



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

RICHARD PIFFER SOARES DE CAMPOS

**MODIFICAÇÃO DE POLI(DIMETILSILOXANO) PARA APLICAÇÕES
EM MICRO SISTEMAS DE ANÁLISE TOTAL**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
QUÍMICA NA ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA**

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOSÉ ALBERTO FRACASSI DA SILVA

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR RICHARD PIFFER SOARES DE CAMPOS, E ORIENTADA PELO Prof. Dr. JOSÉ ALBERTO FRACASSI DA SILVA.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS, 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144 -
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

C157m Campos, Richard Piffer Soares de (1984-).
Modificação de poli (dimetilsiloxano) para
aplicações em micro sistemas de análise total / Richard
Piffer Soares de Campos. – Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientador: José Alberto Fracassi da Silva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Poli (dimetilsiloxano). 2. Microfluidica.
3. Modificação de superfície. I. Silva, José Alberto
Fracassi da. II. Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Polydimethylsiloxane modification for micro total analysis systems applications

Palavras-chave em inglês:

Polydimethylsiloxane
Microfluidics
Surface modification

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

José Alberto Fracassi da Silva [Orientador]
Emanuel Carrilho
Jarbas José Rodrigues Rohwedder

Data de defesa: 17/02/2012

Programa de pós-graduação: Química

*Dedico este trabalho aos meus pais, Ivanir Piffer e Donizetti Campos, pelo
incondicional apoio em todas as etapas da minha vida,*

Ao meu irmão Rodrigo Piffer, pelo companheirismo e amizade,

*E à memória de Maria das Dores, que infelizmente não pôde presenciar essa
realização.*

Por fim, mas não menos importante, dedico este trabalho à minha namorada, amiga e companheira, Inácia Helena Lopes, pelo apoio, compreensão, confiança e ajuda em todos os momentos desde que estamos juntos.

“Daqui não tem mais volta, pra frente é sem saber
Pequenos paraísos e riscos a correr
Os deuses jogam pôquer
E bebem no saloon doses generosas de BR 101
Tá escrito há 6.000 anos em para-choques de caminhão
Atalhos perigosos, feito frases feitas
Os deuses dão as cartas... o resto é com você

No fundo tudo é ritmo
A dança foge do salão
Invade a autoestrada do átomo ao caminhão
O fim é puro ritmo
O último suspiro é purificação
Os deuses dão as costas... agora é só você

Os deuses dão as cartas... agora é só você... querer!”

(Lance de dados – Humberto Gessinger)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por tornar tudo isso possível.

Agradeço ao meu orientador prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva, pelos conselhos, ensinamentos e pela confiança em mim depositada na realização deste trabalho.

Agradeço também à prof^a. Dra. Inez Valéria Pagotto Yoshida, pela inestimável ajuda durante o decorrer dos experimentos e durante todas as etapas de escrita e aos prof. Dr. Ronei Jesus Poppi, prof. Dr. Dosil Pereira de Jesus e a Márcia Cristina Breitzkreitz, pelo apoio e colaboração.

A todos os membros e ex-membros do GEM, Alexandre, Renata, Aline Guadalupe, Aline Mora, Grazielle, Jaqueline, Marta, Daniel, Débora, Walter, Grafite e aos integrantes do grupo do prof. Dr. Pedro Volpe, Heloísa, Jucélio, Carlos, Juliana, Marcelo e Thiago, bem como ao docente, que contribuíram direta ou indiretamente para o crescimento deste trabalho.

Aos membros e ex-membros do LNNano com quem trabalhei, Ângelo Luis Gobbi, Maria Helena, Caio e Nathan, por tornar possível a confecção de vários moldes e dispositivos.

À toda minha família, em especial a Michell Perine pelos conselhos e amizade, e aos meus amigos Silvio, Laís, Wederson, Attilio, Michele, Giuliano, Lucas, Diego, Aline, Bruno, Natália, Fregola, Carol, Pedro, Juliana, Nicolas, Eduardo, Gabriel, João, Mirla e em especial à Henrique de Oliveira, pelo incentivo ao ingresso no mestrado, e à Emanueli do Nascimento da Silva, pela amizade e toda ajuda e crescimento proporcionados nesses dois anos.

Por fim, agradeço a todos os professores e funcionários do IQ-UNICAMP, à CAPES, CNPq, INCTBio e FAPESP, pelo financiamento deste trabalho e aos membros da banca, pela contribuição no meu crescimento profissional.

Súmula Curricular

Richard Piffer Soares de Campos

Brasileiro, natural de Limeira – SP.

Data de Nascimento: 15/12/1984

Formação Acadêmica

2003 – 2008: Licenciatura em Química – Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus Júlio de Mesquita Filho – Presidente Prudente.

Atividades Acadêmicas (referente ao mestrado)

Participação no Programa de Estágio Docente (PED C) – Período: 8-12/2011.
Disciplina de QA 213/ Química II (Engenharia de Alimentos) – Instituto de Química – Departamento de Química Analítica – UNICAMP.

Participação na I Escola de Inverno de Separações, em julho de 2010, no Instituto de Química – UNICAMP.

Participação na II Escola de Inverno de Separações, mini curso 2 – Eletroforese Capilar, em julho de 2011, no Instituto de Química – UNICAMP.

Trabalhos apresentados em congressos (referente ao mestrado)

Pôster – Modificação da superfície de PDMS via ligação covalente para aplicação em Micro Sistemas de Análise Total. CAMPOS, R. P. S.; YOSHIDA, I. V. P.; SILVA, J. A. F.; 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (2011).

Pôster – Surfactant modified poly(dimethylsiloxane) for microchip capillary electrophoresis applications. CAMPOS, R. P. S.; YOSHIDA, I. V. P.; SILVA, J. A. F.; 16th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical,

Biopharmaceutical, and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology (LACE 2010).

Pôster – Poly(dimethylsiloxane) surface modification with poly(ethylene glycol) divinyl ether for microchip capillary electrophoresis applications. CAMPOS, R. P. S.; YOSHIDA, I. V. P.; SILVA, J. A. F.; 16th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical, and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology (LACE 2010).

Pôster – Raman spectroscopy characterization of modified PDMS for micro total analysis systems applications. CAMPOS, R. P. S.; YOSHIDA, I. V. P.; POPPI, R. J.; SILVA, J. A. F.; Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII (2011).

Apresentação Oral – Modified poly(dimethylsiloxane) with improved wettability for microchip applications. CAMPOS, R. P. S.; YOSHIDA, I. V. P.; SILVA, J. A. F.; 17th Latin-American Symposium on Biotechnology, Biomedical, Biopharmaceutical, and Industrial Applications of Capillary Electrophoresis and Microchip Technology (LACE 2011). Apresentado pelo prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva.

Publicação (referente ao mestrado)

Artigo Submetido: R. P. S. de Campos, I. V. P. Yoshida, M. C. Breitzkreitz, R. J. Poppi, J. A. F. da Silva. Raman Imaging Spectroscopic characterization of modified Poly(dimethylsiloxane) for micro total analysis systems applications, Spectrochim. Acta Part A.

Premiação (referente ao mestrado)

ITAU AWARD pelo pôster Raman spectroscopy characterization of modified PDMS for micro total analysis systems applications. CAMPOS, R. P. S.; YOSHIDA, I. V. P.; POPPI, R. J.; SILVA, J. A. F.; Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXVII (2011).

Resumo

“Modificação de Poli(dimetilsiloxano) para Aplicações em Micro Sistemas de Análise Total”.

Autor: Richard Piffer Soares de Campos

Orientador: José Alberto Fracassi da Silva

Os micro sistemas de análise total consistem de dispositivos da ordem de centímetros que tem como objetivo a integração de várias etapas analíticas em um único chip, tais como etapas de tratamento de amostra, separação por eletroforese capilar, ou mesmo a integração de sensores em canais microfluídicos. O poli(dimetilsiloxano), PDMS, é um dos polímeros mais adotados para a fabricação destes microdispositivos, devido a suas propriedades elastoméricas, transparência óptica, permeabilidade gasosa, biocompatibilidade, fácil moldagem, relativa alta resistência química e baixo custo de fabricação, além de poder ser facilmente moldado e selado, resultando em microcanais com boa resolução. Além disso, é possível a fabricação de canais por ablação a laser sobre o polímero curado. Entretanto, a característica altamente hidrofóbica do PDMS faz com que sua aplicação para soluções aquosas seja problemática e analitos pouco polares possam sofrer forte adsorção nas paredes do canal, tornando pobre a reprodutibilidade do processo. Neste sentido, estratégias para modificar o material nativo ou mesmo a superfície dos canais vêm sendo estudadas.

Neste trabalho, foi inicialmente estudada a modificação estrutural do PDMS, que consiste na utilização de um reticulante (contendo função orgânica polar metacrilato ou amina) na formação do substrato. Também foi realizada a modificação da superfície do substrato de PDMS por reação topológica, com a introdução de polietileno glicol, além da modificação do processo convencional de reticulação do PDMS Sylgard 184, pela adição do surfactante Silwet-L77 a este processo. O PDMS modificado foi avaliado quanto a sua hidrofobicidade, por medida do ângulo de contato com a água, em relação às propriedades do fluxo eletrosmótico gerado no microcanal e as modificações foram estudadas por métodos espectroscópicos.

A reação de modificação de superfície do PDMS com divinil éter de polietileno glicol apresentou as melhores características hidrofílicas dentre as modificações estudadas e mobilidade do fluxo eletrosmótico com valor de $3,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Em adição, as modificações puderam ser caracterizadas por métodos de espectroscopia (IR e Raman), que se mostraram eficientes na avaliação tanto da rota de modificação quanto do produto final.

Abstract

The micro total analysis systems consist of devices in the order of centimeters that aim to integrate several analytical steps on a single substrate, such as sample treatment, injection, or even integrated sensors on microfluidic channels. Poly(dimethylsiloxane), PDMS, is one of the most used polymers for microfabrication due to its elastomeric properties, optical transparency, gas permeability, biocompatibility, relatively high chemical resistance and low fabrication costs. PDMS can also be easily cast and sealed, resulting in microchannels with good resolution. On top of that, it is possible to fabricate the microchannels using the laser ablation technique on the cured PDMS. However, the highly hydrophobic characteristic of PDMS makes its aqueous applications problematic. Moreover, non-polar analytes can adsorb on the channel walls, leading to poor reproducibility. In this sense, strategies to modify the raw material or channel surface have been proposed.

In this work, the structural modification of PDMS, involving the use of a crosslinking agent (containing the methacrylate or amine polar functions) was studied. In addition, the surface modification of PDMS by topologic reaction with polyethylene glycol and the modification of the conventional PDMS Sylgard 184 crosslinking by the addition of Silwet-L77 surfactant were also performed. The hydrophobicity of modified PDMS was evaluated by water contact angle measurements and the modifications were studied by spectroscopic methods. The electroosmotic flow (EOF) generated in the microchannels was also evaluated.

The best hydrophilic characteristic among the studied modifications were obtained with the polyethylene glycol divinyl ether PDMS modification. This device presented an EOF of $3,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. In addition, the modifications could be characterized by spectroscopic methods (Raman and IR) and those techniques were efficient in the evaluation of the reaction routes as well as the final products.

Índice

Lista de Siglas e Abreviaturas	xxiii
Lista de Tabelas	xxvii
Lista de Figuras	xxix
1. Introdução	1
1.1. Justificativa e Relevância	1
1.2. Objetivos	2
2. Fundamentação teórica	5
2.1. Métodos de modificação do PDMS	5
2.1.1. Processos em fase gasosa	5
2.1.2. Métodos químicos por via úmida	6
2.2. Caracterização do PDMS	8
2.2.1. Ângulo de contato	8
2.2.2. Medidas estáticas e dinâmicas	12
2.2.3. Fluxo eletrosmótico	13
2.2.3.1. Formação do EOF	14
2.2.3.2. Fatores que influenciam no EOF	17
2.2.4. Técnicas espectroscópicas	19
2.3. Detecção condutométrica sem contato	22
3. Materiais e Instrumentação	25
3.1. Materiais	25
3.2. Instrumentação	26
4. Experimental	29
4.1. Técnicas de microfabricação	29
4.2. Preparação convencional do PDMS nativo	31

4.3.	Modificação I: Reação de policondensação com alcoxissilanos	32
4.3.1.	Policondensação com MPTMS	33
4.3.2.	Policondensação com APTS.....	33
4.3.3.	Preparação dos microcanais no mPDMS	34
4.4.	Modificação II: Adição de Tensoativo	35
4.5.	Modificação III: Modificação de superfície por reação de hidrossililação .	36
4.6.	Extração dos monômeros do PDMS	38
4.7.	Dispositivo C ⁴ D	39
4.8.	Medidas de EOF em dispositivos com detecção C ⁴ D	42
4.8.1.	Método do monitoramento da corrente	43
4.8.2.	Método da injeção do plug de amostra	45
5.	Resultados e Discussão	47
5.1.	Modificação I: Reação de policondensação	47
5.1.1.	Medidas de WCA	48
5.1.2.	Propriedades do aPDMS	49
5.1.3.	Propriedades do mPDMS	50
5.1.4.	Conclusões preliminares.....	57
5.2.	Modificação II: Adição de Tensoativo	58
5.2.1.	Medidas de WCA	58
5.2.2.	Medidas de EOF	59
5.2.3.	Conclusões Preliminares	65
5.3.	Modificação III: Modificação de superfície por reação de hidrossililação .	66
5.3.1.	Caracterização da modificação de superfície	67
5.3.2.	Rota de reação modificada	69
5.3.3.	Avaliação do comportamento do WCA para o dPDMS	70

5.3.4. Medidas de EOF	74
5.3.5. Conclusões Preliminares	78
6. Conclusões Gerais	81
7. Referências Bibliográficas	83

Lista de Siglas e Abreviaturas

μTAS – micro sistemas de análise total

AC – corrente alternada

aPDMS – produto da reação de PDMS-t com APTS

APTS – aminopropiltrietoxisilano

ATR-FTIR – refletância total atenuada na região do infravermelho (com transformada de Fourier)

C⁴D – detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (*capacitively coupled contactless conductivity detection*)

CE – eletroforese capilar (*capillary electrophoresis*)

CI – imagem química (*chemical imaging*)

COC – copolímero de olefina cíclico

CVD – deposição química de vapor (*chemical vapor deposition*)

DBAE – dibutilacetato de estanho

DC – corrente contínua

dPDMS – PDMS modificado com DVE-PEG

dPDMS-E – material produzido a partir de PDMS extraído com DVE-PEG

DVE-PEG – divinil éter de polietileno glicol

EDL – dupla camada elétrica (*electrical double layer*)

EOF – fluxo eletrosmótico (*electroosmotic flow*)

His – L-histidina

L77 – Silwet-L77

LBL – deposição de camada por camada (*layer-by-layer*)

MA-PEG – metil éter acrilato de polietileno glicol

MES – ácido 2-[N-morfolino]etanosulfônico

META-PEG – metacrilato de polietileno glicol

MEV – microscopia de varredura eletrônica

mPMDS – produto da reação de PDMS-t com MPTMS

MPTMS – metacriloxipropiltrimetoxisilano

mSU-8 – molde com canais em alto relevo feito em SU-8

PAS – poli(4-aminoestireno)

PC – policarbonato

PDMS – poli(dimetilsiloxano)

PDMS/MS – designação genérica para o produto da reação de PDMS-t com alcóxissilanos

PDMS-t – PDMS dimetilsilanol terminal

PEG – polietileno glicol

PET – poli(tereftalato de etileno)

PMMA – poli(metacrilato de metila)

PMS – poli(metilsiloxano)

RIS – espectroscopia Raman de imagem (*Raman imaging spectroscopy*)

sPDMS – PDMS modificado com Silwet L-77

WCA – ângulo de contato com a água (*water contact angle*)

C_0 – capacitância de fuga

C_p - capacitância na parede do canal

E - campo elétrico

e – densidade de carga

ePDMS – porcentagem de oligômeros extraídos do PDMS (m/m)

f – frequência do sinal AC

L – comprimento do canal

ℓ – distância entre ponto de injeção e detector

m_f – massa final

m_i – massa inicial

R_c – resistência no canal

t_b – tempo de migração do tampão

t_{eo} – tempo de migração do marcador de EOF

t_p – tempo de migração do plug de amostra

V – diferença de potencial aplicada

v_{eo} - velocidade do fluxo eletrosmótico

X_c - reatância capacitiva

γ_{LG} - tensão interfacial entre as fases líquida e gasosa

γ_{SG} - tensão interfacial entre as fases sólida e gasosa

γ_{SL} - tensão interfacial entre as fases sólida e líquida

δ - espessura da EDL

ζ - potencial zeta

η - viscosidade do tampão

θ - ângulo entre os vetores γ_{SL} e σ_L

μ_{eo} – mobilidade do fluxo eletrosmótico

$V_{espalhada}$ – energia da radiação espalhada

$V_{incidente}$ – energia da radiação incidente

σ_s – tensão superficial na fase sólida

σ_L – tensão superficial na fase líquida

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Valores de WCA típicos para alguns materiais	11
Tabela 2 - Especificações para reticulação de PDMS-t com alcóxissilano	34
Tabela 3 – Programa para deposição de filmes utilizado no <i>spin coating</i>	41
Tabela 4 - Valores de Ângulo de Contato para PDMS modificado com Silanos ...	48
Tabela 5 – Bandas Raman mais significantes para o PDMS, MPTMS e mPDMS	54
Tabela 6 – Valores de ângulo de contato para o PDMS modificado com derivados de PEG.....	69
Tabela 7 – Dados de EOF para o dispositivo de dPDMS. Injeções realizadas sete e nove dias após a reação de modificação. $L = 4,6$ cm e $\ell = 3,0$ cm.....	77

