



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112013028517-6 B1



(22) Data do Depósito: 04/05/2012

(45) Data de Concessão: 26/05/2020

(54) Título: DISPOSITIVO, MÉTODO PARA APLICAR UM CAMPO ELÉTRICO A UM VOLUME DE CONDUÇÃO, MÉTODO PARA SEPARAÇÃO DE OBJETOS E MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UM DISPOSITIVO

(51) Int.Cl.: G01N 27/447; G01N 27/453; B01D 57/02.

(30) Prioridade Unionista: 06/05/2011 GB 1107584.3.

(73) Titular(es): GENETIC MICRODEVICES LIMITED.

(72) Inventor(es): DIMITRIOS SIDERIS; ALEX ILES; RICHARD JACKSON.

(86) Pedido PCT: PCT GB2012050973 de 04/05/2012

(87) Publicação PCT: WO 2012/153108 de 15/11/2012

(85) Data do Início da Fase Nacional: 05/11/2013

(57) Resumo: DISPOSITIVO E MÉTODO PARA APLICAR UM CAMPO ELÉTRICO CONTÍNUO Um dispositivo que compreende uma montagem de aplicação de campo elétrico adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto; um volume de condução e uma região de interface elétrica provida entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico de tal modo que o campo elétrico discreto é aplicado ao material pela montagem de aplicação de campo elétrico em uma localização afastada do volume de condução, em que a região de interface elétrica compreende pelo menos um material ionicamente condutor disposto adjacente a e em contato com o volume de condução; de tal modo que o campo elétrico discreto aplicado pela montagem de aplicação de campo elétrico é suavizado pela região de interface elétrica de modo que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro do volume de condução é substancialmente contínuo.

**DISPOSITIVO, MÉTODO PARA APLICAR UM CAMPO ELÉTRICO A UM
VOLUME DE CONDUÇÃO, MÉTODO PARA SEPARAÇÃO DE OBJETOS E
MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UM DISPOSITIVO**

Esta invenção refere-se a um dispositivo e método para aplicar um campo elétrico, e métodos de fabricação dos mesmos. A invenção é particularmente adequada para suavizar o formato de campos elétricos aplicados a dispositivos microfluídicos ou dispositivos do tipo "lab-on-chip" ("LOCs").

Dispositivos microfluídicos tais como LOCs têm aplicações bem difundidas. Um número cada vez maior de tais aplicações refere-se ao sequenciamento e classificação de objetos, tais como biomoléculas, e a classificação das células. Convencionalmente, o sequenciamento e classificação de biomoléculas, e a classificação das células, é realizado utilizando eletroforese. Técnicas de eletroforese são bem conhecidas e são frequentemente utilizadas para separar objetos (às vezes referidos como "analitos") de acordo com suas propriedades elétricas e hidrodinâmicas. Outras técnicas de separação incluem o uso de espectrômetros centrífugos como descrito em EP1455949.

Na eletroforese convencional, um campo elétrico constante e uniforme é aplicado para mover objetos através de um fluido ou uma outra matriz de peneiramento. À medida que eles se movem através deste material, os objetos sofrem forças as quais dependem de seu formato e tamanho (por exemplo forças hidrodinâmicas) e/ou de sua afinidade com o material (por exemplo, forças de atração/repulsão químicas), e uma força elétrica que se deve ao campo aplicado, o qual depende de sua carga. Como um resultado das diferentes forças sofridas por cada tipo de objeto, os objetos se movem com diferentes velocidades terminais dependendo de suas características individuais e assim eles se separam em "bandas".

Em anos recentes, o conceito de análise de deslocamento de campo para separação de objetos foi proposto por um dos presentes inventores, em que, ao invés de ser constante, o campo elétrico aplicado tem um gradiente de campo dependente do tempo. Exemplos de dispositivos de eletroforese os quais utilizam esse conceito são descritos em WO 2006/070176, o conteúdo inteiro do qual é aqui incorporado por referência. Em comparação a técnicas convencionais, análise de deslocamento de campo oferece enorme potencial em termos de capacidades analíticas e de processamento, oferecendo várias ordens de grandeza mais rapidamente e separações mais sensíveis.

Dispositivos de deslocamento de campo normalmente empregam uma rede de eletrodos para aplicar um gradiente de campo elétrico dependente do tempo

para a separação e manipulação de analitos e outros materiais em um ambiente microfluídico. Por exemplo, o ambiente microfluídico pode envolver um canal de separação planar em ou sobre um dispositivo de vidro, com dimensões de seccionais transversais da ordem de 0.1 a várias centenas de micrometros e um comprimento de pelo menos 500 μm .

Exemplos adicionais de diferentes dispositivos de eletroforese podem ser encontrados em US-A-6277258 e US-A-2002/0070113.

Em dispositivos microfluídicos conhecidos, incluindo dispositivos de deslocamento de campo, o campo elétrico é normalmente aplicado diretamente ao canal, através de eletrodos internos. Esta disposição facilita a geração de campos elétricos altos ao gerar uma corrente elétrica em um tampão de separação de condução dentro do canal. Contudo, esta configuração frequentemente leva a distorções significantes ao formato do campo elétrico no local de cada eletrodo ao longo do canal. Consequentemente, o campo no canal não segue uma transição suave de alto para baixo, como é desejável quando se implementa a técnica de deslocamento de campo por exemplo, mas ao invés disso consiste em uma série de etapas. As moléculas sofrendo separação passam a uma proximidade muito grande (contato) aos eletrodos, "sentindo" as distorções de campo e deste modo baixando a resolução de separação. Problemas similares também são encontrados em outras aplicações em que é desejável aplicar um campo elétrico com formato (isto é, não uniforme) a um canal.

Para resolver este problema, foi proposto aumentar o número de eletrodos periodicamente posicionados ao longo do canal. Contudo, na prática, tal configuração não reduz completamente as distorções do campo elétrico por duas razões. A primeira razão é que é impossível posicionar um número infinito de eletrodos independentemente endereçáveis ao longo do canal. A segunda razão é que, uma vez que os eletrodos têm tamanhos finitos, a voltagem no espaço imediatamente adjacente aos eletrodos é constante (a um valor aproximadamente igual à voltagem do eletrodo). Consequentemente, o campo elétrico resultante é zero. Isto pode causar distorção significativa no campo elétrico geral.

Um outro problema com técnicas de separação convencionais, incluindo técnicas de deslocamento de campo conhecidas, é que alguns analitos podem ser perdidos ao invés de viajarem passando pelos eletrodos como intencionado, os objetos podem viajar em direção aos eletrodos entrando em contato diretamente com o canal e efetivamente sendo removidos do processo de separação. Além

disso, gases produzidos pela eletrolise que se deve ao contato entre os eletrodos e o (tipicamente aquoso) fluido no canal entram no canal onde eles desfazem o campo elétrico e a análise.

Consequentemente, há uma necessidade por uma técnica a qual resolva
5 as questões acima.

De acordo com um primeiro aspecto da presente invenção, um dispositivo compreende:

uma montagem de aplicação de campo elétrico adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto;

10 um volume de condução; e

uma região de interface elétrica, provida entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico, a região de interface elétrica disposta de tal modo que o campo elétrico discreto é aplicado à região de interface elétrica pela montagem de aplicação de campo elétrico em uma localização afastada do
15 volume de condução;

em que a região de interface elétrica compreende pelo menos um material ionicamente condutor disposto adjacente a e em contato com o volume de condução;

de tal modo que o campo elétrico discreto aplicado pela montagem de aplicação de campo elétrico é suavizado pela região de interface elétrica de modo
20 que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro do volume de condução é substancialmente contínuo.

De acordo com um segundo aspecto da presente invenção, um método para aplicar um campo elétrico a um volume de condução, compreende as etapas
25 de:

prover uma montagem de aplicação de campo elétrico adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto;

prover um volume de condução;

prover uma região de interface elétrica entre o volume de condução e a
30 montagem de aplicação de campo elétrico, em que a região de interface elétrica compreende pelo menos um material ionicamente condutor disposto adjacente a e em contato com o volume condutor; e

aplicar o campo elétrico discreto à região de interface elétrica em uma localização afastada do volume de condução;

de tal modo que o campo elétrico discreto aplicado é suavizado pela região de interface elétrica de modo que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro do volume de condução é substancialmente contínuo.

Será apreciado que o termo "volume condutor" é utilizado aqui para
5 descrever qualquer condutor o qual um volume e no qual um campo elétrico substancialmente contínuo é desejável, pelo menos em partes do volume de condução. Será compreendido que a natureza do volume de condução pode variar dependendo do tipo de aplicação da presente invenção. Por exemplo, o volume de condução pode ser um canal, tal como um canal de separação
10 utilizado em eletroforese ou outros dispositivos de separação, ou pode compreender uma pluralidade de tais canais. Em outras aplicações, o volume de condução pode representar uma região tal como uma região hidrofílica provida em um substrato de papel hidrofóbico ou uma região porosa provida em um substrato hidrofóbico poroso. Em geral, o volume de condução pode representar
15 qualquer volume no qual fluidos ou objetos de interesse podem ser acomodados (e/ou podem mover-se através) durante análise, se estando fisicamente limitados por um canal ou outra entidade física ou não. Por exemplo, quando o volume de condução compreende um ou more canais, cada um pode ou pode não estar fisicamente delimitado: o volume de condução poderia, por exemplo, conter um ou
20 mais cursos (os quais podem ser considerados como canais "imaginários" ou "virtuais") tomados pelos analitos em dispositivos de eletroforese de "fluxo livre" ou técnicas "slab-gel". As modalidades descritas abaixo referem-se principalmente a volumes condutores na forma de canais fisicamente definidos para separação de objetos, apesar de que será compreendido que não se
25 intenciona que isto seja limitante.

A presente invenção, portanto, permite suavização do campo elétrico aplicado ao converter o campo elétrico discreto obtido a partir da montagem de aplicação de campo elétrico (por exemplo, um arranjo de eletrodos) em um campo substancialmente contínuo no volume de condução. Um campo elétrico "discreto"
30 é aquele com um perfil de campo o qual é não contínuo, por exemplo incluindo lacunas ou saltos repentinos ou quedas na grandeza, tal como pode ser observado em m campo com formato "etapa-perfil". Por exemplo, um campo elétrico discreto pode surgir a partir de fontes de voltagem de pontos múltiplos, cada um afastado do outro ao longo da periferia do volume de condução (por
35 exemplo no caso de um canal, ao longo de seu curso). Por um campo elétrico "substancialmente contínuo" pretende-se significar um campo elétrico o qual é

mais suave que o campo elétrico discreto. Por exemplo, no exemplo acima, o valor do campo elétrico suavizado preferencialmente muda gradualmente no intervalo entre a localização de uma fonte de voltagem de ponto e a próxima, de um valor correspondente àquele estabelecido pela primeira fonte de ponto a um valor correspondente àquele estabelecido pela segunda. Mais geralmente, o campo substancialmente contínuo por de ser suavemente interpolado entre os valores discretos aplicados. Contudo, dependendo do grau de suavização aplicado, o campo contínuo pode se afastar a uma extensão de um gradiente ou curva linear perfeitos e pode ainda incluir algumas descontinuidades (embora menores em grandeza que aquelas do campo discreto).

A formação de campo é atingida ao prover uma região de interface elétrica entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico a qual tem propriedades elétricas e geométricas adequadas, em que a montagem de aplicação de campo elétrico é afastada do volume de condução pela região de interface elétrica. Em particular, a suavização de campo é realizada, pelo menos em parte, por meio de transporte de corrente iônica dentro de uma parte de formação (ou todo) de material ionicamente condutor da região de interface elétrica e disposto adjacente a e em contato com o volume de condução. Esta disposição tem a vantagem substancial que qualquer eletrolise ocorro tanto dentro da região de interface elétrica quanto nos eletrodos (ou outra fonte de voltagem) e não no volume de condução. Desse modo, não há ruptura para o ambiente dentro do próprio volume de condução.

Deve ser notado que a região de interface elétrica não necessita ser provida ao longo de toda a periferia do volume de condução, mas pode se estender ao longo de uma porção do volume de condução somente. Por exemplo, quando o volume de condução é um canal, a região de interface elétrica não necessita ser provida ao longo de todo o comprimento do canal, mas pode se estender ao longo de uma porção do canal somente.

Por "adjacente a e em contato com" o volume de condução pretende-se significar que o material ionicamente condutor é provido em contato elétrico direto com o volume de condução, sem qualquer outro tipo de material entre eles. A região de interface elétrica pode ser feita de um único componente (o material ionicamente condutor), ou mais que um componente disposto em série (e em contato elétrico um com o outro) entre a montagem de aplicação de campo elétrico e o volume de condução. Em um exemplo, como será descrito em maior detalhe abaixo, a região de interface elétrica pode compreender um material

ionicamente condutor adjacente ao volume de condução e um material não ionicamente condutor, por exemplo um material eletricamente resistivo, o material não ionicamente condutor sendo provido entre a montagem de aplicação de campo elétrico e o material ionicamente condutor. Contudo, em outras modalidades vantajosas, a região de interface elétrica consiste em material ionicamente condutor. Em outras palavras, a região de interface elétrica é formada completamente de material ionicamente condutor. Por exemplo, o material ionicamente condutor (único) acima mencionado diretamente em contato com o volume de condução pode se estender continuamente entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico. Alternativamente, mais de um componente conduzindo ionicamente, ou uma mistura de componentes conduzindo ionicamente e não ionicamente podem ser implantado em série entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico para formar a região de interface elétrica.

O termo "Ionicamente condutor" significa que o material conduz eletricidade por movimento de íons. Pode também ou não ser movimento de elétrons ou orifícios através do material. Adicionalmente à porção da região de interface elétrica em contato com o volume de condução, o volume de condução é preferencialmente também ionicamente condutor e não primeiramente eletricamente condutor. Por exemplo, o volume de condução pode ser um canal preenchido um condutor iônico tal como um tampão aquoso, como será descrito em maior detalhe abaixo.

É desejável que a condutividade/resistividade de um ou mais componentes que compõem a região de interface elétrica (e particularmente aquela do material ionicamente condutor) deve ser configurada para "combinar" com aquela do volume de condução. Por "combinado", não é necessário que ou cada componente da região de interface elétrica deva ter condutividade iônica igual ou pelo menos similar àquela do volume condutor, apesar de isso ser preferencial. O que é necessário é que as condutividades/resistividades relativas estejam equilibradas para evitar que a corrente elétrica seja conduzida preferencialmente ou pela região de interface elétrica ou pelo volume de condução. Se a condutividade da região de interface elétrica é muito alta ou muito baixa, o formato de campo pode não se formar como desejável no volume de condução. Isso se dá porque, se as condutividades relativas do fluido e o material ionicamente condutor foram marcadamente diferentes, então, de acordo com a lei de Ohm, toda a corrente surgindo das voltagens aplicadas poderia passar

somente através da região de interface elétrica ou somente através do volume de condução. Isto poderia alterar significativamente o efeito de suavização de campo, levando a super suavização ou sub suavização do campo. Em particular, se a condutividade relativa da região de interface elétrica é muito baixa, o campo elétrico obtido no volume de condução pode ser amortecido, isto é, aparentar estar muito mais baixo que o campo aplicado intencionado nos eletrodos, porque a alimentação é essencialmente perdida na região de interface elétrica.

Para atingir combinação, não é essencial que as resistividades/condutividades do(s) componente(s) formando a região de interface elétrica e do volume de condução sejam idênticas e na verdade, isto é extremamente difícil de conseguir. Contudo, em configurações preferenciais, as condutividades/resistividades são da mesma ordem de grandeza. Em modalidades particularmente preferenciais, a razão das resistividades/condutividades do(s) componente(s) compondo a região de interface elétrica com aquelas do volume de condução (ou vice versa) está entre 1:100 e 1:1, preferencialmente entre 1:50 e 1:1, mais preferencialmente entre 1:10 e 1:1.

Vantajosamente, o material ionicamente condutor em contato com o volume de condução é impermeável a gases (produzidos, por exemplo por eletrólise nos eletrodos) impedindo, desta forma, que eles atinjam o volume de condução. Alternativamente, a geometria pode ser disposta para guiar quaisquer bolhas de gás para fora do volume de condução. O material ionicamente condutor preferencialmente previne que quaisquer analitos separados dentro do volume de condução de atingir os eletrodos. Por exemplo, quaisquer poros no material são preferencialmente muito pequenos para permitir passagem dos objetos através do mesmo. Isto ajuda a reter os objetos dentro do volume de condução e evita perda de amostra.

Em certos exemplos preferenciais, a região de interface elétrica tem uma geometria fina semelhante a membrana ou a filme em que sua largura (isto é, a distância entre a montagem de aplicação de campo elétrico e o volume de condução) é pelo menos maior que sua espessura em uma direção perpendicular a ambos ditos distância e o volume de condução (por exemplo o eixo longo de um canal). Mais preferencialmente, a distância entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico é pelo menos duas vezes a espessura da região de interface elétrica, mais preferencialmente pelo menos 5 vezes a espessura da região de interface elétrica, adicionalmente preferencialmente pelo

menos 5 vezes, ainda preferencialmente pelo menos 10 vezes, mais preferencialmente pelo menos 100 vezes.

A geometria semelhante a membrana preferencial efetivamente pondera as voltagens obtidas entre os eletrodos. Isso “espalha” cada voltagem de ponto ao longo da periferia do volume de condução (com dispersão de voltagem relativamente pequena em qualquer outra direção), desta forma permitindo suavização do campo aplicado discreto a partir da montagem de aplicação de campo elétrico principalmente ao longo da periferia do volume de condução. Ao manter o material fino, a voltagem pode ser disposta para ser substancialmente constante na direção da espessura do material, evitando o estabelecimento de campos elétricos transversais no volume de condução. Contudo, isto pode alternativamente ser atingido ao dispor a montagem de aplicação de campo elétrico para aplicar um campo elétrico discreto o qual não varia na direção da espessura da região de interface elétrica (por exemplo, pelo uso de eletrodos os quais entram com o material ao longo da sua espessura total).

Juntamente com a suavização do campo elétrico, ao mesmo tempo a região de interface elétrica mantém o ambiente microfluídico dentro do volume de condução separado dos eletrodos de modo a não interromper o processo de separação ou manipulação.

Preferencialmente, o volume de condução é provido em ou sobre um substrato e a região de interface elétrica enche substancialmente uma cavidade em ou sobre o substrato. O próprio substrato pode ser convenientemente fabricado utilizando técnicas de microfabricação selecionadas.

Preferencialmente, a profundidade do volume de condução é aproximadamente igual a ou maior que a espessura da região de interface na mesma direção. Em particular, a profundidade do volume de condução é preferencialmente entre 1 e 5 vezes maior, preferencialmente entre 1.5 e 3 vezes maior, ainda preferencialmente cerca de 2 vezes maior que a espessura do material. Os inventores descobriram que esta proporção permite a formação de um volume de condução na forma de um canal por meio de forças capilares atuando na região de interface elétrica material na forma fluida, como será descrito abaixo.

Em modalidades preferenciais, a distância entre a localização na qual o campo elétrico discreto é aplicado e o volume de condução é entre 0.1 e 8 mm, preferencialmente entre 0.5 e 2.5 mm. Preferencialmente, a espessura da região de interface elétrica é entre 0.1 e 100 μ m, preferencialmente entre 20 e 40 μ m.

Preferencialmente, a profundidade (altura) do volume de condução é entre 0.1 a 500 μm , preferencialmente entre 10 e 100 μm .

Em certas circunstâncias, é desejável que a cavidade no substrato seja provida com pelo menos um pilar para prover suporte e prevenir colapso da peça do topo do substrato. Pilares podem também ser implantados para alterar as propriedades elétricas da interface, como mencionado. Além disso, pilares proveem área de superfície adicional para ajudar a reter o(s) material(is) na região de interface elétrica.

