



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102015030864-7 A2

(22) Data do Depósito: 10/12/2015

(43) Data da Publicação: 13/06/2017



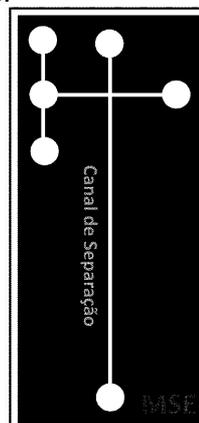
(54) Título: INJETOR HIDRODINÂMICO PARA MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS

(51) Int. Cl.: B01L 3/02; G01N 1/10

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

(72) Inventor(es): WENDELL KARLOS TOMAZELLI COLTRO; ELLEN FLÁVIA MOREIRA GABRIEL; EULICIO DE OLIVEIRA LOBO JÚNIOR; RODRIGO ALEXANDRE DOS SANTOS; KARIOLANDA CRISTINA DE ANDRADE REZENDE

(57) Resumo: INJETOR HIDRODINÂMICO PARA MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de injetor hidrodinâmico para ser acoplado aos microssistemas eletroforéticos (MSE) e serem utilizados em aplicações analíticas e bioanalíticas. Um dos principais sistemas para introdução e controle de soluções em eletroforese em microescala é o controle eletrocinético.



INJETOR HIDRODINÂMICO PARA MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS

Campo da invenção

[001] A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de injetor hidrodinâmico para ser acoplado aos microssistemas eletroforéticos (MSE) e serem utilizados em aplicações analíticas e bioanalíticas. Um dos principais sistemas para introdução e controle de soluções em eletroforese em microescala é o controle eletrocínético.

[002] Este sistema apresenta inúmeras vantagens que incluem principalmente sua simplicidade instrumental, necessitando apenas de uma fonte de alta tensão para promover a introdução e separação dos analitos. Em contrapartida, o controle eletrocínético tem afetado negativamente a reprodutibilidade e a repetibilidade das separações devido ao fenômeno discriminatório no processo de introdução da amostra.

[003] Portanto, o desenvolvimento de um sistema com potencial para corrigir esta problemática pode oferecer uma enorme vantagem instrumental para aplicações envolvendo MSE, especialmente no que diz respeito à quantificação. O injetor hidrodinâmico foi desenvolvido a partir do uso de uma micropipeta eletrônica comercial. Esta micropipeta possui funções específicas (modo dispenser) que permitem o controle no volume de escoamento da amostra, que pode ser particionado a partir de um volume total de solução.

[004] O injetor foi acoplado a um MSE fabricado em poli(dimetil siloxano) (PDMS) através da integração de um tubo polimérico com diâmetro externo de 0,3 cm, o qual foi posicionado em um dos canais microfluídicos destinados a injeção dos analitos. O menor volume injetado pela micropipeta foi otimizado e igual a 0,5 μL . Afim de particionar o volume de 0,5 μL foi criada uma geometria de canais adicionais interligados ao ponto de injeção. A grande vantagem do uso da micropipeta é a redução da instrumentação *off-chip*, evitando assim o uso de bombas e válvulas que são difíceis de serem acoplados aos dispositivos.

[005] O desempenho analítico da invenção forneceu resultados satisfatórios para corrigir a problemática da discriminação da quantidade de amostra introduzida nos MSE. Os testes foram realizados utilizando o íon sódio (Na^+) como analito

modelo (300 μM) e, quando comparado com a injeção eletrocínética, apresentou um melhor desempenho em termos de largura pico, intensidade do sinal e eficiência de separação. O desvio padrão relativo (DPR) obtido com o injetor hidrodinâmico foi inferior a 10%, indicando uma melhora significativa na reprodutibilidade. Dessa forma, o injetor proposto a partir do emprego da micropipeta eletrônica apresenta elevada potencialidade para ser explorado com injetor hidrodinâmico em MSE, permitindo separações de espécies iônicas ou ionizáveis, independentemente da sua mobilidade.

Fundamentos da Invenção

[006] Desde de que foi implementado em 1990, os microssistemas de análises totais (μTAS) tem causado uma verdadeira revolução em diferentes áreas da pesquisa¹. Uma das áreas que mais tem se beneficiado com a redução da escala são aquelas relacionadas à Química Analítica Instrumental. O uso dos μTAS oferece inúmeras características vantajosas como redução do volume de amostra, do tempo total de análise e conseqüentemente uma menor geração de resíduos^{2,3}. Além disso, a redução de escala trouxe outros benefícios com construção de sistemas portáteis que viabiliza principalmente a análise em campo e a possibilidade de integração de várias funções analíticas em um único dispositivo como etapas de pré-tratamento, introdução da amostra, processo de separação e detecção do analito⁴.

[007] Devido à simplicidade instrumental, a eletroforese tem sido o método de separação mais explorado na área da miniaturização⁵. Nos MSE, o fluido é transportado principalmente pela eletrosmose gerada no interior dos microcanais^{5,6}. A eletrosmose ocorre devido à aplicação de campos elétricos e é altamente dependente das características e da composição do substrato no qual os microcanais são fabricados. Um exemplo clássico da geração da eletrosmose ocorre em dispositivos fabricados em vidro, que é constituído basicamente de grupos silanóis (Si-OH) em sua superfície. Nesse material, os grupos Si-OH podem ser desprotonados dando origem à presença de cargas negativas na parede interna do microcanal. As cargas positivas presentes em uma solução eletrolítica, ao passar no interior do microcanal, balanceiam as cargas negativas

ali presentes devido a interações eletrostáticas⁵. Essa interação gera uma dupla camada elétrica que através da aplicação de um campo elétrico ocorre o movimento dos cátions em direção ao cátodo, gerando um fluxo denominado de fluxo eletrosmótico (EOF).

[008] No entanto, este tipo de injeção apresenta certas características indesejáveis, que tem afetado diretamente a repetibilidade analítica, tais como a dependência da condutividade da amostra, a influência da eletrólise no reservatório da amostra e a injeção discriminada do analito (efeito BIAS)⁷⁻⁸. O efeito BIAS, também conhecido como injeção tendenciosa ou injeção discriminatória, é um dos problemas que mais tem comprometido o desempenho analítico da técnica uma vez que os analitos que apresentam uma maior mobilidade eletroforética são injetados preferencialmente, quando comparados com outras espécies de menor mobilidade ou neutras⁹.

