UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

**ESTRATÉGIAS DE MICROFABRICAÇÃO UTILIZANDO
TONER PARA PRODUÇÃO DE DISPOSITIVOS
MICROFLUÍDICOS**

Heron Dominguez Torres da Silva

Tese de Doutorado

Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago

Orientador

São Paulo

21 de Julho de 2006

ESTRATÉGIAS DE MICROFABRICAÇÃO UTILIZANDO TONER PARA PRODUÇÃO DE DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS

Heron Dominguez Torres da Silva

Químico

Orientador: Prof. Dr. Claudimir Lucio do Lago

**Tese apresentada ao Instituto de
Química, Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor em
Ciencias, Área de Concentração:
Química Analítica.**

São Paulo

Estado de São Paulo - Brasil

21 de Julho de 2006

DEDALUS - Acervo - CQ

30100012256

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Silva, Heron Dominguez Torres da
S586e Estratégias de microfabricação utilizando toner para
produção de dispositivos microfluídicos / Heron Dominguez
Torres da Silva. -- São Paulo, 2006.

~~230p.~~
206 p.

Tese (doutorado) – Instituto de Química da Universidade
de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Lago, Claudimir Lucio do

1. Eletroforese : Química analítica 2. Eletroforese
capilar : Química analítica 3. Espectrometria de massa :
Química analítica I. T. II. Lago, Claudimir Lucio do,
orientador.

543.0871 CDD

“Estratégias de microfabricação utilizando toner para produção de dispositivos microfluídicos”

HERON DOMINGUEZ TORRES DA SILVA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química – Área: Química Analítica.

Aprovado(a) por:

Prof. Dr. CLAUDIMIR LÚCIO DO LAGO
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. JIVALDO DO ROSÁRIO MATOS
IQ – USP

Prof. Dr. MÁRIO CESAR UGULINO DE ARAÚJO
UFBP

Prof. Dr. LUIZ OTÁVIO SARAIVA FERREIRA
FEM – UNICAMP

Prof. Dr. ELIPHAS WAGNER SIMÕES
LSI – EP – USP

SÃO PAULO
4 DE SETEMBRO 2006

Dedico este trabalho

*À meu filho Guilherme Almeida da Silva e
Minha filha Helena Almeida da Silva*

E também ao mestre e amigo Claudimir L. do Lago

I. Agradecimentos

"O que procuraste em ti ou fora de

teu ser restrito e nunca se mostrou,
mesmo afetando dar-se ou se rendendo,
e a cada instante mais se retraindo,

olha, repara, ausculta: essa riqueza
sobrante a toda pérola, essa ciência
sublime e formidável, mas hermética,

essa total explicação da vida,
esse nexo primeiro e singular,
que nem concebes mais, pois tão esquivo

se revelou ante a pesquisa ardente
em que te consumiste... vê, contempla,
abre teu peito para agasalhá-lo."

Trecho de "A Máquina do Mundo"

Carlos Drummond de Andrade

Agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para tornar esse trabalho possível. O caminho que conduz a realização não é suave, é tortuoso, pedregoso e repleto de armadilhas. Algumas pessoas param e indicam atalhos e caminhos menos sinuosos, enquanto que outros ajudam com o silêncio, pois algumas trilhas temos que abrir sozinhos. Muitos suavizam o peso da vida com simples sorrisos, e outros severamente rudimentam nossos passos. Alguns

mantêm aqueles olhares fixos e atenciosos, outros fingem não ver. Uns tocam e falam, outros precisam ou esperam o nosso toque e as nossas palavras. A ignorância não impede que eu reconheça tanto a ajuda recebida por muitos singelos, da mesma forma agradeço aos muitos mestres que cruzaram esse caminho.

À meu pai Manoel Caetano da Silva e minha mãe Noemia Cecília Torres da Silva, que me ensinaram o valor da família e as responsabilidades frente a vida.

Aos pais de criação Alda (mamãe Dalda) e Otávio, que também muito contribuíram para minha formação como cidadão brasileiro.

Aos meus irmãos de sangue Heverton e Heyde, e aos irmãos de criação Fia (Isabel), Zinho (José Carlos), Lãla (Ângela) e Du (Ari).

Aos amigos Alberto, Zé Geraldo, Carlos e Wendell que têm trabalhado comigo e contribuído para o desenvolvimento destas pesquisas. Devo muito a estas pessoas.

Aos amigos do laboratório Robinson, Carol, Denis, Dosil, Tácio, Renato, Eduardo, Adriana, André, Marco Antônio, Márcio, Jairo, Pillar, Fabiano, Fernando, Zé Maria, Alexandre, Osmar, Renata, Ricardo, Rodrigo, Lucas, Lúcia e Thiago pelo ótimo ambiente de trabalho que proporcionaram repleto de coleguismo e alegria.

Aos Profs. Drs. Lúcio, Gutz, Carrilho e Jivaldo, por tudo, seja em aulas ou no laboratório.

Aos colegas do LNLS: Maria Helena e Ângelo, e aos colegas do LSI: Bariato e Malú.

À secretária Marlene, pessoal do setor de pós-graduação e demais funcionários do IQ-USP que sempre se mostraram prestativos e competentes na realização de seus trabalhos.

Aos colegas professores e funcionários do Centro Universitário Fundação Santo André.

Agradeço especialmente a minha esposa Nadia Fernandes de Almeida, companheira de muitas lutas, para quem esta tese, dentre muitos significados,

pode representar um afago aos dias de dificuldades e lágrimas. Mesmo que desvendasse os maiores enigmas da ciência e lhe dedicasse em tese, ainda assim seria pouco, frente ao presente que me deu: dois maravilhosos filhos: vida – o verdadeiro legado a posteridade.

Agradeço a FAPESP pelo financiamento dos trabalhos.

II. Resumo

Neste trabalho são apresentados processos de microfabricação de estruturas contendo microcanais e sistemas de manipulação hidrodinâmica e eletroosmótica de fluídos. Foram desenvolvidos processos de microfabricação utilizando toner sobre poliéster, toner sobre vidro, toner como resiste, além de métodos alternativos de perfuração de lâminas e selagem de microestruturas em vidro, desenvolvimento de microestruturas para eletroforese capilar e espectrometria de massas com ionização por eletronebulização. A caracterização dos materiais e processos permitiu uma ampla visão das potencialidades e alternativas dos processos de microfabricação, tendo sido demonstrado que os dispositivos produzidos em toner-poliéster são quimicamente resistentes às substâncias tipicamente utilizadas em eletroforese capilar. Neste trabalho, um detector condutométrico sem contato foi implementado em microestruturas de toner-poliéster e a separação eletroforética de alguns metais alcalinos é demonstrada. A microestrutura foi projetada no formato padrão em cruz, tendo o canal de separação 22 mm de comprimento, 12 ^{microm}μm de profundidade e largura típica. A cela condutométrica foi construída sobre o canal de separação utilizando-se fita adesiva de cobre (1 mm de largura) como eletrodos. O sinal aplicado na cela foi de 530 kHz e 10 V_{pp}. A separação de K⁺, Na⁺ e Li⁺ na concentração de 100 μmol L⁻¹ foi efetuada em torno de 0,8 min, utilizando-se 1 kV como potencial de separação. Foram desenvolvidos microchips para análise por espectrometria de massas com introdução de amostra por eletronebulização, sendo determinado cluster do íon cloreto em concentração de 1 mmol L⁻¹. Também solução com 1 mmol/L de glucosamina em água/metanol 1:1 (v/v), sob corrente de 100 nA gerou sinal estável e livre de descarga corona. Utilizando detecção amperométrica, obteve-se eletroferogramas mostrando a separação de iodeto (10 mmol L⁻¹) e ascorbato (40 mmol L⁻¹) em potencial de separação de 4,0 kV (800 V cm⁻¹); potencial de detecção de 0,9 V (vs. Ag/AgCl), injeção com 1,0 kV/10 s, tampão borato de sódio 10 mmol L⁻¹ com CTAH 0,2 mmol L⁻¹, pH 9,2. Obteve-se eficiência

de $1,6 \cdot 10^4$ pratos/m e foi possível obter limites de detecção de 500 nmol L^{-1} (135 amol) e $1,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (486 amol) para iodeto e ascorbato, respectivamente. O processo de fabricação utilizando toner como material estrutural para microchips em vidro foi bem estabelecido, assim como os modos de detecção fotométrico e condutométrico foram demonstrados. Foram obtidos eletroferogramas por detecção condutométrica sem contato de solução $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de K^+ , Na^+ e Li^+ , em tampão histidina/ácido láctico 30 mmol L^{-1} 9:1 (v/v) água:metanol, injeção eletrocínética de $2,0 \text{ kV}/5,0 \text{ s}$, potencial de separação de 1 kV , 530 kHz de frequência e tensão de $2,0 \text{ V}_{\text{pp}}$. Também foi implementado um sistema de detecção fotométrico para microchip operando em 660 nm , tendo sido utilizado para a detecção de azul de metileno $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão de corrida de borato de sódio 20 mmol L^{-1} (pH 9,2), com o detector posicionado a 40 mm do ponto de injeção e com injeção eletrocínética a $2,0 \text{ kV}$ por 12 s com picos bem resolvidos em menos de 1 min .

Abstract

Microfabrication processes and devices for hydrodynamic and electroosmotic manipulation were developed based on toner-polyester, toner-glass and toner-as-resist techniques. Additionally, techniques to perforate glass slides and sealing of glass devices were introduced. Microdevices for capillary electrophoresis and electrospray for mass spectrometry were developed using these techniques. The characterization of the materials and the processes demonstrated that the devices obtained by the toner-polyester process are compatible with the media used for capillary electrophoresis. The detection of alkaline ions with capillary electrophoresis with contactless conductivity detection was demonstrated. The typical cross shape microstructure was designed with a 22-mm long and 12- μm deep separation channel. The conductivity cell was implemented with 1-mm wide adhesive copper stripes. The applied signal was 530 kHz and 10 V_{pp} . The separation of 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ K^+ , Na^+ , and Li^+ was accomplished in 0.8 min under a voltage of 1 kV. Another toner-polyester microchip was developed to demonstrate its usefulness for electrospray/mass spectrometry. Solutions of 1 mmol L^{-1} potassium chloride and 1 mmol L^{-1} glucosamine in water/methanol 1:1 (v/v) were introduced with stable current of 100 nA without corona discharge. Capillary electrophoresis with amperometric detection was also demonstrated. The separation of iodide (10 mmol L^{-1}) and ascorbate (40 mmol L^{-1}) was carried out at 4.0 kV (800 V cm^{-1}) with detection potential of 0.9 V (vs. Ag/AgCl), electrokinetic injection at 1.0 kV/10 s, running buffer of sodium borate 10 mmol L^{-1} with CTAH 0.2 mmol L^{-1} , pH 9.2. The efficiency was $1.6 \cdot 10^4$ plates/m and the limits of detection were 500 nmol L^{-1} (135 amol) and 1.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (486 amol) for iodide and ascorbate, respectively. The toner-glass process was proposed and conductivity and photometric detections were demonstrated for the devices generated by this new technique. The separation of 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ K^+ , Na^+ , and Li^+ was achieved in buffer histidine/lactic acid 30 mmol L^{-1} water/methanol 9:1 (v/v), electrokinetic injection at 2.0 kV/5.0 s,

separation potential of 1 kV, and contactless conductivity detection at 530 kHz and 2.0 V_{pp}. The photometric detection of methylene blue at 660 nm was carried out in sodium borate 20 mmol L⁻¹ (pH 9.2).

IV. Lista de Figuras e Tabelas

A) Figuras

Figura 1.1. Relações básicas para movimentação de fluidos.

Figura 1.2. Esquema do instrumental básico de eletroforese, onde D é o detector.

Figura 1.3. Padrão em cruz simples normalmente utilizado para micro eletroforese.

Figura 1.4. Gráfico do levantamento bibliográfico de 1990 até 2005.

Figura 1.5. Esquema das etapas do processo de fabricação por fotolitografia.

Figura 2.1. Aparelho de Ar-Condicionado com ponto de entrada de ar na parte interna do laboratório e motor com filtro na parte externa.

Figura 2.2. Câmara de Fluxo Laminar utilizada em operações de microfabricação.

Figura 2.3. Esquema eletrônico do circuito montado.

Figura 2.4. Registro do funcionamento do circuito obtido com o auxílio de um osciloscópio.

Figura 2.5. Sistema de controle de renovação de ar.

Figura 2.6. LMMO, destacando o interior do ambiente.

Figura 2.7. Destacando o computador e Microscópio Ótico.

Figura 3.1. Processo de obtenção de microcanais pelo processo com impressão laser.

Figura 3.2. Padrão desenvolvido para detecção em fluxo cruzado e contra-parte delimitando os reservatórios a serem perfurados para selagem.

Figura 3.3. Dispositivo para decalque e selagem com pressão distribuída.

Figura 3.4. Equipamentos utilizados para microfabricação: laminadora *Super Fuser* e laminadora AC 91230.

Figura 3.5. Equipamentos utilizados para microfabricação: prensa *hot stamp* e prensa de circuito impresso.

Figura 3.6. Furador para filme de poliéster.

Figura 3.7. Padrão desenvolvido para detecção condutométrica em camada simples.

Figura 3.8. Padrão desenvolvido para detecção condutométrica em camada dupla.

Figura 3.9. Seqüência do processo de microfabricação. Detalhes.

Figura 3.10. Seqüência do processo de microfabricação. Detalhes.

Figura 3.11. Esquema do processo até a obtenção do dispositivo acabado.

Figura 3.12. Padrão Utilizado em testes de resistência química.

Figura 3.13. Teste de resistência química de corpos de prova.

Figura 3.14. Destacando a microestrutura utilizada em teste de EOF.

Figura 3.15. Esquema de uma Extração Soxhlet.

Figura 3.16. Registro de DSC do toner HP C3906A.

Figura 3.17. Esquema do dispositivo para avaliação da comunicação entre canais.

Figura 3.18. Comparação do aspecto visual dos corpos de prova, (A) no início e (B) no instante 105 min.

Figura 3.19. Foto registrada por microscopia óptica, (A) curvas do padrão 1 antes do ataque, (B) curvas do padrão 1 após termino do teste (1035 min).

Figura 3.20. Espectro completo do filme poliéster, destacando as bandas com e sem ATR.

Figura 3.21. Ampliação da faixa do espectro para a sílica ($1100 - 1550 \text{ cm}^{-1}$).

Figura 3.22. Curvas de Corrente x Tempo utilizadas para estimativa do EOF.

Figura 3.23. Corrente em função do tempo destacando a defasagem das curvas de tempo do EOF.

Figura 3.24. Curva do tempo de migração em função do potencial aplicado. Microchip semelhante ao da Figura anterior.

Figura 3.25. Espectro UV-VIS do filme de poliéster CG 3300.

Figura 3.26. Comparação entre impressora HP 6L (A) e HP 1200 (B).

Figura 3.27. Comparação entre impressora HP 6L – Varredura (A) e HP 6 L – Vetorial (B), destacando melhor resolução no modo Vetorial.

Figura 3.28 Comparação de resolução: (A) 10-1000, (B) 25-1000 e (C) 50-1000, xx-yyy é o espaçamento (xx) entre as linhas de espessura yyy, em micrometros.

Figura 3.29. Irregularidades do processo de deposição do toner, destando regiões com falhas de cobertura de até $11,9 \mu\text{m}$.

Figura 3.30. Microcanal de $150 \mu\text{m}$, destacando a diferença dimensional.

Figura 3.31. Borda de um canal de $150 \mu\text{m}$, destacando a irregularidade.

Figura 3.32. Grão de toner projetado no interior do canal.

Figura 3.33. Relação entre altura do grão e altura do canal.

Figura 3.34. Deformação da altura do canal.

Figura 3.35. Vista frontal da saída do canal.

Figura 3.36. Imagens de AFM da superfície do toner impresso sobre filme de poliéster – terminação r.

Figura 3.37. Imagens de AFM da superfície do toner impresso sobre filme de poliéster – terminação s.

Figura 3.38 Superfície do toner depositado (AFM).

Figura 3.39. Curvas TG/DTG do toner HP6L.

Figura 3.40. Curva DSC do toner HP6L.

Figura 3.41. Espectro do Módulo da Impedância.

Figura 3.42. Gráfico da variação do ângulo de fase em função da frequência.

Figura 3.43. Espectro do Módulo da Impedância de canais paralelos.

Figura 3.44. Esquema da variação altura contra largura do microcanal.

Figura 3.45. Padrão desenvolvido para detecção condutométrica sem contato.

Figura 3.46. Foto do detector utilizado.

Figura 3.47. Foto da gaiola com o microdispositivo e o detector e detalhe da fixação dos eletrodos.

Figura 3.48. Esquema da microestrutura. Destacando o canal de separação e reservatórios para o tampão; canal e reservatórios para a amostra e os eletrodos e o reservatório.

Figura 3.49. Separação de alguns metais alcalinos na microestrutura de poliéster-toner.

Figura 3.50. Erro de Linearidade da fonte de alta tensão, tensão aplicada x tensão medida (real).

Figura 3.51. Exemplo de padrão utilizado para impressão.

Figura 3.52. Furador de filme de poliéster, preparado em acrílico e guia de furação em bronze e reservatório.

Figura 3.53. Microestruturas confeccionadas com extremidade reta e triangular e com orifício de saída perpendicular ao canal.

Figura 3.54. Microestruturas confeccionadas com agulha quente e rotação e com broca quente.

Figura 3.55. Esquema para geração de electrospray utilizando microestrutura.

Figura 3.56. Flange, cone de amostragem e flange instalada no espectrômetro de massa.

Figura 3.57. Microestrutura apoiada sobre a prancha e prancha alinhada com o cone de amostragem.

Figura 3.58. Sistema de pressurização para as microestruturas.

Figura 3.59. Cone de Taylor após pressurização e aplicação de 3 kV por 5 min. e cone sendo formado unidirecionalmente ao contra-eletrodo.

Figura 3.60. Microamperímetro para monitorar a corrente que no o cone de amostragem.

Figura 3.61. Microamperímetro: Placa e Montagem.

Figura 3.62. Sistema de posicionamento de microchips.

Figura 3.63. Dispositivos toner-poliéster antes do corte e depois do corte em guilhotina.

Figura 3.64. Esquema do sistema montado para registro de imagens da formação do cone de Taylor e detalhe da microestrutura montada no suporte.

Figura 3.65. Cone de Taylor após pressurização e com aplicação de 3,5 kV.

Figura 3.66. Espectro obtido para sol. 1 mmol L^{-1} de NaCl em metanol 50%.

Figura 3.67. Processo Toner-Poliéster destacando a deposição do filme de toner definindo os microcanais e a fixação dos reservatório.

Figura 3.68. Layout do dispositivo utilizado.

Figura 3.69. Etapas de produção do microeletrodo duplo de ouro.

Figura 3.70. Esquema e foto do dispositivo para detecção amperométrica.

Figura 3.71. Eletrodos de Au obtidos a partir de CD-Rs e Sistema desenvolvido para a implementação de um detector amperométrico para microestruturas de poliéster-toner.

Figura 3.72. Montagem em acrílico.

Figura 3.73. Variação da resposta utilizando eletrodos duplos.

Figura 3.74. Variação na resposta do detector para diferentes potenciais aplicados ao eletrodo de trabalho.

Figura 3.75. Separações eletroforéticas de (1) iodeto $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (2) ascorbato $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ em microchip de poliéster-toner em diversos potenciais.

Figura 3.76. Efeito do pH do tampão fosfato para a determinação da mobilidade do catecol como marcador de EOF.

Figura 3.77. Voltamograma Hidrodinâmico para o iodeto ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ascorbato ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Figura 3.78. Eletroferograma mostrando a separação de iodeto ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ascorbato ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Figura 3.79. Estudo para otimização do tempo de Injeção.

Figura 3.80. Curvas de calibração para determinação de iodeto e ácido ascórbico.

Figura 3.81. Reprodutibilidade de ensaio para determinação de Iodeto, Ascorbato e transiente gerado pelo processo de injeção.

Figura 3.82. Influencia do potencial de separação na detecção de iodeto e ascorbato.

Figura 3.83. Influência do potencial de separação de iodeto e ascorbato na velocidade eletroforética dos analitos.

Figura 4.1. Esquema geral do dispositivo para corrosão de vidro.

Figura 4.2. Visão explodida do dispositivo para corrosão de cinco orifícios em laminula de 20 x 20 mm.

Figura 4.3. Detalhe da região próxima ao anel de vedação durante a corrosão.

Figura 4.4. Padrões utilizados, em (A) foto de folha de papel para decalque e (B) padrões definidos em software CorelDRAW.

Figura 4.5. Esquema de decalque sobre lâmina de microscópio.

Figura 4.6. Mecanismo de formação de Sol-gel.

Figura 4.7. Diagrama mostrando quatro etapas básicas do processo de microfabricação.

Figura 4.8. Padrão utilizado para ensaio de resistência química.

Figura 4.9. Fotografias do orifício gerado em laminula.

Figura 4.10. Profundidade do canal vs tempo de corrosão.

Figura 4.11. Aspecto dos canais obtidos após selagem com TEOS.

Figura 4.12. Corrente em função do campo elétrico para microchips de toner-vidro e toner-poliéster.

Figura 4.13. Absorbância do azul de metileno em microchip.

Figura 4.14. Eletroferograma antes e depois da correção da linha de base de solução $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de K^+ , Na^+ e Li^+ .

B) Tabelas

Tabela 1.1 – Forças presentes nos fluidos em movimento.

Tabela 1.2 – Fatores multiplicativos para obtenção de força, aceleração, tempo de resposta e potência gerada por unidade de volume, após escoamento, para diferentes tipos de forças.

Tabela 1.3 – Relação entre redução dimensional e tempo de difusão.

Tabela 1.4 Quadro comparativo dos parâmetros gerais entre eletroforese capilar e eletroforese em microchip.

Tabela 1.5 – Quadro resumido de aplicações de dispositivos miniaturizados com aplicações em diversas áreas da ciência humana.

Tabela 1.6 – Quadro resumido das principais técnicas de microfabricação.

Tabela 2.1 – Classificação de salas limpas conforme ISO 14644-1.

Tabela 3.1 – Propriedades Físico-Químicas do toner HP C3906A [218].

Tabela 3.2 – Temperatura Real de Laminação - substâncias utilizadas.

Tabela 3.3 – Estimativa da Altura de Canal por Análise de Impedância.

Tabela 4.1 – Profundidade de canal para diferentes larguras (μm).

Tabela 4.2 – Profundidade de canal para múltiplas camadas (μm).

III. Glossário

Definições, Acrônimos e Abreviações.

AFM – Atomic Force Microscopy – Microscopia de Força Atômica

ASHRAE – American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers – Sociedade Americana de Refrigeração e Ar-condicionado.

ATR – Attenuated Total Reflectance – Reflexão Total Atenuada

CAD – Computer Aided Design – Desenho Auxiliado por Computador

CCD – Contactless Conductivity Detection – Detecção Condutométrica Sem Contato

CE – Capillary Electrophoresis – Eletroforese Capilar

CHIP – Substrato transformado com padrões em escala micrométrica

CTAB – Brometo de Cetil Trimetilamonio

CTAH – Hidróxido de Cetil Trimetilamônio

dpi – dots per inch – pontos por polegada

DSC – Differential Scanning Calorimetry – Calorimetria Diferencial Exploratória

DRAM – Dynamic Random Access Memory – Memória de Acesso Aleatório Dinâmica

DTA – Differential Thermal Analysis – Análise Térmica Diferencial

DTG – Derived Thermogravimetric – Termogravimetria Derivada

EC – ElectroChemistry – Eletroquímica

Ed – Potencial de Detecção

Ei – Potencial de Injeção

EOF – ElectroOsmotic Flow – Fluxo Eletroosmótico

Es – Potencial de Separação

ESI – ElectroSpray Ionization mass spectrometry – Espectrometria de Massa por Ionização através de Eletronebulização

EVA – Ethylene/vinyl acetate – Copoli (etileno/acetato de vinila)

FIA – Flow Injection Analysis – Análise por Injeção em Fluxo

FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

GC – Gas Chromatography – Cromatografia Gasosa

HEPA – High Efficiency Particulate Air – Filtros de Ar com Alta Eficiência para Partículas

HPLC – High Performance Liquid Chromatography – Cromatografia líquida de alta eficiência

ICP-AES – Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy – Espectroscopia de Emissão Atômica em Plasma Indutivamente Acoplado

IR – InfraRed – Infravermelho

ISE – Ion Selective Electrode – Eletrodo Íon-Seletivo

ISFET – Íon-Selective Field Effect Transistor – Transistor de Efeito de Campo Íon-Seletivo

i/e – Corrente/Tensão

LA – Laser Ablation – Ablação por Laser

LAB-ON-A-CHIP – Laboratório em (sobre) um chip

LED – Light Emitting Diode – Diodo Emissor de Luz

LIGA – Lithographie, Galvanoformung, Abformung – Litografia, Eletroformação e Moldagem

LMMO – Laboratório de Microfabricação e Microscopia Óptica

MICROCHIP (μ CHIP) – Sistema integrável e miniaturizado em escala micrométrica num único substrato

MICRODISPOSITIVO – Sistema útil de geração ou conversão de sinal em escala micrométrica

MICROESTRUTURA – Padrão (feição) de dimensões micrométricas produzido por transformação física ou química de um substrato

MICROFABRICAÇÃO – Fabricação ou aplicação de técnicas de para usinagem ou transformação de um substrato produzindo padrões em escala micrométrica

MICROFLUÍDICA – Campo da ciência e tecnologia emergente que estuda o comportamento e manipulação de fluidos em escala micrométrica.

MS – Mass Spectrometry – Espectrometria de Massa

MICROTAS (μ TAS) – Miniaturized Total Analysis Systems – Sistemas Miniaturizados de Análises Totais (Microsistema de Análise Total)

PDMS – Poli(-dimetilsiloxano)

PE – Polyethylene – Polietileno

PET – Polyethylene Tereftalate – Poli (tereftalato de etileno)

PMMA – poly(methyl methacrylate) – Poli (metacrilato de metila)

PP – Polypropylene – Polipropileno

PTFE – Poly(tetrafluoroethylene) – Poli (tetraflúor-etileno)

PVC – Poly(vinyl chloride) – Poli (cloreto de vinila)

SDS – Sodium Dodecyl Sulfate – Sulfato de Dodecil Sódio

SEM – Scanning Electron Microscope – Microscopia Eletrônica de Varredura

TG – Thermogravimetry – Termogravimetria

TGA – Thermogravimetric Analysis – Análise Termogravimétrica

Ti – tempo de injeção

UV-vis – Ultravioleta-Visível - Refere-se à região do espectro eletromagnético compreendida entre o ultravioleta e visível.

Símbolos

®	Marca Registrada
V_{pp}	Volts pico-a-pico
μ	Micro ou Viscosidade
$\propto$	Proporcional
∂	Derivada
p	Pressão
t	Tempo
g	Aceleração da gravidade
V	Volume
∇	Gradiente
L	Comprimento
h	Altura
Re	Número de Reynolds
D	Diâmetro
σ	Tensão superficial
u	Velocidade
F	Força
ρ	Massa específica
a	Aceleração
m	Massa
cte	Constante
s	Fator de Escala (Escalamento)

SUMÁRIO

I. Dedicatórias e Agradecimentos	iii
II. Resumo	viii
III. Lista de Figuras e Tabelas	xii
IV. Glossário	xvii

Capítulo 1 - Introdução e Objetivos

1.1 Contextualização Histórica	1
1.1.1 Microsistemas	3
1.1.2 Microfluídica e Escalamento	5
1.1.2.1 Microfluídica	5
1.1.2.2 Escalamento	11
1.1.3 Miniaturização em Química Analítica e Eletroforese	19
1.2 Estado da Arte	29
1.3 Microfabricação em Química Analítica	35
1.4 Objetivos	40

Capítulo 2 – Infra-estrutura para Microfabricação

2.1 Introdução	41
2.1.1 Aplicações de Salas Limpas	44
2.1.2 Normas Vigentes	45
2.1.3 Classificação de Salas Limpas	47
2.2 Implementações para Controle Ambiental	51
2.3 Demais Recursos e Procedimentos	56
2.4 Considerações Finais	58

Capítulo 3 – Sistema Toner-Poliéster

3.1 Introdução	59
3.2 Descrição do Processo de Microfabricação	61
3.3 Caracterização de Materiais	74

3.3.1	Introdução	74
3.3.2	Parte Experimental	77
3.3.2.1	Teste de Resistência Química	77
3.3.2.2	Composição Superficial	79
3.3.2.3	Análise da Dimensão Superficial	82
3.3.2.4	Composição e Análise Térmica	83
3.3.2.5	Caracterização Elétrica	85
3.3.2.6	Determinação da Temperatura Real de Laminação	87
3.3.3	Resultados e Discussão	88
3.3.3.1	Teste de Resistência Química	88
3.3.3.2	Composição Superficial	89
3.3.3.3	Análise da Dimensão Superficial	96
3.3.3.4	Composição e Análise Térmica	105
3.3.3.5	Caracterização Elétrica	108
3.3.3.6	Determinação da Temperatura Real de Laminação	113
3.3.4	Considerações Finais	114
3.4	Aplicações	116
3.4.1	Separação Eletroforética	116
3.4.1.1	Introdução	116
3.4.1.2	Parte Experimental	116
3.4.1.3	Resultados e Discussão	120
3.4.1.4	Considerações Finais	122
3.4.2	Microestruturas para Espectrometria de Massa Molecular com ionização por Eletronebulização	123
3.4.2.1	Introdução	123
3.4.2.2	Parte Experimental	124
3.4.2.3	Resultados e Discussão	134
3.4.2.4	Considerações Finais	135
3.4.3	Microestruturas Toner-Poliéster com Detecção Amperométrica	137
3.4.3.1	Introdução	137

3.4.3.2	Parte Experimental	138
3.4.3.3	Resultados e Discussão	145
3.4.3.4	Considerações Finais	155
Capítulo 4 – Sistema Toner-Vidro		157
4.1	Introdução	157
4.2	Parte Experimental	159
4.3	Resultados e Discussão	172
4.4	Considerações Finais	183
V. Conclusões		184
VI. Referências		186
VII. Apêndices - Curriculum Vitae		205

1 – Introdução e Objetivos

1.1 Contextualização Histórica

No final da década de cinquenta e início dos anos sessenta do século passado, a indústria eletrônica presenciou uma significativa revolução com o advento dos componentes eletrônicos miniaturizados. O advento dos microchips ou *chips* (fatias) de silício contendo centenas ou até milhares de componentes causou uma verdadeira revolução não apenas na eletrônica, mas também em diversas áreas da ciência e cultura em geral. Essa revolução despertou interesse e acabou estabelecendo as bases da microeletrônica, principalmente como sub-área da engenharia eletrônica, motivada por grandes investimentos de indústrias e instituições de pesquisa. Tal revolução pode ser verificada ainda hoje e avança na busca por otimização de processos de microfabricação com vistas à miniaturização de sistemas.

Esta busca por fatores de redução continua, mesmo nos dias atuais, se verifica nas dimensões mínimas empregadas em circuitos integrados (CI's). O avanço das técnicas de microfabricação levam a obtenção de largura de linhas cada vez menor, utilização da área máxima dos *chips* ou substratos, aumento da eficiência de empacotamento (acondicionamento dos microdispositivos),

evolução no número de dispositivos por *chip* e mesmo a evolução da quantidade de bits de memória produzidos por ano, ocasionando uma frenética evolução na área de informática e eletrônicos nas últimas décadas. Assim, a redução contínua das dimensões mínimas, o aumento da área máxima dos chips e o avanço nas tecnologias de empacotamento dos dispositivos constituem os principais fatores que conduzem a reduções nos custos de fabricação em larga escala, além de tecnicamente possibilitar maior densidade de integração, maior velocidade de operação, menor custo de potência e menor número de chips por sistema, uma vez que, cada vez mais funções serão integradas. Isto resulta em um menor número de conexões entre chips, levando a maior confiabilidade dos sistemas e finalmente redução considerável do custo de montagem, fechando, desta forma, o ciclo de ganhos e vantagens com a miniaturização [1-5].

A miniaturização acabou por representar uma tendência posta no meio científico, que se estende até nossas casas, haja vista o número, cada vez mais crescente, de equipamentos portáteis em nosso dia-a-dia (calculadoras, computadores, *notebooks*, aparelhos de telefones celulares, etc.). Esta tendência não se apresenta apenas por questões estéticas, mas envolvem aspectos energéticos, materiais, espaço e possibilidade de integração [6] [7].

O Brasil vem se envolvendo em atividades na área de microeletrônica desde a década de sessenta, tendo passado por baixa produtividade na época de reserva de mercado (principalmente na década de oitenta). Atualmente contamos com diversos centros de tecnologia dedicados a microeletrônica no país: o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Laboratório de Sistemas Integráveis (LSI) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP), Centro de Componentes Semicondutores (CCS) da Universidade de Campinas (UNICAMP) e Centro de Pesquisas Renato Archer (CenPRA). Algumas instituições privadas como a Motorola Life Sciences, Aclara BioSciences, Advantix AG, Agilent Technologies, Biosite Inc., Caliper Technologies, Cepheid Technology, Fluidigm, Micronics, Nanolytics, Nanostream e Upchurch Scientific são exemplos de empresas neste ramo que possuem representação ou escritório no Brasil.

Após o sucesso dos CI's digitais na década de 80, com a extraordinária evolução da capacidade de integração, confiabilidade e desempenho, tudo isso associado à redução dos custos de fabricação, a década de 90 foi marcada pelo interesse nos microsistemas e nas micromáquinas. Já na década atual a preocupação com a interface entre os universos micro e nanométrico promete ser a tônica dos principais trabalhos dos mais avançados centros de pesquisas [8].

1.1.1 Microsistemas

Um conjunto de CI's miniaturizados com interface para o universo não eletrônico é um microsistema. Embora os microsistemas não sejam novos (microsensores de pressão foram fabricados antes da década de 60), hoje eles são referenciados de diversas formas, dentre elas, os chamados MEMS (MicroElectroMechanicalSystems) nos Estados Unidos, micromáquinas na Inglaterra e micromecatrônicos no Japão, além de outras designações mundo a fora.

Nos dias de hoje estamos cercados de microsistemas, desde os utensílios domésticos, computadores e até em nossos veículos. Os microsistemas, geralmente, são constituídos por transdutores de sinal, ou seja, sensores e/ou atuadores integrados ao circuito de controle e/ou processamento de sinal. O sensor é o dispositivo que converte um estímulo físico-químico em sinal elétrico, enquanto que o atuador efetua o trabalho inverso. O estímulo físico-químico pode ser: energia térmica, luminosa, sonora, pressão, pH, dentre outros. [9].

Para o desenvolvimento de microsistemas, necessita-se tanto de modernas técnicas de microfabricação como projetos avançados de CI's. A produção em escala destes microsistemas proporciona um baixo custo por dispositivo, se comparado com o custo dos dispositivos anteriores à miniaturização, justificando sua difusão tecnológica.

MEMS têm sido largamente explorados com funções magnéticas, térmicas, fluidicas, ópticas, dentre outras. A partir da década de 80 verificou-se

acentuado avanço no desenvolvimento de microsistemas, principalmente por conta do frenético desenvolvimento de CI's para computadores, cuja corrida por dispositivos mais velozes e eficientes promoveu, paralelamente, o avanço dos MEMS.

São muitas as aplicações dos microsistemas em nosso dia-a-dia. Pode-se destacar os acelerômetros para disparo dos sistemas de *air-bag* de veículos; sensores de pressão para a área médica; microválvulas para injeção controlada de medicamentos em pacientes e injeção de tintas para impressoras (cabeçote de impressoras); sensores potenciométricos, ISFET (*ion-sensitive field effect transistor*) e, mais recentemente os ISEs (Íon-Selective Electrodes) miniaturizados para medida de pH, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , O_2 , CO_2 , etc, em sangue; micromotores; microbombas, etc [10-15].

Algumas dificuldades são enfrentadas quando se dá início a projetos para trabalhar com miniaturização. A primeira diz respeito à seleção do processo de fabricação mais adequado, pois geralmente envolvem equipamentos caros, instalações tecnologicamente avançadas e ainda pouco acessíveis para a comunidade científica geral. Outros pontos que merecem planejamento e atenção são o acondicionamento do microsistema (encapsulação), estrutura para testes de caracterização e programas (softwares) para projeto (CAD). Em geral, a encapsulação requer processos que sejam robustos, zelando para a manutenção física do microdispositivo, e também versátil, possibilitando contato de interface satisfatório com os demais microsistemas ou mesosistemas. Aí materiais especiais e condições operacionais satisfatórias merecerão atenção. Os laboratórios para caracterização dimensional, mecânica e elétrica também constituem pontos de limitada acessibilidade, pois envolvem, geralmente, técnicas de custo e nível técnico-operacional elevado. Os programas para projeto e desenvolvimento de padrões para microsistemas ou microestruturas também apresentam custo elevado e requerem algum tempo de treinamento.

Mesmo com esses itens a serem superados, a viabilidade técnica dos microsistemas é evidente, o que se pode demonstrar com a análise da microfluídica e do escalamento [16].

1.1.2 Microfluídica e Escalamento

1.1.2.1 Microfluídica

Os fenômenos microfluídicos podem ser verificados numa grande variedade de sistemas naturais: capilares vegetais, vasos sanguíneos, pulmão, movimento de microorganismos, etc. Muito embora pareça algo comum, e sendo a dinâmica dos fluidos já bem estabelecida, quando remetemos ao universo microscópico, dos MEMS, por exemplo, se faz necessário uma revisão das bases científicas que explicam fenômenos como bombeamento, mistura, filtração, aquecimento, resfriamento ou extração.

A mecânica dos fluidos, estudo do comportamento dos fluidos quando submetidos à ação de uma força, acompanhada por parâmetros como velocidade, pressão e temperatura são necessários para um bom entendimento do fluxo dos fluidos nos sistemas micrométricos.

Nos movimentos dos fluidos, os vetores velocidade e aceleração são função do tempo e espaço. Normalmente, as equações que descrevem a dinâmica dos fluidos são analisadas separadamente para cada partícula do fluido, baseado na massa, momento e energia. Mas como há dependência em relação às partículas vizinhas, a combinação das equações torna o processo bastante complexo e, portanto, objeto de avançados programas de simulação.

Para uma percepção maior das vantagens dos microsistemas fluídicos, se faz necessário um entendimento, ainda que básico, dos modelos de mecânica de fluídos. Neste sentido, o fluxo de um volume controlado de fluido pode ser descrito por equações derivadas do princípio da conservação de massa, momento e energia, conforme esquematizado no exemplo da Figura 1.1, para um volume elementar representado por ∂X , ∂Y e ∂Z .