Em modalidades preferenciais, o volume de condução é um canal o qual pode seguir qualquer curso desejável. Por exemplo, o canal pode ser retilíneo ou pode ser na forma de um circuito fechado. A configuração de circuito fechado provê várias vantagens sobre projetos de circuito aberto tais como um canal retilíneo. Em primeiro lugar, canais de circuito fechado evitam efeitos de borda em que o campo elétrico obtido dentro do canal em cada extremidade do canal, se desviam dos nível desejáveis. Por exemplo, em um canal linear, uma seção no meio do canal tipicamente será apresentada com fontes de voltagem aplicada ambos os lados da seção ao longo do canal, a voltagem obtida na seção sendo uma média das duas voltagens. Uma seção próxima a uma extremidade do canal, contudo, não "vê" fontes de voltagem providas em ambos os lados, mas somente no lado em direção à outra extremidade do canal. Isso significa que há uma média assimétrica, a qual faz com que uma distorção no campo dentro da seção próxima a uma extremidade do canal. Em segundo lugar, quando se aplica os campos elétricos de mudança de tempo a canais de circuito aberto, regiões podem ocorrer onde o campo varia muito pouco e a direção de corrente elétrica permanece essencialmente inalterada. Isto pode levar a depleção localizada de íon severa no material ionicamente condutor compreendido na região de interface elétrica. Como um resultado, o formato de campo desejado no canal é perdido uma vez que os efeitos de depleção de íon tendem a neutralizar o campo aplicado. Em contraste, em um canal de circuito fechado, tal como uma disposição circular, uma "onda" elétrica de propagação (isto é, um perfil de campo elétrico não uniforme com formato) pode ser configurada para viajar em torno do circuito. Isto "varre" íons no material ionicamente condutor em torno do circuito, continuamente reabastecendo quaisquer regiões desprovidas de íons e levando íons a partir de áreas correspondentemente superconcentradas, de modo que o campo no canal permanece suave e estável. Em terceiro lugar, quando um canal de circuito aberto é utilizado, o comprimento operacional eficaz do dispositivo é ditado pelo

comprimento físico do canal. Em sistemas de circuito fechado, não há começo nem fim para o canal principal e assim o dispositivo tem essencialmente um comprimento operacional infinito.

5 Preferencialmente, a montagem de aplicação de campo elétrico adicionalmente compreende um controlador adaptado para aplicar uma voltagem a cada eletrodo a fim de obter um perfil de campo desejável.

10 Os eletrodos são preferencialmente afastados um do outro ao longo de uma direção em conformação com uma periferia do volume de condução. Por exemplo, quando o volume de condução é um canal, é preferencial que os eletrodos sejam afastados ao longo de uma direção em conformação com o curso do canal.

15 Em modalidades preferenciais, a pluralidade de eletrodos está disposta ao longo de um lado do volume de condução. Vantajosamente, a montagem de aplicação de campo elétrico pode adicionalmente compreender uma segunda pluralidade de eletrodos dispostos ao longo do lado oposto do volume de condução da primeira pluralidade de eletrodos, formando assim pares de eletrodos em lados opostos do volume de condução e em que uma voltagem pode ser aplicada a cada eletrodo do par. Em algumas modalidades preferenciais, substancialmente a mesma voltagem é aplicada a ambos os eletrodos em cada par. Contudo, em outros casos, diferentes voltagens podem ser aplicadas a cada eletrodo no par, por exemplo a fim de combater efeitos de velocidade diferencial que se devem à curvatura do volume de condução (como descrito em W02006/070176), ou para manipular lateralmente o campo dentro do volume.

25 O dispositivo pode adicionalmente compreender uma montagem de medição de campo elétrico adaptada para medir o campo elétrico no volume de condução, (e/ou ao longo do material de interface elétrica); e em que o controlador é vantajosamente adaptado para variar o campo elétrico discreto aplicado com base no campo elétrico medido. Consequentemente, em separado dos eletrodos de "gravação" aplicando o campo elétrico discreto, eletrodos de 30 "leitura" podem ser utilizados para medir e controlar o campo aplicado. Os eletrodos de "leitura" podem entrar em contato com o volume de condução diretamente ou podem medir o campo elétrico estabelecido através de uma porção de uma região de interface elétrica (a qual pode ou não ser a região de interface elétrica localizada entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico). Por exemplo, a montagem de medição de campo 35 elétrico pode preferencialmente compreender uma pluralidade de eletrodos em

contato elétrico com a região de interface elétrica, a pluralidade de eletrodos da montagem de medição de campo elétrico preferencialmente sendo disposta no lado oposto do volume de condução da montagem de aplicação de campo elétrico. Em modalidades alternativas vantajosas, o dispositivo pode usar o(s) mesmo(s) eletrodos(s) que eletrodo(s) de gravação ou de leitura, mudando entre os dois modos como for necessário. Por exemplo, o controlador pode ser adaptado para parar de fornecer voltagem a cada eletrodo por um curto período em intervalos regulares, e ao invés disso ler o campo local instantaneamente, antes de retomar o fornecimento de tensão.

O substrato pode ser provido com orifícios (também referidos como poços ou nodos de poços) em conexão com a cavidade (e com a região de interface preenchendo a cavidade) e com uma superfície do substrato, para acomodar um eletrodo em uso. Os orifícios podem ser preenchidos com fluido ionicamente condutor, tal como um tampão aquoso, um gel tixotrópico ou um gel viscoso, e disposto de tal modo que eletrodos são imersos no fluido ionicamente condutor. Vantajosamente, esta configuração provê pontos de fuga para os produtos gasosos de eletrólise. Além disso, prover o substrato com orifícios preenchidos com um condutor iônico permite um tamanho do reservatório de íons suficiente para atenuar a depleção de íon no material ionicamente condutor compreendido em uma região de interface elétrica. Como uma alternativa a eletrodos imersos tais como aqueles descritos acima, eletrodos de condução (por exemplo, formados por um filme de metal) podem ser depositados no substrato, levando a um ou mais conector (es) no dispositivo para integração com um sistema de controle de campo elétrico. Estes eletrodos podem estar em contato com o material de interface e válvulas podem ser providas para o escape de gases de eletrólise.

Vantajosamente, a montagem de aplicação de campo elétrico adicionalmente compreende braços de conexão, tais como braços fluídicos dispostos para conectar eletricamente cada eletrodo à região de interface elétrica. Por exemplo, os poços acima mencionados podem ser conectados a uma cavidade preenchida com a região de interface elétrica através de braços de conexão. O uso de braços fluídicos na montagem de aplicação de campo elétrico provê flexibilidade de desenho melhorada. Por exemplo, os orifícios podem ser perfurados em uma peça do topo do substrato e ter qualquer configuração como for considerado conveniente para a aplicação, enquanto os braços fluídicos atuam como condutores para aplicar as voltagens à região de interface elétrica. Pelo

projeto cuidadoso das dimensões de cada braço (e, portanto, a resistência elétrica que ele apresenta), o nível de voltagem apresentado ao material pode ser controlado. Cada braço de conexão preferencialmente conecta um único dos eletrodos à região de interface elétrica.

5 Quando o volume de condução é um canal, os orifícios no substrato podem ser periodicamente afastados uma linha única a qual segue a periferia do volume de condução. Contudo, isso não é essencial e cada orifício pode ser posicionado a uma distância diferente do volume de condução. Em um exemplo, os orifícios podem ser escalonados com respeito à periferia do volume de condução a fim de
10 maximizar o número de orifícios que podem ser providos ao longo da periferia do volume de condução. As diferentes posições dos orifícios (e, portanto, os eletrodos que eles contem em uso) podem ser negadas pelo projeto de braços fluídicos da montagem de aplicação de campo elétrico entre o orifício e o material. Contudo, em outros exemplos, pode ser feito uso das distâncias variadas no
15 estabelecimento da variação de voltagem necessária para criar um campo elétrico ao longo da periferia do volume de condução.

Se o volume de condução está na forma de um circuito aberto (por exemplo, um canal tendo pelo menos duas "extremidades" distintas — definidas fisicamente ou não), a montagem de aplicação de campo elétrico pode ser
20 configurada para combater efeitos de borda de campo. Por exemplo, no caso de um canal linear, dois eletrodos adicionais podem ser dispostos para prover uma voltagem extra em cada extremidade do canal. Preferencialmente, estes eletrodos são inseridos em nodos de poços no canal, em que os nodos de poços podem também servir como entradas e/ou saídas para o canal.

25 Como mencionado acima, a região de interface elétrica pode compreender mais que um componente e em uma modalidade preferencial compreende um material não ionicamente condutor adicionalmente ao material ionicamente condutor, de tal modo que o material ionicamente condutor está localizado entre o material não ionicamente condutor e o volume de condução e o campo elétrico discreto é aplicado pela montagem de aplicação de campo elétrico ao material
30 não ionicamente condutor. Por exemplo, o material não ionicamente condutor pode ser colocado entre o material ionicamente condutor e os eletrodos. O material não ionicamente condutor conduz principalmente pelo meio de movimento de elétron (e/ou orifício) e pode ser, por exemplo, um polímero resistivo ou um semicondutor tal como o silício.
35

Em tais modalidades, preferencialmente, a condutividade/resistividade do material não ionicamente condutor e a condutividade/resistividade do material ionicamente condutor são combinadas. Como descrito acima com relação às condutividades/resistividades relativas do volume de condução e região de interface elétrica, no presente contexto o termo "significa" não significa que as condutividades/resistividades têm de ser iguais, apesar de que é preferencial que elas sejam pelo menos similar. Ao "combinar" as condutividades/resistividades dos dois (ou mais) componentes da região de interface elétrica, ambas as condutividades/resistividades são levadas em conta junto com os parâmetros de campo aplicado de tal modo que ambos o material não ionicamente condutor e o material ionicamente condutor contribuem para a suavização do campo elétrico discreto. Se, por outro lado, as condutividades relativas dos dois materiais forem marcadamente diferentes, então de acordo com a lei de Ohm, toda a corrente surgindo a partir das voltagens aplicadas pode passar somente através do material ionicamente condutor ou somente através do material não ionicamente condutor. Isso alteraria significativamente o efeito de suavização de campo, levando a super suavização ou sub suavização do campo e possivelmente efeitos de blindagem de campo. Portanto, em configurações preferenciais, as condutividades/resistividades dos componentes são da mesma ordem de grandeza. Em modalidades particularmente preferenciais, a razão das resistividades/condutividades dos dois materiais é entre 1:100 e 1:1, preferencialmente entre 1:50 e 1:1, mais preferencialmente entre 1:10 e 1:1.

As mesmas considerações se aplicam a uma região de interface elétrica compreendendo dois ou mais componentes ionicamente condutores em série, ou uma mistura de componentes ionicamente e não ionicamente condutores, em cujo caso as condutividades/resistividades de cada componente são preferencialmente "combinadas".

Configurações incluindo um material não ionicamente condutor como parte da região de interface elétrica proveem várias vantagens. Em particular, elas proveem flexibilidade na conectividade com a montagem de aplicação de campo elétrico. Por exemplo, eletrodos podem ser conectados a um material sólido "seco" (por exemplo, silício) ao invés de serem imersos em poços preenchidos com fluido como descrito acima. Isto pode resultar em um dispositivo mais coerente e melhor vedado. Por outro lado, uma desvantagem de tais configurações é que a combinação de um material ionicamente condutor (tipicamente contendo fluido) e um material não ionicamente condutor "seco"

requer uma interface fluida/sólida a qual tende a dar origem a eletrólise e evolução de bolhas de gás. Consequentemente, tais configurações podem requerer poros ou poços localizados nesta interface para atuar como escapes para as bolhas de gás.

- 5 O material ionicamente condutor pode compreender, por exemplo, um polímero.

Vantajosamente, polímeros podem ser facilmente introduzidos a um dispositivo de acordo com a invenção em forma líquida e então polimerizados *in situ*, ou utilizando um iniciador químico, ou por iniciação térmica ou foto-iniciação,
10 por exemplo.

Preferencialmente, o material ionicamente condutor é um material poroso. Um material “poroso” é aquele através do qual fluido pode fluir, por exemplo através de poros, canais ou cavidades do material. Uma espuma, uma esponja ou qualquer outro tipo de material de tipo matriz ou de tipo celular, são exemplos de
15 materiais porosos. Por exemplo, o material poroso ionicamente condutor, pode compreender um vidro poroso ou um material cerâmico poroso.

Alternativamente, o material ionicamente condutor pode ser um hidrogel. Hidrogéis são uma classe de materiais poliméricos que são capazes de absorver soluções aquosas, mas não se dissolvem em água. Hidrogéis têm vários atributos
20 os quais fazem deles altamente adequados para uso na interface de formatação de campo presentemente divulgada. Em particular, eles são porosos, tipicamente tendo tamanhos de poro na faixa de nm baixa, o que significa que eles são permeáveis a moléculas de água e íons pequenos, mas impermeáveis a analitos grandes, incluindo biomoléculas tais como proteínas ou DNA. Além disso,
25 hidrogéis são tipicamente impermeáveis a bolhas de gás, prevenindo, assim, que os gases formados por eletrólise nos eletrodos atinjam o volume de condução.

Em uma modalidade preferencial, a resistividade da região de interface elétrica é constante por todo o seu volume. Homogeneidade elétrica da região de interface elétrica é geralmente desejável de modo a atingir um efeito de
30 suavização de campo isotrópico. Alternativamente, em outras modalidades, a resistividade pode variar em pelo menos uma direção - por exemplo, em uma direção perpendicular à periferia do volume condutor ou na direção alongada de um canal. Isso pode permitir, por exemplo, a aplicação de diferentes campos de grandeza a uma pluralidade de canais circulares concêntricos cada um afastado
35 por uma porção de região de interface de campo elétrico, enquanto utilizado uma única montagem de aplicação de campo elétrico.

Variação da resistividade da região de interface elétrica pode ser obtida ao alterar a composição do material da região em uma ou mais direções, por exemplo através do uso de múltiplos componentes de interface elétrica de diferentes propriedades elétricas. Contudo, tal alteração pode ser difícil na prática.

- 5 Alternativamente, a resistividade pode ser mais facilmente variada ao introduzir pilares na cavidade e variar ou o seu tamanho ou sua densidade em uma ou mais direções. Isso tem o efeito de remover material de condução e, desse modo, aumentar a resistividade da região de interface elétrica (ou reduzi-la se a densidade dos pilares cair). Um outro método de exemplo para variar a
- 10 resistividade da região de interface elétrica é variar a profundidade da cavidade.

A condutividade e espessura relativa da região de interface elétrica são preferencialmente de tal modo que o fluxo de corrente não é excessivo, a fim de evitar o aquecimento Joule e eletrólise excessiva nas regiões em que os eletrodos são aplicados.

- 15 Em modalidades preferenciais, o substrato é eletricamente resistivo ou isolante. Pode ser desejável que o substrato seja transparente a qualquer uma ou mais de: radiação visível, infravermelho (IR) ou ultravioleta (UV) para permitir fotopadronização e foto-polimerização da região de interface elétrica material através do substrato, ou para fazer o dispositivo adequado para uso com técnicas de
- 20 detecção óptica. Contudo, em outros casos o substrato não necessita ser opticamente transparente.

Vantajosamente, um dispositivo de acordo com a invenção pode permitir análise simultânea no volume de condução. Por exemplo, o volume pode compreender uma pluralidade de canais, cada um afastado lateralmente do

25 próximo por uma região de região de interface elétrica, em que a montagem de aplicação de campo elétrico é configurada para aplicar o campo elétrico discreto a uma porção do material de interface elétrica, em que o campo elétrico discreto é suavizado pela região de interface elétrica de tal modo que um campo elétrico substancialmente contínuo é estabelecido em cada um da pluralidade de canais.

- 30 Em uma configuração preferencial, o campo elétrico substancialmente contínuo estabelecido em cada canal é substancialmente o mesmo, apesar de que, como notado acima, isto não é essencial. Como uma alternativa, canais múltiplos podem ser empilhados uns sobre os outros dentro do volume de condução, cada camada contendo um canal separado por uma camada de isolador, com o
- 35 material de interface elétrica em contato com um ou ambos os lados de cada uma das camadas do canal. Em um outro exemplo, camadas de material de interface e

camadas de volume condutor (canal) podem ser empilhadas umas em cima das outras, separadas por camadas isolantes. Canais de entrada para a introdução de amostras aos canais de separação dentro do volume de condução podem ser embebidos nas camadas isolantes.

5 Um dispositivo de acordo com a invenção pode ser, por exemplo, um dispositivo microfluídico e/ou um dispositivo de separação para separar objetos, em que o volume de condução é um canal de separação. Por exemplo, o dispositivo pode ser um dispositivo de separação para separar objetos, o dispositivo de separação compreendendo: um dispositivo de acordo com a
10 presente invenção, em que o volume de condução é um canal de separação o qual, em uso, contém objetos a serem separados, em que o campo elétrico substancialmente contínuo no canal dá origem a uma força elétrica atuando em cada objeto; e uma fonte de equilíbrio configurada para dar origem a uma força que se opõe à força elétrica em cada objeto; em que objetos no canal de
15 separação são levados a se separarem em bandas sob a influência combinada do campo elétrico e da fonte de equilíbrio. A força ou as forças de "equilíbrio" surgindo a partir da fonte de equilíbrio pode(m) ser simplesmente força(s) que se deve(m) à resistência hidrodinâmica de um objeto passando através de um fluido ou gel estático, ou o volume de condução pode ser preenchido com uma coluna
20 cromatográfica ou micelas, de modo que a força de equilíbrio(s) pode surgir como um resultado de processos de exclusão de tamanho e/ou de cromatografia de afinidade. A força de equilíbrio pode também resultar do bombeamento hidrodinâmico ou eletro-osmótico de fluido através do volume de condução.

Em uma modalidade preferencial, o dispositivo é um dispositivo de
25 eletroforese, em que a fonte de equilíbrio é um fluido contido no canal junto com os objetos a serem separados, o dispositivo compreendendo adicionalmente um controlador adaptado para variar o campo elétrico discreto aplicado de modo a ajustar o perfil de campo elétrico em relação ao canal de separação, em que objetos no canal de separação são levados a se separarem em bandas sob as
30 influências combinadas de uma força elétrica que se deve ao campo elétrico estabelecido dentro do canal e uma força hidrodinâmica que se deve ao fluido. Assim, neste caso, a força de equilíbrio é uma força hidrodinâmica.

De acordo com um terceiro aspecto da presente invenção, um método de fabricação de um dispositivo compreende as etapas de:

35 prover uma montagem de aplicação de campo elétrico adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto;

prover um volume de condução;

prover uma região de interface elétrica, entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico, em que a região de interface elétrica compreende pelo menos um material ionicamente condutor disposto
5 adjacientemente a e em contato com o volume de condução,

em que, em uso, o campo elétrico discreto é aplicado à região de interface elétrica em uma localização afastada do volume de condução; de tal modo que, em uso, o campo elétrico discreto aplicado é suavizado pela região de interface elétrica de modo que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro do volume de
10 condução é substancialmente contínuo.

Vantajosamente, o volume de condução pode ser gravado em um superfície de um substrato utilizando técnicas de micro-usinagem. Alternativamente, o volume de condução pode ser provido pela montagem conjunta de duas ou mais placas, sendo pelo menos uma das quais gravada ou
15 caso contrário usinado, para formar um substrato contendo um volume de condução (por exemplo um canal interno).

Vantajosamente, uma cavidade pode ser formada no substrato, utilizando técnicas de micro-usinagem similares. A cavidade pode então ser preenchida com um pré-polímero tal como um monômero ou material em forma líquida, por
20 exemplo um pré-polímero líquido o qual pode ser subsequentemente polimerizado ou curado para formar pelo menos um componente da região de interface elétrica. Tipicamente, este é o componente ionicamente condutor da região de interface elétrica. Preferencialmente, o material é hidratado antes da inserção/injeção à cavidade (e antes da cura/polimerização). Isto reduz a possibilidade do material
25 mudar substancialmente em volume (particularmente, dilatação) uma vez dentro da cavidade, o que pode ocorrer se o material foi hidratado após a cura. Isso pode levar a craqueamento do substrato e/ou redução em volume do volume de condução.

Em modalidades preferenciais, a polimerização é obtida utilizando um
30 fotoiniciador ou um iniciador térmico. Um fotoiniciador é um ingrediente catalisador que torna um polímero sensível à luz, tipicamente irradiação UV. O processo de polimerização é conduzido por radicais livres os quais são produzidos pelo fotoiniciador após exposição a radiação do formato de onda apropriado. Fotoiniciadores normalmente produzem radicais livres quando
35 expostos a fótons, tipicamente UV, mas também podem ser ativados por luz visível ou mesmo um feixe de elétrons. Assim, polimerização do material pode ser

controlado por irradiação com, por exemplo, luz UV. É também possível utilizar um iniciador adequado que não necessite de meios foto ou termo iniciados para polimerizar o material da região de interface elétrica. Um exemplo é a iniciação APS/TEMED de acrilamida.

