

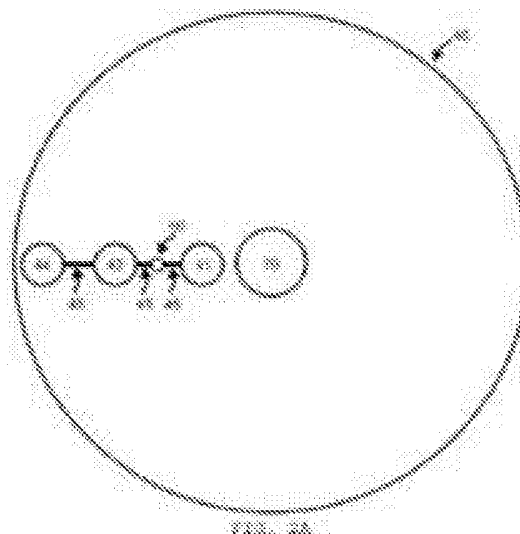
(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2006.11.09	(73) Titular(es): BIOSURFIT, S.A.	
(30) Prioridade(s):	CENTRO EMPRESARIAL DE AVEIRO, 3811-501	PT
(43) Data de publicação do pedido: 2008.05.30	(72) Inventor(es): JOÃO GARCIA DA FONSECA	PT
(45) Data e BPI da concessão: 2008.10.06 201/2008	(74) Mandatário: ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA R DAS FLORES 74 4 AND 1249-235 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **DISPOSITIVO DE DETECÇÃO BASEADO NO EFEITO DE RESSONÂNCIA DE PLASMÃO DE SUPERFÍCIE**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO DESCREVE UM DISPOSITIVO DE DETECÇÃO BASEADO NO EFEITO DE RESSONÂNCIA DE PLASMÃO DE SUPERFÍCIE (RPS) QUE COMPREENDE: (1) UM SUBSTRATO ROTATIVO DE ENCAMINHAMENTO DE FLUIDOS (SREF) (40) COM CANAIS (45) VÁLVULAS (50) E RESERVATÓRIOS (41, 44) E, PELO MENOS, UMA ZONA DE DETECÇÃO (ZD) (42), NA QUAL EXISTE UMA CAMADA DE DETECÇÃO (CDET) (43), CONSTRUÍDA SOBRE UMA FINA CAMADA CONDUTORA COM UMA TOPOGRAFIA DE SUPERFÍCIE QUE SE COMPORTA COMO UMA REDE DE DIFRAÇÃO; (2) UM CONJUNTO DE ILUMINAÇÃO E MEDIÇÃO ÓPTICA CAPAZ DE CONVERTER A OCORRÊNCIA DE EVENTOS JUNTO DA CDET (43) NUMA RESPOSTA ÓPTICA, UTILIZANDO O EFEITO DE RPS QUE OCORRE JUNTO DA FINA CAMADA CONDUTORA CONTENDO A REDE DE DIFRAÇÃO COMO MEIO DE TRANSDUÇÃO DOS REFERIDOS EVENTOS; (3) UM MECANISMO DE CONTROLO DO SENTIDO, DA DURAÇÃO E DA VELOCIDADE DE ROTAÇÃO DO SREF (40), PARA FAZER CHEGAR UM VOLUME PREDEFINIDO DE UM DADO FLUIDO DE UM RESERVATÓRIO INICIAL (RI) (41), PASSANDO POR UMA ZONA DE DETECÇÃO (ZD) (42), ATÉ UM RESERVATÓRIO FINAL (RF) (44) O DISPOSITIVO DESCRITO NA PRESENTE INVENÇÃO PERMITE A DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE DETERMINADAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E/OU BIOLÓGICAS NA SUPERFÍCIE DA ZD (42) OU NO FLUIDO PRESENTE NA ZD (42).



RESUMO

"Dispositivo de detecção baseado no efeito de ressonância de plasmão de superfície."

A presente invenção descreve um dispositivo de detecção baseado no efeito de ressonância de plasmão de superfície (RPS) que compreende: (1) um substrato rotativo de encaminhamento de fluidos (SREF) (40) com canais (45), válvulas (50) e reservatórios (41, 44) e, pelo menos, uma zona de detecção (ZD) (42), na qual existe uma camada de detecção (CDET) (43), construída sobre uma fina camada condutora com uma topografia de superfície que se comporta como uma rede de difracção; (2) um conjunto de iluminação e medição óptica capaz de converter a ocorrência de eventos junto da CDET (43) numa resposta óptica, utilizando o efeito de RPS que ocorre junto da fina camada condutora contendo a rede de difracção como meio de transdução dos referidos eventos; (3) um mecanismo de controlo do sentido, da duração e da velocidade de rotação do SREF (40), para fazer chegar um volume predefinido de um dado fluido de um reservatório inicial (RI) (41), passando por uma zona de detecção (ZD) (42), até um reservatório final (RF) (44). O dispositivo descrito na presente invenção permite a determinação da concentração de determinadas substâncias químicas e/ou biológicas na superfície da ZD (42) ou no fluido presente na ZD (42).

DESCRIÇÃO

"Dispositivo de detecção baseado no efeito de ressonância de plasmão de superfície."

A presente invenção refere-se a sensores electro-ópticos baseados no efeito de ressonância de plasmão de superfície (RPS) na configuração de rede de difracção, e em particular, a processos e dispositivos para detecção química e/ou biológica utilizando os seguintes elementos: (1) um substrato rotativo de encaminhamento de fluidos (SREF) com canais, válvulas e reservatórios e, pelo menos, uma zona de detecção (ZD), na qual existe uma camada de detecção (CDET), construída sobre uma fina camada condutora com uma topografia de superfície que se comporta como uma rede de difracção; (2) um conjunto de iluminação e medição óptica capaz de converter a ocorrência de eventos junto da CDET numa resposta óptica, utilizando o efeito de RPS que ocorre junto da fina camada condutora contendo a rede de difracção como meio de transdução dos referidos eventos; (3) um mecanismo de controlo do sentido, da duração e da velocidade de rotação do SREF, para fazer chegar um volume predefinido de um dado fluido de um RI, passando por uma ZD, até um RF.

Dispositivos de detecção química e/ou biológica

Um dispositivo de detecção química e/ou biológica é constituído por três elementos essenciais: (A) um elemento de reconhecimento químico e/ou biológico capaz de reconhecer de forma específica um dado composto; (B) um mecanismo de transdução capaz de converter o reconhecimento químico e/ou biológico em informação quantitativa; e (C) um mecanismo de encaminhamento de fluidos, capaz de fazer chegar de forma controlada ao elemento de reconhecimento biológico um fluido, contendo o elemento a detectar

(A) Elemento de reconhecimento químico e/ou biológico

O princípio de um elemento de reconhecimento químico e/ou biológico assenta no mecanismo macho-fêmea, sendo construída normalmente uma superfície capaz de identificar de forma específica um dado elemento a detectar. Para tal,

existem diversas abordagens, podendo utilizar-se camadas de orientação aleatória ou direccionada, constituídas por enzimas, lectinas ou anticorpos. O desempenho deste elemento de um dispositivo de detecção de diversos parâmetros, nomeadamente a sua sensibilidade (definida pelo seu limite de detecção), especificidade (definida pelo grau de insensibilidade a outros elementos presentes no meio a detectar), e finalmente a durabilidade. No caso de dispositivos de detecção química e/ou biológica de proteínas ou enzimas o elemento de reconhecimento biológico que actualmente apresenta um melhor desempenho consiste numa CDET composta por anticorpos específicos orientados.

O elemento de reconhecimento químico e/ou biológico pode ser construído por diversos mecanismos, nomeadamente através da absorção química, encapsulamento numa matriz de polímero e finalmente pela ligação química covalente a uma superfície sólida do elemento de reconhecimento biológico. A escolha do tipo de elemento de reconhecimento químico e/ou biológico não cabe no âmbito da presente invenção, servindo o detalhe acima descrito apenas para melhor situar o especialista na técnica nas diversas possibilidades existentes para a definição deste elemento de um biosensor.

(B) Mecanismo de transdução

Existem diversos métodos capazes de converter os eventos ocorridos no elemento de reconhecimento químico e/ou biológico em informação quantitativa capaz de ser tratada e analisada, nomeadamente transdutores electroquímicos, vibratórios, magnéticos e ópticos.

A detecção óptica baseada no efeito de RPS é essencialmente uma técnica de determinação de índices de refração de fluidos. A diferença mais significativa desta técnica em relação às técnicas convencionais de detecção de índices de refração consiste na escala e na forma como esta detecção é realizada: nas técnicas convencionais, todo o volume de um dado fluido contribui para a resposta óptica, a qual resulta numa medida do índice de refração. No caso da detecção por efeito de RPS, apenas é relevante o volume do fluido junto de uma superfície condutora.

Efeito de RPS

O efeito de RPS é um fenómeno óptico que resulta da oscilação da densidade da carga numa interface entre dois meios com constantes dieléctricas de sinais opostos, em particular, na interface de um meio dieléctrico e um meio metálico (ver referência 1). Neste caso, a onda de plasmão de superfície (OPS) é uma onda electromagnética com polarização TM (vector magnético da onda perpendicular à direcção de propagação e paralela ao plano da interface). A constante de propagação β da OPS pode ser descrita pela equação (1),

$$\beta = \lambda \sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \quad (1)$$

em que λ é o comprimento de onda, ϵ_m é a constante dieléctrica do metal ($\epsilon_m = \epsilon_{mr} + i\epsilon_{mi}$) e ϵ_d é a constante dieléctrica do meio dieléctrico. A OPS ocorre desde que $\epsilon_{mr} < 0$ e $|\epsilon_m| < \epsilon_d$. Neste caso, o efeito de RPS propaga-se na interface entre os dois meios e decresce de forma exponencial ao longo dos dois meios. Por outro lado, o efeito de RPS é apenas detectável se o meio metálico apresentar uma espessura numa gama estreita (tipicamente, no caso de uma camada de ouro, o efeito de RPS ocorre com espessuras entre 25 nm e 150 nm).

Atendendo a estes factos, a constante de propagação da OPS é extremamente sensível a variações do índice de refração no meio dieléctrico próximo da interface. Esta constatação é a base do princípio de detecção dos sensores de RPS: a imobilização de um objecto biológico (proteína, enzima, etc.) junto da interface resulta numa variação local (à escala de alguns nanómetros) do índice de refração (pois normalmente o índice de refração de soluções aquosa é próximo de 1,33 e o índice de refração de objectos biológicos é próximo de 1,54). Esta variação resulta numa alteração da constante de propagação da OPS, que poderá ser detectada com precisão por meios ópticos, dependendo da configuração utilizada, como descrito em seguida.

Configurações de RPS

Existem três formas básicas de detectar o efeito de RPS:

(i) a medição das intensidades da radiação reflectida em função do ângulo de incidência da radiação, para um comprimento de onda predefinido, detectando-se o efeito de RPS, num ângulo bem definido, para o qual a intensidade da radiação reflectida é mínima;

(ii) a medição das intensidades da radiação reflectida em função do comprimento de onda da radiação para um ângulo predefinido, detectando-se o efeito de RPS num ângulo bem definido, para o qual a intensidade da radiação reflectida é mínima;

(iii) a medida da fase da radiação reflectida em função do ângulo ou do comprimento de onda da radiação, detectando-se o efeito de RPS numa posição bem definida, para a qual a variação da fase da radiação é máxima.

Existem diversas configurações possíveis para detectar o efeito de RPS (ver referência 2), utilizando tipicamente um sistema óptico que cria a OPS (utilizando um elemento de iluminação, por exemplo um laser, ou LED - diodo emissor de luz ou outro componente apropriado) e também detecta o efeito de RPS (utilizando um elemento de medição óptica, por exemplo um CCD ou CMOS ou fotodiodo, ou outro elemento apropriado). O efeito de RPS só ocorre se a componente paralela à interface do vector de onda incidente coincidir com a componente da OPS, e esta situação só se observa por meio de um acoplamento através de um prisma, uma guia de ondas ou uma rede de difracção. O especialista na técnica poderá rapidamente compreender as diversas configurações através da consulta de literatura técnica acessível, nomeadamente consultando a referência 1.

(C) Encaminhamento de fluidos

Para completar as funções necessárias ao desempenho de um biosensor, resta a definição do processo de encaminhamento de fluidos. O procedimento convencional para o encaminhamento

de fluidos consiste na utilização de um elemento de bombeamento externo, ligando por tubagens, reservatórios de entrada, a ZD e finalmente reservatórios de saída. Esta abordagem é complexa e em consequência, dispendiosa. Para ultrapassar as limitações associadas à utilização dos módulos externos de gestão e encaminhamento de fluidos, foram propostos diversos mecanismos de encaminhamento de fluidos com a possibilidade de integração e miniaturização (ver referência 3), nomeadamente através do controlo da pressão, da acústica, da electrocinética e da força centrífuga.

A utilização da força centrífuga em canais (ver referência 4) apresenta diversas vantagens em relação a outras tecnologias, em particular, devido à sua simplicidade e vasta gama de volumes e fluxos utilizáveis. Assim, podem ser definidas zonas de entrada, de armazenamento, de detecção, de mistura e de saída de fluidos através de padrões geométricos ou de propriedades de superfície. Podem ainda ser definidas, através dos mesmos processos, válvulas passivas para o controlo do encaminhamento de fluidos unicamente através da variação da velocidade de rotação do substrato (ver referência 5). Este último aspecto é particularmente vantajoso pois permite uma grande simplificação do processo de construção e utilização dos dispositivos de encaminhamento de fluidos.

A presente invenção propõe a integração num único substrato de zonas de detecção RPS, definidas por uma rede de difracção e uma camada metálica fina (~25 nm-150 nm) e canais, válvulas e reservatórios permitirá a construção de sensores de RPS simplificados para diversas aplicações de detecção química e/ou biológica.

Estado da técnica

A patente US5994150 e as patentes associadas (pedido de patente US2001031503 e patentes US6653152 e US6277653) descrevem um sistema de detecção que utiliza um disco circular rotativo com múltiplas zonas de detecção. O disco de acordo com o invento não contém qualquer estrutura de encaminhamento de fluidos, ou cavidade de detecção, ou

padrões de tensões superficiais, nos quais se possa realizar o encaminhamento de diferentes fluidos.

