia em fase líquida
CS	Canal em simples-T
CTAB	Brometo Cetil(tri)metilamônio
CTAC	Cloreto de cetil(tri)metilamônio
DCT	Dupla camada de toner
DPR	Desvio padrão relativo
EC	Eletroforese capilar
EDS	Espectroscopia de energia Dispersiva de Raios-X
EM	Espectrometria de massa
FEO	Fluxo eletrosmótico
AIF	Análise de Injeção em fluxo
FIL	Fluorescência induzida a laser
FP	Filipaper
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
His	L-Histidina
HP	Hewlett Packard
IMC	Impressora monocromática
IPC	Impressora policromática
LABMIC	Laboratório multiusuário de microscopia de alta resolução
LD	Limite de detecção
LMF	Laboratório de microfabricação
LNLS	Laboratório nacional de luz síncroton

MeOH	Metanol
MES	Ácido 2-(N-morpholino) etanosulfônico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MFA	Microscopia de força atômica
MSE	Microsistema de eletroforese
μTAS	Microsistemas de análises totais
PC	Poli(carbonato)
PCI	Placa de circuito impresso
RPC	Reação em cadeia da polimerase
PDMS	Poli(dimetilsiloxano)
PET	Poli(etileno tereftalato)
PMMA	Poli(metil metacrilato)
PT	Poliéster-toner
PU	Poli(uretana)
S/N	sinal/ruído
SCT	Simplex camada de toner
TOPAS	Polímero termoplástico a base de olefina de estrutura amorfa
TTAB	Brometo de tetradecil(tri)metilamônio

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Área secção transversal
d	Distância
E	Campo elétrico
ε	Constante dielétrica
l	Comprimento efetivo
L	Comprimento do canal
l_{eff}	Comprimento efetivo
l_{plug}	Comprimento do plug de injeção
N	Eficiência de separação
η	Viscosidade do meio
N_{Exp}	Eficiência experimental
N_T	Eficiência máxima teórica
q	Carga
r	Raio da partícula.
R_T	Resistência teoria
t_m	Tempo de migração
v_{FEO}	Velocidade eletrosmótica
v	Velocidade do íon
μ_{FEO}	Mobilidade eletrosmótica
σ^2_{det}	Geometria do detector
σ^2_{dif}	Difusão longitudinal
σ^2_{ele}	Eletrodeposição das zonas de amostra
σ^2_J	Efeito Joule
σ^2_{inj}	Injeção da amostra

σ^2_{wall}	Variância característica da Interação do analito com a parede do canal
σ^2_{total}	Variância total
ρ	Resistividade
σ	Condutividade
w	Largura do pico medida na base do pico
ζ	Potencial zeta.

RESUMO

Este trabalho descreve a fabricação de microssistemas eletroforéticos (MSE) de poliéster-toner (PT) e um estudo sobre o melhoramento do desempenho analítico destes dispositivos. Os MSE de PT foram produzidos utilizando dois filmes de transparência de fabricantes distintos (3M e Filipaper). Além disso, este trabalho relata uma melhor compreensão da geração do fluxo eletrosmótico (FEO) bem como a influência de alguns parâmetros, incluindo as dimensões do microcanal (largura e profundidade), o modo de injeção e da adição de solvente orgânico ao tampão de corrida. O desempenho analítico dos microchips de PT foi investigado utilizando o sistema de detecção condutométrica sem contato capacitivamente acoplada (C^4D) e cátions inorgânicos como analitos modelo. Estes dispositivos apresentaram valor de FEO $(3,4 \pm 0,2) \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ com boa estabilidade ao longo de 25 corridas consecutivas. Verificou-se que a magnitude EOF depende da dimensão do canal, ou seja, canais mais largos e de menor profundidade apresentam maior valor de FEO. A eficiência de separação encontrada foi de até 50.000 pratos/m para a separação dos cátions inorgânicos. Os limites de detecção (LD) encontrados para K^+ , Na^+ e Li^+ foram de 4,2, 7,3 e 23 μM , respectivamente. Além disso, observou-se que um único dispositivo pode ser utilizado por até três dias consecutivos. Todos os melhoramentos encontrados permitiu a detecção de cátions inorgânicos em amostras reais, como bebida energética e um mistura farmacêutica.

Além do uso do toner convencional, este trabalho descreve pela primeira vez o uso do toner pigmentado como material estrutural na produção dos MSE de PT. Os diferentes tipos de toner foram caracterizados pelas técnicas de análise elementar, espectroscopia dispersiva de raios-X (EDS), espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de força atômica (MFA), e medidas perfilométricas. Além disso, a resistência elétrica, a influência do pH sobre o FEO e o desempenho analítico de cada dispositivo colorido foi avaliado. Todos esses parâmetros foram comparados aos MSE de PT fabricados com toner convencional. Baseados nos dados encontrados, pode-se concluir que os dispositivos fabricados com impressora policromática (IPC) apresentaram melhor desempenho analítico. Essa melhora está associada à composição química de cada cartucho de toner, o qual influencia diretamente na magnitude do FEO. Além disso, foi encontrado que o desempenho analítico também foi influenciado pelo processo de impressão. Quando comparada à impressora monocromática, a IPC produz dispositivos com superfícies mais uniformes e de menor rugosidade.

ABSTRACT

This work describes the fabrication of polyester-toner (PT) electrophoresis microchips as well as a study in order to improve their analytical performance. For this purpose, two kinds of transparency films fabricated by different companies (3M and Filipaper) were investigated. Furthermore, this work also reports a better understanding about the electro-osmotic flow (EOF) generation and its dependency on some parameters including the channel dimensions (width and depth), the injection mode and the addition of organic solvent to the running buffer. The analytical performance of PT devices was investigated using a capacitively coupled contactless conductivity detector (C⁴D) and inorganic cations as model analytes. The proposed devices have exhibited EOF values of $(3.4 \pm 0.2) \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ with good stability over 25 consecutive runs. It has been found that the EOF magnitude depends on the channel dimension, *i.e.*, the wider and shallower the channel, the higher the EOF value. Separation efficiencies around 50.000 plates/m were successfully obtained. The limits of detection (LD) found for K⁺, Na⁺ and Li⁺ were 4.2, 7.3 and 23 μM , respectively. In addition, the same PT device has been used by three consecutive days. All improvements found allowed the qualitative determination of inorganic cations in real samples such as energetic drinks and pharmaceutical formulations.

Besides the conventional toner, this work describes the first time the use of colored toner as substrate to define the channel walls on PT devices. The different kinds of toner were characterized by elemental analysis, energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX), fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscope (SEM), atomic force microscopy (AFM) and profilometric measurements. Furthermore, the electrical resistance, the influence of pH on the EOF magnitude and the analytical performance were evaluated for all colored devices. All these parameters were compared to PT produced with conventional toner. Based on the results found, it can be concluded that PT devices fabricated with color laser printer provided better analytical performance. This improvement is associated with the chemical composition of each toner cartridge, which directly affects the EOF magnitude. In addition, it has been found that the analytical performance is also influenced by the printing process. When compared to the monocromatic printer, the color laser printer produces channels better defined and with lower surface roughness.

INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1. Sistemas Miniaturizados

O processo de miniaturização tem dominado o progresso da tecnologia moderna em vários campos da pesquisa. Na eletrônica e na informática essa revolução foi marcada pelo desenvolvimento do primeiro microprocessador criado na década de 60 (EHRFELD, 2003). Este dispositivo foi fabricado em uma pastilha de silício e nele continha todos os componentes eletrônicos básicos necessários para o funcionamento de um computador. O desenvolvimento destes sistemas em micro-escala possibilitou a redução de tamanho e peso de equipamentos, além de permitir o aumento da capacidade de armazenamento e processamento dos dados. A combinação desses fatores viabilizou a fabricação de produtos e subprodutos que facilitaram e muito o dia-a-dia da humanidade.

Outro campo da pesquisa que passou pelo processo revolucionário da miniaturização foi à área da Química, mais precisamente a Química Analítica. Nesta, o desenvolvimento dos dispositivos microfluídicos são os que figuram este verdadeiro marco. O primeiro sistema de análise microfabricado foi apresentado à comunidade científica em 1979. O cromatógrafo gasoso miniaturizado continha uma coluna de separação de aproximadamente 1,5 m fabricado sobre uma placa circular de silício, cujo seu diâmetro era de 5 cm (TERRY, JERMAN e ANGELL, 1979). Este dispositivo proporcionou o aumento da frequência analítica devido à capacidade de realizar rápidas separações. No entanto, a falta de experiência tecnológica nesta nova área não permitiu que ocorressem

maiores avanços nesse sistema, deixando assim as pesquisas direcionadas à miniaturização de outros componentes como bombas, válvulas e sistemas de detecção (DITTRICH, TACHIKAWA e MANZ, 2006).

O renascimento dos sistemas analíticos miniaturizados só foi ocorrer na década de 1990 com o desenvolvimento de um micro-cromatógrafo líquido (MANZ *et al.*, 1990a) e neste mesmo período foi apresentado também à comunidade científica o conceito de microssistemas de análises totais (μ TAS). Esses sistemas, propostos por Manz *et al.* (MANZ, GRABER e WIDMER, 1990b), trouxeram muitas vantagens aos métodos de separação existentes, pois em um único dispositivo é possível realizar várias etapas prévias de análise como introdução e pré-tratamento de amostra, reações químicas, separações analíticas além da integração como uma diversidade de métodos de detecção (DITTRICH, TACHIKAWA e MANZ, 2006; MANZ, GRABER e WIDMER, 1990b; WOOLEY *et al.*, 1998). Além disso, a redução da escala macro para a micro possibilitou a diminuição do consumo de reagente e amostras, diminuindo conseqüentemente a geração de resíduos, e aumento da frequência analítica. Todas essas vantagens conquistadas, aliadas a eficiência de análise, que foi a motivação inicial para o desenvolvimento dos sistemas miniaturizados, bem como a automação e portabilidade desses dispositivos impulsionou o desenvolvimento e consolidação da microfluídica no âmbito nacional e internacional (COLTRO *et al.*, 2007).

1.2. Microfluídica

Em termos de conceito, a microfluídica é um ramo da ciência que estuda o comportamento e a manipulação do fluido em estruturas com dimensões micrométricas. É um campo multidisciplinar de pesquisa, que pode ser considerada como fruto do desenvolvimento de algumas áreas fundamentais como a microeletrônica e análise molecular (WHITESIDES, 2006).

Quem desenvolve trabalho nesta área, entende que vários aspectos usuais que são levados em consideração na escala macrométrica dão espaço a efeitos que afetam significativamente o “mundo” da escala micro, como capilaridade e tensão superficial (WHITESIDES, 2006). Além desses parâmetros, o baixo número de Reynolds, nesses microdispositivos, é outro fator importante que afeta todos os processos químicos que ocorrem na escala micro. A existência deste fator impossibilita que a mistura de soluções ocorra no interior do microcanal pelo processo de convecção, método normalmente empregado na química convencional (WHITESIDES, 2006; MANZ e EIJKEL, 2001).

Entretanto, o processo de difusão tem sido um método eficiente na mistura de soluções nos dispositivos fabricados em microescala. Considerando-se um cubo com aresta d , o tempo que uma molécula necessita para percorrer essa distância d diminui com o fator $1/d^2$. Para ilustrar esse efeito, uma molécula com coeficiente de difusão de $10^{-9} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ necessita de 500 s para percorrer uma distância de 1 mm, mas somente 5 s para percorrer 100 μm (MANZ e EIJKEL, 2001). Por outro lado, quando o

assunto não é mistura de soluções no interior de um canal microfluídico, o fenômeno de difusão pode ser um problema no processo de separação de espécies sob aplicação de um campo elétrico. Em uma separação eletroforética, por exemplo, existe um tempo limite (determinado experimentalmente) para que as etapas de injeção e separação de amostra ocorram. No entanto, se este tempo for ultrapassado, o processo de difusão se inicia e a separação dos analitos ocorre com baixa resolução e eficiência. Para que este fenômeno não aconteça é necessário se ter um controle automatizado das etapas de injeção e separação de amostra.

1.2.1. Microfluídica no Brasil

No Brasil o desenvolvimento de microssistemas analíticos começou a ser realizado no início da década de 2000, tendo o grupo de pesquisa do Prof. Claudimir L. do Lago (Instituto de Química, Universidade de São Paulo) como o grupo pioneiro. A relativa demora científica não impossibilitou que grandes avanços ou contribuições tecnológicas fossem relatados na literatura por grupos brasileiros. Nos dias atuais, essa linha de pesquisa tem sido objeto de estudo dos mais diferentes pesquisadores alocados nas principais universidades do país (COLTRO, 2004; NEVES, 2005; SILVA, 2006; COLTRO, 2008a; COSTA, 2009; DUARTE 2010; LIMA, 2010; SEGATO, 2011; SILVA, 2011).

Um indicativo do crescente interesse científico nacional pelo processo do desenvolvimento dos sistemas miniaturizados, em especial a microfluídica, pode ser acompanhado pelo aumento do número de artigos

publicados em periódicos especializados. De acordo com o que já foi divulgado, os grupos brasileiros têm contribuído significativamente com o desenvolvimento de sistemas eletroforéticos (DO LAGO *et al.*, 2003; COLTRO *et al.*, 2004; COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b; PICCIN *et al.*, 2007), sistemas eletroanalíticos (DANIEL e GUTZ, 2003; DANIEL e GUTZ, 2005; DANIEL e GUTZ, 2007; FERREIRA *et al.*, 2008; DA SILVA *et al.*, 2009) e sistemas de análise de injeção em fluxo de baixo custo (IBANEZGARCIA *et al.*, 2006; DE JESUS, BLANES e DO LAGO, 2006; FONSECA *et al.*, 2007; FONSECA *et al.*, 2010). Como resultado das contribuições brasileiras, ressalta-se a viabilidade do uso do toner, da poliuretana e da cerâmica verde como plataformas microfluídicas (DO LAGO *et al.*, 2003; COLTRO *et al.*, 2004; COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b; PICCIN *et al.*, 2007; IBANEZGARCIA *et al.*, 2006).

O desenvolvimento de plataformas alternativas e economicamente viáveis para grupos com difícil acesso à instrumentação de alto custo tem recebido uma boa aceitação internacional. Uma prova dessa aceitação se dá pelo aumento das colaborações internacionais envolvendo universidades bem conceituadas como Universidade de Harvard, Universidade da Virgínia, Universidade do Texas, Universidade do Kansas, dentre outras. Um dos resultados mais positivos dessas colaborações internacionais é o desenvolvimento de sistemas analíticos baseados em papel de filtro, do qual o Prof. Dr. Emanuel Carrilho teve uma participação efetiva durante seu estágio de pós-doutorado em Harvard (CARRILHO, MARTINEZ e WHITESIDES, 2009; MARTINEZ *et al.*, 2010a).

O papel é um substrato com custo “quase zero” para microfluídica e, além de fácil obtenção, apresenta biocompatibilidade e potencialidade para aplicações no campo. Diferentes grupos de pesquisa vêm explorando este substrato para a confecção de sistemas para diagnósticos clínicos ou testes rápidos. Os dispositivos de papel, assim como os de toner, integram a atual geração de dispositivos analíticos descartáveis com elevada potencialidade analítica e bioanalítica (MARTINEZ *et al.*, 2010a; MARTINEZ *et al.*, 2010b; CARVALHAL *et al.*, 2010; CHENG *et al.*, 2010).

A Figura 1.1 apresenta um levantamento bibliográfico do número de publicações brasileiras relacionadas à microfluídica nos últimos anos. Esta pesquisa foi feita no dia 03 de abril de 2012 no banco de dados da *ISI Web of Knowledge* usando-se as seguintes palavras-chave: *microfluidic or microchip electrophoresis or microchips or microdevices or miniaturized devices*. Para o ano de 2012, também foram considerados os artigos que já foram aceitos e estão disponíveis online nos periódicos na forma não editada.

No gráfico é possível observar uma oscilação a cada dois ou quatro anos nas publicações encontradas. Isso faz sentido para a pesquisa realizada, pois este período é o tempo médio requerido para a formação de mestres e doutores nesta área. Apesar desse fator, é possível notar uma expansão no número de publicações desde a implementação dessa linha de pesquisa no Brasil. Em outras palavras a microfluídica tem sido cada vez mais explorada na formação de recursos humanos (mestres e doutores) e estágios de pós-doutoramento.

Diante deste panorama, a expectativa é que número de publicações continue aumentando nos próximos anos, uma vez que, em alguns centros de pesquisa, a formação de recursos humanos está sendo conduzida integralmente na área da microfluídica.

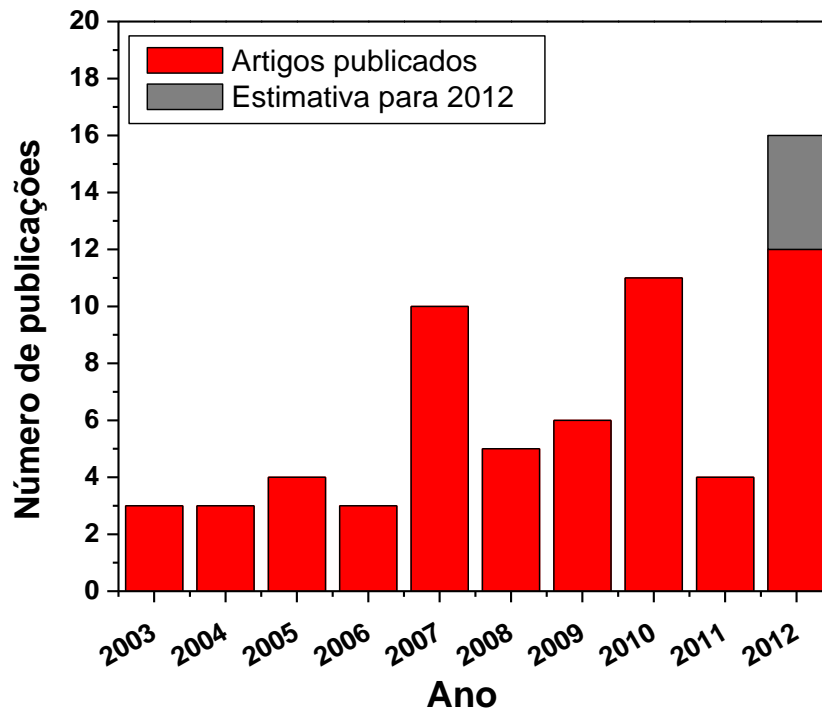


Figura 1.1 Evolução do número de publicações de trabalhos desenvolvidos por pesquisadores brasileiros na área da microfluídica em função do ano. Os dados foram extraídos do banco de dados *ISI Web of Knowledge* usando as seguintes palavras-chave: *microfluidic or microchip electrophoresis or microchips or microdevices or miniaturized devices* em 03/04/2012. Para o ano de 2012, foi feita uma estimativa visando um aumento no número de publicações de aproximadamente 30% até o mês de Dezembro, em relação aos números encontrados no mês de Abril.

Um reflexo dessa expansão nacional da área mencionada pode ser mensurado pela criação de *Workshop* de Microfluídica no país (<http://www.lnnano.org.br/workshopmicrofluidica/>). O primeiro evento foi realizado no ano de 2011 em apenas um dia e nele foi possível acompanhar os inúmeros trabalhos que estão sendo desenvolvidos nesta área. O

sucesso do primeiro evento, que contou com a presença de mais ou menos 120 participantes, colaborou, sem dúvidas, para sua expansão e despertou em diversos pesquisadores o interesse no desenvolvimento desta linha de pesquisa. O sucesso foi tanto que um segundo *Workshop* será realizado neste ano de 2012, com tempo expandido para dois dias e participação de palestrantes internacionais.

1.3. Eletroforese Capilar

Diversas técnicas de separações analíticas vêm sendo desenvolvidas em micro-escala, como a cromatografia em fase gasosa (CG) e em fase líquida (CL) e a eletroforese capilar (EC) (AUROUX *et al.*, 2002; WEST *et al.*, 2008; ARORA *et al.*, 2010). Dentre essas técnicas a EC foi a que mais se desenvolveu nesta área, devido principalmente à sua simplicidade instrumental e facilidade em relação ao transporte de fluido (BILITEWSKI *et al.*, 2003). Desenvolvida na década de 80 a técnica surgiu como uma alternativa à cromatografia em fase líquida (TAVARES, 2003).

Em EC, as separações ocorrem em capilares com diâmetro interno do capilar da ordem de 15-100 μm . Estas dimensões fornecem a esta técnica diversas vantagens sobre os sistemas realizados em gel. O uso do capilar favorece ainda uma eficiente dissipação do calor gerado pela passagem da corrente elétrica (efeito Joule), além de permitir a aplicação de campo elétrico mais elevado, de 100 – 500 V cm^{-1} , devido a sua alta resistência elétrica (TAVARES, 2003). Outras vantagens encontradas em relação a esta técnica inclui o consumo reduzido de amostra, completa automação de análise que possibilita a injeção e detecção em fluxo e a possibilidade de

integração com diversos métodos de detecção (TAVARES, 1996, TAVARES, 2003).

A eletroforese baseia-se na separação de espécies eletricamente carregadas a partir de suas diferentes mobilidades, sob a influência de campo elétrico (TAVARES, 1996). Um sistema básico de um equipamento de EC, apresentado na Figura 1.2, é constituído de dois reservatórios que contêm uma solução eletrolítica, conectados entre si por meio de um tubo capilar normalmente de sílica fundida, preenchido com a mesma solução eletrolítica. Em cada reservatório é mantido um eletrodo de platina conectado a uma fonte de alta tensão, no qual esta fonte irá fornecer a diferença de potencial requerida para a separação dos analitos. Os analitos por sua vez, quando injetados migram no interior do capilar e são detectados pelo sistema de detecção que está acoplado do lado oposto à injeção. O sinal gerado é enviado ao *software* de leitura gerando um eletroferograma.

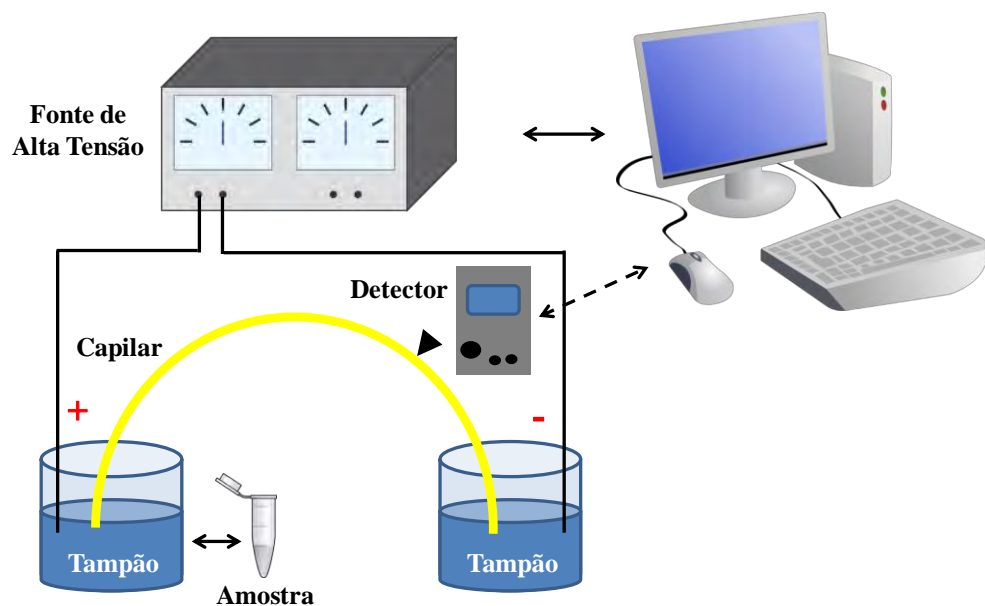


Figura 1.2 Esquema da instrumentação básica requerida para um sistema EC.

A mobilidade das espécies no interior do capilar é definida pela relação carga/tamanho. A equação 1 descreve matematicamente a mobilidade dessas espécies, sendo que v é a velocidade do íon, E o campo elétrico aplicado, q é a carga do composto, η é a viscosidade do meio e r é o raio do íon.

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{q}{6\pi\eta r} \quad \text{(Equação 1)}$$

Quanto maior for a razão entre a carga e o tamanho da espécie maior será a mobilidade eletroforética, deste modo moléculas pequenas e altamente carregadas migram através do capilar mais rápido que moléculas grandes e com carga menor.

Um fator que influencia diretamente na mobilidade das espécies é o fluxo eletrosmótico (FEO) gerado no interior do capilar. Este fenômeno que é característico da técnica de EC ocorre devido ao fluxo da solução induzido pelo campo elétrico aplicado (BAKER, 1995). O FEO é caracterizado por um perfil radial constante da velocidade, o que não contribui para o alargamento do pico. Este fator distingue EC dos métodos cromatográficos em fase líquida, que apresenta um fluxo com perfil parabólico, característico de um sistema induzido por pressão (BAKER, 1995). A existência do FEO no capilar se deve à presença de dupla camada elétrica que se forma na interface parede do capilar/solução. Com soluções em pH acima de 3 os grupos silanoís da superfície interna do capilar são ionizados gerando uma densidade de cargas negativas. Estas cargas negativas atraem as cargas

positivas dos cátions que estão presentes na solução, formando a dupla camada elétrica. Com a aplicação do potencial esta camada elétrica é arrastada em direção ao cátodo, e como estes estão completamente solvatados carregam consigo toda a solução tampão, gerando o FEO (BAKER, 1995). A Figura 1.3 apresenta esquema de geração do FEO no interior do tubo capilar.

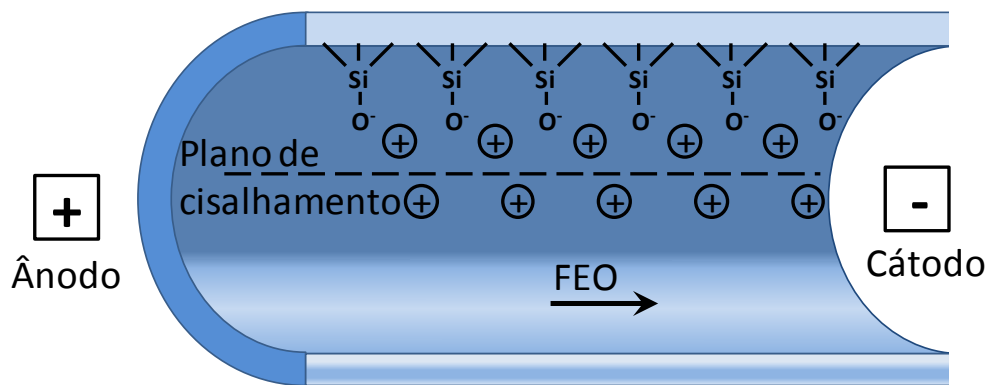


Figura 1.3 Representação da geração do FEO no interior do capilar.