[009] Baseando-se nessa problemática, o presente invento descreve o desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico alternativo através do uso de uma micropipeta eletrônica comercial. Este injetor irá minimizar a problemática do efeito BIAS uma vez que essa metodologia permite a introdução da amostra pelo processo de pressão independentemente da mobilidade de cada espécie. A micropipeta pode ser diretamente posicionada ao um MSE fabricado em diferentes substratos. Afim de facilitar o acoplamento entre o injetor o microcanal, um tubo polimérico com diâmetro interno próximo ao diâmetro externo do ponteira específica para a micropipeta. O tubo polimérico pode permitir um melhor acoplamento evitando possíveis vazamentos da solução e facilitando a entrada do fluido para o interior do microcanal.

[010] Comumente, os microsistemas de eletroforese são fabricados em substratos planares, contendo um canal de injeção e um de separação, arranjos frequentemente em uma configuração de cruz, duplo-T ou triplo-T. O volume de amostra é delimitado por esta região de interseção, na qual a largura do canal e o comprimento do gap (distância entre os canais laterais) afetam diretamente a magnitude do volume. Além disso, estes canais são produzidos em dimensões que variam entre 10 a 200 μm de largura, 5 a 50 μm de

profundidade e comprimento de 2 a 8 cm. Nestas condições, o volume de solução manipulado no interior dos microcanais costuma ser da ordem de pL a nL (10^{-12} a 10^{-9} L)^{6,10}. Uma vez que o menor volume injetado pelo o processo hidrodinâmico, a depender da micropipeta utilizada, é em torno de 0,5 μ L, configurações distintas de microcanais podem ser requeridas. A partir desse princípio, tem sido proposto a utilização de dispositivos com canais adicionais, denominados como configuração *Split* para serem acoplados ao injetor. Esse modo irá auxiliar na partição do volume total injetado e direcionar o menor volume possível para o canal de separação.

[011] O desempenho do injetor hidrodinâmico foi avaliado utilizando espécies catiônicas como analito modelo na concentração de 300 μ M. Os diferentes cátions (K^+ , Na^+ e Li^+) foram separados e identificados pelo sistema detecção condutométrica sem contato (C^4D) e todos os dados foram comparados à injeção realizada eletrocineticamente, que serviu como referência. O injetor hidrodinâmico proposto apresentou um desempenho analítico superior quando comparado com os dados obtidos com a injeção eletrocinética. A intensidade do sinal dos três íons estudados apresentou um desvio padrão relativo (DPR) menor que 10%. A eficiência de separação variou de 40.000 ± 6.000 a 98.000 ± 10.000 pratos/m e a resolução de separação foi superior a 1.

[012] Baseando-se na abordagem descrita acima, o invento detalhado possui enorme potencialidade para funcionar como um injetor hidrodinâmico para ser acoplado aos microssistemas eletroforéticos e corrigir os eventuais problemas relacionados a injeção discriminado do analito. Além disso, pode-se afirmar que devido à facilidade de acoplamento, a micropipeta eletrônica apresenta portabilidade que, ao se associada com um sistema miniaturizado, pode também permitir o transporte do instrumento para análise no campo.

Impacto Tecnológico

[013] O impacto tecnológico da presente invenção refere-se ao desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico simples, robusto e eficiente para ser acoplado aos microssistemas eletroforéticos. A tecnologia desenvolvida visa à utilização de um dispositivo minimamente instrumentado, uma micropipeta comercial, capaz de

ser facialmente acoplado a qualquer tipo de substrato planar. A tecnologia é extremamente simples e acessível implementável a qualquer sistema de eletroforese em microescala.

[014] Como o injetor foi desenvolvido a partir do uso de micropipeta comercial, a instrumentação não requer nenhuma etapa laboriosa de fabricação e não exige nenhum equipamento de alto custo ou consumível de difícil acesso. A conexão entre o injetor e o microcanal pode ser facilmente realizada através de um simples conector como um tubo polímero com dimensões similares à da ponteira utilizada na micropipeta.

[015] O injetor proposto visa solucionar problemas relacionados à injeção eletrocinética, método este comumente empregado na eletroforese. Sendo assim, o injetor assegura que espécies iônicas, ionizáveis ou até mesmo espécies neutras possam ser injetadas ao canal microfluídico sem dependência das suas mobilidades eletroforéticas. Este fato é a grande inovação dessa proposta visto que os problemas relacionados principalmente pela falta de repetibilidade analítica possam ser solucionados e com isso a confiabilidade analítica da técnica possa ser melhorada.

[016] O objeto dessa invenção pode ser facilmente utilizado para análises no campo, uma vez que a micropipeta, o microssistema eletroforético e o sistema de separação e detecção são portáteis e podem ser adaptados para funcionar com alimentação (energia) através de baterias de 9 ou 12V.

Objeto da Invenção

[017] Perante às dificuldades relacionadas ao baixo desempenho analítico das plataformas de MSE diretamente correlacionados ao processo injeção eletrocinética, há a necessidade de desenvolver um sistema de injeção minimamente instrumentado que forneça simplicidade, facilidade de acoplamento, que seja eficiente na correção da problemática do efeito BIAS e que ofereça robustez, assegurando reprodutibilidade para ser implementado em qualquer laboratório ou que permita a produção em massa. Neste contexto, a presente invenção descreve o desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico alternativo para ser acoplado aos microssistemas eletroforéticos a partir do uso

de uma micropipeta eletrônica comercial. O sistema de injeção é inovador e requer apenas uma etapa de acoplamento entre o injetor e o microcanal. Em relação ao acoplamento, este pode ser facilitado por um simples conector (por exemplo um tubo polimérico) que evite problemas como vazamento de solução. [018] Em relação aos dispositivos, qualquer substrato planar fabricado em diferentes materiais pode ser acoplado ao injetor. Espécies carregadas positivamente, negativamente e espécies neutras podem ser injetadas empregado-se o injetor proposto uma vez que o método de injeção da amostra ocorre por efeito da pressão. Devido à mínima instrumentação *off-chip* requerida, o injetor pode ser levado a campo o que vai de encontro com as vantagens descritas à miniaturização.