O pedido de patente WO9721090 descreve um sistema de localização de elementos químicos ou biológicos ou zonas de detecção no SREF e ainda os mecanismos de encaminhamento de fluidos através da centrifugação, utilizando um mecanismo modificado de leitura de CD com as funções de leitura de informação existente no CD modificado e também da rotação do suporte para o encaminhamento de fluidos. A referida patente descreve, essencialmente, os mecanismos de controlo de fluidos, fazendo ainda referência a métodos de detecção óptica convencionais, não sendo referida a utilização de métodos de detecção baseados no efeito de RPS.

A patente US6030581 descreve um sistema de gestão de fluidos baseado num leitor de CD modificado, no qual as diversas funções necessárias ao seu funcionamento são desempenhadas unicamente pelo leitor de CD modificado, em particular as funções de: (1) controlo da posição de zonas específicas (por exemplo, as zonas de armazenamento, detecção ou reacção); (2) posicionamento de fluidos; (3) encaminhamento de fluidos entre zonas predefinidas (por exemplo, de zonas de armazenamento para zonas de detecção); (4) detecção óptica de reacções químicas ou de imobilizações através do sistema óptico do leitor de CD modificado. A referida patente aplica-se a sistemas nos quais é utilizada uma técnica de detecção óptica convencional, não sendo referida a utilização de métodos de detecção baseados no efeito de RPS.

A patente JP2004117048 descreve um sistema de detecção RPS na configuração de prisma, com base num disco circular rotativo. Não é descrito qualquer sistema de gestão e encaminhamento de fluidos.

O pedido de patente WO03102559 descreve um sistema de detecção RPS na configuração de prisma com base num disco circular rotativo e com o sistema integrado de gestão de fluidos. Não é feita qualquer referência a um sistema de detecção RPS na configuração de rede de difracção. Nesta patente o SREF inclui uma geometria de prisma na ZD, para que

a radiação incida de forma perpendicular à superfície do substrato e devido ao facto desta ser oblíqua à superfície condutora, a radiação incide de forma oblíqua à camada condutora, sendo assim possível a criação da OPS. Este facto implica a criação de padrões no substrato de difícil realização. A existência dos referidos padrões limita a utilização do SREF para elevadas velocidades de rotação, sob as quais a uniformidade do SREF 40 se torna essencial para garantir a qualidade da detecção óptica e a estabilidade estrutural do substrato.

Estão publicados dois estudos de caracterização do efeito de RPS em discos com rede de difracção (ver referências 6 e 7), mas estes estudos referem-se apenas ao estudo do efeito de RPS na interface ouro-ar, e não se referem à detecção de qualquer elemento químico ou biológico. Também não referem qualquer fluido ou mecanismo de gestão ou encaminhamento de fluidos.

Dada a complexidade associada ao processo convencional de gestão de fluidos em sensores, foram propostas diversas abordagens de gestão e encaminhamento de fluidos, com vista à integração dos componentes. Estas abordagens podem ser descritas em função do seu princípio de funcionamento: pressão, acústica, electrocinética e centrifugação (ver referência 3). Esta última técnica apresenta diversas vantagens face as restantes abordagens, fundamentalmente devido à sua simplicidade e elevada precisão (ver referências 4 e 5).

A técnica de detecção baseada no efeito de RPS tem sido utilizada nos últimos anos (ver referência 2), existindo hoje alguns produtos comerciais baseados neste efeito e funcionando na configuração de prisma ("SPReeta" da "Texas Instruments", "Biacore"). A configuração de rede, apesar dos níveis de sensibilidade e resolução semelhantes aos obtidos na configuração de prisma (ver referência 1) é praticamente residual e confinada a estudos académicos, embora existam dois exemplos de aplicações comerciais de sensores de RPS nesta configuração ("HTS Biosystems" e "GWC Technologies"), utilizando redes de difracção uniformes e lineares.

Actualmente não existe nenhuma aplicação comercial ou patente ou estudo académico que integre as duas componentes de:

- (i) gestão de fluidos por centrifugação, e
- (ii) detecção por RPS em rede de difracção.

As seguintes publicações são aqui englobadas por referência:

1. Homola, J. Et al. Sensors and Actuators 54, 3-15 (1999);
2. Homola, J. Anal Bioanal Chem 377, 528-539 (2003);
3. ZOVAL, JV and MADOU MJ., Proceedings of the IEEE (2004), 92, 140-153;
4. Duffy, D.C. et al. Anal. Chem. 71, 4669-4678 (1999);
5. Felton, MJ, Anal. Chem. 75, 302A-306A (2003);
6. Fontana, E. Applied Optics 43, 79-87 (2004);
7. Chiu, KP et. al. Jap. J. Appl. Phys. Part 1 43, 4730-4735 (2004);
8. T. Brenner, et al. Lab on a Chip, 5(2):146-150, 2005

Objecto da Presente Invenção

Constatou-se que seria relevante a possibilidade de detectar a ocorrência de reacções químicas e/ou biológicas em determinadas zonas de estruturas microscópicas, utilizando para tal:

(a) a técnica de RPS baseada em redes de difracção, uma vez que esta configuração RPS apresenta diversas vantagens face em relação a outras configurações previamente desenvolvidas, nomeadamente em termos de simplicidade e custos de construção do dispositivo de detecção, para sensibilidades semelhantes;

(b) o sistema de encaminhamento de fluidos baseado no controlo da rotação de SREF, uma vez que este sistema de encaminhamento de fluidos dispensa a utilização de elementos adicionais tais como sistemas de bombeamento, resultando numa significativa redução dos custos de produção e utilização do sistema;

(c) o SREF a utilizar na detecção, integrando diversas funções tais como o armazenamento em reservatórios, o encaminhamento em canais e zonas de detecção, que uma vez incluindo uma CDET contendo uma fina camada condutora e comportando-se como uma rede de difracção, permite uma simplificação na construção e utilização do substrato e, por conseguinte, do dispositivo final.

Num primeiro aspecto, a presente invenção compreende um sistema óptico de iluminação e medição, constituído por um emissor de radiação e um detector de radiação, para detectar eventos que ocorrem na proximidade da superfície de uma CDET, incluindo uma película fina condutora que se comporta como uma rede de difracção, definida num SREF contendo canais, válvulas e reservatórios, cuja velocidade de rotação é controlada para encaminhar os diferentes fluidos de RI para RF passando por, pelo menos, uma ZD, sendo esta construída de modo a conter uma fina camada condutora e comportando-se como uma rede de difracção, permite a utilização do fenómeno RPS para a detecção de eventos químicos e/ou biológicos.

Num segundo aspecto, a presente invenção consiste num sensor de RPS, constituído por um SREF e por um sistema óptico, constituído por um emissor de radiação e um detector de radiação, para detectar eventos que ocorrem na proximidade da superfície de uma rede de difracção, que é composta por uma película fina condutora, de forma a obter no detector de radiação um sinal de RPS que indique:

(i) a presença de uma dada substância, e/ou

(ii) a ocorrência de um dado evento químico e/ou biológico numa ZD da estrutura de canais do SREF.

O posicionamento do emissor e detector de radiação face ao SREF é realizado de modo que o feixe incidente na ZD contenha, pelo menos, um ângulo de incidência, para o qual se verifica o acoplamento óptico na camada condutora, observando-se assim o efeito de RPS. Esta configuração depende de diversas propriedades, em particular dos seguintes parâmetros:

- comprimento de onda da radiação incidente na ZD;
- índice de refração, coeficiente de extinção e espessura da camada condutora;
- ângulos de incidência;
- índice de refração e coeficiente de extinção do fluido presente na ZD.

Estes parâmetros serão normalmente estáticos para uma dada realização do presente invento, pelo que outro termo essencial contribui para o referido efeito de RPS, a saber, o índice de refração imediatamente junto à camada condutora da ZD. É este índice de refração, integrado ao longo de uma dada espessura que é também característica do sistema (expressa pelo parâmetro L , comprimento de penetração da OPS, dependente dos parâmetros acima referidos) que é directamente detectável pelo sensor de RPS através da observação da radiação incidente no detector óptico (dependendo da forma ou configuração do sensor de RPS, observando-se a intensidade da radiação em função do ângulo de incidência, ou a intensidade da radiação em função do comprimento de onda, ou a intensidade em função da fase da radiação).

Neste sentido e fixados todos os parâmetros, é possível observar uma alteração do padrão luminoso no sensor de RPS e daí obter de forma quantitativa a alteração do índice de refração junto à camada condutora da ZD. Esta observação pode em seguida ser utilizada para quantificar a imobilização na superfície de um dado elemento químico e/ou biológico, ou ainda a reacção entre duas moléculas próximas da superfície de detecção.

Breve descrição das Figuras

A FIG. 1A mostra de forma esquemática o corte horizontal de um sensor de RPS de acordo com a arte anterior, com a representação dos elementos exteriores de encaminhamento de fluidos;

a FIG. 1B mostra de forma esquemática o corte vertical de um sensor de RPS da arte anterior, sem a representação dos elementos exteriores de encaminhamento de fluidos;

as FIGS. 2A e 2B mostram, respectivamente, de forma esquemática em corte horizontal e em corte vertical um sensor de RPS de acordo com a presente invenção;

as FIG. 3A, 3B e 3C ilustram de forma simplificada os possíveis diagramas de posição do fluido em função da velocidade de rotação, para o sensor de RPS representado nas FIGS. 2A e 2B.;

a FIG. 4 mostra de forma esquemática em corte horizontal de um SREF de um sensor de RPS de acordo com a presente invenção, contendo três fluidos e uma ZD;

a FIG. 5A mostra de forma esquemática em corte horizontal um SREF no qual a é ajustada a tensão superficial dos reservatórios, válvulas e canais de modo a permitir o retorno do fluido após a paragem do SREF;

a FIG. 5B ilustra de forma simplificada o diagrama de posição do fluido em função da velocidade de rotação para um sensor de RPS de acordo com a FIG. 5A;

a FIG. 6 mostra de forma esquemática em corte horizontal um SREF 40 de um sensor de RPS de acordo com a presente invenção, no qual as dimensões e valores de tensão superficial dos diferentes elementos do SREF são definidos de modo a permitir a escolha de um entre dois fluidos na realização da detecção de RPS;

a FIG. 7 mostra de forma esquemática em corte horizontal um SREF de um sensor de RPS de acordo com a presente

invenção, no qual as dimensões e valores de tensão superficial dos diferentes elementos do SREF são definidos de modo a permitir a escolha de uma entre duas zonas de detecção na realização da detecção de RPS;

a FIG. 8 mostra de forma esquemática em corte horizontal um SREF de um sensor de RPS de acordo com a presente invenção, contendo elementos de detecção auxiliar que permitem a determinação com precisão da temperatura na proximidade da ZD;

a FIG. 9 mostra de forma esquemática em corte horizontal um SREF de um sensor de RPS de acordo com a presente invenção, no qual as dimensões dos diferentes elementos do SREF são mantidas constantes e apenas é variada a tensão superficial, comportando-se o sensor de forma idêntica ao ilustrado na FIG. 2A;

a FIG. 10 mostra de forma esquemática em corte vertical um SREF de um sensor de RPS de acordo com a presente invenção, no qual a detecção se baseia na medida da variação do comprimento de onda correspondente ao efeito de RPS;

a FIG. 11 mostra de forma esquemática em corte vertical um SREF de um sensor de RPS de acordo com a presente invenção, no qual a detecção se baseia na medida da variação da fase correspondente ao efeito de RPS.

A FIG. 1A mostra de forma esquemática o corte horizontal de um sensor de RPS 10 de acordo com a arte anterior. Um conjunto de elementos exteriores de encaminhamento 60, constituído por tubagens 61, um sistema de bombeamento 62, reservatórios de fluido 63 e um elemento de selecção de fluido 64 é utilizado para fazer chegar os fluidos ao SREF 40. Este substrato é constituído por um RI 41, ligados a uma camada de detecção 42 e a um RF 44 através de canais 45. Os padrões geométricos dos diferentes elementos constituintes do SREF 40 são definidos por espaçadores de confinamento 46.

A FIG. 1B mostra de forma esquemática o corte vertical de um sensor de RPS 10 da arte anterior, sem a representação dos elementos exteriores de encaminhamento 60. O emissor de

radiação 20 emite um feixe convergente que incide na CDET 43 da ZD 42, estando esta confinada pela cobertura 47 e o suporte 48 do SREF 40. A CDET 43 é constituída por uma rede de difracção de modo a permitir o acoplamento óptico e a ocorrência do efeito de RPS. A radiação reflectida da CDET 43 incide no detector de radiação 30 de modo a permitir a análise quantitativa do efeito de RPS. Uma vez que a CDET contém uma superfície condutora que se comporta como uma rede de difracção, o detector de radiação 30 pode ser colocado em diferentes posições, desde que estas coincidam com uma das ordens de difracção. Em alternativa à representação indicada, o sensor de RPS 10 pode ser utilizado com o SREF 40 rodado de 180° em torno do eixo horizontal, de modo que a radiação incida na cobertura 47 e atravessando o fluido na ZD 42.

Descrição das concretizações actualmente preferidas do invento

Num primeiro aspecto, a presente invenção compreende um sistema de iluminação e medição óptica, constituído por um emissor de radiação 20 e um detector de radiação 30, para detectar eventos químicos e/ou biológicos que ocorrem na proximidade da superfície de uma CDET 43 incluindo uma película fina condutora comportando-se como uma rede de difracção, definida num SREF 40, contendo canais 45, válvulas 50, RI 41 e RF 44, cuja velocidade de rotação é controlada por um mecanismo de controlo de rotação 70, que inclui um motor 71 e um controlador 72, de modo a encaminhar os diferentes fluidos de RI 41 para RF 44, passando por, pelo menos, uma ZD 42, que contém uma CDET 43, sendo esta construída de modo a conter uma fina camada condutora e comportando-se como uma rede de difracção, permite a utilização do fenómeno de RPS para a detecção de eventos químicos e/ou biológicos.

A FIG. 2A ilustra de forma esquemática um corte horizontal de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção. O SREF 40 contém um RI 41 ligado a uma ZD 42 e finalmente a um RF 44, por meio de canais 45. Entre o RI 41 e a ZD 42 existe uma válvula 50 que impede a passagem do fluido desde que a rotação do SREF 40 seja inferior a um determinado patamar, definido pela equação 2. A velocidade e a duração da

rotação do SREF 40 são controladas por um mecanismo de controlo de rotação 70 que inclui um motor 71 e um controlador 72.