O fenômeno do FEO permite que em uma única análise sejam separadas tanto os cátions, quanto ânions e as espécies neutras. Os cátions migram em direção ao cátodo com mobilidade maior que o FEO. Os ânions, por apresentarem menor mobilidade eletroforética que o FEO, migram em menor velocidade e as moléculas neutras migram juntamente ao fluxo. A Figura 1.4 mostra a ordem de migração das espécies no capilar.

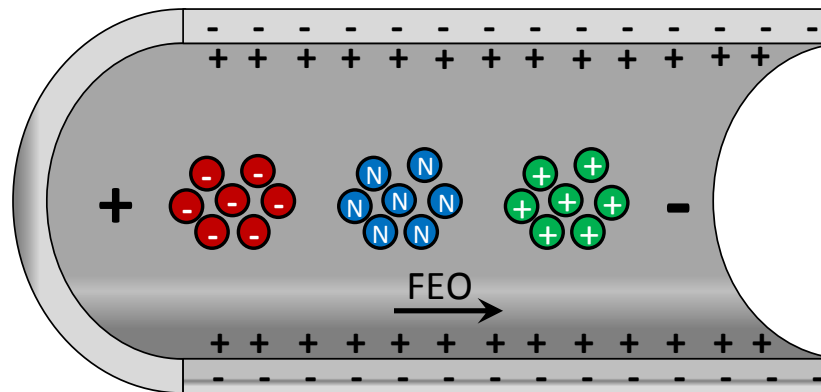


Figura 1.4 Esquema de ordem de migração da espécies no capilar.

De acordo com a necessidade da análise, a magnitude do FEO pode ser controlada, podendo ser reduzida, suprimida ou até mesmo ter sua direção invertida. A redução do fluxo é necessária quando se deseja separar espécies que apresentam mobilidades muito próximas. Essa redução pode ser conseguida através da modificação de parâmetros físico-químicos do eletrólito de corrida, como pH, força iônica, viscosidade, temperatura ou até mesmo pela adição de algum aditivo orgânico (TAVARES, 1997). Já a inversão da direção do FEO é aplicada com o objetivo de se analisar ânions com um menor tempo de análise. Esta inversão pode ocorrer pela alteração da polaridade, fazendo com que o fluxo apresente direção aniônica ou pela adição de modificadores químicos ao tampão de corrida. Existe uma gama de compostos que podem ser utilizados para este propósito, como o brometo de cetil(tri)metilamônio (CTAB), cloreto de cetil(tri)metilamônio (CTAC) e o brometo de tetradecil(tri)metilamônio (TTAB). Esses sais de aminas quaternárias apresentam em sua estrutura uma região hidrofílica e outra hidrofóbica. Enquanto a extremidade hidrofílica se associa aos grupos silanoatos presentes na parede do capilar a extremidade hidrofóbica se liga

a outras aminas quaternárias presentes em solução (BAKER, 1995; TAVARES, 1997). Assim, a extremidade hidrofílica livre da amina atrai os ânions do tampão, que por sua vez são atraídos em direção ao eletrodo positivo (ânodo), resultando na inversão do FEO.

Outro fator importante a ser determinado é a magnitude do fluxo gerado no capilar. No entanto, para se obter a magnitude do FEO é necessário conhecer primeiramente a velocidade desse fluxo no meio. Esta velocidade pode ser mensurada a partir da equação 2:

$$v_{FEO} = \mu_{FEO} E \quad \text{(Equação 2)}$$

O μ_{FEO} que é denominado como mobilidade eletrosmótica, pode ser calculada a partir da equação 3:

$$\mu_{FEO} = \frac{\varepsilon \zeta}{4\pi\eta} \quad \text{(Equação 3)}$$

No qual, ε é a constante dielétrica do tampão e ζ é o potencial zeta.

A magnitude do FEO, por sua vez, pode ser determinada pela injeção e detecção de um marcador neutro, no qual o tempo de migração (t_m) desse composto é utilizado para o cálculo da mobilidade eletrosmótica (BAKER, 1995). Neste caso, é importante conhecer também o comprimento efetivo (l) (comprimento do capilar até o ponto de detecção), e a velocidade eletrosmótica v_{FEO} obtida em cm s^{-1} , que é representado pela equação 4:

$$v_{FEO} = \frac{l}{t_m} \quad \text{(Equação 4)}$$

Combinando então as equações 2 e 4, a mobilidade eletrosmótica (μ_{FEO}) dada em $\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$, pode ser calculada pela divisão da velocidade eletrosmótica, em cm s^{-1} , pelo campo elétrico, E , dado em V cm^{-1} .

Outro método frequentemente utilizado para o mesmo propósito é o monitoramento da corrente eletroforética dentro de um capilar na presença de uma solução eletrolítica e duas concentrações diferentes. Este método foi proposto por Huang *et al.* (HUANG, GORDON e ZARE, 1988) e consiste inicialmente no preenchimento do capilar com uma das soluções. Aplica-se uma diferença de potencial, por determinado tempo, registrando a corrente eletroforética gerada. Em seguida, faz-se a troca da solução e repete o procedimento descrito acima. A mudança de concentração no meio provoca uma alteração na corrente eletroforética monitorada, devido à diferença de condutividade. O tempo necessário para que a alteração dessa corrente aconteça é determinado de tempo do FEO. Tendo os parâmetros como comprimento do capilar, potencial aplicado e o tempo do FEO torna-se possível o cálculo da mobilidade eletroforética.

1.4. Eletroforese em Microsistemas

A eletroforese em micro-escala foi desenvolvida com suas bases sedimentadas na EC. Assim, todos os conceitos aplicados em EC são válidos para a eletroforese em microchips. No entanto, a diferença existente entre as duas se dá no local de ocorrência do processo de separação, enquanto em EC o fenômeno ocorre no capilar, nos microsistemas o mesmo acontece no interior de um microcanal.

A configuração dos microsistemas de eletroforese (MSE) mais comumente utilizados está apresentada na Figura 1.5. Neste é possível notar que o MSE é composto por um canal de injeção e um canal de separação, os quais estão dispostos na configuração em cruz. Na extremidade de cada microcanal estão representados reservatórios destinados às soluções. Os reservatórios 1, 2, 3 e 4 são destinados para amostra, descarte da amostra, tampão e descarte do tampão, respectivamente. A intersecção entre os canais de injeção e separação pode sofrer variação geométrica de modo a controlar o volume de amostra para ser introduzido dentro do canal de separação (GAWRON, MARTIN e LUNTE, 2001). Além da geometria em cruz (simples-T) os canais podem ser arranjados em duplo-T, conforme apresentado na Figura 1.5B.

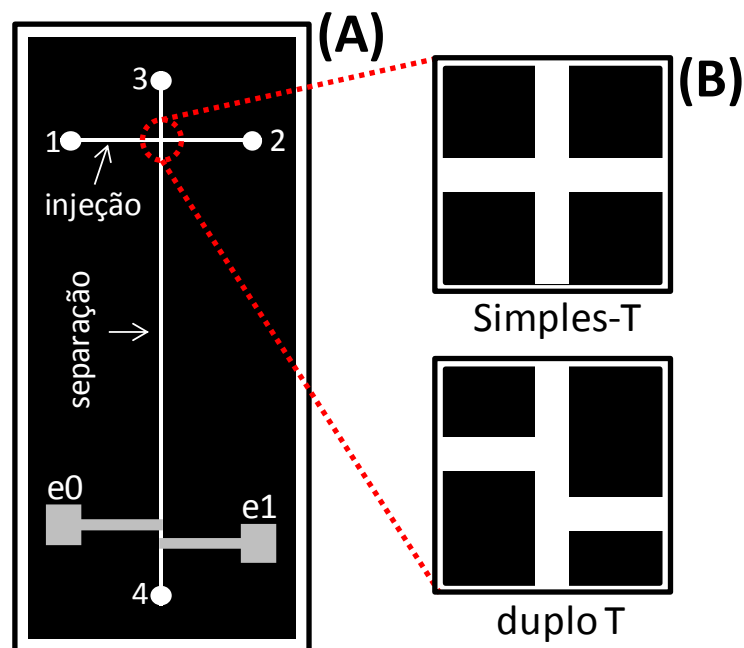


Figura 1.5 Diagrama esquemático de MSE (A), evidenciando arranjos dos canais nas configurações em simples-T ou duplo-T (B). Em (A), os reservatórios para amostra, descarte de amostra, tampão e descarte do tampão estão representados pelos números 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As indicações e0 e e1 representam a os eletrodos utilizados no sistema C⁴D.

1.4.1. Introdução da Amostra em Microsistemas Eletroforéticos

Os métodos de introdução de amostras em MSE representam um dos parâmetros mais importantes no processo de separação, pois suas características determinam a qualidade de uma separação e assegura a repetibilidade analítica (FU *et al.*, 2002). Nos sistemas miniaturizados o método de injeção eletrocinética é o mais utilizado, embora já existam alguns trabalhos envolvidos no desenvolvimento de injeção hidrodinâmica (GREENWOOD e GREENWAY, 2002; BACKOFEN, MATYSIK e LUNTE, 2002; SAITO, COLTRO, e De JESUS, 2012).

Nos microdispositivos existem três modos básicos de injeção eletrocinética: *unpinched* (RODDY, XU e EWING, 2004), *pinched* (ALARIE, JACOBSON e RAMSEY, 2001) e *gated* (JACOBSON e RAMSEY, 1995). Dentre eles, o modo mais simples de injeção é o *unpinched*, pois requer apenas uma fonte de alta tensão para realizar as etapas de injeção e separação dos analitos. Neste processo, o volume de amostra a ser injetado é definido pela geometria e disposição entre os canais de injeção e separação (RODDY, XU e EWING, 2004). Basicamente este modo de injeção consiste na aplicação de potencial entre os reservatórios (1) e (2) (figura 1.5A) por um tempo normalmente menor que 10 s. Durante este processo, a amostra é injetada e preenche todo o canal de injeção definindo o *plug* de amostra pela intersecção dos microcanais. Em seguida, para que as espécies migrem e se separem no interior no canal de separação o potencial é chaveado e aplicado somente aos reservatórios (3) e (4) de modo que o processo de separação eletroforética ocorra.

1.5. Plataformas Microfluídicas

Existe uma variedade de materiais que podem ser empregados para fabricação dos microchips analíticos. Nas décadas de 1970 e 1980 o material pioneiro para a produção dos microchips foi o silício. Naquela época este substrato era utilizado em larga escala para confecção de circuitos integrados. No entanto, o alto valor agregado e problemas relacionados à transparência óptica e inércia química fizeram com este material fosse gradativamente substituído pelo vidro e/ou pelo quartzo (COLTRO *et al.*, 2007). Já na década de 1990 o vidro passou a ser o substrato mais utilizado para fabricação dos MSE. Este material apresenta propriedades físicas e químicas que foram de fundamental importância para o desenvolvimento da eletroforese em microescala. Parâmetros como alta eficiência em dissipação de calor, boa transparência óptica, baixa reatividade química, bom isolamento elétrico e principalmente a similaridade da superfície do vidro com a superfície do capilar de sílica fundida foi o que impulsionou o largo emprego deste material (COLTRO *et al.*, 2007).

Os dispositivos de vidro são comumente fabricados pela técnica de fotolitografia seguida de corrosão química por via úmida e selagem térmica (SEGATO *et al.*, 2010). Este método de fabricação confere a este material algumas desvantagens, pois o processo é laborioso, de custo elevado, requer acesso a ambientes limpos bem como a utilização de equipamentos sofisticados o que restringe seu uso a poucos grupos de pesquisas (MCCREEDY, 2000).

Devido a essas desvantagens, relacionadas principalmente ao processo de fabricação e aos avanços tecnológicos recorrentes, a pesquisa foi impulsionada a desenvolver materiais alternativos que pudessem produzir resultados com a mesma capacidade que dispositivos fabricados em vidro. Neste contexto, a utilização de materiais poliméricos para estes fins tem apresentado um impressionante crescimento. Esses substratos agregam características como custo reduzido, facilidade de fabricação, biocompatibilidade, flexibilidade, inércia química e transparência óptica (BECKER e GARTNER, 2008; ELODIE *et al.*, 2011). Além disso, esses materiais oferecem a vantagem da prototipagem, ou seja, fabricação de vários dispositivos utilizando um único molde.

Uma variedade de polímeros pode ser empregada para fabricação dos MSE, nos quais podem ser incluídos poli(dimetilsiloxano) (PDMS) (MCDONALD *et al.*, 2000; MCDONALD *et al.*, 2002), poli(metil metacrilato) (PMMA) (WANG *et al.*, 2002; CHEN Y, ZHANG e CHEN G., 2008), poli(carbonato) (PC) (WANG *et al.*, 2008), poli(uretana) (PU) (PICCIN *et al.*, 2007), poli(etileno tereftalato) (PET) (ROSSIER *et al.*, 1999) e polímero termoplástico a base de olefina de estrutura amorfa (TOPAS) (CASTAÑO-ÁLVAREZ, FERNÁNDEZ-ABEDUL e COSTA-GARCÍA, 2005). Estes dispositivos poliméricos podem ser fabricados pelos processos de litografia suave (MCDONALD *et al.*, 2000; MCDONALD *et al.*, 2002), estampagem a quente (CHEN Y, ZHANG e CHEN G., 2008; CHEN Z, ZHANG e CHEN G, 2010), moldagem por injeção (WANG *et al.*, 2002).

Ainda nesse contexto de materiais alternativos, uma tecnologia brasileira e inovadora para produção de dispositivos analíticos de baixo

custo foi desenvolvida. Denominada processo de impressão direta, esta tecnologia foi proposta por Do Lago *et al.* (2003) e se baseia no uso do toner para fabricação dos microchips (DO LAGO *et al.*, 2003). A plataforma promissora para aplicação microfluídica tem a tecnologia mais simples e mais barata que as já citadas anteriormente, sendo que cada dispositivo de poliéster-toner (PT) custa em torno de R\$ 0,10.

Este método de fabricação consiste primeiramente no desenho do *layout* do dispositivo seguido da impressão do mesmo sobre uma folha de transparência com o auxílio de uma impressora a laser. Durante o processo de impressão, os canais microfluídicos são formados pela delimitação de linhas brancas, isto é, durante este processo na região delimitada não ocorrerá deposição da partícula de toner. Após a etapa de impressão, o desenho impresso é alinhado contra um filme de transparência em branco ou alinhado contra a imagem especular do próprio dispositivo impresso, e em seguida as duas partes são submetidas à selagem térmica a fim de proporcionar a vedação dos canais microfluídicos. O tempo total de fabricação, envolvendo todas as etapas, desenho, impressão e laminação, dura em torno de 10 minutos.

Outra característica marcante desse processo é a simplicidade instrumental. Para a fabricação desses dispositivos é necessário apenas um computador, uma impressora a laser, uma plastificadora e um perfurador de papel. Essa instrumentação pode ser adquirida por um valor de aproximadamente R\$ 2.000,00. Quando comparado às tecnologias convencionais de fabricação, o processo de impressão direta é economicamente viável para pesquisadores com recursos limitados e sem

acesso a outras tecnologias de fabricação. Além disso, os equipamentos necessários, como cartucho de toner e folhas de transparência, são facilmente encontrados.

1.6. Dispositivos de Poliéster-toner

Os dispositivos fabricados em poliéster-toner (PT) têm sido aplicados por diferentes grupos de pesquisas para realizar separações eletroforéticas de diferentes classes de compostos. Quando acoplados a métodos de detecção eletroquímicos como amperometria e condutometria os microchips são utilizados na detecção cátions inorgânicos (COLTRO *et al.*, 2008b), espécies aniônicas, como iodeto e ascorbato (COLTRO *et al.*, 2004), compostos farmacêuticos (LIU *et al.*, 2006a) e neurotransmissores (YU *et al.*, 2008a; LU *et al.*, 2009).

Além dos métodos de detecção eletroquímicos, alguns trabalhos descrevem o emprego desses dispositivos utilizando-se os métodos de detecção por fluorescência (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c; DUARTE *et al.*, 2011; DUARTE *et al.*, 2012). Além da fluorescência, Do Lago *et al.* (2003) mostraram que os microchips de PT podem ser perfeitamente adaptados para produzir “eletrospray”, etapa de ionização necessária para detecção em espectrometria de massas.

Os chips de PT também apresentam um grande potencial para aplicações em amostras biológicas nos processos de extração, purificação e pré-concentração. Liu *et al.* (2006b) apresentou o emprego dos dispositivos de PT para realização de reações enzimáticas (LIU *et al.*, 2006b). Neste

trabalho, os autores descrevem a construção de um micro-reator no interior do microcanal. Outro trabalho recente descreve a aplicação destes mesmos dispositivos descartáveis para purificação e concentração de proteína (YU *et al.*, 2008b). Duarte *et al.* (2011) relatam que os chips de PT podem ser também utilizados na extração em fase sólida de moléculas de DNA, com auxílio de partículas magnéticas. Depois de extraídas, as moléculas são amplificadas por RPC, separadas de acordo com o tamanho dos fragmentos e detectadas por fluorescência (DUARTE *et al.*, 2011; DUARTE *et al.*, 2012).

Apesar de todas as vantagens relatadas aos dispositivos de PT e todo o potencial analítico que esta plataforma promissora apresenta, estes microchips possui alguns problemas que necessitam ser resolvidos e melhor estudados. Quando comparado às plataformas microfluídicas mais comumente utilizadas como vidro e PDMS, os dispositivos de PT apresentam baixa eficiência de separação e baixa magnitude de FEO. Além disso, dados da literatura revelam que estrutura da parede microfluídica contribui com cerca de 90% para o alargamento do pico, devido à interação do analito com a parede do canal (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c; DUARTE *et al.*, 2012). A associação desses problemas tem afetado negativamente a resolução da separação eletroforética e, conseqüentemente a repetibilidade analítica nos chips de PT (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c). O parâmetro principal relacionado com os problemas mencionados é a magnitude e estabilidade do FEO. Nos dispositivos de PT, a geração do FEO ainda não é completamente compreendida. O que se sabe é que o FEO neste material é dependente da composição química do toner e da superfície do filme de transparência.

1.7. Métodos de Detecção para Sistemas Microfluídicos

Os MSE podem ser acoplados a vários sistemas de detecção como fluorescência induzida a laser (FIL), a espectroscopia de massa (EM) e os modos eletroquímicos como a amperometria, potenciometria e condutimetria (RAMSEY R.S. e RAMSEY J.M., 1999; COLTRO *et al.*, 2004; LIU *et al.*, 2006a; COLTRO *et al.*, 2008b; COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c; DUARTE *et al.*, 2011).

Dentre estes métodos, a FIL e a EM, apesar de serem as técnicas que apresentam melhores níveis de detectabilidade e forneça um alto grau de informação sobre as espécies, são métodos que requerem um completo controle de instrumentação *off-chip* e apresentam alto custo instrumental, fatores estes que comprometem as características e os benefícios da miniaturização (COLTRO *et al.*, 2007). Neste contexto, os métodos de detecção eletroquímica ganham destaque, pois além de apresentarem fácil integração aos sistemas miniaturizados, estes agregam a vantagem de permitir a completa automação *on-chip* facilitando a portabilidade dos sistemas (WANG, 2002; VANDAVEER *et al.*, 2004). Além disso, as mesmas tecnologias utilizadas para fabricação dos microdispositivos podem ser empregadas para fabricação de microeletrodos.

Apesar do método amperométrico ser o mais amplamente empregado aos microssistemas analíticos, à detecção condutométrica, em especial a sem contato, vem sem dúvidas ganhando espaço no campo da microfluídica nos últimos dez anos (COLTRO *et al.*, 2012).

A detecção condutométrica sem contato, também conhecida como detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (C⁴D) foi inicialmente integrado aos sistemas miniaturizados em 2001 (GUIJT *et al.*, 2001). Desde então têm se apresentado como uma ferramenta poderosa na detecção de diversas espécies analíticas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas.

O sucesso de integração da C⁴D com os sistemas microfluídicos se deve a algumas características importantes como: isolamento elétrico dos eletrodos, simplicidade instrumental, detecção universal, baixo custo e facilidade na integração aos sistemas de eletroforese (BRITO-NETO *et al.*, 2005a; BRITO-NETO *et al.*, 2005b). O isolamento físico dos eletrodos em relação à solução eletrolítica utilizada é uma importante vantagem desse sistema, pois a resposta obtida não sofre interferência do campo elétrico aplicado e os eletrodos utilizados não sofrem degradação ao decorrer das análises (KUBÁŇ e HAUSER, 2011).

O sistema de C⁴D faz uso de dois eletrodos que são acoplados nas proximidades do canal microfluídico, onde o processo de separação das espécies ocorre. Basicamente, o sistema funciona com a aplicação de um sinal senoidal de alta frequência a um dos eletrodos (eletrodo de excitação) e consequente geração de uma corrente alternada, esta é acoplada capacitivamente no eletrólito e captada pelo segundo eletrodo, chamado eletrodo receptor. Esse sinal de corrente gerado é proporcional à condutividade das espécies que estão ali presentes (BRITO-NETO *et al.*, 2005a; BRITO-NETO *et al.*, 2005b).

A geometria e o posicionamento dos eletrodos desempenha um papel muito importante no acoplamento do sinal bem como na sensibilidade da célula de detecção C⁴D. Existem diversos trabalhos na literatura que descrevem os melhores arranjos para este sistema de detecção (KUBÁŇ e HAUSER, 2008; WANG, CHEN e MUCK, 2009; MAHABADI *et al.*, 2010; XU *et al.*, 2010; FERCHER *et al.*, 2010). Geralmente os eletrodos de detecção são acoplados aos MSE no modo denominado fora do plano. Neste, os eletrodos podem ser fixados sobre a tampa do dispositivo ou sobre sua base. Essa diversidade de integração permite que os eletrodos possam ser fabricados com técnicas de baixo custo, ou até mesmo a utilização de fitas metálicas adesivas (DO LAGO *et al.*, 2003).

Mais informações a respeito desse método de detecção bem como sua funcionalidade, aplicações e todo o processo evolutivo desse sistema podem ser acompanhados em artigos de revisão (KUBÁŇ e HAUSER, 2008; KUBÁŇ e HAUSER, 2011; COLTRO *et al.*, 2012).

OBJETIVOS

2. Objetivos

2.1. Objetivos principais

O presente trabalho visa melhorar o desempenho analítico da plataforma microfluídica estruturada em poliéster-toner (PT). Para atingir esse objetivo, dois tipos de transparência provenientes de diferentes fabricantes foram investigados. A geração e a magnitude do FEO, bem como a influência dos efeitos geométricos sobre este parâmetro, foram sistematicamente avaliadas. Adicionalmente, esta dissertação apresenta as primeiras análises qualitativas de espécies inorgânicas em amostras de bebidas e mistura de fármacos usando-se MSE de PT acoplados com C⁴D.

2.2. Objetivos secundários

Além dos objetivos principais, este trabalho também visa demonstrar o uso do toner pigmentado na produção dos MSE de PT. Nesta parte do trabalho, estudou-se o efeito da pigmentação do toner no desempenho eletroforético dos microdispositivos. Os dispositivos coloridos foram comparados com aqueles fabricados a partir do toner convencional (impressora monocromática). Os diferentes tipos de toner foram caracterizados por análise elementar, técnicas espectroscópicas, análise morfológica e perfilometria.

PARTE EXPERIMENTAL

3. Procedimento Experimental

3.1. Reagentes e Preparo das Soluções

Todas as soluções empregadas no desenvolvimento da parte experimental foram preparadas semanalmente utilizando-se água deionizada (resistividade 18 MΩ cm). Os reagentes utilizados estão listados na Tabela 1 e foram usados como recebidos dos fabricantes, ou seja, sem tratamento e purificação prévia.

Tabela 1- Relação de reagentes utilizados no desenvolvimento da parte experimental.

Reagentes	Massa Molar (g/mol)	Fabricante	Pureza
Ácido 2-(N-morpholino) etanosulfônico (MES)	195,24	Sigma	≥99%
Cloreto de sódio	58,44	Sigma	≥99,8%
Cloreto de potássio	74,55	Sigma	≥99,5%
Cloreto de lítio	42,39	Sigma	≥98,5%
Fosfato de potássio monobásico	137,99	Sigma	≥98%
Fosfato de potássio dibásico	141,96	Sigma	≥99%
L-Histidina (His)	155,15	Sigma	≥99%

Para todos os cátions foram preparadas soluções estoques na concentração de 10 mmol L⁻¹. As soluções de fosfato de potássio monobásico e dibásico foram preparadas nas concentrações de 10 e 20 mmol L⁻¹ em pH 9.

3.1.1. Amostras Reais

A farmácia Therapeutic fornece gentilmente as amostras padrão (pó) de diclofenaco de sódio e diclofenaco de potássio. A amostra de carbonato de lítio (Carbolithium[®]) foi adquirida em uma farmácia na forma de comprimido. A bebida energética Gatorade[®] foi comprada em um supermercado (*Walmart*[™]) na cidade de Goiânia. Assim como os padrões, as soluções dos fármacos foram preparadas em água deionizada em uma concentração estoque estimada de 10 mmol L⁻¹. De cada solução estoque foi retirado uma alíquota de 10 µL e diluída em 1,0 mL água deionizada, de modo que cada analito apresentasse concentração final de 100 µmol L⁻¹. Para a bebida energética foi retirada uma alíquota de 6,1 µL e diluída em 1,0 mL água deionizada.

3.2. Materiais

Para fabricação dos dispositivos de PT, foram utilizados dois filmes de poliéster de marcas distintas, sendo uma obtida junto à 3M (Austin, TX, USA) do modelo CG 3300 e outra adquirida junto a Filipaper (Rio de Janeiro-RJ, Brasil) do modelo FP 0260.

Uma impressora a laser monocromática com resolução de 1200 *dpi* (*dots per inch*) (Hewlett Packard, modelo HP LaserJet P1005) foi utilizada para produção dos microchips. O cartucho de toner empregado (modelo C4096A) foi obtido junto a Hewlett Packard, (Palo Alto, CA, USA). Na etapa de selagem térmica para estes dispositivos, foi empregada uma laminadora obtida junto a Gazela (Divinópolis-MG) modelo AC 00.12.30. Para impressão

dos dispositivos coloridos foi utilizada uma impressora policromática (Hewlett Packard, modelo HP CP1515n) com resolução de 1200 *dpi*. Neste caso, a laminadora utilizada foi do modelo 230 AC que possui um sistema de controle de temperatura. A temperatura empregada para selagem térmica foi fixada em 140 °C.

3.3. Fabricação dos Microchips de PT

Os dispositivos de PT foram fabricados pelo método da impressão direta (DO LAGO *et al.*, 2003), no qual detalhes sobre o processo de fabricação pode ser facilmente encontrado em vários trabalhos descritos na literatura (DO LAGO *et al.*, 2003; COLTRO *et al.*, 2004).