5 Isto leva à possibilidade de foto-padronização do material para definir o canal no mesmo. Por exemplo, uma máscara pode ser colocada sobre a região do dispositivo em que o volume de condução está a ser formado. Após exposição à radiação foto-iniciante, as regiões descobertas do material são curadas enquanto o volume condutor mascarado permanece fluido. O material dentro do
10 volume de condução pode então ser removido, por exemplo, por enxague, para formar o volume desejável. Em exemplos particularmente preferenciais, a etapa de enxague pode ocorrer utilizando um fluido o qual o volume de condução é para conter em uso, por exemplo um tampão ou gel de peneiramento, em que o volume de condução é imediatamente preparado para uso.

15 Similarmente, um iniciador térmico pode ser utilizado para controlar polimerização ao aumentar a temperatura. Iniciadores térmicos são moléculas que se quebram quando aquecidas, formando radicais livres. Aquecimento pode ser global (por exemplo, aquecimento do dispositivo inteiro) ou localizado, por exemplo ao utilizar radiação de micro-ondas ou lasers. Deste modo, padronização
20 semelhante da região de interface elétrica pode ser obtida. Após a polimerização do material de interface elétrica, o dispositivo pode ser encharcado em tampão para permitir ao seu conteúdo iônico se equilibrar antes de o dispositivo ser utilizado.

 Alternativamente, o volume de condução pode ser obtido ao utilizar forças
25 capilares atuando na região de interface elétrica material em forma líquida, por exemplo no pré-polímero antes de sua polimerização. O volume de condução (por exemplo, um canal) pode ser obtido utilizando uma cavidade de dimensões adequadas, em que a profundidade do canal é maior que a espessura da região de interface, preferencialmente cerca de duas vezes a espessura da região de
30 interface. Isto foi descoberto pelos presentes inventores como permitindo preenchimento da cavidade ao mesmo tempo em que prevenindo preenchimento do canal. Contudo, como mencionado acima, outras dimensões da cavidade/canal podem também serem capazes de atingir esse efeito, dependendo da viscosidade do material da região de interface de fluido e da energia de superfície do material
35 em particular a partir do qual o substrato é feito (dentre outros parâmetros). Por exemplo, a profundidade do canal é preferencialmente entre 1 e 5 vezes maior,

preferencialmente entre 1.5 e 3 vezes maior, que a espessura da cavidade. Uma vez que a cavidade é adequadamente preenchida com o pré-polímero, o pré-polímero pode ser polimerizado como descrito acima.

5 Antes de preencher a cavidade com o pré-polímero, as superfícies da cavidade podem ser tratadas, por exemplo por silanização, a fim de melhorar a aderência da região de interface elétrica material ao substrato. É também possível padronizar o material através de silanização seletiva de diferentes áreas da cavidade, tornando algumas áreas hidrofóbicas e algumas áreas hidrofílicas. Um agente de silanização pode alternativamente ou adicionalmente ser adicionado à
10 mistura de pré-polímero se desejável.

Em um outro exemplo, um batente físico pode ser formado entre a cavidade e o volume de condução para prevenir que o material entre no volume de condução. Por exemplo, uma região de dimensão reduzida pode ser suficiente para parar o avanço do material fluido.

15 Preferencialmente, o volume de condução é tratado de uma maneira adequada de forma que, durante análise de objetos ou analitos de interesse presentes dentro do volume de condução, elas são prevenidas de aderirem à paredes internas ou à superfície interna do volume de condução. Por exemplo, a superfície interna do volume de condução pode ser silanizada ou revestida com
20 um material adequado tal como um polímero.

Exemplos de dispositivos e métodos para suavizar o formato de um campo elétrico bem como métodos de fabricação do dispositivo de acordo com a presente invenção serão agora descritos com referência às seguintes Figuras:-

Figura 1 é uma representação esquemática de uma primeira modalidade
25 de um dispositivo de acordo com a presente invenção;

Figura 2 esquematicamente mostra uma porção do dispositivo mostrada na Figura 1;

Figura 3 é uma representação esquemática de a suavização do perfil de campo elétrico via a região de interface elétrica;

30 Figura 4A é um gráfico da distribuição da voltagem correspondente a um perfil de campo elétrico discreto ("não suavizado") exemplar aplicado por uma montagem de aplicação de campo elétrico ao longo de um canal;

Figura 4B é um gráfico do campo elétrico discreto correspondente à Figura 4A;

35 Figura 4C é um gráfico da distribuição da voltagem correspondente a um perfil de campo elétrico contínuo exemplar obtido dentro de um volume de

condução na forma de um canal quando uma região de interface elétrica é utilizada para suavizar o perfil de campo elétrico discreto;

Figura 4D é um gráfico do campo elétrico correspondente à Figura 4C;

5 Figuras 5A, 5B e 5C respectivamente representam vistas em corte transversal de modalidades adicionais de dispositivos de acordo com a presente invenção;

Figuras 6A e 6B ilustram a formação de um canal por forças capilares;

Figuras 7A a 7C ilustram uma técnica para prover uma região de interface elétrica e um canal dentro de um substrato;

10 Figuras 8A a 8C retratam métodos exemplares adicionais de fabricar dispositivos de acordo com a presente invenção;

Figura 9 é uma vista em plano da primeira modalidade, tendo um volume de condução na forma de um canal linear e região de interface elétrica posicionada ao longo de ambos os lados do canal;

15 Figura 10 é uma representação esquemática de uma segunda modalidade tendo um volume de condução na forma de um canal linear e região de interface elétrica posicionada ao longo de somente um lado do canal;

Figura 11 é uma representação esquemática de uma terceira modalidade tendo uma região de interface elétrica consistindo em um material ionicamente condutor e um material não ionicamente condutor;

20 Figura 12 é um gráfico ilustrando um perfil de campo elétrico exemplar ao longo de um volume de condução na forma de um canal linear;

Figura 13 é uma representação esquemática de uma terceira modalidade, tendo um volume de condução na forma de um canal circular;

25 Figura 14 é um gráfico ilustrando um perfil de campo elétrico exemplar ao longo de um canal circular;

Figura 15 é uma representação esquemática de um dispositivo tendo um canal circular e região de interface descontínua;

30 Figura 16A é uma representação esquemática de uma quarta modalidade, tendo um canal circular e uma configuração de eletrodos assimétrica;

Figura 16B é uma representação esquemática de uma porção da quarta modalidade, em que analitos de interesse são separados em “bandas”;

35 Figuras 17A e 17B são representações esquemáticas de modalidades adicionais, tendo canais linear e circular, respectivamente, e configurações alternativas de eletrodos e eletrodos de leitura localizados em meio a eletrodos de gravação;

Figura 18 representa esquematicamente uma configuração escalonada exemplar de 30 eletrodos;

Figuras 19A e 19B, respectivamente, mostram vistas em corte transversal e de topo de uma outra modalidade de uma porção de um dispositivo de acordo com a presente invenção; e

Figuras 20, 21 e 22 ilustram modalidades adicionais de dispositivos.

Será apreciado que os dispositivos e métodos de acordo com as modalidades exemplares descritos aqui têm aplicações bem difundidas, e podem ser utilizado em qualquer dispositivo o qual requeira a aplicação de um campo elétrico suave, tal como dispositivos microfluídicos ou LOCs por exemplo. Aplicações potenciais incluem técnicas semelhantes a eletroforese, utilizadas para separação de objetos, ou outras técnicas de separação tais como espectrometria centrífuga como descrito em EP1455949. Aplicações alternativas incluem dispositivos microfluídicos para separar objetos em regiões hidrofílicas providas por exemplo em substratos de papel hidrofóbicos, em dispositivos de eletroforese de “fluxo livre”, em slab-gels, ou em eletrocromatografia.

As modalidades exemplares descritas abaixo focarão nas aplicações de eletroforese para separar objetos em canais, particularmente técnicas de deslocamento de campo elétricas do tipo descrito em WO 2006/070176, mas será compreendido que isto não se destina a ser limitante.

Os “objetos” a serem separados podem compreender, por exemplo, polímeros tais como proteínas, moléculas de DNA, moléculas de RNA ou outros tipos de biomoléculas tais como células biológicas. Objetos inorgânicos tais como particulados, por exemplo pigmentos, corantes, partículas de poeira etc. estão também previstos. Pelo menos alguns dos objetos têm uma carga elétrica eficaz de tal modo que eles sofrem uma força na presença de um campo elétrico aplicado. A carga pode ser intrínseca ao objeto (por exemplo, no caso de um íon), ou pode acontecer como um resultado da dupla camada elétrica do objeto em um fluido (por exemplo, um potencial zeta).

Figura 1 mostra um dispositivo 1 de acordo com uma primeira modalidade da invenção, compreendendo um volume de condução 2 na forma de um canal, o qual pode ser implementado em um tubo capilar em um chip microfluídico por exemplo. O volume de condução 2 será referido como um canal 2 a seguir, porém será compreendido que isto não se destina a ser limitante. Similarmente, a periferia relevante do volume de condução é considerada como sendo um lado do

canal se estendendo ao longo do comprimento do canal 2, apesar de que isto também não se destina a ser limitante.

O dispositivo 1 adicionalmente compreende uma região de interface elétrica de formatação de campo 3 a qual, nesta modalidade, consiste em um material ionicamente condutor 3 ao lado de e em contato elétrico com o canal 2. Neste exemplo, uma vez que a região de interface elétrica 3 consiste em um componente somente (o material ionicamente condutor), a região 3 será referida indistintamente como o "material de interface elétrica 3". Este termo será utilizado a seguir com referência a todas, exceto a terceira modalidade, descritas abaixo. Contudo, isto será compreendido como não limitante, uma vez que a região de interface elétrica 3 pode compreender outros componentes, na forma de materiais ionicamente ou não ionicamente condutores adicionais, como será descrito abaixo com maiores detalhes na terceira modalidade exemplar mostrada na Figura 11.

O dispositivo 1 adicionalmente compreende uma montagem de aplicação de campo elétrico 4 a qual pode compreender por exemplo um arranjo de eletrodos afastados (por exemplo, uma fileira) para aplicar um campo elétrico ao material 3 ao longo do canal 2, referido abaixo como eletrodos de "gravação" 5a, e um controlador 6. em exemplos preferenciais os eletrodos são periodicamente afastados ao longo do canal 2 porém isto não é essencial.

Uma montagem de medição de campo elétrico, compreendendo por exemplo um arranjo de eletrodos de "leitura" 5b pode, opcionalmente, ser provida para medir o campo elétrico aplicado. Neste exemplo, os eletrodos de "leitura" medem o campo elétrico a partir de uma segunda porção do material de interface elétrica 3 o qual está no lado oposto do canal dos eletrodos de "leitura". Contudo, outras disposições são possíveis como será explicado abaixo.

O controlador 6 pode compreender uma unidade fornecimento de alimentação 6b para gerar voltagens individuais nos eletrodos de gravação 5a e um processador 6a o qual recebe voltagens de retorno dos eletrodos de leitura 5b e ajusta as voltagens gerada em resposta ao retorno recebido. O controlador pode, por exemplo, operar da maneira descrita em W02006/070176 para gerar voltagens de acordo com um perfil de campo desejável o qual é então variado ao longo do tempo. Alternativamente, um campo que não muda (isto é, constante com o tempo) de qualquer formato desejável pode ser aplicado. Exemplos dos perfis de campo serão dados abaixo.

Como será descrito em maior detalhe abaixo, o canal 2 pode tomar qualquer formato inclusive retilíneo, como mostrado na Figura 1, ou curvado. Em

algumas modalidades, o canal pode formar um circuito fechado. Quando o dispositivo 1 é um dispositivo de eletroforese para separar objetos, o canal 2 pode conter fluido o qual pode ser um tampão a escolha, tipicamente um tampão aquoso condutor ou um gel, por exemplo. O pH do fluido afeta a carga elétrica aparente exibida pelos objetos a serem separados e portanto, podem ser escolhidos dependendo da natureza dos analitos a serem separados no canal 2, a fim de prover condições de separação ideais. No caso de DNA ou proteínas tratadas com SDS desnaturadas, por exemplo, o pH do tampão é tipicamente na faixa de 7.5 a 9. Contudo, outras faixas de pH podem ser mais adequadas para outros tipo de analito — por exemplo, é provável que proteínas nativas e metabólitos requeiram diferentes condições de pH para atingir separação ideal. O pH do volume de condução não precisar ser constante por todo o dispositivo e se desejável, é possível dispor diferente níveis de pH em diferentes áreas do dispositivo. Os objetos a serem separados são suspensos dentro do fluido no canal 2. Um detector pode também ser provido para detectar eventos ocorrendo dentro do canal. Por exemplo, qualquer um dos tipos de detector descritos em W02006/070176 pode ser utilizado.

Como será descrito em maior detalhe abaixo, o material de interface elétrica 3 é ionicamente condutor (isto é, corrente elétrica é conduzida através de movimento de íons) e pode compreender um polímero de escolha tal como um hidrogel, por exemplo, ou um material poroso tal como vidro poroso, cerâmica porosa, espuma ou esponja preenchida com um eletrólito. Deve ser notado que o material 3 pode ele mesmo ser ionicamente condutor e/ou pode conter uma substância ionicamente condutora, por exemplo um tampão aquoso, dentro dele. Um tampão adequado o qual pode ser utilizado é Tris-Borato-EDTA (TBE), preferencialmente a uma concentração dentro da faixa de 0.1X a 10X (tipicamente, 10X TBE é obtido a partir de um fornecedor e, em seguida, diluído conforme requerido: por exemplo, para fazer 1X TBE, uma diluição 1:10 deve ser realizada com água deionizada. para fazer 10x solução estoque concentrada de TBE a partir de seus componentes, o procedimento habitual é: pesar 54g Tris base (peso da fórmula = 121.14) e 27.5g de ácido bórico (FW = 61.83) e dissolver ambos em aproximadamente 900mL água deionizada; adicionar 20 mL de 0.5 M EDTA (pH 8.0) e ajustar a solução a um volume final de 1 L. Será apreciado que TBE é um exemplo e que outros sistemas de tampão adequados também podem ser utilizados.

O material de interface elétrica 3 preferencialmente tem uma resistividade moderada ou alta a fim de evitar o aquecimento Joule e eletrólise excessiva nas regiões em que os eletrodos são aplicados. Contudo, é preferível que a resistividade do material de interface elétrica é comparável àquela do volume de condução 2 a fim de atingir um grau de suavização apropriado, como será descrito em maior detalhe abaixo.

Neste exemplo, o material de interface elétrica 3 é localizado em uma cavidade 7a de um substrato 7 fabricado a partir de um material eletricamente resistivo tal como vidro ou plástico. A cavidade 7a é preferencialmente projetada de tal modo que ele pode ser completamente preenchida com o material de interface elétrica 3. No dispositivo 1 mostrado na Figura 1, o substrato 7 é provido como uma peça integral e o canal 2 é provido dentro do substrato 7, no meio da cavidade 7a, por exemplo pela moldagem durante a fabricação do substrato. Em outras modalidades descritas em detalhe abaixo, o canal 2 pode ser formado pela junção de duas ou mais peças de substrato. Em ainda outros exemplos, o canal pode ser formado em uma superfície externa do substrato. A cavidade 7a também pode ser interna ou externa.

Em outros exemplos, o material de interface elétrica pode ser aplicado ao dispositivo sem contenção dentro de uma cavidade. Por exemplo, o material pode ser afixado a uma superfície do dispositivo em uma localização adequada de modo a estar em contato com pelo menos uma borda do canal.

Quando o material de interface elétrica é localizado dentro do substrato, os arranjos de eletrodos 5a, 5b podem ser conectados a vários pontos de contato na cavidade 7a através de orifícios 8, também referidos como poços ou nodos de poços. Os orifícios mostrados na Figura 1 são circulares, apesar de que será apreciado que os orifícios podem tomar qualquer formato incluindo elíptico ou retangular. Cada orifício 8 provê acesso a partir da superfície do substrato à parede interna do lado superior ou exterior da cavidade 7a, de modo que um eletrodo localizado no orifícios 8 faz contato elétrico direto com o material de interface elétrica 3. Em outros exemplos, contato elétrico indireto entre os eletrodos 5a, 5b e o material de interface elétrica 3 é obtido através da montagem de aplicação de campo elétrico sendo provida com braços de conexão preenchidos com fluido, como descrito abaixo. Cada orifício 8 pode também atuar como um poço contendo uma solução de condução iônica (por exemplo um tampão aquoso) para a reposição do material de interface elétrica 3. Preferencialmente, o tamanho do reservatório provido pelos poços é suficiente

para atenuar contra a depleção de íon no material de interface elétrica. Por exemplo, cada poço pode se dimensionado para conter um volume de cerca de 1mm^3

Em algumas configurações, uma válvula (não mostrado) pode ser localizada no topo dos orifícios 8, para permitir que os gases de eletrólise sejam ventilados durante a coberto dos poços para impedir derrame. Preferencialmente, a válvula é feita de um material microporoso para repelir o eletrólito aquoso dentro dos orifícios 8. Isto é vantajoso para dispositivos empacotados de forma semelhante a cartuchos para prevenir que os conteúdos preenchidos anteriormente (isto é, o eletrólito dentro dos orifícios 8) vazem. Em algumas modalidades, os eletrodos podem ser configurados para perfurar a válvula após configuração do dispositivo.

A cavidade 7a tem uma largura (w) entre os orifícios 8 e o lado mais próximo do canal 2 a qual é ditada pelo afastamento dos eletrodos de gravação 5a e o grau desejável de suavização de campo elétrico. Por exemplo, os orifícios 8 podem ser providos ao longo do canal 2 a uma distância tipicamente variado a partir de $100\text{ }\mu\text{m}$ a vários mm. Quanto maior for a largura (w), maior o grau de suavização atingido. Contudo, se o afastamento dos eletrodos de gravação for pequeno, um grau de suavização relativamente baixo (e, portanto, uma menor largura (w)) pode ser suficiente. Preferencialmente, a largura (w) na direção y é pelo menos tão grande quanto, e preferencialmente muito maior que, a espessura (t) do material 3 na direção z. Isto é, o material tem uma configuração semelhante a uma "membrana".

Em um exemplo típico, a largura (w) da cavidade 7a na direção y é entre 0.1 e 5 mm , enquanto o afastamento entre eletrodos ao longo do canal na direção x é de cerca de 3 mm , o comprimento (l) da cavidade 7a ao longo do canal na direção x é de vários centímetros (por exemplo 12 cm), e a espessura (t) da cavidade 7a na direção z é entre 1 e $100\text{ }\mu\text{m}$. Em alguns casos, é desejável para a espessura (t) da cavidade 7a ser pequena, ou no máximo igual à profundidade (d) do canal 2, de modo que a interação entre os analitos naquele canal e o material de interface de campo elétrico seja minimizada. Por exemplo, para um canal 2 o qual é 10 a $100\text{ }\mu\text{m}$ de profundidade e 20 a $200\text{ }\mu\text{m}$ de largura, a cavidade 7a é preferencialmente entre 1 e $100\text{ }\mu\text{m}$ de espessura (t) e 1 a 5 mm de largura (w). Em modalidades alternativas, pode ser preferencial se o material de interface 3 cerca o canal 2, por exemplo em todos os lados (incluindo acima e abaixo), a fim de alcançar uma uniformidade de campo melhorada no plano y-z .

Dimensões exemplares adicionais serão providas abaixo, com referência aos diferentes métodos de fabricar dispositivos de acordo com a presente invenção.

Deve ser notado que, em implementações as quais não fazem uso de uma cavidade para conter o material de interface elétrica, as dimensões de cavidade exemplares acima se aplicam igualmente ao próprio material de interface elétrica.

Adicionalmente aos orifícios 8 para conectar eletrodos, um número de nodos de poços servindo como entradas e/ou saídas 9a, 9b, pode ser provido para inserção e/ou recuperação de fluido e/ou analitos no canal 2. No caso de um canal linear 2, como mostrado na Figura 1, os dois nodos de poços adicionais 9a, 9b são utilizados para inserir eletrodos de gravação adicionais (não mostrado) formando parte da montagem de aplicação de campo elétrico 4, a qual provê voltagens extra a fim de combater os efeitos de borda do campo elétrico, como descrito adicionalmente abaixo. Estes pontos de nodo de poço podem também servir como entradas e/ou saídas.