Sumário da Invenção

[019] A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de injetor hidrodinâmico, com característica automatizada, para ser acoplado aos microsistemas eletroforéticos (MSE) e serem utilizados em aplicações analíticas e bioanalíticas. Um dos principais sistemas para introdução e controle de soluções em eletroforese em microescala é o controle eletrocínético.

[020] Este sistema apresenta inúmeras vantagens que incluem principalmente sua simplicidade instrumental, necessitando apenas de uma fonte de alta tensão para promover a introdução e separação dos analitos. Em contrapartida, o controle eletrocínético tem afetado negativamente a reprodutibilidade e a repetibilidade das separações devido ao fenômeno conhecido como BIAS que se refere à tendência discriminatória na introdução, em maior quantidade, de espécies com maior mobilidade eletroforética.

[021] Portanto, o desenvolvimento de um sistema com potencial para corrigir, ou minimizar, esta problemática pode solucionar efeitos indesejáveis visando conferir maior confiabilidade para análises quantitativas. O injetor hidrodinâmico foi desenvolvido a partir do uso de uma micropipeta eletrônica comercial. Esta micropipeta possui funções específicas (modo dispenser, por exemplo) que permitem dispensar, de forma controlada, volumes particionados a partir de um volume total de solução.

[022] O injetor foi acoplado a um MSE fabricado em poli(dimetil siloxano) (PDMS). O acoplamento foi facilitado pela integração de um tubo polimérico com diâmetro externo de aproximadamente 3 mm, o qual foi posicionado no reservatório de amostra localizado no canal de injeção da amostra. O menor volume injetado pela micropipeta foi igual a 0,5 µL. No entanto, esse volume é excessivo para análises em sistemas microfluídicos sendo necessário, portanto, uma divisão da amostra no interior dos microcanais. Para essa finalidade, criou-se um sistema de *Split* da amostra arranjando-se a geometria convencional do MSE (normalmente no formato de cruz) pela integração de um microcanal adicional para essa finalidade. Este canal adicional foi interligado com o ponto de injeção de modo a assegurar o transporte da amostra para ser introduzida no canal de separação.

[023] A grande vantagem do uso da micropipeta é a redução considerável da instrumentação *off-chip* que requer frequentemente o uso de bombas e válvulas, os quais apresentam complexidade para serem integrados completamente aos MSE's. O desempenho analítico da invenção forneceu resultados satisfatórios para corrigir a problemática com efeito BIAS. Experimentos para validação da hipótese foram realizados utilizando o íon sódio (que apresenta mobilidade eletroforética elevada) preparado na concentração igual a 300 µM como analito modelo. Quando comparado à injeção eletrocínética, o uso da micropipeta eletrônica propiciou melhor desempenho analítico em termos de largura pico, intensidade do sinal e eficiência de separação.

[024] Em relação a altura e área do pico detectado para o íon Na⁺, os valores do desvio padrão relativo (DPR) diminuíram de 20 para 5% e de 27 para 7%, respectivamente. Além disso, a eficiência de separação foi 56% superior nos ensaios realizados com o injetor hidrodinâmico. Essa melhora no desempenho analítico comprova a eficácia do injetor desenvolvido. Adicionalmente, separações de outros cátions (K⁺, Na⁺ e Li⁺) e ânions inorgânicos também foram realizadas para demonstrar a potencialidade do injetor hidrodinâmico desenvolvido.

Antecedentes da Invenção

[025] As tecnologias disponíveis para realizar injeções hidrodinâmicas nos dispositivos de eletroforese são baseadas uso de pressão positiva, negativa, hidrostática e pressão por pulso. Dentre estas metodologias, a mais comumente explorada nas plataformas de MSE é a por pressão positiva. No entanto, este método de injeção necessita o emprego de bombas seringas, bomba pneumáticas, microbombas e microválvulas acionáveis por membranas eletrotérmicas.

[026] Essa instrumentação já existente requer o uso de equipamentos de grande porte, como cilindros de gás, ou instrumentos de bancada que requerem alta demanda energética para funcionamento. Além disso, as bombas e válvulas miniaturizadas são fabricadas por etapas laboriosas e em ambientes com sala limpa. Estas etapas são, muito provavelmente, as responsáveis pelo atraso no avanço instrumental nessa área, impedindo que equipamentos portáteis e com elevada robustez sejam comercializados.

[027] Neste contexto, a principal reivindicação dessa patente refere-se ao desenvolvimento de um método simples, eficiente, robusto, portátil e reprodutível para promover a injeção hidrodinâmica em MSE. O injetor hidrodinâmico foi desenvolvido a partir do uso de uma micropipeta eletrônica comercial capaz de introduzir pequenos volumes de amostras quando programada corretamente a partir de um volume total de 10 μL . A micropipeta é facilmente acoplada ao dispositivo microfluídico através de um tubo polimérico, o qual reduz significativamente a instrumentação necessária para etapa de introdução do analito.

[028] O volume de amostra ideal para ser introduzido aos canais microfluídicos varia da ordem de pL – nL devido a dimensões reduzidas desses canais. O menor volume dispensado pela micropipeta eletrônica é de 0,5 μL . Este volume é considerado excessivo para análises eletroforéticas. Sendo assim, um estudo em função da geometria e disposição dos microcanais foi realizado, e dentre as configurações avaliadas, dispositivos com dois canais auxiliares (posicionados perpendiculares ao canal de injeção) foi escolhido como o ideal para a introdução do menor volume de amostra no interior do canal de separação.

[029] Teste preliminares tem demonstrado a viabilidade do injetor quando associado aos dispositivos microfluídicos. Esses canais auxiliares atuam na divisão da amostra, similar ao “Split” usado nos sistemas cromatográficos. O conceito de divisão da amostra no ato da injeção é inédito e corrobora para o increment tecnológico da invenção.

[030] Quando comparado à injeção eletrocinética, o injetor forneceu melhor desempenho em função da intensidade do sinal e eficiência de separação. O desvio padrão relativo obtido foi inferior a 10% para a intensidade do sinal dos analitos avaliados. Com a injeção eletrocinética, valores de até 30% eram frequentemente obtidos, o que acarretava na falta de confiabilidade analítica.