Resumidamente o processo consiste inicialmente no desenho da configuração do dispositivo com auxílio de um *software* gráfico (Corel Draw versão 13.0). Logo após, o *layout* foi impresso sobre o filme de transparência utilizando uma impressora a laser. Após este passo, o padrão impresso foi alinhado com uma própria folha de transparência sem toner, formando dispositivos com simples camada de toner (SCT). Além das estruturas microfluídicas definidas em SCT, a imagem impressa também foi alinhada com sua imagem especular impressa na mesma folha de transparência, formando chips com dupla camada de toner (DCT). Como a camada de toner é o que define a profundidade dos microcanais, os chips com SCT e DCT apresentam aproximadamente 5 e 10 μm de profundidade respectivamente. Nos dois casos, a partes alinhadas foram então laminadas com auxílio da laminadora térmica. Antes do processo de alinhamento e

selagem, o padrão impresso foi perfurado, utilizando-se um perfurador de papel, na região delimitada aos reservatórios. Esta etapa é importante uma vez que garante que a solução tenha acesso ao canal microfluídico. Após a etapa de laminação, colou-se no dispositivo bases de ponteiros de micropipetas formando reservatórios para soluções. A Figura 3.1 apresenta um esquema simplificado de todo o processo de fabricação descrito.

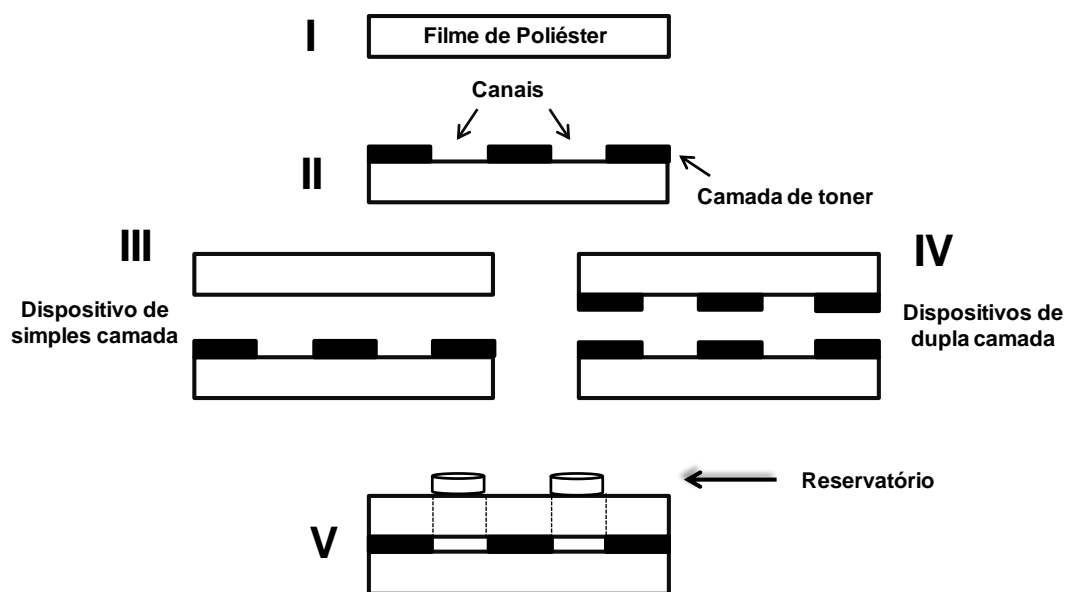


Figura 3.1 Esquema simplificado do processo de fabricação dos microchips em PT. I, filme de transparência; II, impressão do dispositivo sobre o filme de poliéster; III e IV alinhamento e selagem do dispositivos, formando canais com SCT e DCT, V, colagem dos reservatórios e obtenção do dispositivo final.

Os microchips utilizados para avaliação da influência dos parâmetros geométrico sob a magnitude do FEO, foram fabricados com SCT e DCT na configuração de um canal único com comprimento total de 2 cm (Figura 3.2A). A largura e a profundidade dos dispositivos variaram de 100 a 300 μm e 5 e 10 μm , respectivamente.

Os microdispositivos utilizados para análises eletroforéticas foram

fabricados na configuração de duplo-T com gap 200 μm de DCT e com os canais de injeção e de separação com 15 e 50 mm de comprimento e 200 μm de largura. A Figura 3.2 apresenta o *layout* dos dispositivos utilizados no desenvolvimento do trabalho.

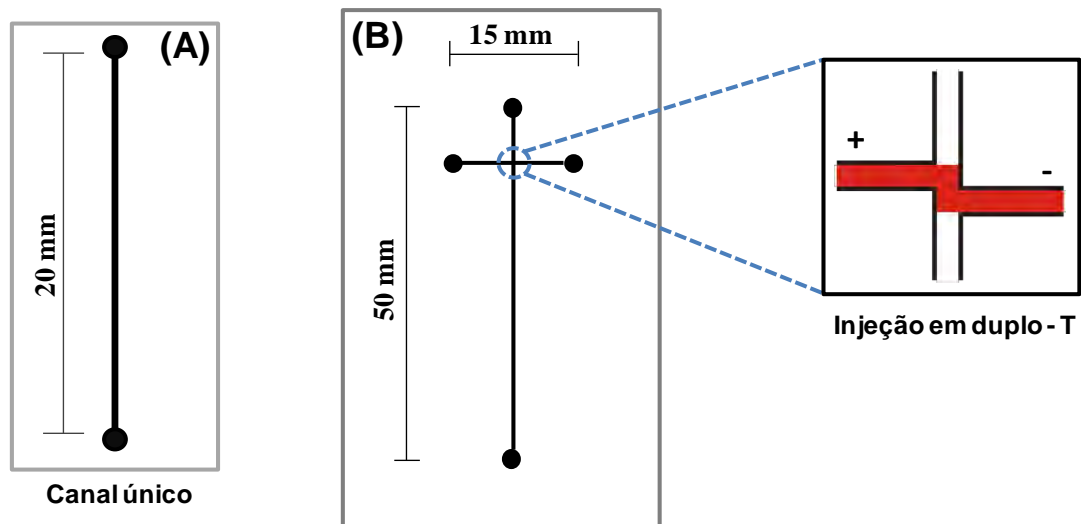


Figura 3.2 *Layout* dos dispositivos utilizados no desenvolvimento do trabalho. (A) microchip de canal único empregado nas medidas de FEO e (B) dispositivo utilizado nas separações eletroforéticas.

3.4. Procedimento Eletroforético

3.4.1. Controle Eletrocínético

Os microcanais foram inicialmente preenchidos com solução tampão através da ação capilar. Após esta etapa, o tampão foi adicionado a todos os outros canais e foram pré-condicionados durante 5 min sob aplicação de campo elétrico de 200 V cm^{-1} . O transporte eletrocínético foi realizado com uma fonte de alta tensão miniaturizada (C40, EMCO, Sutter Creek, CA, USA), a qual foi interfaceada com uma placa de controle e aquisição de dados da *National Instruments* (modelo NI-USB-6009) conectada via porta USB em um microcomputador com processador *Pentium*[®] *Dual-Core E*

5500, sistema operacional *Microsoft Windows XP professional*. Os potenciais de injeção e separação bem como o registro da corrente eletroforética foram controlados por um software escrito em *LabVIEW*[®].

Eletrodos de platina (diâmetro de 1 mm e comprimento de 20 mm) foram colocados nos reservatórios dos dispositivos e conectados a esta fonte de alta tensão. As injeções eletrocinéticas foram realizadas após estabilização de linha de base com utilização do método *unpinned* (RODDY, XU e EWING, 2004). As injeções foram realizadas aplicando o potencial desejado (1 kV) durante 10 s ao reservatório que contém a amostra com o aterramento posicionado no reservatório destinado ao descarte da mesma. As separações foram conduzidas chaveando a aplicação do potencial para o reservatório do tampão de corrida com o terra no reservatório de descarte posicionado após o ponto de detecção. A Figura 3.3 ilustra este processo de injeção e separação amostra.

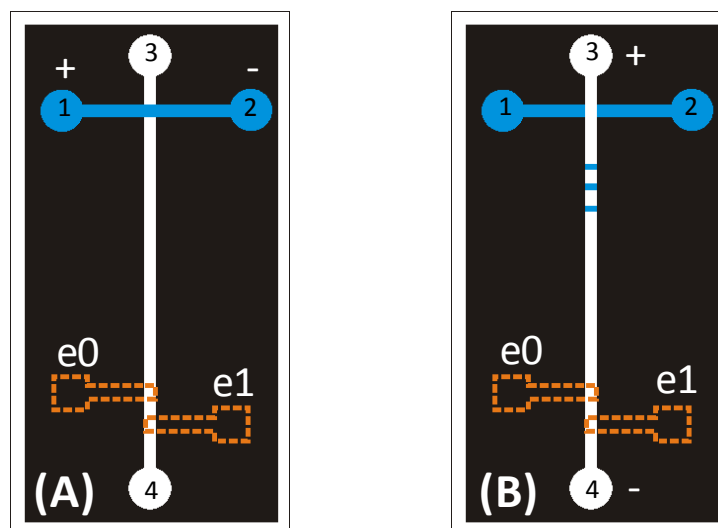


Figura 3.3 Processo de injeção de amostra pelo método *unpinned*. (A) Injeção da amostra, no qual o aplica-se potencial de 1 kV por durante 10 s entre os reservatórios 1 e 2. (B) Separação do *plug* de amostra, aplicando a diferença de potencial entre os reservatórios 3 e 4. As indicações e0 e e1 indicam os eletrodos de excitação e receptor do sistema C⁴D.

3.4.2. Determinação da Magnitude do Fluxo Eletrosmótico (FEO)

As medidas de FEO foram realizadas seguindo o método do monitoramento da corrente (HUAG, GORDON e ZARE, 1988) realizando corridas alternadas com duas soluções tampão de concentrações diferentes (10 e 20 mmolL⁻¹), sob a ação de campo elétrico de 250 V cm⁻¹.

3.4.3. Detecção C⁴D

A detecção condutométrica sem contato foi realizada utilizando-se um sistema construído em laboratório com eletrônica similar a trabalhos preliminares (COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b; COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2011). Um sinal senoidal de alta frequência (400 kHz e 10 V_{pp}) foi aplicado a partir de um gerador de funções (ICEL modelo GV-2002) a um dos eletrodos da cela de detecção (eletrodo de excitação). A corrente resultante foi capturada pelo eletrodo receptor e convertida em tensão. O sinal foi então amplificado, filtrado e enviado a interface analógica/digital (modelo USB-6009, Nacional Instrument, Austin-TX) para leitura, em tempo real, em um *software* de aquisição de dados escrito em *LabVIEW*[®].

Os eletrodos de detecção foram fabricados em uma placa de circuito impresso (PCI), a qual é uma fonte metálica alternativa, através do processo fotolitográfico seguido por corrosão química por via úmida (COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2011). Os eletrodos foram fabricados na orientação antiparalela (Figura 3.4) com 1 mm de largura, 2 cm de comprimento e 1 mm de *gap* (distância entre os eletrodos).

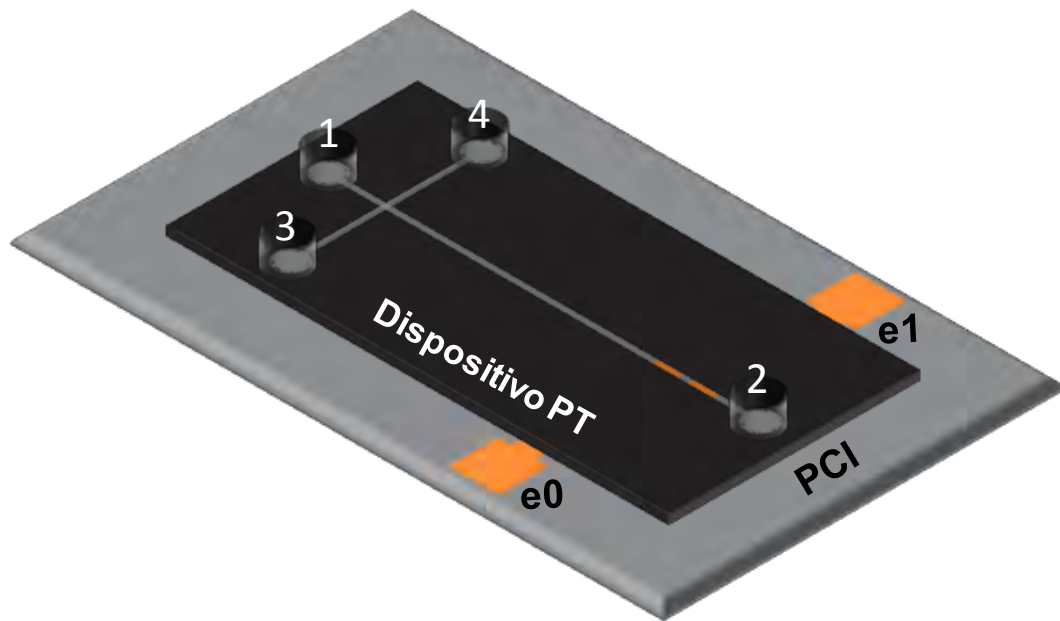


Figura 3.4 Microchip de eletroforese acoplado a eletrodos externos para medidas C^4D . Os números 1, 2, 3 e 4 indicam o tampão, lixo do tampão, amostra e lixo de amostra, respectivamente. Os eletrodos de excitação e receptor estão indicados por e0 e e1, respectivamente.

3.5. Técnicas de Caracterização

3.5.1. Análise Elementar

A análise elementar foi obtida no Laboratório da Central Analítica, localizado no Instituto de Química, da Universidade Federal de Goiás. Utilizando um Analisador Elementar CHNS-O, modelo Flash 2000 da Thermo Scientific.

3.5.2. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As transparências utilizadas neste trabalho (provenientes da 3M e da FP) foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho por meio de

um equipamento de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), acoplado com um módulo de reflectância especular (modelo ThermoNicolet Nexus 470 FTIR) no intervalo de 4000-300 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

As medidas foram realizadas no Laboratório de Polímeros localizado no Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo.

3.5.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDS) e Microscopia de Força Atômica (MFA)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas em um microscópio Joel, modelo JSM – 6610, equipado com EDS, da empresa Thermo Scientific NSS Spectral Imaging. Anterior às medidas de MEV, as amostras foram previamente metalizadas com Au (Denton Vacuum, Desk V). As análises de espectroscopia dispersiva de raios-X foram realizadas no mesmo equipamento em questão, e posteriores as obtenções de imagens das amostras.

As imagens de microscopia de força atômica (MFA) foram obtidas em um microscópio modelo 5500, Agilent Technologies. As imagens foram obtidas no modo sem contato em áreas de 80 x 80 μm .

As análises de MEV, EDS e MFA foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LABMIC) do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás.

3.5.4. Medidas Perfilométricas

As medidas perfilométricas foram obtidas no perfilômetro da Veeco, modelo dektak 3ST. As medidas foram realizadas no Laboratório de microfabricação LMF localizado no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS).

Para todos os dispositivos as medidas perfilométricas foram realizadas em canal simples e aberto, ou seja, antes da etapa de laminação, com largura igual 200 μm . Para determinação dessas medidas, aplicou-se uma força de 20 mg na ponteira (agulha) responsável pela leitura. A distância percorrida pela ponteira foi de 600 μm .

RESULTADOS E DISCUSSÕES

PARTE I
TONER CONVENCIONAL

4. Resultados e Discussões

4.1. Uso do Toner Convencional

4.1.1. Efeito da Composição do Substrato sobre a Magnitude do FEO

O FEO é um importante parâmetro a ser avaliado em dispositivos analíticos. Entender seu comportamento significa compreender diretamente alguns parâmetros eletroforéticos, como por exemplo, resolução e eficiência de separação. Este parâmetro é afetado por fatores como, temperatura, pH, concentração de tampão além de ser dependente da estrutura microfluídica que compõe o canal do dispositivo (BAKER, 1995).

Nos chips de vidro, por exemplo, o FEO é fortemente influenciado pela dissociação dos grupos silanóis presentes em sua superfície (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c). Por outro lado, nos dispositivos de PT a geração do FEO ainda não é completamente compreendida. O que se conhece é que este parâmetro é dependente da composição do substrato que define a estrutura da parede microfluídica (COLTRO *et al.*, 2004).

Em um trabalho desenvolvido recentemente (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c) destacou-se que os dispositivos de PT exibiram um FEO dez vezes menor que os microchips fabricados com os substratos mais populares utilizados na fabricação dos dispositivos microfluídicos, como o vidro e o PDMS. Além disso, os autores mostraram que o fluxo nesse material é irreprodutível e apresentou baixa estabilidade em função do tempo do uso do chip (COLTRO *et al.*, 2004).

Como descrito em trabalhos anteriores, os MSE de PT são definidos por duas partes de transparência (que define a base e a tampa do canal) e duas partes de toner, que definem as paredes do microcanal (COLTRO *et al.*, 2004). O toner é basicamente composto por óxido de ferro (55%) e uma mistura polimérica de estireno-acrilato (45%). Por outro lado, o filme de transparência é composto de polietileno tereftalato (PET) revestido por uma fina camada de sílica, no qual a espessura desta camada é depende de cada fabricante (DO LAGO *et al.*, 2003; COLTRO *et al.*, 2004; COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c).

A magnitude do FEO foi determinada em dois dispositivos fabricados com transparências de marcas diferentes. A Figura 4.1 apresenta as medidas de corrente obtidas ao longo do tempo para determinação deste parâmetro.

Nos dispositivos fabricados com a transparência 3M não foi possível obter o valor de magnitude do FEO, uma vez que as medidas de corrente não exibiram um comportamento constante de linha de base sob transporte eletrocínético, impossibilitando o cálculo para obtenção do valor do FEO. Ou talvez o microchip fabricado com este tipo de substrato apresente um FEO com magnitude muito baixa que o método utilizado não foi eficiente para sua determinação. Por outro lado, os chips impressos com a transparência Filipaper (FP) apresentaram o FEO da ordem de $3,4 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (em pH 9), com boa reprodutibilidade e estabilidade. Ao longo de 25 corridas realizadas sucessivamente, obteve-se um desvio padrão relativo (DPR) de 4,6% (Figura 4.1 B).

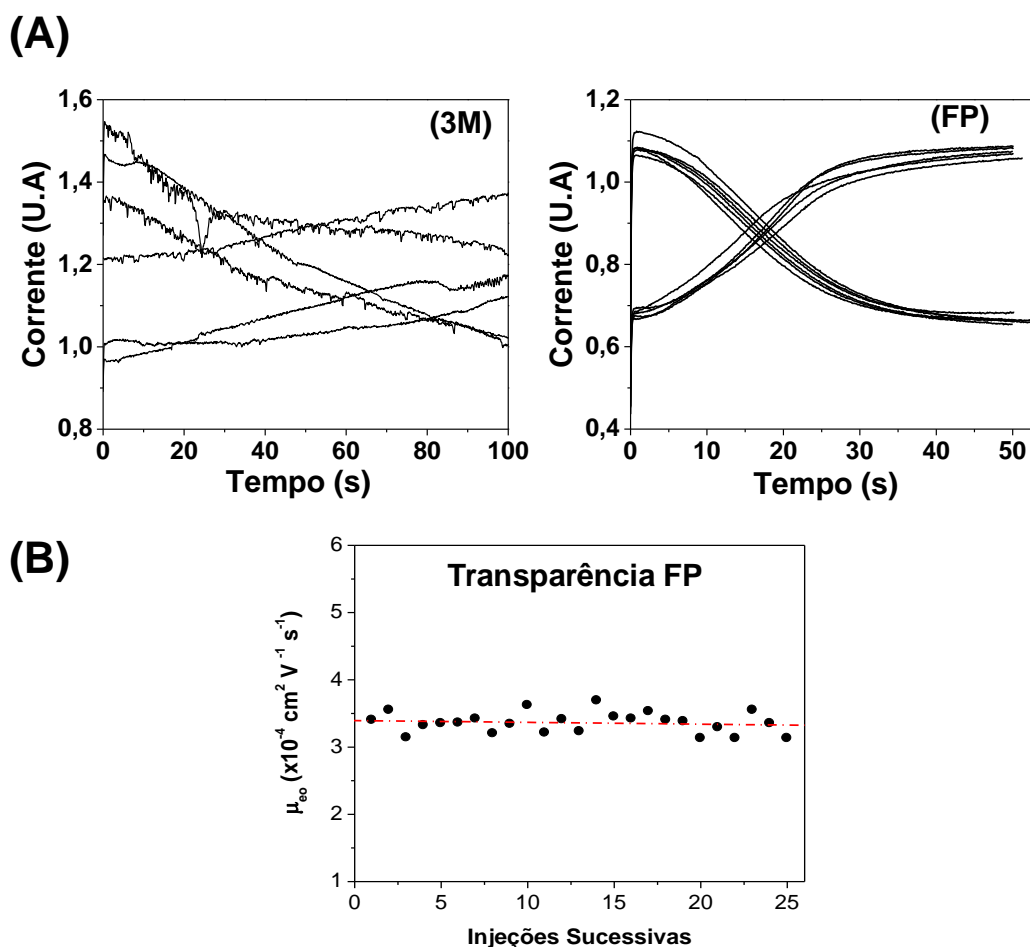


Figura 4.1 (A) Medidas de monitoramento da corrente para determinação do FEO nos dispositivos impressos na transparência 3M e FP e (B) estabilidade do FEO ao longo de 25 sucessivas injeções nos microchips fabricados com a transparência FP.

A diferença observada para os registros da corrente eletroforética (Figura 4.1A) entre os dois dispositivos fabricados com os dois filmes de transparência se deve à diferença de quantidade de sílica presente na superfície de cada material. Essa quantidade de sílica está diretamente relacionada à quantidade de grupos silanóis presentes nesta superfície, que conseqüentemente é responsável pela geração do FEO no microcanal. A Figura 4.2 apresenta os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para os dois filmes de transparência.

A região entre 950 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} representam os estiramentos referentes ao grupamento silanol. É possível observar que estes estiramentos se apresentam em maior intensidade na transparência FP. Como a medida é realizada em função da reflectância e esta é uma propriedade das moléculas poderem refletir a radiação que nelas foi incidida através de um feixe luminoso, e é uma medida inversamente proporcional à quantidade de espécies quem compõem a amostra. Pode-se dizer que a maior intensidade do sinal refere-se à maior quantidade de grupos silanóis presentes na transparência Filipaper. Sendo a camada sílica presente na superfície da transparência a responsável pela geração do FEO, pode-se concluir que a maior quantidade de grupos silanóis na transparência Filipaper explica a magnitude e a estabilidade do FEO encontrada nos dispositivos fabricados com este substrato.

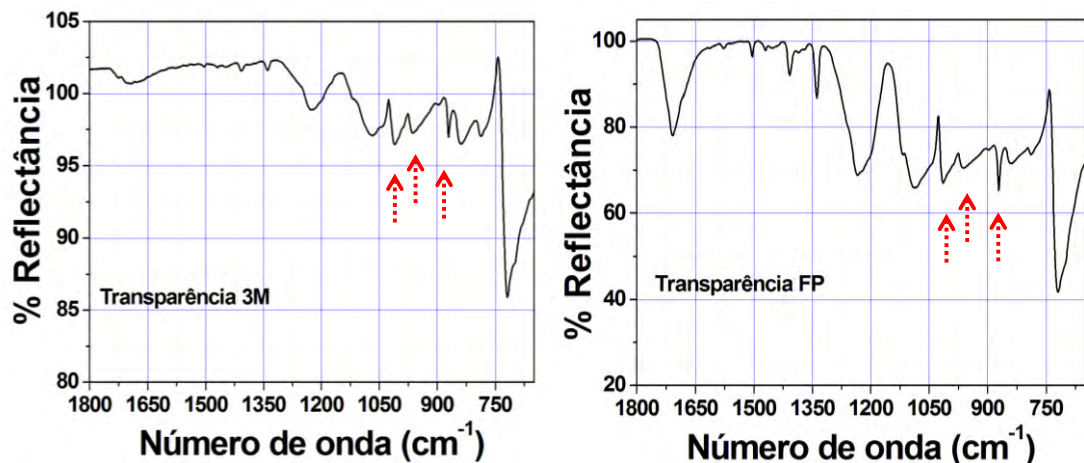


Figura 4.2. Caracterização espectroscópica de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) dos dois filmes de poliéster (3 M e Filipaper).

A caracterização dos substratos foi importante não somente para entender a diferença de fluxo encontrado nos dispositivos, mas permitiu compreender melhor qual o fator principal que governa a geração do FEO nos chips de PT. Devido os resultados encontrados no dispositivo fabricado com o filme de transparência da marca FP, esta foi empregada nas demais sequências experimentais. Outros efeitos sobre a magnitude do FEO nos dispositivos de PT serão discutidos a seguir.

4.1.2. Efeito da Dimensão do Canal na Magnitude do FEO

Uma vantagem relatada ao método de impressão direta é a versatilidade de imprimir diversos dispositivos com configurações diversificadas em uma única impressão. Basicamente essas dimensões/geometrias são definidas de acordo as limitações da impressora a ser utilizada. Dados encontrados na literatura mostram que canais com 150 μm de largura, por exemplo, utilizando uma impressora a laser com resolução de 1200 *dpi*, são definidos com erro de aproximadamente 8% entre as dimensões reais e nominais (COLTRO *et al.*, 2010). No entanto, não há nada reportado sobre o efeito das dimensões sobre a magnitude do FEO gerado. Por esse motivo, estudou-se a influência da largura e da profundidade do canal sobre o FEO gerado.

A Figura 4.3 apresenta os resultados obtidos de magnitude de FEO em função de dispositivos com diferentes dimensões. Pelo gráfico pode-se notar que os parâmetros geométricos como largura e profundidade afetam diretamente a magnitude o FEO.

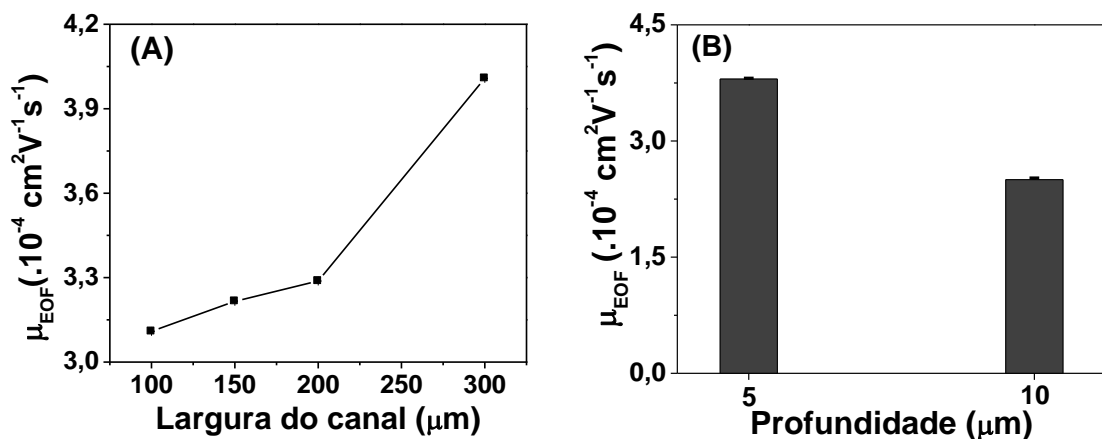


Figura 4.3 Efeitos dos parâmetros geométricos (A) largura e (B) profundidade na magnitude do FEO em pH 9. Em (A) e (B) os canais de PT produzidos com 5 μm de profundidade e 200 μm de largura, respectivamente.