A FIG. 2B ilustra de forma esquemática um corte vertical de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção. O SREF 40 é definido por uma cobertura 47 e um suporte 48 e contém um RI 41 ligado a uma ZD 42 e finalmente a um RF 44, por meio de canais 45, sendo o padrão geométrico dos diferentes elementos do SREF 40, definido por espaçadores de confinamento 46. Entre o RI 41 e a ZD 42 existe uma válvula 50 que impede a passagem do fluido desde que a rotação do SREF 40 seja inferior a um determinado patamar, definido pela equação 2. A velocidade e a duração da rotação do SREF 40 são controladas por um mecanismo de controlo de rotação 70, que inclui um motor 71 e um controlador 72. O emissor de radiação 20 emite um feixe convergente que incide na CDET 43 da ZD 42, estando esta confinada pela cobertura 47 e o suporte 48 do SREF 40. A CDET 43 é constituída por uma rede de difracção de modo a permitir o acoplamento óptico e a ocorrência do efeito de RPS. A radiação reflectida da CDET 43 incide no detector de radiação 30 de modo a permitir a análise quantitativa do efeito de RPS. Uma vez que a CDET contém uma superfície condutora que se comporta como uma rede de difracção, o detector de radiação pode ser colocado em diferentes posições, desde que estas coincidam com uma das ordens de difracção. Em alternativa à representação indicada, o sensor de RPS 10 pode ser utilizado com o SREF 40 rodado de 180° em torno do eixo horizontal, de modo que a radiação incida na cobertura 47 e atravessando o fluido na ZD 42.

Num segundo aspecto, a presente invenção consiste na configuração do sensor de RPS 10, constituído por um SREF 40 e por um sistema óptico contendo um emissor de radiação 20 e um detector de radiação 30, de forma a obter no detector de radiação 30 um sinal de RPS que indique (i) a presença de uma dada substância e/ou (ii) a ocorrência de um dado evento químico e/ou biológico numa ZD 42 do SREF 40.

O sistema descrito na presente invenção contém diferentes elementos, de acordo com a FIG. 2A e a FIG. 2B: (A) Um emissor de radiação 20; (B) um SREF 40; (C) Um

mecanismo de controlo de rotação 70 que inclui um suporte rotativo 73, um motor 71 e um controlador 72; (D) um detector de radiação 30. Em seguida é apresentada a descrição detalhada de cada um destes subsistemas e ainda a forma de combinar as funcionalidades de cada um dos subsistemas de forma inovadora e vantajosa.

O emissor de radiação 20 é composto por um elemento capaz de emitir radiação com um espectro electromagnético conhecido, estável e bem definido. No caso de um sensor de RPS 10 na configuração de detecção de intensidades da radiação reflectida em função do ângulo de incidência da radiação, preferencialmente o emissor de radiação 20 consiste num laser ou diodo laser, de modo que o espectro da radiação emitida seja suficientemente estreito na sua gama de comprimentos de onda de modo que o fenómeno de RPS a observar apresente uma forte variação para uma pequena variação de ângulos de incidência. Ou alternativamente, o emissor de radiação 20 pode consistir num LED acoplado a um filtro de radiação capaz de eliminar todo o espectro de radiação emitida excepto uma pequena janela de radiação numa estreita gama de comprimentos de onda. Esta última característica do emissor de radiação pode ser considerada preferencial, por eliminar o possível ruído associado a interferências difractivas, embora não seja uma condição essencial para o funcionamento de um sensor de RPS 10. A radiação emitida pelo emissor 20 incide na CDET 43 da ZD 42 do SREF 40, radiação essa que após reflexão ou transmissão numa das ordens difractivas é transmitida na direcção do detector de radiação 30.

O SREF 40, como descrito na FIG. 2A e FIG. 2B, contém todos os elementos necessários para (a) armazenar fluidos nos RI 41 e RF 44; (b) conduzir fluidos através de canais 45 passando por zonas de detecção 42; (c) permitir o controlo do encaminhamento de fluidos através da utilização de válvulas 50. A ZD 42 contém uma CDET 43 constituída por uma fina camada condutora na qual a topografia apresenta uma variação periódica de tal modo que esta se comporta como uma rede de difracção. Para que este comportamento ocorra torna-se necessário que o período da rede de difracção seja da mesma ordem de grandeza que o comprimento de onda da radiação

incidente λ , normalmente $250 \text{ nm} < \lambda < 2500 \text{ nm}$ e preferencialmente $320 \text{ nm} < \lambda < 1600 \text{ nm}$.

O posicionamento do emissor de radiação 20 face ao SREF 40 é realizado de modo que o feixe incidente na ZD 42 contenha, pelo menos, um ângulo de incidência para o qual se verifique o acoplamento óptico na camada condutora, observando-se assim o efeito de RPS. Esta configuração depende de diversas propriedades, em particular dos seguintes parâmetros:

- comprimento de onda da radiação incidente na ZD 42;
- índice de refração, coeficiente de extinção e espessura da camada condutora da CDET;
- ângulos de incidência,
- índice de refração e coeficiente de extinção do fluido presente na ZD 42.

Estes parâmetros serão normalmente estáticos para uma dada realização do presente invento, pelo que outro termo essencial contribui para o referido efeito de RPS, a saber, o índice de refração imediatamente junto à CDET 43 da ZD 42. É este índice de refração, integrado ao longo de uma dada espessura que é também característica do sistema (expressa pelo parâmetro L , comprimento de penetração da OPS, dependente dos parâmetros acima referidos) que é directamente detectável pelo sensor de RPS 10 através da observação da radiação incidente no detector de radiação 30. Dependendo da forma ou configuração do sensor de RPS, pode observar-se a intensidade da radiação em função do ângulo de incidência, ou a intensidade da radiação em função do comprimento de onda, ou ainda a intensidade em função da fase da radiação.

Neste sentido e fixados todos os parâmetros, é possível observar uma alteração do padrão luminoso no sensor de RPS 10 e daí obter de forma quantitativa a alteração do índice de refração junto à CDET 43 da ZD 42. Esta observação pode em seguida ser utilizada para quantificar a imobilização na superfície da CDET 43 de um dado elemento químico e/ou

biológico, ou ainda a reacção entre dois elementos químicos e/ou biológicos que se encontrem na proximidade superfície da CDET 43 da ZD 42.

A rotação do SREF 40 que contém a ZD 42 é controlado em velocidade, aceleração e posição, através de um sistema de controlo de rotação 70 que inclui um motor 71, um controlador 72 e um suporte rotativo 73. O controlo do motor 71 pode ser realizado através de impulsos eléctricos de amplitude e duração definidos pelo controlador 72.

A velocidade de rotação necessária para fazer chegar um fluido de uma zona de raio r_1 a uma zona de raio r_2 é dada, numa primeira análise, pela equação (2):

$$\omega_c = 2 \sqrt{\frac{\gamma \cos \theta}{\rho R \Delta R d_H}} \quad (2)$$

que expressa o equilíbrio entre as forças resultantes da aceleração centrífuga e da força capilar devido à tensão superficial, sendo θ o ângulo de contacto entre o fluido e a superfície do SREF 40, γ a tensão superficial do fluido, $R = (r_1 + r_2)/2$, $\Delta R = r_2 - r_1$, ρ a densidade do fluido e d_H o diâmetro hidráulico dos canais e reservatórios.

A existência da válvula 50 colocada entre o RI 41 e a ZD 42 representa uma barreira energética que impede a passagem do fluido em condições normais de repouso, desde que as propriedades de superfície dos canais 45 e da válvula 50 sejam correctamente definidos. Por exemplo, para um escoamento de um fluido aquoso, se os canais 45 e a válvula 50 apresentarem um carácter hidrófobo, a variação de geometria na interface canal-válvula representa um custo energético adicional que impedirá o fluido de avançar, de acordo com a equação 2. Em alternativa, os canais podem ser hidrófilos e a válvula hidrofóbica, obtendo-se o mesmo tipo de comportamento. Pelo contrário, se a válvula 50 apresentar um carácter hidrófilo deixa de poder desempenhar o papel de barreira energética.

A FIG. 3A mostra um diagrama de localização do fluido em função da velocidade de rotação ω do SREF 40 descrito na FIG.

2A. Dadas as características geométricas e de tensões superficiais do RI 41, dos canais 45 e da válvula 50, o fluido preenche de forma espontânea o canal 45 que liga o RI 41 à válvula 42. Devido à disposição radial dos diversos elementos do SREF 40, a posição do fluido apresenta um patamar descrito pela velocidade crítica ω_c a partir da qual o fluido se desloca até à válvula 42 a uma velocidade linear definida pela equação (3):

$$v = \frac{\rho \omega^2 R}{2\eta} A^2 \quad (3)$$

sendo ρ e η respectivamente a densidade e viscosidade do fluido, R a posição média da coluna de líquido ($R = (r_1 + r_2)/2$) e A dimensão lateral do canal 45.

Primeiro Exemplo

Consideremos como primeiro exemplo o caso em que os volumes ocupados pelos canais 45, válvula 50 e ZD 42 são, na sua soma, inferiores ao volume do RI 41. O RI 41, a válvula 50, a ZD 42 e o RF 44 apresentam um carácter hidrófobo e os canais 45 um carácter hidrófilo.

Considera-se o regime semi-estacionário em que apenas se observam lentas variações da velocidade de rotação do SREF 40 face à velocidade linear de escoamento do fluido. No caso contrário, poderia, por exemplo, observar-se a ruptura da coluna de fluido no caso de grandes variações temporais da velocidade de rotação, mas não é este o caso considerado mais favorável no presente invento.

Assim, o sistema apresenta três patamares de velocidade de rotação, para as posições da frente do fluido à entrada da válvula 50, à entrada da ZD 42 e à entrada do RF 44. O valor de cada uma destas velocidades críticas pode ser ajustado através da posição de cada um dos elementos face ao RI 44 e também pelo controlo da dimensão dos canais 45 e do seu respectivo diâmetro hidráulico. No caso concreto deste primeiro exemplo descrito pela FIG. 2A e FIG. 2B, existem seis diferentes possibilidades de encaminhamento dos fluidos, como indicado nas FIGS. 3A, 3B e 3C.

As FIGS. 3A, 3B e 3C ilustram os possíveis perfis de velocidades de rotação mínimas necessários para encaminhar sequencialmente o fluido do reservatório 41 para a ZD 42 e finalmente para o RF 44. Neste caso, o especialista na técnica poderá escolher um dos seis regimes de controlo do fluido descrito nas referidas figuras, em função dos parâmetros geométricos e posicionais dos diferentes componentes do SREF 40.

A FIG. 3A ilustra os casos em que a principal barreira ao escoamento do fluido é definida pela válvula 50. Por exemplo, considerando $r_{50}=15$ mm e $dH_{50}=0,1$ mm, podemos ter em termos relativos, $r_{50}=1$, $r_{42}=2$, $r_{44}=3$ e $dH_{50}=dH_{42}=dH_{44}=1$ (curva a cheio) e $r_{50}=1$, $r_{42}=2$, $r_{44}=3$ e $dH_{50}=dH_{42}=1$, $dH_{44}=0,3$ (curva a tracejado).

A FIG. 3B ilustra os casos em que a principal barreira ao escoamento do fluido é definida pela ZD 42. Por exemplo, considerando $r_{50}=15$ mm e $dH_{50}=0,1$ mm, podemos ter em termos relativos, $r_{50}=1$, $r_{42}=1,75$, $r_{44}=2,5$ e $dH_{50}=dH_{44}=1$, $dH_{42}=0,15$ (curva a cheio) e $r_{50}=1$, $r_{42}=1,75$, $r_{44}=2,5$ e $dH_{50}=1$, $dH_{42}=dH_{44}=0,15$ (curva a tracejado).

A FIG. 3C ilustra os casos em que a principal barreira ao escoamento do fluido é definida pelo RF 44. Por exemplo, considerando $r_{50}=15$ mm e $dH_{50}=0,1$ mm, podemos ter em termos relativos, $r_{50}=1$, $r_{42}=1,75$, $r_{44}=2,5$ e $dH_{50}=dH_{44}=1$, $dH_{42}=0,15$ (curva a cheio) e $r_{50}=1$, $r_{42}=1,75$, $r_{44}=2,5$ e $dH_{50}=1$, $dH_{42}=dH_{44}=0,15$ (curva a tracejado).

De notar que para que o sistema obedeça de facto ao descrito na equação (2) é necessário que a componente da pressão atmosférica, sentida nas extremidades da coluna de fluido seja a mesma, podendo obter-se de forma simples se o RI 41 e o RF 45 estiverem abertos ao exterior (por exemplo, por meio de uma válvula adicional) ou ainda se existir um canal equilíbrio de pressão 49 de ar que ligue directamente os dois reservatórios. No caso de não existir equilíbrio de pressões o sistema funciona com uma contribuição adicional que resultará num aumento das velocidades de rotação críticas pois à medida que o fluido avança nos canais 45, observa-se uma depressão no RI 41 que tenderá a recuar para a sua

posição de repouso. Esta configuração poderá ainda ser explorada para concretização conforme descrito no presente invento.

Na realidade o comportamento do sistema descrito na FIG. 2A e FIG. 2B depende fortemente das posições de início (r_1) e fim (r_2) da coluna de fluido, de acordo com a equação (2), pelo que os volumes de cada um dos elementos do SREF 40 terão que ser correctamente dimensionados pelo especialista na técnica para que o sistema tenha o desempenho desejado, tendo em conta o tipo de detecção de RPS pretendido. Assim, descrevemos mais em detalhe em seguida alguns exemplos de concretizações do presente invento. Por exemplo, para um diâmetro hidráulico constante em todos os canais 45, se a distância da ZD 42 ao início do RI 41 for o dobro da distância deste à válvula 50, então de acordo com a equação (2) a velocidade de rotação crítica para o segundo patamar w_{c2} é metade da primeira velocidade de rotação crítica w_{c1} . Se a distância do RF 44 ao início do RI 41 for o triplo da distância deste à válvula 50, a terceira velocidade de rotação crítica w_{c3} será um terço da primeira. Assim, se a velocidade de rotação se mantiver constante e superior a w_{c1} o fluido passará do RI 41 para o RF 44 sem interrupção e até que este esteja cheio. Do ponto de vista prático esta poderá não ser a configuração mais favorável para um sensor de RPS, uma vez que normalmente é vantajoso que o fluido permaneça, durante um período de tempo suficientemente longo na ZD 42, para que os eventos químicos e/ou biológico ocorram. Se agora considerarmos um diâmetro hidráulico do canal 45 que liga a ZD 42 ao RF 44 correspondente a 5% do diâmetro hidráulico dos restantes canais, para as mesmas posições dos elementos do SREF 40, a velocidade de rotação crítica w_{c3} será, de acordo com a equação (2), cerca de 50% superior a w_{c1} . Neste último caso o sistema apresenta dois patamares bem definidos, de acordo com a ilustração da FIG. 3B, podendo assim ajustar-se o tempo de permanência do fluido na ZD 42.