Figura 1.1. Relações básicas para movimentação de fluidos. Nas relações diferenciais ρ é a massa específica do fluido e V_x , V_y são as componentes de velocidade instantânea nas direções X e Y.

Uma das equações básicas é a que descreve o balanço de massa em um volume estacionário, conforme a Equação 1.1:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + (\nabla \cdot \rho V) = 0 \quad \text{Eq. 1.1}$$

Essa também é chamada de equação de continuidade, onde ρ é a massa específica do fluido, V é o vetor velocidade, t o tempo e ∇ é um gradiente. Por

definição um fluido é incompressível quando $\partial\rho/\partial t=0$. Daí a equação pode ser simplificada como na Equação 1.2:

$$(\nabla \cdot \rho V) = 0 \quad \text{Eq. 1.2}$$

Considerando as diferentes forças que atuam na mudança do momento de um fluido, como variação de pressão e gravidade, o segundo princípio de movimento de fluido pode ser expresso como na Equação 1.3:

$$\frac{\partial \rho V}{\partial t} = -\nabla p + \rho g \quad \text{Eq. 1.3}$$

Na equação 1.3, equação de *Euler* ou do momento, V é o vetor velocidade, p é a pressão e g é a aceleração da gravidade. Essa equação descreve bem o fluxo de fluidos não viscosos. Para fluidos muito viscosos (incompressíveis), a equação de *Navier-Stokes* é mais adequada [17]:

$$\frac{\partial \rho V}{\partial t} = -[\rho V \cdot \nabla V] + \mu \nabla^2 V - \nabla p + \rho g \quad \text{Eq. 1.4}$$

Essa equação diferencial não linear tem sua solução em condições particulares: incompressibilidade, fluxo irrotacional ou quando a aceleração tende a zero, particularmente adequado para descrever fluxo laminar em dutos retangulares. Uma solução mais exata pode ser obtida por meio da equação de *Hagen-Poiseuille*, adequada para fluxo em canais, conforme a Equação 1.5:

$$V(y) = \frac{1}{2\mu} (y^2 - h^2) \left(\frac{p_1 - p_2}{L_{eh}} \right) \quad \text{Eq. 1.5}$$

Onde h e L_{eh} representam respectivamente altura e comprimento do canal.

As equações aplicam-se muito bem para sistemas fluídicos de baixo número de *Reynolds* (Re), relação entre forças inercial e viscosidade, conforme a Equação 1.6.

$$Re = \frac{\bar{V} D_h}{\nu} \quad \text{Eq.1.6}$$

Onde $\bar{V}$ é a velocidade média, ν é a viscosidade cinemática e D_h é o diâmetro hidráulico, que pode ser expresso em termos de fator de fricção, e calculado conforme Equação 1.7:

$$D_h = \frac{4 \times A}{P} \quad \text{Eq. 1.7}$$

Sendo A o corte transversal da área e P o perímetro. Quando o número de *Reynolds* é baixo ($Re < 2300$), temos fluxo laminar e isso é obtido quando a velocidade é baixa, canais micrométricos e elevada viscosidade cinemática. O chamado fluxo turbulento ocorre quando o número de *Reynolds* é alto ($Re > 2300$), alta velocidade, canais largos e fluidos de baixa viscosidade cinemática. A típica faixa de transição entre o fluxo laminar e turbulento se dá entre 10^3 e 10^5 , e cabe ressaltar que a dissipação de energia e queda de pressão são muito melhores em fluxo turbulento que em fluxo laminar. O número de *Reynolds* é, portanto, um importante fator de distinção para os sistemas miniaturizados [18].

Outro parâmetro importante é o número de *Péclet* (Pe). Ele representa a razão entre o transporte de massa convectivo e difuso, conforme a Equação 1.8.

$$Pe = \frac{\overline{V}L_c}{D} \quad \text{Eq. 1.8}$$

Nessa equação, D é o coeficiente de difusão.

As relações, equações e definições apresentadas, em muitos casos, são aplicáveis a sistemas microfluídicos. No entanto, nem todas as definições aplicáveis a sistemas macroscópicos podem ser estendidas aos sistemas microscópicos.

Conforme a Equação 1.6, a redução das dimensões leva a um número de *Reynolds* cada vez menor. Em dimensões micrométricas, esta redução pode ser bastante significativa. Assim, a dinâmica do fluido no interior dos microcanais é dominada principalmente por forças de viscosidade do que por forças inerciais. Portanto, o fluxo laminar deverá prevalecer para os dispositivos microfluídicos, sendo pouco interessante o fluxo turbulento ou até mesmo a faixa de transição, tão importantes para os dispositivos fluidicos macrométricos.

Mesmo estando livres dos inconvenientes do fluxo turbulento, ainda assim outros aspectos comprometem o desempenho dos sistemas microfluídicos, dentre eles a maior probabilidade de entupimento e ocorrência de bolhas de ar, na introdução do fluido ou eletrólise do solvente (quando se utiliza um potencial elétrico) [9] [19].

Outra limitação fica por conta da má condição para misturas. Em sistemas micrométricos impera a difusão e não a convecção, como é o caso do sistema macrométrico.

Como a difusão resulta de um gradiente de concentração molecular em um sistema heterogêneo, esta pode ser descrita por meio da primeira lei de *Fick*, onde o fluxo é proporcional ao gradiente de concentração, conforme a Equação 1.9 [20].

$$J(x,t) = -D \frac{\partial c(x,t)}{\partial x} \quad \text{Eq. 1.9}$$

Onde $J(x,t)$ é o fluxo de espécies em x no tempo t e c é a concentração das espécies, lembrando ainda que o comprimento da difusão pode ser expresso como na Equação 1.10.

$$L_D = \sqrt{2Dt} \quad \text{Eq. 1.10}$$

A distância de mistura em função do comprimento de difusão e do tempo de mistura (t) em escala reduzida favorecem a difusão, compensando assim a falta de convecção. Como tecnologicamente é inviável a implementação de agitadores para dispositivos microfluídicos, a confecção de trajetórias caóticas pode ser uma alternativa interessante, como será apresentado em seções experimentais nos próximos capítulos [21-28].

Um efeito importante, que normalmente é negligenciado em macrosistemas, é o microrotacional, provocado por rotação das moléculas. Outro fenômeno relevante é o efeito de superfície, que inclui as variações de viscosidade, variações de velocidade, saltos de temperatura e efeito capilar.

Desta forma, reescrevendo as equações e ponderando esses fatores, verifica-se que ocorrerá, em microescala, uma redução da taxa de fluxo volumétrico quando comparado com as previsões em macroescala utilizando a teoria clássica de *Navier-Stokes* [29-30].

Cabe ressaltar que os modelos matemáticos em microfluídica devem ser revisados quando o fluxo no interior do microcanal estiver submetido a um campo elétrico ou magnético externo. Outra área que vem merecendo a atenção de pesquisadores diz respeito à dinâmica dos fluidos em microdispositivos de geometria complexa e fases heterogêneas [31-35].

1.1.2.2 Escalamento

As dimensões típicas dos dispositivos microfabricados variam numa amplitude típica da ordem de sub-micrometros (10^{-6} m) até a ordem de sub-milímetros (10^{-3} m). É clara e perfeitamente elucidada a integração entre os universos micro e macro, gerando dispositivos com importantes aplicações. Já a relação micro e nano ainda carece de avanços técnicos e científicos.

Como visto, os atuadores convertem energia de uma forma a outra. Quando se muda de um fator de escala para escalas reduzidas, o trabalho será realizado, com efeito, sobre a grandeza medida, conforme o referido fator (escalamento).

Para os microsistemas fluídicos, devem-se levar em consideração algumas forças que irão delinear o comportamento do fluido. Estas forças estão relacionadas na Tabela 1.1 [16] [36-37], onde L é uma dimensão específica, ρ é a massa específica do fluido, u é a velocidade média, μ é a viscosidade absoluta (dinâmica) do fluido, Δp é o gradiente de pressão, g é a aceleração da gravidade, γ é a tensão superficial e E_v é o módulo de compressibilidade.

Tabela 1.1 – Forças presentes nos fluidos em movimento.

Força	Unidade – Grandeza Fundamental	
Inércia	$\propto \rho \cdot u^2 \cdot L^2$	Eq 1.11
Viscosidade	$\propto \mu \cdot u \cdot L$	Eq 1.12
Pressão	$\propto (\Delta p) \cdot L^2$	Eq. 1.13
Gravidade	$\propto g \cdot \rho \cdot L^3$	Eq. 1.14
Tensão Superficial	$\propto \gamma \cdot L$	Eq. 1.15
Compressibilidade	$\propto E_v \cdot L^2$	Eq. 1.16

Em dimensões micrométricas, com L em torno de 50 μm , verifica-se comportamento de fluxo laminar e não turbulento, o que resulta em um fluxo bem comportando, influenciando menos em outros fenômenos, como o fluxo eletrosmótico (EOF) que se forma quando o fluido é submetido a um campo elétrico, como será explicado mais adiante, podendo conduzir a menos interferências quando comparado aos dispositivos macroscópicos.

A dedução acima é verificada quando a relação entre as forças de inércia e viscosidade (Eq. 1.11 e 1.12), demonstrada por número de *Reynolds* (Re), gera valores inferiores a 2300. Esta relação pode ser expressa como na equação 1.6 ou como na que segue, um pouco mais detalhada, de modo a conduzir a dedução exposta (1.17).

$$R_e = \frac{\rho \cdot u \cdot L}{\mu} \quad \text{Eq. 1.17}$$

Verifica-se que para as propriedades dos fluídos, demonstradas nas equações 1.11 a 1.16, há uma relação direta com sua dimensão L , e quando multiplicando forças, como a pressão, por um fator de escalamento menor que “1” verifica-se uma diminuição das intensidades das forças com o quadrado do fator de escalamento.

Assim, como exemplo de fatores multiplicativos para obtenção de força (F), aceleração (a), tempo de resposta (t) e potência gerada por unidade de volume (P/V), temos:

– Força Associada com Tensão Superficial

$$Fds = (\gamma)Ad$$

$$Fds = (\gamma)(2d)d$$

$$F = 2d(\gamma) \Rightarrow F \propto \gamma$$

$$\gamma \propto s \Rightarrow F \propto s$$

Dedução 1.1

– Força Eletrostática (Fator de Escala Multiplicativo do Campo Elétrico $s^{-0,5}$)

$$F = \frac{\mu_0(q_1 \times q_2)}{d^2}$$

$$q_1 = \rho \times V \Rightarrow q_1 \propto s^3$$

$$q_2 = cte.$$

$$F \propto \frac{q_1}{d^2}$$

$$F \propto \frac{s^3}{s^2} \Rightarrow F \propto s$$

Dedução 1.2

– Força Eletrostática Escalada com Campo Elétrico Mantido Constante

$$q = \sigma \times A \Rightarrow q \propto s^2$$

$$F = q \times E$$

$$E = cte. \Rightarrow F \propto s^2$$

Dedução 1.3

– Força Associada com Pressão

$$p = \frac{F}{A} \Rightarrow F = p \times A$$

$$p = cte \Rightarrow F \propto s^2$$

Dedução 1.4

– Força Biológica (Proporcional à Área da Seção Transversal de um Músculo)

$$F \propto A \Rightarrow F \propto s^2$$

Dedução 1.5

– Força Magnética (Fator de Escala da Densidade de Corrente = s^{-1})

$$J = \frac{i}{A} \Rightarrow i = A \times J$$

$$J \propto s^{-1}$$

$$i \propto s^2 \times s^{-1} \Rightarrow i \propto s$$

$$B \propto \frac{i}{s} \Rightarrow B = cte.$$

$$F_B = i \times l \times B$$

$$F_B \propto s \times s \Rightarrow F \propto s^2$$

Dedução 1.6

– Força Magnética (Fator de Escala da Densidade de Corrente = $s^{-0,5}$)

$$J = \frac{i}{A} \Rightarrow i = A \times J$$

$$J \propto s^{-0,5}$$

$$i \propto s^2 \times s^{-0,5} \Rightarrow i \propto s^{1,5}$$

$$B \propto \frac{i}{s} \Rightarrow B \propto s^{0,5}$$

$$F_B = i \times l \times B$$

$$F_B \propto s^{1,5} \times s \times s^{0,5} \Rightarrow F \propto s^3$$

Dedução 1.7

– Força Magnética Escalada com Densidade de Corrente Mantida Constante

$$J = \frac{i}{A} \Rightarrow i = A \times J$$

$$J = cte. \Rightarrow i \propto s^2$$

$$B \propto \frac{i}{s} \Rightarrow B \propto s$$

Dedução 1.8

$$F_B = i \times l \times B$$

$$F_B \propto s^2 \times s \times s \Rightarrow F \propto s^4$$

– Aceleração

$$F = m \times a \Rightarrow a = \frac{F}{m}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow m = \rho \times V$$

$$\rho = cte., V \propto s^3 \Rightarrow m \propto s^3$$

$$a \propto \frac{F}{s^3} \Rightarrow a \propto F \times s^{-3}$$

Dedução 1.9

$$F \propto s^4 \Rightarrow a \propto s^{-2}$$

$$F \propto s^2 \Rightarrow a \propto s^{-1}$$

$$F \propto s^3 \Rightarrow a \propto s^0$$

$$F \propto s^4 \Rightarrow a \propto s^1$$

– Tempo

$$s = 0,5 \times a \times t^2 \Rightarrow t = \left(2 \frac{s}{a} \right)^{0,5}$$

$$t \propto \left(\frac{s}{a} \right)^{0,5}$$

$$t \propto \left[\frac{s}{(F \times s^{-3})} \right]^{0,5} \Rightarrow t \propto F^{-0,5} \times s^2$$

$$F \propto s^1 \Rightarrow t \propto s^{1,5}$$

$$F \propto s^2 \Rightarrow t \propto s^1$$

$$F \propto s^3 \Rightarrow t \propto s^{0,5}$$

$$F \propto s^4 \Rightarrow t \propto s^0$$

Dedução 1.10

– Potência por Unidade de Volume

$$W = F \times s$$

$$P = \frac{W}{t} \Rightarrow P = \frac{F \times s}{t}$$

$$\left(\frac{P}{V} \right) = \frac{F \times s}{(V \times t)} \Rightarrow \left(\frac{P}{V} \right) = \frac{F \times s}{(s^3 \times t)}$$

$$\left(\frac{P}{V} \right) \propto \frac{F \times s}{(s^3 \times F^{-0,5} \times s^2)} \Rightarrow \left(\frac{P}{V} \right) \propto F^{1,5} \times s^{-4}$$

$$F \propto s^1 \Rightarrow \left(\frac{P}{V} \right) \propto s^{-2,5}$$

$$F \propto s^2 \Rightarrow \left(\frac{P}{V} \right) \propto s^{-1}$$

$$F \propto s^3 \Rightarrow \left(\frac{P}{V} \right) \propto s^{0,5}$$

$$F \propto s^4 \Rightarrow \left(\frac{P}{V} \right) \propto s^2$$

Dedução 1.11

Em geral, a miniaturização leva à obtenção de dispositivos mais rápidos (Deduções 1.01 a 1.11). A exceção é quando se trata de força magnética com densidade de corrente constante. Neste caso, o tempo de resposta não sofre alteração com a miniaturização.

$$J = \frac{i}{A} \Rightarrow i = A \times J$$

$$J = cte. \Rightarrow i \propto s^2$$

$$B \propto \frac{i}{s} \Rightarrow B \propto s$$

Dedução 1.12

$$F_B = i \times l \times B$$

$$F_B \propto s^2 \times s \times s \Rightarrow F \propto s^4$$

$$F = m \times a \Rightarrow a = \frac{F}{m}$$

$$\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow m = \rho \times V$$

Dedução 1.13

$$\rho = cte.. V \propto s^3 \Rightarrow m \propto s^3$$

$$a \propto \frac{F}{s^3} \Rightarrow a \propto F \times s^{-3}$$

$$s = 0,5 \times a \times t^2 \Rightarrow t = \left(2 \times \frac{s}{a} \right)^{0,5}$$

$$t \propto \left(\frac{s}{a} \right)^{0,5}$$

Dedução 1.14

$$t \propto \left[\frac{s}{(F \times s^{-3})} \right]^{0,5} \Rightarrow t \propto F^{-0,5} \times s^2$$

$$t \propto (s^4)^{0,5} \times s^2 \Rightarrow t \propto s^0$$

Um fato que influencia bastante é a diminuição do volume por unidade de área. Essa diminuição torna o atrito cada vez mais significativo.

A Tabela 1.2 mostra, resumidamente, os resultados obtidos com o escalamento da força (F), aceleração (a), tempo de resposta (t) e potência gerada por unidade de volume (P/V).

Pode-se concluir, avaliando as Deduções 1.1 a 1.14, que a redução da força após a miniaturização é significativa (fator de escala multiplicativo para força apresenta expoente n variando entre 1 e 4). Quando n apresentar-se entre 1 e 2 os resultados são mais interessantes pois, além da menor diminuição, a aceleração e a potência gerada por unidade de volume aumentam com a miniaturização, além do tempo de resposta menor em relação a n igual a 3 ou 4. Assim, os sistemas obtidos são mais eficientes, destacando-se as forças eletrostáticas e pressão.

Tabela 1.2 – Fatores multiplicativos para obtenção de força, aceleração, tempo de resposta e potência gerada por unidade de volume, após escoamento, para diferentes tipos de forças.

Tipos de Forças	Fatores de Escala Multiplicativos			
	F	a	t	P/V
Força associada com tensão superficial	s^1	s^{-2}	$s^{1,5}$	$s^{-2,5}$
Força eletrostática ($s^{-0,5}$)				
Força eletrostática (campo elétrico cte.)				
Força – Pressão	s^2	s^{-1}	s^1	s^{-1}
Força Biológica				
Força Magnética (s^{-1})				
Força Magnética ($s^{-0,5}$)	s^3	s^0	$s^{0,5}$	$s^{0,5}$
Força Magnética (densidade corrente cte.)	s^4	s^1	s^0	s^2

A Tabela 1.3 possibilita um quadro comparativo da relação entre volume e tempo de difusão em função da miniaturização. Como se pode verificar, a redução leva a tempos de difusão cada vez menores e, por conseguinte, a maior rapidez no tempo de resposta dos dispositivos miniaturizados [38].

Tabela 1.3 – Relação entre redução dimensional e tempo de difusão.

Característica/Dimensão	1 mm	100 μm	10 μm
Volume	10^{-6} L	10^{-9} L	10^{-12} L
Tempo de Difusão	15 min	10 s	100 ms

1.1.3 Miniaturização em Química Analítica e Eletroforese

Análises e sínteses químicas em *microchips* prometem uma variedade de benefícios potenciais. Basta imaginar a possibilidade de incluir um laboratório químico convencional sobre uma única lâmina de vidro ou silício (microchip). Parece impossível, mas a miniaturização, hoje, que engloba a utilização de materiais, substâncias químicas e processos físicos e de microfabricação integrados visando uma aplicação específica, tornou-se uma realidade.

O desenvolvimento de dispositivos em microescala possibilita a análise de quantidades diminutas de amostra e reativos, automatização, reduzidos volumes de descartes, sensibilidade e precisão aumentadas, além de vantagens como portabilidade e facilidade de descarte de resíduos. Do ponto de vista da química analítica, isto é muito interessante e vem atraindo os esforços de muitos pesquisadores. Esta tendência está apontando como uma verdadeira revolução na química analítica, da mesma forma que os *microchips* revolucionaram os universos dos computadores e da eletrônica.

Para se ter idéia, os dois principais interessados -- a Hewlett Packard e a Caliper Technologies -- investiram juntas em 1999 cerca de 20 milhões de dólares em miniaturização em química analítica. Hoje, além destes, instituições como

Sandia National Laboratories e o Massachusetts Institute of Technology (MIT) investem em novas tecnologias e conhecimento de ponta na área de microfabricação.

O poder real da microfabricação é a habilidade de produzir números vastos de sistemas de análise química em um único substrato de forma que você tenha ganhos em processamento. Este desempenho alto vem sendo particularmente valioso para diagnósticos baseados em seqüenciamento de DNA e proteínas (Genoma e Proteoma), aplicações farmacêuticas e análises clínicas.

Diversos trabalhos vêm demonstrando também que os sistemas em microescala oferecem grande potencial para integrar a química com mecânica, eletrônica, óptica, e capacidade, cada vez maior, de integrar vários sistemas analíticos em áreas muito pequenas. Analisadores de bolso e portáteis já podem executar operações múltiplas em paralelo e também em aplicações não-laboratoriais como os ensaios de campo, linhas de fábricas, hospitais, clínicas ou mesmo em casa.

O termo “*lab-on-a-chip*” – laboratório em um *chip* – traz a idéia de avançar encolhendo tudo até um pequeno intervalo de escala micrométrica, mas isto é só parte da verdade. A vantagem principal da miniaturização é o aumento acentuado do desempenho dos sistemas analíticos, não importando o tamanho resultante da instrumentação, mas sim os ganhos com sensibilidade, repetibilidade e reprodutibilidade, e também o manuseio de substâncias e simplificações na marcha analítica, resultando em ganhos de tempo e redução do custo analítico final. Portanto, a miniaturização vem de encontro à moderna visão de laboratório como uma “unidade de negócio” [39].

A miniaturização em Química Analítica não é recente. Destaca-se o trabalho pioneiro de Angel e colaboradores que, em 1975, desenvolveram um microcromatógrafo gasoso (GC) em *chip* de silício. Este microdispositivo integrava uma válvula de injeção e uma coluna de separação em um único chip, conduzindo a separação de misturas simples em poucos segundos. Os resultados verificados por eles abriram caminho para centenas de outros

trabalhos, visto que a miniaturização demonstrou resultados mais rápidos que os convencionais macroscópicos, resolução melhor e custo reduzido [40-41].

Os microsistemas na química têm sua importância destacada nos processos de miniaturização de técnicas analíticas e construção de biosensores e biochips. Dentre as principais técnicas miniaturizadas destacam-se a cromatografia gasosa, líquida e a eletroforese capilar. Já o biochip e o chip químico abrem horizontes ao avanço da química combinatorial, onde se objetiva sintetizar vários compostos simultaneamente. Um chip químico comum tem uma área de aproximadamente $4\text{-}6\text{ cm}^2$, subdividido em diferentes regiões (sítios) de uma lâmina sólida de silício, constituindo uma rede de compostos químicos, ou seja, uma biblioteca com milhares de compostos. O biochip é utilizado principalmente no estudo de peptídeos, oligonucleotídeos e pequenas moléculas orgânicas. Há também o chip de material, onde se estudam novos materiais e novas propriedades [42]. Hoje são confeccionados chips para aproximadamente cem mil compostos [43]. Os ganhos trazidos vão desde a diminuição do tempo de reação (até vinte e cinco vezes) à facilidade do sistema de detecção (microscopia confocal e eletroquímica) [44].

Especificamente em Química Analítica, os processos de microfabricação, bem como os primeiros microcanais para técnicas de separação, somente vieram à tona com os trabalhos de doutorado e pós-doutorado de Andréas Manz, hoje professor do *Imperial College* de Londres, e seus colaboradores, no final da década de 80, sob orientação do professor Widmer.

Os artigos publicados no início da década de noventa (1990) por Manz, Widmer e colaboradores representaram um marco para a microfabricação em Química Analítica [45]. Eles propuseram um novo conceito de Sistemas Miniaturizados de Análise Total (μ TAS - Miniaturized Total Analysis Systems), envolvendo as etapas de amostragem, pré-tratamento de amostras, separação e detecção de modo integrado em um único microchip. Esta abordagem mostra-se mais ponderada, uma vez que apresenta foco na integração de sistemas, ao contrário dos que preferem o conceito de lab-on-a-chip, onde a redução e compactação do sistema parecem ser a tônica dessa abordagem.

Em eletroforese, técnica que se baseia na migração diferenciada de compostos iônicos ou ionizáveis em um campo elétrico [46] [47], os principais ganhos são relativos ao tempo de separação e à resolução [46], além das demais vantagens advindas do processo de miniaturização e integração tais como injeção, armazenamento, transporte, reação, purificação e caracterização.

Em eletroforese capilar (CE), principal técnica que será objeto dos trabalhos de miniaturização, a instrumentação básica envolve o uso de capilares, geralmente de sílica fundida (tipicamente de 50-100 μm de diâmetro interno), que são preenchidos por uma solução de um eletrólito apropriado (solução tampão), e uma fonte de alta voltagem conectada a dois eletrodos (normalmente de platina) em contato com o eletrólito num reservatório. A fonte gera um campo elétrico na faixa de 100 - 1000 V/cm. Algumas vantagens podem ser verificadas da CE em relação aos diversos modos de eletroforese: por utilizar um capilar de dimensões tão reduzidas, a dissipação de energia (calor) no tubo capilar gera gradientes de temperatura pequenos, além da melhor dissipação, possibilitando aplicação de potenciais maiores que reduzem o tempo de análises, e também por conta da detecção diretamente na coluna (*on-column detection*). O esquema básico de um equipamento de eletroforese capilar é apresentado na Figura 1.2. [48-50].

Figura 1.2. Esquema do instrumental básico de eletroforese, onde D é o detector.

Os microdispositivos para CE utilizam uma instrumentação muito simples: envolve um sistema responsável pelo bombeamento dos fluidos pelos canais e um detector estrategicamente posicionado, normalmente ao final do canal de separação. Quanto à mobilização de fluidos e controle seletivo do fluxo, diversas estratégias podem ser empregadas, como por exemplo, a introdução de válvulas integradas, ou simplesmente utilizar uma bomba pneumática posicionada externamente para a mobilização dos fluidos.

O modo de bombeamento mais comum utiliza o fluxo eletroosmótico (EOF) gerado com o potencial elétrico aplicado. Com o auxílio da fonte de alta tensão, aplica-se o potencial por canais onde se deve promover a mobilização do fluido.

Quando o potencial é aplicado, ocorre o processo de migração. O campo elétrico impõe uma força às espécies iônicas ou ionizáveis, de modo que adquirem uma mobilidade maior em relação às outras espécies da amostra no interior do capilar. Também, quando a superfície do capilar é carregada, o fluxo da amostra é induzido por eletroosmose. As espécies movem-se, como resultado destas forças, e são transportadas até passarem por um detector normalmente de absorbância ou fluorescência, cuja presença será convertida em sinal elétrico e devidamente expressa, qualitativamente e quantitativamente com o auxílio de um computador e programas adequados.

A versatilidade da eletroforese é o fator que a destaca frente a outras técnicas instrumentais. Basta ver que permite uma grande diversidade de incrementos instrumentais. Por exemplo, pode-se utilizar detecção fotométrica (absorção UV-vis, fluorescência, quimiluminescência, índice de refração, lentes térmicas) ou eletroquímica (amperométrica, condutométrica, potenciométrica, voltamétrica), além de diversos modos de acoplamento, como por exemplo ICP, RMN e MS. [51-57].

Os métodos eletroforéticos vêm ganhando popularidade no Brasil, nos últimos anos. Já consagrada nos países de primeiro mundo (Europa e USA), a eletroforese vem se destacando, não apenas por intensa utilização em grupos de pesquisa, mas principalmente pela penetração que vem alcançando em

laboratórios industriais de desenvolvimento e até de acompanhamento e certificação de produtos, notadamente nas indústrias farmacêuticas.

Tal notoriedade se deve à grande eficiência, resolução de picos e dinâmica de aplicações e amplitude de substâncias (massas moleculares) que podem ser analisadas.

A implementação da técnica em sistemas miniaturizados (μ CE) também é satisfatória, pois faz uso de uma instrumentação relativamente simples. Apenas um canal de separação, um canal transversal de injeção, fonte de alta tensão para aplicação do campo elétrico, conectada a dois eletrodos imersos em um tampão apropriado e um sistema de detecção posicionado próximo ao final do canal de separação. Com o potencial sendo aplicado por meio de eletrodos imersos nos reservatórios de amostra, ocorrerá a formação, no ponto de cruzamento entre os canais de separação e injeção, de um *plug* de amostra. Retirando-se os eletrodos dos reservatórios de injeção e posicionando os mesmos nos reservatórios do canal de separação, o campo elétrico provocará o deslocamento do *plug* e separação dos analitos que serão detectados em função da velocidade de migração no canal.

Microchip para eletroforese possibilita um campo para diversos estudos, principalmente no tocante aos sistemas de detecção, onde prevalecem os sistemas ópticos por absorção ou emissão de luz. Muitos pesquisadores vêm trabalhando na otimização destes sistemas, principalmente os quimiluminescentes [58]. Microchips de quartzo no formato tradicional com dois canais principais e quatro reservatórios, no formato de cruz conforme Figura 1.3, são freqüentemente utilizados. Em geral, o limite de detecção típico desta técnica está em torno de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

Eletroforese capilar, em seus diferentes modos de operação, demonstra ser uma técnica de separação satisfatória a ser integrada em um microchip. O uso de técnicas de microfabricação permite formar geometrias capilares das mais diversas e provê boa sensibilidade e grande eficiência de separação quando se trata de detecção óptica como fluorescência induzida por laser. Alguns grupos de pesquisa e companhias focalizam seus esforços no sentido do

desenvolvimento e melhoria dos processos de fabricação. Embora nos últimos cinco anos um número expressivo de publicações ter sido apresentado nesta área, vários dispositivos ainda estão em fase de aperfeiçoamento. As principais promessas para o processo rápido e eficiente de miniaturização têm como aplicação fundamental os ensaios biológicos e clínicos [30] [59].

Figura 1.3. Padrão em cruz simples normalmente utilizado para micro eletroforese.

Os últimos anos presenciaram uma intensa utilização de diferentes técnicas de microfabricação para eletroforese. Há uma tendência estabelecida para miniaturização e integração de separação preparativa com passos analíticos. Métodos de separação inovadores baseados em tecnologia de microfabricação incluem eletroforese em peneiras moleculares pré-projetadas, mantas de silicone, cerâmicos e muitos outros materiais [30].

Estudos recentes não se limitam à eletroforese de forma particular, mas procuram explorar os diversos aspectos da automação analítica. Neste sentido vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos, como por exemplo, um μ FIA (micro análise por injeção em fluxo), destacando os trabalhos de Karlberg e colaboradores e também de *Doku* e colaboradores [42] [60] [61]: o primeiro pelo processo de microfabricação com dispositivos construídos em alumina e o segundo que fez uso das técnicas de fotolitografia e técnicas de solda úmida para fabricar um sistema micro-FIA em substrato de vidro borossilicato para a determinação espectrofotométrica de ortofosfato baseado na reação com o azul

de molibdênio e empregando fluxo eletrosmótico para a mobilização de reativos e injeção de amostra.

A comparação formal entre a eletroforese capilar convencional com eletroforese de pequeno capilar e eletroforese em chip de vidro microfabricado para a análise de imunoglobulina G derivatizada foi realizada. Um dispositivo de microchip de vidro foi fabricado por fotolitografia comum e os resultados obtidos demonstraram um grande ganho no tempo de separação [58] [62].

Cabe destacar o trabalho de *Rodriguez* e colaboradores [63] que demonstraram claramente as vantagens da miniaturização em eletroforese. Comparando um microchip de vidro de 4,5 cm com a eletroforese convencional com capilar de sílica de 47 cm obteve-se o seguinte resultado: o microchip apresentou em torno de 50 000 pratos teóricos contra apenas 28 000 no modo convencional; o tempo de migração em microchip foi de 11 segundos enquanto que o modo convencional apresentou um tempo de migração de 152 segundos. Como se verifica nos resultados apresentados acima, a vantagem do sistema miniaturizado em relação ao modo convencional é evidente. Um quadro comparativo entre a técnica convencional (CE) e a miniaturizada pode ser observado na Tabela 1.4.

Tabela 1.4 Quadro comparativo dos parâmetros gerais entre eletroforese capilar e eletroforese em microchip.

Parâmetro	CE	μchip
Comprimento	30-50 cm	5 cm
Diâmetro/Altura	50-100 μm	10-20 μm
Volume Injetado	nL	pL
Tempo de corrida	min	s

Segundo *Johnson* e colaboradores [64], o desenvolvimento e uso de sistemas de ensaio miniaturizados para análises clínicas têm muitas vantagens potenciais que incluem tamanho pequeno, facilidade de automatização e diminuição dos volumes de reativos e amostras. Porém, precisão e o custo de

métodos de desenvolvimento permanecem como problemas para a maioria de sistemas clínicos. Vários fabricantes estão avaliando a possibilidade, atualmente, para a miniaturização da eletroforese como analisadores clínicos. Já existem alguns equipamentos comerciais, mas o custo ainda está muito elevado devido ao investimento inicial e à falta de concorrência no setor [59] [65].

Dispositivos microfabricados para diagnósticos genéticos, segundo *Mastrangelo* [66], era o que faltava para consagrar e direcionar os esforços rumo a microfabricação. Ele acredita que diagnósticos genéticos sejam poderosos norteadores de tecnologia.

Os investimentos nas áreas biomédicas e farmacêuticas ficam evidentes quando verificamos aplicações voltadas ao seqüenciamento de DNA, onde já se desenvolveu até um sistema miniaturizado para trabalhos com gel [67-68].

Outra modalidade aplicada satisfatoriamente em microchip foi a cromatografia micelar eletrocínética, como evidencia o trabalho de *Kutter, Jacobson* e colaboradores [62-63] [69]. O dispositivo microfabricado permite ajustes de modificador orgânico de forma eficiente em modo isocrático, onde o gradiente é perfeitamente ajustado, resultando em eficiência da ordem de 100 000 pratos, representando mais uma evidência dos ganhos com a miniaturização.

Microcanais e microcélulas para amostras gasosas foram desenvolvidas por *Karanassios e Sharples* para sistemas de análise química de microamostras como, por exemplo, para monitoramento ambiental onde aplicações existem em abundância [70].

Dispositivo em microchip para ensaios de enzimas vem recebendo grande interesse no meio científico [71]. Outra área digna de se explorar é a fabricação de microcanais para o estudo de microfluídica cujas leis regentes ainda não estão suficientemente demonstradas. *Jacobson* e seus colaboradores vêm dedicando trabalhos neste sentido [72]. Também *Harrison* e colaboradores [73] [74], e ainda *Ramsey*, vêm atuando para elucidar os mecanismos de controle de fluxo de fluido eletrocineticamente no interior dos microcanais [58] [75].

Micro-seqüenciadores de proteína para eletroforese com detector por absorvância termo-óptica, também vêm demonstrando ser de grande interesse, pois existem diversos trabalhos publicados. Este interesse justifica-se por representar uma importante inovação nesta área de microanalísadores, tendo como exemplo o trabalho de *Waldron* e colaboradores [76]. A fabricação de dispositivos geradores de Eletrospray (ESI) em microchip por bombeamento eletrosmótico foi a grande contribuição de *Ramsey* e *Ramsey* em 1997 e muitos outros trabalhos seguiram [77].

Ocvirk e colaboradores [78-79] demonstraram, através de considerações teóricas, que é possível realizar experimentos rápidos de cromatografia líquida de alto desempenho com boa eficiência e baixo consumo de fase móvel. Também *Glennon* e colaboradores aplicaram a técnica a área biomédica de diagnósticos.

Uma demonstração da busca por aperfeiçoamento constante é o trabalho de *Jacobson* e seus colaboradores. Um exemplo, dentre muitos publicados, é o artigo onde demonstram o uso de microchip de sílica fundida para executar eletroforese de íons de metais complexados com ácido 8-hidroxi-quinoleína-5-sulfônico. Os múltiplos canais no substrato de quartzo foram fabricados usando fotolitografia comum e para aumentar a resolução para a separação, o fluxo eletrosmótico é minimizado com uso de poliacrilamida [80].

A questão do pré-tratamento de amostras também já foi investigada por *Raymond* e colaboradores. Um conceito moderno para pré-tratamento de amostra contínuo foi demonstrado. A estrutura foi construída em silicone e acoplada ao microcanal para eletroforese [81].

Verifica-se que, em diversas aplicações, a utilização de microestruturas no manuseio ou na análise de fluídos pode ser uma alternativa bastante atrativa, principalmente para a área biomédica, onde a eletroforese exerce um papel fundamental [82-84].

Portanto hoje, microsistemas ou microreatores são usuais no manuseio de submicrolitro de substâncias, tendo sido amplamente divulgados, em diversas

técnicas, métodos e modos de operação: injetores, canais, bombas, misturadores, eletrodos, filtros, trocadores de calor e válvulas. [85-87]

Equipamentos e dispositivos portáteis de técnicas miniaturizadas são comercializados comumente, por uma gama de fabricantes. Logo responderão por uma fatia significativa do mercado de análises instrumentais. Como exemplo do desenvolvimento de equipamentos portáteis, pode-se destacar os trabalhos de Baldwin e colaboradores, que produziram um equipamento de eletroforese com detecção eletroquímica e fonte de alta tensão integrados e miniaturizados [88]. Fruetel e colaboradores também contribuíram para produção de equipamentos portáteis para separação de proteínas [89]. Mas são ainda mais significativas as contribuições do NIST (National Institute of standards and Technology) e do Sandia National Laboratories, instituição ligada ao departamento de energia dos Estados Unidos, que tem produzido uma gama dos assim chamados μ ChemLab, equipamentos miniaturizados, dedicados a demonstrar viáveis conversões de μ TAS em Lab-on-a-chip, com muitas técnicas e diversas aplicações demonstradas (GC, HPLC, CE, etc.), em especial para análises instantâneas de biotoxinas e traços de explosivos [90].

1.2 Estado da Arte

A próxima revolução tecnológica pode ser definida como sendo a miniaturização das técnicas analíticas instrumentais provenientes do mencionado “casamento” da microeletrônica e a biologia molecular. Diversos pesquisadores vêm conduzindo seus trabalhos com rumo voltado ao desenvolvimento e otimização de protótipos de “microlaboratórios bioquímicos”. Tal miniaturização é alcançada explorando as ferramentas da microeletrônica que conduzem a ensaios altamente automatizados, processamento eficiente, aquisição de dados integrada e distribuição confiável dos dados [30] [91] [92] [87] [85].

Do ponto de vista comercial a área de microdispositivos ainda está em estágio inicial em muitos países, notadamente os de terceiro mundo, inclui-se o Brasil neste contexto. A área médica e de análises clínicas destacam-se por uso em grande extensão de microdispositivos, dada a natureza e necessidade de métodos cada vez menos traumáticos de aplicações. Promissores também são as áreas de monitoramento ambiental, biologia, química experimental e química verde como promotores de sucesso para os sistemas microfluídicos. Investir em microsistemas tem se mostrado um negócio extremamente vantajoso, diante da vastidão de dispositivos miniaturizados que vêm, dia após dia, se tornando bens cada vez mais essenciais para a vida das pessoas. Hoje é possível, fazendo uso de μ TAS e com apenas uma gota de sangue, realizar uma extensa lista de ensaios (triglicérides, ácido úrico, glicose, ácido ascórbico, colesterol, etc) [93].