Lista de Figuras

Figura 1 – Ângulo de contato para a interação ar/água/sólido para uma superfície sólida plana.	9
Figura 2 – Representação da formação da dupla camada elétrica e do fluxo eletrosmótico para substrato com grupos silanoatos na superfície. Os cátions representados devem ser entendidos como cátions solvatados. Adaptado de (61).	15
Figura 3 – Representação do cubo hiperespectral de dados. Para cada fatia do cubo, existe uma matriz contendo a coordenada em pixels e a intensidade Raman a um deslocamento Raman específico. Retirada de (68).	21
Figura 4 – Circuito para a C^4D . (a) Circuito esquemático mostrando o posicionamento dos eletrodos e os valores de capacitância e resistência e (b) circuito equivalente em função da capacitância equivalente. Adaptado de (83). ..	23
Figura 5 – Fórmulas moleculares do PDMS, PDMS dimetilsilanol terminal e dos modificadores utilizados.	26
Figura 6 – Principais etapas da construção de microdispositivos sobre substrato de vidro através da técnica de fotolitografia. Adaptada de (5).	29
Figura 7 - Microfabricação por micromoldagem. A preparação do molde é representada de (a) a (d). A transferência do padrão do microcanal para o substrato polimérico é representada de (e) a (g). Adaptado de (84).	30
Figura 8 – Dispositivo mPDMS com microcanaís criados por ablação a laser de CO_2 . Dimensões do dispositivo: 75x25 mm. Canal com 30 mm de comprimento e reservatórios com 3 mm de diâmetro.	35
Figura 9 – Fluxograma para a modificação do PDMS nativo com adição do tensoativo L77.	36
Figura 10 – Fluxograma para a rota de modificação de superfície do PDMS nativo com DVE-PEG, META-PEG ou MA-PEG. Na figura, PEG se refere a um dos 3 derivados citados.	37

Figura 11 – Dispositivo em três camadas para utilização em detecção condutométrica sem contato.	39
Figura 12 – Desenho utilizado para impressão dos eletrodos na placa de cobre/fenolite. Dimensões da placa: 4,00 x 6,00 cm. Espessura dos eletrodos: 1 mm. Espaçamento entre eletrodos: 0,5 mm.....	40
Figura 13 – Perfilometria de contato para a placa de cobre/fenolite após a cura da fina camada polimérica depositada por <i>spin coating</i>	41
Figura 14 – Aparato para detecção C^4D construído no laboratório: (a) controlador de frequência, (b) fonte de alta tensão de 12 kV, (c) gerador de vácuo e (d) microchip.....	42
Figura 15 – Método de determinação do EOF por injeção de tampão em diferente concentração daquela presente no microcanal. Adaptado de (85). Em (a) o canal é preenchido com tampão MES/His diluído (5 mmol L^{-1}); (b) o tampão diluído em um reservatório é substituído por tampão MES/His concentrado (20 mmol L^{-1}) e (c) diferença de potencial ($HV = 2 \text{ kV}$) é aplicada.	44
Figura 16 – Método de análise de EOF por injeção de plug de amostra de Na^+ , Li^+ e K^+ . Em (A) os canais foram preenchidos com eletrólito MES/His 20 mmol L^{-1} . A amostra foi inserida no reservatório 1 em (B) e a tensão de 1 kV aplicada no canal de injeção por 30 s (C). Em (D) a tensão foi aplicada no canal de separação e observa-se o movimento do íons e do plug de solução aquosa em direção ao detector. Reproduzida de (5).....	46
Figura 17 – Primeira etapa da reação de policondensação do PDMS-t com alcoxissilano. X representa os grupos metacrilato do MPTMS e amina do APTS. A reação se processa nos sítios Si-O-R do produto genérico para formação da cadeia tridimensional.....	47
Figura 18 – Suporte em acrílico para reação de reticulação do mPDMS sobre lâmina de vidro.	51
Figura 19 – Fotos da microscopia dos canais feitos por ablação a laser de CO_2 no mPDMS 20%: (a) MEV e (b) Microscopia óptica.....	51

Figura 20 – Imagem Raman para o mPDMS 30%. (a) representa a imagem com a soma das intensidades Raman para pixels da região do canal. Espectro compreendido entre 3200 e 20 cm^{-1} . Em (b) o espectro de intensidade Raman fixado em 2904 cm^{-1} como função da posição x-y do substrato.....	52
Figura 21 – Espectro Raman para mPDMS 20%: (a) superfície mPDMS (b) canal mPDMS, (c) PDMS-t e (d) MTPMS.	54
Figura 22 – Mapa de correlação do mPDMS 20% com relação à (a) PDMS-t e (b) MPTMS.	56
Figura 23 – Medidas de WCA para o PDMS nativo e o sPDMS em função do tempo. A linha (a) representa os valores para o PDMS nativo e as linhas (b) e (c) para duas amostras de sPDMS.....	59
Figura 24 - Tempo de migração de tampão MES/His 5 mmol L^{-1} em canal contendo tampão MES/His 20 mmol L^{-1} para diferentes injeções consecutivas em um mesmo dispositivo de sPDMS. Tensão aplicada de 2 kV.....	61
Figura 25 – Valores de tempo de migração para a injeção de tampão em (a) dispositivo de sPDMS e (b) de PDMS nativo. Tensão aplicada de 2 kV. I1, I2 e I3 representam o primeiro, segundo e terceiro dia respectivamente. A escala em (b) foi mantida para melhor comparação com (a).	62
Figura 26 – Mobilidade do EOF para dispositivos em (a) sPDMS e (b) PDMS nativo. I1, I2 e I3 representam medidas em diferentes dias. Dados do microdispositivo: $L = 4,5 \text{ cm}$ e $l = 3,55 \text{ cm}$. Voltagem aplicada de 2 kV.	64
Figura 27 – Eletroferograma da separação de solução 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de K^+ , Na^+ e Li^+ em dispositivo de sPDMS utilizando o tampão MES/His 20 mmol L^{-1} . Potencial de separação de 1 kV.	65
Figura 28 – Adição de derivados de PEG à superfície do molde PDMS. Parte 1 – ativação do PDMS com ligações Si-H. Parte 2 – Adição do PEG à cadeia do PDMS (43).....	67

Figura 29 – Espectro de ATR-FTIR para as três etapas de modificação. (I) PDMS nativo; (II) PDMS ativado com ligações Si-H e (III) PDMS modificado com DVE-PEG.....	68
Figura 30 – Fluxograma para a nova rota de modificação de superfície do PDMS nativo com DVE-PEG – Produção do dPDMS.	70
Figura 31 – WCA para o dPDMS produzido pela nova rota de reação versus quantidade de dias após sua preparação. A linha azul indica o polímero armazenado ao ar, enquanto a vermelha ao vácuo.	71
Figura 32 – WCA para o dPDMS em função dos dias. Comparação entre o dPDMS produzido a partir do PDMS nativo e o produzido a partir do PDMS nativo extraído.	72
Figura 33 – Valores de WCA para o PDMS nativo e o PDMS extraído após 15s de oxidação com plasma de O ₂	73
Figura 34 – Tempo de migração de tampão MES/His 5 mmol L ⁻¹ em canal contendo tampão MES/His 20 mmol L ⁻¹ para diferentes injeções consecutivas em um mesmo dispositivo de dPDMS. Tensão aplicada de 2 kV.	75
Figura 35 – Eletroferograma da separação de solução 500 μmol L ⁻¹ de K ⁺ , Na ⁺ e Li ⁺ em dispositivo de dPDMS utilizando tampão MES/His 20 mmol L ⁻¹ . Injeção em cruz. Potencial de separação de 1 kV.	76

1. Introdução

1.1. Justificativa e Relevância

Desde os anos 90, a comunidade científica tem observado um significativo crescimento no campo de microdispositivos analíticos, ou Micro Sistemas de Análise Total (Micro Total Analysis Systems, μ TAS) (1). Os μ TAS foram considerados, pela *The American Chemical Society*, uma das grandes invenções do século XX. Além disso, os μ TAS se enquadram nos requerimentos da tendência à “Química Verde”, onde a redução das amostras e reagentes a um mínimo, aliada à redução do desperdício químico gerado auxilia na preservação do meio ambiente.

A ideia central dos μ TAS é a integração de diferentes passos de uma análise em um único substrato contendo canais micrométricos. Apesar das dimensões do canal microfluídico, todo o dispositivo é de tipicamente poucos cm^2 . Sob este conceito, muitos sistemas foram propostos na literatura (1-3). A integração dos processos analíticos pode ser dividida em (1) pré-tratamento da amostra, (2) injeção, (3) separação (se necessário), (4) detecção e (5) processamento do sinal.

A escolha do substrato para a construção do microdispositivo é de suma importância, já que o analito pode interagir com o material utilizado para a fabricação do μ TAS e, em casos extremos, ser adsorvido ou até mesmo absorvido nas paredes do canal. Os primeiros dispositivos foram feitos em silício, vidros ópticos ou quartzo, tomando vantagem dos protocolos bem estabelecidos pela indústria microeletrônica. O protocolo padrão para a microfabricação envolve os seguintes passos básicos: (1) desenvolvimento do dispositivo em um programa gráfico de computador, (2) produção de uma máscara contendo o padrão, (3) transferência do padrão para o substrato, (4) corrosão do substrato, e finalmente, (5) selagem dos microcanais e conexões com o “mundo externo”. Normalmente a transferência de padrões envolve técnicas litográficas, que basicamente usam a

deposição de um fotorresiste sobre o substrato, expondo-o à radiação ultravioleta e subsequente revelação. Após estes passos o substrato está pronto para ser corroído e o fotorresiste é posteriormente removido da superfície do material (4, 5).

Mais recentemente, polímeros têm sido utilizados como substrato para aplicações em μ TAS. Exemplos deste tipo de material incluem o poli(metacrilato de metila) (PMMA), polycarbonato (PC), copolímero de olefina cíclica (COC), poli(tereftalato de etileno) (PET), poliuretana, poli(dimetilsiloxano) (PDMS), além da utilização de papel como substrato (6). A escolha da técnica de microfabricação depende do material e da resolução desejada. Técnicas alternativas podem ser utilizadas, como a litografia macia, micromoldagem, ablação a laser, gravação em relevo a quente, dentre outras (5).

Neste trabalho foi adotado o PDMS para a fabricação dos microdispositivos, pois este é muito útil para tais aplicações, como demonstrado por muitos grupos de pesquisa desde os anos 90 (7-10). As principais vantagens da utilização do PDMS são suas propriedades elastoméricas, transparência óptica, permeabilidade gasosa, biocompatibilidade, fácil moldagem, adesão ao vidro ou outros materiais, baixa temperatura de cura, resistência química relativamente alta e baixo custo de fabricação (11). A maior desvantagem do PDMS é sua característica altamente hidrofóbica, o que dificulta sua aplicação para soluções aquosas. Mais do que isto, analitos não polares adsorvem-se fortemente nas paredes do canal, tornando pobre a reprodutibilidade do processo (11). Neste sentido, estratégias para modificar o material bruto ou mesmo as superfícies dos canais têm sido propostas na literatura (12, 13).

1.2. Objetivos

Esta dissertação propôs o desenvolvimento e caracterização de substratos modificados de PDMS com diferentes grupos e suas aplicações em microssistemas analíticos. Durante o trabalho sugeriu-se a apresentação de

modificações que alterassem principalmente a característica hidrofóbica do polímero. Três modificações foram realizadas:

- (1) Utilização de um reticulante (contendo função orgânica polar) na formação do substrato;
- (2) Modificação do *bulk* pela adição de um surfactante ao processo de reticulação convencional do PDMS;
- (3) Modificação da superfície do substrato de PDMS por reação topológica, com a introdução de polietileno glicol;

Com isso, foram avaliadas as condições de reação, a viabilidade das modificações e os aspectos práticos dos dispositivos confeccionados, visando sua posterior aplicação.

As modificações foram monitoradas via medição do ângulo de contato, espectroscopia no infravermelho e Raman, e medidas do fluxo eletrosmótico em microcanais fabricados destes materiais, avaliando-se também o desempenho e viabilidade destas técnicas em microfluídica, bem como a utilização de detectores condutométricos sem contato capacitivamente acoplados nestes dispositivos.

2. Fundamentação teórica

2.1. Métodos de modificação do PDMS

A modificação do PDMS é um aspecto importante da microfabricação, sendo utilizada para conferir propriedades específicas ao microdispositivo (12). Neste sentido, a modificação pode ser estudada a fim de se produzirem microdispositivos com características hidrofílicas, auxiliando na molhabilidade do canal e reduzindo a adsorção de moléculas apolares no *bulk* do polímero e, deste modo, melhorando a aplicabilidade destes μ TAS.

Os métodos de modificação do PDMS podem ser subdivididos em três categorias, que são os processos em fase gasosa, métodos químicos por via úmida, e a combinação de ambos (12). Os processos em fase gasosa incluem o tratamento com plasma (8, 14-16), tratamento com radiação UV (17, 18), *glow discharge* (19), deposição química de vapor (20, 21) e feixes de íons (22) e elétrons (23). Métodos químicos por via úmida comuns são a deposição camada por camada (24-26), o recobrimento sol-gel (27-30), silanização (31), a modificação do *bulk* do polímero (32, 33) e a modificação dinâmica de superfície (11, 34). Métodos combinados incluem, por exemplo, o tratamento com plasma ou radiação UV seguido de silanização (35, 36).

2.1.1. Processos em fase gasosa

Os processos em fase gasosa para modificação da superfície do PDMS baseiam-se nas interações entre o polímero e diversos gases. O tratamento com plasma de O_2 , assim como exposição à radiação ultravioleta, consiste na exposição do PDMS nativo a estas fontes de alta energia (13). O polímero passa a ter características hidrofílicas em sua superfície devido à oxidação de grupos CH_3 da cadeia lateral do PDMS, levando à formação de uma camada na superfície

similar à sílica com porcentagem de oxigênio maior que a contida no *bulk* do PDMS (13). Entretanto, a superfície do PDMS recupera sua hidrofobicidade após a oxidação devido à migração para a superfície de oligômeros não reticulados ou de cadeias livres não envolvidas no processo de formação da rede polimérica contidos no *bulk* do polímero, minimizando a energia desta superfície (37). Trabalhos foram realizados visando a remoção destas espécies livres utilizando extração com solventes antes do processo de oxidação e obtiveram como resultado a redução da recuperação da propriedade hidrofóbica (14, 16). Os processos de oxidação se iniciam pela geração de grupos silanóis na superfície do PDMS, possibilitando a posterior reação com alcoxi- e clorossilanos ligados a grupos polares de interesse. Exemplos de reação por ligação covalente ao PDMS oxidado envolvem a modificação do polímero com 3-aminopropiltrimetoxissilano (36), 3-mercaptopropiltrimetoxissilano (36) e aminonaftolsilanos (35).

A técnica de deposição química com vapor (CVD – *chemical vapor deposition*) consiste na exposição do substrato a um ou mais precursores voláteis, que irão reagir na superfície deste substrato para a formação de uma camada de filme fino ou pó depositado (13). Dentre as modificações por CVD encontradas na literatura, pode ser citada a modificação com polímeros reativos, como poli(p-xililenos) (20), poli(4-aminoestireno) (PAS) e poli(glicidilmetacrilato) (21) e fluoropolímero (38). Na modificação com PAS é possível, após a selagem, utilizar os grupos amino que permaneceram sem reagir para modificações adicionais (39).

2.1.2. Métodos químicos por via úmida

A deposição camada por camada (LBL – *layer-by-layer*) é uma técnica de modificação por via úmida muito utilizada e consiste na deposição de camadas alternadas de compostos sobre o substrato de PDMS. Esta técnica pode ser aplicada quando houver possibilidade de formação de ligação entre as camadas, que pode ser covalente ou de origem eletrostática (polications e poliânions). O processo de modificação demanda uma etapa de lavagem entre as etapas de

recobrimento. Normalmente, a injeção, remoção e lavagem são feitas de maneira manual na deposição LBL (39). Recentemente, trabalhos foram descritos para a automação das etapas LBL (24, 40). Kuo *et al.* (41) modificaram com sucesso vários substratos poliméricos por LBL, dentre eles o PDMS, e obtiveram material hemocompatível, isto é, com propriedades para utilização como dispositivos médicos que entrem em contato com sangue.

O recobrimento sol-gel é baseado na transição da fase de uma suspensão de partículas coloidais dispersas em um líquido (sol) à formação de uma rede intumescida pelo solvente (gel), formada por condensação ou polimerização da fase sol (42). Vantagens do recobrimento sol-gel sobre o PDMS nativo são a alta densidade de partículas com distribuição homogênea sobre a superfície e a obtenção de uma superfície quimicamente estável (29). Culbertson *et. al.* (29) obtiveram canais de PDMS revestidos com óxidos de titânio, silício, zircônio e vanádio com menor adsorção de moléculas polares no *bulk* do polímero. Outra aplicação foi a obtenção de superfície híbrida biocompatível pelo recobrimento sol-gel (28).