Como mencionado acima, os eletrodos 5a, 5b podem ser diretamente conectados (por exemplo, através de orifícios 8) a diferentes pontos no material de interface elétrica 3 na cavidade 7a, ou indiretamente, via braços de conexão 10, também referidos como um braço "fluídico" 10, como mostrado na Figura 2. De qualquer maneira, a montagem de aplicação de campo elétrico apresenta uma série discreta de pontos de voltagem ao material de interface de campo elétrico, dando origem a um perfil de campo elétrico discreto. Os "braços" 10 podem ser continuações do material 3 ou, alternativamente, eles podem ser preenchidos com fluido somente. Em ambos os casos, cada braço fluídico 10 preferencialmente se conecta a uma única voltagem de ponto (por exemplo, somente um eletrodo) ao material de interface elétrica 3.

Braços fluídicos deste tipo proveem um grau extra de flexibilidade uma vez que suas dimensões podem ser controladas para ajustar adicionalmente a voltagem apresentada ao material de interface elétrica 3. Por exemplo, ao aumentar a profundidade ou lateral largura do braço, a resistência elétrica que ele apresenta é reduzida e a voltagem aparente é aumentada. Em contraste, ao aumentar o comprimento do braço 10 (na direção entre o orifício 8 e o material 3), a resistência é aumentada. Isso pode ser feito uso em um número de maneiras. Por exemplo, se os orifícios 8 não estão todos localizados na mesma distância do canal (como pode ser o caso por exemplo em modalidades "escalonadas", das quais um exemplo é dado abaixo), os braços fluídicos 10 podem ser dimensionado para negar os efeitos das diferentes posições de eletrodo no

campo elétrico "visto" pelo material de interface elétrica 3, por exemplo ao projetar aqueles braços 10 conectando os eletrodos mais próximo para serem mais estreitos que aqueles braços 10 conectando os eletrodos mais distantes. Deste modo, cada braço 10 apresenta substancialmente a mesma resistência a cada eletrodo, de tal modo que a voltagem aplicada ao material 3 em cada ponto pode ser reduzida por uma quantidade substancialmente igual, de modo a não afetar o formato do campo.

Alternativamente, os braços fluídicos 10 podem ter um papel ativo na formatação do campo elétrico aplicado ao material 3. Por exemplo, se os braços fluídicos 10 são dimensionados para apresentar diferentes níveis de resistência, a mesma voltagem pode ser aplicada a cada eletrodo ao mesmo tempo em que ainda apresentando o material com pontos a diferentes voltagens (e, por isso, um campo elétrico não zero). Na prática, alguma combinação das duas abordagens pode ser adotada.

Um eletrodo de gravação 5a imerso no orifício 8 portanto provê a voltagem necessária para aquele ponto de interface definido pelo controlador 6. Neste exemplo, cada orifício se opondo 8 contém um eletrodo de leitura 5b para medir as voltagens aplicadas pelos eletrodos de gravação 5a. Novamente os eletrodos de leitura podem ser conectados através de braços fluídicos 10, e as mesmas considerações se aplicam com relação às dimensões. A configuração mostrada é um exemplo de um projeto "assimétrico", em que uma fileira de eletrodos de gravação 5a é provida em um lado do canal 2, oposta a uma fileira de eletrodos de leitura 5b, e em que o canal 2 é paralelo a e no meio das duas fileiras de eletrodo 5a, 5b.

Em exemplos preferenciais, a largura total entre as duas fileiras de eletrodo opostas pode variar a partir de 1 a 6 mm e é tipicamente cerca de 2.2 mm. Consequentemente, uma largura (w) exemplar típica do material de interface elétrica 3 é 1mm, com o material de interface elétrica 3 sendo provido a cada lado de um canal 2 de 200 μm de largura . Contudo, na prática, o material de interface elétrica 3 pode ser tão estreito quanto 200 μm de largura ou menos, e o próprio canal pode ser mais estreito do que indicado acima. O fato de que não há limite inferior estrito na largura do material de interface elétrica 3 é importante se dispositivos menores foram necessários, tendo dimensões da ordem de menos que um único micron ou mesmo nanômetro. Será apreciado que estas são dimensões exemplares e a largura total pode variar, estando maior , por exemplo

no caso de projetos de múltiplos canais os quais serão descrito em detalhe abaixo.

Figura 3 é uma representação esquemática de uma porção do dispositivo 1, mostrando uma região do material de interface elétrica 3 provida próxima a, e em contato elétrico com, o canal 2. Os contornos mostrados na Figura 3 esquematicamente ilustram linhas de voltagem constante dentro do material de interface elétrica 3. Note-se que neste exemplo, puramente pela ilustração, a mesma voltagem foi aplicada a cada um dos eletrodos ilustrados, contudo, na prática, diferentes voltagens serão apresentadas a fim de dar origem a um campo elétrico ao longo do comprimento do canal 2. A voltagem aplicada por cada eletrodo 5a é ionicamente conduzida entre os pontos nos quais os eletrodos 5a (ou braços fluídicos 10) entram em contato com o material de interface elétrica 3 e o canal 2, com as linhas equipotenciais diminuindo em curvatura à medida que seu raio aumenta. Finalmente, se as dimensões do material são suficientemente grandes, as linhas equipotenciais se tornam substancialmente retas próximo ao canal 2 o qual tem o efeito de suavizar a voltagem aplicada. Quando as voltagens apresentada ao material 3 variam ao longo do comprimento do canal (isto é, na direção x), em e adjacente à localização em que as fontes de ponto são aplicadas, um campo elétrico discreto será estabelecido. Contudo, em direção a e no canal 2, o efeito de suavização do material 3 significa que um campo elétrico substancialmente contínuo é obtido dentro do canal 2.

Figura 4A é um gráfico mostrando voltagens exemplares V as quais podem ser apresentadas ao material 3 (por exemplo por eletrodos 5a) ao longo de uma direção confirmando ao curso do canal (neste caso, ao longo do eixo-x). Será visto que estas são essencialmente fontes de voltagem de ponto, a grandeza das quais é disposta para aumentar ao longo do canal. Neste exemplo, a voltagem é configurada para aumentar em proporção a x^n , em que $n=2$, apesar de que qualquer outra variação de voltagem pode ser adotada como apropriada à aplicação. As voltagens de ponto retratadas na Figura 4A são origem a um campo elétrico discreto E obtido ao longo do canal como representado na Figura 4B. Será visto que a grandeza do campo elétrico aumenta gradualmente, com cada etapa representando uma descontinuidade no campo.

Figura 4C é um gráfico mostrando voltagens exemplares V as quais podem ser medidas ao longo da direção (x) do canal adjacente a ou dentro do canal 2. Será visto que a distribuição da voltagem é agora substancialmente contínua. A distribuição da voltagem da Figura 4C dá origem a um campo elétrico E

substancialmente contínuo ("suave") obtido ao longo do canal como representado na Figura 4D. O campo elétrico contínuo particular E representado na Figura 4D é linear (isto é, proporcional a x), apesar de que será apreciado que pode ser qualquer função substancialmente continua, dependendo da distribuição de

5 voltagem particular aplicada aos eletrodos.

Na prática, o campo elétrico suavizado pode ainda conter um grau de descontinuidade. Por exemplo, se os mesmos parâmetros forem aplicados no exemplo acima, porém a largura do material 3 for reduzida significativamente, a suavização não seria completa e, por isso, o campo elétrico estabelecido no canal

10 seria uma função de etapa modificada ao invés de uma linha reta. Contudo, seria ainda mais contínuo que o campo aplicado discreto original.

Como já foi observado, o material de interface elétrica 3 é selecionado por ter características de transporte de íons adequadas para permitir uma conexão elétrica entre os eletrodos 5a e o canal 2. Se, em contraste, o material conduzisse

15 principalmente eletricidade através do movimento de elétrons (ou orifícios) ele atuaria como um eletrodo e suportaria reações eletroquímicas na sua superfície e no processo produziria bolhas de gás da eletrólise. Estas bolhas interromperiam seriamente o campo elétrico obtido no canal 2 e conseqüentemente a operação do dispositivo 1. Isto é evitado através do uso de um material ionicamente

20 condutor 3. Preferencialmente, o material de interface elétrica 3 tem mobilidade iônica adequadamente rápida, de modo que depleção de íon não se torne excessiva durante uso.

A condutividade e dimensões relativas do material de interface 3 devem ser de tal modo que, em uso, o fluxo de corrente não seja excessivo, a fim de evitar o

25 aquecimento Joule e eletrólise excessiva no eletrodo nodos de poços.

Como mencionado acima, a condutividade iônica do material de interface 3 deve preferencialmente ser de tal modo que ela seja comparável àquela do canal 2 preenchido (tipicamente um tampão ou gel). Se a condutividade do material de interface 3 é muito alta ou muito baixa, o formato do campo elétrico pode não se

30 formar como desejável no canal 2. Isso se dá porque, se as condutividades relativas do fluido dentro do canal 2 e o material de interface elétrica 3 foram significativamente diferentes, então a lei de Ohm prevê que toda a corrente passará predominantemente através do material de interface elétrica 3 ou predominantemente através do canal 2, desta forma alterando efeitos de

35 suavização de campo (isto é, super suavização ou sub suavização). Adicionalmente, se a condutividade do material 3 é muito baixa, o campo elétrico

obtido no canal 2 pode ser amortecido, isto é, aparentar estar muito mais baixo que o campo intencionado aplicado nos eletrodos 5a, porque a alimentação é essencialmente perdida no material de interface elétrica 3. Consequentemente, é preferível que as resistividades relativas do canal 2 e do material de interface de campo elétrico 3 sejam levadas em conta a fim de obter o campo desejado no canal 2. Em uma configuração preferencial, as resistividades relativas são da mesma ordem. Em casos particularmente preferenciais, as condutividades/resistividades do canal 2 e material 3 diferem por um fator de não mais que 100, preferencialmente não mais que 50, mais preferencialmente não mais que 10.

Contudo, na prática isto pode ser difícil uma vez que quando o dispositivo é um dispositivo de eletroforese, a condutividade/resistividade do fluido dentro do volume é limitada na faixa. Isso se dá porque o fluido deve ser de uma composição adequada (em termos de pH e concentração) para dar origem a condições de separação adequadas. Como tal a condutividade do fluido é restrita e é tipicamente relativamente alta em comparação a condutividades preferenciais do material de interface elétrica (as quais são idealmente mantidas moderadamente baixas como mencionado acima). Portanto pode não ser possível dispor para que as condutividades do fluido no canal 2 e o material 3 fiquem bem próximos, apesar de que qualquer diferença é preferencialmente mantida ao mínimo possível. A grandeza e/ou o formato do campo elétrico aplicado podem ser ajustados para levar os efeitos resultantes em conta.

A resistividade do material de interface elétrica 3 pode ser constante por todo seu volume, e isto é preferível, a fim de que um material de interface elétrica 3 homogêneo seja empregado. Isso dará origem à suavização de campo isotrópico no material. Alternativamente, em outras modalidades, é desejável que a resistividade do material de interface de campo elétrico varie em pelo menos uma direção. Por exemplo, a resistividade/condutividade do material 3 pode variar ao longo do comprimento do canal (na direção x, neste exemplo) a fim de introduzir efeitos de formatação de campo adicionais. Em outros exemplos, a resistividade/condutividade pode variar na direção perpendicular ao curso do canal (aqui, a direção y) e um exemplo disto será dado abaixo.

A resistividade do material de interface elétrica pode ser variada pela introdução de pilares (não mostrados) na cavidade 2 e pela variação ou de seu diâmetro ou de sua densidade em uma direção. Isto tem o efeito de remover material de condução e, desse modo, aumentar a resistividade do material de

interface de campo elétrico 3 (ou reduzi-la se a densidade dos pilares cair). Alternativamente a composição do próprio material pode ser variada. Por exemplo, no caso de um hidrogel (descrito abaixo), a densidade de seus poros e/ou canais de íon pode ser manipulada para variar de região para região. Como
 5 outra alternativa, a espessura do material de interface elétrica pode ser variada através de sua largura.

É também desejável que o material de interface elétrica 3 seja impermeável a bolhas de gás produzidas por eletrólise nos orifícios de eletrodo 8 a fim de evitar que estas bolhas interrompam o transporte de íons dentro do material e
 10 distorcendo, assim, o campo elétrico. É adicionalmente desejável que o material de interface elétrica 3 seja impermeável a quaisquer analitos contidos no canal 2.

Adicionalmente, o material de interface elétrica 3 deve ser suficientemente robusto, quimicamente e termicamente estável e inerte. É também importante que o material 3 seja estável em um campo elétrico e não distorça fisicamente ou
 15 mude suas propriedades elétricas ou físicas significativamente. É também desejável que o material de interface elétrica 3 adira adequadamente à cavidade 7a dentro do substrato 7 e não permita afixação apreciável de quaisquer analitos dentro do canal 2 a sua superfície.

Um material particularmente adequado o qual pode ser projetado para
 20 corresponder a todos os critérios acima é um hidrogel. Hidrogéis são uma classe de materiais poliméricos que são capazes de absorver soluções aquosas, mas não se dissolvem em água. Um hidrogel forma uma rede de poros ou canais os quais poder conter fluido e através dos quais íons no fluido podem passar. Esta propriedade surge do fato que as redes tridimensionais de cadeias de polímero
 25 são mantidas juntas por reticulação física e/ou química, em que os espaços entre estas macromoléculas são preenchidos com água. Dependendo das propriedades dos polímeros bem como a natureza e densidade da rede utilizada para formar os hidrogéis, tais estruturas são capazes de conter várias quantidades de água. Tipicamente, os poros e/ou canais são de dimensões tão pequenas que o material
 30 pode ser referido como nanoporoso. Quando um hidrogel é utilizado como o material de interface elétrica, é preferencialmente o fluido portado dentro dos canais/poros o qual conduz carga elétrica (através de transporte de íons) através do material. O próprio hidrogel intrínseco é preferencialmente substancialmente eletricamente isolante. Por isso, hidrogéis têm muitos atributos atrativos que os
 35 tornam altamente adequados para uso como uma interface de campo elétrico para suavização do formato de campos elétricos. Será apreciado, no entanto, que

qualquer tipo de material ionicamente condutor que coincida com os critérios especificados pode ser utilizado.

Há duas classes gerais de hidrogéis. Os géis físicos, ou pseudogéis, consistem de cadeias poliméricas conectadas por forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas ou emaranhamentos de cadeia. Tais hidrogéis são mantidos juntos por forças ou ligações não-permanentes e portanto eles podem ser convertidos normalmente de volta em soluções de polímeros por aquecimento. Os hidrogéis químicos, também conhecidos como hidrogéis verdadeiros ou permanentes, por outro lado, são mantidos juntos através de ligações covalentes entre as cadeias. Qualquer tipo de hidrogel pode ser utilizado no dispositivo presentemente divulgado.

Preferencialmente, o material de interface elétrica 3 é compatível com o material de que o substrato 7 é feito. O substrato 7 é tipicamente fabricado por exemplo a partir de vidro, sílica fundida, quartzo ou plásticos tais como poli(metacrilato de metil) (PMMA) ou copolímero de olefina cíclica (COC), ou a partir de um elastômero tal como polidimetilsiloxano (PDMS).

Além disso, quando selecionando o material de interface elétrica 3, consideração deve ser dada quanto a se ele pode ser facilmente incorporado ao dispositivo 1. Um material de polímero líquido (por exemplo, um hidrogel não curado) pode ser introduzido à cavidade 7a do substrato 7 via entradas 9a, 9b (por exemplo por injeção) e polimerizado *in situ* utilizando por exemplo fotoiniciação (por exemplo pela radiação UV) ou por meios térmicos para formar o material de interface elétrica 3. Isto será descrito com maiores detalhes abaixo.

O próprio substrato 7 pode ser fabricado utilizando procedimentos de microfabricação selecionados, alguns exemplos dos quais serão agora explicados. Idealmente o material utilizado para fabricar o substrato 7 é transparente a radiação ultravioleta para subsequente foto-padronização e fotopolimerização. Isto é também benéfico para detectar eventos dentro do canal. O substrato também pode ser transparente à luz visível para esta finalidade.

O canal 2 e a cavidade 7a podem ser formados dentro de uma única peça de substrato, como mostrado nas Figuras 1 e 2, por exemplo, por usinagem ou moldagem. Alternativamente, reentrâncias a partir das quais o canal 2 e a cavidade 7a podem ser formados são providas nas placas separadas 71, 72 as quais são então afixadas juntos para formar o substrato 7, como mostrado nas Figuras 5A a 5C. Uma ou ambas as placas 71, 72 podem conter os pontos de conexão de eletrodo e uma peça (geralmente a placa do topo 71) tem orifícios 8

perfurados, jateados, fundidos ou moldados por exemplo com o equipamento adequado. As placas fabricadas 71, 72 em seguida, são unidas tipicamente utilizando uma prensa quente, câmara de plasma, forno, ultrassom, solventes, adesivos adequados ou por qualquer outro método de ligação convencional descrito na literatura para formar um sistema fechado.

O canal 2 pode ser feito por gravação, usinagem, gravação em relevo a quente, moldagem de injeção, fusão, ablação ou, de outra maneira, formando um canal guia o qual é fisicamente delimitado por superfícies do substrato — contudo, como será visto abaixo isto não é essencial. Em um caso, representado na Figura 8A, o canal 2 pode ser formado em uma peça do topo 72 do substrato 7, a uma profundidade típica de cerca de 20-40 μm . A cavidade 7a, formada numa peça de fundo 71 do substrato, é uma oira de 20-40 μm de espessura. Uma vez que as duas placas estão afixadas junto, isso faz com que a profundidade total do canal seja 40-80 μm na medida em que inclui a espessura da cavidade, como mostrado na Figura 5A.

Em um outro exemplo, ambos o canal 2 e cavidade 7a podem ser formados na superfície de uma placa 72, como mostrado na Figura 8B, e afixados a uma segunda placa 25 a qual pode ou não se provida com reentrâncias adicionais.

Figuras 5C e 8C mostram um exemplo no qual nenhum canal guia físico é formado para definir o canal 2, e ao invés o canal 2 é finalmente contido inteiramente dentro da mesma cavidade 7a a qual detém o material de interface elétrica em uso. Os lados do canal 2 são definidos pelo próprio material de interface elétrica.

Se o substrato material é plástico, o canal 2 e cavidade 7a podem ser microusinados em cada placa de substrato 71, 72 por uma ferramenta de usinagem adequadamente precisa ou uma máquina de controle numérico computadorizado (CNC), cunhado utilizando um molde/ferramenta e gravador em relevo a quente, foto-padronizado usando um outro material de polímero líquido, seletivamente derretido e vaporizado por um laser suficientemente poderoso, ou por qualquer método adequado descrito na literatura. Se o substrato material é vidro, sílica fundida ou quartzo o canal 2 e cavidade 7a são preferencialmente gravados utilizando procedimentos de gravação com ácido fluorídrico padrão ou gravação iônica reativa profunda. Vidro por exemplo pode ser usinado, gravado com laser ou eletroquimicamente, ou jateado com areia.

Um outro método de fabricação alternativo adequado para formar o dispositivo é impressão 3D. Estes são sistemas autossuficientes capazes de

formar estruturas miniaturizadas em altíssima resolução. Os dispositivos descritos aqui podem ser fabricados com tal sistema, por exemplo utilizando polímeros foto-padronizáveis, opcionalmente incluindo a deposição direta e incorporação do material de interface (por exemplo hidrogel).

5 As cavidades formadas no substrato podem ser tratadas a fim de prevenir fixação dos analitos de interesse presentes dentro do canal 2 durante análise às paredes internas ou superfície do volume de condução interna. Por exemplo, as paredes internas ou superfície do volume de condução podem estar revestidas com um material adequado tal como um polímero. A superfície da cavidade a qual
10 deve estar preenchida com o material de interface elétrica 3 pode ser silanizada para melhorar adesão do material 3 ao substrato, ou revestida com qualquer outro sistema de promoção de adesão adequado. O revestimento ou silanização pode ser seletivo para permitir padronização do material.

 Os orifícios 8 podem ser perfurados mecanicamente ou ablactados por
15 laser ou areia ou por qualquer técnica adequada na literatura. Tipicamente as peças do substrato 71, 72 são então corretamente alinhadas e ligadas.

 O material de interface elétrica pode ser inserido em um número de maneiras. Em alguns casos, o material de interface elétrica pode ser provido em uma forma sólida e já curada. Neste caso, o material pode ser simplesmente
20 posto dentro da cavidade 7a, por exemplo antes das duas placas 71, 72 serem unidas. Também em exemplos em que não há cavidade esta pode ser a opção preferencial— por exemplo, o material pode ser aderido a uma superfície do substrato ao lado da cavidade.