Microdispositivos que utilizam sistema de detecção a laser são utilizados para verificar anomalias sanguíneas, muitos dos quais já são patenteados, e possibilitam análise em tempo real. Trata-se de um diodo de laser semiconductor que permite diagnosticar de forma eficiente desde uma simples anemia até o vírus da AIDS, além de possibilitar a distinção entre células cancerosas de não-cancerosas.

O acompanhamento do desenvolvimento e tratamento do câncer parece ser a grande vantagem, pois possibilita um diagnóstico imediato. Outro exemplo é o diagnóstico de contaminações biológicas e explosivos nos casos de terrorismo, o que levaria a salvar muitas vidas quando da urgência do diagnóstico.

A adoção difundida destes dispositivos terminaria com as demoras no atendimento a pacientes, no tocante aos resultados de exames de sangue. Assim é possível se obter, de uma amostra de sangue, muitas informações em alguns minutos. Os resultados são confiáveis, sendo possível, distinguir perfeitamente uma célula cancerosa no sangue (esta absorve em comprimento de onda perfeitamente seletivo).

O dispositivo combina um semiconductor e um filme fino de material biológico para funcionar como um tipo de *lab-on-a-chip*, englobando a

amostragem e análise de fluído sanguíneo em um único microlaboratório e fornecendo resultados naquele mesmo momento e *in loco*.

O custo estimado do sistema (lab-on-a-chip), incluindo o *laptop*, gira entre cinco e quinze mil dólares, contrastando com os setenta mil dólares de um equipamento convencional.

Estes analisadores têm como principal universo de aplicação os laboratórios de análise clínica, pois contribuem para o baixo custo dos ensaios; também em análise ambiental, pois favorece os trabalhos de campo. Campos novos de aplicação vêm surgindo a cada dia como, por exemplo, na análise de explosivos, onde a quantidade de amostra é um fator crítico do processo analítico, a separação e detecção destas substâncias em microchip são viáveis [94].

A principal evidência do grande benefício da microeletroforese é demonstrada com o projeto Genoma Humano que teve início em 1990 e com o final previsto para 2005. Com o avanço dos sistemas de miniaturização, o mapeamento foi completado, em 2003, e com um custo inferior ao esperado [95] [96].

A contribuição para a área de medicina e diagnósticos médicos é evidente: análises de DNA, RNA e proteínas são importantes clientes para a microeletroforese [97-100] além das possibilidades de estudos *in vivo* [101].

Também para análises ambientais têm sido propostos dispositivos, como microDBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e um microdispositivo para monitoramento de fósforo em água [102-104]. A contribuição não se limita ao planeta Terra: diversas futuras expedições interplanetárias prevêm o uso de microanalisadores, como por exemplo, as expedições para Marte e para as luas de Júpiter [105].

Microtecnologia aplicada a Engenharia Química contribui para produção de compostos de alta qualidade e desenvolvimento de novos métodos farmacêuticos e da indústria da Química Fina, por conta dos avanços da Química Combinatorial, com os chips químicos. Também há contribuições provenientes do desenvolvimento de microreatores [106-107].

A Tabela 1.5 apresenta um quadro resumido das principais aplicações dos dispositivos miniaturizados em diversas áreas da ciência.

Para uma melhor idéia do crescimento registrado nesta área, o número de patentes registradas no ano de 1997 chegou a aproximadamente 100, somente nos Estados Unidos. No restante do mundo o número de patentes neste mesmo ano aproximou-se de 500 [149]. Desde os trabalhos dos pioneiros Manz e Harrison [150-151] no início da década de 90, vem se verificando um grande desenvolvimento dos microanalisadores. Investir nesta área pode garantir o acompanhamento tecnológico e a diminuição do retardo de quase duas décadas de conhecimento científico que o Brasil apresenta.

Verifica-se a necessidade e urgência em desbravar esta área do conhecimento científico e tecnológico que aponta como um grandioso nicho de pesquisas, alvo de investimentos maciços por parte de países desenvolvidos.

Temos observado recentemente, colegas que iniciaram estudos nessa área, sendo que alguns estão interessados nos processos de microfabricação, enquanto outros, nas possíveis aplicações. Dentro deste contexto, foi notado que, por vezes, têm faltado esforços no sentido da miniaturização e integração do sistema analítico como um todo. Assim, seguindo a vocação do Laboratório de Instrumentação Analítica do IQ-USP, verificou-se a possibilidade de contribuir com propostas originais e em nível de doutorado para a área.

Tabela 1.5 – Quadro resumido de aplicações de dispositivos miniaturizados com aplicações em diversas áreas da ciência humana.

Área	Aplicações
Genoma e proteoma	Seqüenciamento de DNA e análises genéticas [108-113].
Análises Clínicas	Diagnósticos em imunologia, ação enzimática e soro sanguíneo [114-120].
Dispositivos Biomédicos	Monitoramento de substâncias <i>In vivo</i> e dosadores de drogas [121-123].
Paralelização (<i>High-throughput screening</i>)	Química Combinatorial [124-125].
Amplificação de Ácidos Nucléicos	PCR [126-128].
Interfaces analíticas	Injetores MS [129-132].
Preparação de Amostras	Concentração de amostras, microdiálises e extração [133-139].
Deteção de pequenas quantidades de analitos	Deteção de moléculas [140-142]
Microssínteses	Síntese Orgânica [143-146]
Operações Unitárias	Válvulas, bombas, trocadores de calor e filtros [147] [85] [148] [38]

Ao realizar um levantamento no *Web of Science*®, verificam-se dados que demonstram o crescimento da área de microsistemas para química. Em recente busca pela palavra “microchip”, encontrou-se um total de 2621 trabalhos, também com as palavras “microfluidics and analysis” verificou-se 937 publicações, e com a palavra “microfluidics” verificou-se 1006 publicações. O gráfico apresentado na Figura 1.4 demonstra este avanço.

Uma análise mais detalhada do levantamento revela que em 1990 apenas 10% das publicações com a palavra microchip tinham relação direta com a área de análises químicas, já no ano 2000 este número saltou para 33% e no ano de 2005, verificou-se que 43% das publicações que utilizaram esta palavra estavam diretamente relacionadas com a área de análises químicas. Desta forma fica evidente o quanto tem sido expressiva a contribuição da área de microfabricação para a Química Analítica. Sem contar que, somente a partir de 1993, passou-se a verificar publicações com a palavra “microfluidic” (microfluídica), e o gráfico da Figura 1.4 também demonstra o avanço do interesse da comunidade científica no assunto, comprovando que a miniaturização vem extrapolando os limites da Química Analítica englobando diversas áreas das ciências [152-153].

Figura 1.4. Gráfico do levantamento bibliográfico de 1990 até 2005.

Em 2002, foram publicados pelo *Analytical Chemistry* dois importantes artigos de revisão [154-155] que se complementam, sendo o primeiro com ênfase em tecnologias de microfabricação e o segundo voltado para aplicações. São os primeiros que abordam a questão de forma ampla, muito embora outros

mais específicos já tivessem sido publicados [156-163]. Isto demonstra a maturidade desta área, que deixou de ser uma novidade longe da realidade laboratorial e limitada para poucos, ocupando hoje, um lugar de destaque no meio científico.

1.3 Microfabricação em Óptica Analítica

A técnica utilizada para definir padrões em um material é chamada litografia. A litografia utilizada em microfabricação consiste em cobrir com um fino filme polimérico e fotossensível, o substrato (silício em geral) que suportara o dispositivo (microcanal, por exemplo), e em seguida promove-se a fotodegradação ou fotopolimerização, gerando aberturas, do filme nas regiões onde é interesse alterar ou remover o substrato [164].

Estruturas complexas podem ser implementadas não apenas em silício, mas também em diversos outros tipos de materiais.

Dentre os diversos métodos litográficos destacam-se o *silk-screen* (consiste em forçar um material pastoso a atravessar regiões definidas em uma tela e ser depositado sobre a superfície do substrato), a impressão (consiste em depositar um filme polimérico e imprimir o padrão em relevo previamente formado em um molde - utilizado na produção de CDs), holografia (consiste na deposição de um filme de fotorresiste, ou simplesmente resiste, e da subsequente exposição desse filme a um padrão interferente), varredura de pontas de prova (o silício cristalino é oxidado na presença de umidade com microscópio de varredura por tunelamento ou microscópio de força atômica), feixe de elétrons (os elétrons são acelerados e se chocam contra a superfície permitindo a obtenção de estruturas com dimensões de até 7 nm). E principalmente a técnica de litografia óptica (fotolitografia com radiação ultravioleta ou laser) e por raios X, que utiliza máscaras (placas de quartzo de alta planaridade com aproximadamente 60 nm de cromo depositado em uma das faces) para definir os padrões a serem projetados [64] [165-167].

Genericamente, a fotolitografia, como ilustrada na Figura 1.5, é mais amplamente utilizada devido à melhor relação custo-benefício, ou seja, seu custo é relativamente baixo, quando comparado com outras técnicas, e apresenta boa resolução e reprodutibilidade. É a técnica padrão na indústria da microeletrônica e o processo consiste em definir o padrão (desenho) da microestrutura em um software adequado (o AutoCAD – é amplamente empregado). Este padrão é transferido para uma máscara por técnica apropriada (feixe de elétrons ou raios X), em seguida o silício (a) é inicialmente oxidado (térmica ou quimicamente) dando origem a uma camada de óxido de silício (SiO_2). Posteriormente, este é recoberto, com o auxílio de um aparelho de centrifugação e *spinner* (espalhamento com giro), por uma camada de resiste (b) fotossensível, que em seguida é sensibilizada por radiação ultravioleta numa foto-expositora e alinhadora (c), que também promove o alinhamento da imagem projetada em relação ao padrão da máscara. Segue-se uma etapa de revelação (d), removendo apenas as regiões expostas ou não expostas do resiste. Quando a região exposta, pela máscara, é removida temos um processo denominado positivo e quando a área não exposta é removida, temos um processo chamado negativo. Quando se trabalha com silício, elimina-se nesta etapa a camada de SiO_2 (e) com o auxílio de substâncias químicas de ataque ou outro meio físico. Após remoção completa do resiste, com solvente apropriado, tem-se o padrão transferido da máscara para o substrato. Para se ter idéia de rendimento, uma máscara de quatro polegadas comporta até 16 padrões com aproximadamente $11 \times 12 \text{ mm}^2$ máxima ou quanto a foto-alinhadora permitir [168].

Na sequência do processo outras etapas podem ser utilizadas, dependendo da microestrutura esperada. Etapas como modificação do substrato, corrosão, adição de dopantes ou de outros materiais sobre a superfície do substrato. Por fim, procede-se a solda, selagem ou encapsulação do dispositivo produzido.

Figura 1.5. Esquema das etapas do processo de fabricação por fotolitografia.

Na maioria dos microssistemas fluídicos comuns, parte da estrutura é definida em silício utilizando-se corrosão úmida ou seca para definição e aprofundamento dos canais formados por fotolitografia. A corrosão úmida pode ser anisotrópica, quando se usam soluções alcalinas ou isotrópicas quando se usam soluções ácidas [166]. Na corrosão isotrópica a taxa de corrosão vertical é igual à taxa de corrosão lateral. Os microcanais resultam, portanto, com um perfil arredondado. A corrosão anisotrópica, em geral realizada com solução de KOH e água, define um perfil trapezoidal ou triangular [169].

Há ainda outros processos para se definir padrões sobre substratos como a corrosão (seca) por plasma [170] e a deposição física de filmes finos por evaporação térmica ou por “sputtering” (deposição anódica). A recente tecnologia “LIGA” de microfabricação, formada por etapas sucessivas de Litografia, Eletroformação e Moldagem, cujas iniciais provêm das respectivas etapas no idioma alemão (LIGA – Lithographie, Galvanoformung, Abformung), e que conferem ótima razão de aspecto (canais de paredes altas) aos dispositivos produzidos. Esta será mais bem detalhada adiante [171-174].

A grande complexidade e o elevado custo são fatores que dificultam a utilização, em larga escala, de microestruturas. A fotolitografia ainda é uma técnica de acesso muito restrito, daí o interesse em se investir no desenvolvimento de técnicas alternativas de microfabricação, e este trabalho busca explorar e propor alternativas a estas dificuldades [175-176].

Muito embora a técnica de fotolitografia UV-VIS não seja recente (década de 1970), ainda hoje é amplamente utilizada para desenvolvimento de padrões em silício e outros materiais [177-178]. Estratégias alternativas de microfabricação são desenvolvidas, mas as mais comuns destas são as técnicas de microformação direta, onde o substrato é diretamente removido por contato com agente físico de atrito [179-180], e técnicas de replicação, onde o substrato é modelado ou consolidado sobre moldes previamente estabelecidos. Muitos outros materiais vêm sendo utilizados. Destacam-se aí os materiais poliméricos como o Poli(dimetilsiloxano) (PDMS), o quartzo e o vidro (principalmente para métodos de detecção óptica), lâminas de alumina e os materiais cerâmicos [181-186].

A Tabela 1.6 apresenta um quadro resumido das principais técnicas normalmente utilizadas. [187-189].

Tabela 1.6 – Quadro resumido das principais técnicas de microfabricação.

Técnica de Microfabricação	Substrato
Fotolitografia	
Corrosão Seca e Úmida	Silício, Vidro e Polímeros
Processo LIGA – Raios-X e UV	Metais, Polímeros, Vidro e Cerâmicas
Microformação Direta	
<i>Laser Ablation</i> -LA(ablação c/laser)	Materiais não resistentes à radiação UV
<i>Powder Blasting</i> (jateamento)	
Técnicas de replicação	
<i>Hot Embossing</i> (Relevo a quente)	Polímeros, Cerâmicas, Metais e Compósitos Híbridos
Injeção em Molde	

A técnica a ser empregada depende dos materiais utilizados. Cada material e técnica conduzem a dispositivos diferentes quanto à amplitude de aplicações, uma vez que algumas técnicas produzem canais com paredes mais bem delineadas e outras apresentam limitações na relação largura-profundidade (razão de aspecto) dos canais. Cabe ressaltar ainda que a escolha por materiais e técnicas, muitas vezes encontra limitações de ordem instrumental, que geralmente é importado e de custo elevado [190-192].

Processos de microfabricação simples precisam levar em conta o custo, a versatilidade e a disponibilidade de recursos e materiais. Esta foi a proposta de Tan e colaboradores, desenvolvendo um processo bastante acessível, onde os canais são produzidos em silicone utilizando padrões impressos como molde [193]. Os objetivos do presente trabalho, apresentados na próxima seção, seguem uma linha semelhante.

1.4 Objetivos

O objetivo geral deste trabalho é propor e implementar sistemas analíticos – predominantemente, baseado em eletroforese capilar e eletroosmose – baseados em dispositivos microfabricados, bem como o desenvolvimento de processos alternativos de microfabricação, sendo que se objetivou, especificamente, para tanto:

- Montagem e preparação de infra-estrutura de um Laboratório de Microfabricação e Microscopia Ótica;
- Estudar e estabelecer processos de microfabricação de estruturas contendo microcanais;
- Estudar e implementar sistemas de manipulação hidrodinâmica e eletrosmótica de fluídos;
- Desenvolver sistemas de detecção eletroquímicos para microestruturas;
- Demonstrar aplicações para os dispositivos desenvolvidos;
- Caracterização de materiais e processos de fabricação desenvolvidos.

Por fim a proposta é apresentar a comunidade científica, processos simples e acessíveis a laboratórios analíticos comuns, possibilidades de desenvolvimento de microdispositivos analíticos tecnicamente viáveis e de custo compatível com a realidade dos mesmos além de simples implementação.

2 – Infra-Estrutura para Microfabricação

2.1 Introdução

Um dos maiores problemas quando se trabalha com microfabricação diz respeito à qualidade do ambiente, mais precisamente a partículas suspensas no ar. Por partículas entende-se tratar de materiais, sólido ou líquido, geralmente de dimensões entre 0,001 e 1000 μm . As operações que envolvem microfabricação geralmente são realizadas em ambientes cuidadosamente preparados para essa finalidade, são as chamadas salas limpas. Estas salas, por fazerem uso de potentes filtros para garantir a concentração de partículas abaixo de limites que possam comprometer as microestruturas confeccionadas, possuem custo de implantação e manutenção relativamente elevados. Internacionalmente, normas são adotadas a fim de padronizar sistemas de insuflamento, filtragem e distribuição do ar, materiais de construção e procedimentos operacionais. Estas visam o melhor controle das variáveis críticas ao processo. Podemos tomar como exemplo o controle de partículas que são aerotransportadas para o interior da sala [194].

O nível de contaminação tolerado ao processo de microfabricação (principalmente para microeletrônica), em termos de partículas, é da ordem de milhão de vezes menor que aquele presente num ambiente natural. Assim, é fácil

entender a importância da adoção de uma sala limpa para uma série de etapas no trabalho de microfabricação.

Uma sala limpa pode ser definida como uma área fechada, especialmente construída, cujo ambiente é controlado no que diz respeito a particulados, temperatura, umidade, pressão do ar, fluxos de ar, vibração, ruído, microorganismos vivos e iluminação Manual da *American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers* (ASHRAE) de 1999 [195]. Outras definições também são encontradas, a Norma ISO 14644-1 (1998) define sala limpa como uma sala na qual a concentração de partículas presentes no ar é controlada e, sua construção e operação são feitas de forma a minimizar a introdução, geração e retenção de partículas dentro da sala. Outros parâmetros relevantes, como temperatura, umidade e pressão, são controlados quando necessário.

O conceito de contaminação é importante para o bom entendimento do assunto, uma vez que a implementação de uma sala limpa visa à eliminação ou controle de contaminações. Define-se contaminação como todo e qualquer material, substância ou energia não desejada no ambiente [195].

Antes da implementação de uma sala limpa, devem-se avaliar as possíveis fontes de contaminação presentes. Sabe-se que a indústria gera partículas provenientes dos processos de combustão, vapores químicos, atrito mecânico nos equipamentos e nas operações de usinagem. As pessoas presentes no ambiente de trabalho também constituem uma fonte de partículas, estas partículas são provenientes de escamações da pele, cabelos, fiapos de roupa, cosméticos, emissões da respiração e bactérias. As partículas ocorrem na natureza na forma de pólen, bactérias, microorganismos vivos ou mortos, poeira ou partículas de líquidos e sólidos diversos. Estas partículas presentes no ar variam em tamanho de 0,001 micrometros a centenas de micrometros [196].

Devido à ação da gravidade, partículas maiores que cinco micrometros tendem a precipitar rapidamente. Para muitos processos de microfabricação, estas partículas presentes no ar podem ser consideradas como fonte de contaminação.

Os pós e o pólen são partículas que podem atingir diâmetro de até 100 μm ,

daí a preocupação, pois podem comprometer o desempenho dimensional do processo de microfabricação, uma vez que a altura típica dos microcanais estão compreendidas entre 10 e 50 μm . Também não podemos negligenciar a contínua poluição provocada por partículas trazidas por gases provenientes de equipamentos de combustão, veículos, fábricas e comércio.

As fontes de contaminação em uma sala limpa podem ser classificadas em dois grandes grupos:

- Partículas vindas do ambiente externo, normalmente via infiltrações em portas, janelas e outras aberturas. Mas a principal contribuição como fonte de contaminação externa fica por conta do ar exterior insuflado por meio do sistema de ar condicionado. Em salas limpas operacionais, as fontes externas de partículas têm seu efeito reduzido pelos sistemas de filtragem de ar. Entretanto, para salas limpas em repouso (inoperantes), a concentração de partículas depende diretamente da concentração de partículas na área externa. As fontes de contaminação externas são controladas primariamente por filtração do ar insuflado, pressurização do ambiente e vedação de frestas.
- Fontes de contaminação internas. No interior de uma sala limpa as partículas podem ser geradas pelo desgaste das superfícies, por operação de equipamentos, por etapas do processo produtivo ou por usuários da sala, que possam transportar partículas para o interior desta ou desprender resíduos corpóreos durante o trabalho. Sem o devido controle, esta última variável pode tornar-se a principal fonte de contaminação, podendo gerar de milhares a milhões de partículas por minuto. Felizmente, este tipo de contaminação pode ser evitado com a utilização de vestimentas apropriadas ou fluxos de ar especialmente projetados para limpeza contínua dos usuários. A movimentação excessiva no interior da sala pode introduzir partículas de outras fontes. Atividades, como escrever com lápis, ou outras formas de abrasão de materiais, podem aumentar a concentração de partículas em salas limpas.

Para classificação das salas limpas, o parâmetro utilizado é a concentração de partículas no ar, mas deposição de partículas durante a execução das

operações nos produtos e equipamentos deve merecer atenção.

Algumas operações unitárias laboratoriais como técnicas de aerossóis, filtragem e fluxos de ar limpo são os primeiros passos para se compreender o controle de contaminação.

Mesmo que não se possa controlar ou prevenir completamente a geração interna de partículas, é possível antecipar-se às fontes internas e projetar mecanismos de controle e fluxos de ar adequados para limitar o efeito destas contaminações nas operações e produtos (microdispositivos).

2.1.1 Aplicações de Salas Limpas

Com o crescente avanço no nível tecnológico nas mais diversas áreas e processos produtivos, aumenta a necessidade de ambientes limpos, assim também aumenta a penetração das salas limpas em indústrias e instituições de pesquisa.

Os principais grupos de atividades industriais que utilizam salas limpas podem ser divididos em:

Indústria farmacêutica: A preparação de material farmacêutico, biológico e médico necessita salas limpas para controlar microorganismos vivos que poderiam causar o crescimento de focos de bactérias indesejados e outros contaminantes. Atualmente, a Resolução da ANVISA - RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003 – D.O.U de 14/08/2003 estabelece os padrões de boas práticas de produção de medicamentos.

Indústria Eletrônica: O avanço em semicondutores e microeletrônica continua impulsionando o desenvolvimento de salas limpas. Neste grupo, podemos encontrar os principais grupos na área de microfabricação, uma vez que, como apresentado no capítulo anterior, as técnicas de microfabricação desenvolveram-se intimamente ligadas à área de microeletrônica.

Indústria Aeroespacial: As salas limpas foram inicialmente desenvolvidas para este tipo de indústria, em aplicações como fabricação e montagem de satélites, mísseis e eletrônica embarcada.

Outras aplicações envolvem a indústria alimentícia, indústria automotiva, salas para pintura de automóveis, indústria ótica e na pesquisa de material de alta tecnologia. Áreas para isolamento de pacientes ou cirurgias, quando há risco de infecção, são salas limpas, mas neste caso, visa-se limitar contaminações biológicas e não quantidade de partículas.

2.1.2 Normas vigentes

As normas mais empregadas hoje em dia são:

a) *Federal Standard 209 E – Airborne Particulate Cleanliness Classes in Clean Rooms and Clean Zones*. A primeira edição da Norma Federal Standard 209 data de 1963, nos Estados Unidos, sob o título “*Clean Room and Workstation Requirements, Controlled Environments*”. Esta norma, já obsoleta, define classes de limpeza do ar e estabelece métodos para medição da limpeza do ar em ambientes controlados [197].

b) ISO 14644 - *Cleanrooms and associated controlled environments*. Esta norma, composta por oito partes descritas abaixo, foi primeiramente aplicada na União Européia em 1999 e em seguida nos Estados Unidos em 2001, e vêm tomando o lugar da Federal Standard 209.

Parte 1: Classificação da limpeza do ar – descreve as diferentes classes de salas limpas e define as concentrações de partículas respectivas a cada classe. Define os métodos de medição do ar ambiente para classificar quanto à concentração de partículas.

Parte 2: Especificações para teste e monitoramento para provar contínua validação – fornece informações quanto a intervalos de tempo para testes de conformidade de salas limpas, assim como procedimentos para testes.

Parte 3: Metrologia e métodos de teste - Descreve os métodos de teste de salas limpas para validar sua condição de conformidade com a Norma.

Parte 4 – Projeto, construção e operação – Descreve como uma sala limpa deve ser projetada, construída e preparada para utilização.

Parte 5 – Operação – Fornece as diretrizes gerais de como operar uma sala

limpa.

Parte 6 – Termos e definições – Fornece uma coleção de termos e definições sobre salas limpas utilizados na norma ISO.

Parte 7 – Dispositivos separadores – trata sobre dispositivos limpadores de ar e mini-ambientes especialmente preparados para níveis de limpeza superiores.

Parte 8 – Contaminação molecular - Aborda a contaminação gasosa em salas limpas.

c) ISO 14698 – *Cleanrooms and Associated Controlled Environments – Biocontamination Control*. Esta norma ISO é composta de três partes:

Parte 1 – Princípios gerais e métodos – Aborda os métodos de medição de microorganismos em salas limpas.

Parte 2 – Avaliação e interpretação de dados – Fornece informações de como tratar as informações obtidas das medições de microorganismos em salas limpas.

Parte 3 – Metodologia para medição da eficiência de processos de limpeza – Determina a eficiência de processos de limpeza utilizados em salas limpas.

d) NBR 13 700 - Áreas limpas - Classificação e controle de contaminação. Com data de publicação em Junho de 1996, a Norma Brasileira estabelece classes-padrão de limpeza do ar e provê classes intermediárias para salas e zonas de trabalho limpas, baseadas em concentrações especificadas de partículas em suspensão no ar. Prescreve métodos para verificação da classe e requer um plano estabelecido para monitoramento de limpeza do ar. Também fornece um método para determinação e descrição das concentrações de partículas ultrafinas. A NBR foi elaborada com base na Norma *Federal Standard 209*.

e) Resolução ANVISA n. 176. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. Resolução - RE n.º 176, de 24 de outubro de 2000 - Orientação Técnica sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.

2.1.3 Classificação de salas limpas

Para garantir a devida qualidade requerida (adequação ao uso), proteção ao ser humano, aos processos e aos produtos, a pureza de ar exigida em uma sala limpa deve ser determinada conforme as necessidades de cada situação específica. A fim de distinguir sistematicamente diferentes níveis de qualidade de áreas limpas, foram estabelecidas classes de pureza de ar.

As normas relatadas estabelecem as classificações para salas limpas, em função da pureza de seu ar interior, ou seja, da concentração de partículas por unidade de volume de ar.

Como a sala limpa é um determinado espaço (área ou sala) no qual a concentração de partículas aerotransportadas é controlada dentro de limites específicos, é importante para garantia da qualidade do trabalho em microescala, sua classificação e controle. A classificação de salas limpas, contida na parte 1 da ISO 14644, é descrita conforme a Tabela 2.1, e utilizada para classificar os ambientes utilizados nos trabalhos de microfabricação [198]. Como se pode constatar, o grau de pureza do ar aumenta à medida que a classificação da sala limpa diminui. Desta forma para se garantir a qualidade dos processos de microfabricação é necessário definir o nível de limpeza do ar.

Para ter um bom desempenho, a Sala Limpa deve ser projetada e executada, considerando, em sua especificação, os materiais e componentes construtivos (forro, divisórias, portas, visores, piso, etc) mais adequados e que tenham sido fabricados para este propósito.

Tabela 2.1 – Classificação de salas limpas conforme ISO 14644-1.

Classe ISO (N)	Limites máximos de concentração de partículas – C _n (partículas por m ³ de ar) para partículas iguais ou maiores que os diâmetros considerados mostrados abaixo					
	≥ 0,1µm	≥ 0,2µm	≥ 0,3µm	≥ 0,5µm	≥ 1µm	≥ 5µm
ISO Classe 1	10	2				
ISO Classe 2	100	24	10	4		
ISO Classe 3	1000	237	102	35	8	
ISO Classe 4	10000	2370	1020	352	83	
ISO Classe 5	100000	23700	10200	3520	832	29
ISO Classe 6	1000000	237000	102000	35200	8320	293
ISO Classe 7				352000	83200	2930
ISO Classe 8				3520000	832000	29300
ISO Classe 9				35200000	8320000	293000

Quantidade de partículas definido por $C_n = 10^N \times (0,1/D)^{2,08}$ onde: C_n é a máxima concentração (partículas por m³) de partículas maiores ou iguais ao tamanho considerado, N é a classificação ISO da sala limpa, D é o tamanho da partícula em micrometros e 0,1 é uma constante em micrometros.

Os aspectos construtivos e demais parâmetros devem ser observados como: zonas de controle de contaminação, fluxos de ar na sala limpa, segregação, *lay-out* (disposição), materiais, aspectos operacionais, ar condicionado e ventilação. Estes itens são amplamente detalhados nas normas oficiais.

Procedimentos de uso e outras fontes de contaminação merecem atenção. Estes procedimentos, de um ponto de vista mais amplo, englobam verificação das solas de sapatos, para evitar o transporte de materiais para o interior da sala; evitar carregar bolsos dos aventais cheios; agasalhos, blusas e jaquetas devem ser deixados do lado de fora; evitar o acesso de pessoas com gripe ou outras

virozes de contaminação aéreas; somente equipamentos e instrumentos de uso específico nos trabalhos de microfabricação deverão permanecer na sala; evitar o acesso de materiais abrasivos; não deixar restos de componentes eletrônicos sobre a bancada; não permitir fumar ou comer na sala; evitar o uso de lápis e borracha, preferir caneta esferográfica; não mais que duas pessoas deverão utilizar simultaneamente a sala.

Conforme a Norma ISO 14644, as recomendações para a disposição de equipamentos em uma sala deve seguir os seguintes princípios:

- O tamanho da sala limpa deve ser o menor possível. Em geral, se a sala necessariamente for grande, deve-se separar a mesma em zonas com ou sem barreiras físicas.

- A disposição dos postos críticos de trabalho, ou de grande risco, deve ser feita em posições distantes das entradas e saídas, assim como distantes dos corredores onde há grande circulação.

- Tubulações e fiações devem ser evitadas dentro de salas limpas.

- Aparelhos aspiradores de pó, portáteis ou fixos, devem estar presentes dentro das salas limpas, com atenção para os sistemas de filtragem do ar de exaustão que devem apresentar a mesma eficiência do sistema de filtragem da sala limpa.

- Sistemas de comunicação devem estar plenamente disponíveis para evitar entradas e saídas desnecessárias.

- Janelas envidraçadas são recomendadas por permitirem a supervisão das atividades no interior da sala limpa. As janelas devem ser construídas de forma a não poderem ser abertas.

- O número de entradas e saídas deve ser minimizado e montados de forma a constituírem uma área auxiliar isolada da sala limpa e do exterior.

- As portas das áreas auxiliares não devem ser abertas simultaneamente.

- O vestiário de uma sala limpa deve permitir a separação entre as pessoas que entram e que saem da sala e deve ter tamanho suficiente para abrigar as operações de preparação do pessoal para entrar na sala limpa.

- O vestiário padrão deve ser dividido em 3 zonas distintas:

1) Entrada, onde o pessoal manipula as roupas não apropriadas à sala limpa.

2) Transição, onde o pessoal manipula as vestimentas adequadas à sala limpa.

3) Acesso, onde o pessoal já está pronto para entrar na sala limpa.

- O vestiário de uma sala limpa deve considerar os seguintes aspectos:

- a) O número de pessoas que utiliza o mesmo
- b) O procedimento de vestuário deve ser claro e definido
- c) A frequência de troca de vestuário
- d) Presença de armários para armazenar as vestimentas
- e) Presença de espelhos

Os aspectos operacionais em salas limpas devem ser estabelecidos para sistematização da rotina de trabalho. A operação em uma sala limpa é fator determinante no desempenho do trabalho. Para evitar a geração de contaminantes no interior da sala algumas recomendações, típicas das salas limpas, podem ser seguidas também para as áreas controladas:

- Não comer.
- Não rasgar papéis.
- Sempre utilizar as vestimentas determinadas.
- Movimentos lentos.
- Não raspar, espirrar, tossir.
- Não usar produtos cosméticos.
- Comportar-se corretamente em respeito às exigências aerodinâmicas.
- Manter distância entre pessoa e processo.
- Apenas interferências bem refletidas na área do processo.
- Disciplina, autocontrole, confiabilidade.
- Manter as unhas cortadas e limpas.

2.2 Implementações para Controle do Ambiente

O custo para projeto e instalação de salas limpas é bastante elevado. A alternativa utilizada neste trabalho, técnica e economicamente viável, foi a implementação de uma **área controlada**, ou seja, local que possui um determinado grau de controle de contaminantes do ar e fluidos, mas não qualificada como sala limpa.

Diante das limitações orçamentárias, e visando a realização de trabalhos em microfabricação de forma mais confiável e reprodutível, foi realizada a preparação (montagem e aparelhagem) de um espaço com dimensões de 2,40 x 4,00 x 5,00 m (larg x alt. x comp.), denominado “Laboratório de Microfabricação e Microscopia Óptica” (LMMO), aproveitando-se uma sala pré-existente no laboratório.

O LMMO foi preparado utilizando uma bancada (76 cm de largura por 5 m de comprimento e 1 m de altura) fixada junto à parede. A separação do restante do laboratório foi realizada utilizando-se divisórias em madeira, na parte inferior e vidros emoldurados na parte superior (com vedação de borracha). Verificou-se que o custo com esse tipo de instalação é bem inferior ao da construção em alvenaria.

Foi instalada uma mola que garante que a porta do laboratório esteja sempre fechada. Também foi realizada a vedação (com massa de calafetar) de todas as frestas junto às paredes.

Aproveitou-se um aparelho de ar condicionado que já estava instalado, sendo deste retirado todo e qualquer componente ou material que provocasse o acúmulo de poeira, principalmente filtros e espumas de poliuretano. O aparelho de ar condicionado é mantido continuamente no modo de recirculação do ar no interior da sala.

Para renovação do ar, providenciou-se a instalação de um motor de circulação, que tem por objetivo lançar o ar externo para o interior do laboratório, que é totalmente isolado do ambiente externo. Para evitar que o ar de renovação traga consigo a poeira do ambiente externo, foi instalado um filtro de ar (filtro de automóvel) junto à entrada de ar do motor de circulação. A Figura 2.1 apresenta imagens do aparelho de ar-condicionado e do sistema de renovação.

Figura 2.1. Aparelho de Ar-Condicionado (A), Ponto de Entrada de ar na parte interna do laboratório (B) e Motor com filtro na parte externa (C).

O sistema de filtração é periodicamente monitorado, e quando da saturação do mesmo, a aquisição pode ser feita em lojas comuns de autopeças.

O sistema de filtração mostrou-se eficiente e propiciou um ambiente com boa circulação e renovação de ar, o que possibilitou a realização de trabalhos com a qualidade requerida. Os processos de microfabricação propriamente ditos, na verdade, foram realizados no interior de uma câmara de fluxo laminar (VECO – VFLS12), apresentada na Figura 2.2. Temos assim, um miniambiente bem mais adequado aos processos de microfabricação, o que não significa ter uma estrutura plenamente adequada aos processos de microfabricação convencionais (salas limpas), mas que, para os processos alternativos de microfabricação de baixo custo para química analítica, certamente supre os requisitos necessários, pois se tem um ambiente para preparação e outro miniambiente para manipulação das microestruturas.

A câmara de fluxo laminar é equipada com filtros HEPA (*High Efficiency*

Particulate Air), tipo C, o que garante eficiência de 99,97 % na remoção de partículas de até $0,3\ \mu\text{m}$, esta conta também com lâmpada ultravioleta que impede a contaminação por fungos e bactérias.

O aparelho de ar condicionado era utilizado apenas para circulação do ar (ventilação), pois a umidade favorece processos de corrosão e condensação no interior da sala. Assim, para que a temperatura no interior da sala não aumentasse ao ponto de gerar desconforto, o tempo e atividades realizadas no interior da sala eram planejados com antecedência.

Figura 2.2. Câmara de Fluxo Laminar utilizada em operações de microfabricação.

Visando melhor controle e automação da operação do LMMO, foi desenvolvido um sistema eletrônico para controle da qualidade do ar no laboratório. Basicamente consiste de um sistema de temporizadores que acionam o motor de renovação da sala controlada toda vez que a porta for aberta, o que é promovido com o auxílio de uma “reed-switch” (sensor magnético de porta). Foram utilizados temporizadores do tipo LM555 (National Semiconductor), em um sistema monoestável (requer estímulo externo – chave/pulso) e outro astável (não requer estímulo externo – frequência de saída do temporizador é dada pelo circuito rc, dependendo da variação de estado dos transistores), operando como um oscilador com ciclo controlado por um circuito RC (resistores-capacitor),

detalhes do circuito são apresentados no esquema da Figura 2.3.

Figura 2.3. Esquema eletrônico do circuito montado. Destacando o circuito astável acima e monoestável abaixo.

O sistema também possuía um acionamento manual, além do acionamento automático por períodos de 10 minutos a cada 45 minutos de intervalo.

Pressionando-se a chave manual ou através da *reed-switch*, dá-se início ao ciclo temporizador. O relé é ativado iniciando o ciclo até que se complete entrando, em seguida, com o ciclo do sistema astável. O conjunto resistor-capacitor controla a duração do tempo de atraso (pulso que define o tempo de acionamento), e variando-se o capacitor ou resistores varia-se o tempo. A Figura 2.4 apresenta dados de acompanhamento do circuito utilizando um osciloscópio

(Fluke modelo 96) e a Figura 2.5 apresenta imagem do sistema de automação e circuitos elétricos internos.

Figura 2.4. Registro do funcionamento do circuito obtido com o auxílio de um osciloscópio, utilizado para determinação dos ciclos de operação.

Figura 2.5. Sistema de controle de renovação de ar, (A) destacando as conexões da parte superior da esquerda para a direita o conector tipo “BNC” para o reed-switch seguido da alimentação 110 V, o led indicador e botão de acionamento manual; e (B) o sistema e circuitos internos.

2.3 Demais recursos e procedimentos

Alguns cuidados e procedimentos eram necessários para organização e limpeza, que, adotados por membros da equipe que utilizavam o LMMO, garantiam a eficiência dos trabalhos na área controlada.

Além da contaminação por condução pelas correntes de ar, também o contato direto entre objetos e fluidos merece atenção. Alguns pré-requisitos operacionais utilizados envolviam os instrumentos e equipamentos utilizados, que eram limpos e devidamente acondicionados. As mãos eram lavadas ao início dos trabalhos e as vestimentas (aventais) também eram limpas. Com estes procedimentos básicos foi possível evitar a contaminação ambiental devido a partículas transportadas com os equipamentos e instrumentos e a contaminação provocada por partículas transferidas entre os instrumentos e equipamentos por contato direto e indireto.