Inicialmente com o SREF em repouso o fluido encontra-se no RI 41, mantendo-se nesta posição até uma dada velocidade crítica, a partir da qual o fluido se desloca no canal 45 até a ZD 42. Geralmente é preferido que as velocidades de rotação do SREF 40 estejam compreendidas entre as 100 rpm e as 4000

rpm. Patamares de velocidade de rotação muito reduzidos podem ser ineficazes a perturbações externas (por exemplo, choques, vibrações), e por outro lado, o sistema apresenta um comportamento mais complexo para velocidades de rotação elevadas. Em particular, para velocidades superiores a 2000 rpm a força de Coriolis não pode ser desprezada na descrição deste tipo de sistemas de encaminhamento de fluidos.

Note-se que, como ilustrado nas FIGS. 3A, 3B e 3C, a passagem de cada uma das possíveis barreiras em velocidade de rotação, impostas pela variação brusca de geometria dos canais 45 e válvulas 50 e/ou das suas tensões superficiais, apenas funciona no regime transitório. Ou seja, o sistema pode encontrar-se num dado instante com uma velocidade de rotação suficientemente elevada para que o fluido ultrapasse uma válvula 50 e em seguida pode ser vantajoso diminuir significativamente a velocidade de rotação, mantendo-se mesmo assim o regime descrito na FIG. 3. Este facto deve ser considerado nos casos em que a velocidade de escoamento do fluido na ZD 42 tem que ser ajustado de forma precisa (por exemplo, no caso de detecção química e/ou biológica o desempenho do dispositivo de detecção depende fortemente das velocidades de escoamento dos fluidos junto da CDET 43.

O desempenho do sensor de RPS 10 descrito neste exemplo não será afectado, por exemplo, de os diferentes elementos do SREF 40 apresentarem diferentes espessuras ou dimensões laterais, desde que o mecanismo de encaminhamento obedeça ao descrito pela equação (2).

Considera-se agora que o sistema contém, para além do já descrito neste exemplo, um emissor de radiação 20 construído de modo que um feixe de radiação incide na ZD 42, que é em seguida medido através de um detector de radiação 30, como mostrado na FIG. 3B. Tipicamente a radiação incidente é monocromática para que o efeito de RPS seja suficientemente evidente para ser detectável. Na construção do sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção, o especialista na técnica pode sempre escolher o comprimento de onda da radiação incidente de acordo com as especificações do sensor (em particular, o ângulo de incidência, as propriedades e espessura da camada condutora) e obedecendo à equação (1).

Normalmente o comprimento de onda da radiação incidente situa-se nas gamas do visível ou do infravermelho próximo. É preferido que o comprimento de onda seja superior ao ultravioleta ($\lambda > 365$ nm), de modo que a radiação não quebre as ligações químicas do fluido ou da superfície de detecção 43. É ainda preferível que o comprimento de onda não seja superior ao infra-vermelho próximo ($\lambda < 1100$ nm) de modo que a radiação seja facilmente detectável por detectores ópticos 30 de baixo custo e elevada resolução, actualmente existentes no mercado.

A novidade da presente invenção consiste então na construção de um dispositivo contendo: (i) um SREF 40 com RI 41 e RF 44, canais 45 e, pelo menos, uma ZD 42 contendo uma CDET 43, que ao comportar-se como uma rede de difracção, permite a detecção do efeito de RPS; (ii) um conjunto de emissor de radiação 20 e detector de radiação 30, posicionados de modo que um feixe de radiação incida na ZD 42 do SREF 40 com uma gama de ângulos, na qual o efeito de RPS se verifique; (iii) o mecanismo de controlo de rotação 70, que inclui um motor 71, um controlador 72 e um suporte rotativo 73, de modo a permitir a realização da seguinte sequência de eventos:

(1) Posicionamento inicial. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70 de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação 20 incida na CDET 43 da ZD 42 numa posição previamente definida, sendo este posicionamento realizado a velocidades suficientemente reduzidas de modo que o fluido não altere a sua configuração de repouso no RI 41. Para tal, o posicionamento deve obedecer ao descrito pela equação (2).

(2) Medida Inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na CDET 43 da ZD 42 e é detectado um sinal de referência, sinal que corresponde, por exemplo, à CDET 43 constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, estando a ZD 42 em contacto com o ar.

(3) Deslocamento do fluido do RI. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma

velocidade suficientemente elevada de modo que a barreira definida pela geometria da transição, entre o canal 45 e a válvula 50, seja ultrapassava pela força centrífuga, de acordo com o descrito na equação (2). Neste caso, o fluido desloca-se do RI 41 para a ZD 42. Este deslocamento do fluido pode permitir a ocorrência de um evento químico e/ou biológico desejado. Por exemplo, se a CDET 43 for constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, e se esse elemento estiver presente no fluido, então deverá ocorrer a imobilização do respectivo elemento junto do respectivo anticorpo. Poderá ser conveniente que o fluido permaneça na ZD 42 no decorrer de um intervalo de tempo suficientemente longo de modo que os eventos químicos ou biológicos desejados ocorram de forma significativa. A optimização deste parâmetro de funcionamento do sensor de RPS 10 depende do tipo de elemento químico e/ou biológico que se pretende detectar, da sua concentração e também das características da ZD 42 (por exemplo, espessura, dimensão longitudinal, etc.), não estando essa optimização no âmbito da presente invenção.

(4) Deslocamento do fluido da ZD 42. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é controlado através do mecanismo de controlo de rotação 70, de modo a encaminhar o fluido da ZD 42 para o RF 44. A velocidade de rotação e a período de tempo, no qual o SREF 40 deve permanecer nessa velocidade, serão devidamente controlados de modo que a totalidade do fluido possa ser evacuado da ZD 42 para que esta possa apresentar um estado semelhante ao seu estado inicial de (i). Por outro lado, o RF 44 deverá conter um volume suficientemente elevado de modo que todo o fluido possa ser evacuado da ZD 42.

(5) Posicionamento final. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação incida na ZD 42 na posição inicial, devendo o mecanismo de controlo de rotação 70 ser suficientemente preciso para se considerar desprezável o erro associado ao posicionamento do SREF 40. Este aspecto é particularmente relevante para o comportamento final do sensor de RPS 10, pois só será possível estabelecer uma detecção com alguma exactidão se as diversas medidas se

realizarem na mesma superfície ou em superfícies com propriedades idênticas.

(6) Medida Final. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42 e é detectado um sinal que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

(7) Determinação de Concentração. O cálculo da diferença entre a medida final e a medida inicial permite, após a comparação com uma relação previamente estabelecida, determinar a concentração na superfície do elemento químico e/ou biológico em estudo. Esta concentração superficial pode ser em seguida extrapolada para uma concentração em solução.

A determinação realizada pelo sensor de RPS 10 consiste, numa primeira realização, na análise através do detector de radiação 30 da intensidade do sinal óptico da ordem zero de reflexão da superfície condutora da CDET 43 em função do ângulo de incidência da radiação. Outras realizações poderão ser consideradas com vantagem, por exemplo, se o detector de radiação 30 for colocado de forma a analisar a intensidade do sinal reflectido da primeira ordem positiva do sinal reflectido e difractado, ou outras ordem de difracção superiores.

Segundo Exemplo

O exemplo anterior demonstra como a presente invenção pode ser utilizada para construir um sensor de RPS que não recorre a elementos de bombagem adicionais para o encaminhamento de um fluido. Na prática, o funcionamento de um sensor de RPS na determinação da ocorrência de eventos químicos e/ou biológicos requer normalmente a utilização sequencial de diferentes fluidos, de modo a permitir a realização de diferentes funções (por exemplo, limpeza de superfície, mistura de fluidos, introdução de anticorpos secundários, etc.). Por outro lado, o processo descrito no primeiro exemplo implica uma medida do efeito de RPS numa superfície seca mesmo após a passagem de um fluido, podendo este facto ser de difícil realização e estar sujeito a um

elevado erro experimental (por exemplo, se a CDET 43 apresentar um carácter hidrófilo então a remoção completa de um fluido aquoso é de difícil realização). De modo a ultrapassar as limitações acima referidas, a presente invenção pode ser explorada através de realizações, nas quais são encaminhados múltiplos fluidos de forma sequencial. Baseando-se nos princípios já descritos e obedecendo ao método de encaminhamento de fluidos descrito na equação (2) é possível a construção de um sensor de RPS que utilize múltiplos fluidos de modo a permitir a realização de detecção química e/ou biológica.

A FIG. 4 ilustra de forma esquemática um corte horizontal de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção e permitindo a detecção de RPS com o encaminhamento sequencial de três fluidos. O SREF 40 contém três RI 41a, 41b e 41c, todos colocados à mesma distância radial r_{41} . Considera-se neste exemplo que todos os canais 45 têm o mesmo diâmetro hidráulico e ainda que a tensão superficial é constante em todo o SREF 40. Devido às dimensões e tensões superficiais dos diferentes elementos do SREF 40, as válvulas 50a, 50b e 50c representam as principais barreiras ao escoamento dos fluidos (de acordo com a representação anterior, o sistema encontra-se no regime descrito pela FIG. 3A). Os RI 41a, 41b e 41c estão ligados por canais 45 às respectivas válvulas 50a, 50b e 50c, que estão ligadas por canais 45 à ZD 42, que por sua vez está ligada por um único canal 45 ao RF 44. Por construção, as posições radiais r_{50a} , r_{50b} e r_{50c} das válvulas 50a, 50b e 50c obedecem à relação $r_{50a} > r_{50b} > r_{50c}$. Assim e de acordo com a equação (2), existem três velocidades críticas ω_{ca} , ω_{cb} e ω_{cc} que definem os patamares de velocidade de rotação para o encaminhamento dos fluidos **a**, **b** e **c** dos seus respectivos reservatórios até à ZD 42. A velocidade e a duração da rotação do SREF 40 são controladas por um mecanismo de controlo de rotação 70 que inclui um motor 71 e um controlador 72.

A novidade da presente invenção consiste então na construção de um dispositivo contendo: (i) um SREF 40 com RI 41a, 41b e 41c, um RF 44, canais 45 e, pelo menos, uma ZD 42 contendo uma CDET 43 que, comportando-se como uma rede de difracção, permite a detecção do efeito de RPS; (ii) um

conjunto de emissor de radiação 20 e um detector de radiação 30, posicionados de modo que um feixe de radiação incida na ZD 42 do SREF 40 com uma gama de ângulos, na qual o efeito de RPS se verifique; (iii) O mecanismo de controlo de rotação 70, que inclui um motor 71, um controlador 72 e um suporte rotativo 73, de modo a permitir a realização da seguinte sequência de eventos:

(1) Deslocamento do primeiro fluido. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{c1}$), modo a que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50a seja ultrapassada pela força centrífuga, mas inferior ao segundo patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{c2}$), de acordo com o descrito na equação (2). Neste caso, o fluido desloca-se do RI 41a para a ZD 42.

(2) Posicionamento inicial. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação 20 incida na CDET 43 da ZD 42 numa posição previamente definida, sendo este posicionamento realizado a velocidades suficientemente reduzidas, de modo que o fluido não altere a sua configuração de repouso no RI 41b e 41c. Para tal, o posicionamento deve obedecer ao descrito pela equação (2).

(3) Medida Inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na CDET 43 da ZD 42 e é detectado um sinal de referência, sinal que corresponde, por exemplo, à CDET 43 constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, estando a ZD 42 em contacto com o primeiro fluido (por exemplo, fluido de referência).

(4) Deslocamento do segundo fluido. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{cb}$), de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50a seja ultrapassada pela força centrífuga, mas inferior ao segundo patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{cc}$), de acordo com o descrito na equação (2). Neste caso, o fluido desloca-se do RI 41b para a ZD 42. Este deslocamento

do fluido pode permitir a ocorrência de um evento químico e/ou biológico desejado. Por exemplo, se a CDET 43 for constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, e se esse elemento estiver presente no fluido, então deverá ocorrer a imobilização do respectivo elemento junto do respectivo anticorpo. Poderá ser conveniente que o fluido permaneça na ZD 42 no decorrer de um intervalo de tempo suficientemente longo, de modo que os eventos químicos e/ou biológicos desejados ocorram de forma significativa. A optimização deste parâmetro de funcionamento do sensor de RPS 10 depende do tipo de elemento químico e/ou biológico que se pretende detectar, da sua concentração e também das características da ZD 42 (por exemplo, espessura, dimensão longitudinal, etc.).

(5) Deslocamento do terceiro fluido. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é controlado através do mecanismo de controlo de rotação 70, de modo a encaminhar o terceiro fluido do seu reservatório 41c para a ZD 42. A velocidade de rotação terá que ser suficientemente elevada de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50c seja ultrapassada pela força centrífuga.

(6) Posicionamento final. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação incida na ZD 42 na posição inicial, devendo o mecanismo de controlo de rotação 70 ser suficientemente preciso para se considerar desprezável o erro, associado ao posicionamento do SREF 40. Este aspecto é particularmente relevante para o comportamento final do sensor de RPS 10, pois só será possível estabelecer uma medida com alguma exactidão, se as diversas medidas se realizarem na mesma superfície ou em superfícies com propriedades idênticas.

(7) Medida Final. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42 e é detectado um sinal que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

(8) Determinação de Concentração. O cálculo da diferença entre a medida final e a medida inicial permite, após a comparação com uma relação previamente estabelecida, determinar a concentração na superfície do elemento químico e/ou biológico em estudo. Esta concentração superficial pode ser em seguida extrapolada para uma concentração em solução.