A Figura 4.3 A mostra os dados das medidas de FEO em função da largura do canal. É possível observar que quanto maior a largura do canal, maior o valor do fluxo. Microcanais com largura de 100 μm, o FEO encontrado foi de $3,1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ enquanto que canais com 300 μm o valor foi de $4,0 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Como mencionado anteriormente os dispositivos de PT são definidos por duas partes de poliéster (base e tampa) e duas partes de toner (paredes) formando uma proporção relativa de poliéster-toner na composição do dispositivo. Quando se altera a dimensão do chip obviamente se altera essa proporção. Assim, com o aumento da largura do canal aumenta-se conseqüentemente a quantidade de poliéster em relação ao toner presente no microcanal. Em canais com 100 μm, a porcentagem de poliéster na composição do dispositivo é de 95% enquanto que para canais com 300 μm este porcentagem é de 98%. Como foi visto que o filme de transparência é o principal responsável pela geração do FEO nos chips de PT. A maior

proporção de poliéster em canais com mais largos justifica o maior FEO encontrado.

Assim como a largura do canal, a proporção da camada de toner, que define a profundidade do dispositivo, também afeta diretamente a magnitude do FEO. A Figura 4.3 B apresenta os valores de mobilidade eletrosmótica (μ_{FEO}) para dispositivos fabricados com largura fixa de 200 μm e profundidade variando de 5 a 10 μm . O que pode ser observado é que os valores de FEO variaram entre $3,8 \times 10^{-4}$ a $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para canais definidos com SCT e DCT, respectivamente. Similarmente aos efeitos de largura do canal, observou-se que o uso de canais com SCT gera FEO com maior magnitude. Comparando a estrutura microfluídica definida por SCT e DCT, a porcentagem de poliéster é de 97 e 94%, respectivamente. Assim como para a largura, dispositivos com SCT apresentam maior proporção de poliéster em sua estrutura microfluídica, o que justifica a maior magnitude do FEO.

4.1.3. Influência da Adição do Solvente Orgânico na Separação

A utilização de dispositivos de PT acoplados com C⁴D já está bem consolidada no campo da microfluídica (COLTRO *et al.*, 2012). Problemas relacionados a parâmetros eletroforéticos como resolução e eficiência são atribuídos à baixa magnitude de FEO encontrado nessas plataformas (DO LAGO *et al.*, 2003; COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b). O maior valor de eficiência de separação encontrado na literatura foi da ordem de 13.000 pratos/m (COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b). Contudo neste presente trabalho já foi relatado que a utilização de nova transparência

permitiu encontrar maiores valores de FEO por efeitos anteriormente discutidos. Por outro lado, a obtenção de FEO elevado tem provocado alguns problemas relacionados à resolução e eficiência de separação. Sendo que neste caso, o principal fator afetado é a resolução. No intuito de melhorar esses parâmetros e conseqüentemente a separação eletroforética, adicionou-se um solvente orgânico ao tampão de corrida. A adição desse solvente ocasionou uma redução no FEO melhorando a seletividade e a resolução de separação.

O solvente orgânico escolhido foi o metanol, o qual é facilmente encontrado e possui características como baixa constante dielétrica e viscosidade semelhante ao da água (PORRAS, REIKKOLA e KENNDELER, 2003).

É conhecido que a adição do solvente orgânico promove modificação na solvatação e interação iônica, alterando conseqüentemente a mobilidade de cada íon. Além disso, o solvente orgânico modifica a parede da estrutura microfluídica alterando o meio da solução e afetando o grau de dissociação dos grupos silanóis que estão presentes na parede. Em sistemas puramente aquosos, os grupos silanóis se comportam como ácido fraco e sua dissociação é dependente do pH do meio. A adição do solvente afeta o comportamento de dissociação desses grupos, diminui a força ácida e altera, conseqüentemente, o FEO (PORRAS, REIKKOLA e KENNDELER, 2001). Assim, o conhecimento e o controle desses parâmetros nos dispositivos de PT têm contribuído para a melhora da resolução e eficiência de separação.

A Figura 4.4 apresenta uma sequência de eletroferogramas mostrando a separação de uma mistura equimolar de K^+ , Na^+ e Li^+ ($200 \mu\text{molL}^{-1}$) realizadas com tampão MES/His (20mmolL^{-1}) contendo diferentes proporções de metanol (MeOH) 0%, 3% e 7%.

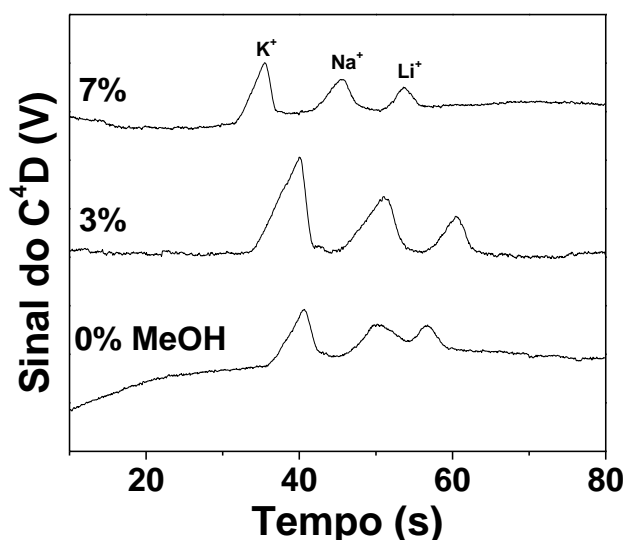


Figura 4.4 Eletroferogramas obtidos com tampão MES/His que contém 0%, 3% e 7% de MeOH em sua composição.

Na Figura 4.4 é possível notar que a presença do metanol na solução melhorou a separação catiônica e também a estabilidade de linha de base. Além disso, a proporção de 3% de MeOH foi a que forneceu melhor resposta analítica. Os valores de resolução encontrados entre os picos K^+ e Na^+ foram de 1,1 (0% de MeOH) e 2,3 (3% de MeOH). Em proporções maiores que 3% observou-se uma diminuição da intensidade do sinal, e os resultados apresentaram linha de base com baixa estabilidade. Esses problemas são atribuídos provavelmente à incompatibilidade química existente da parede microfluídica (toner) com o solvente adicionado. Diante desses resultados, a proporção de 3% de MeOH foi adicionada ao tampão de corrida para as demais etapas experimentais.

Os valores do FEO antes (0% de MeOH) e após a adição de 3% de MeOH foram iguais a $1,9 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ e $1,1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente. Esses valores foram calculados baseando-se no tempo de migração do marcador neutro (água). A alteração na magnitude do FEO encontrada ocorreu não somente pela mudança de viscosidade da solução, mas porque a adição do solvente orgânico também promove alteração do potencial zeta da parede interna do canal, que é dependente da densidade de grupos silanóis presentes na superfície do filme de transparência (SEILER, HARRISON e MANZ, 1993).

4.1.4. Efeito da Configuração do Canal de Injeção

O método de injeção em MSE é o parâmetro mais importante no processo de manipulação de amostra. As características deste processo determinam a qualidade de uma separação e garante a repetibilidade analítica (FU *et al.*, 2002). As análises foram realizadas através do transporte eletrocinético utilizando o modo *unpinched* como método de injeção (RODDY, XU e EWING, 2004).

A injeção eletrocinética foi investigada nos MSE de PT impressos em três diferentes configurações, determinadas como canal em cruz (CC), canal em simples-T (CS) e duplo-T (CD). A Figura 4.5 apresenta o esquema de cada estratégia de injeção avaliada.

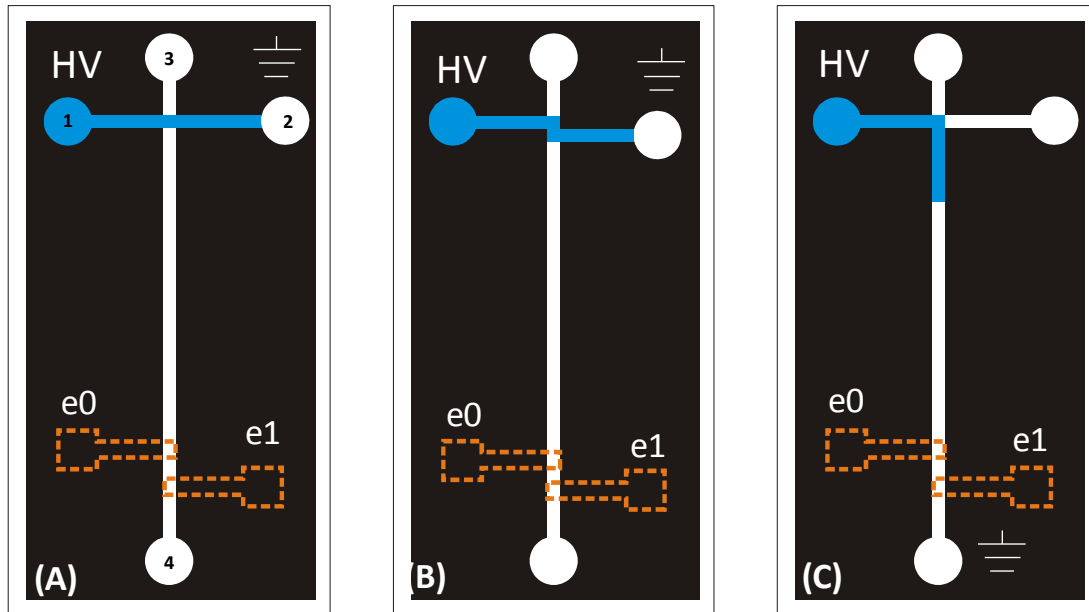


Figura 4.5 Esquema dos dispositivos para introdução de amostras nos microcanais. (A) cruz (CC); (B), de duplo-T (CD); (C) simples-T (CS). As indicações em e0 e e1 são os eletrodos de excitação e receptor para as medições C^4D , respectivamente. Em 1, 2, 3 e 4 são representados os reservatórios da amostra, descarte de amostra, tampão e descarte de tampão, respectivamente.

A amostra injetada foi uma mistura equimolar de K^+ , Na^+ e Li^+ ($100 \mu\text{molL}^{-1}$). A amostra foi introduzida para o canal de separação sob aplicação de um campo elétrico de 1 kV durante 10 s. Para as configurações em CC e CD aplicou-se primeiramente a diferença de potencial entre os reservatórios 1 e 2 que são correspondentes ao reservatório de amostra e resíduo de amostra, respectivamente (Figuras 4.5A e 4.5B). Logo após 10 s, inverteu-se o potencial para os reservatórios 3 e 4, destinados ao tampão de corrida, fazendo com que a amostra migre pelo microcanal. Para a configuração CS a diferença de potencial foi aplicada entre os reservatórios 1 e 4 (reservatórios de amostra e resíduo de tampão) durante 10 s, invertendo-o em seguida para os reservatórios 3 e 4 promovendo então a migração e a separação das espécies no interior do canal de separação (Figura 4.5 C).

A Figura 4.6 apresenta os eletroferogramas obtidos utilizando as três configurações dos dispositivos de PT.

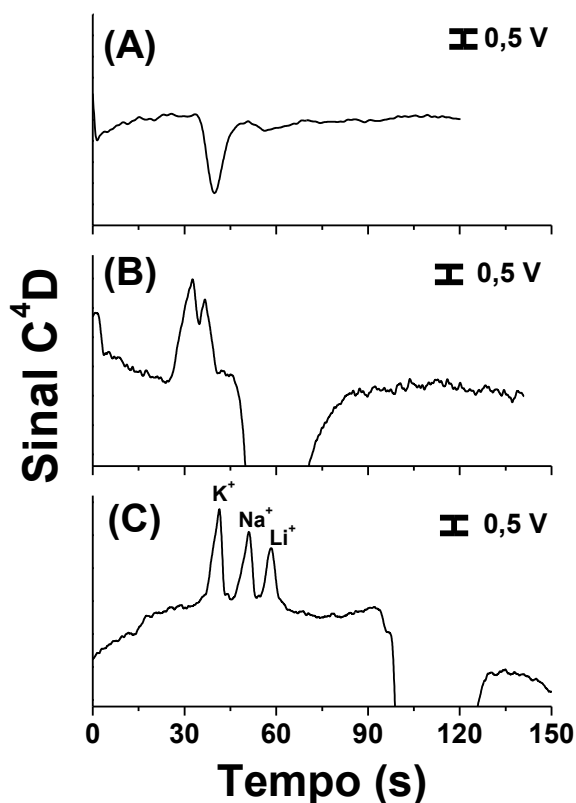


Figura 4.6 Efeito do modo de injeção no desempenho analítico do dispositivo de PT. Figuras (A), (B) e (C), mostram os eletroferogramas obtidos utilizando canal nos formatos em cruz (CC), simples-T (CS) e duplo-T (CD), respectivamente. Todos os dados foram obtidos com uma mistura equimolar de K⁺, Na⁺ e Li⁺ (100 μmolL^{-1} cada). Solução tampão: MES/His 20 mmolL^{-1} , pH 6,1. O procedimento eletroforético: 1 kV de injeção e 1 kV de separação. Tempo de injeção: 10 s.

Pelos resultados pode-se observar que no eletroferograma obtido com a configuração CC, apenas o pico do marcador neutro (água) foi detectado e que nenhum sinal decorrente da mistura catiônica foi registrado. Por outro lado, os eletroferogramas obtidos com os dispositivos nas configurações CS e CD mostram que além do pico do marcador neutro, os picos referentes aos íons também foram detectados. No entanto, a configuração CS apresentou uma separação incompleta de todos os cátions,

enquanto que em CD obteve-se uma boa separação eletroforética, com todos os íons sendo detectados em torno de 70 s, com resolução maior que 1 e eficiência de separação que variou de 13.000 a 50.000 pratos/m.

Todas as configurações do canal de injeção, bem como os resultados obtidos com cada formato, estão diretamente relacionadas ao volume de amostra que foi introduzido no canal de separação. O cálculo do volume de amostra injetado é realizado baseado nas dimensões dos microcanais ($V_{plug} \times w_{canal} \times h_{canal}$). No dispositivo na configuração CC, por exemplo, o volume de amostra injetado definido teoricamente é de 400 pL (200 μ m \times 200 μ m \times 10 μ m). Utilizando o mesmo parâmetro, o volume calculado para o formato CD é de 800 pL. Por outro lado, como a configuração CS não apresenta uma região definida passível de cálculo, estima-se através de dados experimentais, que o volume injetado foi superior aos outros volumes definidos.

Simulando o processo de injeção com um corante sob as mesmas condições de injeção da amostra padrão (1 kV por 10 s), foi possível visualizar o *plug* de amostra formado no interior do microcanal com auxílio de um microscópio óptico com câmera digital acoplada. A região delimitada pelo *plug* foi utilizada para o cálculo do volume injetado experimentalmente. A Figura 4.7 apresenta as imagens ópticas obtidas com cada geometria utilizada. Baseando-se nessas imagens, os volumes injetados com as configurações CC, CD e CS foram aproximadamente iguais a 700, 1.000 e 1.700 pL, respectivamente.

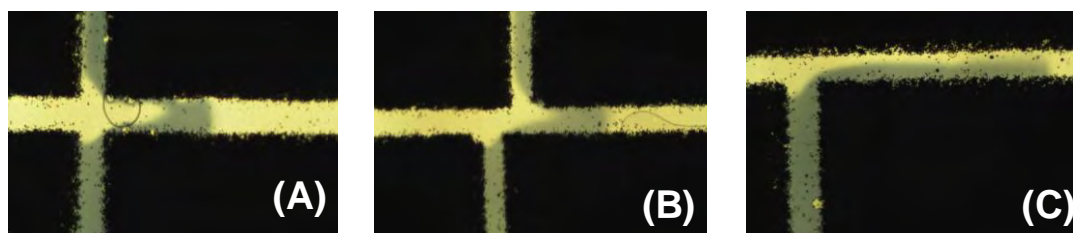


Figura 4.7 Imagens ópticas referentes ao processo de injeção nos dispositivos de PT impressos nas configurações (A) CC, (B) CD e, (C) CS.

Os volumes de amostra encontrados para cada formato auxiliaram a compreender os resultados analíticos obtidos. Na configuração CC, o volume de 700 pL não foi grande o suficiente para que o detector utilizado registrasse sinais referentes às variações de condutividade provenientes da amostra. É importante ressaltar que os dispositivos neste formato são comumente utilizados com detectores de fluorescência, amperometria ou espectrometria de massas, os quais apresentam melhores níveis de detectabilidade (10^{-12} – 10^{-9} mol/L). Quando comparado aos sistemas mencionados, a C⁴D apresenta pior detectabilidade (10^{-6} mol/L) e, por isso, requer a injeção de um maior volume de amostra para o canal de separação (TAVARES, 1995).

O dispositivo no formato em CS que apresentou uma separação incompleta de todos os cátions inorgânicos mostra que a quantidade de amostra injetada (1.700 pL) para o canal de separação foi excessiva e que o comprimento efetivo de 4,3 cm do dispositivo utilizado, não foi um comprimento suficiente pra que as espécies migrassem e se separassem completamente no interior do canal. Por outro lado, a configuração CD foi a que forneceu o volume ideal de amostra que assegurou a seletividade, resolução de linha de base e apresentou uma boa eficiência de separação.

4.1.4.1. Dispositivo na Configuração Simples-T (CS)

De modo a explorar o potencial analítico do dispositivo no formato de simples-T, realizou-se uma sequência de separações eletroforéticas variando o tempo de injeção em cada análise. Foram utilizados tempos de 1, 3, 5 e 8 s conforme demonstrado na Figura 4.8 A. Para tempos de injeções menores que 10 s, um menor volume de amostra é injetado ao canal de separação, fazendo com que todos os cátions presentes no meio fossem separados com sucesso. Em todos os tempos empregados, pode-se notar a separação completa de todos os cátions em torno de 70 s. No entanto, a melhor resposta de separação foi obtida no tempo de 5 s de injeção. Para tempos superiores a 5 s, observa-se uma perda na resolução da separação. Esse efeito está relacionado com o volume de amostra injetado. Nesta configuração, o volume de amostra é proporcional ao tempo de injeção.

Em decorrência desse fenômeno, pode-se visualizar na Figura 4.8B que o tempo de injeção também afeta a intensidade do sinal analítico. Ao mesmo tempo que promove uma perda de resolução, o aumento do tempo de injeção provoca um aumento na intensidade do sinal. Essa observação experimental é coerente uma vez que o aumento do tempo de injeção possibilita a injeção de uma maior quantidade de amostra no canal de separação.

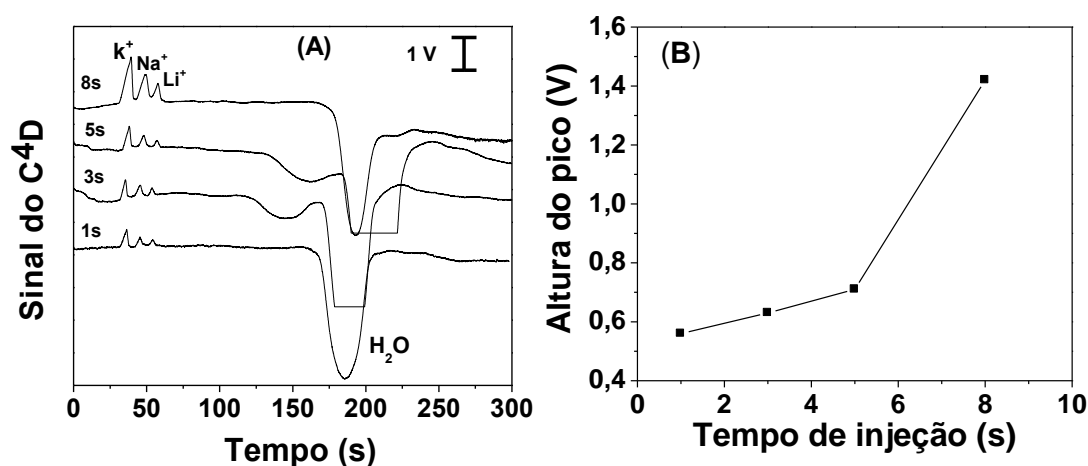


Figura 4.8 (A) Eletroferogramas obtido no dispositivo com canal em cruz em diversos tempos de injeção. (B) Influência do tempo de injeção na altura do pico do potássio. Condições experimentais: ver Figura 4.6.

4.1.5. Repetibilidade Analítica

Com os avanços demonstrados até o presente momento, estudou-se a repetibilidade do processo de injeção nos chips de PT fabricados com a nova transparência (FP). Diante dos resultados apresentados no item 4.4., a geometria CD foi escolhida como ideal para estes ensaios. A Figura 4.9 mostra quatro eletroferogramas obtidos sequencialmente ilustrando a separação de cátions inorgânicos com concentração de $100 \mu\text{molL}^{-1}$ cada. De acordo com os dados apresentados, nota-se que todos os cátions foram separados com sucesso em torno de 60 s com resolução de linha de base e excelente repetibilidade. Os valores dos tempos de migração para K⁺, Na⁺ e Li⁺ foram $40,6 \pm 0,4$ s, $51,3 \pm 0,5$ s e $59,0 \pm 0,6$ s, respectivamente, com DPR menor que 1%. A magnitude do FEO calculada através do pico da água foi de $1,4 \pm 0,1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$.

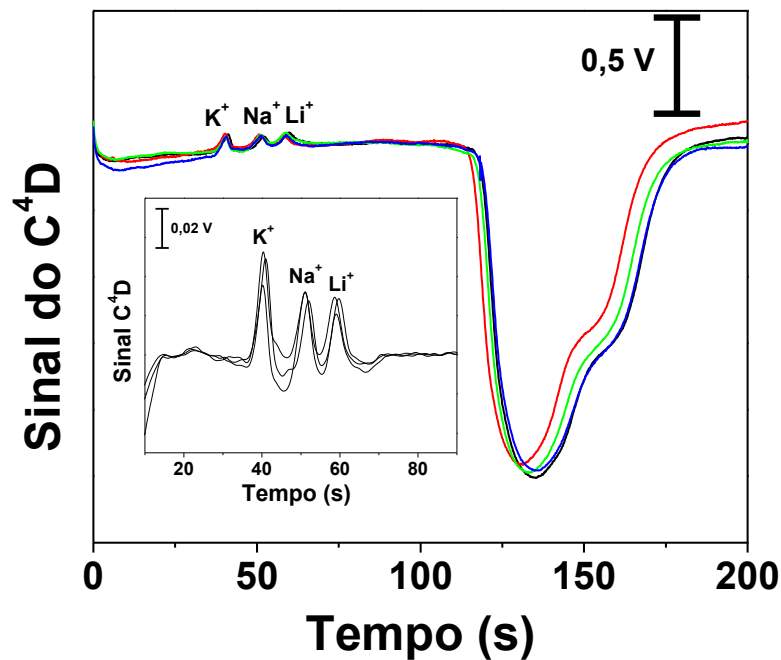


Figura 4.9 Eletroferogramas mostrando a separação sequencial ($n = 4$) dos íons K^+ , Na^+ e Li^+ na concentração de $100 \mu\text{molL}^{-1}$ (cada). Condições experimentais: ver Figura 4.6.

Quando comparado a trabalhos descritos na literatura, os dispositivos de PT utilizados neste trabalho apresentaram melhor desempenho analítico, em termos de repetibilidade (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c). A utilização de um novo filme de poliéster garantiu a estabilidade do FEO e consequente reprodutibilidade de análise durante as quatro injeções.

A eficiência de separação (N) nos MSE-PT foi calculada a partir da Equação 5. Os valores encontrados para os íons K^+ , Na^+ e Li^+ 21.300 ± 1.700 , 25.300 ± 1.900 e 31.300 ± 1.400 pratos/m, respectivamente. O DPR calculado ($< 8\%$) é consequência da estabilidade do FEO gerado nos dispositivos propostos.

$$N = 16 \left(\frac{t_m}{w} \right)^2 \quad \text{(Equação 5)}$$

No qual, t_m e w corresponde a tempo de migração e largura do sinal.

A eficiência máxima teórica (N_T) pode ser estimada de acordo com a equação 6:

$$N_T = 16 \left(\frac{l_{eff}}{l_{plug}} \right)^2 \quad \text{(Equação 6)}$$

sendo que l_{eff} e l_{plug} representam o comprimento efetivo e o comprimento do *plug* de injeção, respectivamente. Considerando o l_{eff} e l_{plug} como 4,3 cm e 400 μm a N_T encontrada é de $1,85 \times 10^5$. A partir dos dados experimentais encontrados (para N), a razão entre a eficiência experimental (N_{Exp}) e eficiência teórica (N_T) para todos os cátions variou entre 11 a 17%. Todos esses valores de eficiência encontrados foram melhores que os valores relatados em trabalhos anteriormente desenvolvidos utilizando a mesma plataforma microfluídica (COLTRO *et al.*, 2004; COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b; COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c; HE *et al.*, 2005).

4.1.6. Curva analítica e Limite de detecção

A Figura 4.10 apresenta a curva de calibração obtida para misturas contendo níveis de concentrações crescentes de K^+ , Na^+ e Li^+ , em incrementos de $25 \mu\text{molL}^{-1}$ para faixa de concentração entre 25 a $100 \mu\text{molL}^{-1}$. Cada ponto nas curvas é um valor médio de cinco medidas consecutivas. A sensibilidade analítica foi calculada através do coeficiente angular da curva de calibração e os valores encontrados foram de 3,76 (K^+), 3,28 (Na^+) e 1,56 (Li^+) $\text{mV}/\mu\text{M}$. O limite de detecção (LD) foi estimado com base na relação sinal/ruído igual 3 ($\text{S/N} = 3$). Os valores de

LD encontrados para K^+ , Na^+ e Li^+ , foram de 4,2, 7,6 e 23 μmolL^{-1} , respectivamente.