A limpeza adequada do LMMO, ilustrado na Figura 2.6., era realizada passando-se uma flanela sobre a bancada e equipamentos, seguida do tratamento com um aspirador de pó.

Figura 2.6. LMMO, destacando o interior do ambiente.

A instalação de um ponto de conexão de rede e um microcomputador, além de um microscópio ótico com aumento de 600x, constituía o instrumental básico do laboratório, mostrado na Figura 2.7.

Figura 2.7. Destacando o computador (A) e Microscópio Ótico (B).

Uma capela de exaustão de gases instalada, ao lado câmara de fluxo laminar, contando com os pontos de água, esgoto e energia elétrica, pode minimizar contaminações no transporte de materiais e dispositivos entre os laboratórios. O custo total dos equipamentos (capela e acessórios) é baixo e o investimento garante maior autonomia do laboratório, além de agregar qualidade, pois o risco de contaminação no tráfego entre os laboratórios é muito grande.

A manutenção preventiva é importante para um ambiente adequado aos processos de microfabricação, e pode ser promovida por meio de ciclos de verificação de filtros e aspiração de pó, independentemente de limpezas incidentais.

A bancada deve ser limpa após seu uso sempre que utilizada. O pó deve ser retirado não apenas do chão, mas também de armários e equipamentos. Mesmo sem a realização de ensaios de contagem eletrônica de partículas ou outros testes específicos, os cuidados necessários devem ser mantidos para garantia dos procedimentos operacionais.

Como o LMMO não é uma sala limpa, mas uma área controlada, toda a sistemática de vestimenta adequada e rigor das salas limpas são dispensáveis.

Melhoras nos métodos de limpeza, como a conscientização e treinamento do pessoal que trabalha neste ambiente limpo e controlado, representam fator importante para evitar as contaminações.

2.4 Considerações Finais

As salas limpas, ou neste caso, área controlada, são fundamentais para melhor qualidade dos processos de microfabricação e dispositivos obtidos. Desta forma, é possível concluir que estes ambientes podem ser implementados a partir de adequações da infra-estrutura já existente, viabilizando, com custo relativamente baixo, o início das atividades com microfabricação em condições adequadas de qualidade e reprodutibilidade.

Com certo grau de improvisação, foi possível a implementação de um sistema adequado para o desenvolvimento e investimento em novos processos de microfabricação.

Após a implementação do LMMO, verificou-se grande ganho de tempo com os processos de microfabricação, uma vez que houve a redução do número de falhas, imperfeições e obstruções de microcanais. A qualidade dos dispositivos mostrou grande melhora, quando comparados com os obtidos em ambientes “sujos”.

Cabe ressaltar que a opção por uma área controlada e não sala limpa conferiu o ponto de equilíbrio em termos de infra-estrutura de microfabricação, pois as microestruturas obtidas em área controlada apresentam a robustez requerida para os ensaios em Química Analítica, contrastando com o custo agregado às mesmas microestruturas produzidas em salas limpas.

Verificou-se que a área controlada, muito embora, inferior tecnicamente à sala limpa, ajusta-se às necessidades desse trabalho.

3 – Sistema Toner-Poliéster

3.1 Introdução

Dentre os mais diversos tipos de materiais empregados em processos de microfabricação, têm merecido maior atenção dos grupos de pesquisa, os materiais poliméricos [199].

Devido ao elevado custo dos processos de microfabricação em substratos de vidro, quartzo ou silício, a utilização dos materiais poliméricos surgiu como uma alternativa viável uma vez que conduz a um custo material e operacional inferior ao dos materiais convencionais. Outras vantagens incluem o reduzido tempo de fabricação, uma vez que a usinagem (modificação) dos materiais poliméricos é mais simples, necessitando de um número menor de etapas, e, portanto menor tempo de trabalho [200-201].

A alta resistividade e rigidez dielétrica favorecem a utilização dos materiais poliméricos no bombeamento eletrocinético e em separações eletroforéticas [202].

Boa resistência mecânica e química, isolamento elétrica, possibilidades de modificação superficial (modificação química) e versatilidade são parâmetros

importantes na escolha dos materiais poliméricos, que geralmente superam suas limitações ópticas (pobre transparência na região do ultravioleta) [140] [203].

Dentre os materiais poliméricos comumente utilizados pode-se citar o poli (metacrilato de metila) (PMMA), polipropileno, politetrafluoretileno, poli(dimetilsiloxano) (PDMS), co-poliéster Vivak, policarbonato, poliimida e poliestireno [204-206] .

Os métodos de fabricação comuns envolvem a impressão a frio e a quente, polimerização sobre um molde, usinagem (desgaste), ablação com laser, jateamento, a litografia com raios X ou UV (LIGA) e corrosão por plasma [202] [207-209].

Diversas aplicações vêm sendo apresentadas para os microdispositivos confeccionados em substrato poliméricos: dispositivos para eletroforese, válvulas, bombas, misturadores, filtros e interconexão de microdispositivos, cobrindo um leque de aplicações semelhante ao dos microdispositivos confeccionados em substratos convencionais. Diversos modos de detecção para μ TAS são comumente utilizados, como os métodos eletroquímicos por acoplamento ou deposição de eletrodos e métodos ópticos, como fluorescência com LED azul, com algumas limitações de região espectral conforme o polímero utilizado [162] [210-217].

São notórias as vantagens dos materiais poliméricos para a produção de microdispositivos para análise química. Neste sentido, busca-se cada vez mais o desenvolvimento de microdispositivos através de processos fáceis, práticos e de baixo custo de fabricação.

Nossa experiência sobre microfabricação com materiais poliméricos remonta ao período de mestrado. O desenvolvimento dos microcanais foi abordado por duas frentes básicas de trabalho, a primeira restrita aos laboratórios do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, onde se desenvolveram estruturas bastante simples, utilizando materiais de fácil obtenção e baixo custo. A segunda por meio de colaboração com o LSI, onde de posse dos modernos recursos tecnológicos de microfabricação foi possível

efetuar as análises dimensionais necessárias ao desenvolvimento das microestruturas [218].

Inicialmente os trabalhos foram conduzidos a partir da utilização de decalques para circuito impresso, daí a idéia de decalcar toner diretamente sobre uma lâmina de vidro e proceder a corrosão da lâmina nas regiões delimitadas pelo padrão impresso.

No doutorado o processo foi otimizado com o desenvolvimento de um sistema que garantisse a uniformidade do filme depositado, o que foi obtido com a distribuição da pressão de decalque com o uso de uma membrana, este processo será mais bem detalhado adiante. Porém, a grande inovação obtida reside na utilização de estruturas impressas com toner sobre filme de poliéster e seladas de forma semelhante ao processo descrito acima [219]. As seções seguintes descrevem este processo de microfabricação, bem como a caracterização do processo e dispositivos e algumas aplicações.

3.2 Descrição do Processo de Microfabricação

O processo de fabricação aqui proposto baseia-se em duas etapas. Uma camada de toner é seletivamente depositada e fundida sobre um substrato plástico, dando origem ao relevo que forma os canais. Uma outra lâmina do mesmo material plástico é sobreposta e por pressão e aquecimento controlados ocorre refusão do toner e selagem da estrutura, a Figura 3.1 ilustra este processo de microfabricação [220-221].

A primeira etapa é a definição do padrão (layout). A Figura 3.2 mostra um exemplo, em escala natural, projetado no programa CorelDRAW 7.0. Apresenta um protótipo para um sistema de eletroforese capilar com detecção condutométrica em fluxo cruzado (V2), acompanhado da respectiva parte superior (C2).

Na verdade, estas imagens são replicadas diversas vezes de modo a aproveitar a maior área possível do substrato a ser impresso. Assim, dezenas delas podem ser obtidas em cada impressão.

Figura 3.1. Processo de obtenção de microcanais pelo processo com impressão laser.

Figura 3.2. Padrão desenvolvido para detecção em fluxo cruzado e contra-parte delimitando os reservatórios a serem perfurados para selagem.

O substrato escolhido foi um filme de poliéster (poli(tereftalato de etileno) ou PET) para transparências por impressão a laser (CG3300 da 3M do Brasil). A

espessura da camada de toner está em torno de sete micrometros e determina a altura do canal, enquanto que a resolução do processo de impressão e a granulometria do toner determinam sua largura.

O toner é uma mistura de polímeros e cargas especiais cuja composição é otimizada para fins de impressão gráfica. O toner pode ser formulado com muitos componentes, inclusive diversos polímeros, carbono, óxido metálico, e aditivos como sílica, agentes ligantes, carga e outros aditivos específicos. No entanto, observamos que esta composição também é apropriada do ponto de vista químico e elétrico para a formação dos microcanais.

A selagem da microestrutura é feita, também, com filme de poliéster para transparência, o que garante uniformidade mecânica, química e elétrica. No entanto, outros materiais podem eventualmente ser utilizados.

O procedimento para microfabricação é simples e baseia-se em recortar o retângulo (moldura) da base e perfurar, com o furador, nas regiões indicadas pelos círculos na contra parte (Figura 3.2). Após a sobreposição sobre a face com toner do retângulo, o conjunto é prensado e aquecido.

Inicialmente, para garantir maior uniformidade do filme, era utilizado o dispositivo apresentado na Figura 3.3 que permitia a selagem por prensagem a 180,0 kPa e aquecimento a 120°C por 1 min.

O dispositivo apresenta uma câmara insufladora com uma manta de borracha, onde a pressão sobre a manta é mantida e controlada por meio de uma bomba de ar. Esta manta é responsável pela distribuição da pressão sobre o substrato e o toner que são aquecidos por meio de um bloco metálico com resistência controlada por um termopar para manter a temperatura desejada.

Atualmente utiliza-se laminadoras (plastificadoras rotativas) *Super Fuser* (DynaArt, Clearwater, EUA) ou AC 91230 (Gazela, Minas Gerais, Brasil), conforme Figura 3.4. Neste caso, não é produzido um dispositivo por vez, mas uma folha A4 contendo diversas estruturas a serem posteriormente recortadas. Este é o processo mais adequado para produção em escala.

Figura 3.3. Dispositivo para decalque e selagem com pressão distribuída.

(A)

(B)

Figura 3.4. Equipamentos utilizados para microfabricação: laminadora *Super Fuser* (A) e laminadora AC 91230 (B).

Mais recentemente tem-se usado microestruturas preparadas em camada dupla de toner depositado, e com largura típica entre 150 e 200 μm , em laminadora a uma temperatura real em torno de 120°C. A temperatura nominal varia entre as laminadoras. A sistemática para determinação da temperatura real de laminação será apresentada mais adiante.

Assim, o conjunto (filmes de poliéster e toner) é prensado ou laminado para a obtenção da microestrutura com os microcanais. Em princípio, a

prensagem era executada utilizando-se uma prensa aquecida para *hot stamp* (Nogui, São Paulo), apresentada na Figura 3.5. As laminadoras, hoje, comumente utilizadas são laminadoras do tipo para confecção de circuitos impressos ou plastificação de documentos. Também pode ser utilizada uma prensa apropriada para decalque de circuitos eletrônicos HT 2020 (Ferragini, São Carlos-SP, Brasil). Ressalta-se que as prensas são mais robustas, embora menos reprodutíveis, por conta da dificuldade no ajuste de pressão.

Figura 3.5. Equipamentos utilizados para microfabricação: prensa *hot stamp* (A); prensa de circuito impresso (B).

Para a selagem, uma etapa importante é o alinhamento tanto dos orifícios dos reservatórios, quanto dos canais. Para o alinhamento, geralmente, utiliza-se margens ou linhas guia impressas. Com o auxílio de uma placa de vidro iluminada, fixa-se as partes da microestrutura com um pequeno pedaço de fita na extremidade superior, por onde se dará início o contato com os roletes

propulsores da laminadora ou primeiro ponto de contato da prensa. Não se devem fixar as duas extremidades da microestrutura para evitar que, durante a acomodação dos filmes, ocorra abaulamento ou deformações.

Uma temperatura ótima para trabalho foi obtida, inicialmente, mediante testes de reprodução e através de análise térmica do toner, onde se verificou a presença de dois tipos de polímeros, um polímero de aglutinação das partículas de toner e um segundo responsável pela adesão das partículas junto ao filme de poliéster.

A adesão da camada de toner e a selagem dependem da temperatura, da pressão exercida e do tempo de duração destes processos (prensagem ou laminação). Estes parâmetros são importantes para garantir a uniformidade dimensional e evitar que os componentes do toner se separem e espalhem pelo canal formado, o que pode obstruí-lo.

Um aspecto importante em dispositivos contendo microcanais é o acesso a estes. Isto normalmente é conseguido através da perfuração de uma das camadas do substrato. Da mesma forma, pode-se perfurar facilmente o filme de poliéster, preferencialmente o da camada superior antes da selagem, dando acesso ao interior dos canais. Na Figura 3.2 pode ser verificada no padrão a área específica para perfuração dos reservatórios. O dispositivo confeccionado para tanto se baseia no princípio de funcionamento de um furador de papel e é ilustrado na Figura 3.6. Um guia usinado em bronze é fixado entre duas placas de acrílico espaçadas precisamente para a espessura de uma folha de poliéster. O pino do furador de papel é embutido numa base de PVC, que funciona como um cabo de apoio. A folha de poliéster é introduzida entre as placas de acrílico e o pino furador é pressionado, transpassando a mesma.

Cada corrida do processo de laminação dá origem a diversas amostras, que são separadas das demais se utilizando uma guilhotina de papel. Esta é uma das grandes vantagens no uso de uma laminadora ao invés da prensa, cuja base de apoio possibilita a preparação de apenas uma microestrutura por vez.

Figura 3.6. Furador para filme de poliéster.

Para impressão, tem sido utilizadas impressoras HP LaserJet 6L, HP LaserJet 1200 e LaserJet 1300, cuja resolução é de 600 dpi para a primeira e 1200 dpi para as duas últimas. Tanto o toner original do fabricante (C3906A), quanto cartuchos recarregados por empresas especializadas têm sido utilizados com resultados semelhantes.

Buscando a melhoria contínua da qualidade da impressão, realizou-se teste com impressora LaserJet 6L, 1200 e 1300. Alguma melhora foi verificada, como será demonstrado mais adiante, para os modelos mais recentes. Ainda assim, a qualidade da impressão é satisfatória quando a impressão do padrão é realizada na impressora LaserJet 6L. A impressão deve ser realizada com parâmetros de impressão como *High Quality* (Qualidade Máxima), preto (sem tons de cinza) e alta densidade de toner.

Como verificado os microcanais podem ser preparados em camada simples de toner sobre filme de poliéster, conforme Figura 3.7, ou por meio de camada dupla preparada por meio da sobreposição do padrão e sua imagem especular, conforme Figura 3.8.

Figura 3.7. Padrão desenvolvido para detecção condutométrica em camada simples, destacando em (A) a imagem impressa sobre o filme de poliéster e (B) após selagem.

Figura 3.8. Padrão desenvolvido para detecção condutométrica em camada dupla, destacando em (A) a imagem impressa sobre o filme de poliéster e (B) após selagem contra imagem especular.

Considerando parâmetros como a velocidade da laminadora, área útil do filme de poliéster, dimensões de cada microestrutura, tempo de percurso na laminadora, tempo de perfuração, tempo de guilhotina (recorte para separação das microestruturas e rebarbas), tempo de impressão, tempo de montagem e alinhamento, custos do cartucho de toner e da folha de poliéster e o rendimento médio do cartucho de toner chegamos a uma estimativa do custo por dispositivo. Os valores obtidos foram U\$ 0,01 (um cent) ou aproximadamente R\$ 0,02 (dois centavos) por unidade. A produtividade média é 0,6 microestruturas por minuto ou de 1,7 min/peça para microestruturas em camada simples e 1,8 min/peça para microestruturas em camada dupla, valores obtidos para microestruturas com dimensões de 20 por 30 mm (600 mm²). Estes resultados permitem a classificação das microestruturas produzidas por esse processo como descartáveis, dados o custo reduzido, facilidade e tempo de produção. Cabe ressaltar que um dispositivo semelhante, em vidro, custa em torno de cem euros (Micronit – Netherlands) na Europa.

Esta estimativa não leva em consideração as operações pós microfabricação. Assim pode-se optar por construir o chip (microestrutura) e este ser acoplado a um suporte formado por mantas de silicone de sustentação em blocos de acrílico, que já definem os reservatórios, ou os reservatórios podem ser fixados sobre a microestrutura utilizando-se cola do tipo epóxi. Neste caso os reservatórios podem ser feitos utilizando pedaços de tubos de PVC, Taigon ou até mesmo ponteiros de pipetas do tipo Eppendorf recortadas com diâmetro interno superior ao diâmetro do orifício de acesso aos reservatórios.

As Figuras 3.9 e 3.10 apresentam as diversas etapas do processo de microfabricação, e a Figura 3.11 sintetiza o esquema para produção dos dispositivos.

Segundo informações do próprio fabricante e resultados de análises químicas e espectroscópicas, o filme de poliéster é recoberto com sílica que tem o objetivo de aumentar a adesão do toner durante o processo xerográfico ou eletrofotográfico. Esta camada confere algum fluxo eletro-osmótico aos canais acentuando a semelhança ao que acontece com os capilares de sílica fundida,

comumente utilizados em eletroforese capilar. Sendo assim, a caracterização dos materiais utilizados no processo de microfabricação constitui etapa importante para padronização, conforme descrito na próxima seção.

Figura 3.9. Sequência do processo de microfabricação, destacando o padrão impresso (A), recorte (B), perfuração (C) e (D), alinhamento e fixação (E), laminação (F), acabamento (G) e microestrutura pronta para definir os reservatórios (H).

Figura 3.10. Seqüência do processo de microfabricação, destacando a fixação dos reservatórios (A) e (B), microdispositivo pronto (C) e microestrutura em suporte de acrílico (D).

Figura 3.11. Esquema do processo até a obtenção do dispositivo acabado, passando por perfuração do poliéster para definição dos reservatórios (I), impressão do padrão sobre filme de poliéster (II) e camada de toner (a), selagem (III) e montagem dos reservatórios (IV) com tubos de PVC (b).

3.3 Caracterização de Materiais

3.3.1 Introdução

Esta etapa específica do trabalho buscou a caracterização satisfatória para o domínio e a otimização das diversas etapas de fabricação de microdispositivos, bem como possibilitar uma ampla visão das potencialidades de aplicações pós-fabricação. Os testes envolveram caracterização da resistência química, composição superficial, análise de dimensão superficial, composição polimérica, comportamento elétrico e determinação da temperatura real de laminação.

A técnica de microscopia de varredura eletrônica (SEM) foi utilizada para dimensionar e estudar o aspecto da camada de toner depositada.

Para estabelecer parâmetros mais precisos e confiáveis de processo (laminação e prensagem) foram realizados ensaios de análise térmica do toner em experimentos de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Termogravimetria Derivada (TG/DTG). Outro parâmetro importante considerado foi a determinação do fluxo eletroosmótico (EOF).

Para caracterização elétrica, foram realizados espectros de impedância, para definir uma faixa de frequência ótima para a implementação do sistema de detecção condutométrico.

Segundo os fabricantes, o toner é uma mistura de polímeros e cargas especiais cuja composição é otimizada para fins de impressão gráfica. Ele é um produto complexo em termos de manufatura devido ao grande impacto desse material no desempenho da impressão. O toner pode ser formulado com muitos componentes, inclusive diversos polímeros, carbono, óxido metálico, sílica, agentes ligantes, cargas e outros. A composição é variável em função do tipo e qualidade de impressão ou impressão xerográfica.

O processo de desenvolvimento também inclui a elaboração de resinas de poliéster que mantenham o pigmento em excelente estado de molhabilidade,

adesão ao papel, viscosidade facilmente controlável e que seja conveniente ao processo eletrofotográfico para copiadoras e impressoras. Os polímeros mais usuais são o copolímero de estireno-acrilato e o poliéster bisfenol-fumarato (impressão colorida). Enquanto os poliésteres ramificados são preferíveis para impressoras de alta velocidade e desempenho, os poliésteres lineares têm uso geral para sistemas simples e de custo reduzido.

Tabela 3.1 – Propriedades Físico-Químicas do toner HP C3906A [218].

Propriedade	Valor	Unidade
Ponto de Amolecimento	100 - 150	°C
Densidade	1,4 - 1,8	gmL ⁻¹
Solubilidade em Água	desprezível	-
Solubilidade em solventes orgânicos	Parcialmente solúvel em xileno e tolueno	-

A Tabela 3.1. apresenta algumas características físico-químicas fornecidas pelo fabricante do toner (HP). Também segundo o fabricante, o toner seria composto por 45 a 55 % de copolímero estireno-acrilato e de 45 a 55 % de óxido de ferro.

Pelo que foi possível obter de informações sobre o processo de impressão a laser, o toner seria composto, além de cargas e aditivos especiais, por dois materiais poliméricos. Um deles teria o objetivo de formar pequenos grânulos contendo as cargas e o segundo, de atuar com agente de adesão. Assim, com o aquecimento, este segundo polímero seria amolecido a ponto de garantir que os grânulos, feitos com o polímero de maior ponto de amolecimento, aderissem ao substrato (papel ou poliéster).

Foram realizadas algumas análises ainda no período de mestrado, dentre as quais a determinação do teor de ferro pelo método espectrofotométrico, baseado na formação do complexo com tiocianato e por ICP-AES. Os resultados obtidos foram, respectivamente, 42,2 e 44,7% (m/m) em Fe₂O₃, o que é compatível com a informação dada pelo fabricante [218].

Dentre as diversas estratégias, a opção foi direcionar os trabalhos por meio da aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização de materiais poliméricos e cargas e aditivos inorgânicos. E também utilizar técnicas complementares para caracterizar as substâncias em termos de identificação e/ou determinação estrutural das mesmas. A análise térmica é importante, pois, além de esclarecimentos quanto à composição dos materiais, também é importante parâmetro para otimização do processo de microfabricação, como a temperatura de laminação.

As principais técnicas utilizadas foram alguns modos de análise térmica: termogravimetria (TG). Técnica na qual a massa de uma substância é medida em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a uma programação controlada de temperatura.

Também foi utilizada a calorimetria exploratória diferencial, técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, em função da temperatura enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura.

As análises em bancada (via úmida) também foram amplamente utilizadas. Os resultados das análises químicas propiciam informações valiosas para a caracterização e também para a previsão e entendimento do comportamento dos materiais utilizados nos processos de microfabricação. No entanto, essas informações geralmente não são suficientes, assim faz-se necessário uma análise em paralelo com técnicas instrumentais complementares.

Alem das técnicas básicas e estratégias relacionadas, também foram utilizadas algumas técnicas associadas e complementares tais como: Espectroscopia no infravermelho (FTIR e ATR), Análise Elementar (CHN), Espectroscopia de Plasma (ICP-AES), Espectrofotometria UV-Vis e Difração de Raios X.

Um conjunto de informações foi obtido com os trabalhos aqui relacionados, que balizam a utilização dos dispositivos toner-poliéster. Mas conhecer cada vez melhor os materiais utilizados é importante e conferem

segurança as implementações futuras. Neste intuito alguns testes confirmatórios foram necessários. Ensaio complementares compreendem Microscopia de Força Atômica (AFM) e Análise Microscópica (Microscopia Óptica e SEM).

A temperatura real do processo de laminação também foi determinada através de uma nova estratégia baseada na utilização de diversos compostos com diferentes pontos de fusão.

Alguns ensaios foram realizados nas instalações do Laboratório de Instrumentação Analítica – IQ – USP, mas ensaios e análises foram realizadas na Central Analítica (IQ-USP), Instituto de Geociências (USP), LNLS, FEI e Oxitenio.

A caracterização de materiais para microfabricação foi apresentada em artigo e congressos [222-223].

3.3.2 Parte Experimental

3.3.2.1 Teste de Resistência Química

Foi realizado o acompanhamento da integridade física de padrões depositados por impressão laser, com inspeção visual e utilizando o microscópio óptico, após submeter corpos de provas a diversas soluções aquosas. Os testes foram realizados à temperatura ambiente e a 60 °C e com soluções representativas da prática de eletroforese capilar, que é a técnica mais visada para aplicação da tecnologia desenvolvida.

O padrão utilizado na produção dos corpos de prova pode ser verificado na Figura 3.12. Foram preparados diversos corpos de prova com a finalidade de (a) verificar o ataque à superfície de toner e (b) um segundo corpo de prova laminado com um compartimento interno que serviu para verificar a presença de infiltração de soluções, demonstrando a resistência do toner à infiltração lateral, com o objetivo de avaliar a resistência da camada estrutural de toner.

Figura 3.12. Padrão Utilizado em testes de resistência química.

As soluções aquosas utilizadas foram: solução de ácido fosfórico pH 2, solução de NaOH pH 12, metanol 20%, acetonitrila 20%, tampão SDS-fosfato (pH 7) e tampão SDS-borato (pH 9). O tempo típico de uma corrida analítica de eletroforese capilar não ultrapassa os dez minutos, mesmo assim o teste foi prolongado além dos mil minutos (16 horas). A Figura 3.13 ilustra a aplicação do ensaio.

Foram utilizados como substrato, filmes de poliéster (transparência) marca 3M modelo CG 3300, e toner C3906A depositado por impressão laser com impressora LaserJet HP 6L.

Figura 3.13. Teste de resistência química de corpos de prova.

3.3.2.2 Composição Superficial

O processo de microfabricação aqui apresentado é particularmente adequado à produção de microcanais para sistemas envolvendo CE e técnicas afins. Assim, alguns aspectos relacionados a esta técnica devem ser considerados.

A determinação do EOF é interessante para avaliação da adequação dos microdispositivos produzidos as separações eletroforéticas desejadas, ou mesmo definir a necessidade de substituição do poliéster por outro polímero, ou o acréscimo de outros aditivos modificadores de superfície, como relacionado há pouco.

O EOF pode ser garantido, em parte, pela sílica incorporada à massa polimérica ou depositada sobre a superfície do filme de poliéster. No entanto, trabalhos da literatura têm relatado que, mesmo para poliéster sem aditivos

superficiais e outros materiais poliméricos, o EOF pode ser observado. No caso do filme da 3M, que é um poliéster do tipo PET, a própria hidrólise na superfície já confere certo EOF.

Uma das vantagens de se utilizar materiais poliméricos ao invés de sílica ou vidro é a possibilidade de obter substratos que apresentem maiores ou menores EOF de acordo com as necessidades. Para tanto, a verificação da composição superficial evidenciando a presença de camada de sílica sobre o filme de poliéster e caracterizações do fluxo eletroosmótico foram conduzidas.

O EOF é determinado por meio do monitoramento da corrente que flui através de um canal de seção conhecida, desde que haja uma diferença de concentração entre os dois reservatórios nos extremos deste canal. Monitora-se o tempo até o condicionamento da corrente em função da diferença de concentração. Estes testes foram realizados utilizando-se microchips de toner poliéster de camada simples e dupla de 150 μm de largura e 16 mm de comprimento de canal. A Figura 3.14 ilustra o padrão e dispositivo montado para o ensaio.

Figura 3.14. Destacando a microestrutura utilizada em teste de EOF (A) e microchip com eletrodos de platina (Pt) interligando os reservatórios R1 e R2 e a fonte (B).

Estes testes foram realizados com base nos trabalhos de Zare [224] e Locascio [225]. Inicialmente o reservatório R1 foi preenchido com tampão fosfato e um pequeno vácuo foi realizado com o auxílio de uma seringa plástica (5 mL) conectada ao reservatório R2. Após alguns segundos (aproximadamente 10 segundos) sob vácuo, R2 foi completado com o mesmo tampão de concentração diferente. Este procedimento evita a formação de bolhas. O decréscimo de concentração utilizado variou de 1 a 10 mmolL⁻¹ de tampão fosfato. A inversão de potencial foi realizada utilizando uma fonte bipolar com inversão programada (automática).

Além dos ensaios de bancada, outras análises complementares foram necessárias para melhor caracterização. Uma informação valiosa era saber se a sílica estava realmente na superfície, como um filme fino, ou incorporada à massa polimérica. Para responder a essa questão, foram realizados testes com FTIR com e sem ATR, para se verificar a diferença na intensidade das bandas de absorção superficiais, obtidas com o dispositivo de ATR, em relação àquelas que atravessam totalmente o filme.

O FTIR permite alta sensibilidade, maior exatidão e análises mais rápidas que o espectrofotômetro infravermelho dispersivo. O método de Refletância Total Atenuada (ATR) fornece espectros através do contato da amostra com o prisma e não requer preparação extensa da amostra, evidenciando espectros gerados na superfície do substrato, incluindo os filmes finos que eventualmente estejam depositados.

Após a realização destes testes as amostras foram submetidas à Difração de Raios X. Para este teste, dois filmes de poliéster foram separados, e um deles tratado com solução aquosa 20% (m/m) de hidróxido de sódio por duas horas e temperatura ambiente (20-25 °C). Este teste visou confirmar a presença de sílica superficial e não incorporada à massa polimérica. Este ensaio foi realizado no laboratório de catalisadores da Oxiteno (Mauá-SP).

Completando o conjunto de experimentos e técnicas de apoio, uma varredura na região espectral do UV-Vis possibilitou melhor conhecimento das

potencialidades ópticas que podem ser exploradas com os filmes de poliéster. Para o ensaio de UV-Visível foi utilizado um espectrofotômetro Diode Array - modelo 8452-A (HP).

3.3.2.3 Análise da Dimensão Superficial.

Quanto à qualidade da impressão, testes foram feitos buscando o melhor modo de impressão, de forma a obter-se a melhor resolução possível. Realizou-se ainda um estudo dimensional dos canais obtidos por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM), a análise dimensional por SEM foi realizada utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura modelo 515 (Philips) e Microscopia de Força Atômica (AFM) em microscópio modelo MultiMode SPM (Digital Instruments), ambos do LNLS.

Embora muitas avaliações tenham sido obtidas ainda na fase inicial dos estudos – e talvez não represente a definição atual do processo –, observa-se, mesmo a olho nu ou ao microscópio, ganhos consideráveis do ponto de vista qualitativo.

Baseado na resolução da impressora, seria possível definir estruturas com resolução de aproximadamente 40 μm (largura de canais). No entanto, devido ao escoamento dos materiais que compõe o toner durante a fusão do mesmo, este limite não é atingido.

A análise da altura do canal foi desenvolvida utilizando-se diversas técnicas. Optou-se por estabelecer diversas estratégias como a determinação por acompanhamento da corrente em microcanais preenchidos com eletrólitos de concentração conhecida utilizando instrumental de CE e Analisador de Impedância HP 4194A (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA), perfilometria com perfilômetro Dektak 3030 e 100 (Sloan, Santa Bárbara, CA, USA), medida da massa de toner depositada por centímetro quadrado e também utilizando um micrômetro para a medida da espessura de várias camadas.

3.3.2.4 Composição e Análise Térmica

Para uma melhor caracterização do toner, foi realizada a extração do polímero que recobre as partículas magnéticas do toner. A extração foi realizada com tolueno como solvente em extrator Soxhlet. A solução polimérica foi evaporada e o filme obtido desta forma foi separado do óxido metálico com propriedades magnéticas. A susceptibilidade magnética foi evidenciada quando o resíduo sólido da extração foi aproximado de um ímã. A extração foi realizada conforme o esquema da Figura 3.15.

Figura 3.15. Esquema de um Extrator Soxhlet.

O comportamento térmico observado para o toner em experimentos prévios de DSC, obtido em um equipamento Shimadzu DSC-50 (Kyoto, Japão), como apresentado na Figura 3.16, levou ao estabelecimento de um modelo de comportamento e funcionamento do toner. Pode-se verificar que a faixa de

temperatura para trabalho (amolecimento dos polímeros) fica entre 70 e 106 °C. Tem-se então que o modelo prevê um primeiro polímero atuando como elemento de adesão sem a desnaturação dos grânulos protegidos por um segundo de aglutinação.

Figura 3.16. Curva DSC obtida sob atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL min⁻¹) e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ da amostra HP6L (HPC3906A) (m = 1,95 mg).

Quando o polímero de adesão flui por aquecimento impregna a superfície do substrato e, após o resfriamento, o grânulo terá aderido. Esta faixa de temperatura não condiciona o processo de microfabricação, pois, para impressão de documentos, basta garantir a adesão dos grânulos ao papel, enquanto que para a microfabricação, a camada resultante deve ser compacta e impermeável. Há também a adesão entre os grânulos, porém o processo original de impressão a laser não tem como objetivo garantir a formação de uma camada compacta, o que limita variações nos parâmetros de microfabricação,

quanto ao uso da impressora, mas abre possibilidades quanto ao processo de selagem, uma vez que temperatura e pressão podem ser variadas nesta etapa.

Não é propósito modificar e otimizar a composição do toner. Uma solução adotada para minimizar a porosidade tem sido a fusão prolongada ou refusão. Enquanto apenas frações de segundo são necessárias para a adesão do toner sobre o papel ou poliéster, o processo de selagem requer alguns minutos. No entanto, este processo tem o inconveniente de, pelo aumento do tempo de aquecimento, provocar um escoamento excessivo do polímero de adesão, o que varia a razão de aspecto (relação entre altura e largura do microcanal), além de poder provocar a obstrução do canal. Os resultados experimentais, portanto, devem conduzir à melhor faixa de temperatura, de modo a padronizar o processo de microfabricação.

3.3.2.5 Caracterização Elétrica

Neste trabalho, utilizou-se a técnica de Espectroscopia de Impedância, como ferramenta para compreensão dos fenômenos ocorridos nos materiais durante sua operação e para relacioná-los com um circuito equivalente que simule as alterações ocorridas com o campo elétrico.

Para a caracterização elétrica, foram realizados espectros de impedância utilizando o analisador de impedância marca Hewlett Packard (modelo 4194 A) em microestruturas com canais de 100 a 800 μm de largura, e canais preenchidos por KCl 1 molL^{-1} a 10 mmolL^{-1} visando principalmente estabelecer parâmetros para os sistemas de detecção e operação, por meio do comportamento elétrico na faixa de 100 Hz a 5 MHz. Os experimentos foram realizados para diferentes espaçamentos entre canais.

A Figura 3.17 apresenta o esquema do dispositivo utilizado para estes testes, sendo utilizado os mesmos materiais de construção e substratos já mencionados. Os testes visaram demonstrar limitações quanto à construção, no sentido de avaliar o comportamento elétrico em função da proximidade entre

canais. Para tanto, canais paralelos foram projetados, variando-se as distâncias entre canais e comprimento dos mesmos. Assim, pode-se avaliar a qualidade da barreira de toner, como impermeabilidade, bem como a uniformidade das mesmas ao longo do comprimento do canal.

Figura 3.17. Esquema do dispositivo para avaliação da comunicação entre canais, separados por uma barreira de 200 μm de toner e 10 mm de comprimento (a). Esquema do reservatório de 8 mm de diâmetro externo colado com resina epóxi (b).

Testes preliminares já haviam indicado irregulares na camada de toner, além das imagens de SEM. Estes testes consistiram em depositar camadas de toner sobre placas (eletrodos) de cobre polidas e planas e papel de filtro umedecido com eletrólito ($\text{KCl } 0,1 \text{ molL}^{-1}$) separando a camada de toner do eletrodo. Aplicou-se um potencial elétrico e observou-se a passagem de corrente elétrica, o que demonstra a porosidade da camada.

3.3.2.6 Determinação da Temperatura Real de Laminação

A laminação não ocorre em condições de equilíbrio térmico, portanto há a necessidade de uma medida da temperatura local.

No intuito de verificar a temperatura real de laminação, utilizou-se como substrato filmes de poliéster (transparência) marca 3M modelo CG 3300, e toner depositado por impressão laser HP C3906A. Com o poliéster foram montados pequenos envelopes e, dentro dos mesmos, adicionadas substâncias de ponto de fusão conhecido, conforme a Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Temperatura Real de Laminação - substâncias utilizadas.

Substância	Ponto de Fusão (°C)	Marca
Catecol	104-106	Sigma
Ácido Mandélico	117-120	Merck
Ácido Benzoico	121-123	Merck
Pirolalol	132-134	Riedel
Uréia	133-135	Sigma
Ácido Acetil Salicílico	138-140	Sigma
Ácido Adípico	152-154	Merck
Dibenzo-18-Crown-6	162-164	Sigma
4-Acetoamidofenol	169-172	Sigma
Ácido Tartárico-L	170-172	Sigma
Ácido Succínico	188-190	Merck

Uma inspeção visual e com o auxílio do microscópio, foi planejada para verificar a faixa de temperatura real do poliéster no momento da laminação, ou seja, quando o poliéster está sendo transportado pelos roletes de borracha

(onde ficam as resistências de aquecimento). A verificação baseou-se em observar a compactação da substância referência caso a sua temperatura de fusão fosse atingida. A Tabela 3.2 apresenta as substâncias referenciais de ponto de fusão utilizadas [226].

3.3.3 Resultados e Discussão

3.3.3.1 Teste de Resistência Química.

Mesmo após horas de exposição aos agentes de intemperismo químico, as trilhas e padrões definidos em toner demonstraram-se resistentes e não sofreram deformação, descamação, descolagem ou descoloração. A Figura 3.18 apresenta exemplos de resultados obtidos, que demonstram a boa resistência do filme de toner depositado.

Figura 3.18. Comparação do aspecto visual dos corpos de prova, (A) no início e (B) no instante 105 min.

A Figura 3.19 ilustra detalhe do padrão de uma das amostras. Resultado semelhante foi verificado em todos os outros corpos de prova, ou seja, para a

maioria das aplicações em fase aquosa, os corpos de prova não apresentaram mudanças físicas, ou descontinuidade das trilhas e feições, mesmo contendo 20% de solvente orgânico.

Os tempos estabelecidos para o teste foram zero, 15, 45, 105, 225 e 1035 min. Em todos os casos não se verificou o desgaste da película de toner, o que demonstrou sua grande estabilidade química.

Figura 3.19. Foto registrada por microscopia óptica, (A) curvas do padrão 1 antes do ataque, (B) curvas do padrão 1 após termino do teste (1035 min).

3.3.3.2 Composição Superficial.

Análises por via úmida indicaram a presença de sílica no filme de poliéster (transparência). Essa informação foi posteriormente confirmada pelo fabricante do filme, que informou que o poliéster recebe um banho de sílica.