Uma das modificações interessantes do PDMS é feita para a introdução de grupos Si-H na superfície do material polimérico. A presença destes grupos funcionais propicia reações nestes sítios para a introdução de grupos de interesse na superfície e no canal do substrato de PDMS. (43). A preparação desta superfície pode ser feita por reação de redistribuição do PDMS curado com poli(metilsiloxano) (43). Outros métodos comuns de modificação envolvem a reação com diferentes espécies de silanos funcionais, usualmente empregada após a oxidação do PDMS via plasma ou radiação UV e posterior reação para formação da ligação Si-O-Si na interface (44).

A modificação dinâmica de superfície consiste na adição de surfactantes, polieletrólitos ou polímeros não-iônicos à solução de tampão, de modo que a interação dessas moléculas na superfície do canal de PDMS cause a alteração do fluxo eletrosmótico gerado no interior deste canal. A modificação dinâmica pode, por exemplo, gerar fluxo eletrosmótico maior que o típico para dispositivos de

PDMS nativo (34), ou ainda reverter este fluxo (45). Recentemente, no método de modificação do *bulk* do polímero, a adição de surfactantes ao pré-polímero antes do processo de cura também tem sido estudada. Aplicações desta modificação incluem desde a fabricação de microbombas de PDMS para dispositivos microfluídicos (46) à obtenção de canais com características hidrofílicas (47). Este método incorpora ainda a adição de nanomateriais ao PDMS, visando alterações de suas propriedades térmicas, elétricas e mecânicas (39).

2.2. Caracterização do PDMS

Métodos tradicionais para a caracterização de superfície de substratos para μ TAS são as medidas do ângulo de contato com a água (WCA – *water contact angle*) (8, 33, 48), a avaliação do fluxo eletrosmótico (EOF - *electroosmotic flow*) nos microcanais fabricados (34, 45, 48, 49) e a utilização de técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia Raman (29, 50) e infravermelho (22, 51, 52). Os valores de WCA e EOF fornecem parâmetros importantes para a avaliação da hidrofobicidade do substrato de PDMS modificado, da carga superficial residual e do comportamento do fluxo. Estes são parâmetros que podem apresentar instabilidade para dispositivos de PDMS nativo. As técnicas espectroscópicas auxiliam na avaliação da modificação formada e de sua homogeneidade. Uma distribuição uniforme do modificador na superfície do PDMS é essencial para gerar EOF constante e modular as propriedades da superfície do polímero.

2.2.1. Ângulo de contato

O ângulo de contato é dado pelo ângulo gerado quando uma interface líquido/vapor entra em contato com uma superfície sólida. Este ângulo de equilíbrio é específico para cada dado sistema e determinado pela interação entre

as três interfaces. Quando a fase líquida utilizada é a água, e a medida feita à atmosfera, forma-se o equilíbrio ar/água/sólido, e têm-se então o valor de ângulo de contato com a água (WCA), e seu valor está diretamente ligado à molhabilidade do sólido (53). Neste sistema, como em qualquer outro sistema ar/água/sólido, existe um ângulo de contato máximo de avanço e um ângulo de contato mínimo de retrocesso. O ângulo de contato de equilíbrio entre as três fases é um valor entre estes dois ângulos (54).

A formação do ângulo de contato entre as três fases (ar/água/sólido) para uma superfície plana é representada pela Figura 1, onde os índices S e L representam sólido e líquido, os símbolos σ_S e σ_L descrevem os componentes da tensão superficial destas duas fases e γ_{SL} representa a tensão interfacial entre a fase sólida e líquida. O ângulo θ é o ângulo de contato correspondente ao ângulo entre os vetores γ_{SL} e σ_L e, como o líquido utilizado é a água, $\theta = \text{WCA}$.

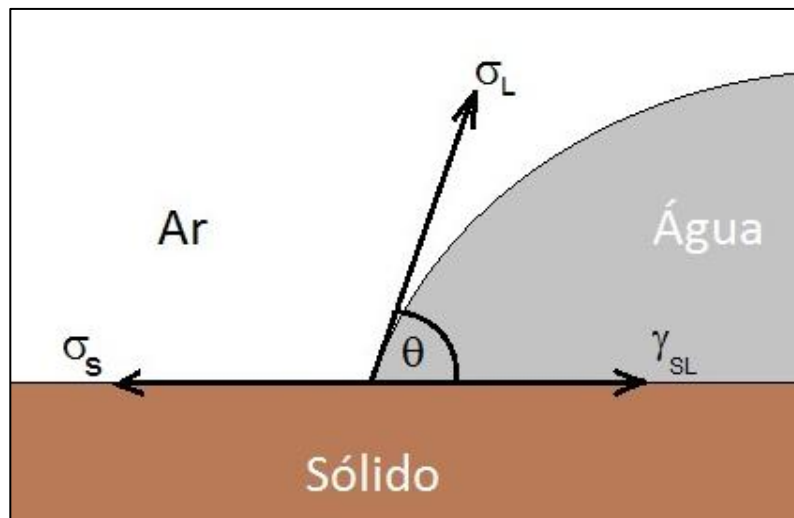


Figura 1 – Ângulo de contato para a interação ar/água/sólido para uma superfície sólida plana.

A relação matemática entre os parâmetros da Figura 1 foi formulada por YOUNG (55), e é dada por:

$$\sigma_S = \gamma_{SL} + \sigma_L \times \cos \theta \quad (\text{Equação 1})$$

A Equação 1 também pode ser escrita na forma da Equação 2, se considerarmos o modelo mais complexo em que as tensões superficiais das fases sólidas e líquidas são tidas como tensões interfaciais entre as fase sólido/gás e líquido/gás (53, 56).

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \times \cos \theta \quad (\text{Equação 2})$$

Desta forma, as tensões interfaciais resultam em um equilíbrio de fases que gera o ângulo de contato θ . Para se determinar o valor de θ , um tensiômetro óptico (também chamado de goniômetro) analisa o formato da gota de uma imagem gerada por lente de baixo aumento e o ângulo de contato θ é dado pelo ângulo entre a linha base (superfície sólida) e a tangente referente à σ_L , assumindo que a gota tenha formato esférico ou elipsoidal. O ângulo θ pode ainda ser determinado por um tensiômetro de forças, medindo-se as forças de interação presentes quando uma amostra sólida é posta em contato com o líquido teste. Se as forças de interação, geometria do sólido e tensão superficial do líquido são conhecidas, o ângulo de contato θ pode ser calculado.

Em todas as medidas realizadas utilizando-se água deionizada como fase líquida o ângulo θ é referido como WCA. Desta forma, se as forças de interação entre a interface sólido/líquido forem predominantemente adesivas, a gota irá se espalhar sobre a superfície, que é chamada de *hidrofílica*. Caso a predominância seja de forças coesivas nesta interface, a gota irá tomar a conformação de menor contato com o sólido, não se espalhando sobre superfície que, neste caso, é dita como hidrofóbica (57). Ângulos de contatos menores que 90° usualmente indicam que a molhabilidade da superfície é alta, e quanto menor este valor, mais a água irá se espalhar sobre superfície do sólido. Valores de WCA maior que 90° indica que a molhabilidade da superfície é baixa, e a água deverá formar uma gota compacta sobre a superfície. Este efeito aumenta com o aumento do valor de WCA. Superfícies com WCA maior que 150° são chamadas de superhidrofóbicas

(57). A Tabela 1 mostra os valores de WCA típicos para alguns materiais, obtidos na literatura (56, 58, 59).

Tabela 1 – Valores de WCA típicos para alguns materiais

Materiais	WCA /°
Vidro	<5
Platina (Pt)	40
Álcool Polivinílico (PVOH)	51
Acetato de Polivinila (PVA)	60,6
Nylon 6	62,6
Polietilenoglicol (PEG)	63
Ouro (Au)	66
Polisulfona (PSU)	70,5
Polimetilmetacrilato (PMMA)	70,9
Nylon 12	72,4
Tereftalato de Polietileno (PET)	72,5
Epóxidos	76,3
Polioximetileno (POM)	76,8
Cloreto de Polivinilideno (PVDC)	80
Sulfeto de Polifenileno (PPS)	80,3
Acrilonitrila Butadieno Estireno (ABS)	80,9
Policarbonato (PC)	82
Fluoreto de Polivinila (PVF)	84,5
Cloreto de Polivinila (PVC)	85,6
Poliestireno (PS)	87,4
Fluoreto de Polivinilideno (PVDF)	89
Poli(metacrilato de n-butila) (PnBMA)	91
Politritrfluoroetileno	92
Polibutadieno	96
Polietileno (PE)	96
Policlorotrifluoroetileno (PCTFE)	99,3
Polipropileno (PP)	102,1
Poli(dimetilsiloxano) (PDMS)	107,2
Poli(metacrilato de t-butila) (PtBMA)	108,1
Etileno Propileno Fluorado (FEP)	108,5
Hexatriacontano	108,5
Parafina	108,9
Poli(tetrafluoroetileno) (PTFE)	109,2
Poli(hexafluoropropileno)	112
Poli(isobutileno) (PIB)	112,1

2.2.2. Medidas estáticas e dinâmicas

O método de deposição da gota séssil consiste na deposição de gotas do líquido sobre uma superfície sólida, da maneira mais horizontal e suave possível. Esta deposição é feita por meio de uma microseringa acoplada ao goniômetro. Os dois métodos clássicos para determinação do WCA são o das medidas estáticas e dinâmicas (54).

As medidas de WCA estáticas fornecem informações sobre a molhabilidade da superfície, bem como sobre as tensões interfaciais entre as fases sólida, líquida e gasosa. Neste tipo de medida, o tamanho e volume da gota não se alteram durante a medida. Isto não significa que o WCA permanece constante, pois interações na superfície da interface sólido/líquido podem causar variações no ângulo de contato em função do tempo. Dependendo do tipo de interação, este valor de ângulo pode aumentar ou diminuir. Tais interações podem ser: evaporação do líquido, migração de surfactantes da superfície sólida para a superfície líquida, substâncias dissolvidas na gota migrando para a superfície, reações químicas entre o sólido e o líquido, dissolução do sólido ou adsorção do líquido.

O método de medida de WCA estático é ideal para se avaliar casos onde há a necessidade do monitoramento da variação do ângulo em função do tempo. Neste método, a agulha da microseringa não permanece em contato com a gota durante a medida, o que evita que esta sofra distorções. Em adição, ao se determinar o ângulo de contato por uma imagem estática, podem ser utilizados métodos que avaliem o formato completo da gota e não apenas a área de contato.

As medidas de WCA dinâmicas fornecem informações sobre a interação dinâmica das fases sólida, líquida e gasosa e descreve o comportamento da interface sólido/líquido durante o aumento de volume da gota (ângulo de avanço = molhando a superfície) e diminuição do volume da gota (ângulo de retrocesso = retirando líquido da superfície). O ângulo de contato de avanço é determinado depositando a gota inicial sobre o sólido, sem que a agulha da microseringa

perca o contato com a gota d'água, formando-se o WCA inicial. Esta seringa, então, injeta mais líquido a uma determinada vazão. No início o ângulo depende do tamanho da gota e este só deve ser levado em consideração após esta fase inicial. O processo para a medida do ângulo de retrocesso é o contrário, onde o ângulo é medido durante a sucção da gota d'água a uma taxa constante. A diferença entre os valores de WCA de avanço e retrocesso pode ser utilizada para obter conclusões relativas à rugosidade e não homogeneidade química presentes na superfície do sólido. Esta diferença é chamada de *histerese* (60).

Nas medidas dinâmicas, a interface não se forma instantaneamente e requer tempo até que o equilíbrio dinâmico seja estabelecido. Deste modo, as medidas não podem ser executadas com a transferência e remoção de líquido à taxas muito altas, caso contrário o ângulo medido será referente a uma interface não completamente formada. Em contrapartida, a vazão não deve ser muito lenta, pois o tempo em contato com a superfície pode influenciar no valor de WCA. Na prática são geralmente utilizados valores na faixa de 5 a 15 $\mu\text{L min}^{-1}$. Neste trabalho todos os valores de WCA foram obtidos utilizando-se o método de medidas estáticas, pois este fornece informações sobre a hidrofobicidade do sólido polimérico e, além disso, em alguns casos específicos foi utilizado o monitoramento do WCA estático em função do tempo.

2.2.3. Fluxo eletrosmótico

Em eletroforese capilar (CE), o eletrólito e os analitos movem-se no capilar sobre o efeito de um campo elétrico. O movimento da solução que preenche o canal sob o efeito deste campo é chamado EOF e ocorre devido à carga gerada na parede do canal (61). A magnitude deste fenômeno depende das propriedades da parede do canal e, portanto, pode ser utilizada para a caracterização de microdispositivos produzidos a partir de diferentes materiais ou mesmo modificações realizadas sobre a superfície de um dado substrato.

Em uma separação, as moléculas de soluto carregadas são separadas devido as suas diferentes *mobilidades eletroforéticas* (61). Moléculas positivamente carregadas movem-se naturalmente no sentido do polo negativo sob um campo elétrico. Moléculas negativamente carregadas tendem a mover-se no sentido oposto, em direção ao polo positivo. A resultante do movimento destas partículas depende do sentido do fluxo eletrosmótico e da posição do detector empregado. Para EOF catódico e detector próximo ao cátodo, a ordem de separação é cátions, moléculas neutras e ânions. Isto se deve à mobilidade do cátion ser somada à mobilidade do EOF, enquanto que os ânions que chegam ao detector são aqueles com mobilidade menor que o EOF. As moléculas neutras não sofrem influência do campo elétrico e movem-se com velocidade e sentido do EOF. Neste caso, cátions de alta carga e raio hidratado menor deverão ser os primeiros a migrar pelo canal, enquanto ânions altamente carregados de raio hidratado pequeno serão os últimos na ordem eletroforética (61). Se o detector encontra-se próximo ao ânodo com EOF catódico, somente serão separados os ânions com mobilidade maior que o EOF.

Para os casos de EOF anódico, a ordem de separação será ânions, moléculas neutras e cátions, pois o vetor de mobilidade do ânion se soma ao vetor de mobilidade do fluxo eletrosmótico.

2.2.3.1. Formação do EOF

A formação do fluxo eletrosmótico pode ser discutida com base em um capilar de sílica. No PDMS a densidade de grupos silanol é menor do que no capilar de sílica, o que reflete na menor carga superficial na parede do canal.

Em um capilar de sílica fundida preenchido com eletrólito, com valores de pH acima de aproximadamente 3, os grupos silanóis (Si-OH) presentes na parede do capilar são ionizados a grupos silanoatos negativamente carregados (Si-O⁻). Estes grupos silanolatos negativamente carregados atraem cátions presentes no tampão, formando uma camada de cátions interna, próxima à parede do capilar. A

quantidade de cátions atraída não é suficiente para neutralizar toda a carga presente na parede do capilar e uma segunda camada de cátions se forma (Figura 2). A primeira camada, interna, está fortemente atraída pela carga na parede do capilar e é chamada de *camada fixa*. A segunda camada está a uma distância maior da parede do capilar e, portanto, é menos atraída por ela e tem a capacidade de mover-se. Esta camada é chamada de *camada móvel*. As duas camadas em conjunto determinam a estrutura da dupla camada elétrica (EDL, do inglês *Electrical Double Layer*) (61, 62).

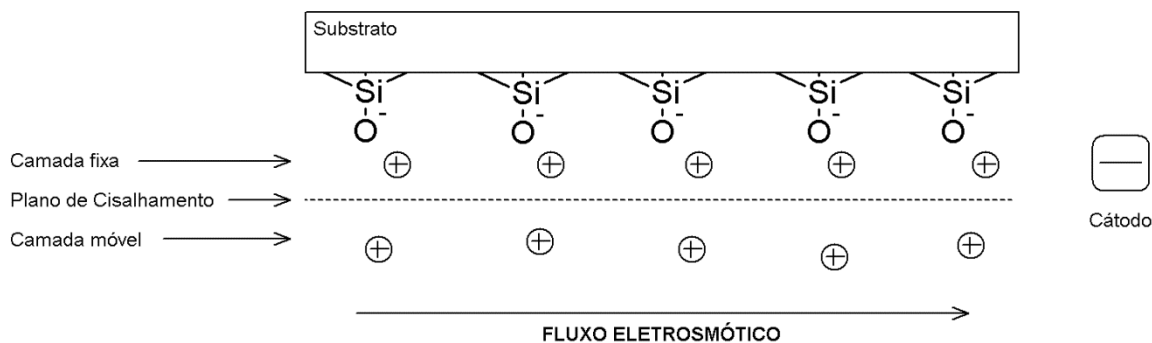


Figura 2 – Representação da formação da dupla camada elétrica e do fluxo eletrosmótico para substrato com grupos silanoatos na superfície. Os cátions representados devem ser entendidos como cátions solvatados. Adaptado de (61).

Quando voltagem é aplicada, os íons presentes na camada móvel migram em direção ao cátodo (polo negativo). Como os cátions estão solvatados, o fluido move-se como um todo, arrastado pela migração dos íons. A espessura da dupla camada elétrica é da ordem de 100 Å. O perfil deste fluxo é plano, diferentemente do perfil parabólico de fluxo gerado por aplicação de pressão (62).