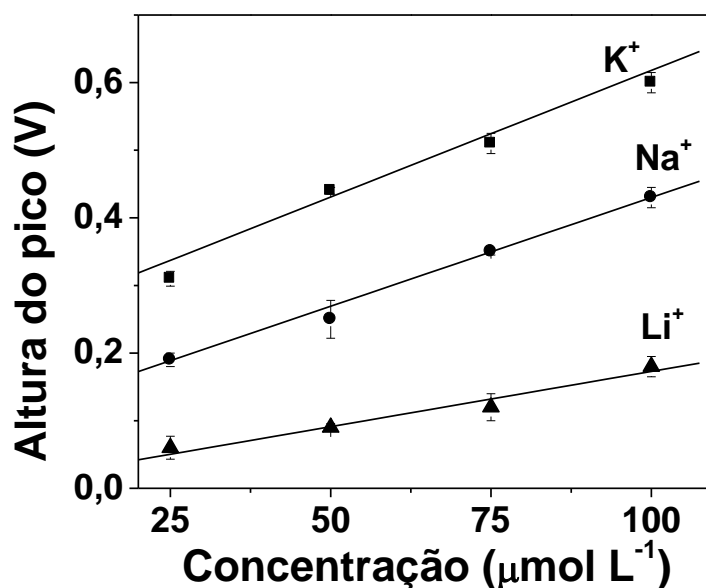


Figura 4.10 Curva de calibração para os cátions inorgânicos no intervalo de concentração entre 25 e 100 μmolL^{-1} .

Os dispositivos de PT apresentaram melhores valores de LD quando comparados a dados relatados na literatura que utilizam o mesmo circuito eletrônico, acoplado a substratos microfluídicos como vidro (SEGATO *et al.*, 2010) e híbrido PDMS/vidro (VÁZQUEZ *et al.*, 2010) que são plataformas que apresentam um melhor desempenho analítico. Além disso, esses valores são sutilmente maiores que os valores encontrados nos primeiros trabalhos que utilizaram os dispositivos de PT (COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b; COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c). As diferenças nos valores de LD são atribuídas ao modo de acoplamento dos eletrodos de detecção. Nestes trabalhos, os eletrodos são depositados em um substrato planar pela técnica de *sputtering* e incorporados ao canal microfluídico

utilizando PDMS (SEGATO *et al.*, 2010), vidro (VÁZQUEZ *et al.*, 2010) ou poliéster (COLTRO, DA SILVA e CARRILHO, 2008b) como camada isolante para promover o acoplamento capacitivo. Por outro lado, os dispositivos de PT utilizados são acoplados aos eletrodos externos fabricados em um suporte de PCI, com uma configuração similar aos trabalhos do grupo do prof. Peter Hauser, um dos principais grupos dessa área de pesquisa (TANYANYIWA *et al.*, 2003).

4.1.7. Tempo de Vida Estendido

Devido a todas as melhorias obtidas nos dispositivos de PT, foi possível avaliar a utilização de um único chip por durante três dias consecutivos. A partir do quarto dia foi observado uma perda na eficiência de separação e uma intensa diminuição da resolução de linha de base.

Para comparação da resposta analítica entre os diferentes dias (inter-dias) utilizou-se uma mistura catiônica de K^+ , Na^+ e Li^+ ($200 \mu\text{molL}^{-1}$). O dispositivo empregado foi no formato de duplo-T (gap $200 \mu\text{m}$), o canal de injeção e separação com 1,5 e 5,0 cm de comprimento total, e o comprimento efetivo do canal de separação de 4,3 cm. Nenhum processo adicional de pré-condicionamento ou ativação de superfície foi utilizado, somente ao início de cada dia os canais microfluídicos foram lavados com o tampão de corrida por durante 5 min. Ao final de cada dia de análise, os canais foram lavados eletrocineticamente com água ultrapura para evitar a evaporação e possível obstrução do canal entre um dia e outro.

Todos os resultados obtidos das análises dos três dias estão resumidos na Tabela 2. De modo geral todos os parâmetros avaliados sofrem alteração durante os dias de análises. Comparando o tempo de migração inter-dias ($n = 3$) para K^+ , Na^+ e Li^+ o valores foram de 37 ± 2 s, 50 ± 6 s e 58 ± 8 s, respectivamente, já o pico do FEO apresentou o tempo de migração de 186 ± 2 s.

Como nenhuma etapa de pré-tratamento ou ativação da superfície foi empregada ao longo dos dias, não se pode garantir que as cargas ionizadas no primeiro dia de análise estariam participando efetivamente da geração o FEO no terceiro e último dia. Assim, ocorre uma diminuição de densidade de carga presentes na superfície da transparência, o que provoca consequentemente a diminuição da magnitude de FEO que foi encontrado no último dia de análise.

Outro fator que vale ressaltar é que apesar da grande variação de FEO durante os três dias de análise o tempo de migração de todos os cátions não foi significativamente afetado. Este fato se deve à diferença existente entre de mobilidade eletroforética das espécies e mobilidade do FEO. A mobilidade de todos os cátions é cerca de dez vezes maior que a mobilidade do marcador neutro, e a variação da magnitude do fluxo encontrada, não foi suficientemente alta para que provocasse uma alteração significativa nas migração dos cátions.

Tabela 2- Parâmetros eletroforéticos avaliados durante a investigação do tempo de vida de único dispositivos por três dias consecutivos.

Dias		Tempo de Migração (s)	Altura do pico (mV)	FEO ($\times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)	Eficiência (pratos/m)
1	K ⁺	34 ± 1	700 ± 40	2,3 ± 0,1	7.000 ± 1.000
	Na ⁺	43 ± 1	420 ± 20		20.000 ± 2.000
	Li ⁺	49 ± 1	210 ± 50		50.000 ± 10.000
2	K ⁺	37 ± 1	780 ± 90	1,2 ± 0,2	7.000 ± 1.000
	Na ⁺	53 ± 1	610 ± 20		12.000 ± 2.000
	Li ⁺	64 ± 1	320 ± 20		35.000 ± 6.000
3	K ⁺	39 ± 1	800 ± 30	0,8 ± 0,1	8.000 ± 1.000
	Na ⁺	54 ± 1	640 ± 30		17.000 ± 5.000
	Li ⁺	61 ± 1	300 ± 20		47.000 ± 5.000

4.1.8. Detecção de cátions inorgânicos em amostra real

Uma vez que os dispositivos de PT têm apresentado um melhoramento no seu desempenho analítico, foi possível então sua aplicação na detecção de espécies inorgânicas em amostras reais. As amostras foram escolhidas de modo que contivessem em sua composição os cátions potássio, sódio e/ou lítio, pois estes foram os cátions analisados como padrão durante todo o desenvolvimento do trabalho. Com este propósito foi utilizado uma amostra de bebida energética (Gatorade[®]) que contém potássio e sódio em sua composição bem como algumas amostras de medicamentos (diclofenaco de sódio, diclofenaco de potássio e carbonato de lítio (carbolithium[®])). A bebida energética é consumida diariamente principalmente por atletas para a reposição de sais essenciais ao corpo. Os medicamentos diclofenaco de potássio, diclofenaco de sódio são anti-inflamatório não esteróides prescritos para tratamento de artrite reumática, osteoartrite e injurias musculares. Já o carbonato de lítio pertence a um grupo de drogas populares conhecido como estabilizadores de humor, indicados a pacientes em tratamento psiquiátrico (GIMENES *et al.*, 2011).

As Figuras 4.11 A e 4.11 B apresentam os eletroferogramas obtidos nos dispositivos de PT para a bebida energética e as amostras de medicamentos, respectivamente. Para o Gatorade[®], uma alíquota de 6,1 µL foi diluída em 1,0 mL de água. Como mostrado na Figura 4.11 A, a presença dos cátions K⁺ e Na⁺ foram confirmados pela detecção de dois picos no tempo de migração de 37 e 58 s, respectivamente.

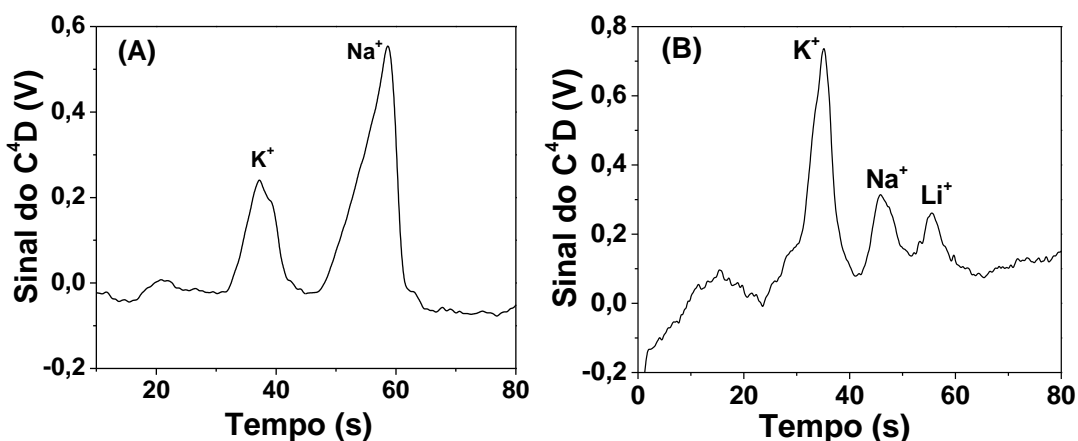


Figura 4.11 Eletroferogramas mostrando a detecção de cátions inorgânicos em (A) bebida energética e (B) mistura de formulações farmacêuticas contendo diclofenaco de potássio, diclofenaco de sódio e carbonato de lítio.

A Figura 4.11 B apresenta o eletroferograma de uma mistura que contém todos os medicamentos dissolvidos juntos em água. A mistura foi obtida pela adição de uma alíquota de 10 μL de cada solução estoque (anteriormente preparada na concentração de 10 mmol L^{-1}) em um volume final de 1,0 mL. Baseado em informações de cada fabricante, a concentração estimada de cada espécie na amostra injetada foi de cerca de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

De modo a determinar os tempos de migração de cada espécie em cada medicamento, realizou-se uma análise prévia de cada droga individualmente em seguida partiu-se para separação e detecção das espécies na mistura. Como pode ser visto todos os cátions foram separados em menos de 80 s e com boa resolução de linha de base. O tempo de migração para os íons K⁺, Na⁺ e Li⁺ foram de 37, 51 e 59 s, respectivamente.

PARTE II
TONER PIGMENTADO

4.2. Uso de Toner Colorido para Fabricação dos Dispositivos de PT

Esta etapa do trabalho tem como objetivo apresentar e discutir pela primeira vez o uso do toner pigmentado na fabricação de microssistemas analíticos a partir do processo de impressão direta. Neste contexto, realizou-se um estudo comparativo entre dispositivos fabricados com duas impressoras distintas, monocromática (IMC) e policromática (IPC). Ao longo desta discussão serão apresentados resultados de caracterização, avaliação dimensional, efeito do processo de impressão e experimentos eletroforéticos para fins comparativos do desempenho analítico dos chips de PT fabricados com as diferentes colorações.

Esta parte do trabalho foi realizada em colaboração com os professores Emanuel Carrilho² e Claudimir L. do Lago³.

4.2.1. Caracterização do Toner das Impressoras Mono e Policromática

O toner modelo HP C4096A foi utilizado para fabricação dos dispositivos impressos na IMC e os toners modelos HP CB540 A (cartucho preto), CB542 A (amarelo), CB541 A (ciano) e CB543 A (magenta) foram os empregados para produção dos microchips impressos na IPC, nos padrões CMYK (do inglês, *cyan, magenta, yellow and key-black*)

Cada tipo de toner é desenvolvido especificadamente para cada modelo de impressora e para cada função que ele irá desempenhar. No próprio *site* do fabricante é possível encontrar uma ficha de identificação de

² Pesquisador do Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo

³ Pesquisador do Instituto de Química - Universidade de São Paulo

cada cartucho de toner, o qual divulga informações sobre sua composição e para qual modelo de impressora ele foi desenvolvido. A Tabela 3 apresenta os dados obtidos nas fichas de identificação de cada cartucho de toner utilizado neste trabalho. Estas informações são fornecidas pelo fabricante diretamente em seu endereço eletrônico (<http://www.hp.com> - acessada em 02/06/2012 às 14h35min).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, é possível notar que o constituinte principal de todos os toners é um copolímero composto de acrilato-estireno. Por outro lado, a Tabela mostra que enquanto o toner da IMC possui óxido de ferro em sua composição, o toner da IPC possui dióxido de silício.

Tabela 3. Dados de composição de cada tipo de toner. Informações fornecida pelo fabricante.

Toner		Composição (% em massa)		
Amarelo	Acrilato-estireno (<85)	Cera (<10)	Pigmento (<5)	Anidrido Silícico* amorfo (<2)
Ciano	Acrilato-estireno (<85)	Cera (<10)	Pigmento (<6)	Anidrido Silícico amorfo (<2)
Magenta	Acrilato-estireno (<85)	Cera (<10)	Pigmento (<7)	Anidrido Silícico amorfo (<2)
Preto (IPC)	Acrilato-estireno (<85)	Cera (<10)	Carbono Preto (<6)	Anidrido Silícico amorfo (<2)
Preto (IMC)	Acrilato-estireno (<50)		Óxido de ferro (<50)	

*Anidrido silícico amorfo também é conhecido como dióxido de silício (SiO_2).

Os toners provenientes das IMC e IPC foram caracterizados através das técnicas de análise elementar (CHN-O), EDS e FTIR. Os resultados estão apresentados nas seções a seguir.

4.2.1.1. Análise Elementar

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise elementar para as amostras dos cartuchos de toners utilizados neste trabalho.

O percentual de oxigênio foi determinado pela diferença entre o valor total e a soma dos percentuais dos compostos elementares. As amostras de toners foram obtidas após o processo de impressão. Ou seja, cada toner foi impresso sobre o poliéster, e com o auxílio de uma espátula uma amostra foi removida da superfície da transparência. A análise foi realizada com aproximadamente 1 mg de toner.

Tabela 4. Resultados de Análise Elementar de CHNO-S para os tipos de toner provenientes da IMC e IPC.

Toner	Carbono(%)	Hidrogênio(%)	Nitrogênio(%)	Oxigênio(%)*
Amarelo	82,80	8,18	0,62	8,40
Ciano	83,13	7,89	0,58	8,40
Magenta	83,35	8,14	0,62	7,89
Preto IPC	84,91	7,89	0,56	6,64
Preto IMC	48,22	4,27	0,25	47,26

*Teor de Oxigênio determinado pela diferença

Os resultados obtidos pela análise elementar estão de acordo com os resultados fornecidos pelo fabricante. O maior teor de carbono encontrado para o toner pigmentado sugere que este material seja constituído basicamente por matéria orgânica. Além da base polimérica de acrilato-estireno, maior constituinte, a cera e o tipo de pigmento também apresenta carbono em sua composição. Além disso, o toner preto da IPC foi o que apresentou o maior teor de carbono entre os coloridos, o que também está de acordo com os dados do fabricante, pois este, além do copolímero e cera, é constituído por um componente denominado carbono preto (ou negro de fumo), que fornece a coloração.

4.2.1.2. Análise por Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDS)

A técnica de EDS também foi utilizada para analisar semi-quantitativamente a diferença na composição química dos tipos de toners. Os espectros de EDS para o toner preto de ambas as impressoras estão apresentados na Figura 4.12.

Nos espectros é possível notar que a principal diferença entre as duas amostras está relacionada à presença de ferro apenas no toner da IMC. O ferro presente (Figura 4.12A) está na forma de óxidos (FeO e Fe_2O_3) e de acordo com os dados semi-quantitativos, sua porcentagem é de aproximadamente 55%. Este dados estão em concordância a análise elementar, através da qual se encontrou um teor de oxigênio muito maior nas amostras do toner proveniente da IMC.

No toner preto da IPC, confirmou-se a presença de silício (Figura 4.12 B), provavelmente na forma de SiO_2 , em porcentagem na faixa entre 2-4%. Ressalta-se que todos os toners da IPC apresentaram espectros similares e, por esse motivo, apenas um deles está ilustrada na Figura 4.12. Os sinais de cloro visualizados no espectro (Figura 4.12 B) deve ser resultado de alguma contaminação ou presença de cloreto proveniente possivelmente dos pigmentos. Por outro lado, os picos de ouro (Au) indicam a presença do metal devido à etapa de metalização realizada antes da etapa da análise espectroscópica.

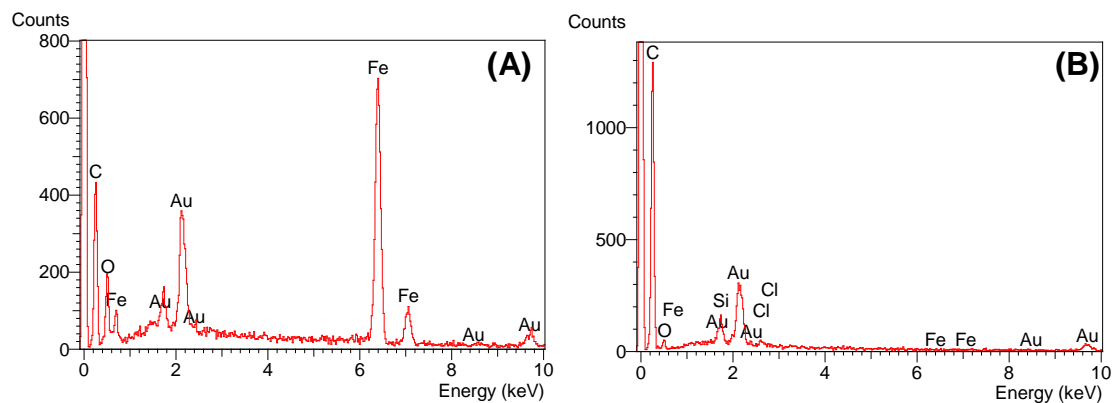


Figura 4.12 Resultados das análises de espectroscopia dispersiva de energia de raios-X (EDS) para toner preto da (A) IMC e (B) IPC.

4.2.1.3. Análise por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

Os espectros obtidos por FTIR também confirmaram as informações fornecidas pelo fabricante. A Figura 4.13 mostra os espectros do toner pigmentado (Figura 4.13A) e o toner convencional (Figura 4.13B).

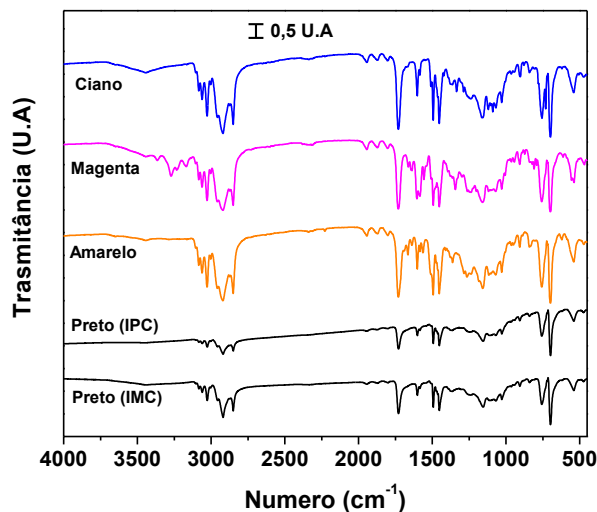


Figura 4.13 Espectro do FTIR do toner pigmentado (A) e para o toner convencional (B).

Nos espectros é possível notar bandas características dos compostos que cada toner é formado. Como o constituinte principal (acrilato-estireno) dos dois tipos de toner são as mesmas, os estiramentos discutidos a seguir são para os dois espectros apresentados (A e B).

As bandas na região próximas a 2920 e 3030 cm⁻¹ são bandas de absorção típicas de ligação C-H presentes no poliestireno. Deformação angular simétrica e assimétrica dos grupos metila e metilenos se localizam na região região 1400 a 1500 cm⁻¹. Nas regiões próximas a 1600 e 690 cm⁻¹, tem-se estiramento da ligação C-O e deformação angular da ligação C-H de anel aromático, respectivamente. Em 1700 e 1100 cm⁻¹ são bandas características do estiramento da carbonila e C-O de éster. No espectro do toner colorido nota-se bandas da região de 790 a 900 cm⁻¹, que são provenientes de ligação Si-O, O-Si-O e Si-C (BRANDOLINI, 2000; IMHOF, 2001). Além disso, nos toners amarelo, ciano e magenta observou-se bandas nas regiões entre 1800 a 1900 cm⁻¹ que são característicos de

grupos insaturados que estão presentes no constituinte que fornecem coloração. Esses resultados foram compatíveis com os dados fornecidos pelo fabricante bem como os resultados encontrados por CHN-O e EDS.

4.2.2. Caracterização do Processo de Impressão

Quando comparado ao toner da IMC, as partículas do toner pigmentado são menores e apresentam formato geométrico mais uniforme. Essa peculiaridade tem afetado o perfil do canal microfluídico (largura e espessura) e a rugosidade da superfície da camada toner impressa sobre o filme de poliéster. A Figura 4.14 apresenta imagens de MEV do toner impresso sobre o filme de transparência com as duas impressoras. Nessas micrografias é possível notar a diferença existente entre as superfícies principalmente na disposição e forma das partículas após o processo de impressão.

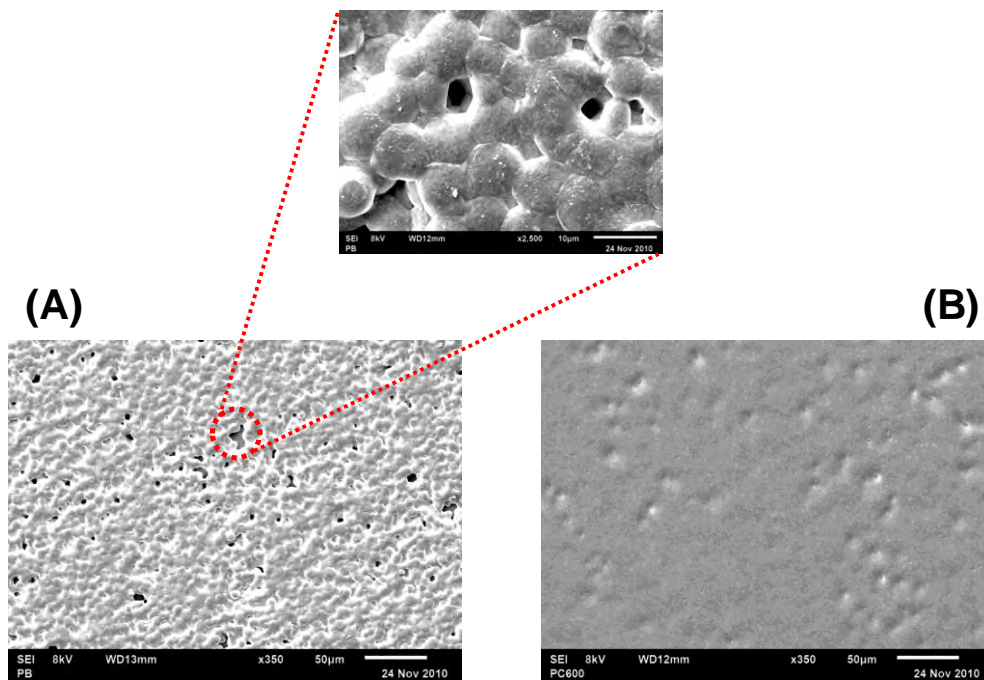


Figura 4.14 Micrografias obtidas da deposição do toner sobre o filme de transparência. Impressão do toner utilizando (A) IMC, com ênfase para lacunas existentes e (B) IPC.

Através das micrografias apresentadas, observa-se um elevado nível de irregularidade na superfície do toner depositado pela IMC, onde a camada de toner possui muitas lacunas, conferindo a este material um caráter poroso (Figura 4.14 em destaque). Por outro lado, o toner depositado com IPC apresenta uma superfície mais regular e uniforme, onde não é possível notar nenhuma forma definida das partículas. Em outras palavras, a camada de toner colorido permite a obtenção de uma superfície com menor rugosidade, fator que favorece o processo de separação.

A característica da superfície do toner convencional tem acarretado problemas quanto ao desempenho analítico desses dispositivos, pois a presença das imperfeições permite que ocorra vazamento da solução e adsorção de analito na parede do canal o que contribui para alargamento do pico (COLTRO, LUNTE e CARRILHO, 2008c; DUARTE *et al.*, 2012).

Ao avaliar os diferentes tipos de toner observou-se que o processo de impressão com as IMC e IPC afeta significativamente a uniformidade da superfície de toner impressa nos filmes de poliéster. A diferença encontrada está diretamente relacionada ao processo de fabricação do toner. Enquanto o toner convencional é fabricado pelo processo denominado moagem, no qual o material passa pelo o processo de fundição, extrusão, resfriamento e moagem, o toner pigmentado é fabricado pelo processo de pulverização ou processo químico, no qual permite obter partículas com perfil geométrico melhor definido. Além disso, é possível atribuir à diferença de superfície ao nível de temperatura que cada impressora atinge para efetuar o processo de impressão. Pelo fato da IPC necessitar da etapa de mistura de cores primárias antes do processo de impressão, o nível de temperatura que ela

atinge é mais elevado, o que proporciona uma melhor fusão das partículas e conseqüentemente uma deposição de camada de toner mais homogênea. Por outro lado, a IMC não necessita da etapa de mistura de cores e utiliza assim temperaturas de impressão mais baixas de modo que, as partículas de toner são fundidas no ponto ideal para uma impressão comum (<http://onport.wordpress.com/> - acessada em 25/05/2012 às 15h30min).

4.2.3. Análise Dimensional

Como mencionado anteriormente, o processo de deposição da camada do toner afeta as dimensões do canal microfluídico, como a largura e a profundidade. Para avaliar o efeito deste processo na largura dos dispositivos, foram impressos canais com largura variando de 100 a 300 μm , em incrementos de 50 μm . Em um dispositivo com comprimento total de 1 cm, mediu-se a largura real do microcanal ao longo de quatro regiões distintas utilizando a imagem capturada por um microscópio óptico (modelo N107T). Estas medidas foram analisadas com uma régua de precisão fornecida pelo fabricante do microscópio.

A Figura 4.15 apresenta os dados correlacionando o valor real *versus* o valor nominal para os microcanais impressos nas duas impressoras. As medidas de largura ao longo do canal revelaram que a IMC produz canais com maior largura real, ou seja, um microcanal projetado com largura de 100 μm , por exemplo, apresenta uma largura real de $120 \pm 14 \mu\text{m}$. Por outro lado, os microcanais impressos com IPC apresentaram valores reais menores que os nominais. O canal com 100 μm apresenta largura real de $72 \pm 22 \mu\text{m}$. Essa diferença pode ser atribuída à resolução de cada

impressora. A IMC possui uma resolução de 1200 *dpi*, enquanto que a IPC possui resolução de 3600 *dpi* (modo *imageREt*).

De acordo com especificações técnicas obtidas com o fabricante, o modo de impressão *ImageREt* tem a finalidade de minimizar imperfeições na camada de toner depositada. Devido às limitações da impressora, a definição das bordas dos canais é o ponto mais crítico desse processo de fabricação. Na tentativa de corrigir estes “defeitos”, o modo de impressão *imageREt* deposita uma quantidade de toner nessa região, produzindo conseqüentemente canais mais estreitos que os valores nominais (<http://www.hp.com> - acessada em 04/06/2012 às 09h40min).