A seqüência analítica (qualitativa) utilizada foi bastante simples. Em primeiro lugar, tratou-se aproximadamente 50 g de amostra de filme de poliéster picotado com uma solução 2 mol.L⁻¹ de NaOH, após aquecimento foi adicionado HCl 6 mol.L⁻¹, garantindo-se pH inferior a 7 e certo excesso de ácido, com isto a

silica apresentou-se na forma de H_2SiO_3 (gel). Após evaporar a seco em cápsula de porcelana em estufa e em seguida aguardando-se esfriar, foi adicionado mais 1 mL de HCl 6 mol. L^{-1} e 5 mL de água destilada. Acrescida de um leve aquecimento e agitação constante, obteve-se uma pequena quantidade de precipitado branco e gelatinoso de SiO_2 . As equações das reações abaixo ilustram a análise qualitativa, em fase aquosa, efetuada:

Quanto às análises por FTIR, verificou-se que, mesmo em se tratando de uma técnica bastante sensível, o sinal da banda de absorção da silica não foi muito expressivo, frente à reduzida quantidade (11,96 ppm) de silica presente no filme de poliéster, fato que pode ser constatado analisando as Figuras 3.20 e 3.21. A interpretação das bandas de transmitância leva a concluir que a banda acentuada com ATR se trata da silica superficial, verificadas com a intensificação das bandas entre 1100 e 1250 cm^{-1} .

Figura 3.20. Espectro completo do filme poliéster, destacando as bandas com e sem ATR.

O ensaio com Difração de Raios X para verificar se a sílica está superficialmente depositada sobre o substrato ou incorporada à massa polimérica mostrou que a amostra tratada com solução de hidróxido de sódio, fortemente básica, para remoção da sílica superficial, apresentou resultado significativo, com redução de sinal de sílica, o que demonstra que a sílica é depositada superficialmente e não incorporada à massa polimérica.

Figura 3.21. Ampliação da faixa do espectro para a sílica (1100 – 1550 cm^{-1}).

O EOF foi outro parâmetro estudado. As baterias de resultados demonstraram valores inferiores aos conhecidos para microchips em material plástico ($10^{-4} \text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$), conforme pode ser constatado observando a Figura 3.22. O problema é que foi verificada certa perda de resposta após sucessivas medidas. Portanto, para garantir uma estimativa mais confiável, serão necessários mais testes e utilizando diferentes estratégias como, por exemplo, a aplicação do potencial de separação em reservatórios externos aos do microchip. Assim, pode ser reduzido o efeito de eletrólise no interior do canal o que influencia na estimativa do fluxo.

O EOF pode ser demonstrado em função da movimentação de moléculas de solvente pela aplicação de um campo elétrico (eletroosmose). A velocidade do fluxo de solvente (EOF) é proporcional ao campo elétrico aplicado e deste depende a eficiência nos processos de separação eletroforética, principal aplicação visada para os dispositivos finais a serem obtidos por esse processo

Figura 3.22. Curvas de Corrente x Tempo utilizadas para estimativa do EOF. Microchip 150 μm , tampão fosfato 10/20 mmolL^{-1} , 1,6 cm de comprimento, 400 V.

de fabricação. O EOF foi estimado por meio da seguinte equação (Eq.3.1).

$$\mu = \frac{l^2}{t_m V} \quad \text{Equação 3.1}$$

Onde l é o comprimento do canal, t_m é o tempo de migração e V é o potencial aplicado. O tempo de migração t_m foi estimado levando em conta o valor médio de n valores de intersecção das curvas acima, multiplicado por dois. Testes de significância (teste t de Student e F de Snedecor) foram efetuados para demonstrar que não havia diferenças significativas entre as médias e variâncias dos valores obtidos pela aproximação da estabilização da corrente.

Figura 3.23. Corrente em função do tempo destacando a defasagem das curvas de tempo do EOF.

Desta forma, verificou-se que para uma medida rápida basta preencher os reservatórios com eletrólitos com certa diferença de concentração (10 e 20 mM

de tampão fosfato, por exemplo) e aplicar o potencial por 1 min e depois inverter a polaridade por mais 1 min. O ponto de intersecção multiplicado por dois fornecerá o tempo de migração.

A média dos resultados obtida foi de: $\mu = 4,45 \times 10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}\text{V}^{-1}$

A defasagem que ocorre entre sucessivas seqüências de pontos de intersecção, como ilustrado da Figura 3.23 compreende uma importante variável a ser estudada, mas que demonstram o caráter descartável dos dispositivos, dado a histerese do processo. Medidas posteriores demonstraram que esse efeito pode ser minimizado se forem utilizados reservatórios externos (com tampão) aos reservatórios do microchip, interligados por meio de capilares. Isto faz com que os produtos de eletrólise, oriundos do campo elétrico aplicado, que geralmente se formam nas proximidades dos eletrodos, deixem de influenciar as medidas do EOF.

Deve-se lembrar também que o PET ($\sim[\text{CO-C}_6\text{H}_4\text{-COO-(CH}_2)_2\text{-O}]_x\sim$) é um plástico que contém, na cadeia, anel aromático e grupo alquila, ligados alternadamente por grupos éster, que pode ser atacado por ácidos, bases e agentes oxidantes em concentrações elevadas, gerando ácido e álcool, o que leva a variações no EOF. Desta forma, o pH do meio é fator limitante, mas os microchips mostraram bom comportamento quanto à variação de potencial com resposta linear, ou seja, a velocidade linear (lT^{-1}) varia linearmente com o campo elétrico (Vl^{-1}), o que pode ser verificado com a análise da Figura 3.24.

Quanto às propriedades ópticas, verificou-se que o filme de poliéster apresenta transparência superior a 80% acima de 400 nm (Figura 3.25), sendo viável a utilização de sistemas de detecção óptica na região do visível, mas pouco apropriado o emprego de detectores que utilizam a região do ultravioleta, uma vez que o poliéster absorve nesta faixa.

Figura 3.24. Curva do tempo de migração em função do potencial aplicado. Microchip semelhante ao da Figura anterior.

Figura 3.25. Espectro UV-VIS do filme de poliéster CG 3300.

3.3.3.3 Análise da Dimensão Superficial.

Os testes comparativos com as impressoras HP 6L, HP 1200 e HP 1300 demonstraram que, embora haja alguns anos de tecnologia separando os modelos de impressoras laser, para fins práticos, não foram observadas variações quanto a qualidade das microestruturas obtidas. A melhor resolução do modelo HP 1300 leva a obtenção de traços mais bem definidos, no entanto continuam apresentando a mesma limitação em termos dimensionais, ou seja, não permite a obtenção de canais bem definidos com largura inferior a 50 μm .

As impressoras modernas apresentam melhores recursos de manipulação da qualidade de impressão. A impressora HP 1200 possui alternativas como padrão de escala e aumento de memória, mas a impressão no modo "melhor qualidade" (*best quality*) leva a obtenção dos melhores resultados em todos os modelos. A impressora HP 6L apresenta melhor qualidade de impressão no modo vetorial, enquanto que no modo varredura os resultados não foram satisfatórios. Os testes com a impressora HP 1300, apresentaram resultados semelhantes aos da HP 1200, no que diz respeito a resolução da impressão, com a vantagem de não apresentar desvios e perda de alinhamento ao longo da impressão; deficiência verificada nos modelos HP 1200 e HP 6L. Os testes foram realizados variando, para cada impressora e modo de impressão, a largura e a distância entre as linhas. Os testes foram acompanhados por avaliação em microscópio óptico. A Figura 3.26 e 3.27 apresentam exemplo de comparação do teste de impressão realizado.

Um exemplo da limitação da resolução da impressão pode ser verificado ao se analisar a Figura 3.28. Neste teste se mantém constante o espaçamento entre as trilhas (canais), varia-se a largura do canal e verifica-se que a resolução das impressões obtidas com as referidas impressoras é de 47 μm . Sendo assim se estabelece o limite de 50 μm para a confecção de padrões (desenhos).

Baseado na resolução da impressora, seria possível definir estruturas com resolução de aproximadamente 47 μm . No entanto, devido ao escoamento

dos materiais que compõe o toner durante a fusão do mesmo, este limite não é atingido. Assim, na Figura 3.28, pode-se verificar visualmente não haver diferença entre os canais das figuras (A), (B) e (C). No entanto, em (A), foram projetados canais de 10 μm , em (B), de 25 μm e em (C), canais de 50 μm ; todos espaçados em 1000 μm . Muito embora tenha sido apresentado o aspecto visual, a verificação prática foi realizada utilizando microescala comparadora sob a objetiva do microscópio.

Figura 3.26. Comparação entre impressora HP 6L (A) e HP 1200 (B).

Sendo assim, optamos por comprar e utilizar, nos processos de microfabricação, a impressora HP 1300.

As Figuras 3.29 e 3.30 possibilitaram mais uma visão da qualidade dimensional da superfície do toner depositado e vem a confirmar as análises

Figura 3.27. Comparação entre impressora HP 6L – Varredura (A) e HP 6 L – Vetorial (B), destacando melhor resolução no modo Vetorial.

anteriores obtidas por SEM. Irregularidades entre 3 e 4 μm são observadas e demonstram as limitações dos dispositivos microfabricados com esse material, uma vez que fica evidente a presença da porosidade do filme depositado.

A análise dimensional por SEM revelou importantes informações e particularidades deste processo de microfabricação. Nas Figuras 3.29 a 3.31, pode-se verificar que mesmo após o processo de refusão, a superfície de toner depositado não fica livre de irregularidades, e vales sem toner são formados, em dimensões que chegam próximo a 12 μm .

Figura 3.28 Comparação de resolução: (A) 10-1000, (B) 25-1000 e (C) 50-1000, xx-yyy é o espaçamento (xx) entre as linhas de largura yyy, em micrometros.

Figura 3.29. Irregularidades do processo de deposição do toner, destacando regiões com falhas de cobertura de até 11,9 μm .

Figura 3.30. Microcanal de 150 μm , destacando a diferença dimensional.

Figura 3.31. Borda de um canal de 150 μm , destacando a irregularidade.

Com a Figura 3.30, é possível concluir que há diferença significativa quanto à dimensão projetada (desenhada) e a dimensão real, em função das irregularidades da borda. No caso da Figura 3.30, o canal foi projetado para 150 μm . No entanto, verifica-se que sua dimensão efetiva é consideravelmente maior. Na Figura 3.31, pode ser observado a ampliação dessa irregularidade.

Detalhes como o do tamanho típico de partículas projetadas para o interior do canal foram registradas. A Figura 3.32 ilustra esta característica.

Figura 3.32. Grão de toner projetado no interior do canal.

A relação entre a altura do canal e a altura de um grão projetado demonstra o quanto a irregularidade do processo de impressão pode influenciar no perfil dos microcanais. A Figura 3.33 ilustra esta relação para um canal de dupla camada, já efetuada a correção do ângulo da foto.

Figura 3.33. Relação entre altura do grão e altura do canal.

Deste parâmetro foi possível estabelecer o processo de produção de microdispositivos em dupla camada como o mais adequado, uma vez que eventualmente os dispositivos construídos em camada simples geralmente

possuíam obstrução de canais, certamente pelo inconveniente de alguns grãos serem projetados proximamente e funcionando como verdadeiros paredões, e impedindo o fluxo de líquido através do canal.

Outro aspecto verificado diz respeito à deformação do canal durante o processo de laminação. Testes de estimativa da altura do canal em função da corrente obtida para um eletrólito de concentração conhecida resultam em grande variabilidade. A análise das imagens de SEM possibilitou concluir, definitivamente, que esta deformação realmente ocorre, conforme a Figura 3.34.

Figura 3.34. Deformação da altura do canal, canal de 200 μm de largura.

A região do centro do canal é a que oferece a menor resistência, daí decorre a deformação, ou seja, o teto sede. Os roletes da laminadora, sendo recobertos por uma manta de silicone macia para distribuição da pressão exercida, promove a deformação com grande intensidade na região central do canal, a qual vai diminuindo à medida que se aproxima da borda de toner. Quanto maior a largura do canal, mais pronunciado é esse efeito e dessa informação decorre outro importante parâmetro de produção, que diz respeito à não produzir canais com largura superiores a 150 μm para eletroforese. Trabalhando com camada dupla (aproximadamente 15 μm de altura) e 150 μm de largura, se obtém uma relação ótima para trabalho. Serão apresentados, adiante, testes de caracterização elétrica que melhor demonstrarão essas observações.

A Figura 3.35 apresenta algumas imagens da vista frontal da saída do canal. Cabe observar a irregularidade provocada pelo corte do dispositivo, em (C) é possível verificar que muito embora o canal tenha sido projetado com 100 μm , com a vista em profundidade é possível estimar aproximadamente 80 μm de distância entre os grãos que delimitam as bordas do canal, possibilitando verificar perda dimensional após selagem por alinhamento ou esparrame do toner.

Figura 3.35. Vista frontal da saída do canal. Sendo (A) e (B) canais de 200 μm , (C) canal de 100 μm e (D) canal de 800 μm .

Com os testes de AFM, pode-se estudar a topografia e as propriedades mecânicas de superfícies como, por exemplo, a rugosidade.

As imagens de AFM foram obtidas junto aos colegas do Instituto de Química da USP – São Carlos. Após impressão em impressora HP 1300, a superfície foi analisada obtendo-se as imagens conforme a Figura 3.36, com terminação *r* que fornece a rugosidade qualitativa e a Figura 3.37 traz uma imagem com sonda *s* – área superficial, que demonstra a mesma superfície irregular já observada por SEM.

Verificou-se que a rugosidade varia bastante, indo de 1,3 a 1,8 μm . Esta variação é normal para o processo de deposição do toner. Efetuando-se um aquecimento da camada depositada de modo a garantir o amolecimento da camada de toner, pode-se suavizar a rugosidade produzida na superfície, mas como demonstrado com SEM, as irregularidades da superfície não são completamente extintas, conforme Figura 3.38.

A razão de aspecto, relação entre altura (profundidade do canal) e largura, ainda é bastante limitada, sendo da ordem de 0,25. A espessura da camada de toner é de aproximadamente 10 μm antes da selagem. A altura final do canal é variável e depende do processo de selagem, mas está em torno de 6 μm .

Figura 3.36. Imagens de AFM da superfície do toner impresso sobre filme de poliéster – terminação r.

Figura 3.37. Imagens de AFM da superfície do toner impresso sobre filme de poliéster – terminação s.

Figura 3.38 Superfície do toner depositado (AFM).

3.3.3.4 Composição e Análise Térmica

Um aspecto importante verificado foi o comportamento magnético do toner. Esta propriedade foi observada quando uma amostra de toner foi tratada com tolueno e xileno e verificou-se que os resíduos apresentavam propriedades magnéticas (óxido de ferro magnético). Com o auxílio de um ímã, verifica-se que a massa resultante, no fundo do tubo de ensaio após as lavagens, sofre atração do ímã. A existência desse comportamento magnético abre novos rumos para aplicações analíticas que poderão ser mais bem estudados no futuro.

As curvas TG/DTG evidenciaram que a amostra é estável termicamente até aproximadamente 200°C. Entre 200 e 300°C ocorre perda de massa lenta e entre 300 e 450°C o processo de decomposição térmica ocorre rapidamente e a variação de massa é de aproximadamente 45,0% . A perda total de massa até 900°C é de 52,0%, conforme se verifica na Figura 3.39. O resíduo após a decomposição da amostra é um pó vermelho, atribuído basicamente ao óxido de ferro.

Figura 3.39. Curvas TG/DTG obtidas sob atmosfera dinâmica de N₂ (50 mLmin⁻¹) e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ da amostra HP6L (m = 4.60 mg).

A curva DSC na Figura 3.40 mostra dois eventos endotérmicos em 69,4 e 105,4 °C, os quais devem estar associados ao processo de fusão ou transição vítrea de dois polímeros distintos utilizados na composição do toner. Este resultado contrasta com a informação de que se trata de um copolímero. No entanto, isto pode ser explicado de duas maneiras: (1) talvez o termo copolímero utilizado na descrição dado pelo fabricante seja impróprio, isto é, foi utilizado para designar genericamente um material preparado a partir de dois polímeros, (2) o material seria um copolímero de bloco com longas seqüências de cada um

dos monômeros. Um copolímero contém, em sua estrutura polimérica, duas diferentes unidades periódicas, de dois diferentes monômeros. Quando os dois monômeros são introduzidos na reação de polimerização, um copolímero irregular é geralmente obtido, o qual consiste de unidades sem padrão ou arranjo seqüencial definida. A quantidade de cada tipo de monômero incorporado depende da concentração do mesmo a cada instante e da sua reatividade perante a extremidade da cadeia crescente. Esta extremidade pode apresentar as características de qualquer uma das unidades estruturais associadas a qualquer um dos dois monômeros.

Figura 3.40. Curva DSC obtida sob atmosfera dinâmica de N_2 (50 mL min^{-1}) e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ da amostra HP6L ($m = 1.95 \text{ mg}$).

Este resultado serviu de parâmetro inicial de ajuste e controle de processos de fabricação. Quando se utiliza uma laminadora para selagem de microestruturas, o conhecimento do ponto de fusão e início de amolecimento dos materiais poliméricos contidos no toner serve para o ajuste da temperatura

de laminação, pois sendo o toner formado por um “blend” ou copolímeros de bloco, deve-se garantir o amolecimento (transição vítrea) do polímero de adesão (ponto de fusão inferior) sem a fusão do polímero de aglutinação, aquele que garante a compactação da camada de toner. Elevar a temperatura pode comprometer o perfil e dimensões dos canais, pois seriam afetados pelo espalhamento do toner fluido.

Os dados obtidos com os testes de comparação do toner original da impressora contra o toner de cartuchos de recarga não demonstraram diferenças significativas quanto à temperatura de amolecimento. Muito embora as composições destes sejam diferentes, avalia-se que tais diferenças não poderiam comprometer a qualidade dos dispositivos produzidos, mesmo porque testes práticos de microfabricação com os dois materiais foram desenvolvidos e a não foi verificada diferença significativa quanto à qualidade dos dispositivos (selagem, refusão, resistência, etc.).

Considerando o resultado da análise elementar (CHN) e o resíduo de 48% a 900°C (normalizando para o óxido de ferro), a diferença pode ser atribuída ao oxigênio. A composição química resultante para o material orgânico seria $C_{86,2\%}H_{7,9\%}N_{0,2\%}O_{5,7\%}$. Poliestireno e PMMA têm as respectivas composições $C_{92,3\%}H_{7,7\%}$ e $C_{60,0\%}H_{8,0\%}O_{32\%}$. Isto sugere uma composição em torno de 82,1% de poliestireno e 17,9% de PMMA, correspondendo a uma composição em torno de $C_{86,3\%}H_{7,8\%}N_{0,0\%}O_{5,9\%}$, o que está muito próximo da verificada experimentalmente.

3.3.3.5 Caracterização Elétrica

Com relação à caracterização elétrica com o espectro de impedância, os resultados demonstraram a simplicidade para implementação do sistema de detecção condutométrica. No entanto, as microestruturas de camada simples apresentaram uma elevada impedância, trabalhando-se com microestruturas de camada dupla, os resultados são mais satisfatórios, indicando faixa de

comportamento resistivo da ordem de megahertz apropriado à detecção condutométrica em baixa frequência, conforme Figura 3.41.

Os ensaios de caracterização elétrica possibilitaram ainda definir uma faixa de frequência ótima para a implementação do sistema de detecção condutométrica, conforme Figura 3.42.

O espectro ilustrado na Figura 3.43 mostra que o comportamento da microestrutura com barreira obtida em camada dupla e 400 μm é de um dielétrico, pois o ângulo de fase é em torno de 90° , e a escala logarítmica do módulo da impedância apresenta redução linear em função do logaritmo da frequência.

Figura 3.41. Espectro do Módulo da Impedância.

Em situação ideal, a relação capacitiva entre os canais deve confirmar o comportamento dielétrico da barreira de toner. Ainda na Figura 3.43, verifica-se que o baixo e constante módulo da impedância e o ângulo de fase em torno de 0° indicam que os canais com barreira de 50 μm em camada dupla apresentam comportamento como um resistor, o que indica a comunicação entre os canais.

Os experimentos foram conduzidos em duplicatas com barreiras de toner de 50, 100, 200 e 400 μm . Em microestruturas produzidas em camada dupla, foram observados a comunicação (vazamento) entre canais abaixo de 100 μm , enquanto que as microestruturas confeccionadas em camada simples

Figura 3.42. Gráfico da variação do ângulo de fase em função da frequência.

apresentaram vazamento abaixo de 200 μm de barreira de toner. As regiões de ruído para a barreira de toner de 400 μm são devido à alta impedância em baixa frequência.

Assim, as limitações impostas sugerem que o processo preferível de fabricação de dispositivos é aquele em toner com camada dupla. Esta menor porosidade pode ser explicada considerando-se a refusão combinada das camadas de toner, o que pode levar a alguma sobreposição de camadas, ainda que superficialmente, uma vez que a análise dimensional não demonstra bruscas reduções de dimensões com a altura de canais em camada dupla.

Outro teste foi conduzido com microestruturas em camadas simples e dupla com canais de diferentes larguras (50, 100, 150, 200, 400 e 800), a fim de evidenciar possíveis deformações nos canais com o processo de laminação. Esta determinação foi conduzida seguindo a metodologia já empregada no

trabalho de mestrado, com a diferença de agora usar um analisador de impedância, conferindo maior confiabilidade às determinações.

Figura 3.43. Espectro do Módulo da Impedância de canais paralelos com 400 μm (a) e 50 μm (b) de barreira de toner. $|Z|$ e θ são respectivamente o módulo da impedância e o ângulo de fase e f é a frequência.

A determinação leva em conta a geometria do canal a condutividade do eletrólito (solução aquosa de KCl) utilizado para preencher o canal e a sua impedância. A Tabela 3.3 apresenta os resultados obtidos para canais produzidos em camada simples e dupla. Não foi possível realizar as medições para dispositivos em camada dupla de 50 μm , uma vez que, por conta de limitações com o alinhamento e aspectos dimensionais, grande parte dos canais acabava obstruída. O mesmo também foi observado para os canais produzidos em camada simples. Como o processo para os dispositivos produzidos nesta dimensão não era reprodutivo, optou-se por excluí-lo como parâmetro de produção.

Tabela 3.3 – Estimativa da Altura de Canal por Análise de Impedância.

Largura do Canal	Camada Simples	Camada Dupla
100	6 ± 2	14 ± 5
150	5 ± 2	$14,6 \pm 0,1$
200	5 ± 1	12 ± 1
400	$3,5 \pm 0,2$	9 ± 2
800	$2,58 \pm 0,05$	$6,5 \pm 0,2$

Para canais de 100, 150 e 200 μm , os resultados obtidos por perfilometria aproximaram-se muito bem dos resultados obtidos com este teste: em média, 6 μm obtido por perfilometria contra 7 μm obtido por condutividade. Cabe lembrar que resultados semelhantes foram obtidos por outras técnicas como a medição com micrômetros de camadas sobrepostas por decalque e monitoramento de corrente com fonte de alta tensão. No entanto para canais muito largos (400-800 μm) observou-se considerável redução dimensional de altura.

Essa variação dimensional vem a confirmar as observações com SEM, e explica-se por deformações provocadas pelo processo de laminação, onde os

roletes da laminadora exercem pressão e aquecimento no filme de poliéster, provocando sua deformação, conforme o esquema da Figura 3.44.

Assim, um importante parâmetro de processo, ou limitação de processo, diz respeito a largura dos canais. Conforme verificado, convém produzir microcanais na faixa de 100-200 μm de largura. Demonstrou-se que os parâmetros devem considerar que os canais não podem ter largura inferior a 100 μm . As barreiras, espaços entre canais, por segurança, não devem ser inferiores a 400 μm , e a largura dos canais não devem exceder 200 μm .

Figura 3.44. Esquema da variação altura contra largura do microcanal.

3.3.3.6 Determinação da Temperatura Real de Laminação

A determinação da temperatura real de laminação constituiu uma etapa importante, pois para um controle efetivo do processo essa informação possibilitou a redução das variações e melhorou a reprodutibilidade do processo.

Foi possível verificar por meio de inspeção visual, com o auxílio de um microscópio, a fusão dos materiais de referência. Pirogalol e uréia fundiram, enquanto que o ácido acetilsalicílico não fundiu. Como apresentado na Tabela 3.2, a uréia apresenta ponto de fusão de 135°C enquanto que o ácido acetilsalicílico tem ponto de fusão inicial em 138°C. Desta forma foi possível

determinar a temperatura real de laminação entre 136-137°C contra os 165°C de valor nominal. Cabe ressaltar que as tentativas de se instalar um sensor na laminadora não tiveram sucesso, pois a temperatura efetiva deve ser verificada no contato entre o substrato e os roletes da laminadora.

3.3.4 Considerações Finais

A interpretação dos espectros de FTIR e Difração de Raios X conduziram à conclusão quanto à presença de sílica. Esta informação é importante, pois a existência de sílica implica em admitir que, em meio aquoso, parte desta pode ser hidrolisada e os grupos silanóis, assim obtidos, podem conferir ao substrato certa aptidão em desenvolver condições favoráveis a formação de EOF, que foi devidamente medido.

A análise superficial trouxe uma noção mais realista quanto ao aspecto das microestruturas, bem como limitações ou possibilidades analíticas, visto que a irregularidade das bordas dos canais podem favorecer a fixação de fases líquidas ou sólidas e promover assim a modificação da natureza da fase.

Buscando a melhoria contínua da qualidade da impressão, foram realizados testes com as impressoras laserjet 6L (600 dpi), 1200 (1200 dpi) e 1300 (modelos mais recentes). Muito embora a qualidade da impressão quando o padrão é impresso na LaserJet 6L seja satisfatória, a resolução é melhor utilizando os modelos mais atuais, também é menor a distorção do padrão produzido em relação a imagem original. Já o modelo LaserJet 1300 (mais moderna) acrescentou ganhos de qualidade sendo adotada como impressora padrão para os processos de microfabricação, uma vez que é mais rápida e, portanto oferece ganhos de produtividade.

A caracterização elétrica também auxiliou na observação de limitações de construção do *lay-out* (padrão).

Em termos de custo, os materiais empregados apresentam ótima relação custo-benefício: dois centavos (R\$ 0,02) por cada dispositivo. Esta estimativa levou em conta o custo de toner e do filme de poliéster, não levando em conta o

custo com energia elétrica. Mesmo assim, verifica-se um custo por dispositivo bem inferior aos dispositivos produzidos por técnicas convencionais.

Conclui-se ser viável o desenvolvimento de microestruturas em toner sobre substrato de poliéster. As microestruturas são quimicamente resistentes, apresentam parâmetros para detecção bem definidos e o processo de microfabricação está bem estabelecido.

As informações obtidas possibilitaram uma real visão das potencialidades do processo de microfabricação desenvolvido.

3.4 Aplicações

3.4.1 Separação Eletroforética

3.4.1.1 Introdução

Como apresentado anteriormente, microdispositivos analíticos para CE vêm demonstrando sua viabilidade desde o início da década de 90. Muitos processos e materiais já foram empregados com sucesso.

As estratégias de detecção mais amplamente utilizadas são principalmente aquelas baseadas em métodos ópticos. Isso por conta do grande avanço dos processos de microfabricação em substratos adequados, principalmente vidro e quartzo [227].

Para o processo de microfabricação toner-poliéster, serão apresentadas aplicações testadas estrategicamente de modo a demonstrar a viabilidade e potencialidades do processo.

Para esta aplicação inicial optou-se por implementar uma estratégia de detecção pouco explorada por pesquisadores em microchip, mas que constitui uma importante técnica, na qual o Laboratório de Instrumentação Analítica do IQ-USP foi o pioneiro, e trata-se da detecção condutométrica sem contato ou oscilométrica [228].

Cabe ressaltar que é sempre um desafio ajustar métodos eletroquímicos de detecção a CE num processo de miniaturização, lembrando que temos que conciliar potenciais de eletrodos e campo elétrico aplicado frente à eficiência da separação eletroforética.

3.4.1.2 Parte Experimental

O padrão (*layout*) utilizado na versão mais recente é mostrado na Figura 3.45, em escala natural, projetado no programa CorelDRAW 7.0. O protótipo para um sistema de eletroforese capilar para detecção condutométrica foi

desenvolvido em dupla camada de toner sobre poliéster. Verificou-se que a produção de dispositivos em dupla camada apresenta menor possibilidade de falhas por obstrução de canal.

Os canais foram projetados com 150 μm de largura e de 30 a 40 mm de comprimento total de canal de separação, e um canal de injeção de amostra tipo duplo-T com *plug* que variou de 50 a 500 μm . Esta etapa contou com a colaboração do Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva (Unicamp).

Figura 3.45. Padrão desenvolvido para detecção condutométrica sem contato.

O desenho foi impresso em uma folha de poliéster CG3300 (3M, Brasil), utilizando-se uma impressora LaserJet 6L ou 1300 (Hewlett Packard). As estruturas foram cortadas, com auxílio de uma guilhotina ou tesoura, e seladas contra uma outra folha idêntica em uma laminadora AC91230 (Gazela, Brasil), onde foram prensadas e aquecidas e assim definiram-se os canais.

Os reservatórios foram formados utilizando um furador de papel e tubos de PVC ou ponteiros plásticos de pipetador automático (tipo Eppendorf) foram cortadas e coladas com adesivo tipo epóxi Araldite (Brascola – SP) para formar as paredes dos reservatórios.

O instrumental utilizado foi o usual de eletroforese pelo modo convencional. O sistema utilizado para aplicar a alta tensão foi uma fonte R15-30N (Matsusada, Japão). O detector condutométrico sem contato (oscilométrico), conforme Figura 3.46, foi o mesmo utilizado para eletroforese em capilares de sílica, mas a cela condutométrica foi adaptada para o formato da microestrutura.

Figura 3.46. Foto do detector utilizado.

Após diversas tentativas anteriores para implementação de eletrodos, a melhor solução foi o uso de fita adesiva de cobre (3M, Nova Zelândia). A fita adesiva de cobre foi utilizada para a confecção de dois eletrodos de 1 mm de largura, espaçados por 1 mm, os quais foram posicionados sobre o canal de separação, conforme Figura 3.47 (B).

Com o auxílio de um gerador de funções foi possível determinar a melhor frequência para trabalho. Um sinal de 530 kHz e com 10 V_{pp}, foi aplicado a um

dos eletrodos utilizando-se um gerador FG-8002 (Goldstar, Coréia). O sinal do detector foi interfaceado a um microcomputador Pentium® II através de uma placa PCL711 (Advantech, Tailândia) e o gerenciamento de dados foi realizado utilizando um programa em Delphi 5.0, em ambiente Windows 98.

A placa do circuito oscilométrico utilizado foi acondicionada em uma gaiola de Faraday (confeccionada em alumínio e aterrada) para evitar problemas de interferência. A Figura 3.46 apresenta a foto da placa do circuito oscilométrico para detecção sem contato.

A cela do detector com os eletrodos foram adaptados, juntamente com o microdispositivo, no interior da gaiola conforme se pode verificar na Figura 3.47 (A).

Figura 3.47. (A) Foto da gaiola com o microdispositivo e o detector e em (B) o detalhe da fixação dos eletrodos.

Os canais fabricados em camada dupla apresentam aproximadamente 12 μm de altura. A Figura 3.48 traz um esquema da microestrutura construída.

Um dos reservatórios foi preenchido com 100 μL de tampão e por capilaridade os canais foram preenchidos em poucos segundos e, em seguida,

adicionou-se o mesmo volume (para evitar variações hidrodinâmicas) de tampões e amostra nos demais reservatórios. Com o auxílio de uma seringa de 2 mL, vácuo pôde ser aplicado para favorecer o preenchimento do canal antes do preenchimento do reservatório oposto (do outro extremo do canal) de modo a evitar a formação de *plugs* de ar, o que influencia na eficiência da separação.

Figura 3.48. (A) Esquema da microestrutura. 1 e 4 – canal de separação e reservatórios para o tampão; 2 e 3 – canal e reservatórios para a amostra. (B) Destaca os eletrodos “a” e o reservatório “b”.

3.4.1.3 Resultados e Discussão

Uma solução contendo K^+ , Na^+ e Li^+ , na concentração $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi injetada em modo eletrocinético, aplicando-se 1 kV por 1 minuto nos reservatórios 2 e 3 da Figura 3.48.

Os reservatórios 1 e 4 foram preenchidos com tampão de corrida, composto por uma mistura equimolar de ácido 2-[N-morfolino]etanosulfônico e histidina, na concentração 30 mmol L^{-1} . A Figura 3.49 mostra o eletroferograma de uma separação obtida nas condições descritas. Note-se que a separação ocorre em apenas 0,8 min.

Este sistema formado por analitos e tampão foi selecionado em função do comportamento, quanto à separação e detecção, ser muito bem estabelecido em eletroforese no modo convencional.

Uma vez que parte do instrumental utilizado (fontes e circuitos eletrônicos) foi proveniente de adaptações do instrumental típico de separações em capilares de sílica, aonde o potencial típico de trabalho vai de 20 a 30 kV, verificam-se algumas inadequações. Um exemplo é a fonte de alta tensão cuja linearidade de potencial aplicado não se estende à faixa inferior de potencial (100 a 500 V), conforme Figura 3.50. Embora mostre boa linearidade, a faixa inferior da curva carece de mais pontos, que não foram obtidos devido a limitações de resolução.

Figura 3.49. Separação de alguns metais alcalinos na microestrutura de poliéster-toner.

Figura 3.50. Erro de Linearidade da fonte de alta tensão, tensão aplicada x tensão medida (real).

3.4.1.4 Considerações Finais

Microestruturas confeccionadas em toner-poliéster demonstraram resultados promissores. Pode-se demonstrar uma separação muito mais eficiente em sistemas capilares, mas convém ressaltar que os protótipos dos microdispositivos estão ainda em fase de desenvolvimento e otimização. Ainda assim, verificou-se um tempo de separação de frações de minuto, o que constitui uma vantagem quando comparado aos minutos de uma separação convencional.

Conclui-se que, mesmo diante das limitações com a miniaturização de técnicas eletroquímicas, mecânicas e arranjo físico, ainda assim foi possível desenvolver e implementar CE com detecção condutométrica sem contato.

Este trabalho foi amplamente divulgado em congressos e artigo [222] [229].

3.4.2 Microestruturas para Espectrometria de Massa Molecular com Ionização por Eletronebulização

3.4.2.1 Introdução

São muitas as estratégias para análise por espectrometria de massa e introdução de amostra por *electrospray* ou eletronebulização (ESI) com microchip [77] [230-239]. Geralmente, estas envolvem dispositivos não-consumíveis, como vidro, quartzo, silicone e acrílico entre outros.

Pensou-se em utilizar o processo de microfabricação toner-poliéster [218] [220], aplicando-o para obtenção de microestruturas que favoreçam a introdução de amostras via ESI para análise de espectrometria de massa.

O principal ganho direto com a utilização de microestruturas descartáveis em espectrometria de massa com ESI, além da redução do volume de amostra utilizado, é a minimização do sério problema de contaminação entre amostras (*carrier over*), ou efeito de memória.

Sistemas multicanais e microdispositivos construídos em PET, além dos tradicionais em quartzo ou vidro [240], já foram implementados por muitos pesquisadores, dentre eles Karger e colaboradores e Girault e colaboradores, construídos por LA. Muitos outros trabalhos vêm sendo divulgados, destacando-se dispositivos em forma de estrelas pontiagudas que, quando rotacionadas, atuam como sistemas multicapilares produzidos em PMMA, ou até dispositivos fabricados em PDMS. Já Harrison optou por dispositivos mistos microchip-capilar, acoplando a extremidade do microchip um capilar de sílica [129-31] [237] [241-243].

Um Chip-MS, como são chamados os dispositivos microfabricados para ESI, é uma clara demonstração de que nem sempre toda a seqüência do instrumental analítico precisa ser miniaturizado. Neste caso, um pequeno chip é acoplado a um espectrômetro geralmente de grande porte [244].

Assim, não apenas o interfaceamento ou acoplamento de técnicas, como CE-MS ou CE-ESI [245-247], mas também o desenvolvimento de aplicações como dosagem de peptídeos, proteínas, limpeza de amostras, diálises, compostos sulfurosos, dentre outros, além da caracterização da técnica e aumento da sensibilidade são assuntos ainda muito estudados [240] [248-253].

No presente trabalho, os dispositivos foram produzidos por meio do processo toner-poliéster em dimensões típicas de 13 x 25 mm e com dupla camada de toner.

Este trabalho foi desenvolvido em parceria com o Dr. José Geraldo Alves Brito Neto.

3.4.2.2 Parte Experimental

As microestruturas (Figura 3.51) foram construídas em substrato de poliéster (PET) desenvolvidas em CorelDRAW e impressas em impressora laser (HP LaserJet 6L) que utilizam toner (HP C3906A).

Figura 3.51. Exemplo de padrão utilizado para impressão.

Uma fonte *electrospray* (eletronebulização) pôde ser obtida aplicando-se alta tensão em uma gota de solução que era colocada sobre o reservatório (grande corte circular no poliéster) que foi preparado com dispositivo adequado (furador), conforme Figura 3.52. A estrutura era posicionada próxima ao cone de amostragem (contra-eletrodo) do espectrômetro de massa. O *electrospray* se forma entre a ponta da estrutura e o cone de amostragem. O transporte de

solução do recipiente até a região do *electrospray* se dava através do microcanal por capilaridade, ou por diferença de pressão.

Para os testes preliminares, foram desenvolvidos diversos projetos de microestruturas. As dimensões típicas dos canais giraram em torno de 100 a 500 μm de largura e de 6 a 12 μm de altura, com secção retangular. A altura depende da laminação. Quando o substrato é laminado em camada simples, temos canais com 6 μm e 12 μm quando dupla. A Figura 3.53 ilustra os principais modelos utilizados.

Figura 3.52. Furador de filme de poliéster, preparado em acrílico e guia de furação em bronze (A); reservatório (B).

Figura 3.53. Microestruturas confeccionadas, (A) com extremidade reta e triangular e em (B) com orifício de saída perpendicular ao canal.

Após selagem na laminadora, obteve-se um grande conjunto de microestruturas que podem ser separadas com tesoura ou com o auxílio de uma

guilhotina. A guilhotina possibilita a obtenção de microestruturas melhores do que com a tesoura. O atrito contínuo durante o corte pode eventualmente provocar a perda de adesão entre os filmes, o que não ocorre quando utilizamos uma guilhotina (corte único). O uso de guilhotina também possibilita obter estruturas com corte triangular, muito difícil de se obter com tesouras.

A Figura 3.54 ilustra estruturas obtidas realizando-se um furo no sentido da secção do canal no filme do lado oposto ao reservatório. Neste caso o *electrospray* é gerado perpendicularmente ao microcanal na face inferior. O orifício para a saída do *electrospray* perfurado com uma agulha de insulina de 300 μm de diâmetro, cega, aquecida e em rotação apresentou os melhores resultados, mas também foram feitos furos manuais, com furadeira, a frio, a quente e com microbrocas de dentista, como ilustrado na Figura 3.54.