 Contudo, em exemplos preferenciais, o material de interface elétrica é
25 introduzido ao dispositivo na forma fluida (por exemplo um pré-polímero). Descobriu que isto resulta em uma melhor ligação entre o substrato e o material, deixando poucas ou nenhuma lacuna na interface para o analito ou os gases passarem. Se o material deve ser disposto sobre uma superfície exterior do dispositivo, ou introduzido a um outra das placas 71, 72 antes de elas serem
30 unidas, o material pode ser ligado na superfície ou à cavidade através de qualquer método conveniente incluindo impressão, espalhamento, *spin-coating* (revestimento por rotação) etc. Se o material deve ser introduzido na cavidade interna já feita, então métodos de injeção são preferenciais. Por exemplo, o material pode ser injetado através de qualquer um dos orifícios 8 descritos
35 anteriormente.

Uma técnica particularmente preferencial para introduzir o material 3 na forma fluida utiliza forças capilares atuando no material de interface elétrica 3 devido às dimensões pequenas da cavidade 7a. Se a cavidade 7a (e qualquer canal guia) provida no substrato são de dimensões adequadas, após introdução, o material de interface elétrica 3 preenche a cavidade 7a ao mesmo tempo que deixando uma região que constitui canal 2 (localizado acima e dentro da cavidade 7a) substancialmente livre de material de interface, como mostrado na Figura 5A. A fim de que o efeito capilar funcione bem, os inventores descobriram que a profundidade do canal guia 2 provido acima da cavidade é, preferencialmente, aproximadamente igual à espessura da cavidade 7a. Consequentemente, no caso de um canal 2 fisicamente usinado ou gravado com preenchimento de cavidade de interface elétrica por ação capilar, isto resulta na profundidade total do canal 2 sendo aproximadamente duas vezes a espessura da cavidade 7a (e, portanto aproximadamente duas vezes a espessura do material de interface elétrica 3 preenchendo a cavidade).

Figuras 4A e 4B esquematicamente mostram a forma na qual o canal 2 é formado através de ação capilar. Forças capilares F_c mostradas na Figura 6A atuam na superfície do material de interface elétrica 3 em forma líquida dentro da cavidade 7a representando um "recipiente" para o material líquido 3. Sob a influência das forças capilares, F_c , o material líquido 3 atinge a região do canal 2 e então para de fluir. Por exemplo, dependendo das hidrofiliidades relativas das superfícies e líquidos envolvidos, o material líquido por formar um menisco (côncavo ou convexo) na cavidade 7a ambos os lados do canal 2 provido acima da cavidade, como mostrado na Figura 6, apesar de que este não é sempre o caso.

As forças capilares F_c fazem com que o material líquido preencha a cavidade 7a, extraindo o material líquido 3 em uma direção em direção ao canal 2, ambos os lados do canal 2. Como mostrado na Figura 6B, as forças capilares F_c atuam no material 3 até que o material líquido 3a atinja o canal 2, quando as forças capilares param de atuar na superfície do material líquido 3 devido ao tamanho aumentado da superfície do "recipiente" (o qual agora inclui o canal 2). O material de interface elétrica 3 pode então ser solidificado, por exemplo ao polimerizar o pré-polímero. Isto pode ser conseguido por irradiação de luz, meios térmicos ou reação química a temperatura ambiente, por exemplo.

Quando a montagem de aplicação de campo elétrico deve incluir braços de conexão 10, as dimensões dos braços podem ser determinadas em parte com os

mesmos princípios descritos acima para preenchimento capilar da cavidade. Por exemplo, se é pretendido que os braços 10 sejam preenchidos com fluido e não com o material de interface elétrica 3, as dimensões dos braços podem ser configuradas de tal modo que ação capilar não extraia o material do fluido 3 aos braços 10. Por exemplo, a profundidade ou lateral largura dos braços 10 pode ser escolhida como ser grande o suficiente com relação às dimensões da cavidade de tal modo que o material de interface elétrica 3 é prevenido de entrar nos braços fluidicos 10. Por outro lado, se é pretendido que os braços 10 sejam continuações do material de interface elétrica 3, a profundidade ou largura lateral dos braços 10 pode ser diminuída, de modo que as forças capilares realmente forcem o material de interface elétrica a entrar os braços 10.

Em um outro exemplo, o material de interface elétrica pode ser formado ao mesmo tempo que mantendo um canal 2 ao tirar vantagem da foto-padronização de um material de interface 3 compreendendo um pré-polímero líquido por exemplo. Em tal caso, as placas do substrato 71, 72 mostradas na Figura 5B são transparentes a luz, por exemplo a radiação UV. Após sua fabricação, as peças do substrato são fabricadas, ligadas e preenchidas com um pré-polímero líquido. O canal 2 e cavidade 7a preenchida com o pré-polímero líquido são esquematicamente mostrados na Figura 7A. O material de interface elétrica 3 é então criado a partir do pré-polímero líquido utilizando uma máscara de luz, a qual seletivamente cobre regiões acima o substrato.

Figura 5B mostra uma máscara de luz M acima o canal 2, em que a máscara M é substancialmente opaca a radiação UV aplicada ao substrato, em uma direção perpendicular ao substrato por um laser ou fonte de luz similar. Será apreciado que qualquer fonte de luz de energia apropriada (comprimento de onda) para iniciar polimerização no pré-polímero líquido pode ser utilizada e a máscara M só necessita se opaca ao comprimento de onda particular escolhido. Após polimerização, qualquer material não polimerizado (isto é, material presente sob a máscara) pode ser removido do substrato, por exemplo ao passar fluido (isto é, líquido ou gás) através do canal 2 para enxaguar o material não curado. Alternativamente uma pressão baixa ou vácuo pode ser aplicado para extrair o material não curado. Figura 7C mostra um canal 2 resultante sendo formado pela remoção de não material polimerizado o qual estava localizado sob a máscara de luz. Na prática, enxague pode não remover todo o material e uma região de material de interface pode permanecer no canal, como representado na Figura 5B. No entanto, isto não é problemático.

Os mesmo princípios de foto-padronização podem ser utilizados para criar um canal 2 quando no canal guia é inicialmente formado no substrato e toda a cavidade 2 é preenchida com o material pré-curado. Como mostrado na Figura 5C, as paredes do canal 2 são então definidas pelo material 3 próprio. Será
 5 apreciado que, no caso de um canal 2 obtido por foto-padronização deste modo o material de interface elétrica 3, a profundidade do canal 2 pode ser aproximadamente igual à espessura da cavidade 7a, já que nenhum canal guia fisicamente provido ou gravado no substrato é necessário (isto é, o canal 2 é meramente um espaço no material de interface elétrica 3 sob a região a qual foi
 10 obscurecida pela máscara M).

Em outros exemplos, o material de interface polimerizado 3 pode ser quimicamente ou mecanicamente gravado, ablactada ou usinado para removê-lo da região do canal.

Um substrato 7 o qual é fabricado, ligado, e compreendendo material de
 15 interface elétrica 3 dentro da cavidade 7a é normalmente referido como um chip.

Dependendo da aplicação, uma vez que chip é formado, o canal 2 pode ser preenchido com qualquer material, tipicamente fluido, apropriado para o tipo de procedimento o qual deve ser realizado no chip. (Note-se que o fluido pode ser omitido se o dispositivo para certas aplicações, por exemplo se o dispositivo não
 20 for um dispositivo de eletroforese.) O canal 2 pode ser preenchido através das entradas 9a providas na peça do topo 71 do substrato 7. Por exemplo, o fluido preenchendo o canal 2 pode ser projetado para oferecer diferentes resistências aos analitos de diferentes cargas para razão de massa ou somente de tamanho diferente dependendo do material de peneiramento que que são inseridos ao
 25 canal 2 (comumente conhecido como um gel de separação ou matriz de peneiramento). Este pode ser qualquer líquido tal como água/tampão, ou qualquer sistema de gel de separação tal como poliacrilamida, poli (vinilpirrolidona) (PVP) ou hidroxietil celulose (HEC). Alternativamente, o volume de condução ode ser preenchido com micelas, ou empacotado com um monólito de polímero poroso,
 30 gel cromatográfico (por exemplo, ciclodextrinas) ou um leito de partículas, para tirar vantagem de processos de exclusão de tamanho e/ou separação por afinidade.

O chip pode ser então passar por interface com os arranjos de eletrodos de gravação e de leitura 5a, 5b os quais conectam o chip com o controlador 6. O
 35 controlador 6 compreende um processador 6a o qual inclui eletrônicos controlados por software para prover formatos de campo elétrico como necessário

na análise. Por exemplo, o controlador 6 pode prover deslocamento de campo na forma de um gradiente de campo dependente de tempo adequado ao longo do canal 2. Quando o campo elétrico de deslocamento é aplicado através do material de interface elétrica 3, quaisquer analitos confinados no canal 2 estão sujeitos à
5 força elétrica devida ao campo elétrico obtido no canal 2, o qual tem uma forma contínua e suave.

Se uma montagem de medição de campo elétrico é provida, tal como o arranjo de eletrodos “de leitura” descrito acima, o controlador 6 pode realizar retorno, utilizando o campo elétrico medido para ajustar as voltagens aplicadas de
10 modo que o campo elétrico desejável é atingido.

Dispositivos de acordo com modalidades da presente invenção podem ser dispositivos de separação para separar objetos em que o canal 2 contém objetos a serem separados. O campo elétrico substancialmente contínuo obtido no canal 2 dá origem a uma força elétrica atuando em cada objeto. Uma fonte de equilíbrio,
15 como exemplificado abaixo, pode ser utilizada para dar origem a uma força que se opõe à força elétrica em cada objeto de modo que os objetos no canal de separação são levados a se separarem sob a influência combinada do campo elétrico e da fonte de equilíbrio.

Por exemplo, o dispositivo pode ser um dispositivo de eletroforese, em que
20 a fonte de equilíbrio é um fluido contido no canal junto com os objetos a serem separados. No caso de um dispositivo de eletroforese, sob as influências combinadas da força elétrica e uma força hidrodinâmica devida ao fluido no canal 2, analitos dentro do canal de dimensões adequadas podem se separar em “bandas”, a largura e separação dos quais são dependentes das condições do
25 campo aplicado. O dispositivo pode também se estender para remover e/ou classificar analitos seletivamente para análise a jusante após estarem concentrados em bandas, por exemplo utilizando espectrometria de massa ou outro método analítico para determinar a composição de cada banda. Um exemplo de uma disposição a qual pode ser utilizada para este fim é ilustrada na
30 Figura 15B, descrita adicionalmente abaixo.

Será apreciado que dispositivos de acordo com a invenção não estão restritos às aplicações acima, as quais são meramente exemplares.

Se um detector é provido para detectar eventos dentro do canal, o processador 6b pode também ser configurado para analisar os dados coletados.
35 Por exemplo, o controlador 6 pode analisar dados visuais (tipicamente luz a partir de analitos de biomoléculas marcadas com fluorescência) por exemplo de um

microscópio, espectrômetro (por exemplo para realizar a espectroscopia Raman), arranjo de fotodiodos, dispositivo de carga acoplada (CCD), tubo fotomultiplicador (PMT) ou dispositivo de seleção de comprimento de onda similar no qual o chip é disposto em proximidade a ou integrado com. Isto também pode se dar com dados de métodos não visuais de análise de radiação eletromagnética. Outros métodos de detecção não eletromagnética tais como mudanças localizadas na condutividade, radiação, e mudanças de índice de refração podem também ser utilizadas para detecção de analitos dentro do canal 2. Isto é descrito mais plenamente em W02006/070176.

Como mencionado acima, a modalidade da Figura 1 é uma, assim chamada, implementação “assimétrica”, e Figura 9 mostra uma vista em planta esquemática da mesma para explicações adicionais. Neste exemplo, a fileira de eletrodos de gravação 5a está oposta à fileira de eletrodos de leitura 5b, com o canal 2 no meio, em que o canal 2 é paralelo às duas fileiras 5a, 5b e separado pelo material de interface elétrica 3. Os eletrodos 5a, 5b são conectados ao material de interface elétrica 3 via braços de conexão 10.

Contudo, como já indicado, a provisão de eletrodos de leitura (ou qualquer forma de dispositivo de medição de campo elétrico) é opcional e Figura 10 é uma representação esquemática de uma segunda modalidade, a qual não contém eletrodos de leitura. Nesta configuração, o material de interface elétrica 3 está presente somente em um lado do canal, entre o canal 2 e o arranjo de eletrodos de gravação 5a. Se é desejável monitorar o campo elétrico estabelecido, isto pode ser atingido através dos eletrodos de gravação 5a. Por exemplo, por intervalos curtos (por exemplo, um microssegundo a cada 100 ms, apesar de que na prática o ciclo pode depender da velocidade do campo elétrico, em um sistema de eletroforese de deslocamento de tempo) o fornecimento de voltagem aos eletrodos de gravação 5a pode ser desligado e, ao invés, os mesmos eletrodos utilizados para obter uma medição das voltagens em cada locação ao longo do canal 2. Provido que o intervalo de medição é suficientemente curto, este não tem efeito substancial na movimentação dos analitos dentro do canal 2.

Figura 11 é uma representação esquemática da região de interface elétrica 3 e volume condutor 2 em uma terceira modalidade, em que a região de interface elétrica 3 compreende um material ionicamente condutor 3a e um material não ionicamente condutor 3b. Deve notar-se que Figura 11 não representa os outros componentes do dispositivo, tal como um substrato, porém estes podem ser providos da mesma maneira que discutido acima com relação às modalidades

anteriores. O material ionicamente condutor 3a pode ser qualquer material adequado como descrito acima com referência ao "material de interface elétrica" nas primeiras duas modalidades, por exemplo um hidrogel. O material não ionicamente condutor 3b, por exemplo um material eletricamente condutor, pode ser um polímero resistente, um semiconductor ou mesmo um material metálico. Será apreciado que qualquer material não ionicamente condutor pode ser utilizado. O material ionicamente condutor 3a é localizado entre o material não ionicamente condutor 3b e o canal 2. Nesta modalidade, os eletrodos de gravação 5a são diretamente em contato com o material não ionicamente condutor 3b.

Preferencialmente, a condutividade/resistividade do material não ionicamente condutor 3b e a condutividade/resistividade do material ionicamente condutor 3a são "combinadas". Por "combinadas" pretende-se significar que ambas as condutividades são levadas em conta ao lado do formato e da grandeza do campo aplicado, de tal modo que ambos o material não ionicamente condutor 3b e o material ionicamente condutor 3a contribuem para a suavização do campo elétrico discreto aplicado pelos eletrodos 5a ao material não ionicamente condutor. Em configurações preferenciais, as condutividades/resistividades são da mesma ordem de grandeza. A razão das condutividades/resistividades dos dois materiais é preferencialmente entre 100:1 e 1:1.

Na modalidade mostrada na Figura 11, eletrodos 5a podem ser conectados ao material 3b ao invés de serem imersos em poços de fluido como descrito acima com referência às primeiras duas modalidades. Vantajosamente, isto resulta em um dispositivo mais coerente e melhor vedado. Contudo, a interface entre o material ionicamente condutor 3a e o material não ionicamente condutor 3b (os quais estão em contato elétrico) é tipicamente fluida/sólida, a qual tende a dar origem a eletrólise e evolução de bolhas de gás. Poros, poços ou caminhos (não mostrado) podem ser providos no substrato nesta interface para atuar como escapes para as bolhas de gás.

Vantajosamente, o material ionicamente condutor 3a, localizado adjacente ao canal 2, é impermeável a gases de eletrólise prevenindo, desta forma, que eles atinjam o canal 2.

Dispositivos mostrados nas Figuras 9, 10 e 11, por exemplo, têm um único canal linear 2, o qual tem um começo e um fim. Há várias desvantagens com tais configurações de "circuito aberto". Em primeiro lugar, as extremidades introduzem efeitos de borda de campo, em que o campo elétrico obtido dentro do canal 2 em ambas as extremidades do dispositivo se desvia do nível desejável. Um exemplo

deste efeito é ilustrado na Figura 12. O campo elétrico desejável tem um perfil linear como indicado pela linha pontilhada, enquanto o campo elétrico real obtido no canal 2 se desvia dessa linha, como representado pela curva de linha sólida. Isso se deve à média de campo assimétrica à medida que o fim da montagem de aplicação de campo elétrico se aproxima. O achatamento de campo observado na curva de linha sólida close às extremidades do canal significa que uma porção significativa do dispositivo não pode ser utilizada para análise.

Em segundo lugar, ao realizar operações de deslocamento de campo com um sistema de circuito aberto, regiões podem ocorrer em que o campo varia muito pouco e a direção de corrente elétrica permanece essencialmente inalterada, por períodos de tempo significantes. Isto pode levar a depleção de íon severa localizada no material de interface de campo elétrico 3. Como um resultado, o formato de campo desejável no canal 2 pode ser perdido uma vez que os efeitos de depleção de íon tendem a neutralizar o campo aplicado. Em vários casos, isto pode levar a efeitos eletroforéticos não lineares e a formação de vórtices de fluxo eletro-osmótico, os quais são altamente prejudiciais em procedimentos de separação de analito. Em terceiro lugar, quando um sistema de circuito aberto é utilizado, seu comprimento operacional efetivo é ditado pelo comprimento físico de seu canal 2.

Em uma terceira modalidade, as desvantagens listadas acima podem ser superadas pelo uso de configurações de circuito fechado, por exemplo um canal circular 2 como mostrado esquematicamente na Figura 13. O canal circular 2 é conectado a um conjunto de eletrodos de gravação 5a e um (opcional) conjunto de eletrodos de leitura 5b, através de um material de interface elétrica 3. A circunferência do canal 2 pode ser, por exemplo entre 100-200 mm, tipicamente 120mm.

Os eletrodos de gravação 5a são periodicamente afastados ao longo de um círculo concêntrico com o canal circular 2, com um raio maior que aquele do curso circular do canal 2. Similarmente, os eletrodos de leitura 5b são periodicamente dispostos em um círculo concêntrico com o canal 2, com um raio menor que o raio do canal 2. Será apreciado, contudo, que as localizações dos eletrodos de gravação 5a podem ser trocadas com as localizações dos eletrodos de leitura 5b e vice versa. Adicionalmente, um ponto de conexão de eletrodo (formado por um orifício de eletrodo 8 e braço de conexão 10) pode ser mudado entre atuar como um ponto de conexão para um eletrodo de gravação 5a e um ponto de conexão para um eletrodo de leitura 5b. Também o anel externo de eletrodos pode ser feito

de uma mistura de eletrodos de gravação de leitura, da mesma forma que o interno — por exemplo, eles podem alternar de função ao longo do canal (isto também vale para projetos de canal retos).

5 Similarmente ao dispositivo 1 descrito acima, os analitos de interesse podem ser injetados ao canal circular 2 mostrado na Figura 13 como um plugue ou de outra forma através de uma das entradas 9 (as quais podem também servir como saídas) dispostas em um sistema injeção cruzada típico. Alternativamente, analitos de interesse podem ser pré-misturados com um tampão ou gel de separação já que o tamanho físico inicial da amostra é irrelevante, fazendo com
10 que o sistema de injeção cruzada 9 mostrado na Figura 13 opcional.

Como ilustrado na Figura 14, efeitos de borda de campo do tipo descrito acima não ocorrem em um sistema de circuito fechado tal como o dispositivo circular da Figura 13. Neste caso, a distorção do campo nas “bordas” é muito menor comparada às distorções mostradas na Figura 12 para um canal linear 2.
15 (Uma “borda”, no caso de um canal de circuito fechado, significa o limite do campo elétrico útil em que o campo “inverte” (isto é, viaja na direção oposta) para complete o circuito — isto é descrito em W02006/07176. Isso se dá porque o campo elétrico é aplicado em torno do circuito inteiro do dispositivo e, por isso, não há média de campo assimétrica.

20 Além disso, em sistemas de deslocamento de campo tais como aquele descrito em W02006/070176, a onda EM se propagando percorre em torno do circuito. Isto varre íons no material de interface elétrica 3 em torno do circuito, continuamente reabastecendo quaisquer regiões desprovidas de íons do material, de modo que o campo no canal 2 permanece suave e estável. Uma vantagem
25 adicional de sistemas de circuito fechado é que não há começo ou final ao canal 2 e assim o dispositivo tem essencialmente um comprimento operacional infinito. Além de canais exclusivamente lineares ou exclusivamente de circuito fechado, será apreciado que qualquer combinação de seções lineares ou curvas de um canal 2 pode ser utilizada em dispositivos de acordo com a presente invenção.