[031] Além de assegurar uma melhora na repetibilidade analítica em função da melhora do efeito BIAS, outro ponto favorável do injetor refere-se à redução da instrumentação *off-chip* necessária para a etapa de injeção. Este fato é importante do ponto de vista da análise em campo uma vez que é uma instrumentação simples e portátil.

Descrição Detalhada da Invenção

[032] A **Figura 1** apresenta uma configuração típica para acoplar os micro sistemas eletroforéticos com o injetor hidrodinâmico baseado na micropipeta eletrônica. O MSE pode ser fabricado em diferentes tipos de substratos como por exemplo, vidro, poli(metil metacrilato) (PMMA), poli(dimetil siloxano) (PDMS) e poliéster-toner (PT). O dispositivo contém um canal de injeção, destinado ao acoplamento do injetor, um canal de separação. Os canais possuem cerca de 50 µm de largura e altura. O canal de separação possui 5 cm de comprimento total e 4,8 cm de comprimento efetivo. Juntamente ao canal de injeção, dois canais auxiliarem (denominados de “split”) foram fabricados nas mesmas dimensões afim de particionarem o volume total de amostra injetado.

[033] A **Figura 2** mostra uma visão ampliada da intersecção entre o canal de injeção e o canal de separação, evidenciando a distribuição da solução pelo canal de injeção e o *split* no processo antes e depois da dispensa do volume total realizado pelo injetor proposto.

[034] A **Figura 3** exemplifica a conexão entre o injetor hidrodinâmico alternativo (micropipeta eletrônica) e o canal de injeção. A conexão é realizada entre a ponteira da micropipeta e um conector que pode ser um tubo polimérico. Além disso, nessa imagem é possível ver o completo preenchimento do canal após o processo de injeção.

[035] A **Figura 4** exemplifica o processo de injeção associado a etapa de separação realizado via método eletrocínético. Em uma primeira etapa, a solução é injetada pelo injetor hidrodinâmico proposto e o volume de amostra injetado é particionado entre os canais do modo *split* e preenchendo todo o canal de injeção. O *plug* de amostra a ser injetado para o canal de separação é formado através da intersecção entre o canal de injeção e de separação. No momento da injeção, os potenciais eletrocínéticos são mantidos desligados. Em uma segunda etapa, uma diferença de potencial é aplicada entre o canal de separação, fazendo com que o *plug* de amostra formado seja injetado. As espécies presentes na solução se separam, dentro do canal de separação, de acordo com sua mobilidade eletroforética até atingir o sistema de detecção. O sistema de detecção é posicionado normalmente ao final do canal de separação.

[036] A **Figura 5** apresenta o conjunto das etapas de injeção, separação e detecção necessárias para uma análise. O injetor hidrodinâmico é acoplado ao canal de injeção do microdispositivo através de um tubo polimérico com aproximadamente 0,3 cm de diâmetro externo. O dispositivo foi fabricado em substrato de PDMS através da metodologia de litografia suave. Após o processo de fabricação, o microchip foi posicionado sobre uma placa de circuito impresso no qual foi previamente gravado eletrodos de detecção para realização da detecção via condutividade.

[037] A **Figura 6** apresenta um eletroferograma obtido pela injeção e detecção do íon sódio (Na^+ , 300 μM). O cátion foi injetado pela micropipeta eletrônica no volume de 0,5 μL utilizando a configuração proposta anteriormente (modo *split*). O tampão de corrida utilizado foi uma solução de 2-morfolino-etanosulfônico (MES) e Histidina (His), 20 mM cada (pH 6,1). O potencial de separação foi de

1000 V. Para detecção utilizou-se frequência de 400 KHz e amplitude de $1,7 V_p$.

[038] A **Figura 7** apresenta a repetibilidade analítica do injetor hidrodinâmico alternativo. Foram realizadas 14 injeções sequências do íon sódio sob os mesmos parâmetros experimentais. Foi possível observar a boa repetibilidade analítica no qual o desvio padrão relativo (DPR) foi menor que 10 % em relação a intensidade do sinal.

[039] As **Figuras 8 e 9** mostram uma comparação analítica entre a injeção hidrodinâmica e a injeção eletrocinética no modo *floating*, um dos processos mais empregados na eletroforese em microdispositivos. Foram realizadas 4 injeções sucessivas do íon sódio (300 μ M) e o sistema de detecção empregado foi o condutométrico (C^4D). O tampão de corrida utilizado foi uma solução de 2-morfolino-etanosulfônico (MES) e Histidina (His), 20 mM cada (pH 6,1). A injeção hidrodinâmica foi realizada sob pressão realizado pela micropipeta eletrônica no menor volume de 0,5 μ L. Por outro lado, a injeção eletrocinética foi procedida pelo método *floating* no qual consiste da aplicação de potencial igual 500 V entre o canal de injeção por cerca de 10 s. Após o preenchimento do canal de injeção e formação do *plug* de amostra, um potencial igual a 1000 V foi aplicado entre o canal de separação fazendo o íon sódio migre pelo canal até atingir o sistema de detecção. Foi possível observar a diferença entre os dois modos de injeção principalmente em relação a largura e intensidade do sinal.

[040] As **Figuras 10 e 11** apresentam eletroferogramas obtidos para a separação de cátions inorgânicos (K^+ , Na^+ e Li^+ , 300 μ M cada) utilizando injeção hidrodinâmica e injeção eletrocinética, respectivamente. Todos os cátions foram separados em um intervalo de tempo inferior a 40 s. Em comparação ao método eletrocinético, os cátions injetados pelo injetor hidrodinâmico proposto nessa invenção apresentaram a mesma intensidade de sinal. Essa observação era esperada uma vez que o processo de introdução da amostra não é discriminatório. Baseando-se nos resultados apresentados nas **Figuras 10 e 11**, pode-se afirmar que a invenção descrita nesse invento corrige, ou minimiza, os

efeitos negativos comumente observados no controle eletrocinético (efeito BIAS).

[041] Por esse motivo, a invenção desenvolvida apresenta elevada potencialidade de mercado, uma vez que oferece vantagens em termos instrumentais e pode alavancar o desenvolvimento de equipamentos portáteis com alta confiabilidade na análise química.