Estas microestruturas eram apoiadas perpendicularmente ao microcanal com o auxílio de um contra-eletrodo colocado paralelamente à microestrutura e arrastava-se o material expelido até o cone de amostragem através de um fluxo de nitrogênio.

O primeiro teste de utilização das microestruturas para a geração de *electrospray* para espectrometria de massa foi feito fixando as mesmas e o sistema de aplicação de alta tensão com fita adesiva a uma régua de acrílico, que era então inserida na região do cone de amostragem do espectrômetro de massa. Para facilitar o apoio da régua e para aplicar a tensão necessária ao cone de amostragem foi montada uma flange de acrílico que era colocada no lugar do bloco contendo o contra-eletrodo original do aparelho.

A Figura 3.55 apresenta um esquema de funcionamento e a Figura 3.56 contém fotos da flange separada e fixada ao espectrômetro de massa. A faixa escura na parte inferior da flange é uma tira fina de cobre, ligada a um borne na frente da flange, que é usada para aplicar a tensão desejada no cone de amostragem. A régua é inserida pelo buraco central da peça, que é grande o suficiente para permitir a passagem do cabo de alta tensão.

Nestes primeiros testes, foi possível observar a chegada de íons ao detector, porém isto acontecia de forma muito instável e pouco reprodutível. Pois

era necessário determinar uma melhor sistemática para o posicionamento e alinhamento da microestrutura em relação ao cone de amostragem e a fixação da régua na flange.

Figura 3.54. Microestruturas confeccionadas, (A) e (B) com agulha quente e rotação (C) e (D) com broca quente.

Figura 3.55. Esquema para geração de electrospray utilizando microestrutura.

Figura 3.56. (A) Flange; (B) cone de amostragem; (C) flange instalada no espectrômetro de massa.

Utilizando-se uma prancha confeccionada em acrílico, foi possível obter melhores resultados em termos de estabilidade e reprodutibilidade através do alinhamento mais eficiente em relação ao cone de amostragem. A Figura 3.57 contém fotos deste sistema.

Figura 3.57. (A) microestrutura apoiada sobre a prancha; (B) prancha alinhada com o cone de amostragem.

Muito embora uma acentuada melhora tenha sido verificada, aperfeiçoamentos ainda eram necessários, pois o plano da prancha ainda podia inclinar-se para cima devido ao peso do cabo de alta tensão. Também a fixação da microestrutura sobre o acrílico era feita com fita adesiva, de modo que o alinhamento horizontal ainda era problemático. Outro problema encontrado foi a dificuldade de restringir as soluções à região do reservatório das microestruturas, principalmente na presença de grandes quantidades de metanol ou acetonitrila. Nestes testes não foram utilizados dispositivos por perfuração pois a saída perpendicular do electrospray dificultava o alinhamento ao cone.

Procurou-se então analisar o comportamento da amostra na extremidade da microestrutura quando submetida ao campo elétrico. Esta análise foi realizada com o auxílio de um microscópio óptico, e buscava-se registrar a formação do cone de Taylor. Com esses trabalhos, verificou-se a necessidade de aplicar pequena pressão junto ao reservatório para auxiliar no bombeamento de amostra até a saída do microcanal e também de uma superfície hidrofóbica na extremidade, pois o líquido (com metanol, acetonitrila e água) apresentava grande molhabilidade da superfície do poliéster.

A pressão ótima para trabalho girou em torno de 50 cm de coluna de água, o que foi obtido com a aparelhagem montada conforme a Figura 3.58, utilizando uma bomba de aquário e um tubo de PVC. Já a questão da tensão superficial da matriz da amostra foi resolvida molhando a extremidade em OV1 (polidimetilsiloxano) em concentração $0,025 \text{ g mL}^{-1}$ em clorofórmio que era evaporado aplicando pressão positiva no interior do microcanal com um pequeno jato de nitrogênio evitando assim a obstrução do microcanal.

A Figura 3.59 apresenta o cone de Taylor registrado após os aperfeiçoamentos realizados utilizando solução 1 mmol L^{-1} de NaCl em metanol 50% (v/v) em microestrutura de dupla camada e $500 \text{ }\mu\text{m}$ de largura sob um campo de 3 kV.

Para monitorar a corrente entre o microcanal e o contra-eletrodo, para que se tenha uma boa noção da ocorrência ou não do electrospray, foi montado

um microamperímetro em série com o eletrodo de interesse, conforme o esquema da Figura 3.60, que podem ser vistos nas fotos da Figura 3.61.

A construção deste microamperímetro permitiu observar três regimes de corrente durante os experimentos: (1) correntes muito baixas, menores que 20 nA, devidas à fuga de alta tensão sobre o poliéster, (2) correntes intermediárias, da ordem de 100 a 300 nA, devidas ao electrospray e (3) correntes altas, maiores que 1 μ A, quando havia descarga elétrica (descarga Corona). Assim podiam se ter maiores informações sobre o que estava ocorrendo na extremidade do microcanal.

Figura 3.58. (A) Sistema de pressurização para as microestruturas esquema e (B) foto.

Figura 3.59. (A) Cone de Taylor após pressurização e aplicação de 3 kV por 5 min.; (B) cone sendo formado unidirecionalmente ao contra-eletrodo.

Figura 3.60. (A) Microamperímetro para monitorar a corrente que no o cone de amostragem; (B) esquema elétrico do conversor corrente-tensão montado.

(A)

(B)

Figura 3.61. (A) Microamperímetro: placa de circuito; (B) dispositivo fechado.

Continuando com o aperfeiçoamento, foi desenvolvido um sistema de travamento para o suporte da microestrutura, resolvendo a questão do alinhamento. Tratou-se de dois discos concêntricos de acrílico separados por um espaçador de PVC. Também foi montado um sistema para vedação do reservatório, utilizando-se um anel de vedação de neoprene. A alta-tensão foi aplicada por meio de um eletrodo de inox fixado através de um septo de silicone e complementando o sistema, instalou-se um pequeno tubo de acrílico que teve por finalidade injetar nitrogênio na direção do cone de amostragem para renovar

a atmosfera e facilitar o processo de dessolvatação. A Figura 3.62 apresenta esse sistema montado.

Figura 3.62. (A) Sistema de posicionamento desmontado; (B) montado; (C) suporte para microestruturas para electrospray unidirecional: suporte desmontado; (D) suporte montado vista superior; (E) vista frontal; (F) suporte acoplado ao sistema de posicionamento.

Por fim, os dispositivos produzidos em toner-poliéster recebiam um tratamento com silicone (OV1 - Carlo Erba) para aumentar a hidrofobicidade da superfície do poliéster, evitando o espalhamento do líquido ao sair do canal e favorecendo a formação de uma gota. Os dispositivos utilizados tinham 150 e 200 μm de largura de canal, demonstrados na Figura 3.63, e foram utilizados

preferencialmente aqueles produzidos com extremidade triangular (pontaguda), o que levava a obtenção de cones bem definidos, além de facilitar a centralização.

Figura 3.63. (A) Dispositivos toner-poliéster antes do corte; (B) depois do corte em guilhotina.

Na montagem do sistema foi utilizado um microscópio óptico interfaceado com microcomputador equipado com placa de captura de imagem, conforme Figura 3.64. Desta forma foi possível registrar a formação do cone e otimizar parâmetros de construção e centralização dos dispositivos.

Figura 3.64. (A) Esquema do sistema montado para registro de imagens da formação do cone de Taylor, (B) Detalhe da microestrutura montada no suporte.

3.4.2.3 Resultados e Discussão

A Figura 3.65 apresenta o cone de Taylor registrado após os aperfeiçoamentos realizados utilizando solução 1 mmol L^{-1} de KCl em água/metanol 9:1 (v/v) em microestrutura de dupla camada e $500 \text{ }\mu\text{m}$ de largura sob um potencial de 3,5 kV (Glassman, Whitehouse Station, NJ). Foi utilizado um contra-eletrodo de cobre posicionado a 3 mm e pressão de 50 cm de coluna de água para auxiliar no fluxo da solução.

Figura 3.65. Cone de Taylor após pressurização (a) e com aplicação de 3,5 kV (b).

O cone de Taylor foi estabilizado numa faixa de corrente de 170 e 240 nA para microcanais de 150 e $200 \text{ }\mu\text{m}$ de largura, respectivamente.

Os resultados obtidos foram bastante promissores quanto a seus potenciais de aplicação. Testes realizados com solução 1 mmol L^{-1} de glucosamina em água/metanol 50% (v/v), sob corrente de 100 nA gerou sinal estável e livre de descarga corona, por intervalos de tempo muito curtos (dezenas de segundos). Testes foram registrados com solução 1 mmol L^{-1} de NaCl (na busca por determinação de cloretos), a corrente foi cerca de $1,5 \text{ }\mu\text{A}$, acompanhado de descarga corona, mas permitiu a verificação do cluster do íon cloreto, conforme demonstrado pelo espectro da Figura 3.66.

Figura 3.66. Espectro obtido para sol. 1 mmolL⁻¹ de NaCl em metanol 50%.

3.4.2.4 Considerações Finais

Ficou evidente o grande comprometimento entre a distância da ponta da microestrutura ao cone de amostragem e a tensão que é aplicada para a obtenção do *electrospray* e para que as gotículas formadas se dessolvatem, gerando íons detectáveis na fase gasosa. Outro aspecto só percebido recentemente diz respeito à geometria do canal. Verificou-se uma relação ótima entre largura e altura do canal de modo a garantir menor deformação do poliéster e integridade dimensional do canal.

Foi possível concluir que os dispositivos construídos por meio do processo toner-poliéster mostraram-se adequados ao uso da técnica de ESI. O uso de metanol reduz a tensão superficial, possibilitando a obtenção de cones bem definidos sem que ocorra a dissolução do filme polimérico ou danificação dos dispositivos. Toda a etapa de formação do *spray* foi efetuada livre da

presença de descarga corona, o que comprova a viabilidade técnica destes dispositivos.

Foram obtidos registros (imagens) da formação do cone de Taylor e o trabalho foi apresentado em congresso internacional [254].

3.4.3 Microestruturas Toner-Poliéster com Detecção Amperométrica

3.4.3.1 Introdução

Este trabalho completa o quadro de aplicações para o processo de microfabricação toner-poliéster. O primeiro trabalho de aplicação apresentado, demonstrou a utilização de sistemas de detecção eletroquímica baseada na detecção condutométrica sem contato. Já esta aplicação pretende demonstrar a viabilidade destes microchips quanto à implementação de sistema amperométrico de detecção.

As vantagens e o processo de microfabricação já foram devidamente apresentados e os trabalhos com detecção amperométrica são uma continuação e evolução das aplicações anteriores.

A implementação de sistemas de detecção amperométrica para eletroforese envolveu a participação de Wendell Karlos Tomazelli (doutorando IQ-USP-São Carlos), Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter (IQ-UFU) e ainda com a colaboração do Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva (IQ-Unicamp).

Uma implementação satisfatória de detecção eletroquímica foi apresentada em 1998 por Woolley e colaboradores, sendo que hoje temos modos de detecção amperométrica bem estabelecidos[255-257]. O grande desafio é o isolamento do eletrodo de trabalho do campo elétrico do canal de separação. O desacoplamento é necessário para realizar a detecção no final do canal [257-258].

Normalmente, o eletrodo de trabalho é confeccionado em platina ou várias formas de carbono por processos de fotolitografia [256] [259] ou técnicas de sputtering. Neste trabalho, foi aproveitada a idéia do Prof. Dr. Lúcio Angnes e colaboradores, que desenvolveram eletrodos com CDs regraváveis.

A proposta foi unir as duas técnicas de fabricação, o microchip para eletroforese com a detecção amperométrica no final do canal. Os microdispositivos foram fabricados por impressão a laser com toner sobre filme

de poliéster. Para detecção amperométrica, foram utilizados Au-CDtrodos produzidos por tecnologia que utiliza impressão com toner como máscara para obtenção dos eletrodos. Este processo de microfabricação nasceu dos trabalhos que serão descritos no capítulo cinco.

3.4.3.2 Parte Experimental

O final do canal foi distanciados dos eletrodos (sistema de detecção) por meio de um parafuso micrométrico de ajuste de distância. Assim, o campo elétrico foi desacoplado em relação ao eletrodo de trabalho. Esse ajuste causou algumas complicações quanto à precisão, por conta de certa difusão natural com o espaçamento, o que inicialmente provocou perda de eficiência e intensidade de picos.

Os microchips foram fabricados utilizando-se a tecnologia de microfabricação de canais com toner-poliéster com dupla camada. Reservatórios de 5 mm de altura, confeccionados com tubos de PVC de 7 mm de diâmetro externo, foram colados nas saídas dos canais com cola à base de epóxi. Utilizou-se neste trabalho microchips com canais de 150 μm de largura e 6 cm de comprimento. O comprimento do percurso de injeção foi também de 150 μm .

Dentre os materiais e reagentes utilizados destacam-se os filmes de transparência CG 3300 (3M, Sumaré-SP, Brasil), CDs de ouro regravável (Mitsui, Colorado, USA). Água ultrapura (resistividade 18 $\text{M}\Omega\text{cm}$) utilizada na preparação de soluções aquosas. Iodeto de potássio (Synth, Diadema-SP, Brasil), ácido ascórbico e catecol (Sigma, St. Louis, USA). Tampão borato (10 mmolL^{-1} , pH = 9.2). Tampão fosfato (10 mmolL^{-1}). Brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) (Vetec, Rio de Janeiro-RJ, Brasil) e resina amberjet 4400 OH (Sigma, St. Louis, USA).

A impressão foi feita em uma impressora Hewlett Packard LaserJet 1300 com toner Q2613A operando a 1200 dpi (*dots per inch* – pontos por polegada) no melhor modo de impressão.

Após impressão uma das partes foi perfurada, para possibilitar o acesso aos canais (com furador). Em seguida, as partes foram alinhadas e laminadas para promover a selagem. A Figura 3.67 apresenta as etapas do processo.

A laminação foi realizada com uma laminadora AC91-230 (Gazela, Divinópolis-MG, Brasil) a 130°C e 45 cm min⁻¹. Os dispositivos são cortados com uma guilhotina para melhorar o alinhamento da estrutura no suporte. Os reservatórios são formados colando tubos de PVC de 7 mm d.e. e 5 mm de comprimento.

Figura 3.67. Processo Toner-Poliéster destacando a deposição do filme de toner definindo os microcanais (a) e a fixação dos reservatórios (b).

A Figura 3.68 apresenta o layout do microdispositivos utilizados. O reservatório de descarte foi cortado para promover o acoplamento com o dispositivo de detecção amperométrica. Os canais de separação e injeção foram projetados com 55 mm e 17 mm de comprimento, respectivamente. O comprimento efetivo do canal de separação (a partir do *plug* de injeção) é de 50 mm. Os canais impressos apresentam 12- μ m de altura e 150- μ m de largura. O volume de injeção calculado é de 270 pL. Na Figura 3.67, é apresentado o

reservatório de amostra (3), o reservatório de descarte (1) e o reservatório de tampão (2) no canal de separação.

Figura 3.68. Layout do dispositivo utilizado.

De modo semelhante ao processo de produção dos microcanais, os eletrodos também são impressos a partir de um padrão estabelecido por programas usuais (PowerPoint ou CorelDraw), decalcados sobre o CD-RW, de onde o filme polimérico de proteção das áreas expostas foi removido com HNO_3 . A dimensão típica dos eletrodos obtidos é de 0,5 x 4 cm (largura x comprimento). A etapa de transferência do padrão é realizada com uma prensa térmica (HT 2020, Ferragini, São Carlos-SP, Brasil) a 120 °C durante 2 minutos. O ouro é removido por solução de iodo/iodeto ($0,1/0,6 \text{ molL}^{-1}$) e o toner depositado que funciona como mascara pode ser facilmente removido com acetonitrila sem alterar ou danificar o filme metálico. A conexão elétrica foi feita com cabo flexível de cobre, mantendo o contato imobilizando com fita teflon.

A partir de um CD-RW é possível obter até 50 pares de eletrodos. A fabricação dos microeletrodos de ouro baseou-se no trabalho de Daniel e Gutz [260]. Os eletrodos de ouro (eletrodos de trabalho) foram obtidos a partir de CD-Rs de ouro de marca Nipponic, Kodak Gold Ultima ou Mitsui Gold Standard.

Foram confeccionados eletrodos duplos de 100 μm de largura e 100 μm de espaçamento entre eles, sendo que um ou dois destes eletrodos foram

posicionados simultaneamente na saída do canal de separação. A Figura 3.69 apresenta uma representação das etapas para confecção dos eletrodos, além da foto com o aspecto final.

Figura 3.69. Etapas de produção do microeletrodo duplo de ouro. (a) Desenho, (b) CD-RW - decalque (0,5 e 4 cm), (c) CD-RW – remoção do ouro com iodo/iodeto, (d) Remoção do toner com acetonitrila, (e) Imagem ampliada do eletrodo de ouro com $\sim 100 \mu\text{m}$ de largura com espaçamento de $\sim 100 \mu\text{m}$; a região preta e amarela indicam superfície exposta de toner e ouro respectivamente.

A Figura 3.70 ilustra o equipamento para detecção amperométrica que foi confeccionado montando-se um suporte para o microchip em acrílico, para uma configuração de detecção com 3 eletrodos. Os eletrodos de referência e auxiliar são posicionados lateralmente ao canal no reservatório. O volume do reservatório é de aproximadamente 5 mL. Este arranjo possibilita menor nível de ruído. Mantas de silicone são utilizadas para manter firme o microchip no suporte. O eletrodo de trabalho é fixado de modo a manter-se perpendicular a direção do fluxo no canal de separação. A distância do eletrodo para a saída do canal de separação é ajustada por meio de um parafuso (microposicionador) de modo a fornecer máxima sensibilidade e redução de ruído.

de cetiltrimetilamônio (CTAH), foi adicionado ao tampão borato de modo a modificar o fluxo eletrosmótico (EOF).

Figura 3.71. (a) Eletrodos de Au obtidos a partir de CD-Rs; (b) Sistema desenvolvido para a implementação de um detector amperométrico para microestruturas de poliéster-toner. (1) microchip; (2) eletrodo de platina eletroforese; (3) eletrodo de trabalho; (4) eletrodo auxiliar de platina; (5) eletrodo de referência (Ag/AgCl saturado); (6) manta de silicone.

Os eletroferogramas foram reportados com uma resolução de 0,1 s quando aplicado um potencial fixo e filtrados por programas adequados e usuais (Origin 6).

A medida da magnitude do EOF foi determinada utilizando-se da injeção de um composto sem carga. O composto neutro utilizado foi o catecol, que é eletroquimicamente ativo em tampão fosfato sobre a superfície de eletrodo de ouro. A mobilidade aparente do catecol foi medida variando-se o pH de 2 a 12. Uma solução 1 mmol L^{-1} de catecol foi injetada por 1,0 kV por 10 s e detectada a 0,75 V. Foi utilizado um potencial de separação de 3 kV. Monitorando-se o tempo de migração do catecol e conhecendo o comprimento efetivo do canal, foi

possível calcular a velocidade do fluxo eletrosmótico. A mobilidade eletrosmótica foi obtida dividindo-se a velocidade do EOF com o campo elétrico aplicado no canal.

Figura 3.72. Montagem em acrílico. (A) visão 3D, (a) borracha de silicone, (b) microchip toner-poliéster, (c) reservatório de detecção, (d) guia para controle de stância canal - eletrodo, (e) bloco acrílico para fixação dos eletrodos, (f) eletrodo de balho - Au-CDtrode, (g) eletrodo de referencia, (h) eletrodo auxiliar, (i) CE – eletrodo platina (potencial). (B) Detalhe do arranjo dos eletrodos. (C) Vista lateral e (D) Vista superior.

3.4.3.3 Resultados e Discussão

Os primeiros testes com detecção amperométrica no final do canal de separação foram realizados utilizando solução de iodeto $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão borato 10 mmol L^{-1} , CTAH $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, utilizando geometria de injeção em duplo-T, com microestrutura de $350 \times 150 \times 12 \mu\text{m}$ (volume: 630 pL), injeção em $1,0 \text{ kV}$ por 30 s , E_s : $1,0 \text{ kV}$ e E_d : $0,9 \text{ V}$ nos dois eletrodos.

Figura 3.73. Variação da resposta utilizando eletrodos duplos.

Analisando-se a Figura 3.73, verificou-se uma variação no sinal de resposta em função do tempo entre os dois eletrodos, o que demonstrou a necessidade de se otimizar as variáveis analíticas como geometria, tempo de injeção e potencial de detecção.

A Figura 3.74 apresenta o comprometimento entre a variação de resposta e o potencial aplicado no eletrodo de trabalho, foi um importante parâmetro ajustado. O posicionamento do eletrodo de trabalho em relação ao canal de separação também foi crucial para o bom funcionamento da técnica. Se este estivesse muito distante da saída, a diluição causada pela difusão do analito no reservatório causava a diminuição da corrente faradaica e na pior situação o analito não era detectado. Por outro lado, se o eletrodo de trabalho estivesse muito próximo da saída, ou inserido no canal de separação (*on channel detection*) o campo elétrico utilizado na separação causava interferência no potencial aplicado, elevando o ruído no detector.

Figura 3.74. Variação na resposta do detector para diferentes potenciais aplicados ao eletrodo de trabalho. Iodeto $10 \mu\text{molL}^{-1}$ e ascorbato $40 \mu\text{molL}^{-1}$, Tampão: borato 10 mmolL^{-1} , CTAH $0,2 \text{ mmolL}^{-1}$ (pH 9,2), Injeção: 1 kV por 10 s. Es: 2 kV.

A Figura 3.75 mostra a separação de iodeto e ascorbato em uma microestrutura de toner-poliéster de camada dupla com canal $150 \mu\text{m}$ de largura, $12 \mu\text{m}$ de altura e 5 cm de comprimento, em vários potenciais de separação aplicados. Através da aplicação de 900 mV ao eletrodo de trabalho, ambos

analitos podem ser detectados. Foi utilizada uma solução de borato 10 mmol L^{-1} (pH 9,2) e CTAH $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ como tampão de corrida. O CTAH tem como função a reversão do fluxo eletrosmótico (EOF). Como esperado, o tempo de migração diminui com o aumento do potencial de corrida. Outro ponto interessante é a diminuição da largura dos picos com o aumento do potencial de separação, o que concorda com o fato da dispersão das zonas por difusão longitudinal ser inversamente proporcional ao tempo que o analito leva para atravessar o canal de separação.

Figura 3.75. Separações eletroforéticas de (1) iodeto $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e (2) ascorbato $40 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em microchip de poliéster-toner em diversos potenciais. Condições: Tampão borato 10 mmol L^{-1} , CTAH $0,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (pH 9,2); Detector: 900 mV aplicado ao eletrodo de Au; Injeção: 1 kV por 10 s.

Com a utilização de dois eletrodos de trabalho, há a possibilidade de aplicar diferentes potenciais aos eletrodos para permitir a diferenciação dos analitos e, conseqüentemente, uma melhor caracterização da amostra. A Figura

3.74 mostra eletroferogramas obtidos em três condições de potencial aplicado aos eletrodos de trabalho. Percebe-se que o iodeto praticamente não é detectado em 850 mV, ao passo que o pico referente ao ascorbato não sofre redução significativa. Isto também pode ser utilizado com vantagens na eliminação de possíveis interferentes presentes na amostra.

A Figura 3.76 apresenta os resultados obtidos para a mobilidade do catecol ($pK_a = 9,48$) em diferentes pHs. Catecol é eficientemente neutro para pH 8,5 e pode atuar perfeitamente como um marcador neutro.

Figura 3.76. Efeito do pH do tampão fosfato para a determinação da mobilidade do catecol como marcador de EOF. Cada ponto do gráfico é uma média de três determinações. Catecol 1 mmolL^{-1} , Tampão fosfato 10 mmolL^{-1}

Na Figura 3.76, a mobilidade eletrosmótica nos canais toner-poliéster ($\sim 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$) é bastante baixa se comparada com outros materiais comuns como a sílica ($\sim 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Para valores de pH entre 2 e 4 o catecol foi determinado utilizando voltagem reversa, pois, em modo normal, o catecol não é detectado. Esta inversão foi necessária devido à formação de uma camada

positiva junto à parede de poliéster, que após hidrólise encontra-se protonada. Esta camada é neutralizada em pH por volta de 5,5. Para os pHs 6, 8 e 10 o catecol foi determinado em fluxo normal. O EOF neste intervalo de pH pode ser resultado da dissociação de sílica presente no filme de poliéster. Em elevados valores de pH, o poliéster pode ser hidrolisado, gerando grupos carboxilatos. Com isso ocorre um incremento na densidade de carga negativa. Para pH 12, é possível observar um considerável aumento da mobilidade.

Para ilustrar a funcionalidade dos microdispositivos desenvolvidos, diversos experimentos com iodeto e ascorbato foram realizados. Em seguida, foram registrados gráficos de máxima corrente para cada analito em função do potencial aplicado gerando assim “voltamogramas hidrodinâmicos” (HDV). Alguns HDVs obtidos com microchips são mostrados na Figura 3.77. Pode-se observar aumento de corrente com o aumento do potencial de detecção até um sinal máximo de +0.90 V. O decréscimo seguido deve-se a formação de óxido no eletrodo de trabalho. Assim, chega-se ao melhor potencial de detecção: +0.90 V, para uma resposta de corrente máxima, como mostrado na Figura 3.77.

Figura 3.77. Voltamograma Hidrodinâmico para o iodeto ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ascorbato ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$). Injeção: 1,0 kV/10s, potencial: 3,0 kV. Tampão borato 10 mmol L^{-1} com CTAH $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 9.2.

A Figura 3.78 mostra um eletroferograma obtido usando um Au-CDtrodo como eletrodo de detecção EC para determinação de uma mistura de concentração submilimolar contendo (a) iodeto e (b) ascorbato. A estabilidade e baixo ruído na linha base deve-se ao ótimo desacoplamento obtido, o que indica bom isolamento do campo elétrico.

Figura 3.78. Eletroferograma mostrando a separação de iodeto ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) e ascorbato ($40 \mu\text{mol L}^{-1}$). Potencial de Separação: 4.0 kV (800 V cm^{-1}); Potencial de Detecção: $0,9 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl). Injeção: $1,0 \text{ kV/ 10 s}$, Tampão: borato de sódio, 10 mmol L^{-1} com CTAH $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 9,2.

O estudo do tempo de injeção possibilitou verificar o tempo de injeção ótimo levando em conta a largura e altura de picos, conforme ilustrado na Figura 3.79, e estas condições são observadas para 10 s de tempo de injeção. As condições para realização deste estudo foram: Geometria em cruz ($150 \times 150 \times 12 \mu\text{m}$ – 270 pL – *plug*), iodeto $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, tampão: borato de sódio 10 mmol L^{-1} , CTAH $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 9,2, E_s : $3,0 \text{ kV}$, E_i : $1,0 \text{ kV}$ e E_d : $+ 0,9 \text{ V}$.

Figura 3.79. Estudo para otimização do tempo de Injeção. Geometria em cruz (150x150x12 μm - 270 pL), Solução de iodeto (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Separação: 3,0 kV – Detecção: 0,900 V.

A curva de calibração utilizando 10 s de tempo de injeção e 3,0 kV de potencial de separação demonstrou uma resposta linear para iodeto ($r^2 = 0,998$ numa amplitude de 2 mmol L^{-1} a 30 mmol L^{-1}) e ascorbato ($r^2 = 0,996$ numa amplitude de 10 mmol L^{-1} a 50 mmol L^{-1}). Trabalhando com os limites de ruído mais baixos, foi possível obter limites de detecção de 500 nmol L^{-1} (135 amol) e 1,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (486 amol) para iodeto e ascorbato, respectivamente. Os tempos de

migração obtidos para os analitos em questão foram de $16,80 \pm 0,4$ e $39,20 \pm 0,3$ s, respectivamente ($n = 9$). Em ensaios de repetibilidade, foi observado um decréscimo de corrente para o iodeto e ascorbato de 12,6 % e 2,9 %, respectivamente. Estes resultados são apresentados na Figura 3.80 e 3.81.

O potencial de separação influencia significativamente a separação e detecção dos analitos, conforme demonstrado na Figura 3.82 e 3.83, para a mistura de iodeto e ascorbato por meio de uma variação de potencial de 1,0 a 4,5 kV (incrementos de 0,5 kV). A largura de pico decresce com o aumento do potencial, de 8,30 s a 1,5 kV para 2,25 s a 4,0 kV, no caso do iodeto, por conta da redução da taxa de difusão do *plug* de amostra. O decréscimo observado, também, para os tempos de migração dos analitos está diretamente associado com a dependência do campo elétrico e a velocidade de migração dos analitos, conforme Figura 3.83 que demonstra um campo elétrico linear, além de demonstrar ser pouco significativo o efeito *Joule*.

Verifica-se que dois picos, iodeto e ascorbato, podem ser perfeitamente resolvidos quando aplicado um potencial de separação. Podemos verificar resolução de 2,45 (1,0 kV) a 3,65 (4,5 kV) e a eficiência a 4,0 kV foi $1,0 \cdot 10^4$ e $1,6 \cdot 10^4$ pratos/m, respectivamente para o iodeto e ascorbato. O valor teórico de eficiência máxima é de aproximadamente $1,8 \cdot 10^6$ pratos/m. A razão entre os valores experimentais e teóricos é de 0,55 a 0,89 % para iodeto e ascorbato, respectivamente. Uma relação semelhante foi apresentada por Gawron e colaboradores [212] [261] utilizando microchip em PDMS e canais de 50 μm de profundidade e 25 mm de comprimento. Os autores obtiveram eficiência entre $7,3 \cdot 10^4$ e $9,1 \cdot 10^4$ pratos/m e eficiência teórica máxima de $2,8 \cdot 10^7$ pratos/m, o que corresponde a uma relação de 0,26 a 0,32%.

Os microchips, obtidos por meio do processo desenvolvido com esse trabalho, demonstraram melhor eficiência em relação ao referido trabalho divulgado. No entanto, as irregularidades do canal, inerentes ao processo, contribuíram para a baixa eficiência experimental encontrada. Mas uma redução do comprimento do canal e *plug* de injeção pode melhorar esses valores.

Figura 3.80. Curvas de calibração para determinação de iodeto e ácido ascórbico. Relação Sinal/Ruído=3. Es : 3kV, Ei : 1 kV, ti : 10 s e Ed : + 0,9 V.

Figura 3.81. Reprodutibilidade de ensaio para determinação de Iodeto (a), Ascorbato (b) e transiente gerado pelo processo de injeção (c).

Figura 3.82. Influência do potencial de separação na detecção de iodeto e ascorbato. Outras condições conforme Figuras 3.77 e 3.78. Destacando a relação com o tempo de migração.

Figura 3.83. Influência do potencial de separação de iodeto e ascorbato na velocidade eletroforética dos analitos. Outras condições conforme Figuras 3.77 e 3.78. Destacando a boa dissipação de calor.

3.4.3.4 Considerações Finais

Neste trabalho foi possível efetuar a detecção amperométrica no final do canal em microestruturas (microchips) toner-poliéster. O fluxo eletroosmótico medido foi da ordem de $10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Os microeletrodos utilizados na detecção foram produzidos a partir da combinação da tecnologia de impressão direta a laser e a técnica de utilização de CDs regraváveis (CD de ouro – CD-RW). O desempenho dos dispositivos foi verificado para a separação e detecção de iodeto e ascorbato. Foi determinado o limite de detecção em torno de 500 nmol L^{-1} (135 amol) and 1.8 mmol L^{-1} (486 amol) para iodeto e ascorbato, respectivamente.

Verificou-se que podemos produzir, de modo bastante simplificado, microchips para CE-EC utilizando materiais simples, com baixo custo, rapidez e de caráter descartável.

Já havíamos demonstrado a aplicação de detecção condutométrica sem contato, sendo assim foi possível demonstrar que os microdispositivos produzidos podem ser aplicados de diversos modos de detecção, abrindo um rol considerável para futuras aplicações específicas.

Substratos de poliéster-toner, acoplados a detectores amperométricos possuem grande potencial no desenvolvimento de micro-sistemas de análise. Pode-se obter bons resultados com um sistema relativamente simples de posicionamento dos eletrodos, que dispensam a utilização de micro-posicionadores. Cuidados devem ser tomados na disposição dos eletrodos na célula eletroquímica, de modo a minimizar o ruído gerado pelo campo elétrico utilizado na separação. A distância do eletrodo de trabalho deve ser otimizada para que não haja perda de sensibilidade do detector e alargamento das bandas, com conseqüente diminuição de resolução e eficiência. A utilização de dois eletrodos, operando em potenciais distintos pode auxiliar na diferenciação dos analitos e mesmo na eliminação de sinais interferentes.

Verificou-se que eletrodos de CDRs apresentam superfície reprodutível, baixo custo, possibilidade de confecção de microeletrodos em escala e ainda a facilidade de construção.

A extensão deste sistema a outros analitos eletroativos, como por exemplo, aminoácidos, carboidratos e aminoglicosídeos, é um tópico de grande interesse e pode motivar desenvolvimentos futuros.

Este trabalho de aplicação foi divulgado em revista [262].

4 – Sistema Toner- Vidro

4.1 Introdução

Já foi destacado, em capítulos anteriores, o quanto os dispositivos microfluídicos têm-se tornado importantes no campo da instrumentação analítica nos últimos 15 anos. Diversos materiais têm sido explorados para a fabricação destes microdispositivos, porém, o vidro é o mais empregado por apresentar vantagens como alta resistência química, transparência óptica, além de exibir EOF com propriedades similares à sílica fundida. A construção destes microdispositivos envolve técnicas fotolitográficas, nas quais se faz necessário o uso de fotorresistes ou a combinação destes com liga metálica como máscara para corrosão química por via úmida usando ácido fluorídrico (HF). Estes processos, embora apresentem excelente resolução, requerem um grande número de etapas, além de apresentar um alto custo de produção.

Esta etapa dos trabalhos visa desenvolver uma nova tecnologia, de custo atraente e simples, para fabricação de microcanais em vidro baseando-se no uso do toner como máscara para corrosão com HF.

Uma das técnicas mais bem estabelecidas para fabricação de dispositivos microfluídicos é a vidro-vidro [263] [74] [58] [264], isto é, os microcanais são

formados por corrosão de uma base de vidro plano e uma segunda placa de vidro é soldada posteriormente sobre esta. O acesso aos canais pode ser feito pela lateral da estrutura de vidro – desde que os canais atinjam a borda da mesma. Porém, a aproximação mais comum é a perfuração de uma das placas de vidro. Em muitos casos, estas perfurações também são utilizadas como reservatórios de solução.

A estratégia utilizada por Jacobson e colaboradores [58] [264] na fase inicial de seus trabalhos foi a confecção de canais em lâminas de vidro de microscópio por técnicas fotolitográficas e posterior recobrimento com a correspondente lamínula. Esta parece ser uma das melhores estratégias para aqueles que estão em estágio semelhante. Porém, uma das deficiências encontradas era a necessidade de se fazer o acesso aos canais nas bordas da lamínula, já que esta era utilizada integralmente (sem perfurações).

Nesta vertente dos trabalhos, um procedimento simples e versátil para perfuração de lamínulas foi desenvolvido. Ao invés de utilizar perfurador ultrassônico ou broca diamantada, ambos de custo relativamente elevado, a perfuração é conseguida por corrosão com ácido fluorídrico aplicado de forma localizada. Também o desenvolvimento de microcanais através de corrosão com ácido fluorídrico utilizando toner como resiste seguido de selagem com silicato de etila (TEOS) à temperatura ambiente por processo sol-gel.

Existem diversas aplicações [265-268] para o sistema sol-gel na área de Química Analítica, no entanto, esse trabalho demonstrou sua viabilidade para os processos de microfabricação, onde os procedimentos atuais [269-271] não o empregam como agente de selagem.

O uso do toner como resiste para corrosão com tampão de $\text{HF-NH}_4\text{F}$ é a grande inovação deste processo. Cabe lembrar que muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos utilizando vidro como substrato, mas quase todos fazem uso de fotoresiste para a transferência do padrão ao vidro.

Com a utilização do toner, por decalque, há redução considerável no tempo de produção e custo dos protótipos.

A selagem com TEOS é outra novidade que confere forte caráter inovador ao processo.

Outra linha de atuação, com relação ao desenvolvimento de microestruturas em vidro, diz respeito ao desenvolvimento de microdispositivos obtidos por transferência térmica do toner sobre vidro (Processo Toner-Vidro).

Trata-se de um inovador processo de produção baseado na deposição de toner sobre uma lâmina de microscópio (vidro) por decalque após impressão laser. Foi proposto como um processo alternativo ao já demonstrado e eficientemente processo toner-poliéster. O papel utilizado para o decalque pode ser um papel resinado, parafinado ou mesmo siliconado. A transferência é realizada por meio de prensagem a quente diretamente sobre a superfície da lâmina de vidro. Este processo é um pouco mais complexo que o toner-poliéster, pois permite que sucessivas camadas de toner sejam sobrepostas prensagem após prensagem até a altura de canais desejada, sem requerer sistemas avançados de alinhamento.

4.2 Parte Experimental

Foram utilizadas lâminas e laminulas de microscópio como materiais para a confecção dos dispositivos.

Tratando inicialmente da perfuração de laminulas como subsídio para as próximas etapas de microfabricação, temos que a fórmula básica para corrosão consiste em utilizar um dispositivo que contenha um reservatório para o ácido fluorídrico e que pressione o fundo deste reservatório contra a laminula, utilizando um anel de vedação. A Figura 4.1 mostra em detalhe como isso é conseguido. Embora seja possível utilizar um reservatório de grandes dimensões, o que garante disponibilidade de ácido fluorídrico, a corrosão é lenta porque a renovação da solução na região próxima ao vidro se dá basicamente por difusão.

Para aumentar a velocidade de corrosão, um sistema que força a convecção nesta região foi acrescentado. Uma ponteira plástica de pipetador automático é posicionada a uma distância muito pequena da superfície (Figura 4.1) e movimentos de sucção e expulsão de líquido do seu interior garante a convecção necessária.

Uma vez que ácido fluorídrico concentrado é utilizado, deve-se tomar extremo cuidado com o seu manuseio, assim como escolher materiais adequados para este propósito. O procedimento descrito a seguir mostra como um dispositivo para corrosão pode ser implementado. No entanto, é possível adaptá-lo facilmente para outras configurações.

Figura 4.1. Esquema geral do dispositivo para corrosão de vidro: (a) reservatório de solução corrosiva; (b) ponteira plástica; (c) anel O-ring; (d) lamínula de vidro; (e) suporte plástico; (f) solução corrosiva.