A magnitude do EOF é diretamente proporcional ao potencial no plano de cisalhamento (*potencial zeta*, ζ), definido como o plano onde se inicia a movimentação dos íons influenciada pelo campo elétrico. O potencial zeta é dado por:

$$\zeta = \frac{4\pi\delta e}{\epsilon} \quad (\text{Equação 3})$$

onde δ é a espessura da dupla camada elétrica, e é a densidade de carga, e ϵ é a constante dielétrica do meio (61, 62).

A velocidade do fluxo eletrosmótico, v_{eo} , é então definida como:

$$v_{eo} = -\frac{\epsilon\zeta E}{4\pi\eta} \quad (\text{Equação 4})$$

onde E é o campo elétrico aplicado, em volts cm^{-1} e η é a viscosidade do tampão.

A mobilidade eletrosmótica, ou mobilidade do EOF, μ_{eo} , é definida como:

$$\begin{aligned} \mu_{eo} &= \frac{v_{eo}}{E} \\ \mu_{eo} &= -\frac{\epsilon\zeta}{4\pi\eta} \end{aligned} \quad (\text{Equação 5})$$

Deste modo, a mobilidade eletrosmótica independe do campo elétrico aplicado e é dependente das características do eletrólito (viscosidade e concentração) e da quantidade de carga na superfície do capilar ou do canal. Diferentes sistemas podem ser comparados e estudados em termos de EOF controlando-se estas características.

A μ_{eo} pode ser expressa também em termos das dimensões e do tempo de migração do marcador de EOF no microcanal, t_{eo} . Para um canal de L largura total, com a distância entre o ponto de injeção e o detector igual a l , tem-se que:

$$\mu_{eo} = \frac{v_{eo}}{E}$$

$$E = \frac{V}{L} \quad \text{e} \quad v_{eo} = \frac{\Delta S}{\Delta t} = \frac{l}{t_{eo}}$$

Portanto,

$$\mu_{eo} = \frac{lL}{t_{eo}V}$$

(Equação 6)

onde L e l são dados em cm, t_{eo} é dado em segundos e V , a diferença de potencial aplicada, é dada em volts. ΔS representa variação de espaço utilizada no cálculo clássico de velocidade média.

2.2.3.2. Fatores que influenciam no EOF

Os fatores que influenciam a velocidade do EOF são: a diferença de potencial aplicada, o pH do tampão, a concentração ou força iônica do tampão, a temperatura, a adição de solventes orgânicos, a aplicação de potencial radial externo e modificação química da parede do capilar/microcanal (61).

A diferença de potencial aplicada, como foi dito anteriormente, não deve influenciar na magnitude da mobilidade eletrosmótica, porém irá causar alterações na velocidade do EOF. Como o campo elétrico é diretamente proporcional à voltagem ($E = V/L$), o aumento da voltagem ocasionará aumento na velocidade do EOF, gerando tempos de migração e tempos de análise menores no caso em que o íon se movimenta na mesma direção do EOF. Além disso, o aumento da voltagem aumenta a eficiência da separação (61). Entretanto, o aumento da voltagem gera aumento de corrente e, por efeito Joule, aumento da temperatura no interior do capilar/microcanal. Este aquecimento pode diminuir a viscosidade do tampão se não dissipado rapidamente, gerando passagem de corrente ainda

maior. Problemas resultantes desse comportamento são a formação de picos largos, tempos de migração não reprodutíveis, decomposição ou desnaturação da amostra ou ainda a formação de bolhas no canal, que causam descontinuidade elétrica e impedem a utilização do sistema eletroforético (61). Deste modo, a voltagem deve ser estudada e otimizada de modo a ser utilizada para se obter a melhor e mais rápida separação possível, sem o acarretamento dos problemas citados.

O pH do tampão afeta diretamente a quantidade de cargas presentes na superfície do capilar/microcanal e, conseqüentemente, o potencial zeta. Quanto maior o valor de pH, maior será o grau de dissociação dos grupos silanóis em grupos silanoatos (Si-O^-) carregados (62). Desta forma, o valor do potencial zeta será maior e a velocidade do EOF também aumentará. O pH também tem papel fundamental no grau de dissociação de alguns solutos, influenciando nas suas mobilidades eletroforéticas.

A concentração ou força iônica do tampão afeta o fluxo eletrosmótico, pois afeta a magnitude do potencial zeta. Se a temperatura é controlada, o aumento da concentração do tampão causa a compressão da dupla camada elétrica, diminuindo o valor do potencial zeta. Deste modo a velocidade do EOF diminui com o aumento da concentração do tampão. Caso a temperatura não seja controlada, o aumento da força iônica do tampão gera o aumento na corrente elétrica que passa pelo canal e, com o aumento da temperatura por efeito Joule (62), pode ocorrer a diminuição da viscosidade do tampão e conseqüente aumento de v_{eo} .

O efeito da utilização de solventes orgânicos no tampão é difícil de prever, pois vários parâmetros podem ser modificados, como o potencial zeta, a viscosidade e a constante dielétrica envolvida (62). A aplicação de potencial radial externo altera o potencial zeta, podendo assim ser utilizado para aumentar ou diminuir o EOF (61).

Por fim, a modificação química na parede do capilar/canal pode levar a propriedades totalmente diferentes àquelas do capilar/canal não modificado. Se a

modificação altera a quantidade de cargas presentes na parede do canal, como por exemplo, aumentando a quantidade de cargas negativas disponíveis na parede do canal em um microdispositivo de PDMS, o fluxo deve aumentar (49). Ligações covalentes podem ser feitas com os componentes destas paredes, de modo a inverter sua carga e, conseqüentemente, ocasionar a inversão no sentido do fluxo eletrosmótico (45).

2.2.4. Técnicas espectroscópicas

As técnicas espectroscópicas são ferramentas valiosas para monitoramento do sucesso e homogeneidade das modificações em PDMS. As espectroscopias Raman e infravermelho são técnicas clássicas, não destrutivas, utilizadas para caracterizar ligações químicas e simetrias de moléculas (63, 64). Estas duas técnicas espectroscópicas são complementares, pois alguns modos vibracionais de uma molécula podem ser ativos no infravermelho, enquanto outros podem ser ativos no Raman, e outros ainda em ambas as técnicas.

Na espectroscopia na região do infravermelho, o sinal ocorre devido à absorção de radiação referente à energia dos modos vibracionais e rotacionais da molécula, sendo ativos quando ocorrerem com mudança do momento de dipolo molecular. A espectroscopia Raman é baseada no espalhamento da luz incidida sobre uma molécula. Se um fóton é espalhado com o mesmo valor de comprimento de onda incidido, ou seja, com a mesma energia, ocorrerá o chamado espalhamento elástico, dando origem ao sinal Rayleigh, que não possui informação estrutural sobre a amostra. Entretanto, quando o fóton é espalhado com energia diferente daquela incidida, chamado de espalhamento inelástico, ocorre o *efeito Raman*. A diferença de energia espalhada ($\nu_{\text{espalhado}}$) e incidida ($\nu_{\text{incidente}}$) dá origem às linhas Stokes e anti-Stokes do espectro, referentes aos estados vibracionais e rotacionais da molécula. As linhas Stokes são observadas quando $\nu_{\text{incidente}} > \nu_{\text{espalhado}}$ enquanto as linhas anti-Stokes ocorrem quando $\nu_{\text{incidente}} < \nu_{\text{espalhado}}$ (65). O espectro Raman não possui valores absolutos como

aqueles no espectro na região do infravermelho, pois é plotado em função do deslocamento Raman (cm^{-1}), isto é, em função da diferença do comprimento de onda da radiação espalhada em relação ao da radiação de excitação.

Métodos de imagem química (CI – *chemical imaging*) representam a combinação de fatores químicos (dados de espectroscopia molecular, infravermelho, infravermelho próximo e Raman) e físicos (imagem digital) voltados para a geração de informação espectral de alta qualidade sobre a superfície do substrato (66). CI é considerada como sendo a extensão da espectroscopia de ponto único convencional. Enquanto a espectroscopia convencional se refere um único espectro e reflete a composição da amostra no ponto de amostragem, CI adiciona informação sobre a distribuição espacial dos componentes. A oportunidade de visualizar esta distribuição espacial das espécies químicas envolvidas permite avaliar o grau de homogeneidade química presente em uma dada amostra (67).

Em um experimento de CI, a área da amostra é dividida em pixels e um espectro é obtido para cada pixel, resultando em um cubo hiperespectral de dados, no qual a primeira e segunda dimensões (x e y respectivamente) correspondem às coordenadas espaciais e a terceira dimensão (z) contém o perfil espectral (Figura 3). Ao se extrair a informação espectral de cada pixel, um conjunto de imagens químicas é formado. Estas imagens mostram a distribuição de cada componente no interior da matriz amostral. A informação presente no cubo de dados pode ser extraída de várias maneiras como, por exemplo, por mapas de correlação ou utilizando métodos quimiométricos.

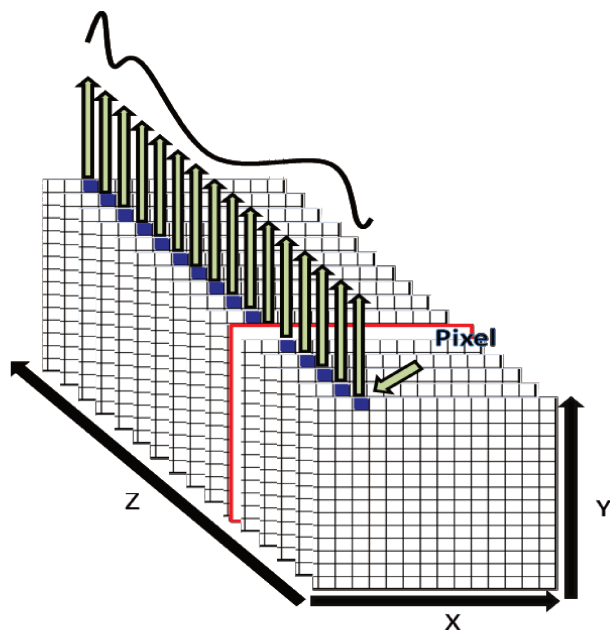


Figura 3 – Representação do cubo hiperspectral de dados. Para cada fatia do cubo, existe uma matriz contendo a coordenada em pixels e a intensidade Raman a um deslocamento Raman específico. Retirada de (68).

Os mapas de correlação são imagens formadas pela comparação entre diferentes componentes presentes na amostra. A imagem é obtida fixando-se o comprimento de onda em um valor característico a um dos componentes da amostra. O resultado é o mapa de intensidade relativa, cuja escala varia de 0 a 1, onde 1 significa maior correlação possível com o componente e 0 significa nenhuma correlação. Em amostras formadas pela mistura de compostos, esta técnica permite avaliar a homogeneidade do substrato mapeando-se química e espacialmente todos os compostos presentes.

Atualmente, a extensão de CI utilizando espectroscopia Raman, chamada de Espectroscopia Raman de Imagem (RIS – *Raman Imaging Spectroscopy*) tem tido uma grande variedade de aplicações, dentre elas a detecção de medicamentos falsificados (63), avaliação de dispersões sólidas (69), entre outras aplicações farmacêuticas (70-72), caracterização de filmes finos (73), análise de pintura (64) e resíduos explosivos (74) e estudo de novos materiais (75) e biomédicinas (76).

2.3. Detecção condutométrica sem contato

A detecção condutométrica sem contato acoplada capacitivamente (*capacitively coupled contactless conductivity detection* – C^4D) é um método não destrutivo de detecção que tem sido muito utilizado em eletroforese capilar e em μ TAS devido à fácil construção dos eletrodos de detecção, além da possibilidade de ser acoplada com outros sistemas de detecção (77-79). Os eletrodos não entram em contato com a solução que percorre o capilar/microcanal e o sinal de resposta é proporcional à condutividade desta solução (80). Deste modo, diferenças de condutividade geradas pela migração de íons em solução podem ser detectadas.

Para a aplicação de C^4D em μ TAS é necessária a construção de dois eletrodos, que podem ser posicionados de dois modos: no mesmo plano que os microcanais ou fora deste plano. No primeiro modo, estes eletrodos são construídos por técnicas fotolitográficas (81), enquanto no segundo modo é possível a construção dos eletrodos por métodos alternativos como, por exemplo, corrosão de placa de cobre/fenolite (que servirá como base para o microdispositivo) para a confecção dos eletrodos.

O modelo elétrico para o C^4D é baseado no circuito formado entre os eletrodos e a solução presente no canal, conforme demonstra a Figura 4. Na Figura 4a, C_{p1} e C_{p2} representam a capacitância gerada pelo isolamento do eletrodo devido à presença da parede do microdispositivo e R_c é a resistência oferecida pela solução presente no canal micrométrico. C_0 é definida como a capacitância de fuga, e é devida ao acoplamento dos eletrodos. Esta capacitância pode provocar diminuição dos limites de detecção e deve ser minimizada usando um plano terra ou otimizando a frequência de trabalho (82). Na Figura 4b, C_{p1} e C_{p2} foram substituídos pela capacitância equivalente na parede do dispositivo, C_p (83).

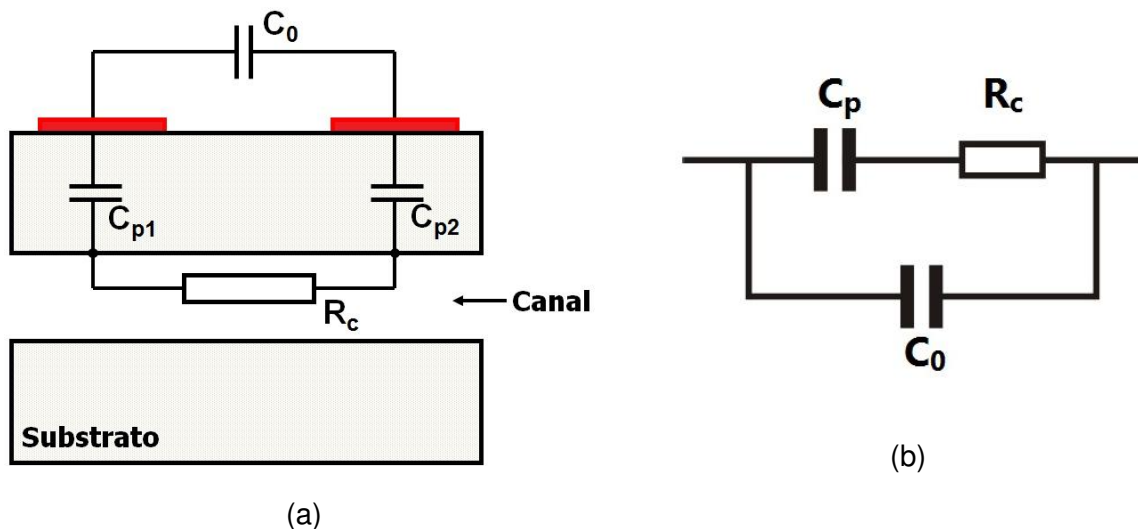


Figura 4 – Circuito para a C^4D . (a) Circuito esquemático mostrando o posicionamento dos eletrodos e os valores de capacitância e resistência e (b) circuito equivalente em função da capacitância equivalente. Adaptado de (83).

A resposta resultante após a aplicação de um sinal alternado (AC) de amplitude constante é medida na forma da corrente que flui através do sistema e dependerá da diferença de resistência entre os solutos e a solução presente no canal (83). Além disso, a frequência de sinal utilizada é fator determinante. Este comportamento do circuito pode ser explicado em termos da reatância X_C dos capacitores, dada por:

$$X_C = \frac{1}{2\pi fC} \quad (\text{Equação 7})$$

onde f é a frequência do sinal AC e C o valor de capacitância.

Se o valor de frequência for muito baixo, o valor de X_C será elevado, causando o bloqueio do sinal nas paredes dos microcanais. Nesta situação a reatância provocada pela capacitância de fuga C_0 também será elevada e não haverá transmissão externa do sinal. Para valores de frequência muito altos, as reatâncias da parede e de fuga terão valores baixos. Por um lado, isso favorece a transmissão do sinal através das paredes dos microcanais, mas a reatância provocada pela capacitância de fuga pode diminuir a impedância total do sistema,

fazendo com que variações na condutividade da solução não sejam sentidas. Soma-se a isso que os amplificadores operacionais utilizados no circuito de detecção também possuem valores finitos de capacitância de entrada, que atenuam os sinais de alta frequência. Por isso, valores intermediários de frequência produzem as maiores respostas e a frequência ótima de operação deve ser otimizada de acordo com a geometria dos eletrodos e soluções eletrolíticas utilizadas nos experimentos.

3. Materiais e Instrumentação

3.1. Materiais

Para o preparo do substrato de PDMS nativo foi utilizado o kit pré-polímero e reticulante Sylgard 184, marca Dow Corning, massa molar 2×10^7 g/mol. Preparou-se também substratos pela reticulação de poli(dimetilsiloxano)dimetilsilanol terminal, (PDMS-t), massa molar 2×10^3 g/mol, marca Dow Corning, com diferentes silanos metacriloxipropiltrimetoxissilano (MPTMS) e aminopropiltriethoxissilano (APTS), de procedência Aldrich. Poli(metilsiloxano) (PMS), foi comprado como DC1107, marca Dow Corning, e utilizado na rota de modificação com os seguintes derivados de polietileno glicol (PEG): diviniléter de polietileno glicol (DVE-PEG), metacrilato de polietileno glicol (META-PEG) e metil éter acrilato de polietileno glicol (MA-PEG), todos de marca Aldrich. O surfactante Silwet L-77 (L77), marca Momentive Performance Materials, cujo componente majoritário é o etoxilato de trissiloxano, foi utilizado para a modificação do *bulk* do PDMS (Figura 5).