Este exemplo pode ainda ser generalizado para um sensor de RPS 10 no qual é utilizado um conjunto de fluidos de outra dimensão, estando o seu funcionamento apenas limitado pela correcta separação dos diversos patamares de velocidade de rotação.

Terceiro Exemplo

Os exemplos anteriores demonstram como a presente invenção pode ser utilizada para construir um sensor de RPS, que não recorre a elementos de bombagem adicionais para o encaminhamento de fluidos, mas onde o escoamento dos fluidos é realizado sem retorno, ou seja, de forma unidireccional. Este facto é em muitos casos um factor limitativo do desempenho de um sensor de RPS, em particular quando o elemento a detectar está presente em baixa concentração ou reduzido volume, sendo neste caso vantajoso que o fluido passe múltiplas vezes na ZD 42.

A FIG. 5A ilustra de forma esquemática um corte horizontal de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção e permite a passagem por múltiplas vezes de um fluido na ZD 42. As dimensões geométricas dos diversos elementos do SREF 40 são definidas de modo que canais 45 e a ZD 42 contendam um determinado volume de modo que a totalidade do fluido nunca se encontre unicamente nestes elementos. As tensões superficiais são ajustadas de modo que $\gamma_{41} = \gamma_{44} = \gamma_{45} < \gamma_{42} < \gamma_{50}$ e $\gamma_{42}/r_{42} < \gamma_{50}/r_{50}$. O RI 41 está ligado por um canal 45 à ZD 42 e em seguida à válvula 50 e finalmente ao RF 44.

A FIG. 5B ilustra o comportamento do escoamento de um fluido aquoso do SREF 40, ilustrado na FIG. 5A. Inicialmente, o fluido encontra-se no RI 41. Dado que $\gamma_{41} = \gamma_{45} < \gamma_{42}$, o fluido não avança para a ZD 42. Atingida a velocidade de

rotação crítica $\omega c1$, a barreira representada pela rápida variação de geometria e de tensão superficial da entrada da ZD 42 é ultrapassada e o fluido enche a ZD 42, não avançando na válvula 50 desde que a velocidade seja inferior a $\omega c2$. Mantida a velocidade de rotação o líquido permanece na ZD 42. Se SREF 40 for parado o líquido retorna por capilaridade ao RI 41. Este ciclo pode ser repetido indefinidamente. Se o SREF 40 for rodado a uma velocidade superior à velocidade crítica $\omega c2$, então a barreira definida pela válvula 50 pode ser ultrapassada e o fluido chega ao RF 44. Sendo a tensão superficial deste elemento inferior à tensão superficial da válvula 50 e da ZD 42, o fluido permanecerá de forma irreversível no RF 44, independentemente da velocidade de rotação.

A novidade da presente invenção consiste então na construção de um dispositivo contendo: (i) um SREF 40 com um RI 41, um RF 44, uma válvula 50, canais 45 e, pelo menos, uma ZD 42 contendo uma CDET 43, que, comportando-se como uma rede de difracção, permite a detecção do efeito de RPS; (ii) um conjunto de emissor de radiação 20 e detector de radiação 30 posicionados de modo que um feixe de radiação incida na ZD 42 do SREF 40 com uma gama de ângulos, na qual o efeito de RPS se verifique; (iii) O mecanismo de controlo de rotação 70, que inclui um motor 71, um controlador 72 e um suporte rotativo 73, de modo a permitir a realização da seguinte sequência de eventos:

(1) Posicionamento inicial. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente, emitido pelo emissor de radiação 20, incida na CDET 43 da ZD 42 numa posição previamente definida, sendo este posicionamento realizado a velocidades suficientemente reduzidas de modo que o fluido não altere a sua configuração de repouso no RI 41. Para tal, o posicionamento deve obedecer ao descrito pela equação (2).

(2) Medida Inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na CDET 43 da ZD 42 e é detectado um sinal de referência, sinal que corresponde, por exemplo, à CDET 43 constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, estando a ZD 42 em

contacto com o primeiro fluido (por exemplo, fluido de referência).

(3) ciclo de avanço e recuo do fluido. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{c1}$), modo a que a barreira, definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a ZD 42, seja ultrapassada pela força centrífuga, mas inferior ao segundo patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{c2}$), de acordo com o descrito na equação (2). Neste caso, o fluido desloca-se do RI 41 para a ZD 42. O SREF 40 pode permanecer com velocidade constante durante o período de tempo considerado desejável para que a ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar seja favorecido. Após esse período, o SREF 40 é parado e o fluido retorna por capilaridade ao reservatório 41 dado que $\gamma_{42} > \gamma_{45} = \gamma_{41}$. Em seguida o SREF 40 é novamente rodado e o passo pode ser repetido o número de vezes considerado necessário para o bom desempenho do sensor de RPS 10.

(4) Deslocamento do fluido até ao RF. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é controlado através do mecanismo de controlo de rotação 70, de modo a encaminhar o fluido para o RF 44, devendo assim a velocidade de rotação ser suficientemente elevada para que a barreira, definida pela válvula 50, seja ultrapassada ($\omega > \omega_{c1}$). Dado que $\gamma_{50} > \gamma_{45} = \gamma_{44}$, o fluido mantém-se no RF 44 independentemente da velocidade de rotação.

(5) Posicionamento final. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação incida na ZD 42 na posição inicial, devendo o mecanismo de controlo de rotação 70 ser suficientemente preciso para se considerar desprezável o erro associado ao posicionamento do SREF 40.

(6) Medição Final. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42 e é detectado um sinal que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

(7) Determinação de Concentração. O cálculo da diferença entre a medida final e a medida inicial permite, após a comparação com uma relação previamente estabelecida, determinar a concentração na superfície do elemento químico e/ou biológico em estudo. Esta concentração superficial pode ser em seguida extrapolada para uma concentração em solução.

A combinação da aplicação deste sistema ao descrito anteriormente com a detecção química ou biológica através do efeito de RPS permite, ao especialista da arte, realizar equipamentos de detecção multifuncionais, por exemplo, através da detecção sequencial das variações do sinal de RPS desde uma fase em que a superfície condutora se encontra virgem até à imobilização de anticorpos e elementos químicos ou biológicos a detectar. O descrito neste exemplo da presente invenção pode ainda ser concretizado para diferentes dimensões e tensões superficiais dos diversos elementos do SREF 40, desde que obedecendo à equação (2), se garanta a existência de patamares de velocidade de rotação bem definidos e espaçados para que o encaminhamento sequencial de acordo com o descrito na FIG. 8B.

Quarto Exemplo

Nos exemplos anteriores foram descritas algumas das funções básicas para o desempenho de um dispositivo de detecção. No primeiro exemplo foi demonstrada a utilização da presente invenção para a detecção RPS de elementos químicos e/ou biológicos sem o recurso de elementos externos de encaminhamento de fluidos. Na realidade, para que o funcionamento de um dispositivo de detecção RPS possa ser abrangente e generalista, são necessários os seguintes elementos: (i) um suporte físico que permite a realização de diferentes acções (neste caso, encaminhamento de fluido do ponto A para o ponto B, medida de RPS no ponto C; (ii) a possibilidade de realização de funções cíclicas e funções condicionais.

O primeiro exemplo da presente invenção demonstrou a função básica de um sensor de RPS 10 sem recurso a elementos exteriores de encaminhamento de fluidos. No segundo exemplo foi apresentada uma concretização mais complexa, permitindo a

utilização sequencial de fluidos para a detecção de RPS. No terceiro exemplo foi apresentada a função cíclica de encaminhamento de fluidos (enquanto a condição A for falsa, a execução do ciclo de acções B, no caso concreto, a passagem do fluido do RI 41 para a ZD 42 e após um determinado período, retorno ao RI 41). Neste exemplo é descrita a concretização de uma função condicional num sensor de RPS 10.

A FIG. 6 ilustra de forma esquemática um corte horizontal de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção e que permite a realização de detecção de RPS de um de entre dois fluidos em função do resultado de uma primeira medida. As dimensões geométricas dos diversos elementos do SREF 40 são definidas de modo que canais 45 e a ZD 42 contenham um determinado volume, de modo que a totalidade do fluido nunca se encontre unicamente nestes elementos. O SREF 40 contém quatro reservatórios e três fluidos (fluido **a** no RI 41a, fluido **b** no RI 41b e fluido **c** no RI 41c, estando o reservatório 41d vazio). As válvulas 50a, 50b, 50c, 50d e 50e são construídas de modo que, obedecendo à equação (2), impõem velocidades de rotação crítica $\omega_{ca} < \omega_{cb} < \omega_{cc} < \omega_{ce} < \omega_{cd}$. Por construção, o canal de retorno 51 e o RI 41d apresentam uma tensão superficial inferior à tensão superficial dos canais 45 e do reservatório 41b. Assim, se o SREF 40 for rodado à velocidade ω_{ca} , o fluido **a** é encaminhado do RI 41a para a ZD 42. Em função do resultado da detecção de RPS do fluido **a**, é possível fazer a detecção de RPS seguinte ou com o fluido **b** ou o fluido **c**, dependendo de um dos seguintes procedimentos: (i) o SREF 40 é rodado à velocidade ω_{ce} , o fluido **b** passa a válvula 50b e a válvula 50e e enche a ZD 42; (ii) o SREF 40 é rodado à velocidade ω_{cb} , o fluido **b** chega a válvula 50b e se a velocidade de rotação for inferior a ω_{ce} e se em seguida o SREF 40 for parado, então o fluido **b** escoar-se por capilaridade para o reservatório 41d. Se agora o SREF 40 for rodado a velocidade ω_{cc} o fluido **c** passa a válvula 50c e chega à ZD 42.

A novidade da presente invenção consiste então na construção de um dispositivo contendo: (i) um SREF 40 com RI 41a, 41b, 41c e 41d, um RF 44, válvulas 50, canais 45 e, pelo menos, uma ZD 42 contendo uma CDET 43 que comportando-se como uma rede de difracção permite a detecção do efeito de RPS;

(ii) um conjunto de emissor de radiação 20 e detector de radiação 30 posicionados de modo que um feixe de radiação incida na ZD 42 do SREF 40 com uma gama de ângulos na qual o efeito de RPS se verifique; (iii) O mecanismo de controlo de rotação 70, que inclui um motor 71, um controlador 72 e um suporte rotativo 73, de modo a permitir a realização da seguinte sequência de eventos:

(1) Deslocamento do primeiro fluido. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{ca}$) de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50a seja ultrapassada pela força centrífuga mas inferior ao segundo patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{cb}$), de acordo com o descrito na equação (2). Neste caso, o fluido **a** desloca-se do RI 41a para a ZD 42.

(2) Posicionamento inicial. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70 de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação 20 incida na CDET 43 da ZD 42 numa posição previamente definida, sendo este posicionamento realizado a velocidades suficientemente reduzidas de modo que o fluido não altere a sua configuração de repouso nos RI 41b e 41c. Para tal, o posicionamento deve obedecer ao descrito pela equação (2).

(3) Medição Inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na CDET 43 da ZD 42 e é detectado um sinal de referência, sinal que corresponde, por exemplo, à CDET 43 constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, estando a ZD 42 em contacto com o primeiro fluido.

(4) Tratamento de dados e decisão sobre segundo fluido a passar na ZD. Em função de resultado da medida inicial é escolhido o segundo fluido a passar na ZD 42.

(5a) encaminhamento de fluido b. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{ce}$) de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e as válvulas 50b e 50e sejam ultrapassadas, pela força

centrifuga mas inferior ao último patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{cc}$). Neste caso, o fluido **b** desloca-se do RI 41b para a ZD 42. O SREF 40 pode permanecer em velocidade constante durante o período de tempo considerado desejável para que a ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar seja favorecido. Após esse período, o SREF 40 é parado.

(6a) Medida final de fluido b. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70 de modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação incida na ZD 42 na posição inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42 e é detectado um sinal de que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

(5b) encaminhamento de fluido c. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{cd}$) de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50b seja ultrapassada pela força centrífuga mas inferior ao seguinte patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{ce}$). Neste caso, o fluido **b** desloca-se do RI 41b para a entrada da válvula 50e. Em seguida o SREF 40 é parado, e por capilaridade o fluido desloca-se para o reservatório 41d. Após um período de tempo suficientemente longo para que o fluido **b** preencha o reservatório 41d, o SREF 40 é rodado a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{cc}$) de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50c seja ultrapassada pela força centrífuga mas inferior ao seguinte patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{cd}$). Neste caso, o fluido **c** desloca-se do RI 41c para a ZD 42. O SREF 40 pode permanecer em velocidade constante durante o período de tempo considerado desejável para que a ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar seja favorecido. Após esse período, o SREF 40 é parado.

(6b) Medida final de fluido c. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70 de

modo que o feixe incidente emitido pelo emissor de radiação incida na ZD 42 na posição inicial, devendo o mecanismo de controlo de rotação 70 ser suficientemente preciso para se considerar desprezável o erro associado ao posicionamento do SREF 40. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42 e é detectado um sinal de que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

Esta concretização pode ser vantajosa, por exemplo, nos casos em que o sensor de RPS 10 apresenta um reduzida gama de detecção associado a um baixo limite de detecção (ou seja, permite a detecção de elementos químicos e/ou biológicos presentes em baixas concentrações mas satura a resposta quando essa concentração aumenta acima de um determinado valor). Neste caso, o especialista na técnica pode preparar o dispositivo de detecção de modo a realizar uma diluição fixa do fluido original (por exemplo o sangue de um paciente, ou outro fluido) de modo que a gama relevante de concentrações do elemento a detectar coincida com a gama de detecção do próprio sensor de RPS 10. Existem no entanto situações em que a gama relevante é superior à gama de detecção e uma única diluição não é suficiente para a correcta detecção. Neste caso a presente invenção possibilita a detecção RPS em toda a gama relevante se forem utilizadas diferentes diluições nos RI 41a, 41b e 41c.

Quinto Exemplo

Para além das concretizações anteriormente descritas, pode ainda ser considerada com vantagem a utilização de zonas múltiplas de detecção para, por exemplo, determinação de múltiplos elementos químicos ou biológicos presentes num mesmo volume de fluido. Esta nova configuração pode simplesmente obter-se por extrapolação do descrito nos exemplos anteriores, quando se coloca uma sequência de ZD 42 entre o RI 41 e o RF 44, mas esta configuração é também ela limitativa na generalidade das aplicações de detecção e limitada a um reduzido numero de elementos. Assim, pode considerar-se um sistema de encaminhamento dos fluidos por

bifurcação, aplicando os princípios descritos no exemplo anterior.