A Figura 4.2. mostra uma visão das partes necessárias para promover a corrosão de cinco orifícios simultaneamente sobre a mesma laminula, o que mostra que, além de simples e versátil, a estratégia aumenta a velocidade de produção quando comparada à perfuração individual.

O primeiro passo consistiu na definição da matriz de perfuração. Isto foi realizado utilizando-se o programa CorelDRAW 7 (Corel). Uma vez impressa, a matriz orientou a furação no fundo do bloco reservatório (Figura 4.2) confeccionado em PVC. Uma cópia da matriz foi impressa em filme de poliéster de transparência a laser (3M, modelo 3300), a qual foi recortada e posicionada

sobre a base de acrílico de 10 mm de espessura. Este filme de poliéster auxilia no posicionamento da laminula de vidro alcalino nº 1 de 20 x 20 mm e 140 µm de espessura (Marienfeld, Alemanha) e anéis O-ring de neoprene com diâmetro interno de 1/8" e diâmetro externo de 1/4" sobre a base. Após este posicionamento, o bloco reservatório era firmemente fixado com o uso de quatro parafusos de 1/8" de diâmetro.

Figura 4.2. Visão explodida do dispositivo para corrosão de cinco orifícios em laminula de 20 x 20 mm: (a) agitador pneumático de solução; (b) entrada e saída de ar; (c) resina de poliéster para imobilização das ponteiros; (d) ponteiros; (e) bloco reservatório (vista lateral e superior); (f) anéis de vedação; (g) laminula de vidro; (h) filme de poliéster com a matriz de perfuração impressa (vista lateral e superior); (i) base em acrílico.

Um conjunto de cinco ponteiros de polipropileno de 1 mL foram imobilizadas com resina de poliéster isoftálica Centerpol 742 (Fiber Center, Santo André - SP) sobre uma placa de acrílico de 5 mm de espessura, após perfuração da mesma. Esta é uma etapa que exige um cuidado especial, pois a extremidade da ponteira deve ser centralizada no furo e atingir o mesmo nível do fundo do bloco reservatório. Desta forma, após a fixação contra os anéis de vedação, as ponteiros ficavam a aproximadamente 260 µm da superfície do

vidro. Este cuidado no posicionamento é importante para garantir uma taxa de corrosão uniforme em todos os orifícios. A contenção da resina de poliéster foi feita por um tubo de acrílico de 350 mm de diâmetro interno, podendo ser substituído por PVC. Este tubo foi fechado na parte superior, servindo também como câmara onde o ar era comprimido e expandido para forçar a movimentação do ácido no interior das ponteiros. A compressão e descompressão foram conseguidas pelo uso de uma seringa de 1 mL conectada à câmara por tubo plástico.

O conjunto utilizado para forçar a convecção requer a utilização de diferentes materiais e deve-se destacar a escolha destes. A idéia durante a convecção forçada é aspirar a solução de corrosão até preencher parcialmente a ponteira, evitando o transbordamento do líquido no interior da câmara. Desta forma, a parte crítica em termos de exposição à corrosão é a própria ponteira que é confeccionada em material resistente ao ácido. Os materiais descritos apresentaram boa resistência à exposição dos vapores corrosivos. Embora ocorra antes de deterioração aparente, os anéis de vedação eram substituídos a cada 10 operações.

O procedimento que foi utilizado para a corrosão de lamínulas de vidro alcalino de 140 μm de espessura teve início na fixação da lamínula como descrito anteriormente e o bloco reservatório era preenchido com ácido fluorídrico 40 % (v/v) (Merck, Rio de Janeiro). O conjunto para convecção forçada era posicionado sobre o bloco reservatório. Inicialmente foram realizados dez movimentos com a seringa, deslocando aproximadamente 1 mL de ar em seu interior em cada um deles. Este procedimento evitava que bolhas de ar fossem alojadas nos orifícios, o que reduzia a disponibilidade de solução corrosiva e conduzia a taxas de corrosão não uniformes em cada um deles. Após este estágio inicial, a solução foi movimentada pelo deslocamento de 1 mL na seringa a cada 5 min. O tempo ótimo de corrosão foi de 20 min. Após este período, a solução contida no reservatório era vertida sobre 100 mL de solução aquosa 20 % de NaOH (volume suficiente para cinco operações com segurança) ou Na_2CO_3 . Este procedimento, que era feito seguindo regras de segurança,

levava a um resíduo mais apropriado para descarte e menos agressivo ao meio ambiente. O reservatório era lavado várias vezes com água destilada antes que o conjunto fosse desmontado. Após a remoção, a lamínula era lavada cuidadosamente para garantir que nenhum resíduo ácido desse continuidade ao processo corrosivo. O mesmo cuidado de limpeza era tomado com as partes do dispositivo construído.

A Figura 4.3 mostra como o processo de corrosão se dava. Devido a isotropia, a lamínula não era corroída somente no sentido da espessura. A corrosão ocorria também sob o anel de vedação numa extensão que, devido à maior estagnação da solução neste local, era um pouco inferior àquela que ocorre no sentido da espessura da lamínula. Assim, após a perfuração da lamínula, o processo era imediatamente interrompido.

Figura 4.3. Detalhe da região próxima ao anel de vedação durante a corrosão: (a) bloco reservatório; (b) anel de vedação; (c) lamínula de vidro; (d) solução corrosiva. A corrosão ocorre numa extensão aproximadamente uniforme (r) e deve ser interrompida quando esta atinge o valor da espessura (e) da lamínula.

Em seguida a confecção dos canais em lâmina de vidro se dava utilizando lâminas para microscópio em vidro alcalino Caroslides no. 72 (Carolina Biological Supply, Burlington, EUA) de 25 x 75 cm e espessura de 1,0 mm. Cada lâmina foi cortada ao meio, com cortador apropriado. As metades de lâminas obtidas eram limpas utilizando tolueno, álcool etílico e solução piranha (3 H₂SO₄ : 1 H₂O₂ V/V) por 30 minutos cada e posterior lavagem com água destilada. A secagem foi realizada utilizando-se nitrogênio, pois evitava a formação de depósitos sobre a lâmina após a evaporação da água.

Figura 4.4. Padrões utilizados, em (A) foto de folha de papel para decalque e (B) padrões definidos em software CorelDRAW.

No processo proposto [218], a imagem gerada em toner, através de impressão a laser cujos padrões podem ser observados na Figura 4.4, era decalcada sobre o substrato para posterior corrosão. Assim, como o processo de decalque utilizando impressão a laser não constitui propriamente a aplicação originalmente prevista pelo fabricante, alguns estudos sobre o material mais adequado para servir como substrato do decalque foi desenvolvido.

A Figura 4.5 exemplifica o esquema de decalque. O material utilizado para impressão e decalque foi uma folha de papel impregnada com maltodextrina, fabricada pela DynaArt Designs (Clearwater, EUA), muito embora papel resinado ou parafinado utilizado em etiquetas auto-adesivas também pode ser utilizado. O papel com maltodextrina é utilizado na fabricação de protótipos de placas de circuito impresso por um processo análogo ao proposto.

Após o recorte da região de interesse, o papel era posicionado com a face impressa voltada para o substrato e, pelo uso de pressão e aquecimento (180,0 kPa e 125°C por 2 min.), a imagem em toner era refundida, aderindo ao substrato, o que era possível mediante o emprego de uma prensa aquecida *hot stamp* (Nogui, São Paulo) e um dispositivo que possibilitava a distribuição homogênea de pressão, já apresentados em capítulos anteriores. Ao fim desta etapa, o toner está aderido às duas superfícies. Quando utilizado o papel com maltodextrina o conjunto era imerso em água e deixado em repouso por alguns minutos. Devido à alta solubilidade da maltodextrina, o papel torna-se

rapidamente umedecido e o toner, que havia aderido a uma camada rica em maltodextrina, perde completamente a adesão ao papel.

Figura 4.5. Esquema de decalque sobre lâmina de microscópio.

Após decalque, a lâmina com os canais definidos em toner era colocada em um suporte confeccionado em PVC, que funciona como uma moldura, e pendurado por um fino fio encapado e o conjunto era imerso em solução corrosiva constituída por 50% (v/v) de ácido fluorídrico 40 %_{aq} (Merck, Rio de Janeiro) e 140 gL⁻¹ de fluoreto de amônio – Tampão HF-NH₄F.

Em uma versão otimizada e mais recente do processo de fabricação de microdispositivos para eletroforese, os desenhos dos microcanais foram projetados com largura de 200 µm, utilizando software Corel Draw 7.0 (Corel, Ottawa, Canadá) e impressos em uma folha de papel resinado usando uma impressora laser. A imagem impressa foi transferida termicamente (125°C) para a superfície de uma lâmina de vidro (26x76x1 mm, GlassTecnica, Ipiranga-SP) sob a aplicação de uma pressão de aproximadamente 0,1-0,2 MPa/2 min, usando uma prensa comercial (<http://www.ferragini.com.br>, São Carlos-SP). Para a etapa de corrosão, duas camadas de toner foram transferidas para o vidro, de modo a obter microcanais mais regulares. Após a transferência das camadas de toner, a lâmina foi imersa em uma solução de HF 10% sob constante agitação e testes com diferentes tempos de corrosão foram realizados. Após a corrosão, o toner foi removido com acetonitrila ou acetona.

A selagem da lamínula perfurada contra a lâmina com os canais em baixo relevo é a etapa final para o processo de construção da microestrutura. Utilizou-se TEOS como o agente de selagem por meio da polimerização sol-gel com catálise ácida para preparação de sílica gel, responsável pela selagem das duas superfícies (lâmina-lamínula). Para isso foi adicionado uma solução de TEOS (3 mL) em etanol (3,1 mL) e água (3,8 mL) com pH aparente em torno de 3, sobre a lâmina e sobre o filme de solução obtido foi sobreposta à lamínula. Exercendo-se leve pressão sobre o conjunto, aguardava-se a evaporação do solvente a temperatura ambiente (aproximadamente 20°C) por um período em torno de doze horas. Os mecanismos de reação do TEOS são apresentados na Figura 4.6.

Portanto, o processo de microfabricação em vidro envolve uma série de etapas: 1 – Corte das lâminas de microscópio, 2 – Limpeza das lâminas, 3 – preparação das superfícies das lâminas, 4 – impressão de toner para resistes de corrosão, 5 – decalque do toner sobre as lâminas, preparação da solução tampão para corrosão, 6 – corrosão das lâminas, 7 – preparação do sistema sol-gel e selagem, 9 – tratamento e descarte da solução tampão.

Pode-se utilizar como máscara para corrosão processos serigráficos (silk screen), no entanto, a resolução destes processos é bastante limitada. As telas mais finas encontradas no mercado (120 MESH) não possibilitaram a produção de canais bem definidos e o processo de cura (fotopolimerização) envolve o controle de difíceis variáveis (potência de radiação, linearidade e paralelismo do feixe, etc.). Já era sabido, conforme o capítulo três, das limitações de resistência do toner (porosidade e resistência química), mas com a possibilidade de se utilizar múltiplas camadas de toner, novas possibilidades foram evidenciadas.

Foram produzidos diversos protótipos por corrosão utilizando diferentes multiplicidades de camadas. No entanto, persistia a limitação quanto aos parâmetros dimensionais, uma vez que o processo de selagem com TEOS resulta em perda das dimensões internas do canal.

Um novo processo de selagem foi desenvolvido para solucionar esta questão e possibilitar a obtenção de canais com geometria conhecida. A solução

encontrada foi recobrir a superfície de selagem (lamínula) com uma fina camada de resina nitrílica (resina base para tinta de vitral – Acrilex – São Bernardo do Campo –SP).

Figura 4.6. Mecanismo de formação de Sol-gel destacando a (1) reação global de formação, (2) hidrólise da superfície e (3) condensação por catálise ácida.

A lamínula com a fina camada de resina era alinhada visualmente sobre o padrão deixado na lâmina após corrosão e, em seguida, o conjunto era levado à prensa térmica e a selagem era efetuada.

Também se pode melhorar o processo de selagem com TEOS. Condições ótimas de processo são otimizadas em função de melhoria da tensão superficial da solução/suspensão de modo que a distribuição da sílica após geleificação do TEOS seja mais homogênea. A saída vem sendo a utilização de

tensoativos e solventes variando a viscosidade e a molhabilidade do filme de solução de TEOS.

A corrosão foi estudada e bem estabelecida. A taxa de corrosão ótima foi determinada quando se utiliza tampão HF-NH₄F 1:1 (v/v). Prepara-se a solução aquosa de fluoreto de amônio na concentração 40% em massa, e em seguida mistura-se igual volume de HF 40%.

O corte ao meio de lâminas era realizado com cortador de vidro com ponteira de diamante. A etapa de limpeza era feita deixando as lâminas imersas no detergente durante aproximadamente 10 min, para remoção da gordura, e removia-se o detergente com água destilada. Também é recomendado deixar as lâminas imersas em etanol durante aproximadamente 5 min, em seguida removia-se o álcool com água e secava-se com ar pressurizado.

A superfície do vidro era tratada como uma solução de ativação preparada por H₂O₂ e NH₄OH na proporção 2:1-V/V ou com solução piranha por 10 minutos e finalizada por lavagem com água deionizada.

Após a utilização da solução-tampão de HF-NH₄F 1:1 na corrosão, a sobra de solução deve ser descartada. Para tanto, basta diluir a solução para concentração de 10 % (V/V) e em seguida neutraliza-se com carbonato de sódio em excesso e em seguida basta aguardar 24 horas a precipitação total, decantar, filtrar o sólido e verter a água mãe na pia.

Foi apresentado no capítulo anterior o processo toner-poliéster que foi muito bem estabelecido. No entanto, esse apresentou algumas limitações em termos de microfabricação. Como visto anteriormente, os dispositivos podem ser confeccionados em até duas camadas de toner por laminação. Com isso, obtêm-se canais de até aproximadamente 12 µm de altura de paredes laterais, além da deformação do canal (estrangulamento) durante o processo de laminação. No intuito de superar essas limitações um novo processo foi desenvolvido.

O novo processo utiliza toner como material estrutural. Neste caso não se procede a corrosão do vidro para definir os canais, pois eles serão definidos por sucessivos decalques sobrepostos até a altura de canal desejada e selado contra uma laminula.

Manteve-se, quanto ao processo de fabricação, a linha de atuação na busca por materiais simples e de fácil obtenção. Para desenvolver os padrões foi utilizado o programa CorelDraw 7.0 (Corel, Ottawa, Canadá) em ambiente Windows 98, lembramos que outros programas podem ser utilizados como o Powerpoint, ou até mesmo o Sketch 0.6.15 em ambiente Debian-SID (GNU/Linux) programa aberto e gratuito. A impressora utilizada foi uma HP LaserJet 1300, operando a 1200 dpi em melhor qualidade de impressão. A prensa utilizada para transferir o decalque impresso é bastante simples – utilizada em montagem de placas de circuito impresso (Ferragini, São Carlos - SP). Papel de etiqueta resinado foi utilizado na transferência para a lâmina de microscópio.

O papel resinado com o padrão impresso era posicionado sobre a lâmina de microscópio. O decalque era efetuado com aquecimento (125°C – temperatura nominal) por dois minutos sobre pressão de 125 kPa exercida por placas metálicas com resistências e separadas do decalque por uma manta de silicone de 5 mm de espessura, que também serve para distribuir uniformemente a pressão aplicada sobre as lâminas de vidro.

Desta forma, sucessivos decalques podem ser efetuados até a altura de canal desejada, ou quanto o alinhamento manual permitir. Em seguida a selagem foi efetuada utilizando uma lamínula de 150 µm de espessura (GlassTécnica, São Paulo - SP), a qual, prensada da mesma forma, permite a definição das paredes, e por fim, os reservatórios (5 mm de altura por 8 mm de diâmetro externo) são fixados do mesmo modo que o processo toner-poliéster, por meio de tubos ou pedaços de ponteiros coladas junto as extremidades dos canais. O tamanho da lamínula dependerá das dimensões do padrão decalcado. A Figura 4.7 esquematiza o processo de fabricação.

O ensaio de resistência química foi efetuado de modo semelhante ao descrito no capítulo anterior para microestruturas em toner-poliéster. Após algumas horas de exposição, os corpos de provas submetidos a diversas soluções, típicas de aplicação em eletroforese, foram inspecionados. As soluções aquosas utilizadas foram: H₃PO₄ (pH 2), NaOH (pH 12), metanol 20%

(v/v), acetonitrila 20% (v/v), dodecilsulfato de sódio (SDS) em tampão fosfato (pH 7), e SDS em tampão borato (pH 9). Os padrões utilizados são apresentados na Figura 4.8. O teste também foi realizado a duas temperaturas (ambiente e 60°C), e a inspeção foi realizada visualmente em 2 e 24 horas. Dois corpos de prova foram preparados um com feições com contornos bem definidos e formas geométricas diversas com o objetivo de observar, decorrido certo tempo de exposição à solução, alguma deformação nos padrões decalcados. O outro corpo de prova era constituído por uma câmara cujas paredes laterais foram definidas por vidro-toner-vidro, onde o objetivo foi verificar a ocorrência de permeação e o preenchimento da câmara vazia por solução.

Figura 4.7. Diagrama mostrando quatro etapas básicas do processo de microfabricação. A esquerda a vista superior e a direita a vista em lateral. I: decalque (a) é aplicado sobre a lâmina limpa (b). II: lâmina de microscópio com camada de toner depositado (c). III: a lamínula (d) é prensada contra a camada de toner definindo as extremidades dos canais. IV: reservatórios (e) são fixados com cola (f).

A caracterização elétrica e dimensional foi realizada com um analisador de impedância HP 4194A (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA), onde se verificou a possibilidade de conexão entre canais de 10 mm de comprimento e 200 μm de

largura, separados por 50, 100, 200 e 400 μm de largura entre os canais paralelos (barreira de toner) de 100 Hz até 5 MHz. Para canais em camada simples e dupla também foram estudados efeitos de deformação dos canais de 50, 100, 200, 400, 800 e 1600 μm . A medida de impedância também foi utilizada para avaliar altura dos canais de 1 a 5 camadas de toner, considerando o comprimento dos canais de $24,0 \pm 0,1$ mm e a condutividade da solução de KCl igual a $111,31 \cdot 10^{-7} \text{ W}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 25°C , e a impedância medida a 1 kHz.

Figura 4.8. Padrão utilizado para ensaio de resistência química.

Microchips similares aos produzidos em toner-poliéster também foram preparados em toner-vidro e uma avaliação comparativa do efeito Joule foi possível. Para tanto, utilizou-se canais de 60 mm de comprimento e 200 μm de largura em tampão fosfato 20 mmolL^{-1} .

O EOF também foi estimado com base em sistemas em cruz e plug de injeção formado por duplo-T em canais de 200 μm de largura e 60 mm de comprimento. O modo de detecção utilizado foi o mesmo do sistema toner-poliéster do capítulo anterior: detecção condutométrica sem contato entre 500-600 kHz e $2 \text{ V}_{\text{pico-a-pico}}$ com eletrodos confeccionados em fita de cobre (1 mm) espaçados em 1 mm a 44 mm do *plug* de injeção. Os canais foram preenchidos

com tampão fosfato 20 mmolL^{-1} (pH 7). Os reservatórios de amostra foram preenchidos por água deionizada e a injeção eletrocinética do plug de água foi feita a 3 s e 1,0 kV, resultando num campo elétrico de 170 Vcm^{-1} . O EOF foi calculado em função do tempo de migração do pico negativo correspondente ao *plug* de água em seis corridas consecutivas.

A separação eletroforética para esse tipo de dispositivo foi demonstrada em dois sistemas de detecção: condutométrico e fotométrico.

Um dispositivo para detecção foi montado aproveitando um microscópio trinocular (Quimis, Diadema-SP) com objetiva de 100x. A ocular foi retirada e adaptado um foto detector e a iluminação foi feita com um diodo de emissão de luz vermelha (LED) operando a 10 mA posicionado diretamente acima do condensador. Um microchip em lâmina de vidro foi adaptado ao suporte do microscópio, de modo que a objetiva foi posicionada a 40 mm do ponto de injeção.

O sistema de detecção condutométrico foi o mesmo utilizado para determinação do EOF, com gerador de função operando em 530 kHz com $2 V_{pp}$. O sistema de aquisição de dados foi o mesmo utilizado no trabalho com estruturas toner-poliéster (apresentado no capítulo anterior) e a taxa de amostragem utilizada foi de 6,5 amostras por segundo.

Para se determinar a absorvidade molar do azul de metileno usado na detecção fotométrica, foi empregado um espectrofotômetro diode-array, HP 8452A (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) com cubeta de 2,5 mm de caminho óptico.

4.3 Resultados e Discussão

Quanto à sistemática para furação de laminula o aspecto do orifício é mostrado na Figura 4.9. Quando o tempo ótimo é utilizado, o orifício formado possui o diâmetro médio de 3,2 mm. A Figura 4.9b mostra o aspecto do orifício formado quando a laminula é exposta à solução corrosiva por um período

adicional de cinco minutos. Nota-se o aumento do diâmetro e a formação de bordas irregulares.

Figura 4.9. Fotografias do orifício gerado em lamínula de 140 μm de espessura quando o tempo utilizado é o ótimo (a) e quando este é excedido em 5 min (b).

Com a utilização de tempos muito superiores ao ótimo, o diâmetro do furo pode aumentar a ponto do anel O-ring não conseguir conter a solução corrosiva. Com isso, não apenas a peça gerada é perdida como também ocorre um derramamento da solução nas imediações. Assim, mesmo tendo sido estabelecido o tempo ótimo, é conveniente realizar o processo em uma bandeja plástica para evitar acidentes.

Ao invés de ácido fluorídrico concentrado, pode-se utilizar uma solução tampão à base de ácido fluorídrico e fluoreto de amônio. Devido ao controle do pH, esta solução permite obter uma taxa de corrosão mais uniforme durante sua vida útil, o que facilita seu reaproveitamento. No entanto, o tempo de corrosão aumenta significativamente (55 min em nosso caso).

O processo pode ser facilmente adaptado para corrosão de outras peças de vidro – inclusive com espessuras maiores, mas deve-se tomar alguns cuidados. Uma vez que o processo de corrosão é isotrópico, a espessura do vidro deve ser sempre menor que a espessura do anel de vedação. Caso contrário, ocorrerá o derrame de solução antes que o furo seja completado.

A Figura 4.10 apresenta a relação da profundidade do canal obtido, medida por perfilometria, *versus* o tempo de corrosão. Pode-se observar uma ótima linearidade o que comprova que o toner foi efetivamente resistente ao ataque do HF. A taxa média de corrosão foi de aproximadamente $2,6 \mu\text{m min}^{-1}$. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostraram que os canais obtidos com o uso de duas camadas de toner apresentaram-se mais regulares do que os obtidos com uma única camada. Isso pode ser justificado pelo fato da camada de toner depositada pela impressora apresentar muitos vales na sua superfície. Ao depositar duas ou mais camadas, estas imperfeições são minimizadas.

Os microcanais obtidos a partir deste processo podem ser vedados termicamente, a 600°C , contra outra placa de vidro. No entanto, processos alternativos, mais simples e mais rápidos, para a vedação destes microcanais foram desenvolvidos para que estes microdispositivos possam ser posteriormente usados em aplicações analíticas.

Figura 4.10. Profundidade do canal vs tempo de corrosão.

O resultado da selagem da microestrutura pode ser verificado na Figura 4.11, onde os canais obtidos demonstram que, à medida que o solvente evapora, acaba encontrando caminhos preferenciais para deixar o sistema e possibilitar a reticulação, o que provoca a redução de volume e, uma vez que a reticulação se dá preferencialmente junto aos grupos silanóis das paredes do vidro, forma-se um espaço entre as paredes silanizadas que limitam os canais. Foram realizados testes com diversas amostras (lâminas) e verificou-se que a selagem é efetiva, não permitindo a infiltração de líquidos (água, metanol ou etanol) entre as lâminas soldadas (o que foi possível através da incorporação de solução de tiocianato de sódio à solução de TEOS e teste com solução aquosa de sais de ferro após solda) e não apresentou irregularidades de superfície de contato como bolhas ou deformações. Para demonstrar a existência dos canais após a selagem, foi realizado o preenchimento dos mesmos utilizando-se solução de azul de metileno, cujo contraste possibilita visualizar as irregularidades das bordas dos microcanais, provavelmente devido ao processo de corrosão e sílica formada junto às paredes do canal.

Figura 4.11. Aspecto dos canais obtidos após selagem com TEOS, (A) imagens obtidas por microscopia ótica com menor e (B) maior incidência de luz.

Outros testes podem ser realizados para melhorar o aspecto dos canais bem como definir um protocolo para microfabricação em vidro utilizando toner

como resiste e selagem com TEOS. A preocupação maior foi demonstrar a viabilidade dos processos. A otimização pode se dar em outros momentos para as aplicações necessárias.

A selagem com TEOS é melhorada se a lâmina de microscópio for inicialmente fosca. Para tanto foi utilizado pasta de fosqueamento e gravação em vidro, a base de fluoreto de amônio (Maatt Glass – Agabê – São Paulo).

Em se tratando do processo utilizando resina como material estrutural de selagem em substratos de vidro, os resultados são bons, pois a reprodutibilidade do processo ainda pode ser otimizada. Após prensagem, alguns dispositivos têm seus canais obstruídos por excesso de resina. Para solucionar essa limitação, a selagem pode ser executada apenas em estufa, sem pressão ou com pressão variável até chegar aos parâmetros ótimos de produção.

Diversas soluções de TEOS vêm sendo experimentadas e resultados demonstram que a solução, quando preparada com 30% de isopropanol, conduz a selagens melhor definidas.

A taxa de corrosão utilizando o sistema tampão referido é de 1 $\mu\text{m}/\text{min}$. Sendo que possibilita um tempo de corrosão de até 20 min, resultando dessa forma em canais de até 20 μm .

Quanto ao processo de fabricação, verificou-se maior complexidade, se comparado ao processo toner-poliéster, uma vez que etapas são adicionadas, mas se mantém a simplicidade geral do processo. As principais vantagens ficaram por conta da possibilidade de obtenção de canais mais profundos, por conta da possibilidade de deposição de múltiplas camadas de toner. O ponto crítico do processo está na dificuldade de alinhamento dos sucessivos decalques. Cabe ressaltar que as irregularidades do processo de deposição de toner por impressão comprometem a largura dos canais provocada com os sucessivos alinhamentos e sobreposições de bordas irregulares.

A Tabela 4.1 apresenta a estimativa de profundidade do canal em função da largura, acompanhada do desvio-padrão estimado por propagação de erros, para dois microchips de mesmas dimensões. Mesmo apresentando considerável dispersão e diferença entre as dimensões nominais e efetivas, pode-se verificar maior homogeneidade quanto à altura do canal se comparado com estruturas toner-poliéster para camadas simples (STL) ou dupla (DTL) [222]. No caso das estruturas toner-poliéster, o filme de PET sofre deformação provocada pelo aquecimento e pressão durante a laminação, o que não ocorre para os microchips produzidos em toner-vidro.

Tabela 4.1 – Profundidade de canal para diferentes larguras (μm).

L. N.	STL		DTL	
	L. E.	Profundidade	L.E.	Profundidade
100	55 ± 16	11 ± 3	-	-
	58 ± 16	11 ± 3		
200	162 ± 17	$7,5 \pm 0,8$	150 ± 20	13 ± 2
	130 ± 15	9 ± 1		14 ± 2
400	252 ± 16	$8,8 \pm 0,6$	280 ± 20	$14,5 \pm 1,3$
	314 ± 19	$7,6 \pm 0,5$		$14,2 \pm 1,2$
800	610 ± 8	$10,1 \pm 0,3$	577 ± 10	$17,1 \pm 0,9$
	545 ± 7	$10,8 \pm 0,3$		$17,4 \pm 0,9$
1600	1375 ± 10	$7,8 \pm 0,4$	1396 ± 15	$14,6 \pm 1,5$
	1418 ± 12	$8,3 \pm 0,5$		$14,2 \pm 1,4$

L.N. = Largura Nominal, L.E. = Largura Efetiva

A Tabela 4.2 demonstra a estimativa da profundidade do canal em função do número de sobreposição de camadas de toner para canais de 200 e 400 μm de largura nominal. A sobreposição de quatro camadas é o limite prático, levando em conta o alinhamento visual, sem entupimento. As duas explicações para o entupimento são (1) acúmulo de erros por alinhamento e (2) excessivo fluxo de materiais (polímeros da decomposição do toner) após sucessivas etapas de refusão (aquecimento) e prensagem. No entanto, sistemas mais sofisticados podem ser utilizados para o alinhamento e prensagem, o que certamente aumentaria o sucesso com a sobreposição de camadas para obtenção de canais mais profundos.

Tabela 4.2 – Profundidade de canal para múltiplas camadas (μm).

Nº Camadas	Profundidade do Canal	
	Largura Canal $240 \pm 20 \mu\text{m}$	Largura do Canal $520 \pm 20 \mu\text{m}$
1	$9,5 \pm 0,8$	$7,8 \pm 0,4$
	$8,4 \pm 0,7$	$7,8 \pm 0,4$
2	$19,8 \pm 1,7$	$13,8 \pm 0,8$
	$15,6 \pm 1,3$	$13,1 \pm 0,8$
3	$19,4 \pm 1,6$	$18,3 \pm 1,2$
	$22,7 \pm 1,9$	$18,5 \pm 1,2$
4	25 ± 2	$21,9 \pm 1,6$
	25 ± 2	$19,3 \pm 1,3$
5	-	$17,1 \pm 1,1$
	-	$18,7 \pm 1,2$

Os testes também demonstraram as mesmas limitações conhecidas quanto à porosidade da camada de toner [222]. Uma barreira de toner inferior a $200 \mu\text{m}$ não é suficiente para garantir que não haja contato entre dois canais vizinhos. Por outro lado essa informação vem a demonstrar que a flexibilidade do filme de poliéster não é o fator mais importante quanto ao isolamento dos canais, uma vez que o mesmo efeito é verificado para estruturas rígidas de vidro.

Este efeito de porosidade não depende do tipo de impressora utilizada (toner utilizado). Seja na HP 6L, 1200 ou 1300, o mesmo efeito de porosidade foi verificado. Também a resolução de impressão é pouco significativa. Independentemente de se trabalhar em 600 ou 1200 dpi, os efeitos de porosidade se mantém e a qualidade da impressão, frente a análise visual com o auxílio de microscópio, não mostra diferenças significativas.

A mobilidade do EOF estimada foi $3.5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ em pH 7, o que confere com o valor esperado se comparado aos valores da sílica e do vidro neste pH. Os dispositivos em toner-poliéster apresentam EOF aproximadamente quatro vezes menor.

Foi verificado ainda que uma curta exposição a diversas substâncias usuais em eletroforese, não deteriora a camada de toner depositada. No entanto, períodos mais longos levam a efeitos de degradação bem mais

acentuados que os observados para o sistema toner-poliéster. Após 24 horas de exposição, o toner é completamente removido da superfície de vidro quando exposto a tampões em SDS, o que limita a curtos períodos (poucos minutos) algumas aplicações dos dispositivos como, por exemplo, para cromatografia micelar eletrocinética.

Outras substâncias como o H_3PO_4 (pH 2), Acetonitrila 20% e o NaOH (pH 12) provocam pequenas perdas no padrão depositado após 24 horas. Já o Metanol 20% praticamente não apresentou nenhum efeito de degradação ao padrão após o mesmo período de exposição. Com esse teste, foi possível verificar que o toner apresenta melhor adesão ao poliéster que ao vidro. A Figura 4.12 mostra um gráfico de corrente em função do campo elétrico para dispositivos produzidos utilizando o processo toner-poliéster e toner-vidro. Foram utilizados microchips com canais de 200 μm de largura. Foi possível verificar que o fluxo de corrente no interior de canais, preenchidos por eletrólito de condutividade conhecida e em menores valores de campo elétrico, é menor para dispositivos em toner-poliéster. Isto se explica devido a deformação que o canal sofre durante a laminação. No entanto, a tendência de elevação da corrente em microestruturas de toner-poliéster com o aumento do campo deve-se a dois fatores: a espessura do filme e a condutividade térmica. A condutividade térmica do vidro (0,75 a 1,2 $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) é maior que a do PET (0,15 a 0,4 $\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) [226]. A espessura do filme de poliéster é de 100 μm , enquanto que a da laminula de vidro é 150 μm . Com base nestes dados verifica-se que, muito embora a laminula de vidro apresente maior espessura, a condutividade térmica do vidro é maior e com isso o efeito Joule é menos sensível.

O ensaio de eletroforese utilizando microchip em toner-vidro foi viabilizado utilizando um sistema bastante simples formado por um circuito integrado OPT101P (Texas Instruments, Dallas, TX) que compreende um fotodiodo (5,2 mm^2) e um amplificador de transimpedância, com sensibilidade de 4×10^6 V/W a 660 nm, com um resistor de 10 M Ω foi utilizado em *loop*. Monitorando a tensão da saída do circuito, foi possível estimar a potência de luz para o ponto de detecção (1 mW) resultando em uma densidade de potência de 32 mW/mm^2

para um campo de visão de $0,031 \text{ mm}^2$. Tendo capacitância interna de 8 pF e $10 \text{ M}\Omega$ de retorno do resistor para uma largura de banda de 1.8 kHz , estavam estabelecidas condições apropriadas para a detecção fotométrica com o microchip. A tensão de saída foi relacionada com a intensidade de luz do detector e convertida em absorbância.

Figura 4.12. Corrente em função do campo elétrico para microchips de toner-vidro (■) e toner-poliéster (○).

A Figura 4.13 mostra a medida da absorbância para um fluxo contínuo de água, solução $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$, $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$ e 1 mmolL^{-1} de azul de metileno em microchip toner-vidro (DTL). O valor da absorvidade molar em 660 nm foi medido em uma cubeta de $2,5 \text{ mm}$ com solução $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$. Sabendo-se o valor da absorvidade molar da solução de concentração $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ preenchendo o canal, foi possível determinar o caminho óptico e portanto a altura efetiva do canal. O valor determinado por esse procedimento foi $10,6 \pm 0,5 \text{ }\mu\text{m}$; valor compatível com o obtido utilizando-se o analisador de impedância. A Figura 4.14b mostra o eletroferograma obtido para uma solução 1 mmolL^{-1} de azul de metileno em microchip toner-vidro por injeção eletrocínética de 2 kV por 12 s . O pico assimétrico obtido deve-se ao modo de injeção e à diferença de mobilidade entre o azul de metileno e o sódio do tampão (co-íon).

Figura 4.13. Absorbância do azul de metileno em microchip. (a) canal hidrodinamicamente preenchido com azul de metileno (1) 1 mmolL^{-1} , (2) $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$, (3) zero (água deionizada), e (4) $0,5 \text{ mmolL}^{-1}$. (b) Migração eletroforética de solução 1 mmolL^{-1} de azul de metileno em tampão de corrida de borato de sódio 20 mmolL^{-1} (pH 9.2); Detector posicionado a 40 mm do ponto de injeção; Injeção Eletrocínética a 2 kV por 12 s. A escala de absorbância é a mesma para todos.

A Figura 4.14 mostra eletroferogramas para amostras contendo KCl, NaCl, e LiCl $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada sal. O tampão de corrida utilizado foi 30 mmolL^{-1} de histidina/ácido láctico 9:1 (v/v) água:metanol. A injeção foi feita em modo eletrocínético aplicando 2,0 kV por 5 s.

Muito embora as concentrações dos analitos sejam a mesma, o sinal de resposta apresentou diferentes intensidades. O fator de resposta do potássio é superior ao do sódio que, por sua vez, é superior ao do lítio. Este comportamento era esperado, pois a sensibilidade do detector de condutividade é proporcional à diferença de mobilidade dos íons e também porque a injeção eletrocínética favorece as espécies de maior mobilidade. Resultado similar foi obtido para o sistema toner-poliéster. Cabe lembrar que o EOF é muito mais intenso para as estruturas de vidro se comparado com as estruturas em poliéster. A linha de base é melhor para o sistema toner-vidro quando

comparado ao sistema toner-poliéster, se aproximando da resposta obtida por detecção condutométrica sem contato (CCD) de eletroforese capilar convencional [228] [272]. Isto foi possível devido ao melhor fluxo de energia (troca térmica), condição que é controlada em eletroforese capilar com homogeneização e convecção do ar na câmara de acondicionamento do capilar.

Uma comparação direta entre os sistemas é difícil, visto que a lamínula de vidro é 50% mais espessa que o filme de PET, com constantes dielétricas diferentes (de 3 a 4 para o poliéster e 7,75 para o vidro alcalino [226]), sem contar as diferenças de tampão de corrida.

Figura 4.14. Eletroferograma antes (a) e depois (b) da correção da linha de base de solução $200 \mu\text{molL}^{-1}$ de K^+ (1), Na^+ (2), e Li^+ (3). Tampão histidina/ácido láctico 30 mmolL^{-1} 9:1 (v/v) água:metanol. Injeção Eletrocinética de 2,0 kV/5 s. Potencial de separação 1 kV. Detecção sem contato, 530 kHz e $2,0 \text{ V}_{\text{pico-a-pico}}$. Correção feita com Origin 5®.

4.4 Considerações Finais

Foi possível percorrer satisfatoriamente todas as etapas do processo de microfabricação em vidro. Otimizar o processo de corrosão para obtenção de canais mais regulares.

Os processos com técnicas serigráficas que utilizam emulsões fotocuráveis como resiste e a selagem com TEOS podem ser otimizados.

A selagem com resina é simples e demonstra ser uma alternativa tecnicamente viável.

O uso do toner como máscara para corrosão apresentou-se perfeitamente aplicável e resistente para a microfabricação de estruturas em vidro. A tecnologia desenvolvida apresenta um custo relativamente reduzido, tempo de preparação bastante curto e o processo é muito mais simples em relação aos processos convencionais.

O ensaio de resistência química de microestruturas toner-vidro demonstrou que este processo não é o mais indicado para alguns modos de eletroforese por conta da baixa adesão do toner a superfície do vidro. Mas modificações podem ser feitas na superfície do vidro de modo a melhorar a adesão: por exemplo, o fosqueamento ou mesmo modificação química com materiais poliméricos.

Se os dispositivos produzidos em toner-poliéster são descartáveis, aqui um mesmo substrato poderá ser utilizado diversas vezes. Tanto a lâmina, quanto a lamínula podem ser reutilizados ou reciclados. Dentre algumas vantagens desse processo podem ser citadas: (1) maior estabilidade mecânica, (2) possibilidade de depositar múltiplas camadas de toner e (3) melhor transferência de calor.