Os catalisadores utilizados foram o H_2SO_4 P.A., marca Synth; o dibutil acetato de estanho, marca Aldrich; e o catalisador de platina Q2-7368, marca Dow Corning. Bis-(2-metiletil)éter, marca Acros Organics, e metanol P.A., marca Synth, foram utilizados como solventes. Ácido 2-morfolinoetanossulfônico monohidratado (MES), marca Aldrich e L-Histidina (His), marca Fluka, foram utilizados para o preparo do tampão MES/His. Os solventes trietilamina, acetato de etila e acetona, todos da marca Vetec, foram utilizados para extração do PDMS. Para a preparação de soluções foram utilizados os reagentes FeCl_3 , KCl, NaCl e LiCl, todos da marca Synth.

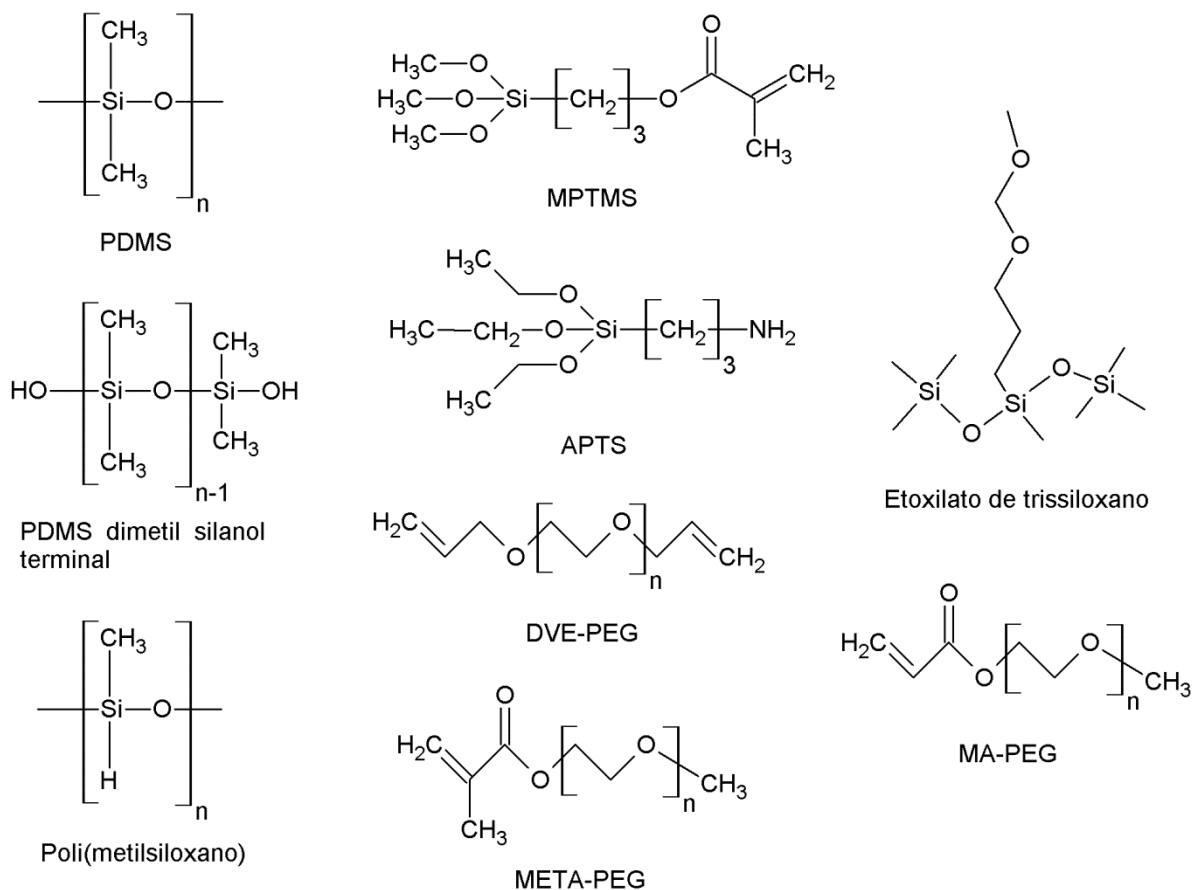


Figura 5 – Fórmulas moleculares do PDMS, PDMS dimetilsilanol terminal e dos modificadores utilizados.

3.2. Instrumentação

Foi utilizado o tensiômetro óptico modelo DSA100 Standard, marca Krüss, para determinação do WCA, pois é possível empregar este instrumento para o estudo de substratos sólidos devido à sua superfície plana para análises e pequena quantidade necessária de líquido teste. Todas as medidas foram efetuadas utilizando a deposição pelo método da gota sésil de 10 μL de água deionizada (líquido teste).

A caracterização espectrométrica na região do infravermelho foi efetuada em espectrômetro modelo MB Series B-102, marca Bomen. As medidas de

perfilometria foram realizadas no equipamento Form Talysurf 50, marca Taylor Hobson. O *spin coater* utilizado foi o WS-650S-6NPP, da marca Laurell Technologies. A caracterização por espectroscopia Raman e RIS foi realizada no equipamento Raman Station 400F spectrometer, marca Perkin Elmer, utilizando laser de excitação de 250-mW, com comprimento de onda de 785 nm. A aquisição de dados foi feita pelo uso do software Spectrum, e o tratamento dos dados utilizando o software SpetrumImage – Spotlight, ambos da marca Perkin Elmer. O tamanho do pixel foi fixado em 50 μm .

As medidas de fluxo utilizando detecção condutométrica sem contato (C^4D) foram realizadas utilizando equipamento construído no laboratório GEM, controlado pelo software LabView[®], com frequência de trabalho de 500 kHz. Todos os cortes a laser foram efetuados no equipamento L-Solution 100, marca Gravograph, com fonte de laser de CO_2 de 10,6 μm e potência máxima de 30W.

4. Experimental

O procedimento experimental para cada uma das modificações será descrito e analisado separadamente para maior clareza das abordagens utilizadas.

4.1. Técnicas de microfabricação

Os dispositivos convencionais em vidro e silício são normalmente produzidos a partir das técnicas fotolitográficas, que consistem na transferência de estruturas micrométricas da ordem de 1 a 100 μm , previamente desenhadas sobre uma máscara para o substrato em questão, com a exposição à radiação UV ou raios-X. Este processo consiste em uma série de etapas, resumidas pela Figura 6.

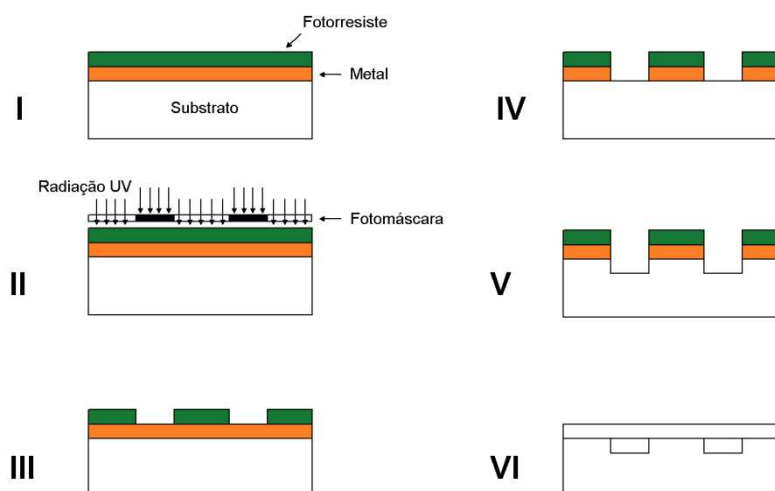


Figura 6 – Principais etapas da construção de microdispositivos sobre substrato de vidro através da técnica de fotolitografia. Adaptada de (5).

- (I) Deposição de filmes metálicos e fotorresiste sobre o substrato;
- (II) Posicionamento da máscara e exposição à radiação UV;
- (III) Revelação da imagem fotogravada no fotorresiste;
- (IV) Corrosão da camada metálica não protegida pelo fotorresiste;
- (V) Corrosão do substrato e,
- (VI) Remoção das camadas de fotorresiste e metal e selagem do microdispositivo.

Este é um processo que demanda tempo e não pode ser executado em qualquer condição ambiente, fazendo-se necessária a utilização de uma sala limpa. Os substratos devem estar devidamente limpos e dependendo da característica do fotorresiste pode ser necessário seu tratamento térmico antes e após a fotogração. Estes fatores tornam o processo de alto custo.

Alternativamente, os dispositivos poliméricos podem ser preparados a partir da técnica de micromoldagem. Esta técnica consiste na criação de um molde por fotolitografia ou outra técnica alternativa e posterior polimerização sobre este molde, de modo a transferir o padrão de canais para o polímero (5). Neste trabalho, a micromoldagem foi utilizada para o preparo de todos os microdispositivos, com exceção dos dispositivos de PDMS modificados com alcoxissilanos, cujos canais foram preparados por ablação a laser.

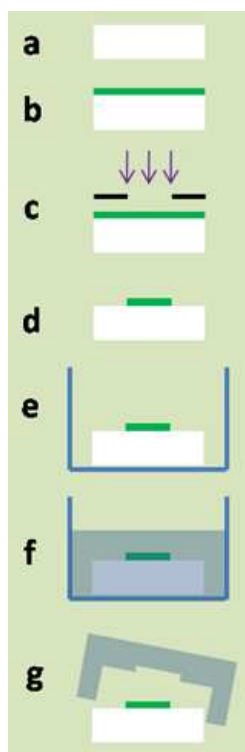


Figura 7 - Microfabricação por micromoldagem. A preparação do molde é representada de (a) a (d). A transferência do padrão do microcanal para o substrato polimérico é representada de (e) a (g). Adaptado de (84).

Na micromoldagem, o fotorresiste negativo foi depositado por *spin coating* sobre o substrato (**b**), de silício ou vidro. O substrato está denominado pela letra **a**. Em **c**, a máscara contendo o padrão dos canais foi colocada sobre o substrato e o sistema exposto à radiação UV. Sob a ação da radiação o fotorresiste negativo reticula, formando o padrão em alto relevo (**d**), seguido da posterior remoção da máscara e fotorresiste não reticulado. O fotorresiste utilizado para este processo foi o SU-8, baseado em ligações epóxido. A partir deste ponto, obteve-se o molde com canais em alto relevo, denominado de mSU-8. Os moldes foram preparados no laboratório de microfabricação do LNNano (Campinas, SP).

O mSU-8 foi utilizado para transferir o padrão dos canais microfluídicos para o PDMS, mediante polimerização sobre este molde (**e-g**). A utilização do mSU-8 diminui o custo da microfabricação quando comparada à fotolitografia convencional devido ao fato de que um único molde pode ser utilizado para a fabricação de vários microdispositivos. Além disso, moldes com mais do que um único padrão de canais podem ser construídos e utilizados simultaneamente. Os mSU-8 preparados sobre substrato de silício apresentam maior durabilidade com relação aqueles preparados sobre substrato de vidro, pois puderam ser utilizados para um número maior de moldagens sem danificar os canais em alto relevo. O tempo de fabricação do microdispositivo depende diretamente do tempo de reticulação do PDMS.

4.2. Preparação convencional do PDMS nativo

A preparação do substrato de PDMS nativo a partir do Sylgard 184, compreendendo apenas o kit contendo o pré-polímero e o reticulante, foi realizada e é descrita a seguir. No caso em que esta reação foi realizada em placa de Petri contendo o mSU-8, obteve-se o polímero com os microcanais. No caso em que foi realizada sobre placa de Petri vazia, obteve-se o polímero de superfície lisa, utilizado para a selagem do microdispositivo e como material referência nas medidas de WCA.

Inicialmente foram pesados ambos os componentes na razão de 10 partes de pré-polímero para 1 parte do reticulante (10:1 em massa). A mistura foi homogeneizada vigorosamente mediante agitação mecânica. A mistura foi então depositada sobre uma placa de Petri de poliestireno, que foi deixada sob vácuo cerca de 30 minutos para remoção de bolhas de ar. A placa de Petri não pode ser de vidro comum, pois o PDMS adere ao vidro, impossibilitando sua posterior remoção. As dimensões da placa de Petri dependem da posterior utilização do PDMS. Para aplicação na fabricação dos microdispositivos foram utilizadas placas de 7 cm de raio, enquanto que o PDMS de referência para medidas de ângulo de contato foi utilizada placa de 3,5 cm de raio.

O processo de cura do polímero dura cerca de 24 horas à temperatura ambiente ou 6 horas em estufa a 70 °C. Neste trabalho foi utilizada a cura em estufa para todos os materiais preparados, salvo quando a cura à temperatura ambiente for especificada no texto.

Os microdispositivos convencionais a partir do PDMS nativo foram obtidos pela selagem do substrato contendo os canais micrométricos contra uma base lisa de PDMS nativo. A selagem pode ser feita reversivelmente, pelo contato entre os dois substratos, ou irreversivelmente, por meio da oxidação dos substratos com plasma e posterior contato. O método de selagem utilizado foi a selagem reversível por contato, salvo para o dispositivo obtido da modificação de PDMS com derivados de PEG, onde foi utilizada a selagem irreversível. Os reservatórios foram confeccionados utilizando-se punção de biópsia (modelo Harris Uni-Core, Ted Pella, Inc.), com diâmetro de 3 mm.

4.3. Modificação I: Reação de policondensação com alcoxissilanos

Para esta reação de reticulação foi utilizado o pré-polímero PDMS-t, que possui menor massa molar e menor viscosidade quando comparado ao Sylgard 184. Além disso, possui ligações Si-OH nos finais de cadeia que propiciam a reação de policondensação com o grupo R-O-Si dos alcoxissilanos MPTMS e

APTS. Esta reação será discutida no item 5.1. Neste texto, a denominação alcoxissilano deve ser interpretada como o termo que se refere aos reticulantes que também atuam como modificadores, MPTMS e APTS. A preparação do substrato pela reação de policondensação é descrita abaixo.

4.3.1. Policondensação com MPTMS

PDMS-t e MTPMS foram misturados em diferentes proporções. Para o polímero com 20% de MTPMS foram utilizados 8 mL de PDMS-t e 2 mL de MPTMS. O produto desta reação foi designado mPDMS 20%. Preparou-se também o mPDMS 30%, utilizando 7 e 3 mL de PDMS-t e MPTMS, respectivamente. Em ambas as preparações utilizaram-se béqueres de polietileno de alta densidade (marca Nalgene). Esta mistura foi homogeneizada por agitação magnética por 5 minutos. Foi adicionado então 0,25 mL do catalisador dibutil acetato de estanho (DBAE) e a agitação foi mantida por mais 10 minutos. A solução foi transferida para um suporte de Teflon® e levada à cura por 24 horas à temperatura ambiente. Os ângulos de contato foram medidos e comparados com o PDMS nativo preparado a partir do Sylgard 184.

4.3.2. Policondensação com APTS

O procedimento para a reação com APTS foi análogo ao utilizado na preparação do mPDMS. Neste procedimento PDMS-t e APTS foram misturados em diferentes proporções, para a produção da material designado aPDMS, com 20%, 30% e 40% de APTS. Para o aPDMS 20% foram utilizados 8 mL e 2 mL de PDMS e APTS, respectivamente. O aPDMS 30% foi produzido a partir de 7 mL de PDMS e 3 mL de APTS, enquanto o aPDMS 40% utilizou 6 mL de PDMS e 4 mL de APTS. As reações foram feitas em béquer de polietileno de alta densidade (marca Nalgene) e a mistura homogeneizada por agitação magnética por 5

minutos. O volume de 0,5 mL de DBAE foi adicionado e a agitação foi mantida por mais 2 minutos. Este tempo de agitação menor para o aPDMS em comparação ao processo similar do mPDMS se deve à velocidade da reação de policondensação ser maior para o APTS, causando o início do processo de reticulação após cerca de 2,5 minutos da adição do catalisador.

De maneira semelhante ao mPDMS, a solução de aPDMS foi transferida para um suporte de Teflon[®] e levada à cura por 24 horas à temperatura ambiente. Os ângulos de contato foram medidos e comparados com o PDMS nativo preparado a partir do Sylgard 184.

As porcentagens utilizadas de alcoxisilano, o volume de DBAE e o tempo de agitação para a reação do PDMS-t com APTS e MPTMS a fim de produzir o substrato modificado estão resumidas pela Tabela 2.

Tabela 2 - Especificações para reticulação de PDMS-t com alcoxisilano

Alcoxisilano	Porcentagem preparada (%)	DBAE /mL	Agitação /min
APTS	20%, 30% e 40%	0,5	5 + 2
MPTMS	20% e 30%	0,25	5 + 10

4.3.3. Preparação dos microcanais no mPDMS

Microcanais foram construídos diretamente no mPDMS já curado, por meio de ablação a laser de CO₂. O formato e as dimensões do dispositivo estão dispostos na Figura 8. Para este processo, foram utilizados 20% de potência relativa do laser a 30% de velocidade na criação dos canais e 20% de potência a 10% de velocidade na criação dos reservatórios. O substrato mPDMS foi transferido para suporte de cobre metálico e analisado com espectroscopia Raman e RIS.