A FIG. 7 ilustra de forma esquemática um corte horizontal de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção e permitindo a realização de detecção de RPS numa de duas ZD 42a e 42b em função do resultado de uma primeira medida. As dimensões geométricas dos diversos elementos do SREF 40 são definidas de modo que canais 45 e as ZD 42a e 42b contenham um determinado volume de modo que a totalidade do fluido nunca se encontre unicamente nestes elementos. O SREF 40 contém três reservatórios e dois fluidos (fluido **a** no RI 41a, fluido **b** no RI 41b estando o RI 41c vazio). As válvulas 50a, 50b, 50c, 50d são construídas de modo que, obedecendo à equação (2), imponham velocidades de rotação crítica $\omega_{ca} < \omega_{cb} < \omega_{cc} < \omega_{cd}$. Por construção, o canal de retorno 51 e o reservatório 41c apresentam uma tensão superficial inferior à tensão superficial dos canais 45 e do reservatório 41b. Assim, se o SREF 40 for rodado à velocidade ω_{ca} , o fluido **a** é encaminhado do reservatório 41a para a ZD 42a. Em função do resultado da detecção de RPS do fluido **a**, é possível fazer a detecção de RPS seguinte na ZD 42b ou 42c com o fluido **b**, dependendo de um dos seguintes procedimentos: (i) o SREF 40 é rodado à velocidade ω_{cd} , o fluido **b** passa a válvula 50b e a válvula 50d e enche a ZD 42b; (ii) o SREF 40 é rodado à velocidade ω_{cb} , o fluido **b** chega a válvula 50b e se a velocidade de rotação for inferior a ω_{cd} e se em seguida o SREF 40 for parado, então o fluido **b** escoar por capilaridade para o reservatório 41c. Se agora o SREF 40 for rodado a velocidade ω_{cc} o fluido **b** passa a válvula 50c e chega à ZD 42c;

A novidade da presente invenção consiste então na construção de um dispositivo contendo: (i) um SREF 40 com RI 41a, 41b e 41c, um RF 44, válvulas 50a, 50b, 50c e 50d, canais 45 e, pelo menos, três ZD 42a, 42b e 42c, contendo cada ZD uma CDET 43 que, comportando-se como uma rede de difracção, permite a detecção do efeito de RPS; (ii) um conjunto de emissor de radiação 20 e detector de radiação 30, posicionados de modo que um feixe de radiação incida numa das ZD 42 do SREF 40 com uma gama de ângulos, na qual o efeito de RPS se verifique; (iii) O mecanismo de controlo de rotação

70, que inclui um motor 71, um controlador 72 e um suporte rotativo 73, de modo a permitir a realização da seguinte sequência de eventos:

(1) Deslocamento do primeiro fluido. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{ca}$), de modo que a barreira definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50a seja ultrapassada pela força centrífuga, mas inferior ao segundo patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{cb}$), de acordo com o descrito na equação (2). Neste caso, o fluido desloca-se do RI 41a para a ZD 42.

(2) Posicionamento inicial. O SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente, emitido pelo emissor de radiação 20, incida na CDET 43 da ZD 42a numa posição previamente definida, sendo este posicionamento realizado a velocidades suficientemente reduzidas de modo que o fluido não altere a sua configuração de repouso no RI 41. Para tal, o posicionamento deve obedecer ao descrito pela equação (2).

(3) Medida Inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na CDET 43 da ZD 42a e é detectado um sinal de referência, sinal que corresponde, por exemplo, à CDET 43 constituída de modo a apresentar um anticorpo específico a um dado elemento, estando a ZD 42 em contacto com o primeiro fluido.

(4) Tratamento de dados e decisão sobre qual a ZD a utilizar. Em função de resultado da medida inicial é escolhida a ZD 42b ou 42c na qual será realizada a próxima medida.

(5a) Encaminhamento para a ZD b. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{ce}$), de modo que a barreira definida pela geometria da transição, entre o canal 45 e as válvulas 50b e 50d, seja ultrapassada. Neste caso, o fluido desloca-se do RI 41b para a ZD 42b. O SREF 40 pode permanecer a velocidade constante durante o período de tempo considerado desejável para que a ocorrência do evento químico

e/ou biológico a detectar seja favorecido. Após este período, o SREF 40 é parado.

(6a) Medida final na ZD 42b. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70, de modo que o feixe incidente, emitido pelo emissor de radiação, incida na ZD 42b na posição inicial, devendo o mecanismo de controlo de rotação 70 ser suficientemente preciso para se considerar desprezável o erro associado ao posicionamento do SREF 40. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42b e é detectado um sinal que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

(5b) encaminhamento para a ZD c. O SREF 40 é rodado através do mecanismo de controlo de rotação 70 a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{cb}$), de modo que a barreira, definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50b, seja ultrapassada pela força centrífuga, mas inferior ao seguinte patamar de velocidades de rotação ($\omega < \omega_{cd}$). Neste caso, o fluido **b** desloca-se do RI 41b para a entrada da válvula 50d. Em seguida o SREF 40 é parado, e por capilaridade o fluido desloca-se para o reservatório 41c. Após um período de tempo suficientemente longo para que o fluido **b** preencha o reservatório 41c, o SREF 40 é rodado a uma velocidade suficientemente elevada ($\omega > \omega_{cc}$), de modo que a barreira, definida pela geometria da transição entre o canal 45 e a válvula 50c, seja ultrapassada pela força centrífuga. Neste caso, o fluido **b** desloca-se do RI 41c para a ZD 42c. O SREF 40 pode permanecer a velocidade constante durante o período de tempo considerado desejável para que a ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar seja favorecido. Após esse período, o SREF 40 é parado.

(6b) Medida final na ZD c. Após a desejada ocorrência do evento químico e/ou biológico a detectar, o SREF 40 é rodado pelo mecanismo de controlo de rotação 70 de modo que o feixe incidente, emitido pelo emissor de radiação, incida na ZD 42c na posição inicial. O detector de radiação 30 efectua uma medição da radiação incidente na ZD 42c e é detectado um

senal que corresponde, por exemplo, à camada de anticorpo inicial com uma determinada densidade do elemento químico e/ou biológico em análise.

Sexto Exemplo

Para além das concretizações descritas nos exemplos anteriores, pode ainda considerar-se a utilização da detecção RPS auxiliar (por exemplo, da temperatura) como forma de melhoria do desempenho do sensor de RPS 10.

A detecção óptica através do efeito de RPS é extremamente sensível a variações de temperatura, sendo por isso normalmente necessário um controlo e medição rigorosos da temperatura do sistema, no qual se insere o SREF 40. Em particular, a determinação da temperatura de detecção e da sua estabilidade implicam, nas realizações convencionais, a utilização de elementos adicionais de medida e electrónica (sensores de temperatura, conversores de analógico para digital, sistemas de registo) que contribuem para uma maior complexidade e custo acrescido do sistema de detecção. Esta limitação pode ser ultrapassada com a introdução de zonas de medida auxiliar 52 através do mesmo efeito de RPS em locais próximos da ZD 42. Esta realização da presente invenção é ilustrada na FIG. 8. As zonas de medida auxiliares 52 são zonas fechadas e contém um fluido ou gás com índice de refração conhecido. O sensor de RPS 10 é assim utilizado para simultaneamente detectar a concentração do elemento químico e/ou biológico a detectar na ZD 42 e a temperatura de medida (próxima da ZD 42). Por outro lado, se a temperatura da medida for determinada com suficiente rigor e se existir uma calibração prévia do sinal de RPS na ZD 42, em função da concentração do elemento químico e/ou biológico a detectar e da temperatura, pode então ser construído um sistema, no qual o controlo da temperatura é simplificado e de menor custo.

A FIG. 8 mostra de forma esquemática em corte horizontal um SREF 40 com os elementos básicos necessários para a realização da função de detecção (RI 41, ZD 42, RF 44, canais 45) e a presença de zonas de detecção auxiliares 52 próximas da ZD 42. Neste caso, as zonas 52 são fechadas e contém um fluido com propriedades ópticas conhecidas, em particular, em

termos de variação do seu índice de refração em função da temperatura. Nesta configuração, a detecção através do efeito de RPS permite não só a determinação da ocorrência de eventos químicos e/ou biológicos na ZD 42 mas também a determinação com precisão da temperatura de zonas de detecção auxiliares 52 próximas e por extrapolação permite a determinação da temperatura da própria ZD 42. Esta determinação complementar, embora não essencial para o funcionamento de um sensor de RPS 10 de acordo com a presente invenção, considera-se preferida por permitir a minimizar efeitos parasitas apenas provocados por variação de temperatura da ZD 42. Com esta medida complementar, torna-se possível melhorar a relação sinal/ruído do dispositivo de detecção RPS e, em última análise, permite a optimização do comportamento do sensor de RPS 10, nomeadamente em termos de limites de detecção.

Sétimo Exemplo

O comportamento descrito no exemplos anteriores baseou-se num SREF 40, no qual os canais 45, os RI 41 e os RF 44, a válvula 50 e a ZD 42 apresentam diferentes geometrias, em particular, diferentes diâmetros hidráulicos, para além das possíveis variações de tensões superficiais. Em particular, foi indicada uma variação apenas binária do carácter hidrófilo ou hidrófobo dos diferentes elementos do SREF 40. Este comportamento pode ser replicado com vantagem se o especialista na técnica ajustar de forma individual as propriedades de superfície, em particular a tensão superficial, de cada elemento do SREF 40. De acordo com o descrito na equação (2), o ajustamento da tensão superficial pode permitir, por exemplo, ser utilizado como complemento ao ajustamento geométrico para afastar os patamares de velocidades de rotação críticas. Ou no limite, pode considerar-se um SREF 40, no qual todos os elementos apresentam as mesmas dimensões, variando apenas a sua posição radial e a sua tensão superficial. A FIG. 9 ilustra um SREF 40 de acordo com este exemplo. Neste caso, a variação da tensão superficial γ de cada elemento do SREF 40 deverá compensar a respectiva diferença de posição radial. De acordo com o ilustrado na FIG. 9 e para um fluido aquoso, se $\gamma_{45}/r_{45} < \gamma_{50}/r_{50} < \gamma_{42}/r_{42}$ então a ZD 42 e a válvula 50 funcionarão como barreiras ao escoamento livre de fluido e o sistema

poderá ter um dos comportamento ilustrados nas FIGS. 3A, 3B ou 3C.

Oitavo exemplo

O descrito nos exemplos anteriores da presente invenção poderá também ser concretizado sem desvantagem se a observação do sinal óptico por parte do detector de radiação 30 for efectuado em termos da intensidade da radiação em função do comprimento de onda, em alternativa à análise da intensidade do sinal em função do ângulo de incidência. Neste caso, e de acordo com o descrito na FIG. 10, o emissor de radiação 20 do sensor de RPS 10 deverá emitir uma radiação policromática convergente na CDET 43 da ZD 42 do SREF 40, e entre este e o detector de radiação 30 deverá ser colocado um elemento separador de espectro 31 (por exemplo, um prisma).

Nono Exemplo

O descrito nos exemplos anteriores da presente invenção poderá também ser concretizado sem desvantagem se a observação do sinal óptico por parte do detector de radiação 30 for efectuado em termos da variação de fase da radiação em função do ângulo de incidência. Neste caso, e de acordo com o descrito na FIG. 11, o emissor de radiação 20 do sensor de RPS 10 poderá incluir um compensador de fase 21 (por exemplo, uma lâmina bi-refringente de quarto de onda) e poderá ser colocado um polarizador de detecção 32 entre o SREF 40 e o detector de radiação 30. Estes dois últimos elementos (o compensador de fase 21 e o polarizador de detecção 32) podem ser colocados noutras posições do sensor de RPS 10 sem desvantagem (por exemplo, o compensador de fase 21 pode ser colocado imediatamente antes do polarizador de detecção 32).

Estes exemplos demonstram a forma como pode ser utilizada a presente invenção para realizar um sensor de RPS 10, que permite a detecção pelo efeito de RPS de eventos químicos e/ou biológicos sem a necessidade de elementos adicionais para fazer o encaminhamento dos fluidos, contrariamente ao verificado por sensores convencionais.

Resumo de codificação de elementos

Sensor de RPS 10

Emissor de radiação 20

Compensador de fase

Detector de radiação 30

Separador de espectro 31

Polarizador de detecção 32

Substrato de encaminhamento de fluidos (SREF) 40

Reservatório inicial (RI) 41

Zona de detecção (ZD) 42

Camada de detecção (CDET) 43

Reservatório final (RF) 44

Canais 45

Espaçadores de confinamento 46

Cobertura 47

Suporte 48

Canal de equilíbrio de pressão 49

Válvula 50

Canal de retorno de fluido 51

Zona de medida auxiliar 52

Elementos exteriores de encaminhamento 60

Tubagens 61

Sistema de bombeamento 62

Reservatórios de fluidos 63

Mecanismo de selecção de fluidos 64

Reservatório de saída 65

Mecanismo de controlo de rotação 70

Motor 71

Controlador 72

Suporte rotativo 73

Lisboa,

REIVINDICAÇÕES

1 - Dispositivo de detecção que compreende:

(i) um emissor de radiação (20) e um detector de radiação (30)

(ii) um substrato de encaminhamento de fluidos (40);

(iii) disposições geométricas e/ou de tensão superficial nos canais (45), reservatórios iniciais (41) e zona de detecção (42);

(iv) meios de controlo (70) da duração e da velocidade de rotação do substrato de encaminhamento de fluidos (40);

caracterizado por o dito substrato de encaminhamento de fluidos (40) conter canais (45) que ligam, pelo menos, um reservatório inicial (41) e uma zona de detecção (42), na qual se encontra uma camada de detecção (43), contendo uma fina camada condutora, definindo a sua superfície uma rede de difracção, por as disposições geométricas e/ou de tensão superficial nos canais (45), reservatório inicial (41) e zona de detecção (42) estarem dispostas de modo que existe, pelo menos, uma barreira que impede o escoamento livre do fluido do reservatório inicial (41) até à zona de detecção (42), podendo essa barreira ser ultrapassada através do aumento da velocidade de rotação do substrato de encaminhamento de fluidos (40), e por determinar, através do fenómeno de RPS, criado junto da rede de difracção da zona de detecção (42), a ocorrência de eventos químicos e/ou biológicos na proximidade da camada de detecção (43) da zona de detecção (42), e por o dispositivo permitir encaminhar, pelo controlo de rotação, pelo menos, um fluido de um RI (41) para a ZD (42).