Os esforços em desenvolvimento de processos para fabricação em vidro resultaram em publicações [273-274].

V – Conclusões e Perspectivas

Ao longo deste trabalho, vários processos e aplicações de dispositivos microfluídicos foram desenvolvidos. Devido às dimensões físicas envolvidas, é natural a demanda por um ambiente limpo, o que tem sido contemplado em laboratórios equivalentes ao redor do mundo. No entanto, as instalações descritas no capítulo 2 foram propostas tendo em mente este conjunto particular de técnicas. Assim, provavelmente, elas não seriam adequadas para processar dispositivos com canais de dimensões muito inferiores às utilizadas. Um outro ponto que tem permitido o uso de ambiente com um controle limitado sobre a presença de material particulado é a flexibilidade da camada de selagem, isto é, o toner. Mesmo na presença de irregularidades (partículas) sobre a superfície antes da selagem, a fusão do toner promove o nivelamento e até a incorporação de partículas em meio à camada do mesmo. Obviamente, o preço a pagar por tal capacidade é a limitação das dimensões e razão de aspecto das estruturas. Mesmo a deposição de material particulado sobre a região do canal deve, de certa forma, ser contemporizado uma vez que durante a impressão a laser algumas partículas de toner são depositadas aleatoriamente pela região que deveria ficar livre do mesmo.

Como processo, foi possível demonstrar que o toner-poliéster permite criar dispositivos para eletroforese com detecção condutométrica sem contato e amperométrica e mesmo para gerar íons por eletronebulização, o que é fundamental para o acoplamento com espectrometria de massas. No entanto, há um potencial para se criar dispositivos com outras formas de detecção, como, por exemplo, espectrofotométrica, o que foi demonstrado para a técnica toner-vidro. Aliás, esta última é um exemplo do potencial que existe em se substituir o substrato. Neste caso, a maior estabilidade mecânica e melhor capacidade em dissipar o calor gerado pelo efeito Joule foi alcançado, mas outros substratos podem ser utilizados em processos de impressão direta, ou por transferência térmica.

Há também a perspectiva em se utilizar substratos de composição mista, isto é, com regiões com características particulares como, por exemplo, camadas condutoras para a implementação de eletrodos. Neste caso, podem-se prever dificuldades adicionais que devem ser consideradas, como o maior rigor nas etapas de alinhamento e mesmo a impossibilidade de impressão direta sobre estes materiais condutores pelo processo de impressão a laser, o que demandaria o processo de transferência térmica. É importante lembrar que – como demonstrado no capítulo 4 e mesmo em minha dissertação de mestrado – a camada de toner pode também ser útil como camada resistente em processos de corrosão. Assim, há a perspectiva de, também nas etapas de definição de camadas condutoras, se fazer uso da impressão a laser.

Outro aspecto ainda latente do toner é sua característica magnética, a qual poderia ser explorada em dispositivos que fizessem uso de campo magnético transiente para se obter deslocamento mecânico.

O conjunto das estratégias demonstradas experimentalmente e mesmo destas novas possibilidades sugere que a impressão a laser pode ser bastante interessante não só pelo seu real potencial em gerar dispositivos úteis, mas também como uma técnica introdutória para novos pesquisadores na área de *lab-on-a-chip*.

VI – Referências

1. Petersen, K.; *Sensors and Actuators* **1996**, A56, 143.
2. Nicolau, D. E.; Phillimore, J.; Cross, R.; Nicolau, D. V.; *Microelectronics Journal* **2000**, 31, 611.
3. Ohlckers, P.; Jakobsen, H.; *Microelectronics Journal* **1998**, 29, 587.
4. Fluitman, J.; *Sensors and Actuators* **1996**, A-56, 151.
5. Regnier, F., E.; He, B.; Lin, S.; Busse, J.; *Tibtech March* **1999**, 17, 101.
6. Bowen, M.; Smith, G.; *Sensors and Actuators A* **1995**, 46, 516.
7. Najafi, K.; *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1991**, 1 86.
8. Verpoorte, S.; *Trends in analytical chemistry* **2000**, vol19,n.6, 350.
9. Koch, M.; Evans, A.; Brunnschweiler, A.; *Microfluidic Technology and Applications*; Hertfordshire Research Studies Press Ltd: Baldock, **2000**.
10. Fujii, T.; *Riken Review* **2001**,1, 98.
11. Buck, R., P.; Lindner, E.; *Anal. Chem.* **2001**, 74; 88.
12. Suzuki, H.; *Materials Science and Engineering* **2000**, C12, 55.
13. Low, L. M.; Sukeerthi, S.; He, K. Q.; Madou, M. J.; *Sensor and Actuatortors* **2000**, B67, 149.
14. Yu, R. Q.; Zong, Z. R.; Guo, L.; *Sensors and Actuators B* **2000**, B65,150.
15. Schnakenberg, U.; Lisec, T.; Hintsche, R.; Kuna, I.; Uhlig, A.; Wagner, B.; *Sensors and Actuators* **1996**, B 34, 476.
16. Madou; M.; *Fundamentals of Microfabrication*; CRC Press, **1997**.

17. Smits, A. J; *A physical introduction to fluid mechanics*; John Wiley & Sons: New York, **2000**.
18. Tritton, D. J; *Physical Fluid Dynamics*; Oxford University Press: New York, **1988**.
19. Hierlemann, A.; Lange, D. C.; Kerness, N.; Koll, A.; Balters, H.; *Sensors and Actuators* **2000**, A70, 2.
20. Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*, 2nd edition; John Wiley & Sons: New York, **2001**.
21. Ottino, J. M.; Leong, C. W.; Rising, H.; Swanson, P. D.; *Nature* **1988**, 333, 419.
22. Stroock, A. D.; Dertinger, S. K. W.; Ajdari, A.; Mezic, I.; Stone, H. A.; Whitesides, G.M.; *Science* **2002**, 295, 647.
23. Ottino, J. M.; Muzzio, F. J.; Tjahjadi, M.; Franjione, J. G.; Jana, S. C.; Kusch, H. A.; *Science* **1992**, 257, 754.
24. Ottino, J. M.; *Annu. Rev. Fluid. Mech.* **1990**, 22, 207.
25. Aref, H.; *Phys. Fluids* **2002**, 14, 1315.
26. Aref, H.; *Nature* **1999**, 401, 756.
27. Aref, H.; *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. A-Math. Phys. Eng. Sci.* **1990**, 333, 273.
28. Aref, H.; *J. Fluid Mech.* **1984**, 143, 1.
29. Hoyt J.J.; Wolfer W. G.; *Eletrophoresis* **1998**, 19, 2432.
30. Papautsky, I.; Brazzle, J.; Ameel, T.; Frazier, B. A.; *Sensors and Actuators* **1999**, A73, 101.
31. Hartley, N. K.; Hayers, M. A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 1249.
32. West, J.; Gleeson, J. P.; Alderman, J.; Collins, J. K.; Berney, H.; *Sens. Actuators B* **2003**, 29, 1.
33. Paegel, B. M.; Hutt, L. D.; Simpson, P. C.; Mathies, R. A.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3030.

34. Hadique, K.; Burke, D. T.; Mastrangelo, C. H.; Burns, M. A.; *Anal.Chem.* **2000**, 72, 4100.
35. Juncker, D.; Schmid, H.; Drechsler, U.; Wolf, H.; Wolf, M.; Michel, B.; Rooij, N.; Delamarche, E.; *Anal.Chem.* **2002**, 74, 6139.
36. Fox, R. W.; McDonald, A. T.; *Introduction to Fluid Mechanics*; John Wiley & Sons. Inc.; Kreith, F.; 5th , **1994**.
37. Berger, S.A.; et. al. "Fluid Mechanics" *Mechanical Engineering Handbook*; Ed. Frank Kreith Boca Raton: CRC Press LLC, **1991**,2.
38. Ehrfeld, W.; Hessel, V.; Löwe, H. *Microreactors - New technology for modern chemistry*; Wiley – VCH; **2000**.
39. Frost & Sullivan; *Lab-on-a-Chip The Revolution in Portable Instrumentation*; Technical Insights, 3th, **1997**.
40. Terry, S. C.; Jerman, J. H.; Angell, J. B.; *IEEE Trans. Electron Devices* **1979**, 26,1880.
41. Kolesar, E. S.; Member S.; Reston R.R.; *IEEE Transactions on Components, packaging Tecnology- part B.* **1998**, 21, 324.
42. Doku, G., N.; Haswell, S., J.; *Analytical Chimica Acta* **1999**, 382, 1.
43. Hofmann, O.; Che, D., P.; Cruickshank, K., A.; Muller, U., R.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 678.
44. Manz, A.; Verpoorte, E., M., J.; Effenhauser, C., S.; Burggraf, N.; Raymond, D., E.; Widmer, H., M.; *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **1994**, 348, 567.
45. Manz, A.; Graber, N.; Widmer, H. M.; *Sens. Actuator* **1990**, B1, 244.
46. Tavares, M., F, M.; *Química Nova* **1996**, 19, 173.
47. Tagliaro, F.; Manetto, G., Crivellente, F., Smith, F., P.; *Forensic Science International* **1998**, 92, 75.
48. Jorgenson, J. W.; *Anal. Chem.* **1986**, 58, A743.
49. Jorgenson, J. W.; Lukacs, K. D.; *Anal. Chem.* **1981**, 53, 1298.

50. Jorgenson, J. W.; Lukacs, K. D.; *Science* **1983**, 222, 266.
51. Kuhr, W. G.; Monnig, C. A.; *Anal. Chem.* **1992**, 64, R389.
52. Monnig, C. A.; Kennedy, R. T.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, R280.
53. Gordon, M. J.; Huang, X. H.; Pentoney, S. L.; Zare, R. N.; *Science* **1988**, 242, 224.
54. Hjerten, S.; *J. Chromatogr.* **1983**, 270, 1.
55. Li, S. F. Y.; *Capillary Electrophoresis*; ELSEVIER SCIENCE PUBLISHER B.V.: Amsterdam, **1992**.
56. Guzman, N. A.; *Capillary Electrophoresis Technology*; Marcel Dekker, Inc.: New York, Basel, Hong Kong, **1993**.
57. Thormann, W.; Mosher, R. A.; Bier, M.; *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1986**, 191, 89.
58. Jacobson, S., C.; Hergenroder, R.; Koutny, L., B.; Ramsey, J., M.; Manz, A.; Harrison, D., J.; Verpoorte, E., M., J.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1114.
59. Furlan, R.; Simões, E. W.; *V Escola Brasileira de Microeletrônica*, **1999** (Notas).
60. Carlsson, K.; Hans, S. J.; Jensen, A. L.; Stentrom, T.; Karlberg, B.; *Analitica Chimica Acta* **1997**, 354, 35.
61. Andreev, V. P.; Kamenev, A.G.; Popov, N.; *Talanta* **1996**, 43, 909.
62. Kutter, J. P.; Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 5165.
63. Rodriguez, I.; Zhang, Y.; Lee, H. K.; Li, S. F. Y.; *Journal of Chromatography* **1997**, 781, 287.
64. Fintschenko, Y.; Berg, A.; *Journal of Chromatography* **1998**, 819, 3.
65. Johnson, A. M.; Ritchie, R. F.; *Pure and Applied Chemistry* **1996**, 68, 1863.

66. Mastrangelo, C. H.; Burns, M. A.; Burke, D. T.; *Proceedings of de IEEE* **1998**, 86, 1769.
67. Zhang, Y.; Lee, H. K.; Li, S. F. Y.; *Talanta* **1998**, 45, 613.
68. Chen, Y. H.; Chen, S. H.; *Electrophoresis* **2000**, 21, 165.
69. VonHeeren, F.; Verpoorte, E.; Manz A.; Thormann, W.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 2044.
70. Karanassios, V.; Sharples, J. T.; *Sensors and Materials* **1997**, 9, 363.
71. Hadd, A. G.; Raymond, D. E.; Halliwell, J. W.; Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3407.
72. Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3212.
73. Fan, Z. H.; Harrison, D. J.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 177.
74. Seiler, K.; Harrison, D. J.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1481.
75. Jacobson, S. C.; Hergenroder, R.; Koutny, L. B.; Warmack, R. J.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 1107.
76. Waldron, K. C.; Li, X. F.; Chen, M.; Ireland, I.; Lewis, D.; Carpenter, M.; Dovichi, N. J.; *Talanta* **1997**, 44, 383.
77. Ramsey, R. S.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 1174.
78. Ocvirk, G.; Verpoorte, E.; Manz, A.; Grasserbauer, M.; Widmer, H. M.; *Analytical Methods and Instrumentation* **1995**, 2, 74.
79. McEnery M. M.; Glennon J. D.; Alderman J.; Mathuna, S. C. O.; *Biomed. Chromatogr.* **2000**, 14, 44.
80. Jacobson, S. C.; Moore, A. W.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1995**, 67, 2059.
81. Raymond, D. E.; Manz, A.; Widmer, H. M.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 2858.
82. Johnson, A. M.; Ritchie, R. F.; *Pure and Applied Chemistry* **1996**, 68, 1863.

83. VonHeeren, F.; Verpoorte, E.; Manz A.; Thormann, W.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 2044.
84. Eggers, M.; Ehrlich, D.; *Hematologic Pathology* **1995**, 9, 1.
85. Auroux, P. A.; Iossifidis, D.; Reyes, D. R.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2637.
86. Ehrfeld, W.; Hessel, V.; Löwe, H.; *Microreactors - New Technology for Modern Chemistry*; Wiley - VCH, **2000**.
87. Reyes, D. R.; Iossifidis, D.; Auroux, P. A.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2623.
88. Jackson, D. J.; Naber, J. F.; Roussel, T. J.; Crain, M. M.; Walsh, K. M.; Keynton, R. S.; Baldwin, R. P.; *Anal. Chem.* **2003**, 75, 3643.
89. Renzi, R. F.; Stamps, J.; Horn, B. A.; Scott, F.; VanderNoot, V.A.; West, J. A. A.; Crocker, R.; Wiednman, B.; Yee, D.; Fruetel, J. A.; *Anal. Chem.* **2005**, 77, 435.
90. Linder, D.; *Lab on a Chip* **2001**, 1, 15N.
91. Matlos, M.; Commenge, J. M.; *Chimia* **2002**, 56, 654.
92. Ehrfeld, W.; Hessel, V.; Lehr, H.; Becker, A. M. A. H.; *In. Topics in Current Chemistry* **1998**; 194, 233.
93. Wang, J.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 2514.
94. Bailey, C. G.; Wallenborg, S. R.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 1872.
95. Service, R., F.; *Science* **1998**, 282, 396.
96. Burns, M. A.; *Science* **1998**, 282, 484.
97. Bruijn, E., A.; *Journal of Chromatography* **2000**, 739, 139.
98. Fraser, C., M.; *Nature* **1997**, 390, 580.
99. Jacobson, C., S.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 4608.
100. Vo-Dinh, T.; *Sensors and Actuators* **1998**, 51, 52.
101. Santini, Jr. J. T.; Regnier, F.; *Nature* **1999**, 397, 335.

102. Suzuki, H.; *Material Science and Engineering* **2000**, 12, 55.
103. Weetall, H. H.; *Biosensors & Bioelectronics* **1996**, 11, i.
104. Bowden, M.; Sequeira, M.; Krog, J. P.; Gravesen, P.; Diamond, D.; *Analyst* **2002**, 127, 1.
105. Boda, J. L.; Kminek, G.; Botta, O.; Glavin, D. P.; Gruthaner, F.; *Planetary and Space Science* **2000**, 48, 1087.
106. Greenway, G. M.; Haswell, S. J.; Morgan, D. O.; Skelton, V.; Styring, P.; *Sens. Actuator* **2000**, B63, 153.
107. De Witt, S. H.; *Current Opinion in Chemical Biology* **1999**, 3, 350.
108. Emrich, C. A.; Tian, H. J.; Medintz, I. L.; Mathies, R. A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 5076.
109. Liu, S. R.; Shi, Y. N.; Ja, W. W.; Mathies, R. A.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 566.
110. Paegel, B. M.; Blazej, R. G.; Mathies, R. A.; *Curr. Opin. Biotechnol.* **2003**, 14, 42.
111. Woolley, A. T.; Mathies, R. A.; *Anal. Chem.* **1995**, 67, 3676.
112. Woolley, A. T.; Sensabaugh, G. F.; Mathies, R. A.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2181.
113. Dinh, V. T.; *Sensors and Actuators B* **1998**, B51, 52.
114. Yakovleva, J.; Davidsson, R.; Lobanova, A.; Bengtsson, M.; Eremin, S.; Laurell, T.; Emneus, J.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2994.
115. Rossier, J.; Raymond, F.; Michel, P. E.; *Electrophoresis* **2002**, 23, 858.
116. Xue, Q. F.; Wainright, A.; Gangakhedkar, S.; Gibbons, I.; *Electrophoresis* **2001**, 22, 4000.
117. Hadd, A. G.; Raymond, D. E.; Halliwell, J. W.; Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3407.
118. Schaffar, B. P. H.; Kontschieder, H.; Ritter, C.; Berger, H.; *Clin. Chem.* **1999**, 45, 1678.

119. Koutny, L. B.; Schmalzing, D.; Taylor, T. A.; Fuchs, M.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 18.
120. Schmalzing, D.; Nashabeh, W.; *Electrophoresis* **1997**, 18, 2184.
121. Shawgo, R. S.; Grayson, A. C. R.; Li, Y. W.; Cima, M. J.; *Curr. Opin. Solid State Mat. Sci.* **2002**, 6, 329.
122. Cao, L.; Mantell, S.; Polla, D.; *Sens. Actuator A-Phys* **2001**, 94, 117.
123. Wouters, S. S.; Dinh S. M.; *Eletrochimica Acta* **1997**, 42, 3385.
124. Kikutani, Y.; Horiuchi, T.; Uchiyama, K.; Hisamoto, H.; Tokeshi, M.; Kitamori, T.; *Lab Chip* **2002**, 2, 188.
125. Mitchell, M. C.; Spikmans, V.; Manz, A.; de Mello, A. J. J.; *Chem. Soc.-Perkin Trans.* **2001**, 1, 514.
126. Khandurina, J.; McKnight, T. E.; Jacobson, S. C.; Waters, L. C.; Foote, R. S.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 2995.
127. Kopp, M. U.; de Mello, A. J.; Manz, A.; *Science* **1998**, 280, 1046.
128. Waters, L. C.; Jacobson, S. C.; Kroutchinina, N.; Khandurina, J.; Foote, R. S.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 5172.
129. Rohner, T. C.; Rossier, J. S.; Girault, H. H.; *Anal. Chem.* **2001**, 73, 5353.
130. Liu, H. H.; Felten, C.; Xue, Q. F.; Zhang, B. L.; Jedrzejewski, P.; Karger, B. L.; Foret, F.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3303.
131. Wen, J.; Lin, Y. H.; Xiang, F.; Matson, D. W.; Udseth, H. R.; Smith, R. D.; *Electrophoresis* **2000**, 21, 191.
132. Ramsey, R. S.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2617.
133. Lichtenberg, J.; de Rooij, N. F.; Verpoorte, E.; *Talanta* **2002**, 56, 233.
134. Taylor, M. T.; Belgrader, P.; Furman, B. J.; Pourahmadi, F.; Kovacs, G. T. A.; Northrup, M. A.; *Anal. Chem.* **2001**, 73, 492.

135. Belgrader, P.; Okuzumi, M.; Pourahmadi, F.; Borkholder, D. A.; Northrup, M. A.; *Biosens. Bioelectron.* **2000**, *14*, 849.
136. Xiang, F.; Lin, Y. H.; Wen, J.; Matson, D. W.; Smith, R. D.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 1485.
137. Steinkuhl, R.; Sundermeier, C.; Hinkers, H.; Dumschat, C.; Cammann, K.; Knoll, M.; *Sens. Actuator B* **1996**, *33*, 19.
138. Wolfe, K. A.; Breadmore, M. C.; Ferrance, J. P.; Power, M. E.; Conroy, J. F.; Norris, P. M.; Landers, J. P.; *Electrophoresis* **2002**, *23*, 727.
139. Yu, C.; Davey, M. H.; Svec, F.; Frechet, J. M. J.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 5088.
140. Effenhauser, C. S.; Bruin, G. J. M.; Paulus, A.; Ehrat, M.; *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 3451.
141. Wabuyele, M. B.; Ford, S. M.; Stryjewski, W.; Barrow, J.; Soper, S. A.; *Electrophoresis* **2001**, *22*, 3939.
142. Guetes, G.; Cauwenberghe, V. K.; Boeck, D. G.; Maes, R.; Tjaden, U. R.; Greef, D. V. J.; Highley, M.; Oosterom, V.; Bruijn, E.A.; *Journal Of Chromatography* **2000**, *739B*, 139.
143. Greenway, G. M.; Haswell, S. J.; Morgan, D. O.; Skelton, V.; Styring, P.; *Sens. Actuator B* **2000**, *63*, 153.
144. Haswell, S. J.; Middleton, R. J.; O'Sullivan, B.; Skelton, V.; Watts, P.; Styring, P.; *Chem. Commun.* **2001**, 1,12.
145. Hisamoto, H.; Saito, T.; Tokeshi, M.; Hibara, A.; Kitamori, T. *Chem. Commun.* **2001**, 1,35.
146. Skelton, V.; Greenway, G. M.; Haswell, S. J.; Styring, P.; Morgan, D. O. *In Microreaction Technology : Third International Conference on Microreaction Technology, proceedings of IMRET 3; Ehrfeld, W., Ed.; Springer-Verlag: Frankfurt, 1999; 235.*
147. Koch, M.; Evans, A.; Brunnschweiler, A.; *Microfluidic Technology and Applications*; Hertfordshire Research Studies Press Ltd: Baldock, **2000**.

148. Auroux, P. A.; Iossifidis, D.; Reyes, D. R.; Manz, A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2637.
149. Nicolau, D. E.; Phillimore, J.; Cross, R.; Nicolau, D.V.; *Microelectronics Journal* **2006**, 31, 611.
150. Harrison, J. D.; Manz, A.; Fan, Z.; Ludi, H.; Widmer, H. M.; *Anal. Chem.* **1992**, 64, 1926.
151. Harrison, J. D.; Manz, A.; Fan, Z.; Effenhauser, C. S.; *Science* **1993**, 261, 895.
152. Lucy, C. A.; *Talanta* **2000**, 51, 1125.
153. Heegaard, N. H. H.; Nilson, S.; Guzman, N. A.; *Journal of Chromatography B.* **1998**, 715, 29.
154. Manz, A.; Reyes, D. R.; Iossifidis, D.; Auroux, P. A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2623.
155. Manz, A.; Reyes, D. R.; Iossifidis, D.; Auroux, P. A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2637.
156. Manz, A.; *Chimia* **1996**, 50, 140.
157. Kutter, J.; *Trends in Analytical Chemistry* **2000**, 19, 352.
158. Figeys, D.; Ocata, M. D. S.; Pinto, D.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 350.
159. Blankenstein, G.; Larsen, U.D.; *Biosensors & Bioelectronics* **1998**, 13, 427.
160. McCreedy, T.; *Trends in Analytical Chemistry* **2000**, 19, 396.
161. Merel, P. P.; *Biofutur.* **1999**, 193, 38.
162. Rossier, J.S.; Schwarz, A.; Reymond, F.; Ferrigno, R.; Bianchi, F.; Girault, H.H.; *Electrophoresis* **1999**, 20, 727.
163. Bilitewski U., Genrich M., Kadoe S. Mersal G.; *Anal. Bional. Chem.* **2003**, 377, 556.
164. Lang, X.; *Materials Science And Engineering* **1996**, R17, 1.
165. Maboudian, R.; *Surface Science Reports* **1998**, 30, 207.

166. Lorenz, H.; Paratte, L.; Rooij, N. F.; Renaud, P.; *Sens. Actuators A* **1996**, 53, 364.
167. Morrissey, A.; Kelly, G.; Alderman, J.; *Sens. Actuators A* **1999**, 74, 178.
168. Lochel, B.; Maciossek, A.; Quenzer, H. J.; Wagner, B. J.; *Electrochem. Soc.* **1996**, 143, 237.
169. Tjerkstra, R. W.; Boer, M.; Berenshot, E.; Gardeniers, J. G. E.; Berg, A. V.; Elwenspoek, M. C.; *Electrochimica Acta* **1997**, 42, 3399.
170. Li, Y. X.; French, P. J.; Sarro P. M.; Wolffembüttel, R. F.; *Sens. Actuators* **1996**, A57, 223.
171. Kupka, P. K.; Boumrane, F.; Cremes, C.; Megtert, S.; *Applied Surface Science* **2004**, 164, 97.
172. Richter, K.; Orfert, M.; Jowitz, S.; Thierbach, S.; *Surface and Coatings Technology* **1999**, 116-119, 461.
173. Menz, W.; *Sens. Actuators A* **1996**, A54, 785.
174. Lowe, H.; Ehrfeld, W.; *Electrochimica Acta* **1999**, 44, 3679.
175. Datta, M.; Landolt, D.; *Eletrochimica Acta* **2000**, 43, 2535.
176. Ayazi, F.; Najafi, K.; *Sensors and Actuators A* **2000**, 87, 46.
177. Zhang, X.; Jiang, C. S.; *Sens. Actuators A* **1999**, 77, 149.
178. Deng, T.; Goetting, L. B.; Hu, J.; Whitesides, G. M.; *Sens. Actuators A* **1990**, 75, 60.
179. Belloy, E.; Sayah, A.; Gijs, M. A. M.; *Sens. Actuators A* **2000**, 86, 231.
180. Belloy, E.; Thurre, S.; Walckiers, E.; Sayah, A.; Gijs, M. A. M.; *Sens. Actuators A* **2000**, 86, 337.
181. Qin, D.; Xia, Y. N.; Rogers, J. A.; Jackman, R. J.; Zhao, X. M.; Whitesides, G. M.; *Topics in Current Chemistry* **1998**, 194, 1.
182. Roberts, M. A.; Rossier, J. S.; Bercier, P.; Girault, H.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2035.

183. McCormick, R. M.; Nelson, R. J.; Alonso-Amigo, G. M.; Benvegnu, D. J.; Hooper, H. H.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2626.
184. Effenhauser, C. S.; Bruin, G. J. M.; Paulus, A.; Ehrat, M.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3451.
185. Martynova, L.; Locascio, L. E.; Gaitan, M.; Kramer, G. W.; Christensen, R. G.; Maccreehan, W. A.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 4783.
186. Gretillart, M. A.; Paoletti, F.; Thiebauda, P.; Roth, S.; Hep, M. K.; Rooij, N. F.; *Sens. Actuators A* **1997**, A60, 219.
187. Ehrfeld, W.; Hessel, V.; Löwe, H. *Microreactors - New technology for modern chemistry*; Wiley - VCH; **2000**.
188. Effenhauser, C. S.; Bruin, G. J. M.; Paulus, A.; *Electrophoresis* **1997**, 18, 2203.
189. McDonald, J. C.; Whitesides, G. M.; *Accounts Chem. Res.* **2002**, 35, 491.
190. Schultze, J. W.; *Electrochimica Acta* **2000**, 45, 3193.
191. McCreedy, T.; *Trends in analytical chemistry* **2000**, 19, 396.
192. Nagel, D.J.; *Surface and Coatings Technology* **1998**, 103-105, 138.
193. Tan, A.; Rodgers, K.; Murrilhy, J. P.; Mathuna, C. O.; Glennon, J. D.; *Lab-on-a-Chip* **2001**, 1, 7.
194. Torreira, R. P.; *Salas Limpas*; Hemus, Brasil, **1990**.
195. ASHRAE Handbook, **1999**. "Heating, ventilation and air-conditioning applications", ASHRAE publications, USA.
196. Ruska; W. S.; *Microelectronic Processing*; McGraw-Hill, EUA, **1987**.
197. "Federal Standard 209E Airborne Particulate Cleanliness Classes in Clean Rooms and Clean Zones". Institute of Environmental Sciences, Illinois – EUA.
198. ISO 14644 "Cleanrooms and associated controlled environments". ISO standards – CE.

199. McDonald, J. C.; Duffy, D. C.; Anderson, J. R.; Chiu, D. T.; Wu, H.; Schüller, O. J.; Whitesides, G. M.; *Electrophoresis* **2000**, 21, 27.
200. Duffy, S. C.; Cooper, M. D.; Olivier, S. J. A.; Whitesides, G. M.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4974.
201. Soper, A. S.; Ford, S. M.; Qi, S.; Maccarley, R. L.; Kelly, K.; Murphy, M. C.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 643.
202. Becker, H.; Heim, U.; *Sens. Actuators A* **2000**, 83, 130.
203. Barker, B. S. L. R.; Tarlov, M. J.; Canavan, H.; Hickman, J. J.; Locascio, L. E.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 4899.
204. Chen, Y. H.; Wang, W. C.; Yung, K. G.; Chang, T. T.; Chen, S. H.; *Clin. Chem.* **1999**, 45, 1938.
205. Xu, J.; Locascio, L. E.; Gaitan, M.; Lee, C. S.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 1930.
206. Metz, S.; Holzer, R.; Renaud, P.; *Lab-on-a-chip* **2001**, 1, 29.
207. Deng, T.; Wu, D.; Brittain, S. T.; Whitesides, G. M.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3176.
208. McDonald, J. C.; Chabinyk, M. L.; Metallo, S. J.; Anderson, J. R.; Stroock, A. D.; Whitesides, G. M.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 1537.
209. Yang, R.; Simanek, E. E.; Cremer, P.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 2587.
210. Kovacs, G. T. A.; *Micromachined Transducers Sourcebook*; WCB/McGraw-Hill; Boston, **1998**.
211. Hosokama, K.; Fujii, T.; Endo, I.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 4781.
212. Martin, R. S.; Gawron, A. J.; Lunte, S. M.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3196.
213. Grab, B.; Neyer, A.; Johnck, M.; Siepe, D.; Eisenmbeib, F.; Weber, G.; Hergernroder, R.; *Sens. Actuators B* **2001**, 72, 249.
214. Galloway, M.; Stryjewski, W.; Henry, A.; Ford, S. M.; Llopis, S.; McCarley, R. L.; Soper, S. A.; *Anal. Chem.* **2002**, 74, 2407.

215. Rossier, J. S.; Roberts, M. A.; Ferrigno, R.; Girault, H. H.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 4294.
216. Sassi, A. P.; Paulus, A.; Cruzado, I. D.; Bjornson, T.; Hooper, H. H.; *Journal of Chromatography A* **2000**, *894*, 203.
217. Wang, S. C.; Morris, M. D.; *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1448.
218. Silva, H. D. T.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, **2001**.
219. J. A. Fracassi da Silva, C. L. Lago, H. D. T. Silva, C. A. Neves, J. G. A. Brito-Neto, R. Furlan, "Approaches for the fabrication of low cost microfluidic devices", Oral Presentation, 8th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology, Mar del Plata, Argentina, **2002**.
220. Claudimir L. Lago – Processo de Microfabricação Utilizando Toner como Material Estrutural – Processo FAPESP 2001/00881-0. Programa de apoio à Propriedade Intelectual – NUPLITEC. Início: 01/06/2001.
221. H. D. T. Silva, J. A. Fracassi da Silva, C. L. Lago, C. A. Neves, J. G. A. Brito-Neto, "Microchannel Manufacturing Process using toner as structure component", 8th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology, Mar del Plata, Argentina, **2002**.
222. Lago, C. L.; Silva, H. D. T.; Neves, C. A.; Brito-Neto, J. G. A.; Silva, J. A. F.; *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3853.
223. C. A. Neves, J. A. Fracassi da Silva, C. L. Lago, H. D. T. Silva, J. G. A. Brito-Neto, "Characterization of the microchannel manufacturing process using toner as structure component", 8th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology, Mar del Plata, Argentina, **2002**.
224. Huang, X.; Gordon, M. J.; Zare, R. N.; *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1837.

225. Locascio, L. E.; Perso, C. E.; Lee, C. S.; *Journal of Chromatography A* **1999**, 857, 275.
226. Weast, R. C. (Ed.); *CRC Handbook of Chemistry and Physics*; CRC Press; Boca Raton, **1990**.
227. Schwarz, M. A.; Hauser, P. C.; *Lab-on-a-Chip* **2001**, 1,1.
228. Silva, J. A. F.; Lago, C. L.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4339.
229. H. D. T. Silva, J.A. Fracassi da Silva, C.L. Lago, "Detecção Condutométrica Sem Contato para Eletroforese Capilar em Microdispositivos de Poliéster-Toner", 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – MG, **2003**.
230. Zhang, B.; Liu, H.; Karger, B.L.; Forest, F.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, A1.
231. Kaniánsky, D.; Masar, M.; Bielskiová, J.; Iványi, F.; Eisenbeiss, F.; Stanislawski, B.; Grass, B.; Neyer, A.; Johnck, M.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3596.
232. Fluri, K.; Fitzpatrick, G.; Chiem, N.; Harrison, D. J.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 4285.
233. Liu, Y.; Foote, R. S.; Jacobson, S. C.; Ramsey, R. S.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 4608.
234. Gottschlich, N.; Culbertson, C. T.; Mcknight, T. E.; Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M.; *Journal of Chromatography* **2000**, 745, 243.
235. Bao, J. J.; *Journal of Chromatography* **1997**, B699, 463.
236. Mazereeuw, M.; Best, C. M.; Tjaden, U. R.; Irth, H.; Greef, J.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 3881.
237. Xue, Q.; Foret, F.; Dunayevskiy, P.M.; McGruer, N.E.; Karger, B.L.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 426.
238. Licklider, L.; Wang, X. Q.; Desai, A.; Tai, Y. C.; Lee, T. D.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 367.
239. Lazar, J. M.; Ramsey, R. S.; Jacobson, S. C.; Foote, R. S.; Ramsey, J. M.; *Journal of Chromatography* **2000**, 892, 195.
240. Figeyes, D.; Aebersold, R.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 3721.

241. Yuan, C. H.; Shiea, J.; *Anal.Chem.* **2001**, 73, 1080.
242. Oleschuk, R. D.; Harrison, D. J.; *Trends in analytical chemistry* **2000**, 19, 379.
243. Sung, J.; Knapp, D. R.; *American Society for mass Spectrometry* **2000**, 1, 463.
244. Mello, A. J.; *Lab on a Chip* **2001**, 1; 7N.
245. Li, J.; Kelly, J. F.; Chermushevick, I.; Harrison, D. J.; Thibault, P.; *Anal.Chem.* **2000**, 72, 599.
246. Li, J.; Pierre, T.; Bings, N. H.; Skinner, C. D.; Wang, C.; Colyer, C.; Harrison, D. J.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 3036.
247. Schultz, G. A.; Corso, T. N.; Prosser, S.J.; Zhang, S.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 4058.
248. Chan, J. H.; Timperman, A. T.; Qin, D.; Aebersold, R.; *Anal.Chem.* **1999**, 71, 4437.
249. Lazar, I. M.; Ramsey, R. S.; Sundeborg, S.; Ramsey, J. M.; *Anal. Chem.* **1999**, 71; 3627.
250. Figeys, D.; Ning, Y.; Aebersold, R.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3153.
251. Xu, N.; Lin, Y.; Hofstadler, S. A.; Matson, D.; Call, C. J.; Smith, R.; *Anal.Chem.* **1998**, 70, 3553.
252. Hooijschuur, E. W.; Kientz, C. E.; Hulst, A.; *Anal.Chem.* **2000**, 72, 1199.
253. Chan, J. H.; Timperman, A. T.; Qin, D.; Aebersold, R.; *Anal. Chem.* **1999**; 71; 2712.
254. J. G. A. Brito-Neto, J. A. Fracassi da Silva, C. L. Lago, H. D. T. Silva, C. A. Neves, "Electrospray production using a microfluidic device made by the toner-polyester technique", 8th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology, Mar del Plata, Argentina, **2002**.
255. Wang, J.; *Talanta* **2002**, 56, 223.

256. Woolley, A. T.; Lao, K.; Glazer, A. N.; Mathies, R. A.; *Anal. Chem.* **1998**, 70, 684.
257. Vandaveer, W. R.; Pasas, S. A.; Martin, R. S.; Lunte, S. M.; *Electrophoresis* **2002**, 23, 3667.
258. Osborn, D. M.; Lunte, C. E.; *Anal. Chem.* **2003**, 75, 2710.
259. Keynton, R. S.; Roussel, T. L.; Crain, M. M.; Jackson, D. J.; Franco, D. B.; Naber, J. F.; Walsh, K. M.; Baldwin, R. P.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, 507, 382.
260. Daniel, D.; Gutz, I. G. R.; *Electrochem. Commun.* **2003**, 5, 782.
261. Gawron, A. J.; Martin, R. S.; Lunte, S. M.; *Electrophoresis* **2001**, 22, 242.
262. Coltro, W. K. T.; Silva, J. A. F.; Silva, H. D. T.; Richter, E. M.; Furlan, R.; Angnes, L.; Lago, C. L.; Mazo, L. H.; Carrilho, E.; *Electrophoresis* **2004**, 25, 3832.
263. Effenhauser, S. C.; Manz, A.; Widmer, H. M.; *Anal. Chem.* **1993**, 65, 2637.
264. Jacobson, S. C.; Hergenroder, R.; Koutny, L. B.; Ramsey, M. J.; *Anal. Chem.* **1994**, 66, 2369.
265. Buckley, A. M.; Greenblatt, M.; *J. Chem. Ed.* **1994**, 71, 599.
266. Wang, D.; Chong, S. L.; Malik, A.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 4566.
267. Wang, J.; Pamidi, P. V. A.; *Anal. Chem.* **1997**, 69, 4490.
268. Dunbar, R. A.; Jordan, J. D.; Bright, F. V.; *Anal. Chem.* **1996**, 68, 604.
269. Wang, H. Y.; Foote, R. S.; Jacobson, S. C.; Schneibel, J. H.; Ramsey, J. M.; *Sens. Actuators B* **1997**, 45, 199.
270. Chiem, N.; Shultz, L. L.; Andersson, P.; Skinner, C.; Harrison, D. J.; *Sens. Actuators B* **2000**, 63, 147.
271. Sayah, A.; Solignac, D.; Cueni, T.; Gijs, M. A. M.; *Sens. Actuators B* **2000**, 84, 103.

- 272. Silva, J. A. F.; Guzman, N.; Lago, C. L.; *J. Chromatogr. A* **2002**, 942, 249.
- 273. Lago, C. L., Neves, C. A., Jesus, D. P., Silva, H. D. T., Brito-Neto, J. G. A., Silva, J. A. F., *Electrophoresis* **2004**, 25, 3825.
- 274. Silva, H. D. T., Lago, C. L., *Quim. Nova* **2003**, 26-2, 278.