REFERÊNCIAS

- [1] ARORA, A., SIMONE, G.; SALIEB-BEUGELAAR, G.B.; KIM, J.T.; MANZ, A. Latest developments in micro total analysis systems. **Anal. Chem.** 2010, 82, 4830-4847.
- [2] REYES, D. R.; IOSSIFIDIS, D.; AUROUX, P. A.; MANZ, A. Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology. **Anal. Chem.** 2002, 74, 2623-2636.
- [3] AUROUX, P. A.; IOSSIFIDIS, D.; REYES, D. R.; MANZ, A. Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications. **Anal. Chem.** 2002, 74, 2637-2652.
- [4] VILKNER, T.; JANASEK, D.; MANZ, A. Micro total analysis systems. Recent developments. **Anal. Chem.** 2004, 76, 3373-3385.
- [5] HENRY, C. S. **Microchip capillary electrophoresis: methods and protocols.** New York: Humana Press, 2006, p.248.
- [6] DOLNIK, V.; LIU, S. R.; JOVANOVIĆ, S. Capillary electrophoresis on microchip. **Electrophoresis** 2000, 21, 41-54.
- [7] DOSSI, N.; TONIOLO, R.; SUSMEL, S.; PIZZARIELLO, A.; BONTEMPELLI, G. A simple approach to the hydrodynamic injection in microchip electrophoresis with electrochemical detection. **Electrophoresis** 2010, 31, 2541-2547.
- [8] KOVARIK, M. L.; LAI, H.-H.; XIONG, J.C.; ALLBRITTON, N.L. Sample transport and electrokinetic injection in a microchip device for chemical cytometry. **Electrophoresis** 2011, 32, 3180-3187.
- [9] SAITO, R.M.; COLTRO, W.K.T.; De JESUS, D.P. Instrumentation design for hydrodynamic sample injection in microchip electrophoresis: A review. **Electrophoresis** 2012, 33, 2614-2623.

[10] COLTRO, W.K.T.; PICCIN, E.; CARRILHO, E.; JESUS, D.P.; DA SILVA, J.A.F.; SILVA, H.D.T.; DO LAGO, C.L. Microsistemas de análises químicas. Introdução, tecnologia de fabricação, instrumentação e aplicações. **Quim. Nova**, 2007, 30, 1986-2000.

[11] SUN, X.; KELLY, R. T.; TANG, K.; SMITH, R. D. Microchip capillary electrophoresis absent electrokinetic injection. US 8,277,659 B2, 2012.

[12] CULBERTSON, C.; PRICE, A. K. Electroactive polymer actuators and their use on microfluidic devices. US 2012/02273702 A1, 2012.

[13] SUNDBERG, S. A.; PARCE, J. W.; CHOW, C. Y. H. Microfabricated structures for facilitating fluid introduction into microfluidic devices. US 006086825 A, 2000.

REIVINDICAÇÕES

INJETOR HIDRODINÂMICO PARA MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS

1. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico para microssistemas eletroforéticos, **caracterizado** pelo fato de compreender:

o uso de micropipeta eletrônica acoplada aos canais microfluídicos.

2. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com a reivindicação **1**, **caracterizado** pelo fato do injetor utilizar o processo de pressão positiva para realização da injeção da solução contendo a amostra de interesse.

3. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações **1 e 2**, **caracterizado** pelo fato do injetor utilizar uma micropipeta eletrônica, ao invés de microbombas e microválvulas para realizar a injeção e manipulação da solução no interior dos microcanais.

4. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações **1 a 3**, **caracterizado** pelo fato do injetor poder ser conectado ao canal microfluídico através do uso de um tubo polimérico previamente integrado ao microssistema.

5. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com a reivindicação **4**, **caracterizado** pelo fato do tubo polimérico poder ser substituído por outro material com dimensões compatíveis com os microcanais.

6. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações **1 a 5**, **caracterizado** pelo fato do tubo conector ser inserido automaticamente na plataforma microfluídica.

7. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações **1 a 6**, **caracterizado** pelo fato da micropipeta permitir o controle da velocidade de escoamento via computador.

8. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações **1 a 7**, **caracterizado** pelo fato do injetor poder ser conectado a microssistemas eletroforéticos fabricados em diferentes substratos e em diferentes configurações.

9. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações **1 a 8**, **caracterizado** pelo fato do injetor ser utilizado em análises

eletroforéticas.

10. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato do injetor ser acoplado a um arranjo de microcanais destinados a promover à divisão da amostra.

11. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações 1 a 10, **caracterizado** pelo fato do injetor poder se adaptado para uso em análises por injeção em fluxo.

12. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações 1 a 11, **caracterizado** pelo fato do injetor poder se adaptado para uso em dispositivos dedicados às separações cromatográficas.

13. Desenvolvimento de um injetor hidrodinâmico, de acordo com as reivindicações 1 a 12, **caracterizado** pelo fato do injetor ser utilizado para análise de espécies iônicas ou espécies neutras.

14. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações 1 a 13, **caracterizado** pelo fato de ser integrado com plataforma de separação analítica ou sistema de análise em fluxo.

15. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações 1 a 14, **caracterizado** pelo fato da plataforma microfluídica conter eletrodos microfabricados para atuarem como sensores eletroquímicos.

16. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações 1 a 15, **caracterizado** pelo fato da plataforma microfluídica conter sistema de fibra óptica para detecção óptica.

17. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações 1 a 16, **caracterizado** pelo fato da plataforma microfluídica conter etapas de tratamento da amostra incluindo filtração, pré-concentração, diluição integrado com sistema de análise.

18. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações 1 a 17, **caracterizado** pelo fato do sistema analítico poder ser automatizado e controlado via computador através de conexão sem fio, ou *bluetooth*.

19. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações **1 a 18**, **caracterizado** pelo fato do sistema analítico conter diferentes módulos adaptáveis para seleção do método de separação desejável.

20. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações **1 a 19**, **caracterizado** pelo fato do sistema analítico permitir o controle da proporção da divisão da amostra no interior dos microcanais.

21. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações **1 a 20**, **caracterizado** pelo fato do sistema analítico análise quantitativa através do método de calibração interna.

22. Equipamento portátil contendo injetor hidrodinâmico desenvolvido de acordo com as reivindicações **1 a 21**, **caracterizado** pelo fato do sistema analítico análise quantitativa através do método de calibração externa.