2 - Dispositivo de detecção de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o dito substrato de encaminhamento de fluidos (40), conter canais (45) que ligam, pelo menos, dois reservatórios iniciais (41) e uma zona de detecção (42), na qual se encontra a dita camada de detecção (43), e por o dispositivo permitir encaminhar de forma sequencial, pelo controlo de rotação, pelo menos, dois

fluidos de reservatórios iniciais (41) para a zona de detecção (42).

3 - Dispositivo de detecção de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por as ditas disposições geométricas e/ou de tensão superficial nos canais (45), reservatórios iniciais (41) e zona de detecção (42) estarem dispostas de modo que existem, pelo menos, duas barreiras que impedem o escoamento livre do fluidos dos reservatórios iniciais (41) até à zona de detecção (42), podendo essas barreiras serem ultrapassadas através do aumento da velocidade de rotação do substrato de encaminhamento de fluidos (40).

4 - Dispositivo de detecção de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 e 3, caracterizado por o dito substrato de encaminhamento de fluidos (40), conter ainda um reservatório final (44), por as disposições geométricas e/ou de tensão superficial nos canais (45), reservatórios iniciais (41) e reservatório final (44) e zona de detecção (42) estarem dispostas de modo que, após a rotação do substrato de encaminhamento de fluidos (40) para velocidades inferiores a um determinado valor crítico, pelo menos, um fluido retorna da zona de detecção (42) para o reservatório inicial (41), por as ditas disposições geométricas e/ou de tensão superficial estarem dispostas de modo que, após a rotação do substrato de encaminhamento de fluidos (40) para velocidades superiores a um determinado valor crítico, não ocorre o retorno de fluidos para os seus reservatórios iniciais (41).

5 - Dispositivo de detecção de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o dito substrato de encaminhamento de fluidos (40) conter canais (45) que ligam, pelo menos, três reservatórios iniciais (41), um reservatório final (44) e uma zona de detecção (42), e por o dispositivo permitir, através do controlo de rotação, a selecção da sequência de fluidos a encaminhar dos reservatórios iniciais (41) para, pelo menos, uma zona de detecção (42).

6 - Dispositivo de detecção de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por o dito

substrato de encaminhamento de fluidos (40) conter canais que ligam, pelo menos, dois reservatórios iniciais (41), um fluido, um reservatório final (44) e duas zonas de detecção (42), por as ditas disposições geométricas e/ou de tensão superficial nos canais (45), reservatórios iniciais (41) e reservatório final (44) e zona de detecção (42) de modo que existem, pelo menos, três barreiras que impedem o escoamento livre do fluidos dos reservatórios iniciais (41) até às zonas de detecção (42), e por o dispositivo permitir, através do controlo de rotação, a selecção da zona de detecção (42) para a qual deve ser encaminhado, pelo menos, um fluido.

7 - Dispositivo de detecção de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por compreender ainda no dito substrato de encaminhamento de fluidos (40), pelo menos, uma zona de detecção auxiliar (52), que contém um fluido com propriedades conhecidas, um mecanismo de posicionamento (70) do substrato rotativo de encaminhamento de fluidos (40) face ao emissor (20) e ao detector de radiação (30), e por permitir, através do efeito de ressonância de plasmão de superfície, a determinação de propriedades adicionais do sistema químico e/ou biológico em análise.

8 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 5, caracterizado por apenas a dita tensão superficial nos ditos canais (45), reservatórios iniciais (41) e reservatório final (44) e zona de detecção (42) definir a existência de barreiras que impedem o escoamento livre do fluidos dos ditos reservatórios iniciais (41) até à dita zona de detecção (42), podendo as ditas barreiras ser ultrapassadas através do aumento da dita velocidade de rotação do dito substrato de encaminhamento de fluidos (40).

9 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 8, caracterizado por a dita radiação emitida pelo emissor (20) atravessar o fluido, de modo a incidir na dita camada de detecção (43) que contém uma fina camada condutora, que define na sua superfície uma rede de difracção.

10 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 8, caracterizado por a dita radiação emitida pelo dito emissor (20) atravessar o dito suporte do dito substrato rotativo de encaminhamento de fluidos (40), de modo a incidir na dita camada de detecção (43) que contém uma fina camada condutora, definindo na sua superfície uma rede de difracção, que não atravessa nesse percurso óptico qualquer fluido.

11 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 10, caracterizado por a detecção do efeito de ressonância de plasmão de superfície ser realizada através da determinação da intensidade da radiação reflectida, transmitida ou difractada da dita camada de detecção (43), que contém uma fina camada condutora, definindo a sua superfície uma rede de difracção em função do ângulo de incidência da radiação incidente na dita camada de detecção (43).

12 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 10, caracterizado por a detecção do efeito de ressonância de plasmão de superfície ser realizada através da determinação da intensidade da radiação reflectida, transmitida ou difractada da dita camada de detecção (43), que contém uma fina camada condutora, definindo a sua superfície uma rede de difracção, em função do comprimento de onda da radiação incidente na camada de detecção (43).

13 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 10, caracterizado por a detecção do efeito de ressonância de plasmão de superfície ser realizada através da determinação da intensidade da radiação reflectida, transmitida ou difractada da dita camada de detecção (43) que contém uma fina camada condutora, definindo a sua superfície uma rede de difracção, em função da fase da radiação incidente na camada de detecção (43).

14 - Dispositivo de detecção de acordo com as reivindicações 1 a 13, caracterizado por o dito substrato de encaminhamento de fluidos (40) ser constituído por duas superfícies planas, contendo, pelo menos, uma das ditas superfícies, pelo menos, uma zona com uma camada condutora

difractiva, existindo ainda entre as camadas planas uma terceira camada que define os contornos dos canais (45), dos reservatórios iniciais (41) e reservatórios finais (44) e das válvulas (50).

Lisboa,

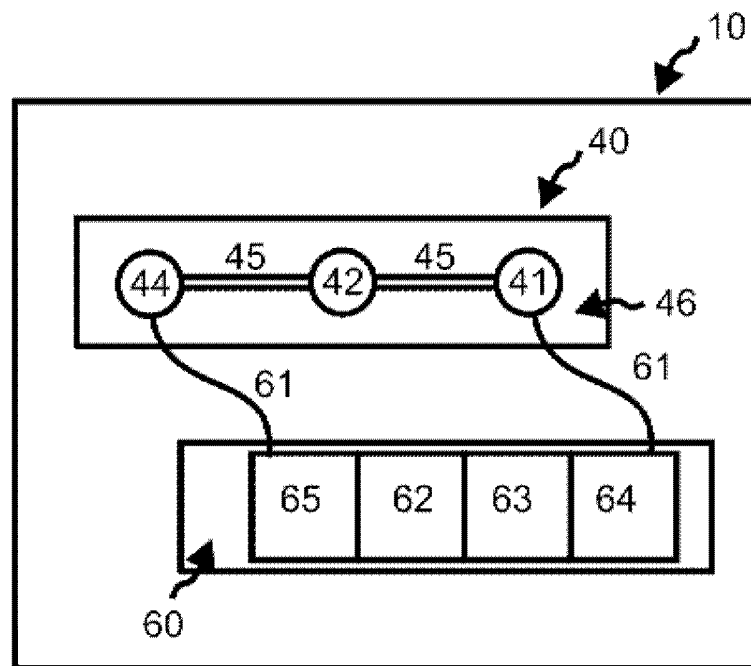


FIG. 1A
(ARTE ANTERIOR)

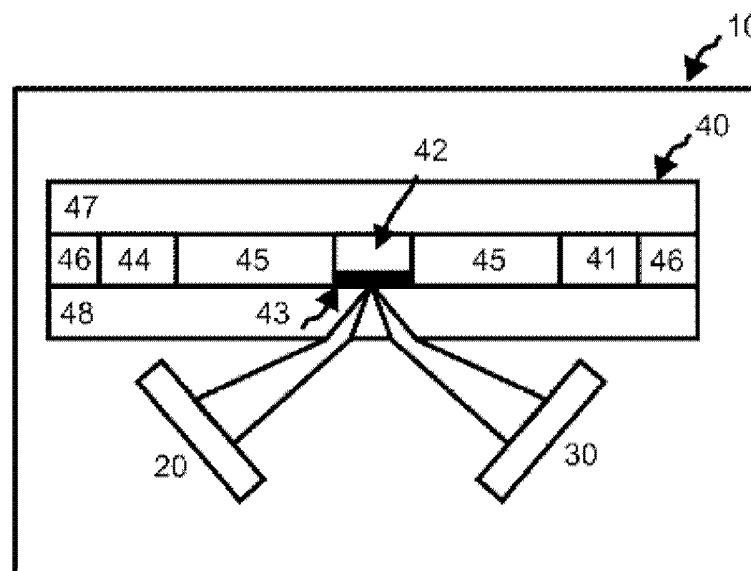


FIG. 1B
(ARTE ANTERIOR)