30 Figura 15 é uma representação esquemática adicional de um outro projeto de circuito fechado, em que o material de interface elétrica 3 é interrompido e não forma uma região contínua em torno do canal 2. Mesmo apesar de o material de interface elétrica 3 ser interrompido, formas $i_1, i_2, \dots, i_n$ de curso de conexão elétrica ao longo do canal 2 e o material de interface elétrica 3 ainda atuam como um
35 “circuito fechado” de material, realizando a função de suavização necessária no

campo elétrico aplicado. Deve notar-se que nesta modalidade, o material de interface elétrica 3 é somente provido em um lado do canal 2.

Figura 16A mostra uma variante de projeto de circuito fechado adicional na qual o material de interface elétrica 3 tem diferentes larguras ambos em os lados do canal 2, e os eletrodos de leitura gravação 5a, 5b são desviados com respeito ao canal 2 ao invés de diretamente opostos uns aos outros. O dispositivo da Figura 16A também tem uma disposição diferente de entradas e saídas, 9a e 9b. O material de interface elétrica 3 é somente necessário no lado dos eletrodos de gravação 5a, e voltagens podem ser lidas por meio de nano ou micro-canais diretamente conectados ao canal 2. Alternativamente, os eletrodos de gravação 5a podem também estar localizados no círculo interno e eletrodos de leitura 5b no círculo externo com respeito ao canal 2, ou eles podem alternar em qualquer padrão. O material de interface 3 pode ser posicionado consequentemente de modo que é disposto (somente) entre os eletrodos de gravação e o canal, ou pode ser disposto em ambos os lados do canal para acomodar uma variedade de disposições eletrodo. Em outro projeto alternativo, o campo elétrico pode também ser lido pelo deslocamento do arranjo de eletrodos de gravação 5a a um arranjo de leitura por um curto período de tempo, tipicamente alguns milissegundos, por meio do controlador 6.

Neste exemplo, a porta 9a atua como uma entrada para a amostra enquanto a porta 9b atua como uma saída para resíduo. Isto é ilustrado mais claramente no alargamento da Figura 16B. Uma vez que os objetos foram separados em bandas de analito A, bandas selecionadas podem ser removidas da análise através da saída 9b ao ativar um campo elétrico adequado dentro da porta 9b para atrair a banda em questão e remove-la do canal principal 2. Bandas removidas deste modo podem ser direcionadas a um arranjo de poços para armazenamento, de modo que cada poço pode conter um analito, ou uma faixa de analitos com razões de massa para carga (q/m) muito semelhantes. Tais poços de arranjos podem formar a base de uma placa de tipo MALDI (os poços podem conter um material de matriz e seres secos antes de dessorção por laser), ou eles podem ser extraídos para uso subsequente ou análise secundária. Similarmente, bandas podem ser selecionadas para uso adicional ou análise ao movê-las para um canal secundário através de uma porta de conexão 20. isto pode tomar a forma de um segundo canal de eletroforese, possivelmente com uma "janela" de faixa q/m diferente, ou de uma resolução diferente. Alternativamente, uma técnica de análise diferente, tal como espectrometria de

massa (por exemplo, ionização por eletropulverização), pode ser empregada. Em um outro exemplo, uma “cascata” de dois ou mais dispositivos pode ser utilizada, com análise adicional das bandas selecionadas ocorrendo em um segundo (e possivelmente subsequente) dispositivo de eletroforese de deslocamento de campo disposto para receber resíduo de amostras do primeiro dispositivo. Se desejável diferentes parâmetros de deslocamento de campo podem ser selecionados para cada dispositivo a fim de resolver componentes específicos com uma determinada faixa limitada de mobilidade por exemplo. Em um dispositivo totalmente integrado, os analitos podem ser introduzidos diretamente em uma outra seção do chip para uso em um processo bioquímico, por exemplo o DNA pode ser sujeito a amplificação e/ou modificação e injetado em uma células, ou uma proteína pode se introduzida a uma célula para a avaliação de seus efeitos.

Figuras 17A e 17B respectivamente show projetos “simétricos” alternativos para sistemas lineares e de circuito fechado. Cada projeto consiste em dois conjuntos de eletrodos de gravação 5a em ambos os lados do canal 2, com uma fileira de eletrodos de leitura 5b a um lado do canal. Neste exemplo, os eletrodos 5a, 5b são conectados diretamente ao material de interface elétrica 3, isto é, braços de conexão não são utilizados. Os eletrodos de leitura 5b podem, na realidade, entrar em contato diretamente com o próprio canal 2 (isto é, não através do material 3).

Nas modalidades descritas até o momento, os pontos de conexão nos quais os eletrodos aplicam ou leem voltagens foram distribuídos em fileiras ao longo das linhas apropriadas a um afastamento constante do canal. Contudo, como aludido acima isto não é essencial e se necessário, braços fluídicos podem ser empregados como parte da montagem de aplicação de campo elétrico para aumentar a flexibilidade do sistema. Em um exemplo, os pontos de conexão (orifícios 8) recebendo eletrodos podem ser escalonados com respeito ao canal 2 como é esquematicamente mostrado na Figura 18. Esta configuração ajuda a maximizar espaço para os orifícios 8 ao longo do canal significando que o afastamento das voltagens de ponto ao longo do canal pode ser diminuído. Isso por sua vez significa que o campo elétrico discreto inicial é mais suave do que poderia ser o caso, reduzindo a quantidade de suavização de campo adicional requerida do material 3 e, por isso, permitindo uma redução na sua largura. Neste padrão exemplar, os pontos de conexão podem alternar entre diferentes distâncias d_1 , d_2 do canal 2, a fim de apresentar o mesmo nível de resistência elétrica a cada eletrodo.

Figuras 19A e 19B esquematicamente representam vistas de topo e frontal, respectivamente, de uma configuração de chip adicional a qual compreende uma pluralidade de canais 2. Os canais 2 são lineares e tipicamente dispostos em paralelo e afastados um dos outros por material de interface elétrica 3. Uma outra configuração típica compreende vários canais 2 de circuito fechado concêntricos. Será apreciado, no entanto, que qualquer combinação de múltiplos canais 2 lineares ou curvados é possível. Cada canal 2 pode ser provido com pontos de conexão (orifícios 8) para receber eletrodos a fim de aplicar um campo elétrico separadamente para cada canal 2. Contudo, como mostrado na Figura 18, é preferencial que um único conjunto de pontos de conexão para eletrodos de gravação e opcionalmente eletrodos de leitura seja provido. O material de interface elétrica é disposto entre cada um dos canais de tal modo que ele apresente uma versão suavizada do campo elétrico aplicado a cada canal. Preferencialmente o campo estabelecido em cada canal será substancialmente o mesmo e este será tipicamente o caso em que a condutividade/resistividade do material de interface elétrica é homogênea em todas as regiões.

Contudo, se é desejável estabelecer campos elétricos de diferentes forças em cada canal, isso pode ser conseguido ao variar a condutividade/resistividade do material de interface elétrica, por exemplo, na direção y (através dos canais). Aplicação de um campo elétrico discreto por uma montagem de aplicação de campo elétrico 4 dá então origem a um campo elétrico suavizado da grandeza desejável em cada canal. Como descrito acima, variação na condutividade/resistividade do material pode ser obtida através de manipulação do próprio material ou pela inclusão de recursos tais como pilares na cavidade ou variação na profundidade de cavidade (espessura).

Se a condutividade/resistividade do material de interface elétrica variar somente na direção através dos canais, o campo elétrico estabelecido dentro de cada canal será de formato similar. Contudo, se a condutividade/resistividade for variada (adicionalmente ou alternativamente) na direção ao longo dos canais (aqui, a direção x), diferentes formatos de perfil de campo podem ser obtidos em cada canal do mesmo campo elétrico discreto aplicado.

Dispositivos incluindo múltiplos canais 2 podem ser fabricado pelas mesmas técnicas descritas acima. Em particular, a foto-padronização de polímeros líquidos para formar o material de interface elétrica 3 é particularmente adequada para estes dispositivos. Contudo, foi também descoberto que, se as dimensões de uma cavidade interna são selecionadas apropriadamente,

preenchimento por ação capilar pode também atingir o resultado desejável, com o material de interface líquido 3 preenchendo cavidade região ao mesmo tempo que deixando os canais 2 substancialmente vazios.

5 Como discutido acima, será apreciado que os dispositivos e métodos de acordo com as modalidades exemplares descritos aqui têm aplicações bem difundidas, e podem ser utilizados em qualquer dispositivo tendo um volume de condução o qual requer a aplicação de um campo elétrico suave. As técnicas são particularmente úteis quando quer que um campo elétrico formatado (não uniforme) seja desejável. As modalidades exemplares descritas acima focaram em aplicações de eletroforese para separar objetos em canais de separação 2, 10 porém será compreendido que isto não se destina a ser limitante.

Em modalidades alternativas, o volume de condução pode ser, por exemplo uma região de papel hidrofílica feita em um substrato de papel hidrofóbico. O material de interface elétrica 3 pode ser provido ao longo dos lados 15 da região hidrofílica e os eletrodos de gravação podem, por exemplo, ser impressos como película no papel de tal modo que eles se sobrepõe com o material de interface de campo elétrico 3, porém não com a região hidrofílica. O material de interface elétrica 3 pode ser por exemplo, *spin coated* (revestido por rotação), moldado ou simplesmente despejado no papel e foto-padronizado como necessário. Objetos a serem separados podem então ser introduzidos na região 20 de papel hidrofílico a ser separada após aplicação do campo elétrico.

Em outros exemplos, o volume de condução 2 pode tomar a forma de qualquer volume no qual fluidos e/ou objetos de interesse podem ser acomodados (e/ou mover-se através) durante análise. O próprio volume de condução 2 não 25 precisa limitar fisicamente o curso do fluido e/ou analito, por exemplo em um dispositivo de eletroforese de “fluxo livre”. Dispositivos de eletroforese de “fluxo livre” tipicamente envolvem um eletrólito sendo bombeado através de uma câmara de modo que existe um fluxo hidrodinâmico através do dispositivo. Analitos de interesse são bombeados com o eletrólito. Eletrodos em tira podem 30 ser postos ao longo da câmara, alinhados com a direção do fluxo e afastados em uma direção perpendicular. O campo elétrico pode ser deslocado perpendicularmente à direção do fluxo, de modo que os analitos focam em fluxos separados os quais podem ser isolados no fundo do dispositivo em canais diferentes.

35 Um exemplo de um dispositivo de eletroforese de “fluxo livre” de acordo com a presente invenção é representado nas Figuras 20a e 20b. Eletrodos de

gravação 5ª alongados podem ser formados em um substrato hidrofóbico poroso (não ilustrado). A camada hidrofóbica porosa é provida para permitir que o gás de eletrólise escape, no entanto, ela não é essencial.

Os eletrodos 5a podem ser orientados verticalmente, imersos em poços orientados verticalmente de modo que o fluido ou tampão é retido nos poços. Vantajosamente, bolhas de gás resultando da eletrólise podem se mover para cima e deixar o poço. Uma camada de material de interface elétrica 3 pode então ser depositada no topo dos eletrodos e então padronizadas com um arranjo de pilares (não mostrado). Uma outra camada de material de interface elétrica 3 pode ser adicionada no topo e o volume de condução 2 é formado como uma cavidade padronizada entre as duas camadas de material de interface elétrica 3 as quais são afastadas pelos pilares. No topo da camada superior de material de interface elétrica 3, mais eletrodos verticais podem ser providos como eletrodos de leitura 5b.

Objetos a serem separados podem então ser introduzidos no volume de condução 2 no topo do dispositivo e continuamente bombeados através da cavidade como ilustrado pela seta F. O campo elétrico pode ser deslocado de um lado da cavidade ao outro, perpendicular ao fluxo F, levando a separação altamente concentrada dos objetos se movendo dentro da cavidade ao longo de cursos separados. Como ilustrado na seção transversal da Figura 20(b), a amostra pode incluir inicialmente objetos de dois tipos diferentes, A e B. Cada um vai passar por um movimento lateral diferente devido ao campo aplicado como representado esquematicamente pelas setas marcadas A e B, os objetos separados podem ser coletados em canais separados providos no fundo do volume de condução 2. Vantajosamente, mesmo em casos que o volume de condução 2 não é um circuito fechado, tais dispositivos podem operar continuamente, sendo muito úteis para a separação de grandes quantidades de amostras, por exemplo para a química preparativa.

Alternativamente, os eletrodos 5a podem ser orientados horizontalmente. Nesta configuração, ao invés de prover poços horizontais no "lado" do dispositivo (os quais teriam o efeito indesejável de deixar o fluido nos poços fluir para fora), é provido um "poço longo" semelhante a canal preenchido com tampão e tendo vários orifícios pequenos ao longo do canal os quais atuam como escapes para as bolhas de gás.

Em um outro exemplo, o volume condutor pode compreender um "slab-gel", o qual é um termo comumente utilizado para uma região substancialmente

plana de matriz de peneiramento, formado na superfície de um slide ou chip por exemplo. Componentes deste tipo são tipicamente utilizados em análise de DNA e de proteína.

5 Uma modalidade na qual os princípios acima são aplicados a uma disposição de tipo slab-gel é mostrada na Figura 21. Aqui, eletrodos de leitura 5b paralelos lineares são colocados em contato com uma primeira região de material de interface elétrica 5b no topo do qual uma camada de gel de separação 2 é depositada em um formato de tipo slab-gel. Os eletrodos podem ser orientados verticalmente ou horizontalmente, imersos em "poços longos", como descrito
10 acima. Uma segunda região de material de interface elétrica 3 é depositada no topo do slab-gel 2 e um outro conjunto de eletrodos paralelos lineares é disposto em contato com o material de interface elétrica 3 superior para formar os eletrodos de gravação 5a. Certamente, a função de cada conjunto de eletrodos pode ser trocada de tal modo que o conjunto inferior sirva como um gerador de
15 campo, e o conjunto superior como eletrodos de medição de campo.

Em uso, uma amostra contendo analito(s) é introduzida ao slab-gel numa extremidade do sistema e o campo elétrico é aplicado como requerido para concentrar e separar a amostra em seus componentes constituintes. A amostra move-se perpendicularmente aos eletrodos lineares durante o processo de
20 separação (na direção x).

Para maior clareza, a Figura 22 ilustra o slab-gel 2 com os outros componentes de dispositivo removidos de modo que os resultados de separação podem ser visto. Note-se que o slab-gel é representado em uma orientação diferente que aquela mostrada na Figura 21. Aqui, as posições dos eletrodos
25 lineares são indicadas pelas linhas tracejadas marcadas 5. O analito se separou em bandas A ao longo de três "canais" separados C1, C2, C3 de acordo com a posição de partida das amostras aplicadas ao slab-gel. Não há necessidade de uma barreira física entre cada um dos "canais" virtuais, apesar de que isto pode ser incluído se desejável.

REIVINDICAÇÕES

1. Dispositivo compreendendo:

uma montagem de aplicação de campo elétrico (4) adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto;

5 um volume de condução (2); e

uma região de interface elétrica (3), provida entre o volume de condução (2) e a montagem de aplicação de campo elétrico (4), a região de interface elétrica (3) disposta de tal modo que o campo elétrico discreto é aplicado à região de interface elétrica (3) pela montagem de aplicação de campo elétrico (4) em
10 uma localização afastada do volume de condução (2)

caracterizado pelo fato de que a montagem de aplicação de campo elétrico compreende uma pluralidade de eletrodos (5a) em contato elétrico com a região de interface elétrica (3);

em que a região de interface elétrica (3) compreende pelo menos um
15 material ionicamente condutor (3a) disposto adjacente a e em contato com o volume de condução (2);

de tal modo que o campo elétrico discreto aplicado pela montagem de aplicação de campo elétrico (4) é suavizado pela região de interface elétrica (3) de modo que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro do volume de
20 condução (2) é substancialmente contínuo.

2. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a distância entre a localização na qual o campo elétrico é aplicado e o volume de condução (2) é pelo menos a espessura da região de interface elétrica (3) em uma direção perpendicular a ambos ditos distância e o volume de
25 condução (2), preferencialmente pelo menos duas vezes, mais preferencialmente pelo menos 5 vezes, ainda mais preferencialmente pelo menos 10 vezes, mais preferencialmente pelo menos 100 vezes.

3. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que a região de interface elétrica (3) enche substancialmente uma
30 cavidade (7a) provida em um substrato (7).

4. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que a altura do volume de condução (2) é aproximadamente igual a ou maior que a espessura da região de interface (3) na mesma direção, preferencialmente entre 1 e 5 vezes maior que a espessura da
35 região de interface na mesma direção, mais preferencialmente entre 1 e 3 vezes maior, ainda preferencialmente cerca de 2 vezes maior.

5. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 3 ou 4, **caracterizado** pelo fato de que a cavidade (7a) é provida com pelo menos um pilar se estendendo entre paredes opostas da cavidade.

6. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que, preferencialmente, os eletrodos (5a) são afastados ao longo de uma direção em conformação com a periferia do volume de condução.

7. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo adicionalmente compreende uma montagem de medição de campo elétrico adaptada para medir o campo elétrico dentro do volume de condução (2) e em que um controlador (6) é adaptado para variar o campo elétrico discreto aplicado com base no campo elétrico medido, em que preferencialmente a montagem de medição de campo elétrico compreende uma pluralidade de eletrodos (5b) em contato elétrico com a região de interface elétrica (3), a pluralidade de eletrodos (5b) da montagem de medição de campo elétrico preferencialmente estando disposta no lado oposto do volume de condução da montagem de aplicação de campo elétrico.

8. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 7, **caracterizado** pelo fato de que o substrato é provido com pelo menos um poço em conexão com a cavidade (7a) e com uma superfície do substrato (7), para acomodar um eletrodo em uso (5a, 5b), em que preferencialmente pelo menos um poço é fluidamente conectado à cavidade via um braço de conexão (10) da montagem de aplicação de campo elétrico (4) adaptada para conter a um fluido condutor em uso.

9. Dispositivo, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de que adicionalmente compreende:

uma primeira pluralidade de poços provida ao longo de uma direção em conformação com a periferia do volume de condução (2), em que cada poço na primeira pluralidade de poços está localizado a uma primeira distância do volume de condução (2), e

uma segunda pluralidade de poços provida ao longo de uma direção em conformação com o curso do volume de condução (2), em que cada poço na segunda pluralidade de poços é localizado a uma segunda distância do volume de condução (2),

de tal modo que os poços na primeira pluralidade de poços são escalonados com respeito aos poços na segunda pluralidade de poços em uma direção perpendicular à periferia do volume de condução.

10. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9,
5 **caracterizado** pelo fato de que a região de interface elétrica (3) consiste no material ionicamente condutor (3a).

11. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9,
caracterizado pelo fato de que a região de interface elétrica (3) compreende o material ionicamente condutor (3a) e um material não ionicamente condutor (3b),
10 de tal modo que o material ionicamente condutor é localizado entre o material não ionicamente condutor e o volume de condução e o campo elétrico discreto é aplicado pela montagem de aplicação de campo elétrico ao material não ionicamente condutor, em que preferencialmente a condutividade do material não ionicamente condutor e a condutividade do material ionicamente condutor são
15 combinadas de tal modo que ambos o material não ionicamente condutor e o material ionicamente condutor contribuem com a suavização do campo elétrico discreto.

12. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11,
caracterizado pelo fato de que o material ionicamente condutor (3a) é
20 eletricamente isolante.

13. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12,
caracterizado pelo fato de que o material ionicamente condutor (3a) é um entre: um polímero; um material poroso, de tal modo que fluido pode passar através do material; um hidrogel, ou um vidro poroso; ou um material cerâmico poroso.

14. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13,
caracterizado pelo fato de que o volume de condução (2) é preenchido com um condutor iônico o qual tem uma condutividade da mesma ordem que a condutividade do material ionicamente condutor (3a), e preferencialmente igual à condutividade do material ionicamente condutor.

15. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14,
caracterizado pelo fato de que o volume de condução (2) compreende uma pluralidade de canais, cada canal estando afastado lateralmente do outro por uma porção de região de interface elétrica, em que a montagem de aplicação de campo elétrico é configurada para aplicar o campo elétrico discreto a uma porção
35 da região de interface elétrica, em que o campo elétrico discreto é suavizado pela região de interface elétrica de tal modo que um campo elétrico substancialmente

contínuo é estabelecido em cada um dos canais, e em que preferencialmente o campo elétrico substancialmente contínuo estabelecido em cada canal é substancialmente o mesmo.

16. Dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15,
 5 **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo é um dispositivo para separação de objetos e em que o volume de condução (2) é um canal de separação, o qual, preferencialmente, em uso, contém objetos a serem separados, em que o campo elétrico substancialmente contínuo no canal dá origem a uma força elétrica atuando em cada objeto; e mais preferencialmente compreende adicionalmente
 10 uma fonte de equilíbrio configurada para dar origem a uma força que se opõe à força elétrica em cada objeto;

em que objetos no canal de separação são levados a se separarem em bandas sob a influência combinada do campo elétrico e da fonte de equilíbrio.

17. Método para aplicar um campo elétrico a um volume de condução (2)
 15 usando um dispositivo conforme definido na reivindicação 1, o método compreendendo as etapas de:

prover uma montagem de aplicação de campo elétrico (4) adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto;

prover um volume de condução (2);

20 prover uma região de interface elétrica (3) entre o volume de condução e a montagem de aplicação de campo elétrico, em que a região de interface elétrica compreende pelo menos um material ionicamente condutor disposto adjacente a e em contato com o volume condutor, e **caracterizado** pelo fato de que:

a montagem de aplicação de campo elétrico compreende uma pluralidade
 25 de eletrodos (5a) em contato elétrico com a região de interface elétrica (3); e

aplicar o campo elétrico discreto à região de interface elétrica em uma localização afastada do volume de condução;

de tal modo que o campo elétrico discreto aplicado é suavizado pela região de interface elétrica de modo que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro
 30 do volume de condução é substancialmente contínuo.

18. Método para separação de objetos **caracterizado** pelo fato de que compreende aplicar um campo elétrico a um canal, conforme definido na reivindicação 17, em que o volume de condução (2) é um canal de separação o qual, em uso, contém os objetos a serem separados, em que uma força elétrica
 35 age em cada objeto; o método compreendendo:

aplicar uma força de equilíbrio que se opõe à força elétrica em cada objeto; em que objetos no canal de separação são levados a se separarem em bandas sob a influência combinada do campo elétrico e a fonte de equilíbrio, em que preferencialmente o método é um método de eletroforese, a força de equilíbrio
5 sendo uma força hidrodinâmica que se deve a um fluido contido no canal de separação junto com os objetos a serem separados, o método compreendendo preferencialmente adicionalmente:

variar o campo elétrico aplicado de modo a ajustar o perfil do campo em relação ao canal de separação, desta forma fazendo com que os objetos se
10 separem em bandas sob as influências combinadas da força elétrica que se deve ao campo elétrico e a força hidrodinâmica que se deve ao fluido.

19. Método de fabricação de um dispositivo conforme definido na reivindicação 1, o método **caracterizado** pelo fato de que compreende as etapas de:

15 prover uma montagem de aplicação de campo elétrico (4) adaptada para gerar um campo elétrico tendo um perfil de campo elétrico discreto;

 prover um volume de condução (2);

 prover uma região de interface elétrica (3), entre o volume de condução (2) e a montagem de aplicação de campo elétrico (4), em que a região de interface
20 elétrica (3) compreende pelo menos um material ionicamente condutor (3a) disposto adjacente a e em contato com o volume de condução (2), e em que a montagem de aplicação de campo elétrico compreende uma pluralidade de eletrodos (5a) em contato elétrico com a região de interface elétrica,

 em que, em uso, o campo elétrico discreto é aplicado à região de interface
25 elétrica (3) em uma localização afastada do volume de condução (2);

 de tal modo que, em uso, o campo elétrico discreto aplicado é suavizado pela região de interface elétrica (3) de modo que o perfil de campo elétrico estabelecido dentro do volume de condução (2) é substancialmente contínuo.

20. Método de fabricação de um dispositivo, de acordo com a reivindicação
30 19, **caracterizado** pelo fato de que o volume de condução (2) é formado em um substrato (7) e em que a etapa de prover a região de interface elétrica (3) compreende formar uma cavidade (7a) no substrato, preencher a cavidade com material de região de interface elétrica (3a) em forma líquida e formar a região de interface elétrica do material líquido dentro da cavidade, em que
35 preferencialmente o material em forma líquida é um pré-polímero líquido e em que formar a região de interface elétrica compreende polimerização do pré-polímero

líquido, em que preferencialmente a polimerização do pré-polímero líquido compreende fotopadronização do pré-polímero utilizando um fotoiniciador.

21. Método de fabricação de um dispositivo, de acordo com a reivindicação 20, **caracterizado** pelo fato de que a altura do volume de condução (2) é maior
5 que a altura da cavidade (7a) de tal modo que o volume de condução é formado pela ação de forças capilares atuando na região de interface elétrica material em forma líquida preenchendo a cavidade.

22. Método de fabricação de um dispositivo, de acordo com a reivindicação 20 ou 21, **caracterizado** pelo fato de que compreende adicionalmente, antes de
10 preencher a cavidade (7a), a etapa de tratar a cavidade de tal modo que adesão é reforçada entre a região de interface elétrica e a cavidade.

23. Método de fabricação de um dispositivo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 19 a 22, **caracterizado** pelo fato de que o dispositivo está de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18.

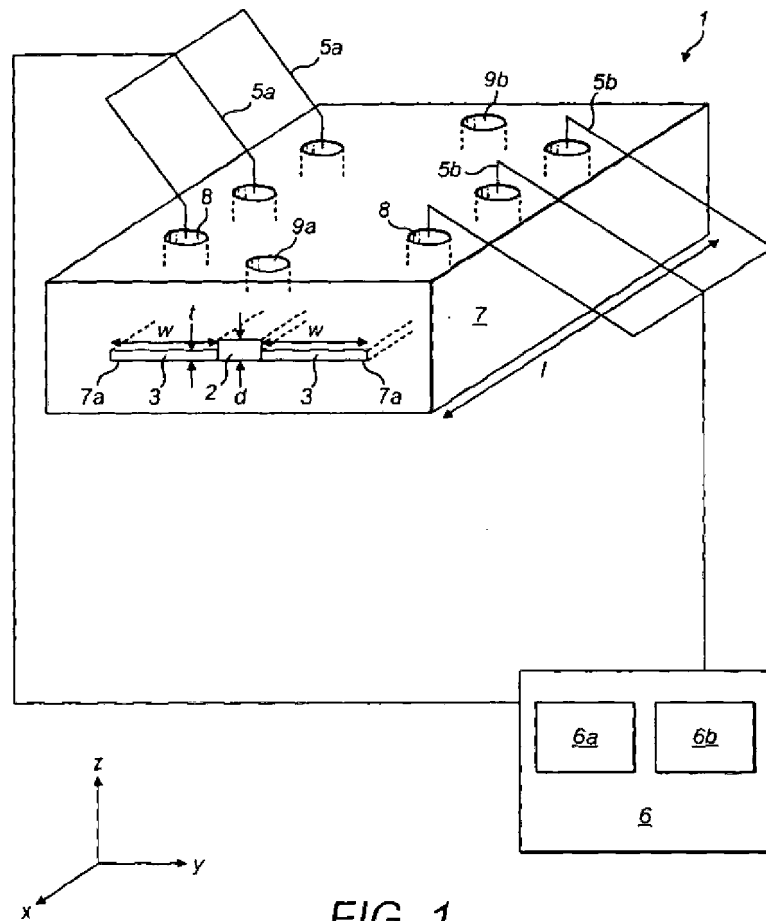


FIG. 1

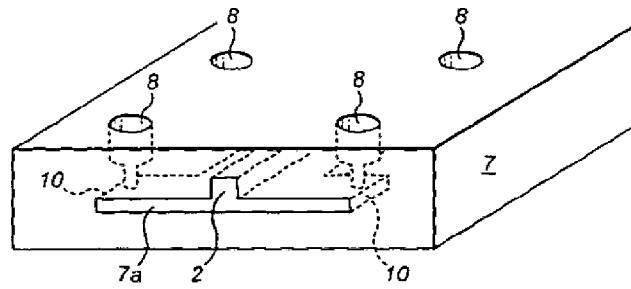


FIG. 2

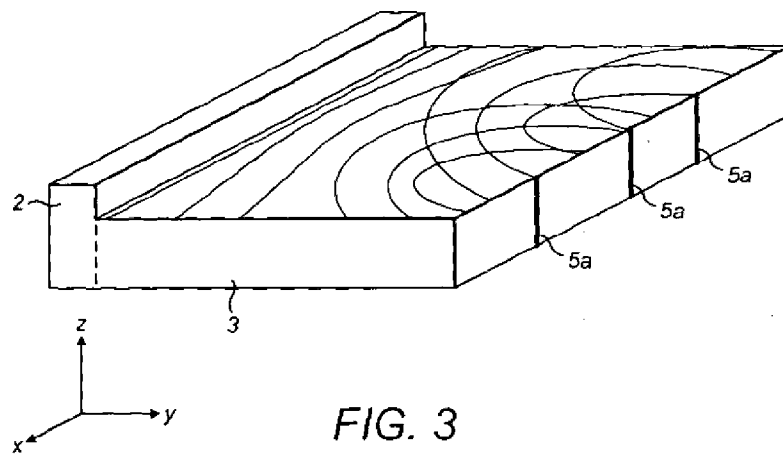


FIG. 3

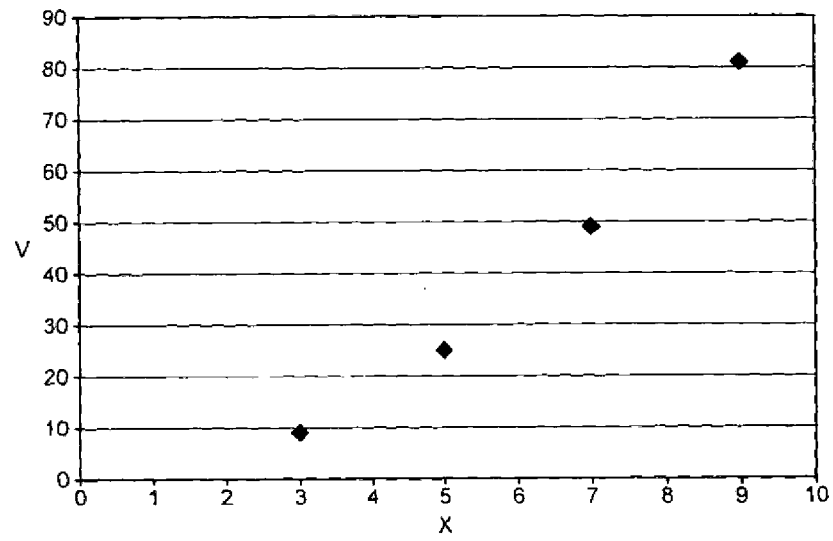


FIG. 4A

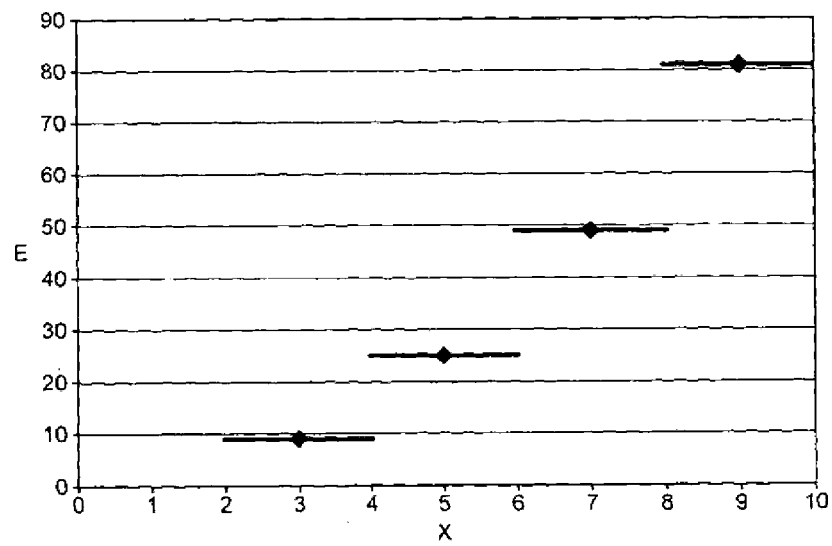


FIG. 4B

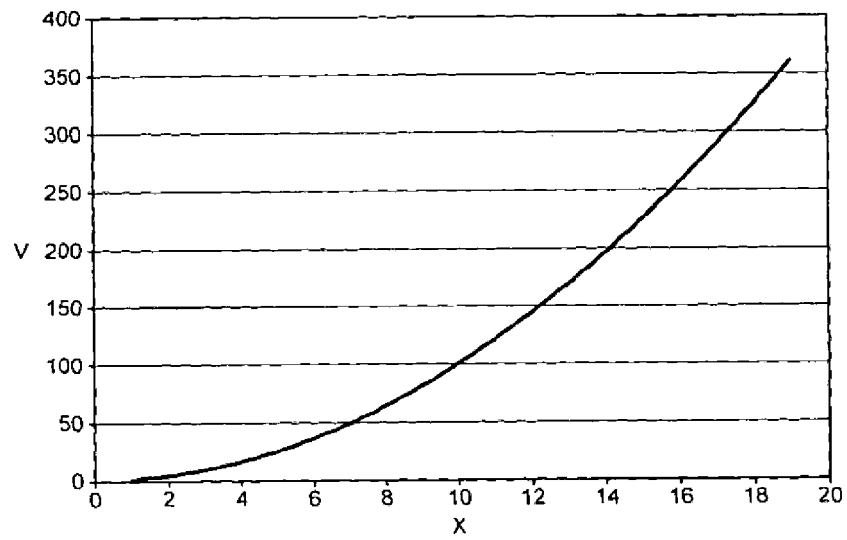


FIG. 4C

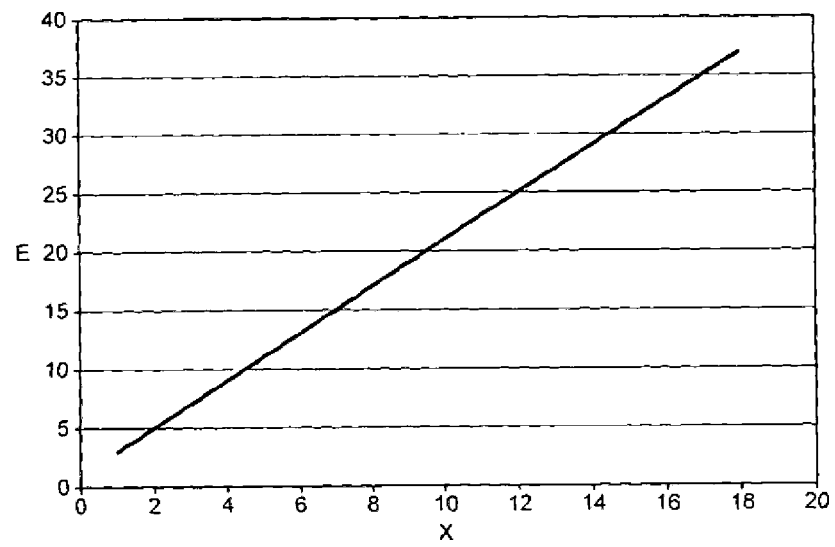


FIG. 4D

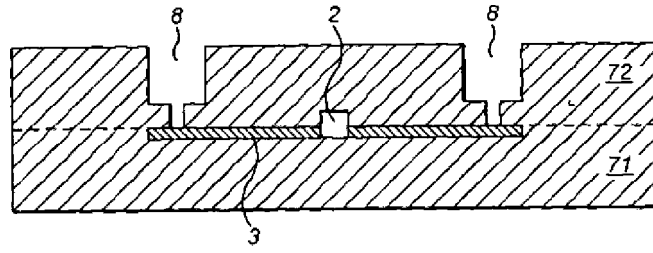


FIG. 5A

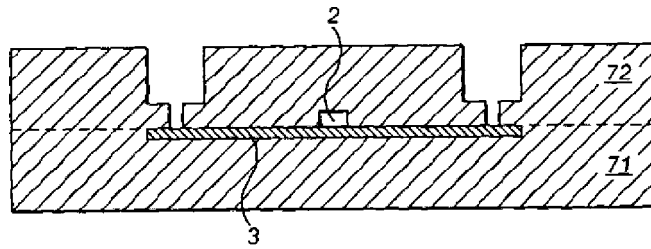


FIG. 5B

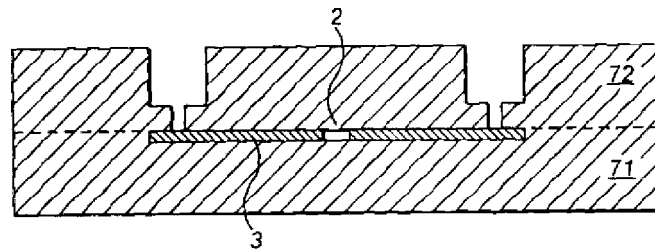


FIG. 5C

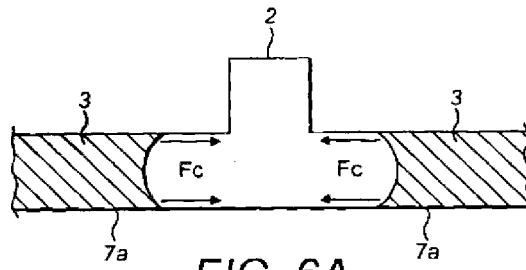


FIG. 6A

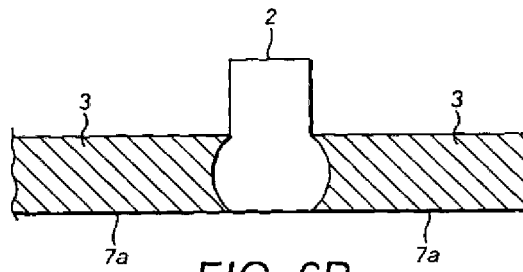
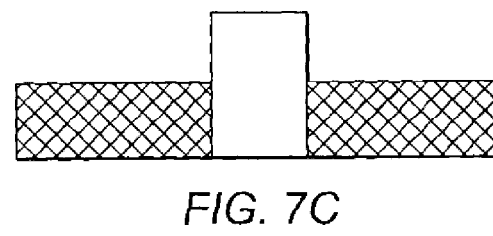
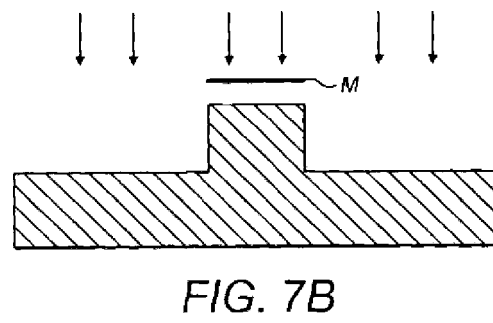
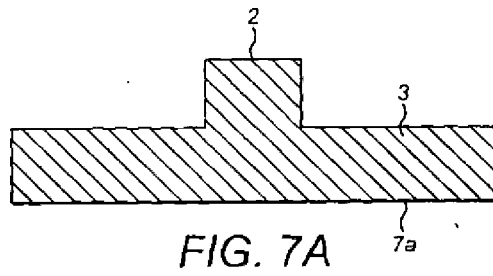
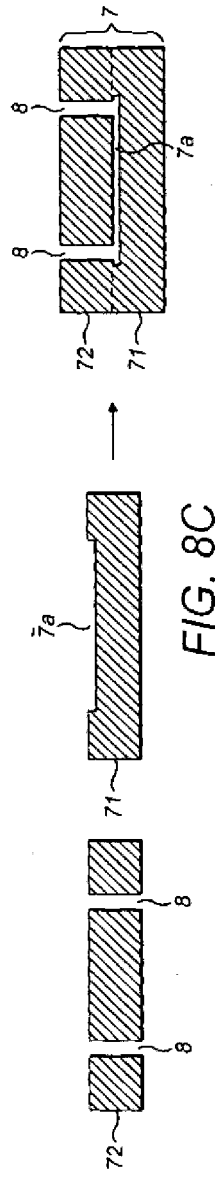
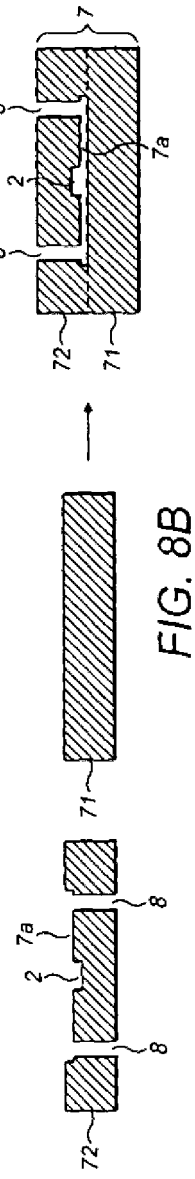
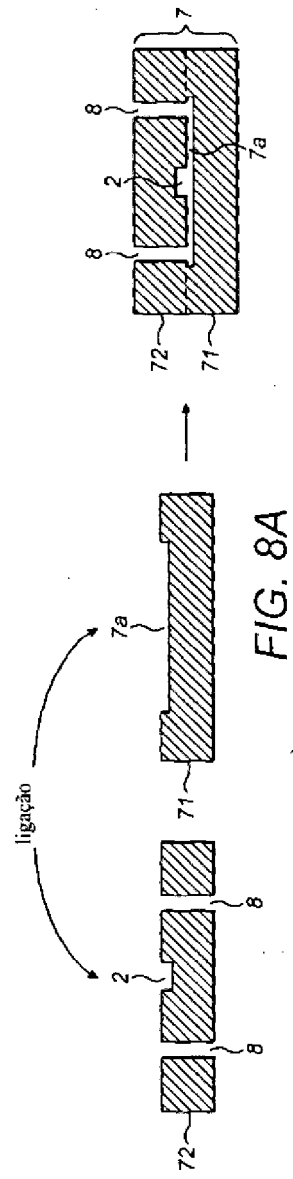