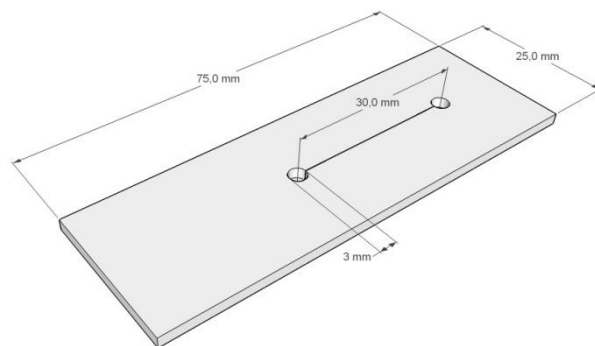


Figura 8 – Dispositivo mPDMS com microcanais criados por ablação a laser de CO₂. Dimensões do dispositivo: 75x25 mm. Canal com 30 mm de comprimento e reservatórios com 3 mm de diâmetro.

4.4. Modificação II: Adição de Tensoativo

Nesta modificação o tensoativo foi adicionado à mistura de pré-polímero de PDMS e reticulante antes da etapa de homogeneização (Figura 9). Para os ensaios realizados utilizou-se da proporção em massa de 10:1 partes de pré-polímero e reticulante, com a adição de 0,6% m/m de surfactante Silwet L-77 em relação ao pré-polímero (46). A mistura foi homogeneizada mediante agitação mecânica e submetida a vácuo por cerca de 30 minutos para remoção de bolhas. A cura do polímero foi de 6 horas a 70 °C na estufa, sobre placa de Petri de poliestireno, de 90x15 mm.

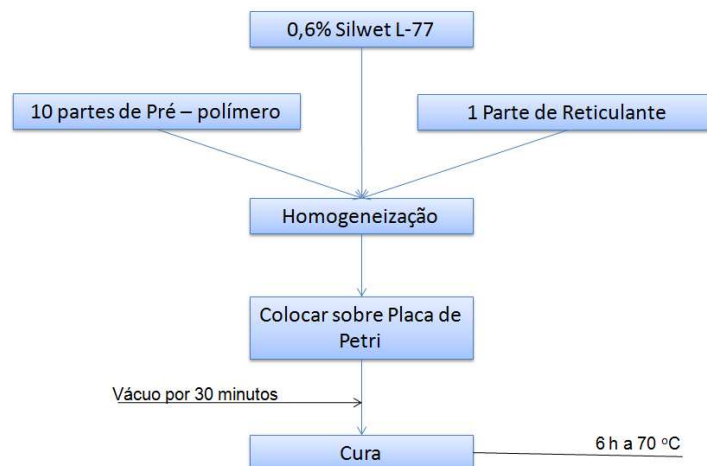


Figura 9 – Fluxograma para a modificação do PDMS nativo com adição do tensoativo L77.

Este procedimento foi utilizado para a confecção do substrato modificado com surfactante (sPDMS). Para as medidas de ângulo de contato, a reação foi realizada sobre a placa de Petri vazia, de modo a obter o polímero liso. Estas medidas foram realizadas em comparação aos valores obtidos para o PDMS nativo.

Para a avaliação do fluxo eletrosmótico, a reação de reticulação foi realizada sobre a placa de Petri contendo o molde de canais em T, de dimensões de 65 μm de largura x 15 μm de profundidade.

4.5. Modificação III: Modificação de superfície por reação de hidrossililação

Na Modificação III, o PDMS nativo já curado precisa ter sua superfície ativada a fim de reagir com derivados de PEG. Inicialmente preparou-se o PDMS nativo do modo descrito no item 4.2. A superfície deste polímero já curado deve então ser ativada, com a introdução de funções Si-H para a posterior introdução de DVE-PEG, META-PEG e MA-PEG, que foram os modificadores derivados de

PEG testados neste trabalho. Para tal, seguiu-se a rota descrita a seguir, adaptada de (43).

O PDMS foi imerso, sob constante agitação durante 1 hora, em solução preparada com 30 mL de metanol, 10 mL de DC 1107 poli(metilsiloxano) e 0,5 mL de H_2SO_4 P.A., para catálise. Posteriormente, a amostra foi retirada e lavada com metanol e em seguida com etanol, e então aquecida a 80 °C por 2 horas em estufa. Em seguida, foi seca em dessecador por aproximadamente 12 horas sobre uma placa de Teflon®.

Após este tempo, o substrato de PDMS foi colocado sob agitação em uma segunda solução contendo 5 mL de um dos derivados de PEG em 25 mL de bis(2-metoxietil)éter e 2 gotas de catalisador de platina (Q2-7368). Nesta etapa ocorreu a reação de hidrossililação entre a ligação Si-H da superfície do molde e o grupo vinil ($\text{CH}_2=\text{CH}-$) do final da cadeia do derivado de PEG. Este procedimento estendeu-se por cerca de 24 horas. Após isto, o polímero foi lavado com o próprio solvente e deixado no dessecador por cerca de 20 horas, com posterior aquecimento em estufa sobre placa de Teflon®, por 4 horas a 120 °C.

O fluxograma do procedimento descrito está disposto na Figura 10.

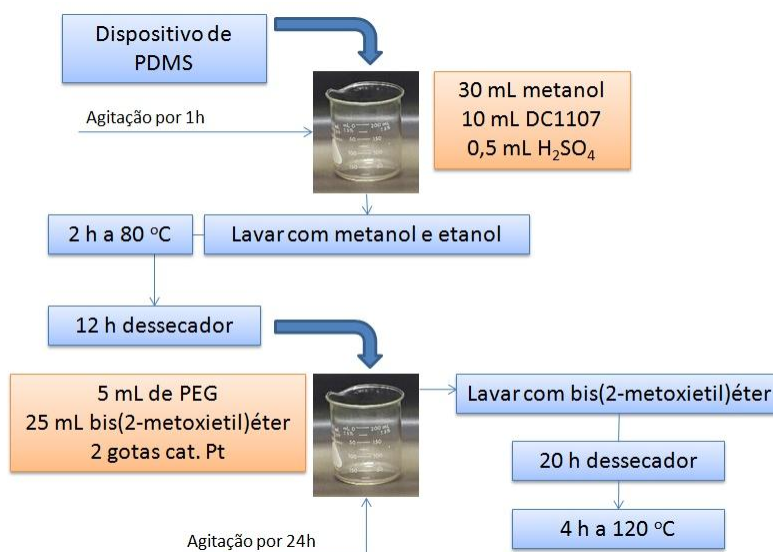


Figura 10 – Fluxograma para a rota de modificação de superfície do PDMS nativo com DVE-PEG, META-PEG ou MA-PEG. Na figura, PEG se refere a um dos 3 derivados citados.

Os três passos da reação (PDMS nativo, ativação do PDMS pela introdução de grupos Si-H na superfície, e a introdução dos modificadores derivados de PEG na superfície) foram avaliados por refletância total atenuada na região do infravermelho (ATR-FTIR) e os ângulos de contato foram medidos para a versão modificada em comparação ao PDMS bruto.

4.6. Extração dos monômeros do PDMS

Alguns dos experimentos foram realizados após a extração de cadeias de PDMS não ligadas à rede polimérica. Esta extração foi realizada segundo o protocolo proposto por Vickers et al. (16).

Neste protocolo de extração, o PDMS nativo já curado foi imerso em 200 mL de trietilamina à temperatura ambiente e mantido por agitação durante 2 horas. Após uma hora de agitação, a trietilamina foi trocada por uma nova solução. O PDMS foi então removido e imerso em 200 mL de acetato de etila, sob agitação à temperatura ambiente. Neste caso também o solvente foi trocado após 1 hora de agitação. Após esta etapa, o PDMS foi transferido para um béquer contendo 200 mL de acetona por 2 horas. Finalmente, as peças de PDMS foram levadas a estufa para secagem por 6 horas a 65 °C.

A porcentagem de polímero extraído, e_{PDMS} , foi calculada utilizando-se a equação:

$$e_{PDMS} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

onde m_i é massa inicial do PDMS já curado e m_f é a massa final, obtida após o processo de cura e secagem.

4.7. Dispositivo C⁴D

Prepararam-se ainda dispositivos contendo eletrodos construídos em placas para circuito impresso de cobre/fenolite para avaliação do EOF via C⁴D. Estes dispositivos foram construídos em três camadas: (1) placa de cobre/fenolite contendo os eletrodos utilizados para a detecção; (2) fina camada polimérica, com a finalidade de evitar que a solução que passa pelo microcanal entre em contato com os eletrodos; (3) dispositivo polimérico onde se encontram os microcanais. O dispositivo está representado na Figura 11. O isolamento elétrico sobre os eletrodos e a camada contendo os canais microfluídicos foram preparados com o mesmo material (PDMS nativo ou sPDMS), exceto casos especificados no texto.

A Figura 11 deve ser entendida apenas como a representação da posição das três camadas, pois o dispositivo polimérico (camada de PDMS contendo os canais) não está voltado para cima, os canais foram selados contra a camada fina, perfazendo-se assim, nas três camadas, o dispositivo completo. Este substrato foi preparado por micromoldagem. Os canais possuem 65 µm de largura x 15 µm de profundidade. O comprimento do canal de separação é de 45 mm, enquanto que o canal de injeção possui 12 mm. O comprimento efetivo do canal de separação, isto é, a distância entre o ponto de injeção e o detector varia na montagem do dispositivo e será especificado para a realização dos cálculos de EOF.

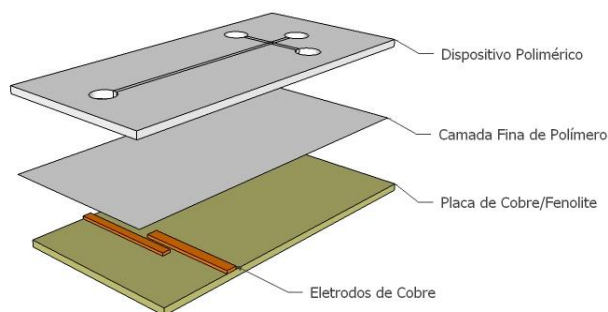


Figura 11 – Dispositivo em três camadas para utilização em detecção condutométrica sem contato.

Os eletrodos fabricados sobre placas de cobre/fenolite são espaçados entre si, conforme a Figura 12. Para sua fabricação utilizou-se da corrosão controlada da placa protegida por camada de toner na região onde serão produzidos os eletrodos. O desenho foi feito em programa computacional gráfico comercial (*CorelDraw*[®]) e posteriormente transferido para a superfície da placa de cobre/fenolite. O procedimento completo e detalhado é discutido a seguir.



Figura 12 – Desenho utilizado para impressão dos eletrodos na placa de cobre/fenolite. Dimensões da placa: 4,00 x 6,00 cm. Espessura dos eletrodos: 1 mm. Espaçamento entre eletrodos: 0,5 mm.

Inicialmente, a placa foi corroída por cerca de 20 min para diminuição da espessura inicial da camada de cobre, em solução 20% FeCl_3 , à temperatura ambiente. A máscara contendo o formato dos eletrodos em toner foi então impressa em papel e o padrão transferido para a placa de cobre/fenolite utilizando-se uma laminadora. Mediante a alta temperatura, o toner, que tem maior aderência ao cobre que ao papel, fica impresso na placa de cobre/fenolite e este funciona como camada protetora para a posterior corrosão do Cu contido na placa. A corrosão do Cu não protegido pelo toner foi efetuada em solução 20% FeCl_3 , à 50 °C, sob agitação constante. Finalmente, o toner foi retirado utilizando-se acetonitrila e obteve-se a placa com os eletrodos de cobre na região que estava protegida pelo toner.

Sobre esta placa contendo os eletrodos foi depositada a fina camada polimérica para posterior selagem do dispositivo feito por micromoldagem. Esta camada fina foi depositada por *spin coating*, processo onde a placa é submetida a diferentes rotações por um dado período de tempo após a aplicação da mistura

polimérica sobre sua superfície. A deposição do polímero foi efetuada por um processo em quatro etapas subsequentes, conforme Tabela 3. Na deposição por *spin coating*, a quantidade da mistura de PDMS adicionada sobre a placa é irrelevante, pois a quantidade que permanecerá sobre a mesma, conferindo a espessura característica, depende apenas do programa de velocidade de rotação do *spin coater*.

Tabela 3 – Programa para deposição de filmes utilizado no *spin coating*.

Etapa	Velocidade / RPM	Tempo / s
1	300	30
2	600	30
3	900	15
4	1000	30

Depois de submetido a todas as etapas do processo, obteve-se a camada fina polimérica de aproximadamente 60 μm , conforme medida obtida por perfilometria de contato, Figura 13.

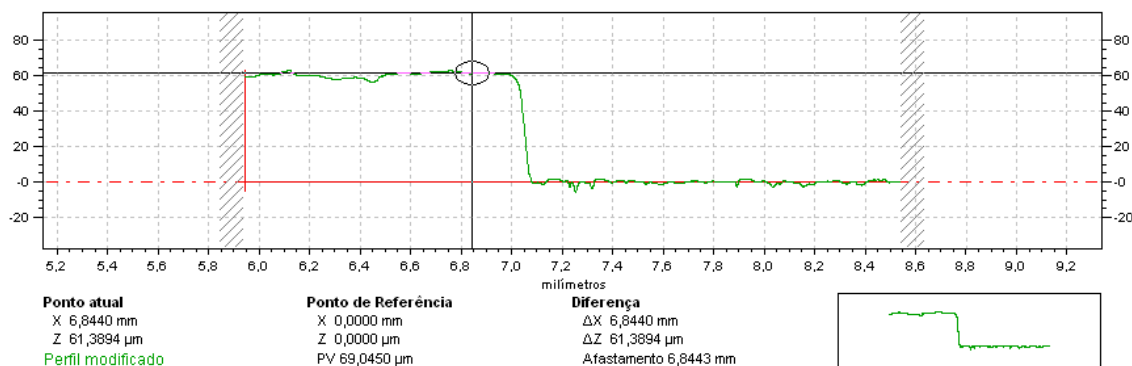


Figura 13 – Perfilometria de contato para a placa de cobre/fenolite após a cura da fina camada polimérica depositada por *spin coating*.

Deste modo, o dispositivo final foi obtido mediante selagem reversível do polímero contendo os canais sobre a fina camada polimérica obtida por *spin coating*. Este dispositivo foi então ligado ao instrumento construído no laboratório

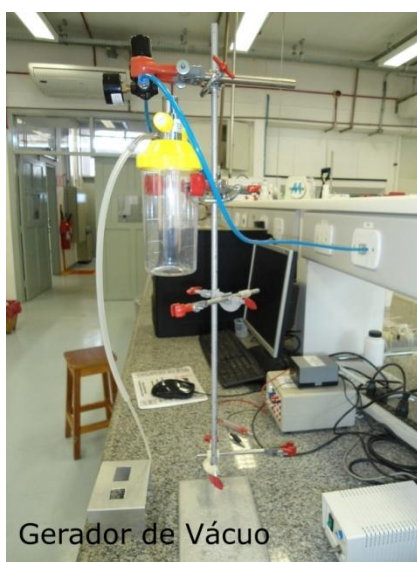
para detecção C^4D . Este aparato consiste em fonte de alta tensão, controlador de frequência, gerador de vácuo (para auxiliar no preenchimento e limpeza dos microcanais) e microcomputador. O interfaceamento é controlado pelo software LabView[®].



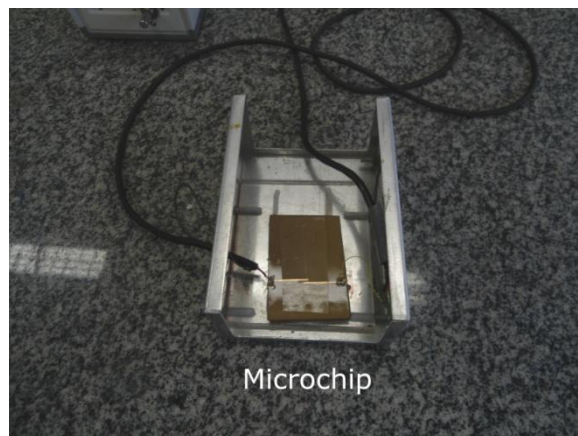
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 14 – Aparato para detecção C^4D construído no laboratório: (a) controlador de frequência, (b) fonte de alta tensão de 12 kV, (c) gerador de vácuo e (d) microchip.

4.8. Medidas de EOF em dispositivos com detecção C^4D

Este tópico irá tratar dos dois métodos utilizados para a medida da mobilidade do fluxo eletrosmótico (EOF) durante este trabalho. Em ambos os casos foram utilizados os dispositivos para detecção C^4D descritos no item 4.7. Ambos os métodos medem o tempo de migração de um marcador e este tempo é convertido em μ_{eo} utilizando os parâmetros experimentais e a teoria de eletrosmose abordada no item 2.2.3.