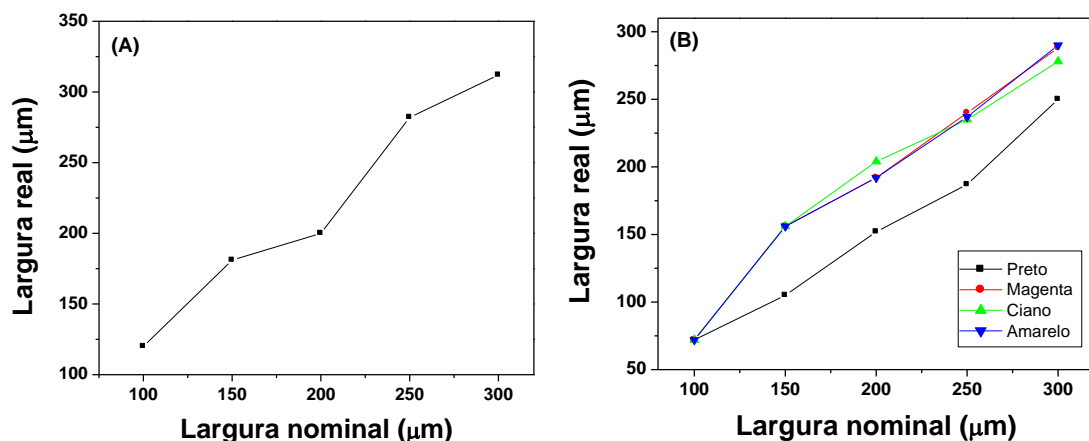


Figura 4.15 Gráfico da largura real *versus* nominal para canais impressos com (A) IMC e (B) IPC.

Fazendo um comparativo entre os microcanais impresso somente com a impressora colorida, nota-se que os canais fabricados com o toner preto apresentaram os menores valores de largura (Figura 4.15 B). Apesar do padrão CMYK ser utilizado no software gráfico (Corel Draw) para depositar a camada de toner utilizando apenas a cor selecionada, observou-

se através de imagens ópticas que o dispositivo preto é impresso com camadas de toner sobrepostas. Em outras palavras, o dispositivo preto, na verdade, é impresso no padrão no qual se utiliza uma mistura de cores para a formação da sua cor. Assim, acredita-se que este fator possa levar a uma maior deposição de camada de toner que contribui efetivamente para a formação de canais mais estreitos neste tipo de microchip. Esse problema pode estar correlacionado ainda com a incompatibilidade na definição das cores pelo software gráfico e o sistema de impressão utilizado. Uma vez que estes parâmetros não foram otimizados, eles podem representar a principal justificativa para a variação dimensional apresentada.

4.2.4. Análise Perfilométrica e Morfológica

A espessura da camada de toner foi outro parâmetro avaliado nos dispositivos fabricados com as duas impressoras. A importância de se avaliar este parâmetro se deve ao fato de ser ele que determina a altura de cada microcanal. Em todos os dispositivos foram realizadas três medidas perfilométricas em um simples canal aberto, ou seja, antes da etapa de laminação, com largura igual a 200 μm .

A Figura 4.16 mostra as análises perfilométricas de todos os microcanais. Esta análise dimensional permitiu notar que as duas impressoras produzem canais com perfis diferentes. Enquanto o canal formado com a IMC apresentou um formato retangular, o canal formado com a IPC apresentou um formato trapezoidal.

Outro parâmetro avaliado com esta medida foi quanto à profundidade, ou espessura, de cada microcanal. Os canais coloridos apresentaram

valores de profundidades iguais. O microcanal do toner amarelo, por exemplo, apresentou profundidade de $4,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$, com DPR de 3% ($n = 3$). Por outro lado, a profundidade do microcanal produzidos com a IMC foi de $7,7 \pm 1,0 \mu\text{m}$, o DPR entre as três medidas realizadas foi de 12%. Estes valores foram calculados para dispositivos com SCT, se os dispositivos forem de DCT a profundidade dos microcanais será aproximadamente de 9,4 e 15,4, para a IPC e IMC, respectivamente.

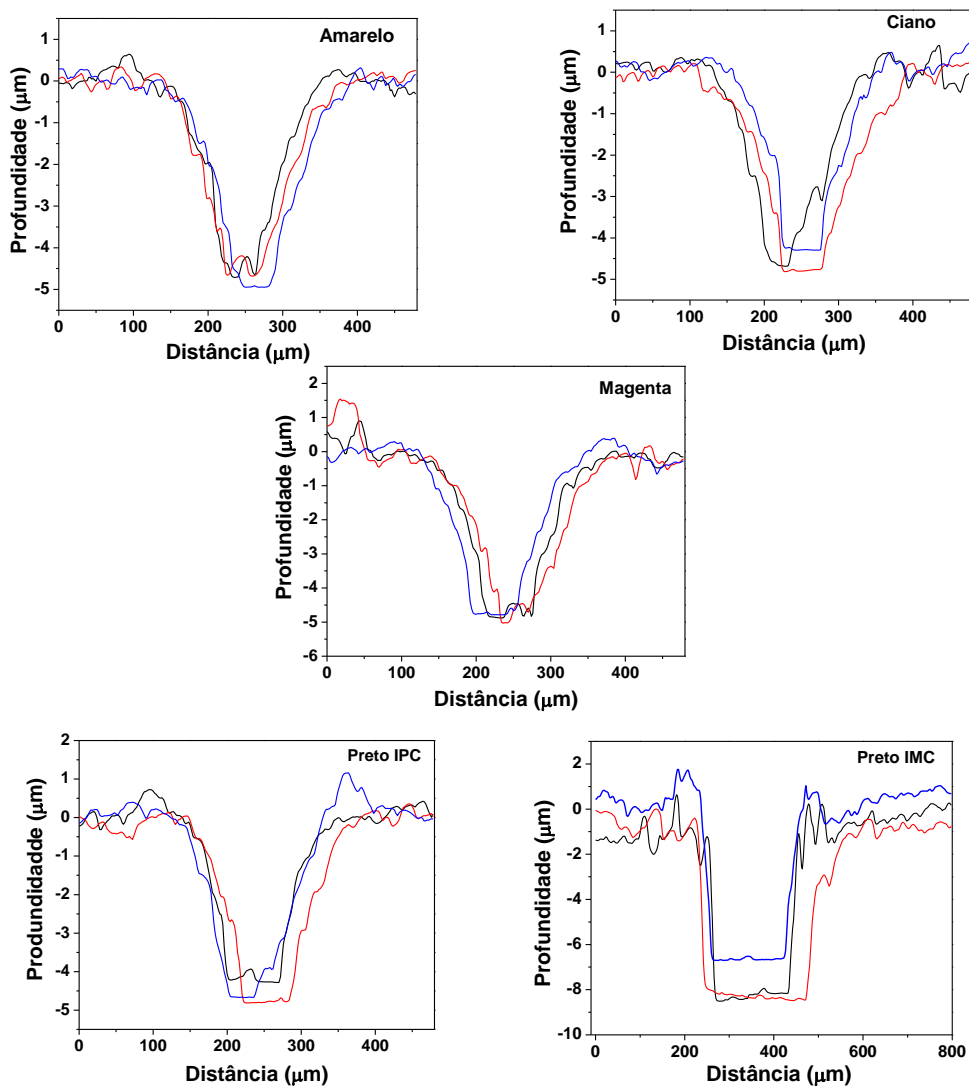


Figura 4.16 Medidas do perfil dos canais impressos com a IPC (Magenta, Ciano, Amarelo e Preto) e com a IMC.

Além da diferença entre a formação dos perfis nos microcanais, as duas impressoras apresentaram diferenças quanto à rugosidade de cada superfície. Para avaliação deste fator foi realizada análise por MFA, do toner impresso com IMC e IPC (Figura 4.17 e 4.18). Como todos os chips coloridos apresentaram rugosidade de superfície semelhante, aqui serão apresentadas apenas as imagens do toner preto proveniente das duas impressoras.

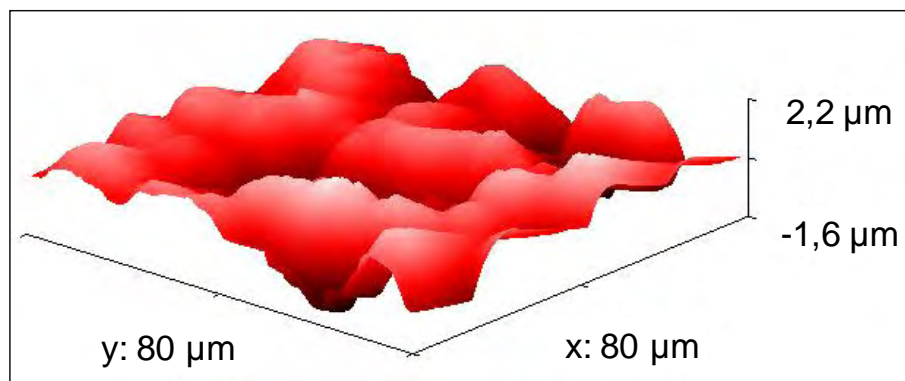


Figura 4.17 Imagem de MFA da superfície da camada toner impressa com IMC. Área analisada: 80 x 80 μm .

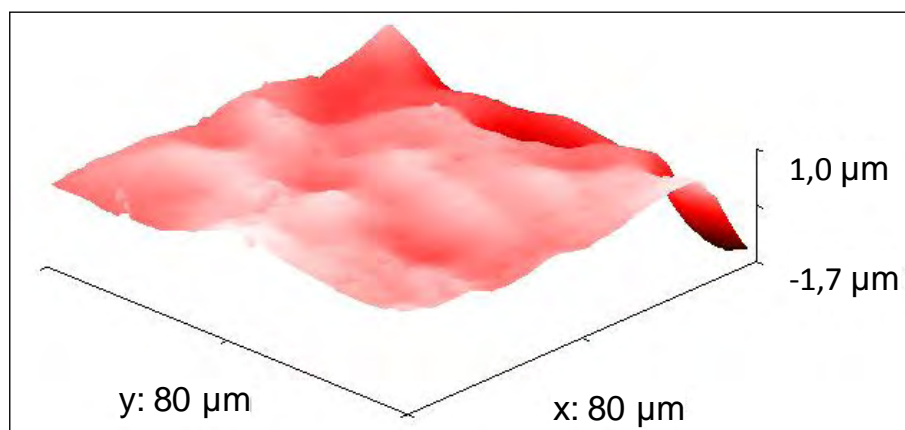


Figura 4.18 Imagem de MFA da superfície da camada toner impressa com IPC. Área analisada: 80 x 80 μm .

Analisando as imagens de MFA é possível notar a diferença de superfície entre os dois dispositivos. Em uma área superficial de 367,80 μm^2

a rugosidade encontrada para os MSE impressos na IMC e IPC foram de 1,6 e 0,24 μm , respectivamente. Essa diferença de rugosidade é atribuída à diferença existente entre o processo de impressão bem como a uniformidade da camada toner depositada sobre o filme de poliéster.

4.2.5. Caracterização Elétrica

A corrente elétrica gerada com o aumento do potencial provoca aquecimento do canal em decorrência da perda de eficiência na dissipação de calor (efeito Joule). Por este motivo, a fim de garantir a dissipação eficiente de calor, deve-se realizar as separações eletroforéticas em um limite de potencial no qual não ocorra este fenômeno (BAKER, 1995).

Em MSE, uma das características desejadas de uma plataforma é que ela tenha uma capacidade efetiva de dissipar calor provocado pelo efeito Joule. Como os dispositivos fabricados com a IPC apresentaram algumas diferenças principalmente no processo de impressão, acredita-se que a propriedade de dissipação do calor tenha sido também alterada. Por esse motivo, essa propriedade foi investigada nos microchips fabricados com as diferentes impressoras através da caracterização elétrica a partir da lei de Ohm (MOURZINA *et al.*, 2005).

Para esta avaliação, utilizou-se os dispositivos fabricados nas IMC e IPC com canal simples de 2 cm de comprimento e 200 μm de largura. O canal foi inicialmente preenchido com a solução tampão fosfato de sódio (20 mmolL^{-1} em pH 6) e aplicou-se uma diferença de potencial (500 V). A corrente eletroforética resultante foi medida em função dos valores de

potenciais aplicados. A Figura 4.19 apresenta as curvas obtidas para os dispositivos impressos com a IPC e IMC com as respectivas equações de correlação, as quais foram utilizadas para determinar os valores de resistência elétrica do microcal.

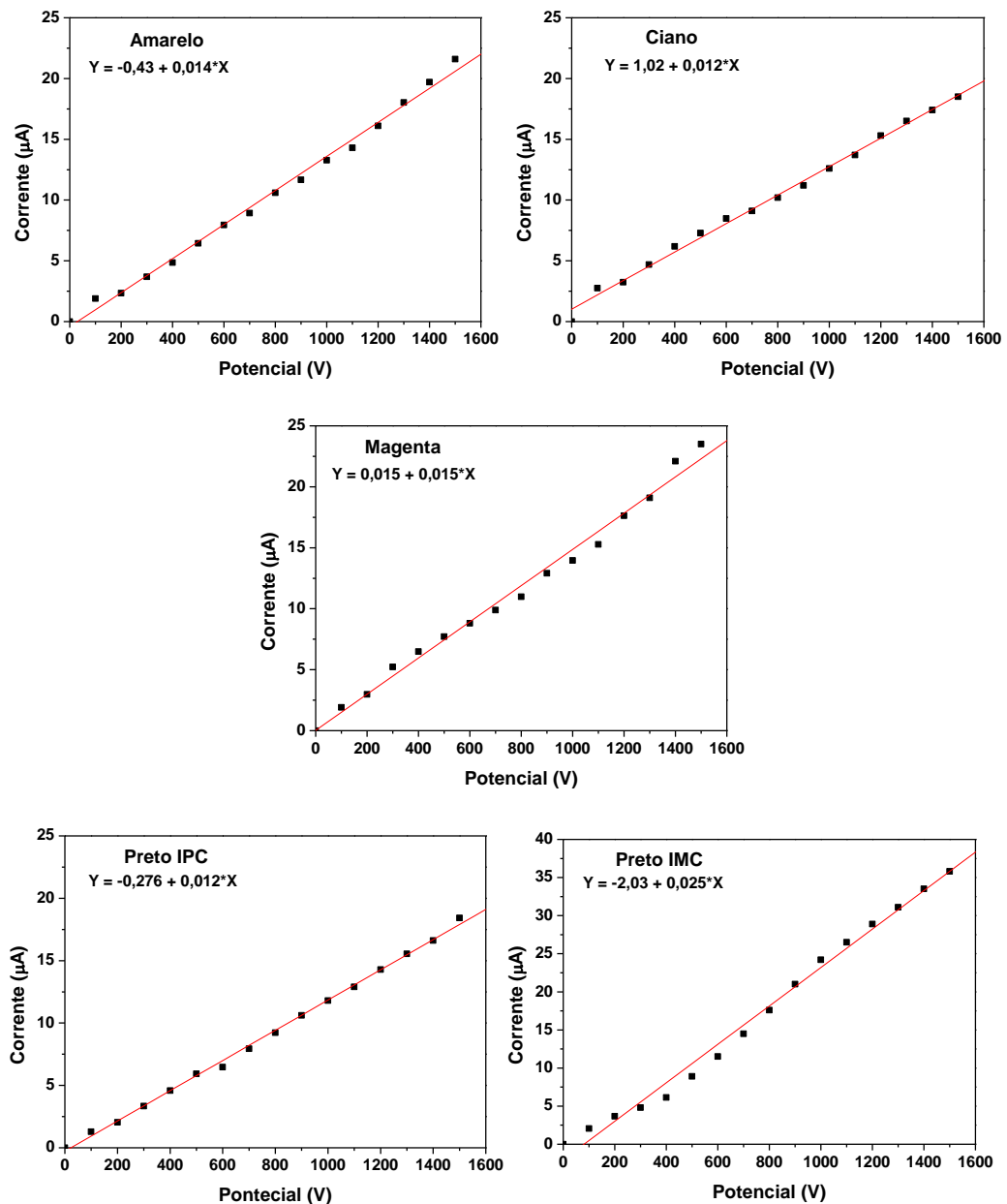


Figura 4.19 Curvas obtidas para a corrente eletroforética em função do potencial aplicado. Medidas realizadas para os dispositivos a base de toner pigmentado (amarelo, ciano, magenta e preto) e o dispositivo preto da IMC.

Como observado na Figura 4.19 todos os dispositivos exibiram uma relação linear entre a corrente eletroforética e o potencial elétrico aplicado para um campo elétrico até a 800 V cm^{-1} (potencial de 1600 V).

Os valores de resistências de cada microcanal foram calculados baseando-se nos coeficientes angulares das curvas da lei de Ohm (MOURZINA *et al.*, 2005). Os coeficientes encontrados equivalem ao inverso da resistência, $1/R$. Assim, os valores de resistência experimental encontrado para os dispositivos amarelo, ciano, magenta, preto (IPC) e preto (IMC) foram de 71, 83, 66, 83 e 40 $\text{M}\Omega$, respectivamente.

Para encontrar o valor da resistência teórica (R_T) para cada microcanal, é necessário conhecer a área de secção transversal dos microcanais bem como a resistividade da solução tampão utilizada. A área estimada para a secção transversal dos canais definidos com IMC e IPC foram de 1426 e 3075 μm^2 , respectivamente. A resistividade (ρ) da solução tampão foi calculada pela medida de condutividade (σ) à temperatura ambiente, através da relação $\sigma = 1/\rho$. O valor teórico encontrado foi de aproximadamente 580 $\Omega \text{ cm}$ para o tampão fosfato de sódio 20 mmolL^{-1} . A partir da Equação 7 a resistência teórica de cada microcanal foi calculada.

$$R_T = \frac{\rho L}{A} \quad \text{(Equação 7)}$$

No qual, L é o comprimento do canal e A é a área da secção transversal, obtida por perfilometria (MOURZINA *et al.*, 2005). O valor de R_T para o chip da IMC foi de 37 $\text{M}\Omega$, e para o chip da impressora policromática foi de 83 $\text{M}\Omega$.

Os dispositivos ciano e preto (IPC) apresentaram valores de resistências experimentais iguais ao valor teórico calculado. Por outro lado, os dispositivos amarelo e magenta apresentaram valores de resistência em torno de 14% e 20% menor que o mesmo valor teórico. Para o dispositivo preto da IMC, o valor experimental foi 7,5% menor que a resistência teórica estimada.

Analisando todos os dados obtidos nota-se que entre os microchips coloridos, o dispositivo ciano e magenta foram os que apresentaram as melhores eficiências em dissipação de calor, enquanto que chip da IMC foi que teve o pior desempenho. Essa diferença entre os dispositivos pode estar relacionada a características específicas de cada superfície, que contribui para a medida total da corrente elétrica nos microcanais.

4.2.6. Fluxo Eletrosmótico (FEO)

Como já discutido anteriormente, o FEO é um importante parâmetro eletroforético a ser determinado, uma vez que ele pode fornecer informações importantes a respeito da natureza da superfície do microcanal e pode afetar diretamente o desempenho analítico de cada microdispositivo.

O FEO nos microcanais a base de toner convencional e toner pigmentando foi estudado utilizando-se o método de monitoramento de corrente (HUANG, GORDON e ZARE, 1988). Os eletrólitos usados foram soluções tampão fosfato com pH variando entre 2 e 12. A Figura 4.20 apresenta a relação da mobilidade do FEO em função do pH da solução tampão. Em todos os casos a direção do FEO foi catódica e o comportamento crescente da curva sugere que o aumento do pH ocasiona o

aumento na densidade de cargas negativas na superfície dos dispositivos. Cada ponto apresentado no gráfico representa a média de três determinações.

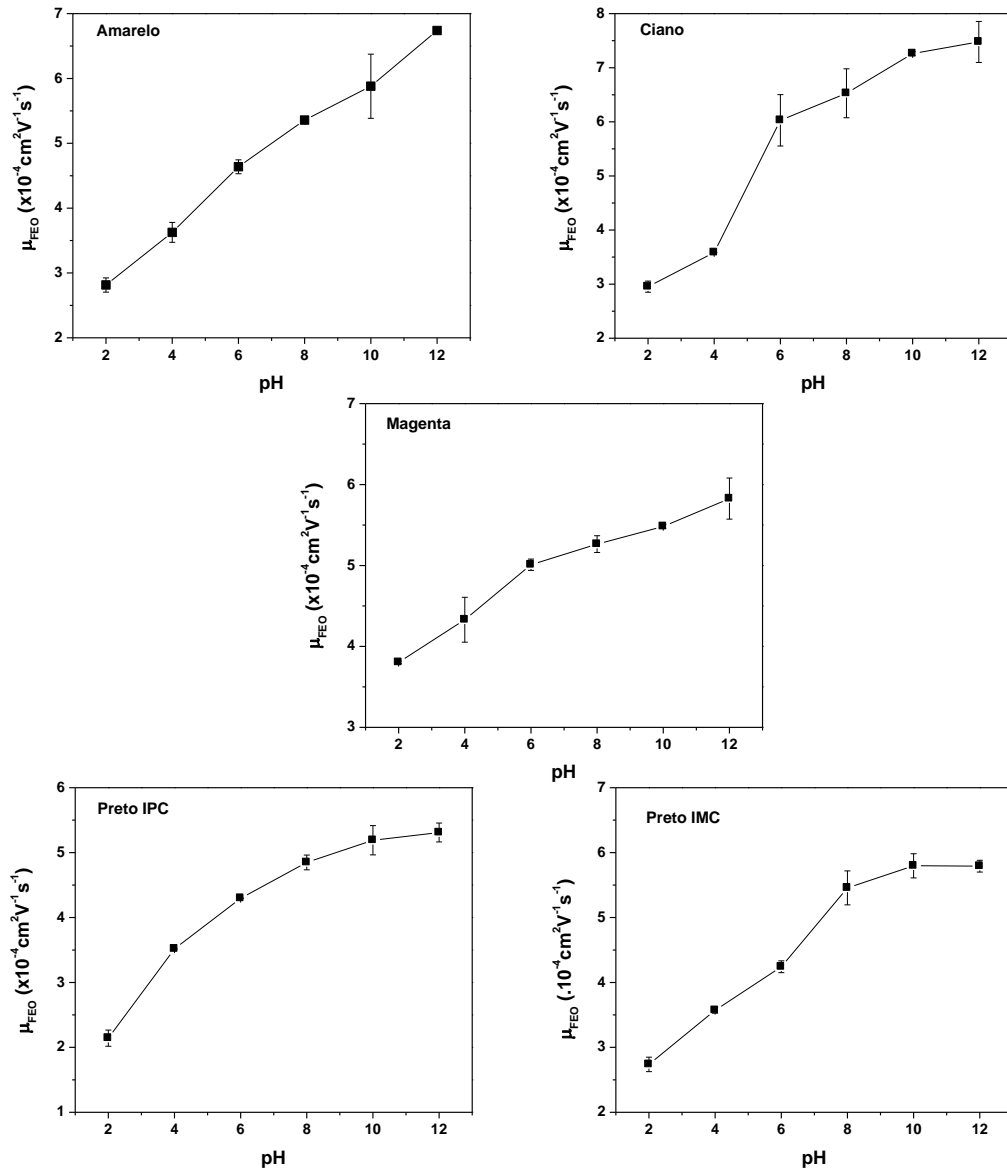


Figura 4.20 Efeito do pH sobre a mobilidade do FEO determinado utilizando o método do monitoramento de corrente com soluções tampão fosfato com pH variando entre 2 e 12. A determinação foi realizada nos dispositivos amarelo, ciano, magenta, preto (IPC) e preto (IMC), n = 3.

Em todos os dispositivos avaliados não foi possível notar uma curva sigmoïdal bem definida, característicos de substratos no qual o FEO é governado por sílica presentes nas estruturas microfluídicas. Através deste resultado, pode-se concluir que além da sílica presente neste material, existe algum constituinte que contribui também para a presença de cargas negativas, no interior do microcanal.

4.2.7. Desempenho Analítico

Os MSE de PT fabricados nas duas impressoras foram avaliados em experimentos eletroforéticos com C⁴D. Todos os experimentos foram conduzidos sob as mesmas condições de tampão, pH, campo elétrico e tempo de injeção. Uma mistura de cátions inorgânicos de K⁺, Na⁺ e Li⁺ na concentração de 1 mmolL⁻¹ (cada) foi utilizado como mistura modelo. Os dispositivos foram fabricados na configuração de duplo-T com *gap* de 200 µm, comprimento total de 5 cm e efetivo de 4,3 cm. Devido ao efeito do processo de impressão sobre a largura do canal, os chips coloridos foram definidos, nominalmente com larguras de 250 µm de largura, para obter uma dimensão real de aproximadamente 200 µm. Para C⁴D, fitas de cobre foram fixados sobre os dispositivos na configuração de 1 mm de largura, 2 cm de comprimento e *gap* de detecção (distância entre os eletrodos) de 1 mm. A detecção foi realizada pela aplicação de sinal senoidal de 400 kHz de frequência e 8 V_{pico-a-pico} de amplitude. Figura 4.21 apresenta esquema do microchip acoplado aos eletrodos C⁴D.

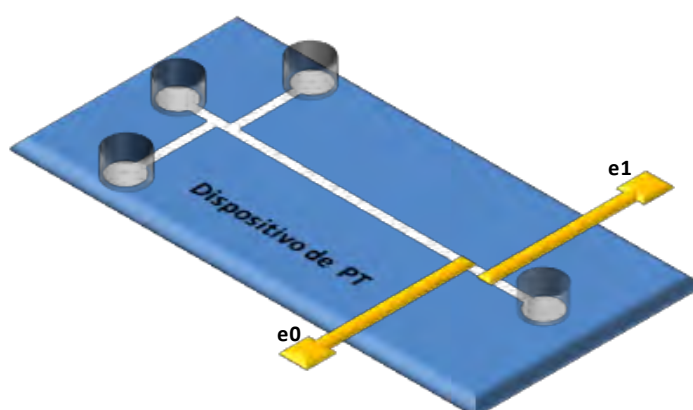


Figura 4.21 Representação microchip colorido de PT. Os pontos e0 e e1 representam os eletrodos de fita adesiva de cobre para as medidas de condutividade.

A Figura 4.22 apresenta exemplos de eletroferogramas obtidos para cada dispositivo.