FIG. 6B





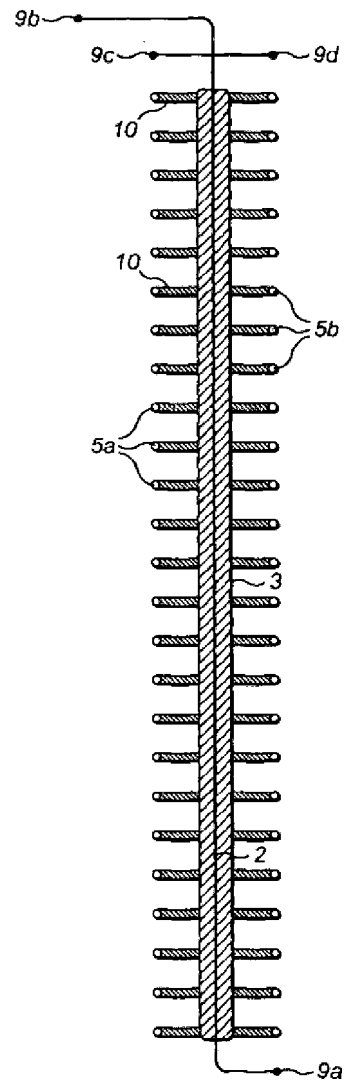


FIG. 9

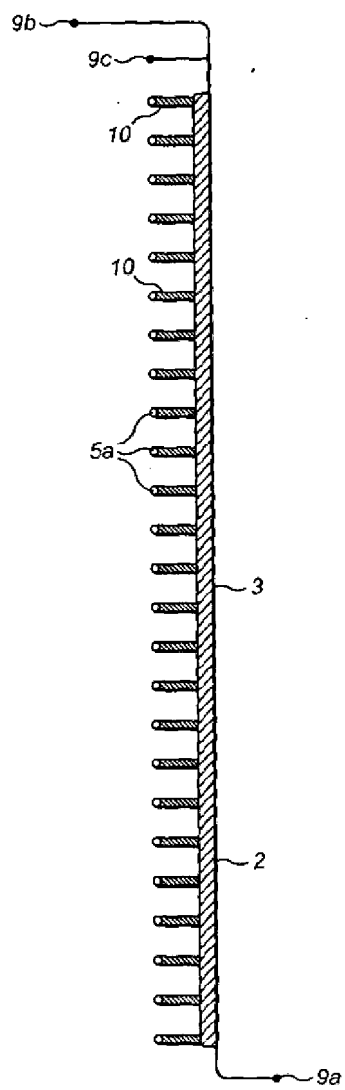


FIG. 10

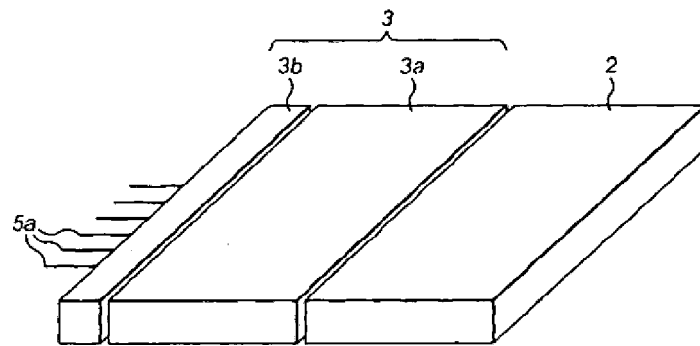


FIG. 11

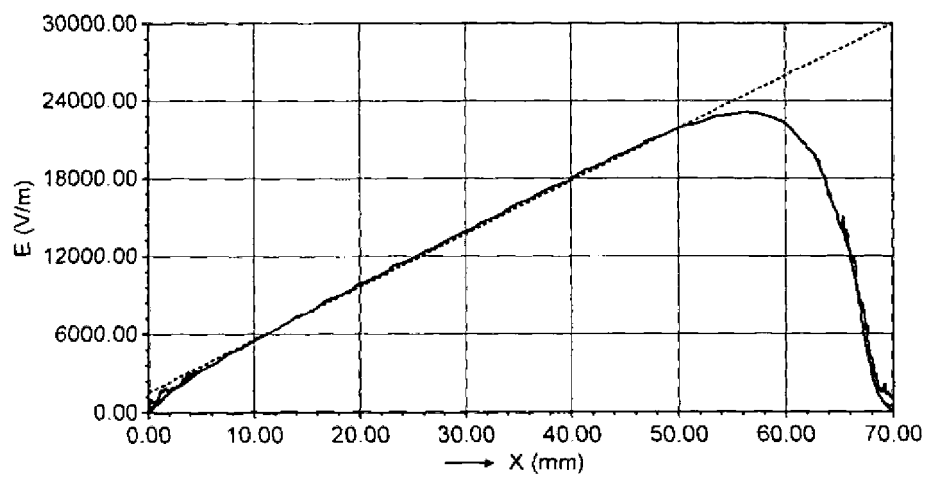


FIG. 12

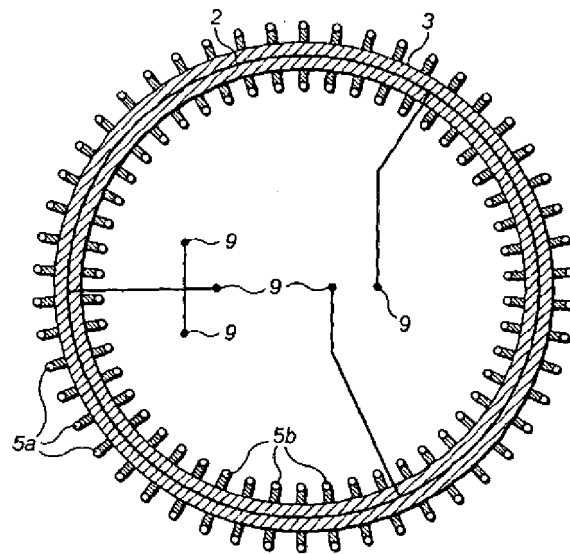


FIG. 13

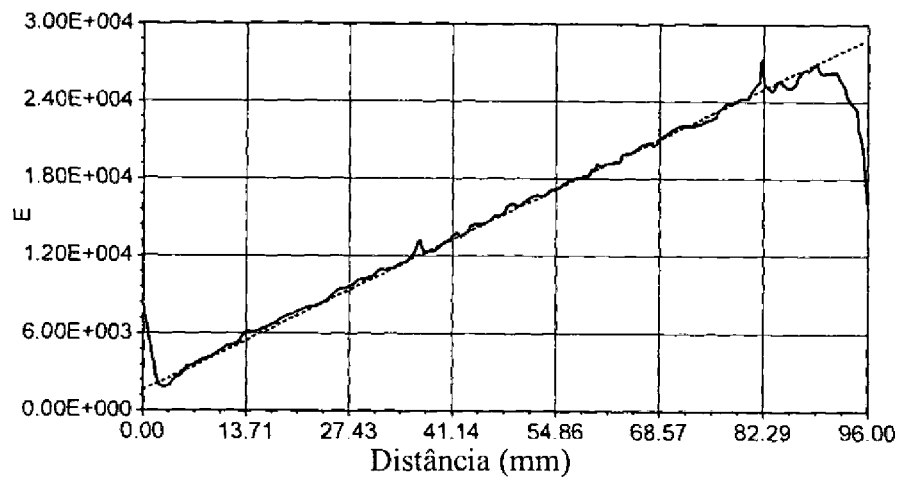


FIG. 14

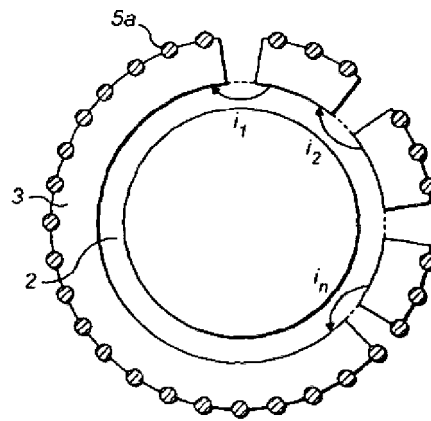


FIG. 15

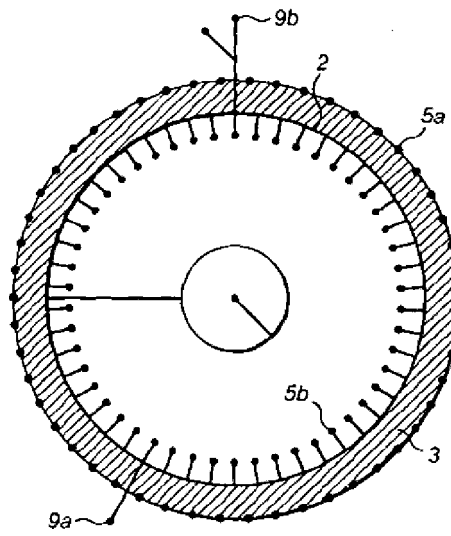


FIG. 16

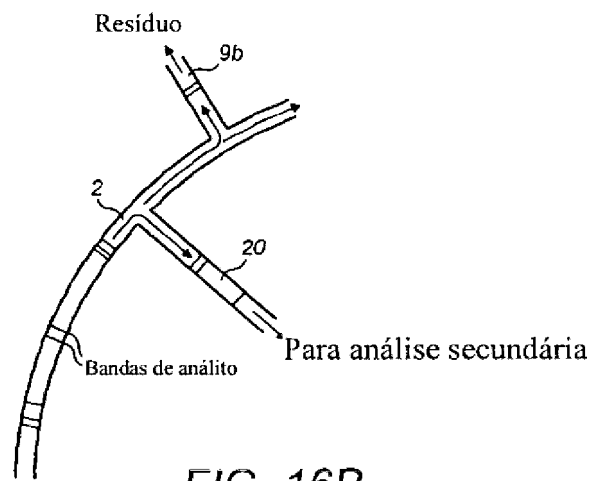


FIG. 16B

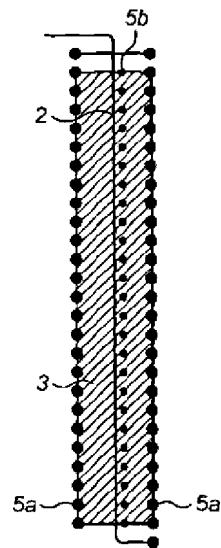


FIG. 17A

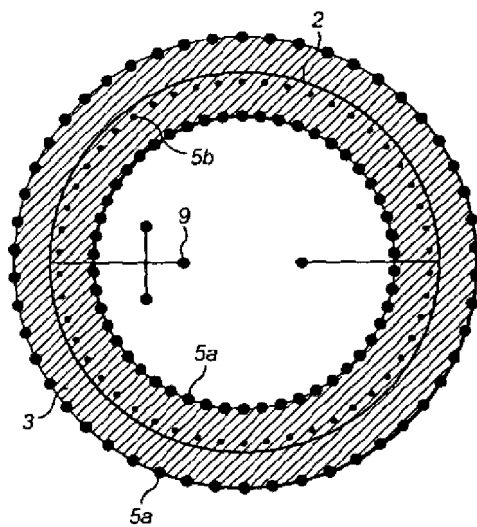


FIG. 17B

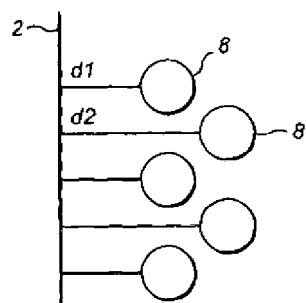


FIG. 18

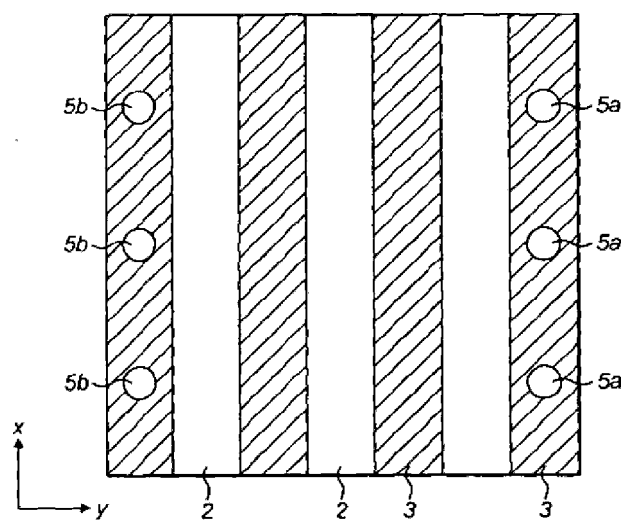


FIG. 19A

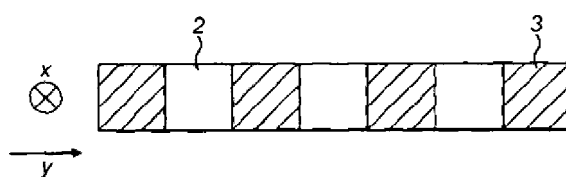
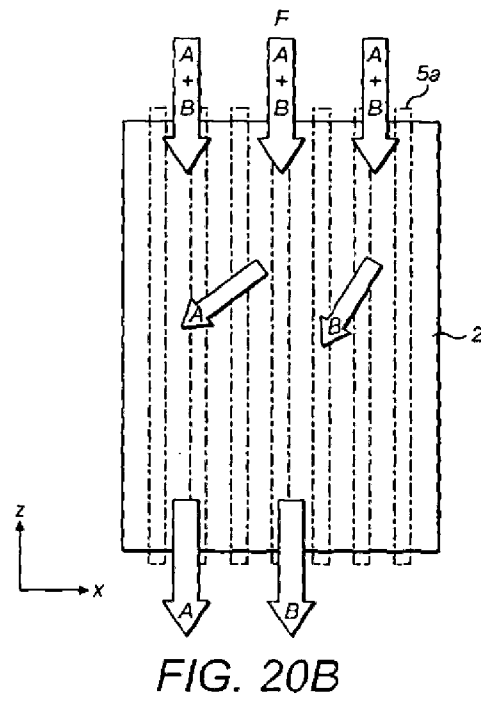
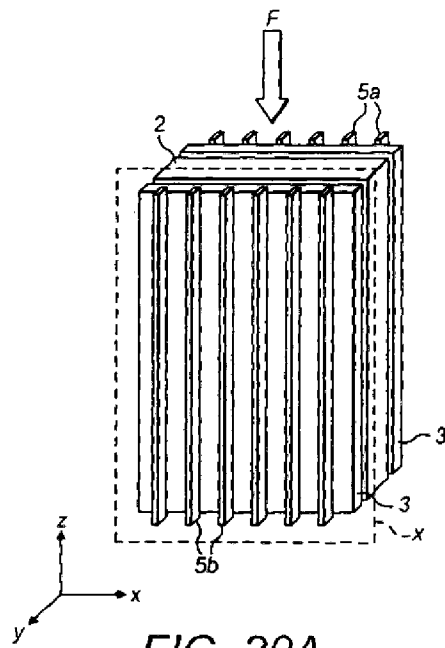


FIG. 19B



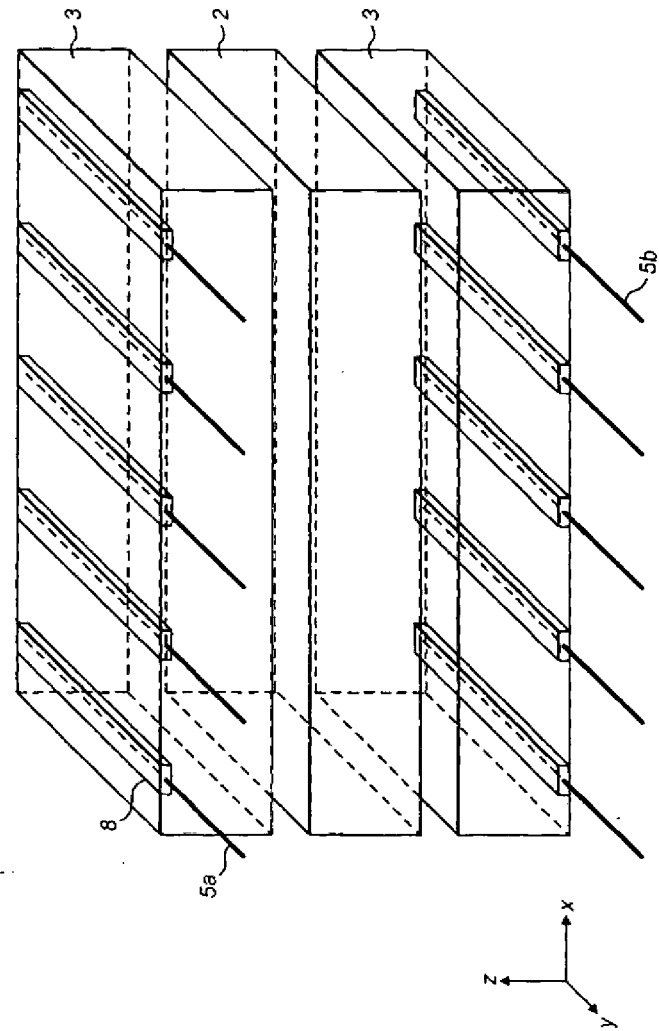


FIG. 21

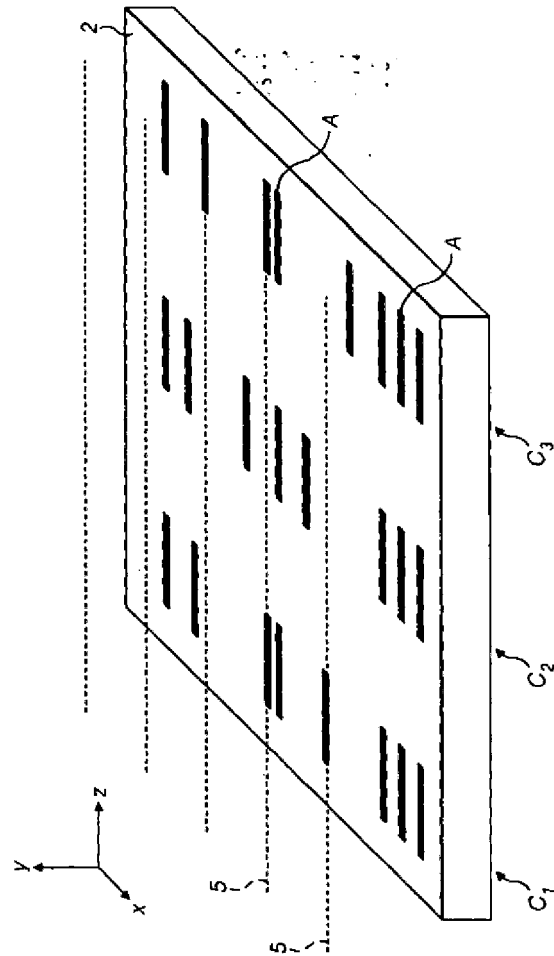


FIG. 22