4.8.1. Método do monitoramento da corrente

O método de determinação do EOF pelo monitoramento da corrente consiste na utilização de um único tampão em duas concentrações diferentes e baseia-se na diferença de condutividade entre as duas concentrações. Após ajustada a linha base de sinal do detector C^4D , espera-se que o tampão com maior concentração apresente maior sinal elétrico ao passar pelo sensor. O método está exemplificado pela Figura 15. Nos experimentos deste trabalho o tampão utilizado foi o tampão MES/His nas concentrações de 20 mmol L⁻¹ e 5 mmol L⁻¹, preparados a partir de solução estoque de 100 mmol L⁻¹, armazenada sob refrigeração.

Inicialmente o canal foi preenchido com solução do tampão de menor concentração (Figura 15a). Em seguida, um dos reservatórios foi preenchido com o mesmo tampão, em concentração maior (Figura 15b). O polo positivo foi posicionado sobre o reservatório contendo o tampão de maior concentração e o polo negativo sobre o reservatório de descarte, e a tensão de 2kV foi aplicada (Figura 15c). Ao se aplicar o potencial, surge o EOF devido à formação da dupla camada elétrica próxima às paredes do microcanal e o tampão migra em direção ao detector. Como não há diferença de espécies no microcanal, o tampão de maior concentração se move com velocidade igual ao fluxo eletrosmótico e, ao chegar ao detector, obtém-se uma transição de sinal baixo (referente à menor concentração de tampão) para sinal alto (referente à maior concentração). O tempo referente a esta transição é o tempo de migração do tampão quando

submetido ao campo elétrico, e pode ser utilizado para calcular a mobilidade do EOF, μ_{eo} , conforme equação adaptada da Equação 6:

$$\mu_{eo} = \frac{LL}{Vt_b} \quad (\text{Equação 9})$$

onde t_b é o tempo de migração do tampão (b referente a buffer).

Este mesmo método pode ser aplicado preenchendo-se o canal com o tampão de maior concentração e injetando o de menor concentração. A vantagem deste tipo de determinação é que não são necessários dispositivos mais complexos, com canais de separação e injeção, para a determinação do EOF. É possível realizar a medida com dispositivo simples, contendo apenas um canal acoplado a um dispositivo de detecção C⁴D.

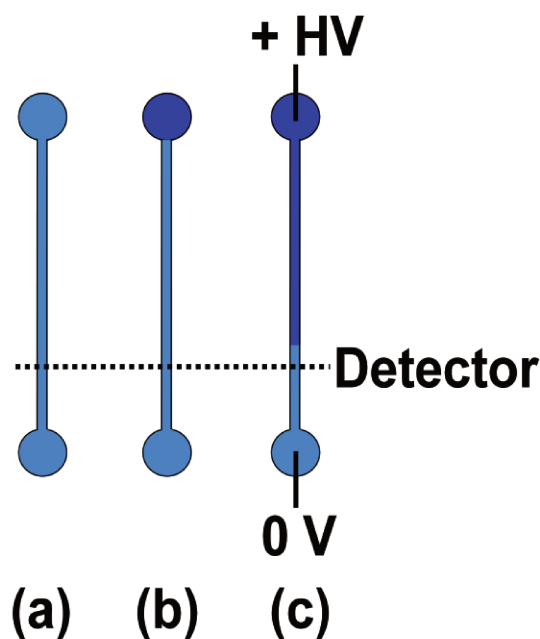


Figura 15 – Método de determinação do EOF por injeção de tampão em diferente concentração daquela presente no microcanal. Adaptado de (85). Em (a) o canal é preenchido com tampão MES/His diluído (5 mmol L⁻¹); (b) o tampão diluído em um reservatório é substituído por tampão MES/His concentrado (20 mmol L⁻¹) e (c) diferença de potencial (HV = 2 kV) é aplicada.

4.8.2. Método da injeção do plug de amostra

O método de injeção de plug de amostra consiste na injeção de um plug de solução aquosa de sais no canal de injeção e posterior submissão à tensão para separação iônica. Deste modo, juntamente com a separação dos íons presentes na amostra, haverá também o deslocamento do *plug* de injeção com velocidade do EOF. Como a solução injetada possui força iônica menor que o eletrólito de corrida, esta produz um pico negativo no sistema C⁴D. Determinando-se o ponto onde há a queda de sinal elétrico, pode-se calcular o μ_{eo} do dispositivo pela relação similar à Equação 6:

$$\mu_{eo} = \frac{lL}{Vt_p} \quad (\text{Equação 10})$$

onde t_p é o tempo de migração do plug de amostra até o detector.

Neste trabalho o EOF foi medido injetando-se o plug de amostra contendo Na⁺, K⁺ e Li⁺ em água, preparada a partir de seus cloretos sólidos, exemplificado na Figura 16. Inicialmente os canais foram preenchidos com tampão MES/His 20 mmol L⁻¹. Em (A) o microcanal I é o canal de injeção de amostra, II é o canal de separação e III a posição do detector (eletrodos de cobre), enquanto 1, 2, 3 e 4 são os reservatórios. Em (B), 25 μ L da solução salina (500 μ mol L⁻¹ de Na⁺, K⁺ e Li⁺) foi inserida no reservatório 1, e o potencial de 1 kV é aplicado por 30 segundos, para o preenchimento do canal (C). Esta injeção de amostra é denominada injeção em cruz, pois o potencial é aplicado no canal perpendicular ao canal de separação do microdispositivo em forma de cruz. Após esta etapa, conectou-se o polo positivo ao reservatório 2 e o polo negativo ao reservatório 4 e aplicou-se 1 kV. A diferença de potencial entre os dois reservatórios gera o movimento da solução e os íons devem ser separados com base em suas mobilidades, dependente da relação massa/carga. A plug de amostra, ao alcançar o detector, gera uma queda de sinal. O tempo que este plug gasta para chegar ao detector foi utilizado para o cálculo da mobilidade eletrosmótica.

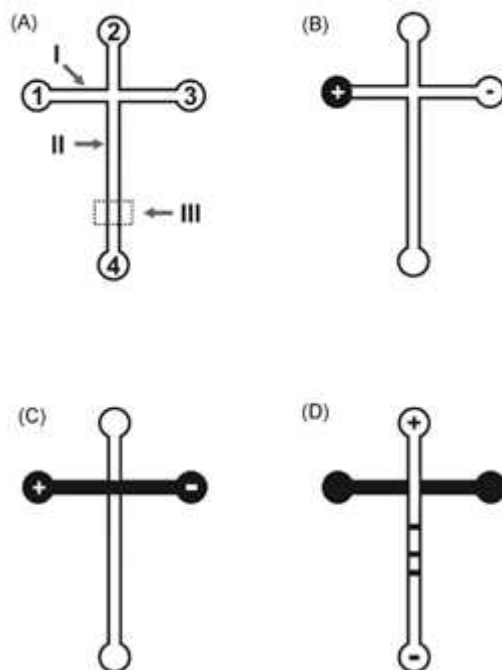


Figura 16 – Método de análise de EOF por injeção de plug de amostra de Na^+ , Li^+ e K^+ . Em (A) os canais foram preenchidos com eletrólito MES/His 20 mmol L⁻¹. A amostra foi inserida no reservatório 1 em (B) e a tensão de 1 kV aplicada no canal de injeção por 30 s (C). Em (D) a tensão foi aplicada no canal de separação e observa-se o movimento do íons e do plug de solução aquosa em direção ao detector. Reproduzida de (5).

5. Resultados e Discussão

5.1.1. Medidas de WCA

A Tabela 4 indica os valores de ângulo de contato para a superfície do aPDMS e mPDMS. Houve dificuldade para se efetuar as medidas com o mPDMS 30%, pois as amostras se apresentaram quebradiças e de difícil separação da superfície de Teflon® onde ocorreu a cura.

Tabela 4 - Valores de Ângulo de Contato para PDMS modificado com Silanos

Amostra	Composição	WCA	Referência*	Diminuição do WCA (%)
aPDMS	20% silano	$90 \pm 6^\circ$	$99 \pm 4^\circ$	9,1%
	30% silano	$96 \pm 3^\circ$	$103 \pm 3^\circ$	6,8%
	40% silano (lisa)	$93 \pm 3^\circ$	$94 \pm 2^\circ$	1,1%
	40% silano (rugosa)	$102 \pm 6^\circ$	$94 \pm 2^\circ$	-8,5%
mPDMS	20% silano	$90 \pm 6^\circ$	$94 \pm 2^\circ$	4,3%

*PDMS nativo. Valores médios de 5 replicatas $\pm$ estimativa do desvio padrão.

As leituras de referência foram todas efetuadas sob as mesmas condições que as leituras do polímero modificado, isto é, todos os valores de referência dizem respeito ao PDMS nativo medido nas mesmas condições que o aPDMS ou mPDMS presentes na mesma linha da tabela. Todos os valores obtidos foram realizados com número de cinco replicatas (n=5).

Pela adição dos grupos X (amina ou metacrilato) ao PDMS-t seriam esperados valores de ângulo de contato menores que aqueles obtidos nos experimentos deste trabalho, pois estes grupos possuem características hidrofílicas. Os valores de WCA apresentados na Tabela 4 podem ser explicados pela reação de policondensação. O silano da Figura 17, PDMS/MS, contém grupos funcionais Si-OR, que se condensam com os silanóis (Si-OH) finais das cadeias do polímero. Como o silano é trifuncional em alcóxido, promove a reticulação do PDMS-t, formando assim o substrato que apresenta a função

orgânica silano nos nós da rede. Deste modo, a maior parte do grupo funcional X fica ocluída no *bulk* do PDMS/MS. A quantidade destes grupos X que ficam expostos à superfície do polímero é reduzida e, sendo assim, a propriedade hidrofílica se torna menor que a inicialmente esperada. As medidas de WCA se referem apenas à superfície dos materiais analisados. Embora haja a presença de grupos X no interior da rede polimérica, estes não são relevantes, pois apenas a presença destes grupos na superfície do polímero afetará as propriedades de um canal microfluídico construído com este material.

5.1.2. Propriedades do aPDMS

A amostra de aPDMS 40% teve como característica a diferença de rugosidade entre a superfície que ficou em contato com o ar e aquela em contato com a superfície da placa de Petri. Deste modo, pode-se notar que a mesma amostra possui dois valores diferentes de WCA. Deve-se considerar ainda que para a superfície rugosa foi obtido ângulo maior que aquele encontrado para o PDMS nativo. Entretanto, é sabido que a rugosidade em superfície pode ser uma fonte de erro na leitura de ângulo de contato maiores. A rugosidade permite a entrada de ar que fica preso entre o líquido e a superfície do polímero. O ar presente na interface sólido/líquido, sendo hidrofóbico, auxilia na repulsão à água, causando este valor acentuado para o aPDMS 40% e aparente aumento de hidrofobicidade (86).

Todas as amostras de aPDMS foram retiradas da placa de Petri cuidadosamente a fim de não danificar a superfície do polímero e obter os valores de WCA condizentes com as propriedades do substrato. Para este polímero, o melhor resultado obtido com relação à diminuição do WCA e, consequentemente, aumento de hidrofiliidade, foi o aPDMS 20%, com diminuição de cerca de 9% do valor encontrado para a referência de PDMS nativo. Em termos práticos, todas as amostras de aPDMS estudadas apresentaram características opacas e de menor aderência que o PDMS nativo. Isto significa que, após ser retirada da placa de

Petri, o material não apresentou característica adesiva com outros materiais, dificultando assim sua real aplicação como μ TAS, tendo em vista que o processo de selagem do polímero contendo os microcanais contra outra superfície lisa é de fundamental importância na confecção do dispositivo. O aPDMS portanto apresenta dificuldade de selagem, principalmente no que se diz respeito à selagem reversível entre dois filmes do polímero e, assim, sua aplicação direta como polímero para confecção de μ TAS é comprometida.

5.1.3. Propriedades do mPDMS

A amostra com mPDMS 20% pôde ser analisada após repetir-se o procedimento experimental e retirar pequenas amostras de polímero para análise. Assim como o mPDMS 30%, a amostra tinha características quebradiças e houve dificuldade para retirá-la da placa de Petri. O método de obtenção do polímero foi então modificado para melhor se estudar as características da reação do PDMS-t com MPTMS.

A reação passou a ser realizada sobre lâmina de vidro, pois deste modo não seria necessário retirar o mPDMS da placa de Petri para ser analisado e posteriormente utilizado em μ TAS. Foi construído um suporte para a lâmina em polimetilmetacrilado (PMMA), representado na Figura 18. O suporte é composto por uma base e uma camada superior, que são parafusadas entre si. Sobre a base foi colocada a lâmina de vidro sobre a qual ocorreu a reação. A lâmina deve ficar posicionada na parte vazada da camada superior.

Decidiu-se analisar também a possibilidade da criação de microcanais no mPDMS assim produzido. Neste caso foi utilizada a ablação a laser para a criação dos microcanais, já que seria impossível utilizar a micromoldagem como estratégia para microfabricação, uma vez que o processo de desmoldagem é crítico e o polímero tem características quebradiças. As dimensões do dispositivo e do canal, bem como as condições de laser utilizadas são aquelas descritas no item 4.3.3.

Neste dispositivo, a lâmina serve apenas como suporte para a polimerização do material e não como substrato de selagem do microcanal.

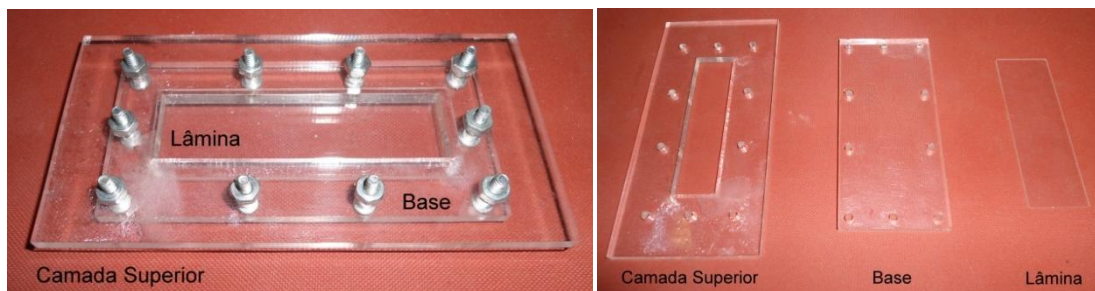
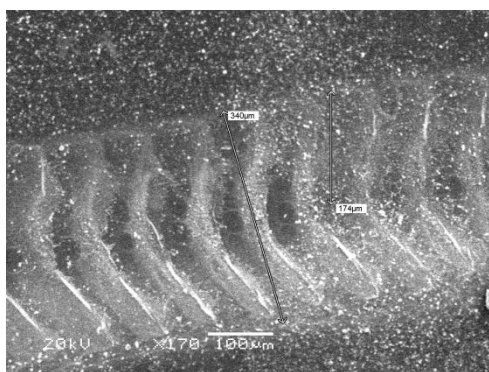
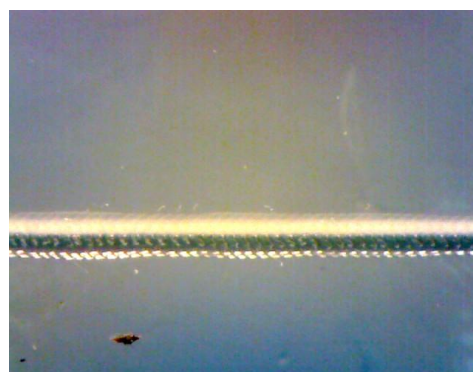


Figura 18 – Suporte em acrílico para reação de reticulação do mPDMS sobre lâmina de vidro.

Os canais feitos por ablação a laser de CO_2 foram analisados por microscopia de eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica, e estão apresentadas na Figura 19. Para as condições deste estudo, foi possível obter canais de aproximadamente 340 μm de largura. Os canais exibem perfil rugoso devido à característica descontínua do laser.



(a)



(b)

Figura 19 – Fotos da microscopia dos canais feitos por ablação a laser de CO_2 no mPDMS 20%: (a) MEV e (b) Microscopia óptica.

O processo de ablação a laser de CO_2 é baseado na absorção da radiação infravermelha pelo substrato. Neste processo há geração de calor que causa a evaporação ou degradação do substrato. Dependendo da energia, velocidade de

varredura e tipo de material utilizado, o processo de ablação pode promover a modificação química do substrato. Observamos que, em casos extremos, ocorre a formação de pó branco ou preto na superfície do substrato, que pode ser removido mecanicamente. Este tipo de efeito nos encorajou a monitorar a superfície do PDMS modificado a fim de identificar qualquer modificação causada durante a fabricação de microcanais por ablação a laser. Para tal, foi utilizada RIS.

A Figura 20a apresenta a imagem Raman para o mPDMS 30%, onde a intensidade foi obtida pela soma de todas as intensidades para cada pixel. O espectro de cada pixel está compreendido entre 3200 e 20 cm^{-1} . É possível notar a morfologia do canal visualizando as diferenças de intensidade. A Figura 20b foi obtida fixando a intensidade do pico em 2904 cm^{-1} como função da posição x-y do substrato. A forma gaussiana observada para os canais está em concordância com o esperado para a ablação a laser (87).