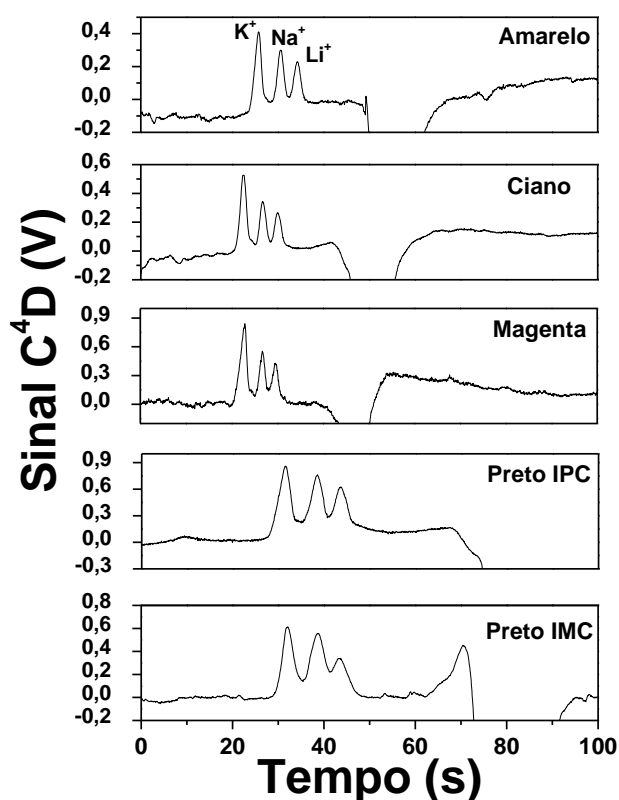


Figura 4.22 Exemplos de eletroferogramas obtidos nos dispositivos PT fabricados na IPC e IMC sob as mesmas condições de análise. O controle eletrocínético foi realizado pela aplicação de 1,0 kV no reservatório de amostra e no reservatório do tampão enquanto os reservatórios de descarte de amostra e tampão foram mantidos constantes. Tempo de injeção de 10 s. A solução tampão utilizada foi de MES/ His 20 mmol L⁻¹, pH 6,1.

Pode-se observar na Figura 4.22, que a separação nos dispositivos amarelo, ciano e magenta foram obtida em um intervalo de tempo menor que nos chips preto da IPC e IMC. Essa diferença no tempo de migração pode ser explicada pela diferença de magnitude do FEO encontrada nos diferentes dispositivos, que por sua vez é dependente da composição química da estrutura microfluídica (toner e filme de poliéster). Como exposto anteriormente (item 4.2.1) existe diferença na composição química no toner da IPC em relação ao da IMC. E essa diferença explica a variação do FEO e conseqüentemente a variação no tempo de migração das espécies.

Ao se comparar os eletroferogramas mostrados na Figura 4.22, pode-se observar que o dispositivo impresso na IMC foi o que apresentou uma separação eletroforética com a pior resolução ($R < 1$). Como exposto anteriormente, estes dispositivos (IMC) só apresentaram boa separação quando alguns parâmetros foram alterados (adição de solvente orgânico a solução tampão). Além da resolução, observou-se também que os dispositivos impressos na IMC exibiram a pior eficiência de separação.

O desempenho (eficiência e FEO) da separação eletroforética realizada nos MSE fabricados com as duas impressoras está comparado na Tabela 5.

As melhores eficiências de separação foram encontradas para os dispositivos impressos na IPC. A eficiência é um parâmetro que pode ser afetado pela magnitude do FEO, processo de introdução da amostra, geometria do canal e interação do analito com a parede da estrutura microfluídica.

Tabela 5. Comparação da eficiência de separação e magnitude do FEO obtido para os dispositivos fabricados com as impressoras IMC e IPC.

Dispositivo	Eficiência (pratos/m)			FEO ($\times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
	K ⁺	Na ⁺	Li ⁺	
Amarelo	15.000	34.000	40.000	4,1
Ciano	17.000	48.000	46.000	4,5
Magenta	14.000	46.000	49.000	4,8
Preto IPC	10.000	22.000	36.000	3,7
Preto IMC	7.000	9.500	10.000	2,9

A geometria do canal ou uniformidade do canal é um dos parâmetros que mais influenciam no desempenho analítico nos MSE. O formato dos canais de PT é definido pela resolução da impressora laser, que produz canais irregulares e rugosos. Como discutido nos itens 4.2.3 e 4.2.4, os dispositivos da IMC apresentam canais mais profundos (7,7 μm) e com elevado nível de rugosidade (1,6 μm). Além disso, os canais microfluídicos apresentam partículas de toner no interior do microcanal, que servem de barreira e contribui para piora na eficiência em uma separação eletroforética. Por outro lado, os MSE de toner colorido apresentaram canais com menor profundidade (4,7 μm) e nível de irregularidade na superfície da camada de toner (0,24 μm).

As contribuições para variância total (σ^2_{total}) obtidas nos dispositivos microfluídicos auxiliaram determinar precisamente os fatores que afetam negativamente a eficiência de separação. A σ^2_{total} pode ser dividida em várias porções que são correspondentes às etapas do processo

eletroforético, e que por serem independentes, podem ser determinadas separadamente. Deste modo, existe uma variância atribuída à injeção da amostra (σ^2_{inj}), à difusão longitudinal (σ^2_{dif}), à geometria do detector (σ^2_{det}), à eletrodispersão das zonas de amostra (σ^2_{ele}), ao aquecimento provocado pelo efeito Joule (σ^2_J) e à interação do analito com a parede do canal (σ^2_{wall}). As somas destes fatores resultam na variância total, que pode ser representada a partir da equação 8.

$$\sigma^2_{total} = \sigma^2_{inj} + \sigma^2_{dif} + \sigma^2_{det} + \sigma^2_{ele} + \sigma^2_{wall} + \sigma^2_J \quad \text{(Equação 8)}$$

No desenvolvimento deste trabalho todos os parâmetros experimentais foram mantidos constantes, exceto a plataforma microfluídica (dispositivo de PT das IMC e IPC). Por isso as contribuições em relação a σ^2_{inj} , σ^2_{dif} , σ^2_{det} e σ^2_{ele} para a variância total são mantidas constantes. Além disso, a contribuição do parâmetro σ^2_J pode ser desprezada, uma vez que os dois dispositivos apresentaram dissipação de calor eficiente no valor de campo elétrico utilizado (200 V cm^{-1}). Portanto, qualquer variação recorrente na σ^2_{total} está diretamente relacionada à interação do analito com a parede do canal (σ^2_{wall}).

A relação entre a σ^2_{total} e σ^2_{wall} permite conhecer qual a contribuição da estrutura microfluídica para a perda da eficiência ou alargamento do sinal nos dispositivos de PT. Coltro *et al.* (2008c) descreveram que o efeito interação analito/parede é o parâmetro que mais contribuiu para a perda de eficiência analítica (cerca de 90%). Esta mesma conclusão foi obtida por Duarte *et al.* (2012). Desde modo, este fator também foi avaliado nos microchips fabricados com o toner pigmentado, a

fim de entender qual é a contribuição da σ^2_{wall} na separação eletroforética e compará-lo aos dispositivos da IMC.

Os fatores σ^2_{inj} , σ^2_{dif} e σ^2_{det} apesar de serem mantidos constantes, são parâmetros que podem ser determinados. A contribuição da injeção (σ^2_{inj}), por exemplo, foi calculada a partir da relação $\sigma^2_{inj} = l^2_{inj}/12$. Considerando um valor de 550 μm (comprimento do *plug* de injeção), a contribuição da injeção para os dispositivos da IPC foi de $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$. Já o valor referente à contribuição a cela de detecção para os dois microchips foi de $8,3 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$, valor este, estimado a partir de $\sigma^2_{det} = gap^2_{det}/12$ (onde o *gap* é distância entre os eletrodos do sistema de detecção). A contribuição do fator difusão longitudinal é calculada por $\sigma^2_{dif} = 2D_i \times t_m$, onde D_i e t_m representam o coeficiente de difusão e o tempo de migração de cada espécie analisada, respectivamente. Para o íon inorgânico K^+ , o D_i é de $19,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, considerando o tempo de migração igual a 22,40 s, o valor de σ^2_{dif} é de $8,78 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$. Vale lembrar que o valor considerado ao *plug* de injeção foi baseado em valores experimentais, no entanto quando calculado através das dimensões dos microcanais ($l_{\text{Gap}} \times w_{\text{canal}} \times h_{\text{canal}}$) não foi observado uma variação significativa no cálculo da variância relacionada à interação do analito com a parede do canal (σ^2_{wall}).

A variância total é obtida através da largura na base do pico. O valor de largura do pico é obtido em unidade de tempo (s), através da medida de velocidade foi possível obter este mesmo valor em unidade de comprimento (cm). Assim, para o íon K^+ , o valor encontrado para σ^2_{total} foi de $0,38 \text{ cm}^2$. Diante de todos os outros fatores pré-estabelecidos, a variância relacionada

à interação do analito com a parede do canal foi determinada. Encontrou-se que o parâmetro σ^2_{wall} contribui em aproximadamente 95% para perda total de eficiência nos chips de PT fabricados com toner pigmentado.

Com este resultado foi possível notar que apesar do uso de chip colorido melhorar alguns parâmetros eletroforéticos (melhor estabilidade em função do tempo e melhor repetibilidade) existem alguns fatores que são intrínsecos ao material que ainda não foram avaliadas sistematicamente. Um estudo de melhoria ou modificação de superfície seria o ideal para minimizar os efeitos provocados por essa estrutura microfluídica.

Vale ressaltar que todos os cálculos anteriormente discutidos foram realizados para todos os dispositivos coloridos (amarelo, ciano, magenta e preto). No entanto, os valores encontrados foram muito semelhantes, não estando, portanto, aqui demonstrados.

4.2.7.1. Dispositivo Amarelo

Os dispositivos impressos na cor amarela apresentou boa repetibilidade durante 10 injeções consecutivas. A Figura 4.23 apresenta os eletroferogramas de separações sequenciais dos cátions inorgânicos. Todos os cátions foram separados em menos de 40 s com excelente repetibilidade corrida-a-corrída. Os valores dos tempos de migração para K^+ , Na^+ e Li^+ foram 25 ± 1 s, 30 ± 1 s e 34 ± 1 s, respectivamente. Os valores de DPR para altura do pico dos íons K^+ , Na^+ e Li^+ foram de aproximadamente 11%, 8% e 12%, respectivamente. A diferença do DPR para as espécies pode ser relacionada aos efeitos eletrocínéticos envolvidos ao durante o processo de introdução de amostra.

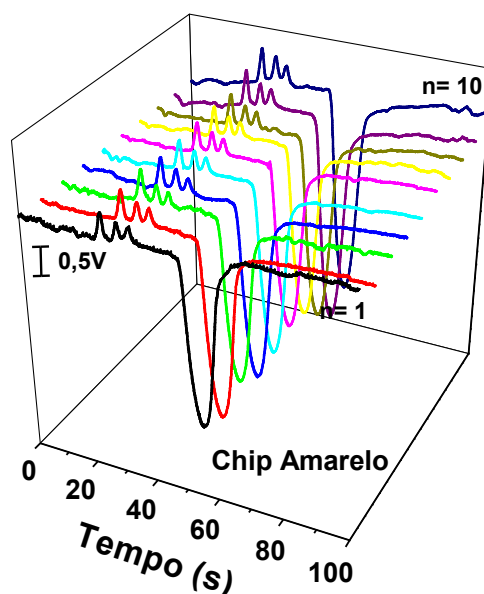


Figura 4.23 Eletroferogramas apresentando a repetibilidade analítica do chip amarelo em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.

4.2.7.2. Dispositivo Ciano

Assim como o dispositivo de cor amarela, o microchip ciano também exibiu um excelente desempenho analítico, na comparação da repetibilidade entre injeções consecutivas. A Figura 4.24 apresenta uma sequência de eletroferogramas com dez injeções consecutivas.

Para uma comparação *intra-chip*, os valores de DPR's em termos de tempo de migração e altura do pico variaram de aproximadamente 1% e 10%, respectivamente, para todos os cátions inorgânicos analisados. A eficiência encontrada para K^+ , Na^+ e Li^+ foram de 17.000 ± 2.000 , 31.000 ± 4.600 e 40.000 ± 4.000 pratos/m, respectivamente. A magnitude do FEO foi $4,5 \pm 0,1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$.

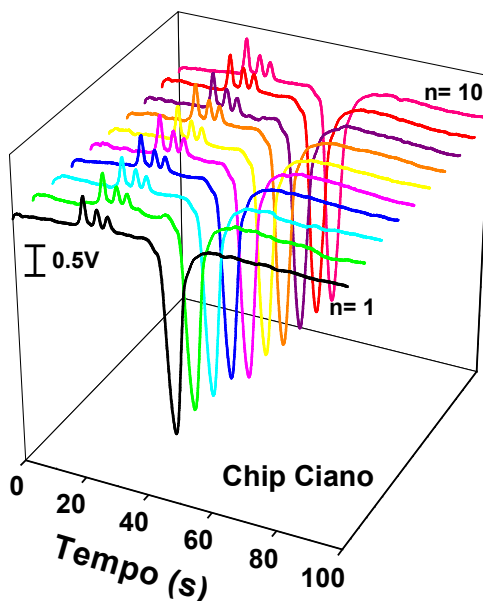


Figura 4.24 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip ciano em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.

4.2.7.3. Dispositivo Magenta

O dispositivo magenta também apresentou uma boa repetibilidade durante as dez injeções sequenciais (Figura 4.25). Os tempos de migração de K^+ , Na^+ e Li^+ foram de 22 ± 1 s, 27 ± 1 s e 29 ± 1 s, respectivamente com o valor de DPR em torno de 1% para todos os cátions. O tempo de migração das espécies apresentou DPR em torno de 10% quando comparados ao tempo de migração das espécies encontrado no dispositivo amarelo. A variação no tempo de migração é atribuída à diferença na magnitude do FEO entre os dois dispositivos (magenta e ciano), sendo que o microchip magenta apresentou fluxo em torno de 17% maior.

A eficiência de separação encontrada foi de 14.800 ± 1.700 , 36.000 ± 2.000 e 52.700 ± 6.600 pratos/m, para os íons K^+ , Na^+ e Li^+ , respectivamente.

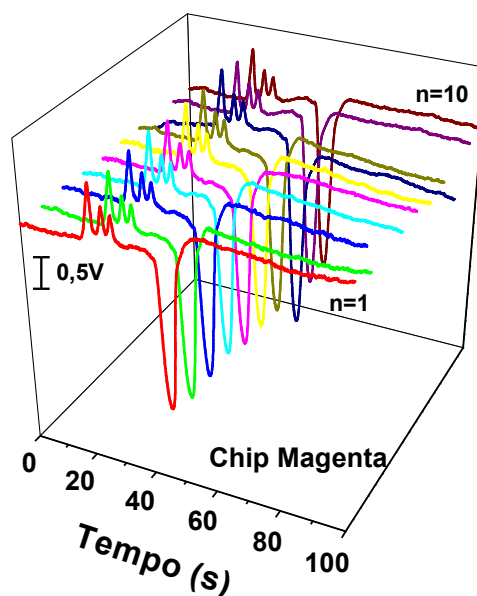


Figura 4.25 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip magenta em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.

4.2.7.4. Dispositivo preto (IPC)

Entre os dispositivos coloridos, o chip preto foi o que apresentou o pior desempenho analítico. O FEO apresentou instabilidade ao decorrer de dez injeções sequências, passando a ser estável a partir da sétima corrida (Figura 4.26). Os valores dos tempos de migração para K^+ , Na^+ e Li^+ foram 28 ± 2 s, 33 ± 3 s e 35 ± 2 s, respectivamente. Os valores de DPR foram os maiores encontrados, de aproximadamente 10%. As eficiências de separação para a mesma sequência de cátions foram de 9.400 ± 1.500 , 18.700 ± 3.800 e 33.000 ± 5.500 pratos/m. Os valores de resolução entre os picos K^+ e Na^+ e Na^+ e Li^+ foram de 1,1 e 0,94. A magnitude do FEO foi $3,7 \pm 0,7 \times 10^{-4} \text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$ com DPR 19%. Este FEO foi o menor entre todos os dispositivos a base de toner pigmentado (aproximadamente 23% menor que o FEO obtido no dispositivo magenta).

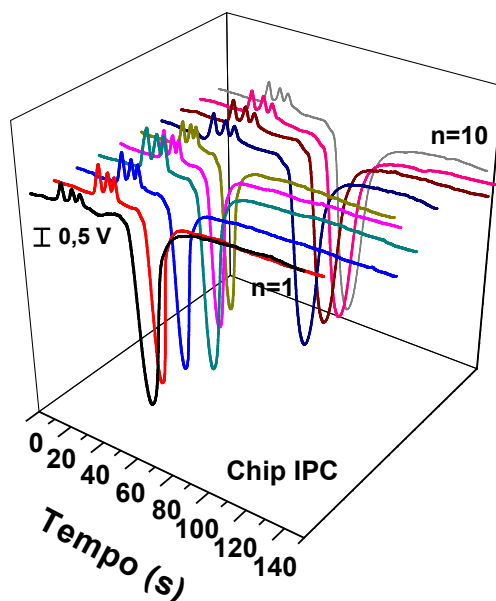


Figura 4.26 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip preto (IPC) em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.

4.2.7.5. Dispositivo preto (IMC)

A repetibilidade de injeções sequenciais também foi investigada nos dispositivos de PT fabricados com a IMC. As mesmas condições eletroforéticas foram testadas nessa plataforma. Os eletroferogramas obtidos estão apresentados na Figura 4.27.

Essa plataforma, quando comparada aos dispositivos de toner pigmentado, foi a que apresentou o pior desempenho analítico nas condições empregadas. Além disso, os dispositivos IMC apresentaram os maiores tempo de migração para K^+ , Na^+ e Li^+ , que foram de 27 ± 3 s, 34 ± 4 s e 38 ± 4 s, respectivamente. Essa diferença pode ser atribuída ao FEO encontrada nessa plataforma ($3,5 \pm 0,4 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$). A menor magnitude do FEO também afetou a resolução da separação entre os analitos. Para todas as medias o valor de resolução foi menor que 1.

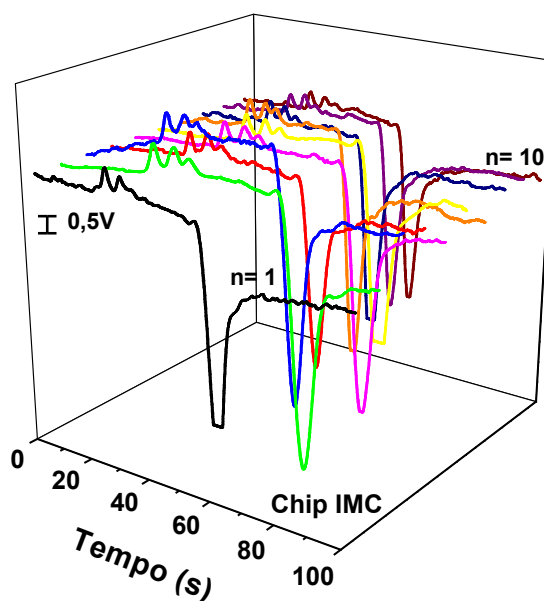


Figura 4.27 Eletroferograma apresentando a repetibilidade analítica do chip preto (IMC) em dez injeções sequenciais. Condições experimentais: ver Figura 4.22.

A eficiência de separação também foi a menor encontrada de 8.600 ± 1.000 , 15.600 ± 2.000 e 21.200 ± 4.300 pratos/m. Esses baixos valores de eficiência podem ser explicados pelas propriedades discutidas anteriormente, como rugosidade e uniformidade da superfície, as quais contribuem para o alargamento do pico.

Apesar desses resultados ruins, essa plataforma de baixo custo pode ser facilmente melhorada, pela adição de aditivos ao tampão utilizado na separação eletroforética, conforme discutido anteriormente.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5. Conclusões

As conclusões obtidas sobre este trabalho podem ser separadas de acordo com cada caso. De modo geral, observou-se que os MSE de PT podem ter seu desempenho analítico melhorado e comparável com os substratos mais popularmente utilizados, como vidro e PDMS. Na primeira parte do trabalho foi apresentado que as melhorias obtidas no toner convencional são atribuídas à quantidade de grupos silanóis na superfície do poliéster. Os dados encontrados mostraram que o filme de transparência é o principal responsável pela geração FEO e estabilidade ao longo do tempo neste tipo de estrutura microfluídica. Além da composição do substrato, mostrou-se que as dimensões dos microcanais afetam a estabilidade e magnitude do FEO. Canais que apresentaram menor proporção de toner em sua composição, ou seja, canais mais largos e de menor profundidade apresentaram maior magnitude do FEO.

Outro fator avaliado foi à influência do solvente orgânico adicionado a solução tampão. Após a adição do MeOH ao tampão de corrida obteve-se valores de eficiências de até 50.000 pratos/m. Estes valores são em torno de três vezes maior que o valores anteriormente descritos em trabalhos que utilizaram os dispositivos de PT. Além disso, a presença do solvente orgânico assegurou a resolução de linha de base na separação dos cátions inorgânicos sobre os canais de impressos com 200 μm de largura.

A geometria do canal de injeção também afetou o desempenho analítico dos dispositivos de PT. Dentre as três configurações analisadas, o formato CD foi o que forneceu o volume de amostra ideal para realizar separações com boa eficiência e resolução.

Os dispositivos de PT, quando impressos, são definidos com uma diferença de até 20% entre a largura real e a largura nominal (definida no *software*).

Além desses efeitos, mostrou-se neste trabalho que os MSE de PT pode ser utilizado por cerca de três dias consecutivos no qual o parâmetro eletroforético mais afetado foi à magnitude do FEO, que apresentou valor de RSD de aproximadamente 56%.

Diante de todas as melhorias obtidas nos dispositivos de PT da impressora monocromática, foi possível pela primeira vez realizar a detecção de cátions inorgânicos em amostra de uma bebida energética e uma mistura de medicamentos (diclofenaco de sódio e potássio e carbolitium[®]).

Esta parte do trabalho já está aceita para publicação na edição especial da *Electrophoresis* sobre instrumentação para microfluídica e CE/CEC em capilar e chip, com publicação prevista para Agosto/2012.

A etapa do trabalho que compara e avalia as principais diferenças entre uma impressora monocromática e colorida para fabricação dos MSE de PT, pode-se observar que as duas impressoras apresentaram diferenças quanto à composição química do toner. Além disso, a IPC apresentou diferença quanto o processo de impressão, produzindo canais mais estreitos, de menor profundidade e uma superfície de toner com menor rugosidade. Todos esses fatores foram importantes para a obtenção das melhorias no desempenho analítico de cada microdispositivo.

O dispositivo preto da IMC foi o que apresentou a menor capacidade de dissipação de calor provocado pelo efeito Joule. Quanto a influência do pH na variação do FEO, foi observado que nenhum dispositivo apresentou

curva sigmoidal bem definida. No entanto as curvas crescentes sugerem que o aumento do pH ocasiona o aumento na densidade de cargas negativas na superfície dos dispositivos.

Para a separação dos cátions inorgânicos, as melhores eficiências foram obtidas para os dispositivos amarelo, ciano e magenta. Por outro lado, o dispositivo preto da IMC foi o que apresentou o pior desempenho analítico. Esses resultados demonstraram que os efeitos como geometria e uniformidade do canal bem como a rugosidade da superfície da camada de toner foram os fatores que contribuíram para o melhor desempenho dos dispositivos a base de toner pigmentado.

Ainda no contexto de desempenho analítico, foi observado que todos os MSE de PT colorido apresentaram excelente repetibilidade ao longo de dez injeções consecutivas. Sendo que, também, neste parâmetro o dispositivo de toner convencional não apresentou estabilidade durante as injeções nas condições utilizadas. No entanto, como discutido na primeira parte deste trabalho, este microchip pode ter o seu desempenho melhorado através da alteração de alguns fatores, como por exemplo, adição de um aditivo orgânico ao tampão de corrida.

Uma crítica contundente que pode ser levantada após o desenvolvimento deste trabalho está relacionada ao processo de fabricação dos microdispositivos. Foi mencionado que a mudança dos consumíveis (folha de transparência e cartucho de toner) afeta diretamente o desempenho analítico dos microssistemas fabricados nessa plataforma descartável. Além disso, o tipo e modelo de impressora também afeta o processo de impressão. Durante testes realizados em diferentes

impressoras (marcas e modelos diferentes) observou-se que a aderência e a espessura da camada de toner depositada sobre o filme de transparência são significativamente alteradas. Deste modo, o ideal seria que fossem desenvolvidos materiais destinados somente para a produção destes microchips, evitando alteração no desempenho analítico entre os dispositivos. Isso permitiria que resultados semelhantes fossem obtidos com qualquer impressora laser destinada para esta finalidade.

6. Perspectivas

A excelente repetibilidade analítica bem como todas as melhorias encontradas nos MSE de PT fabricados com o toner permite a idealização de novas perspectivas nesta plataforma microfluídica. Além disso, o bom desempenho analítico na análise de amostras reais permitirá estudos que viabilizem seu uso para uma análise quantitativa até mesmo para validação de uma metodologia analítica.

Entretanto, pode-se perceber que existe muito a ser feito para melhorar ainda mais esta plataforma microfluídica. Um novo desafio está voltado o uso da injeção hidrodinâmica, a qual irá minimizar os efeitos indesejados provocados pela injeção eletrocinética, que dentre eles destaca-se a injeção discriminada de amostra.

Outro trabalho possível para os MSE de PT seria um estudo sistemático quanto à modificação química da superfície a fim de melhorar ainda mais o seu desempenho eletroforético. Outra vertente de utilização do chip de PT seria o seu desenvolvimento para realizar outros métodos eletroforéticos como a focalização isoelétrica (IEF) e cromatografia eletrocinética micelar (MECK).

Além disso, esta tecnologia de baixo custo poderá ser utilizada como uma ferramenta de alta confiabilidade para análise e separação de amostras mais complexas, como compostos biológicos, quando acoplados a métodos de detecção com melhores níveis de detectabilidade como FIL e EM, por exemplo.

Uma nova aplicação dos dispositivos de PT esta voltada para área de ensaios bioanalíticos. Um exemplo de utilização seria seu desenvolvimento para detecção de doenças tropicais, como dengue e chagas. Neste campo, já existem dois trabalhos sendo realizados dentro do grupo de métodos eletroforéticos (GME) do IQ/UFG.