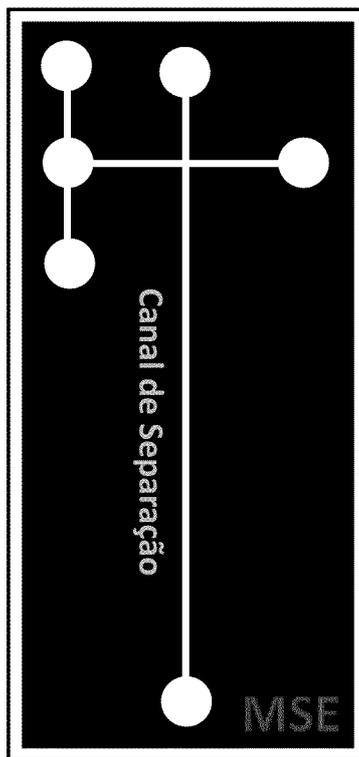


Figura 1

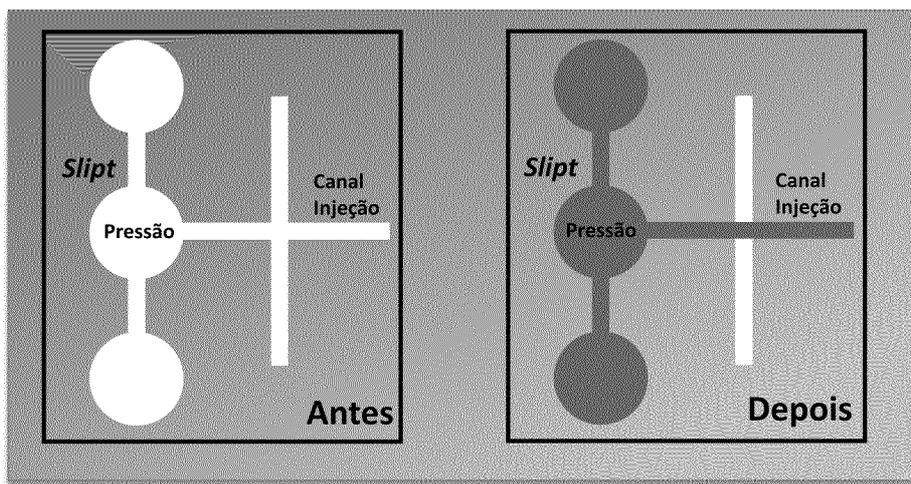


Figura 2

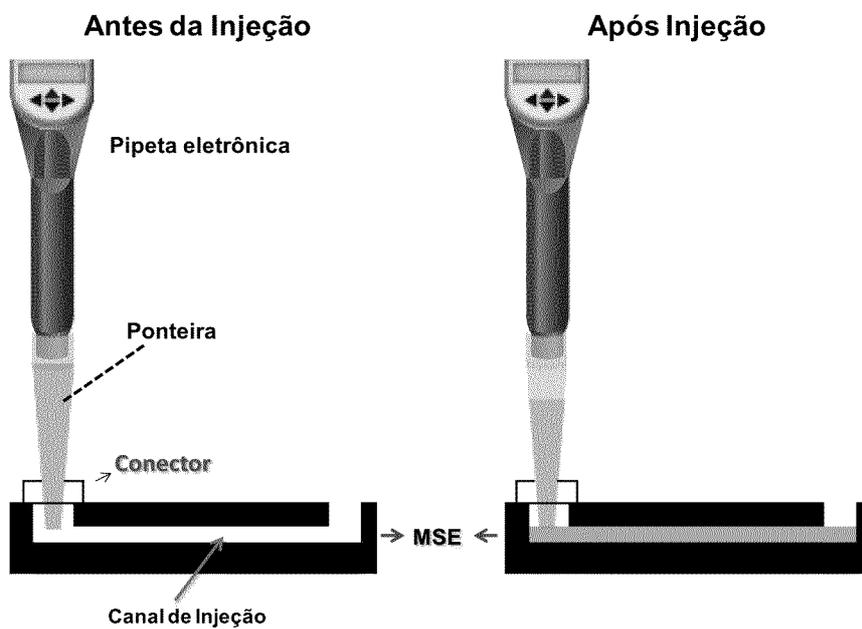


Figura 3

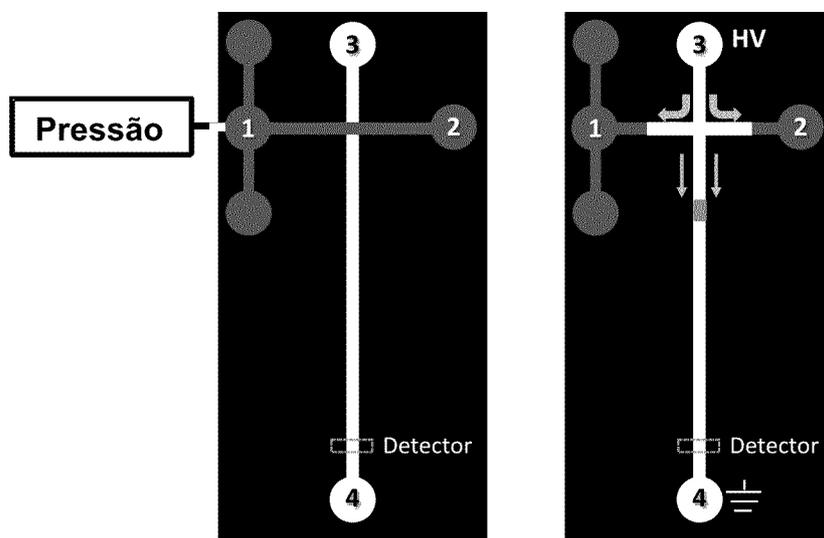


Figura 4

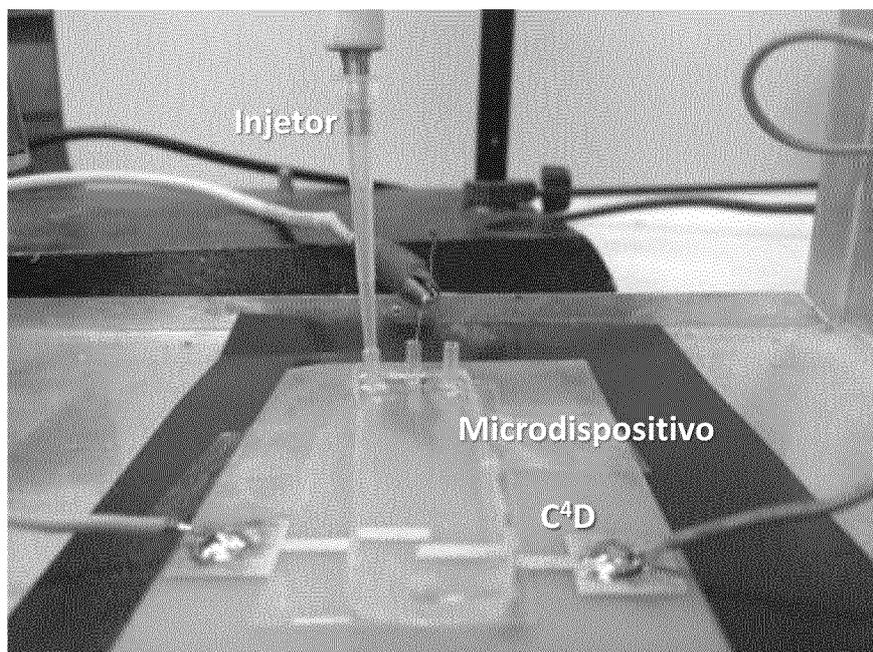


Figura 5

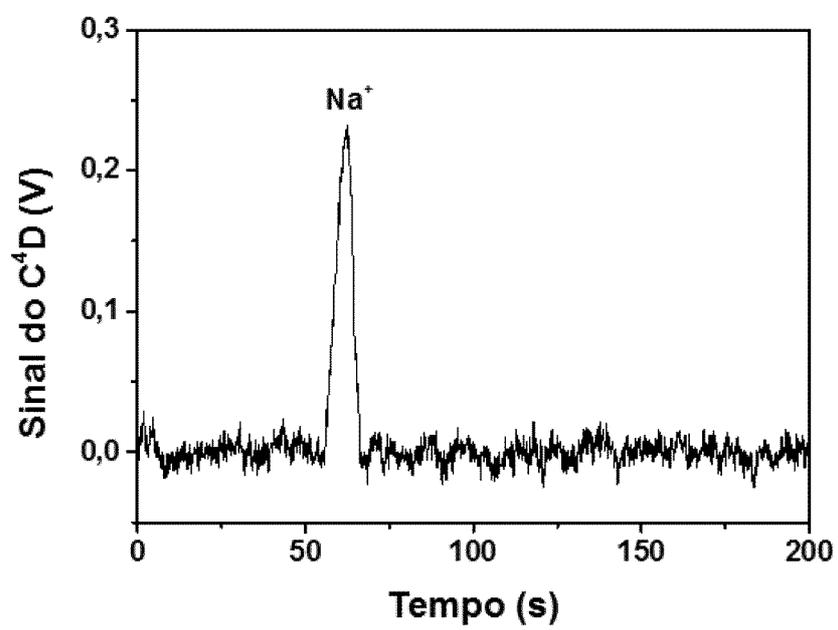


Figura 6