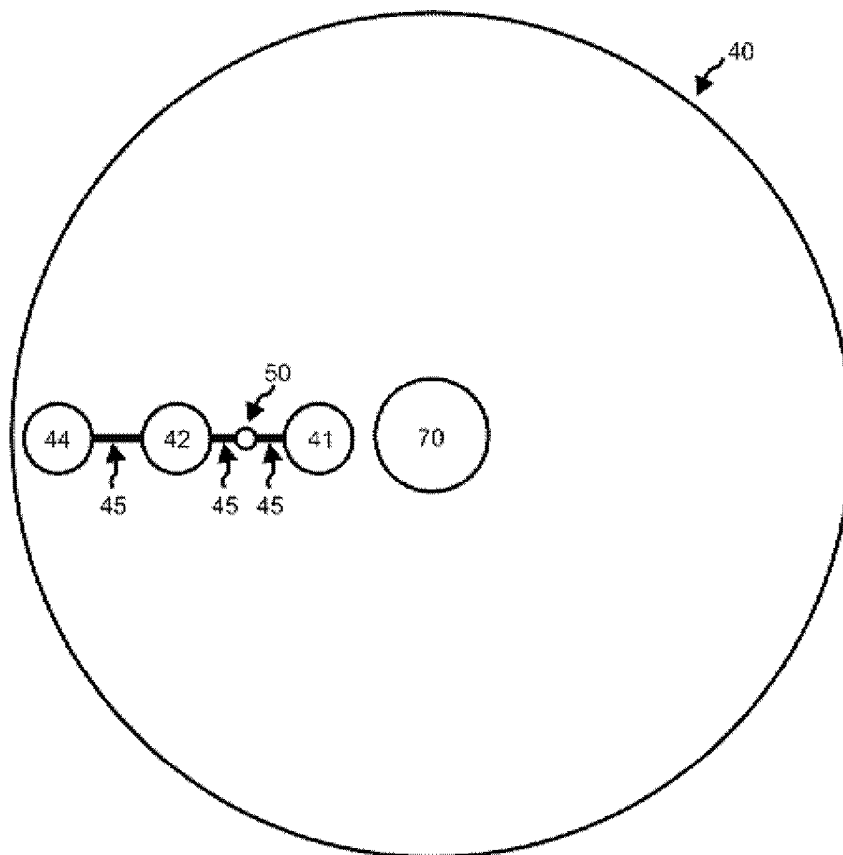


FIG. 2A

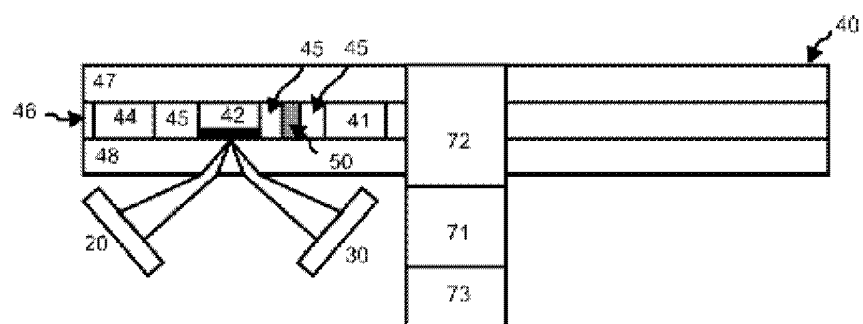


FIG. 2B

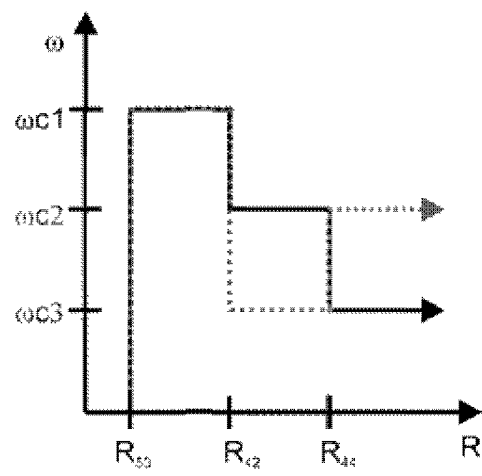


FIG. 3A

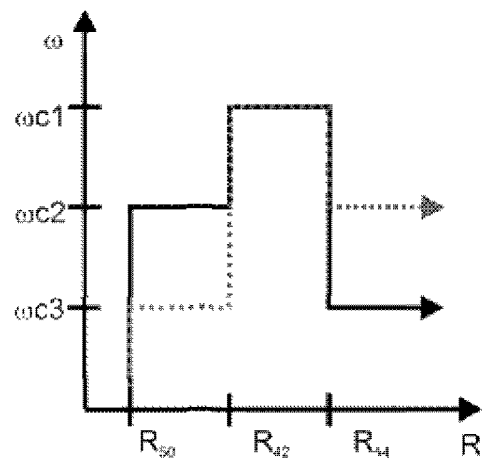


FIG. 3B

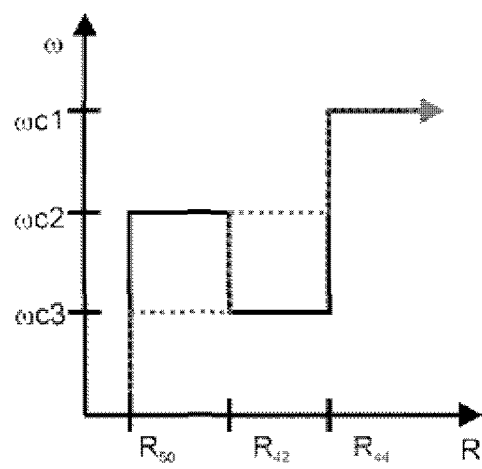


FIG. 3C

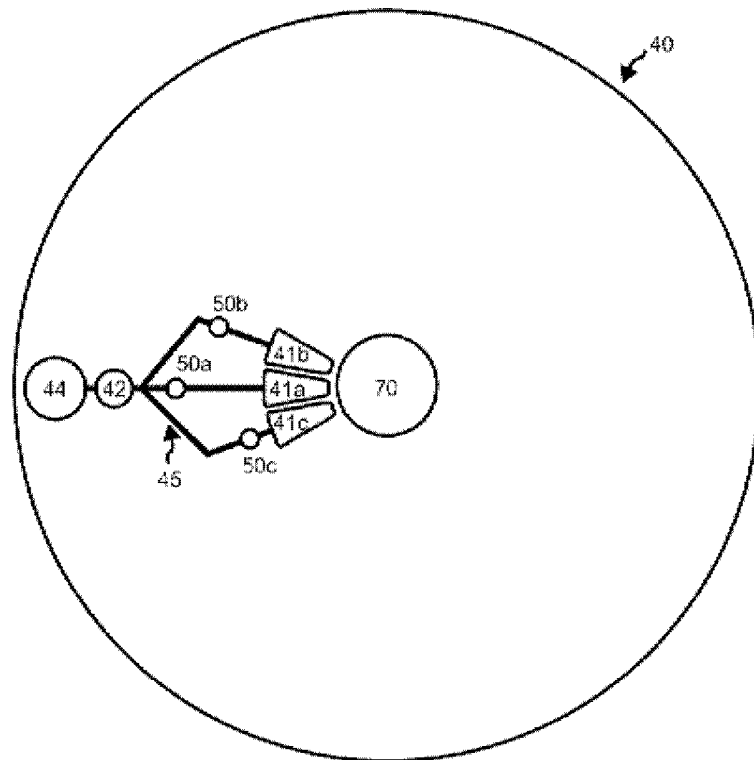


FIG. 4.

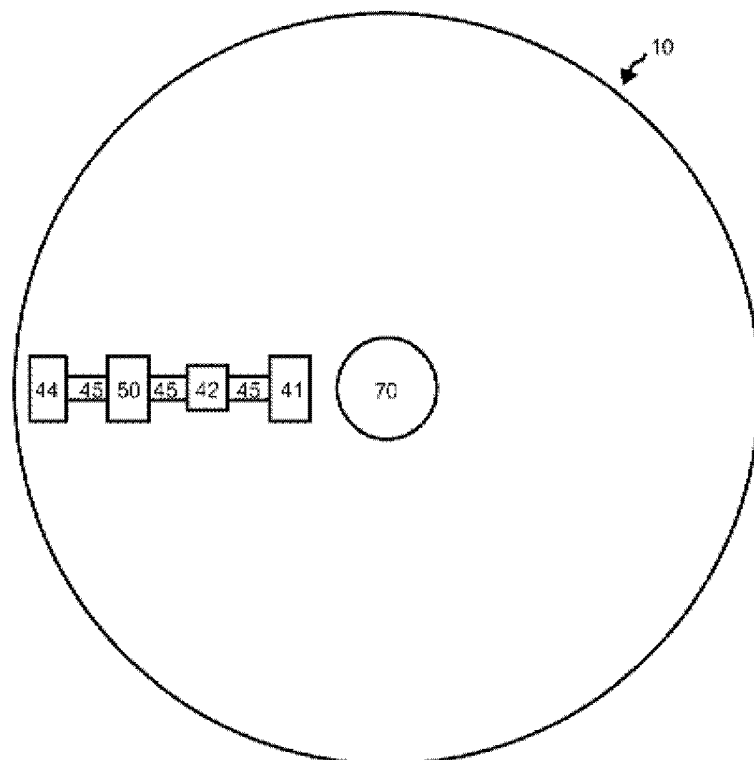


FIG. 5A

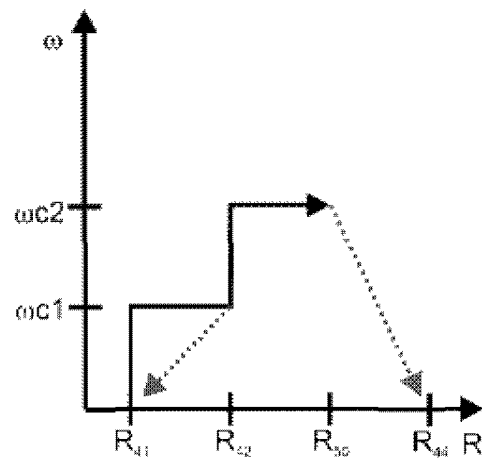


FIG. 5B

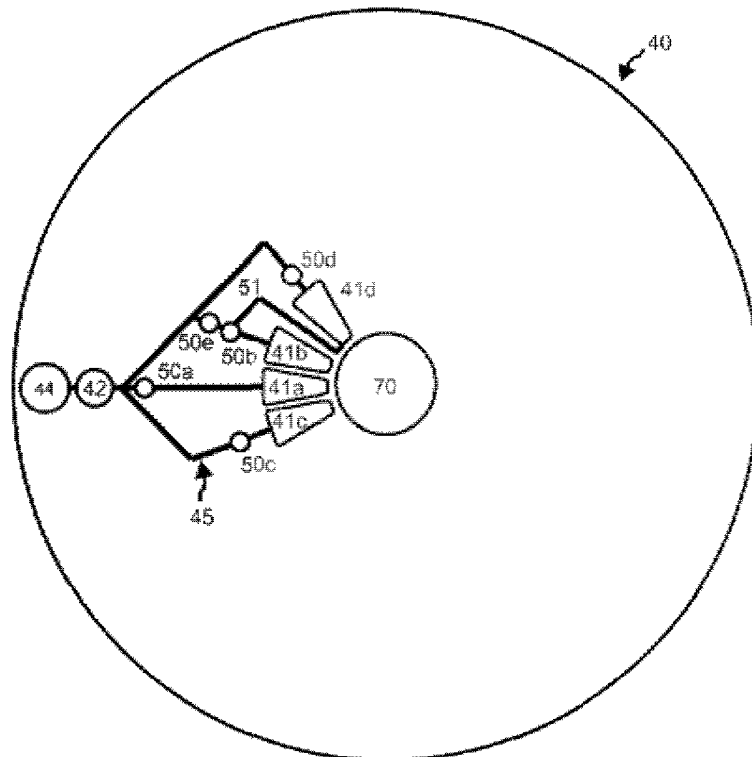


FIG. 6

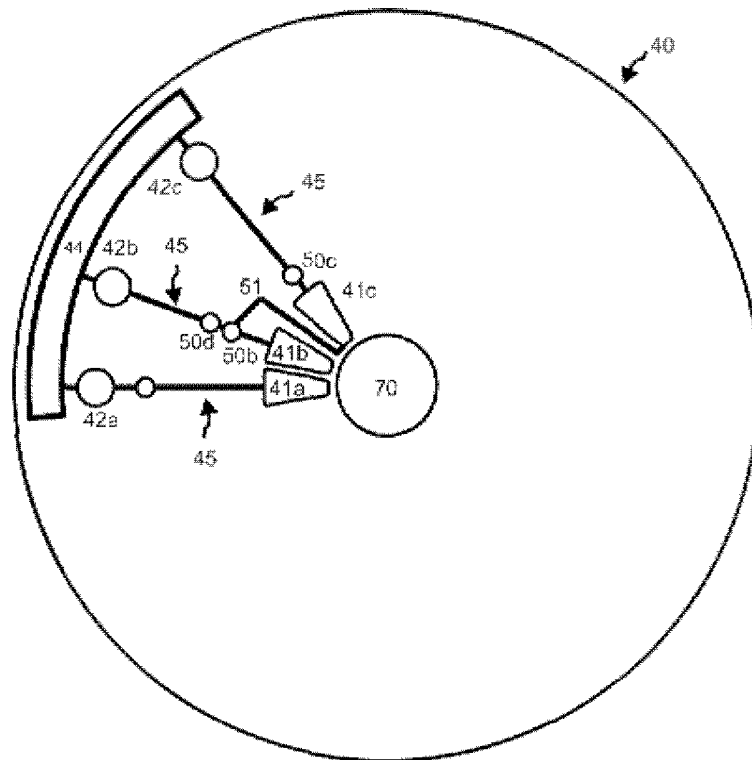


FIG. 7

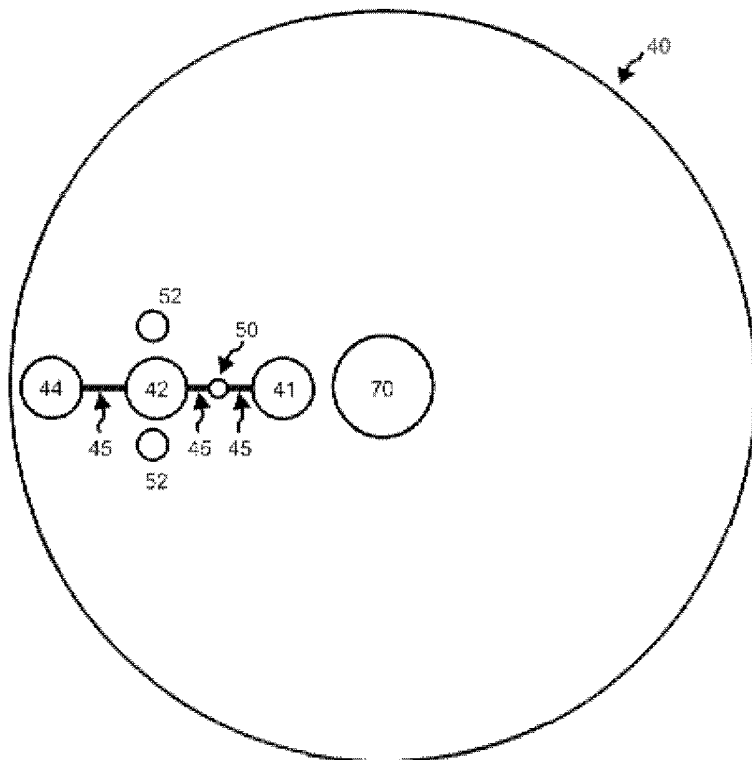


FIG. 8

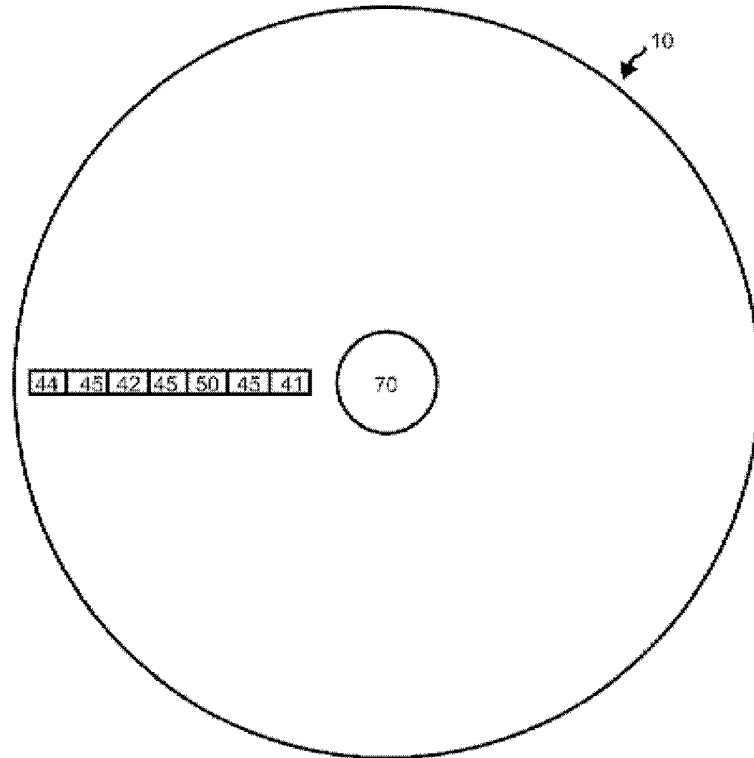


FIG. 9

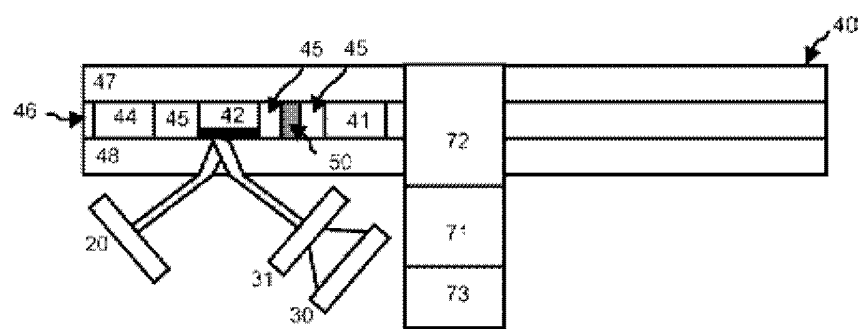


FIG. 10

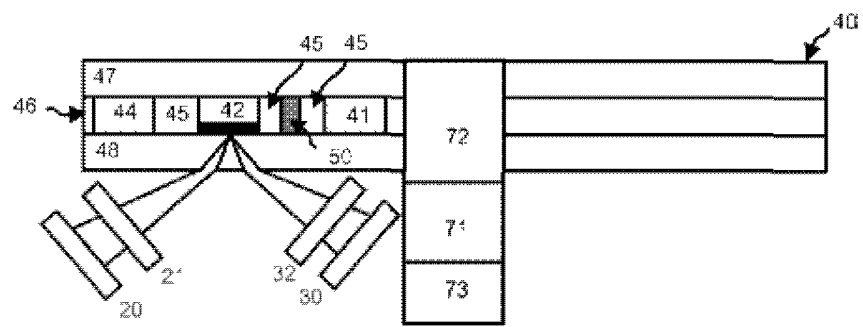


FIG. 11