REFERÊNCIAS

7. Referências Bibliográficas

- ALARIE, J.P.; JACOBSON, J.C.; RAMSEY, J.M. Electrophoretic injection bias in a microchip valving scheme. *Electrophoresis*, v.22, n.2, p. 312-217, 2001.
- ARORA, A.; SIMONE, G.; SALIEB-BEUGELAAR, G.B.; KIM, J.T., MANZ, A. Latest developments in micro total analysis systems. *Analytical Chemistry*, v.82, n.12, p.4830-4847, 2010.
- AUROUX, P.; IOSSIFIDIS, D.; REYES, D.R.; MANZ, A. A micro total analysis systems 2: Analytical standard operations and applications. *Analytical Chemistry*, v.74, n.3, p.2637-2652, 2002.
- BACKOFEN, U.; MATYSIK, F-M.; LUNTE, C.E. A chip-based electrophoresis systems with electrochemical detection and hydrodynamic injection. *Analytical Chemistry*, v.74, n.16, p.4054-4059, 2002.
- BAKER, D. *Capillary Electrophoresis*. New York: John Wiley, 244 p, 1995.
- BECKER, H.; GARTNER, C. Polymer microfabrication technologies for microfluidic systems. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.390, n.1, p.89-111, 2008.
- BILITEWSKI, U.; GENRICH, M.; KADOW, S.; MERSAL, G. Biochemical analysis with microfluidic devices. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, v.377, n.3, p.556-569, 2003.
- BRANDOLINI, A.J.; HILLS, D.D. *NMR spectra of polymers and polymer additives*. New York, Marcel Dekker Inc., 2000.
- BRITO-NETO, J.G.A.; DA SILVA, J.A.F.; BLANES, L.; DO LAGO, C.L. Understanding capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary and microchip electrophoresis. Part 1: Fundamentals. *Electroanalysis*, v.17, n.13, p.1198-1206, 2005a.
- BRITO-NETO, J.G.A.; DA SILVA, J.A.F.; BLANES, L.; DO LAGO, C.L. Understanding capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary and microchip electrophoresis. Part 2: Peak shape, stray capacitance, noise, and actual electronics. *Electroanalysis*, v.17, n.13, p.1207-1214, 2005b.
- CARRILHO, E.; MARTINEZ, A.W.; WHITESIDES, G.M.; Understanding wax printing: a simple micropatterning process for paper-based microfluidics. *Analytical Chemistry*, v.81, n.16, p.7091-7095, 2009.
- CARVALHAL, R.F.; KFOURI, M.S.; PIAZETTA, M.H.D.; GOBBI, A.L.; KUBOTA, L.T. Electrochemical detection in a paper-based separation device. *Analytical Chemistry*, v.82, n.3, p.1162-1165, 2010.
- CASTAÑO-ÁLVAREZ, M.; FERNÁNDEZ-ABEDUL, M.T.; COSTA-GARCÍA, A. Poly(methylmethacrylate) and Topas capillary electrophoresis microchip performance with electrochemical detection. *Electrophoresis*, v.26, n.16, p.3160-3168, 2005.

CHEN, Y.; ZHANG, L.; CHEN, G. Fabrication, modification, and application of poly(methylmethacrylate) microfluidic chips. *Electrophoresis*, v.29, n.9, p.1801-1814, 2008.

CHEN, Z.; ZHANG, L.; CHEN, G. A spring-driven press device for hot embossing and thermal bonding of PMMA microfluidic chips. *Electrophoresis*, v.31, n.15, p.2512-2519, 2010.

CHENG, C.M.; MARTINEZ, A.W.; GONG, J.L.; MACE, C. R.; PHILLIPS, S.T.; CARRILHO, E.; MIRICA, K. A.; WHITESIDES, G.M. Paper-based ELISA. *Angewandte chemie-international edition*, v.49, n.28, p.4771-4774, 2010.

COLTRO, Wendell Karlos Tomazelli. Fabricação e avaliação de microdispositivos para eletroforese com detecção eletroquímica. 2004. 125p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

COLTRO, W.K.T.; DA SILVA, J.A.F.; DA SILVA, H.D.T.; RICHTER, E.M.; FURLAN, R.; ANGNES, L.; DO LAGO, C.L.; MAZO, L.H.; CARRILHO, E. Electrophoresis microchip fabricated by a direct-printing process with end-channel amperometric detection. *Electrophoresis*, v.25, n.21-22, p.3832-3839, 2004.

COLTRO, W.K.T.; PICCIN, E.; CARRILHO, E.; JESUS, D.P.; DA SILVA, J.A.F.; SILVA, H.D.T.; DO LAGO, C.L. Microssistemas de análises químicas. Introdução, tecnologia de fabricação, instrumentação e aplicações. *Química Nova*, v.30, n.8, p.1986-2000, 2007.

COLTRO, Wendell Karlos Tomazelli. Detecção condutométrica sem contato: uma nova ferramenta para monitoramento de interações biomoleculares em microssistemas analíticos. 2008a. 247p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

COLTRO, W.K.T.; DA SILVA, J.A.F.; CARRILHO, E. Fabrication and integration of planar electrodes for contactless conductivity detection on polyester-toner. *Electrophoresis*, v.29, n.11, p.2260-2265, 2008b.

COLTRO, W.K.T.; LUNTE, S.M.; CARRILHO, E. Comparison of the analytical performance of electrophoresis microchannels fabricated in PDMS, glass, and polyester-toner. *Electrophoresis*, v.29, n.24, p.4928-4937, 2008c.

COLTRO, W.K.T.; DE JESUS, D.P.; DA SILVA, J.A.F.; DO LAGO, C.L.; CARRILHO, E. Toner and paper-based fabrication techniques for microfluidic applications. *Electrophoresis*, v.31, n.15, p.2487-2498, 2010.

COLTRO, W.K.T.; DA SILVA, J.A.F.; CARRILHO, E. Rapid prototyping of polymeric electrophoresis microchips with integrated copper electrodes for contactless conductivity detection. *Analytical Methods*, v.3, n.1, p.168-172, 2011.

COLTRO, W.K.T.; LIMA, R.S.; SEGATO, T.P.; CARRILHO, E.; DE JESUS, D.P.; DO LAGO, C.L.; DA SILVA, J.A.F. Capacitively coupled contactless

conductivity detection on microfluidic systems-ten years of development. *Analytical Methods*, v.4, n.1, p.25-33, 2012.

COSTA, Eric Tavares da. Processo de fabricação de mini e microdispositivos fluídicos por ablação a laser de dióxido de carbono. 2009. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

DA SILVA, R.A.B.; DE ALMEIDA, E.G.N.; RABELO, A.C.; DA SILVA, A.T.C.; FERREIRA, L.F.; RICHTER, E.M. Three electrode electrochemical microfluidic cell: Construction and Characterization. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.20, n.7, p.1235-1241, 2009.

DANIEL, D.; GUTZ, I.G.R. Quick production of gold electrode sets or arrays and of microfluidic flow cells based on heat transfer of laser printer toner masks onto compact discs. *Electrophoresis Communications*, v.5, n.9, p.782-786, 2003.

DANIEL, D.; GUTZ, I.G.R. Microfluidic cells with interdigitated array gold electrodes: Fabrication and electrochemical characterization. *Talanta*, v.68, n.2, p.429-436, 2005.

DANIEL, D.; GUTZ, I.G.R. Microfluidic cell with a TiO₂-modified gold electrode irradiated by an UV-LED for in situ photocatalytic decomposition of organic matter and its potentiality for voltammetric analysis of metal ions. *Electrochemistry Communications*, v.9, n.3, p.522-528, 2007.

DE JESUS, D.P.; BLANES, L.; DO LAGO, C.L. Microchip free-flow electrophoresis on glass substrate using laser-printing toner as structural material. *Electrophoresis*, v.27, n.24, p.4935-4942, 2006.

DITTRICH, P.S.; TACHIKAWA, K.; MANZ, A. Micro total analysis systems. Latest advancements and trends. *Analytical Chemistry*, v.78, n.12, p.3887-3908, 2006.

DO LAGO, C.L.; DA SILVA, H.D.T.; NEVES, C. A.; BRITO-NEVES, J.G.A.; DA SILVA, J.A.F. A dry process for production of microfluidic devices based on the lamination of laser-printed polyester films. *Analytical Chemistry*, v.75, n.15, p.3853-3858, 2003.

DUARTE, Gabriela Rodrigues Mendes. Análises genéticas em sistemas microfabricados. 2010. 158p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

DUARTE, G.R.M.; PRICE, C.W.; AUGUSTINE, B.H.; CARRILO, E.; LANDERS, J.P. Dynamic solid phase DNA extraction and PCR amplification in polyester-toner based microchip. *Analytical Chemistry*, v.83, n.13, p.5182-5189, 2011.

DUARTE, G.R.M.; COLTRO, W.K.T.; BORBA, J.C.; PRICE, C.W.; LANDERS, J.P., CARRILHO, E. Disposable polyester-toner electrophoresis microchips for DNA analysis. *Analyst*, v.137, n.11, p.2692-2698, 2012.

EHRFELD, W. Electrochemistry and microsystems. *Electrochimica Acta*, v.20, n.48, p.2857-2868, 2003.

- ELODIE, S.; COLEMAN, M.; PIETRO, M.; CARLO, D.D. Rapid prototyping polymers for microfluidic devices and high pressure injections. *Lab on a Chip*, v.11, n.22, p.3752-3765, 2011.
- FERCHER, G.; HALLER, A.; SMETANA, W.; VELLEKOOP, M.J. End-to-End differential contactless conductivity sensor for microchip capillary electrophoresis. *Analytical Chemistry*, v.82, n.8, p.3270-3275, 2010.
- FERREIRA, H.E.A.; DANIEL, D.; BERTOTTI, M.; RICHTER, E. M. A novel disposable electrochemical microcell: construction and characterization. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.19, n.8, p.1538-1545, 2008.
- FONSECA, A.; RAIMUNDO, I.M.; FERRERIRA, L.O.S.; ROHWEDDER, J.J.R. Construction and evaluation of a flow injection micro-analyser based on urethane-acrylate resin. *Analytical Chimica Acta*, v.603, n.2, p.159-166, 2007.
- FONSECA, A.; RAIMUNDO, I.M.; ROHWEDDER, J.J.R.; LIMA, R.S.; ARAÚJO, M.C.U. A microfluidic device with integrated fluorimetric detection for flow injection analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 396, n.2, p.715-723, 2010.
- FU, L.M.; YANG, R.J.; LEE, G.B.; LIU, H.H. Electrokinetic injection techniques in microfluidic chips. *Analytical Chemistry*, v.74, n.19, p.5084-5091, 2002.
- GAWRON, A.J.; MARTIN, S.; LUNTE, S.M. Microchip electrophoretic separation systems for biomedical and pharmaceutical analysis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.14, n.1-12, 2001.
- GIMENES, D.T.; DE FREITAS, J.M.; MUNOZ, R.A.A.; RICHTER, E.M. Flow-injection amperometric method for determination of diclofenac in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, v.23, n.11, p.2521-2525, 2011.
- GREENWOOD, P.A.; GREENWAY, G.M.; Sample manipulation in micro total analysis systems. *Trends in Analytical Chemistry*, v.21, n.11, p.726-740, 2002.
- GUIJT, R.M.; BALTUSSEN, E.; VAN DER STEEN, G.; FRANK, H.; BILLIET, H.; SCHALKHAMMER, H.; LAUGERE, F.; VELLEKOOP, M.; BERTHOLD, A.; SARRO, L.; VAN DEDEM, G.W.K. Capillary electrophoresis with on-chip four-electrode capacitively coupled conductivity detection for application in bioanalysis. *Electrophoresis*, v.22, n.12, p.2537-2541, 2001.
- HE, F.Y.; LIU, A.L.; YUAN, J.H.; COLTRO, W.K.T.; CARRILHO, E. Electrokinetic control of fluid in plastified laser-printed poly(ethylene terephthalate)-toner microchips. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.382, n.1, p.192-197, 2005.
- HUAG, X.; GORDON, M.J.; ZARE, R.N. Current-monitoring method for measuring the electroosmotic flow rate in capillary zone electrophoresis. *Analytical Chemistry*, v.60, n.17, p.1837-1838, 1988.
- IBANEZ-GARCIA, N.; MERCADER, M.B.; ROCHA, Z.N.; SEABRA, A.C.; GÓNGORA-RUBIO, M.R.; CHAMRRO, J.A. Continuous flow analytical

Microsystems based on low-temperature co-fired ceramic technology. Integrated potentiometric detection based on solvent polymeric ion-selective electrodes. *Analytical Chemistry*, v. 78, n.9, p.2985-2992, 2006.

IMHOF, A. Preparation and characterization of titania-coated polystyrene spheres and hollow titania shells. *Langmuir*, v.17, n.12, p.3679-3585, 2001.

JACOBSON, S.C.; RAMSEY, J.M. Microchip electrophoresis with sample stacking. *Electrophoresis*, v.16, n.4, p.481-486, 1995.

KUBÁŇ, P.; HAUSER, P.C. A review of the recent achievements in capacitively coupled contactless conductivity detection. *Analytical Chimica Acta*, v.607, n.1, p.15-29, 2008.

KUBÁŇ, P.; HAUSER, P.C. Capacitively coupled contactless conductivity detection for microseparation techniques-recent developments. *Electrophoresis*, v.32, n.1, p.30-42, 2011.

LIMA, Renato Sousa. Biossensor condutométrico sem contato em microchip contendo ácido fólico como biorreceptor. 2010. 139p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

LIU, A. L.; HE, F. Y.; HU, Y. L.; XIA, X. H. Plastified poly(ethylene terephthalate) (PET)-toner microfluidic chip by direct-printing integrated with electrochemical detection for pharmaceutical analysis. *Talanta*, v.68, n.4, p.1303–1308, 2006a.

LIU, A. L.; ZHOU, T.; HE, F. Y.; XU, J. J., LU, Y.; CHEN, H. Y.; XIA, X. H. Off-line form of the Michaelis–Menten equation for studying the reaction kinetics in a polymer microchip integrated with enzyme microreactor. *Lab on a Chip*, v.6, n.6, p.811-818, 2006b.

LU, Y., HU, Y. L., XIA, X. H. Effect of surface microstructures on the separation efficiency of neurotransmitters on a direct-printed capillary electrophoresis microchip. *Talanta*, v.79, n.5, p.1270-1275, 2009.

MAHABADI, K.A.; RODRIGUEZ, I.; LIM, C.Y.; MAURYA, D.K.; HAUSER, P.C.; DE ROOIJ, N.F. Capacitively coupled contactless conductivity detection with dual top-bottom cell configuration for microchip electrophoresis. *Electrophoresis*, v.31, n.6, p.1063-1070, 2010.

MANZ, A.; GRABER, N.; WIDMER, H. M.; Miniaturized total chemical-analysis systems – a novel concept for chemical sensing. *Sensors and Actuators B*, v.1, n.1, p.244-248, 1990.

MANZ, A.; MIYAHARA, Y.; MIURA, J.; WATANABE, Y.; MIYAGI, H.; SATO, K. Design of an open-tubular column liquid chromatography using silicone chip technology. *Sensors Actuators B*, v.1, n.1, p.249-255, 1990.

MANZ, A.; EIJKEL, J.C.T. Miniaturization and chip technology. What can we expect?, *Pure Appl. Chem*, v.73, n.10, p.1555-1561, 2001.

MARTINEZ, A.W.; PHILLIPS, S.T.; WHITESIDES, G.M.; CARRILHO, E. Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices. *Analytical Chemistry*, v.82, n.1, p.3-10, 2010a.

MARTINEZ, A.W.; PHILLIPS, S.T.; NIE, Z.H.; CHENG, C.M.; CARRILHO, E.; WILEY, B.J.; WHITESIDES, G.M. Programmable diagnostic devices made from paper and tape. *Lab on chip*, v.10, n.19, p.2499-2504, 2010b.

MCCREEDY, T. Fabrication techniques and materials commonly used for the production of microreactors and micro total analytical systems. *Trends in Analytical Chemistry*, v.19, n.6, p.396-401, 2000.

MCDONALD, J.C.; DUFFY, D.C.; ANDERSON, J.R.; CHIU, D.T.; WHITESIDES, G.M. Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis*, v.21, n.1, p.27-40, 2000.

MCDONALD, J.C.; WHITESIDES, G.M. Poly(dimethylsiloxane) as material for fabricating microfluidic devices. *Accounts of Chemical Research*, v.35, n.7, p.491-499, 2002.

MOURZINA, Y.; STEFFEN, A.; KALYAGIN, D.; CARIUS, R.; OFFENHAUSSER, A. Capillary zone electrophoresis of amino acids on a hybrid poly(dimethylsiloxane)-glass chip. *Electrophoresis*, v.26, n.9, p.1849-1860, 2005.

NEVES, Carlos Antonio Neves. Desenvolvimento de instrumentação para eletroforese capilar de zona e isotacoforese capilar em microdispositivos de toner-poliéster. 2005. 157p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo.

PICCIN, E.; COLTRO, W.K.T.; DA SILVA, J.A.F.; CLARO-NETO, S.; CARRILHO, E. Polyurethane from biosource as a new material for fabrication of microfluidic devices by rapid prototyping. *Journal of Chromatography A*, v.1173, n.1-2, p.151-158, 2007.

PORRAS, P.S.; REIKKOLA, M-L., KENNELER, E. Capillary zone electrophoresis of basic analytes in methanol as non-aqueous solvent: mobility and ionization constant. *Journal of Chromatography A*. v.905, n.1-2, p.259-268, 2001.

PORRAS, P.S.; REIKKOLA, M-L., KENNELER, E. The principles of migration and dispersion in capillary zone electrophoresis in nonaqueous solvents. *Electrophoresis*, v.24, n.10, p.1485-1498, 2003.

RAMSEY, R.S.; RAMSEY, J.M. Generating electrospray from microchip devices using electroosmotic pumping. *Analytical Chemistry*, v.69, n.6, p.1174-1178, 1997.

RODDY, E.S.; XU, H.; EWING, A.G. Sample introduction techniques for microfabricated separation devices. *Electrophoresis*, v.35, n.2, p. 229-242, 2004.

ROSSIER, J.S.; SCHWARZ, A.; REYMOND, F.; FERRIGNO, R.; GIRAULT, H.H. Microchannel networks for electrophoretic separations. *Electrophoresis*, v.20, n.4-5, p.727-731, 1999.

SAITO, R.M.; COLTRO, W.K.T.; De JESUS, D.P. Instrumentation design for hydrodynamic sample injection in microchip electrophoresis: A review. *Electrophoresis*, no prelo, 2012.

SEGATO, T.P.; COLTRO, W.K.T.; ALMEIDA, A.L.J.; PIAZETTA, M.H.O.; GOBBI, A.L.; MAZO, L.H.; CARRILHO, E. A rapid and reliable bonding process for microchip electrophoresis fabricated in glass substrates. *Electrophoresis*, v. 31, n.15, p.2526-2533, 2010.

SEGATO, Thiago Pinotti. Avanços no processo de fabricação de microdispositivos analíticos e em seu acoplamento com a detecção condutométrica sem contato. 2011. 87p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

SEILER, K.; HARRISON, D.J.; MANZ, A. Planar glass chips for capillary electrophoresis: repetitive sample injection, quantitation, and separation efficiency. *Analytical Chemistry*, v.65, n.10, p.1481-1488, 1993.

SILVA, Eduardo Rodrigues da. Desenvolvimento de metodologia de baixo custo para determinação de glifosato usando microdispositivo eletroforéticos fabricados em poliéster-toner. 2011. 109p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

SILVA, Heron Dominguez Torres da. Estratégias de microfabricação utilizando toner para produção de dispositivos microfluídicos. 2006. 135p. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

TANYANYIWA, J.; ABAD-VILLAR, E.M.; FERNÁNDEZ-ABEDUL, M.T.; COSTA-GARCIA, A.; HOFFMAN, W.; GUBER, E.A.; HERRMANN, D., GERLACH, A.; GOTTSCHLICH, N.; HAUSER, P.C. High-voltage contactless conductivity-detection for lab-on-chip devices using external electrodes on the holder. *Analyst*, v.128, n.8, p.1019-1022, 2003.

TAVARES, M.F.M.; Eletroforese capilar: conceitos básicos. *Química Nova*, v.19, n.2, p.173-181, 1996.

TAVARES, M.F.M.; Mecanismo de separação em eletroforese capilar. *Química Nova*, v.20, n.5, p.493-511, 1997a.

TAVARES, M.F.M.; COLOMBARA, R.; MASSARO, S. Modified electroosmotic flow by cationic surfactant additives in capillary electrophoresis -Evaluation of electrolyte systems for anion analysis. *Journal of Chromatography A*, v.772, n.1-2, p.171-178, 1997b.

TERRY, S. C.; JERMAN, J. H.; ANGELL, J. B. Gas-chromatographic air analyzer fabricated on a silicon-wafer. *Iee Transactions on Electron Devcies*, v.26, n.12, p.1880-1886, 1979.

VANDEVEER, W.R.; PASAS-FARMER, S.A.; FISCHER, D.J.; FRANKENFELD, C.N.; LUNTE, S.M. Recent developments in electrochemical detection for microchip capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, v.25, n.21-22, p.3528-3549, 2004.

VÁZQUEZ, M.; FRANKENFELD, C.; COLTRO, W.K.T.; CARRILHO, E.; DIAMOND, D.; LUNTE, S.M. Dual contactless conductivity and amperometric

detection on hybrid PDMS/glass electrophoresis microchips *Analyst*, v.135, n.1, p.96-103, 2010.

WANG, J. Electrochemical detection for microscale analytical systems: a review. *Talanta*, v.56, n.2, p.223-231, 2002.

WANG, J., PUMERA, M.; CHATRATHI, M.P.; ESCARPA, A.; KONRAD, R.; GRIEBEL, A.; DORNER, W.; LOWE, H. Towards disposable lab-on-a-chip: poly(methylmethacrylate) microchip electrophoresis device with electrochemical detection. *Electrophoresis*, v.23, n.4, p.596-601, 2002.

WANG, J.; CHEN, G.; MUCK, A. Wall-jet conductivity detector for microchip capillary electrophoresis. *Talanta*, v.78, n.1, p.207-211, 2009.

WANG, Y.; CHEN, H.; HE, Q.; SOPER, S.A.; A High-performance polycarbonate electrophoresis microchip with integrated three-electrode system for end-channel amperometric detection. *Electrophoresis*, v.29, n.9, p.1881-1888, 2008.

WEST, J.; BECKER, M.; TOMBRINK, S.; MANZ, A. Micro total analysis systems: latest achievements. *Analytical Chemistry*, v.80, n.12, p.4403-4419, 2008.

WHITESIDES, G.M. The origins and the future of microfluidics. England, Nature Publishing Group, p.368-373, 2006.

WOOLEY, A.T.; LAO, K.; GLAZER, A.N.; MATHIES, R.A. Capillary electrophoresis chips with integrated electrochemical detection. *Analytical Chemistry*, v.70, n.4, p.684-688. 1998.

XU, Y.; LIANG, J.; LIU, H.; HU, X.; WEN, Z.; WU, Y.; CAO, M. Characterization of a capacitance-coupled contactless conductivity detection system with sidewall electrodes on a low-voltage-driven electrophoresis microchip. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, v. 397, n.4, p.1583-1593, 2010.

YU, H.; HE, Y.; LU, H.; HU, Y.L.; ZHONG, H.Z.; XIA, X.H. Improved separation efficiency of neurotransmitters on a native printed capillary electrophoresis microchip simply by manipulating electroosmotic flow. *Talanta*, v.75, n.1, p.43-48, 2008a.

YU, H., LU, L., ZHOU, Y. G., WANG, F. B., HE, F. Y., XIA, X. H. A simple, disposable microfluidic device for rapid protein concentration and purification via direct-printing. *Lab on a Chip*, v.8, n.9, p.1496-1501, 2008b.

CURRICULUM VITAE

CURRICULUM VITAE

1. Informações Pessoais

Nome Completo: Ellen Flávia Moreira Gabriel

Endereço eletrônico: ellenflavia.moreira@gmail.com

Naturalidade: Ponta Porã – MS

Data de Nascimento: 20/05/1986

Filiação: Shirley Moreira e José Luiz Gabriel

2. Formação Acadêmica

Bacharel em Química
Universidade Federal de Goiás
Goiânia – Goiás
2006 – 2010

3. Atividades

3.1. Trabalhos apresentados em reuniões científicas

(1) DUARTE JUNIOR, G. F.; GABRIEL, E. F. M.; GARCIA, P. T. ; COLTRO, W. K. T. Low Cost and Versatile Electrodes for Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection on Electrophoresis Microchips. *Pittcon conference, 2012, Orlando – FL.*

(2) GABRIEL, E. F. M.; DUARTE JUNIOR, G. F.; GARCIA, P. T.; COLTRO, W. K. T. Tecnologia de Impressão direta: uma ferramenta simples para produção de microchips para eletroforese. *63ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC), 2011, Goiânia – Go.*

(3) GABRIEL, E. F. M.; LAGO, C. L.; CARRILHO, E.; COLTRO, W. K. T. Investigação do uso do toner colorido para fabricação de microssistemas eletroforéticos. *16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão – SP.*

(4) GARCIA, P. T.; DUARTE JUNIOR, G. F.; GABRIEL, E. F. M.; JESUS, D. P.; COLTRO, W. K. T. Avaliação da repetibilidade analítica em microchips de poliéster-toner. *16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão – SP.*

(5) DUARTE JUNIOR, G. F.; GABRIEL, E. F. M.; GARCIA, P. T.; COLTRO, W. K. T. Fabricação de eletrodos em placas de circuito impresso para detecção oscilométrica em microchips de eletroforese.

16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão – SP.

(6) GABRIEL, E. F. M.; DUARTE JUNIOR, G. F.; COLTRO, W. K. T. Improvements on the direct-printing process for fabrication of polyester-toner microchips.

16th Latin-American Symposium LACE 2010, Florianópolis – SC.

(7) DUARTE JUNIOR, G. F.; GABRIEL, E. F. M.; GARCIA, P. T.; JESUS, D. P.; COLTRO, W. K. T.. Effects of the channel geometry on the electroosmotic flow in polyester-toner electrophoresis microchips.

16th Latin-American Symposium LACE 2010, Florianópolis – SC.

3.2. Prêmios

1. Prêmio de melhor trabalho apresentado no 16º Encontro Nacional de Química Analítica, Campos do Jordão – SP, 2011.

3.3. Artigos Aceitos para Publicação

1. GABRIEL, E. F. M.; DUARTE JUNIOR, G. F.; GARCIA, P. T.; JESUS, D. P.; COLTRO, W. K. T. Polyester-Toner electrophoresis microchips with improved analytical performance and extended lifetime. **Electrophoresis**, DOI: 10.1002/elps.201200009, 2012.
2. BRAGA, L.E.P.; GABRIEL, E.F.M.; DUARTE JUNIOR, G.F.; GARCIA, P. T.; LOBO JUNIOR, E.O.; COLTRO, W. K. T. Microchips Químicos: nova tendência da Química Analítica Moderna. Revista da Olimpíada Brasileira de Química, no prelo, 2012. .

3.4. Artigos em preparação

1. GABRIEL, E. F. M.; LAGO, C. L.; CARRILHO, E.; COLTRO, W. K. T. Fabrication of microfluidic devices based on using colored toner. Artigo a ser submetido para o periódico *Electrophoresis*.
2. GABRIEL, E. F. M.; SOUZA, F. R.; BRAGA, L.E.P.; OLIVEIRA, K. A.; Desenvolvimento dos sistemas microfluídicos no Brasil. Artigo de revisão a ser submetido para o periódico *Química Nova*.