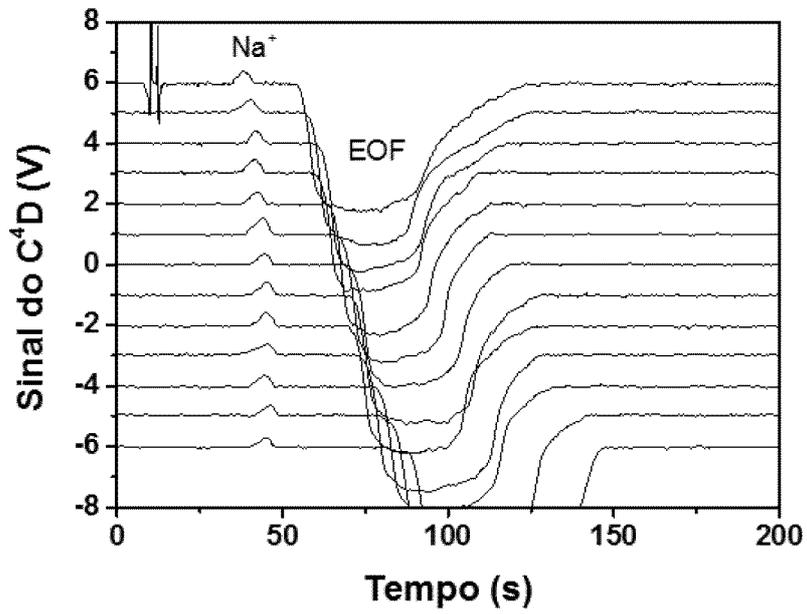


Figura 7

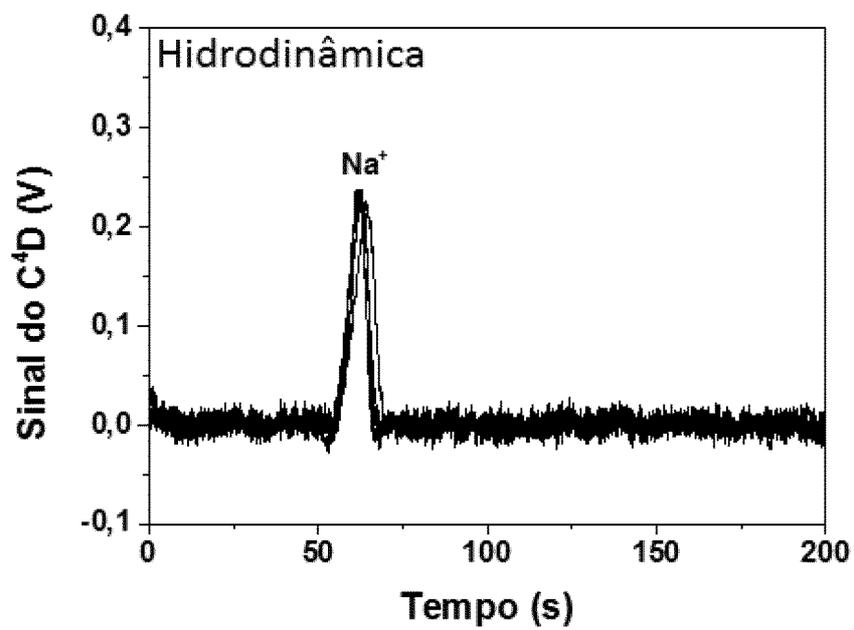


Figura 8

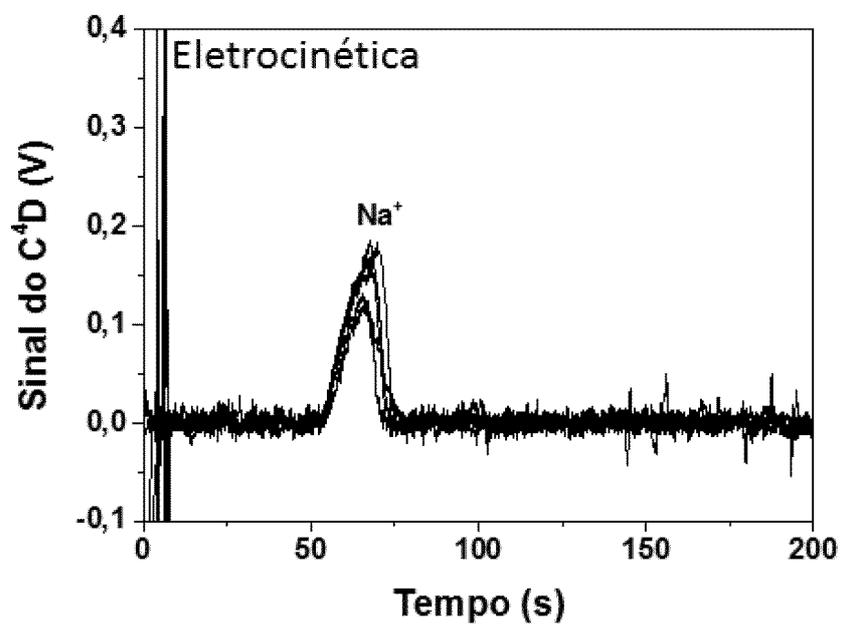


Figura 9

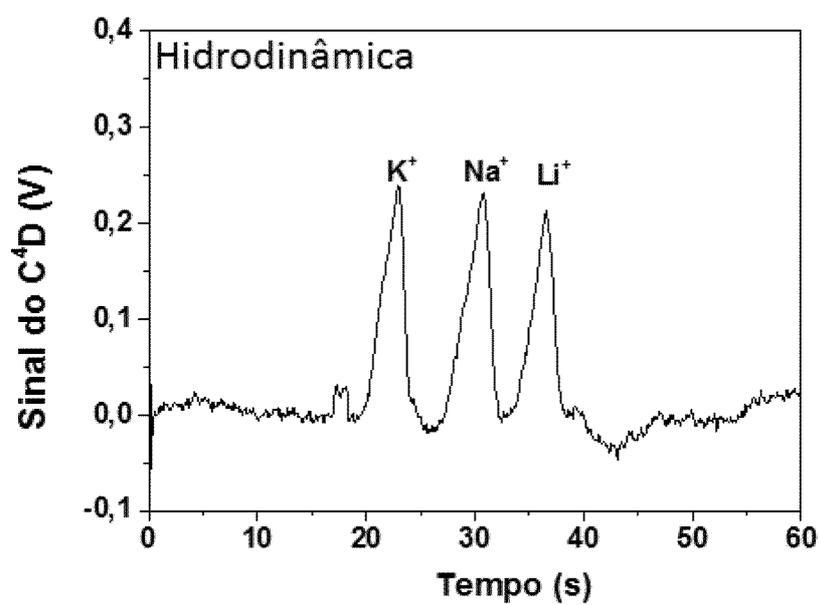


Figura 10

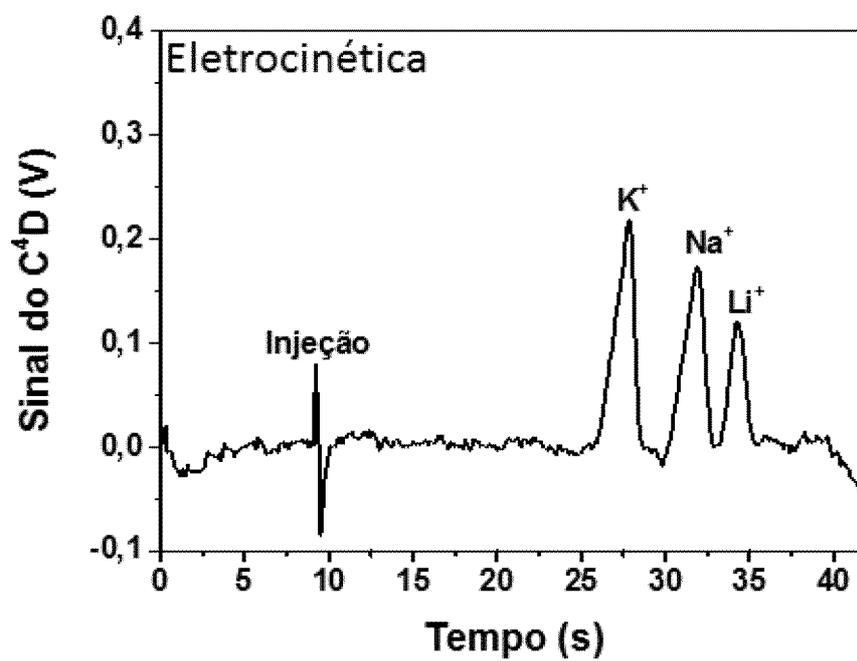


Figura 11

Resumo**INJETOR HIDRODINÂMICO PARA MICROSSISTEMAS ELETROFORÉTICOS**

A presente invenção refere-se ao desenvolvimento de injetor hidrodinâmico para ser acoplado aos microssistemas eletroforéticos (MSE) e serem utilizados em aplicações analíticas e bioanalíticas. Um dos principais sistemas para introdução e controle de soluções em eletroforese em microescala é o controle eletrocínético.