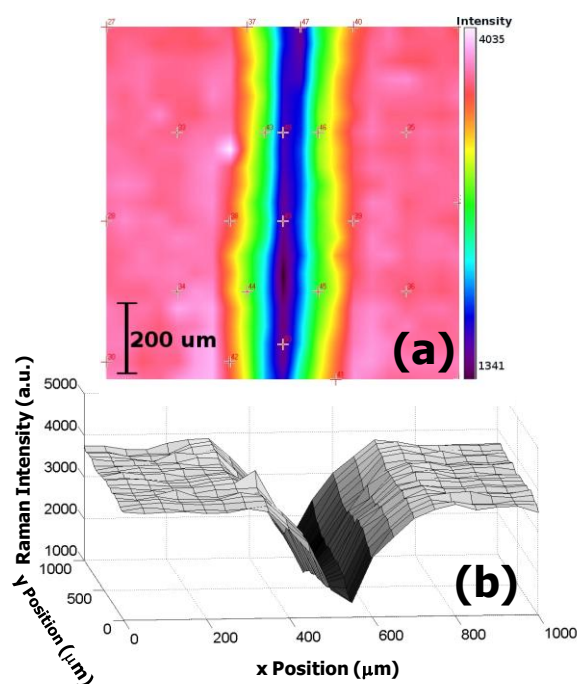


Figura 20 – Imagem Raman para o mPDMS 30%. (a) representa a imagem com a soma das intensidades Raman para pixels da região do canal. Espectro compreendido entre 3200 e 20 cm^{-1} . Em (b) o espectro de intensidade Raman fixado em 2904 cm^{-1} como função da posição x-y do substrato.

A fim de se comparar os espectros para o pixel dentro e fora do canal, foi necessária a normalização destes espectros dividindo-se todos os valores de intensidade pela máxima intensidade obtida em cada espectro.

Os espectros normalizados não mostraram diferença significativa entre aqueles obtidos em pontos dentro ou fora do canal, indicando que não houve modificação química durante o processo de ablação a laser, como pode ser visto na Figura 21. Nesta figura é possível comparar (a) superfície mPDMS 20%, (b) canal mPDMS 20%, (c) PDMS-t e (d) MPTMS. O mPDMS apresenta bandas na faixa de $2996\text{--}2840\text{ cm}^{-1}$, que são associadas com o estiramento C-H do CH_3 (PDMS-t) e CH_2 (MPTMS). Em adição, o fraco pico presente em 3108 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-H da ligação C=C (MPTMS). As bandas em 1720 e 1640 cm^{-1} são associadas aos estiramentos C=O e C=C, típicos da matéria-prima MPTMS. A banda fraca em 788 cm^{-1} está relacionada com o estiramento C-Si-C (PDMS-t) e o pico em 708 cm^{-1} é relacionado à deformação C-H do grupo SiCH_3 (PDMS-t). A atribuição mais completa dos picos Raman pode ser visualizada na Tabela 5. Os espectros Raman obtidos neste trabalho estão de acordo com aqueles encontrados na literatura (50, 88).

Portanto, o produto formado pela reação entre PDMS-t e MPTMS demonstra espectro com bandas referentes a estes precursores, como esperado. Esta é uma característica importante, já que o desempenho dos μTAS depende das características físico-químicas das paredes dos canais.

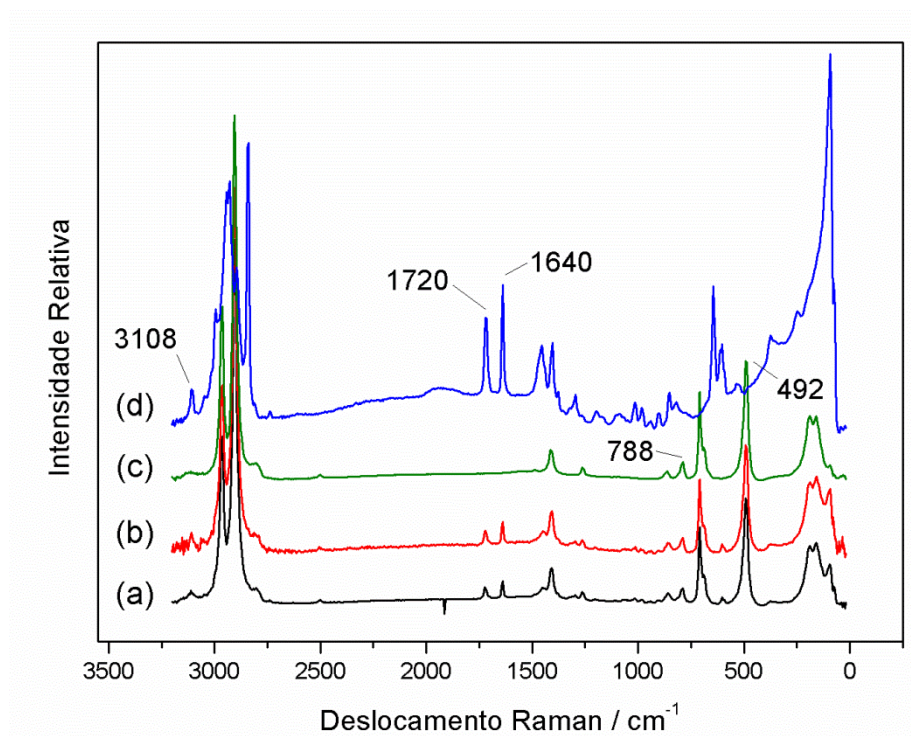


Figura 21 – Espectro Raman para mPDMS 20%: (a) superfície mPDMS (b) canal mPDMS, (c) PDMS-t e (d) MTPMS.

Tabela 5 – Bandas Raman mais significantes para o PDMS, MPTMS e mPDMS

Descolamento Raman (cm^{-1})	Atribuição
3108	$\nu(\text{C-H})$ de $\text{C}=\text{C}$
2996-2840	$\nu(\text{C-H})$ de CH_3 e CH_2
1720	$\nu(\text{C}=\text{O})$
1640	$\nu(\text{C}=\text{C})$
1456-1260	$\delta(\text{C-H})$ de CH_3 e CH_2
864	$\delta\text{C-H}$ (CH_3 rock)
820	$\nu(\text{C-O-C})$
788	$\nu(\text{C-Si-C})$
708	$\delta(\text{C-H})$ de CH_3
604	$\nu(\text{C-COO})$, $\nu(\text{C-C-O})$
492	$\nu(\text{Si-O})$

Além disso, a homogeneidade do produto foi avaliada pela utilização de mapas de correlação (Figura 22). Estes mapas foram obtidos pelo software do espectrômetro Raman, pela comparação entre o espectro do mPDMS 20% com cada um de seus precursores (PDMS-t e MPTMS). Para a comparação do mPDMS com o MPTMS, a região de $1800\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$ foi selecionada, pois possui bandas características a esse precursor que não estão presentes no espectro do PDMS-t. Para a comparação do mPDMS com o PDMS-t foi selecionada a região entre $820\text{-}670\text{ cm}^{-1}$, com bandas características ao PDMS-t. A correlação entre o mPDMS e seus precursores é então calculada para cada pixel e apresentada como o mapa de correlação, cuja escala varia entre 0 e 1. Nesta modificação, os valores mais baixos de correlação obtidos para o mPDMS com o PDMS-t e o MPTMS foram, respectivamente, 0,95 e 0,99. Isto indica que toda superfície analisada possui alta correlação com ambas faixas analisadas e, conseqüentemente, ambos precursores. Portanto, os precursores estão uniformemente distribuídos no mPDMS, e este polímero apresenta reticulação altamente homogênea.

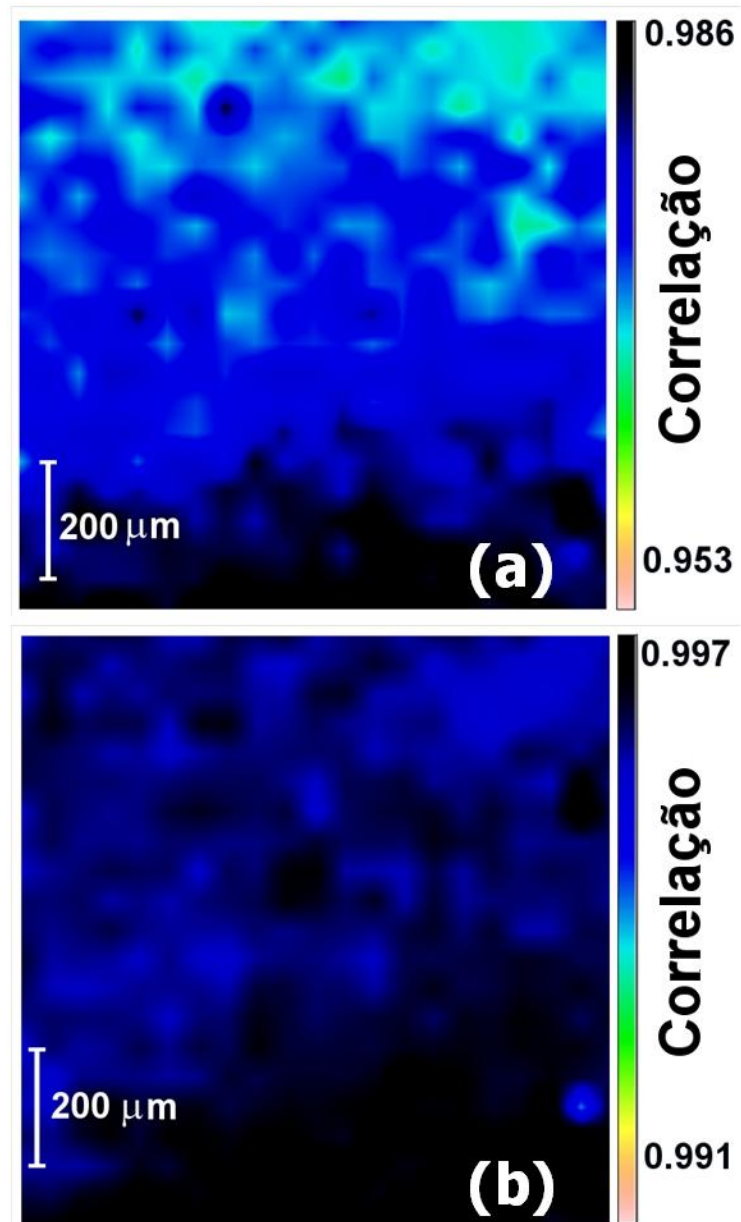


Figura 22 – Mapa de correlação do mPDMS 20% com relação à (a) PDMS-t e (b) MPTMS.

5.1.4. Conclusões preliminares

A espectroscopia Raman foi uma ferramenta valiosa para a caracterização da superfície do mPDMS obtido pela reação de policondensação. Os mapas de correlação do substrato comparado com o dos precursores indicam a formação de uma rede polimérica homogênea, com reticulação uniforme. Além disto, mPDMS apresentou características moleculares similares no canal e na superfície do polímero. A normalização do espectro foi necessária para propiciar a comparação direta entre espectros, já que a intensidade dos picos Raman varia de acordo com o plano focal do feixe.

É possível afirmar que, nas condições experimentais empregadas, a microfabricação por ablação a laser não modificou ou danificou a superfície do polímero, já que nenhuma modificação foi observada ao se comparar os espectros Raman dentro e fora do microcanal. O mPDMS preparado utilizando 20% e 30% de alcoxissilano apresentou características bastante similares. Foi observado também que RIS pode também ser aplicada para avaliação da topografia da superfície polimérica plotando-se a intensidade do sinal em um dado comprimento de onda como função das coordenadas x e y da amostra.

Para aplicações práticas, os dispositivos aPDMS e mPDMS não apresentaram hidrofobicidade satisfatoriamente diferente em comparação ao PDMS nativo e se tornam de difícil aplicação devido a baixa robustez e dificuldade de selagem após a cura, tanto para outra superfície do mesmo polímero como para o vidro. A utilização do suporte de vidro (lâminas) para a polimerização facilitou o manuseio do mPDMS e propiciou sua caracterização mais detalhada. A ablação a laser é uma técnica viável para a construção de microcanais desde que seja otimizada para se obter canais de espessuras definidas sem a degradação ou modificação do substrato. Em suma, embora o aPDMS e mPDMS tenham se apresentado de difícil aplicação prática em μ TAS, a caracterização por Raman e RIS se mostrou bastante satisfatória e pode ser utilizada para diferentes rotas de modificação envolvendo PDMS e outros precursores, além de poder ser utilizada para análise topográfica do polímero. Além disso, em teoria é possível utilizar o

espectrômetro Raman também como um perfilômetro óptico, já que a intensidade do sinal depende da distância entre o laser e o substrato. Para tal deve ser possível calibrar o foco do laser com relação a distância no eixo z.

5.2. Modificação II: Adição de Tensoativo

A modificação com a adição de Silwet L-77, surfactante a base de etoxilato de trissiloxano, foi investigada utilizando-se a proporção de 0,6% de tensoativo com relação à quantidade do pré-polímero de PDMS, conforme sugerido no trabalho de Yang *et al.* (46). A utilização de quantidades maiores de surfactante ao processo de reticulação do PDMS (1% de Silwett-L77, por exemplo) causa a formação do substrato com uma grande quantidade de bolhas, mesmo submetendo a mistura a vácuo por 30 minutos. Deste modo, a quantidade de surfactante sugerida por Yang et al. foi tida como a condição ótima. O produto formado pela mistura dos componentes do PDMS nativo Sylgard 184 e do surfactante Silwet-L77 está denominado neste texto como sPDMS.

5.2.1. Medidas de WCA

Os valores de WCA para o polímero produzido pela modificação II estão apresentados na Figura 23. Neste caso as medidas de WCA foram efetuadas depositando-se uma gota de 10 μ L água deionizada sobre a superfície do material e anotando-se valores sucessivos de ângulo após o período de tempo determinado no gráfico. Cada gota permanece sobre a superfície até que a quantidade de medidas sucessivas seja realizada. Nota-se o decréscimo no WCA inicial das amostras de sPDMS, principalmente após 5 a 10 minutos de exposição, quando em comparação ao PDMS nativo. Após este período, as amostras seguem o perfil de decréscimo regular, atribuído à variação do WCA causada durante a volatilização da gota depositada.

Após 5 minutos do depósito da gota d'água sobre a superfície do sPDMS, o WCA sofre um decréscimo na faixa de 25%, indicando característica hidrofílica sobre a superfície do polímero. Cerca de 70 minutos após a deposição o WCA observado no sPDMS foi de 30°. Este comportamento pode ser explicado pela interação água/surfactante. A gota depositada sobre a superfície do sPDMS pode ter extraído parte do surfactante presente no interior do polímero, formando assim a mistura água+surfactante, que diminui a tensão superficial do líquido e aumenta a interação água/superfície do sPDMS. Isto aumentaria a molhabilidade naqueles pontos da superfície do sPDMS, diminuindo assim os valores de WCA obtidos.

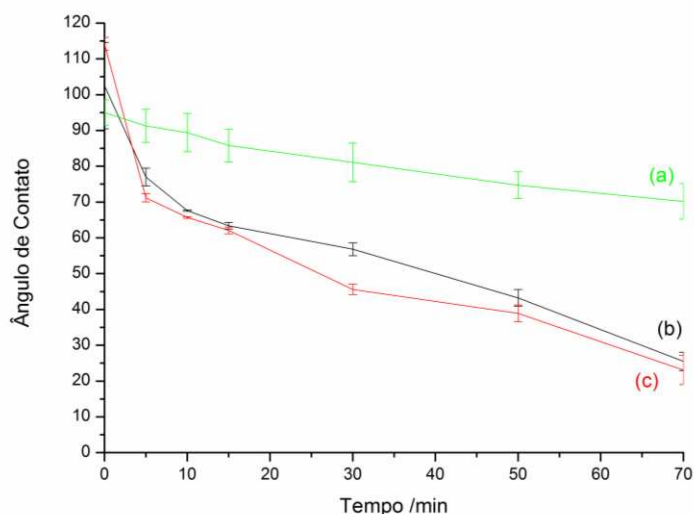


Figura 23 – Medidas de WCA para o PDMS nativo e o sPDMS em função do tempo. A linha (a) representa os valores para o PDMS nativo e as linhas (b) e (c) para duas amostras de sPDMS.

5.2.2. Medidas de EOF

O EOF para os dispositivos construídos com o PDMS nativo e o sPDMS foi avaliado. Para isto, foram preparados dispositivos sobre placa de cobre/fenolite contendo os eletrodos para detecção C^4D , descritos no item 4.7. A fina camada polimérica isolante foi produzida do mesmo polímero que o substrato contendo os microcanais. Isto significa que para o dispositivo com substrato de sPDMS esta

camada é do polímero modificado sPDMS, enquanto que nos dispositivos de PDMS nativo esta camada é produzida apenas com Sylgard 184.

A determinação do EOF foi realizada utilizando-se o método do monitoramento da corrente, conforme indicado no item 4.8.1. A Figura 24 representa o tempo de transição do sinal alto para baixo, aplicando-se um potencial de 2 kV sobre o canal de separação de um dispositivo de sPDMS com eletrodos para detecção $C^{4}D$. Neste caso o canal está preenchido com tampão composto por ácido MES/His 20 mmol L⁻¹. Sobre o reservatório do canal que passa pelos eletrodos é depositado tampão MES/His 5 mmol L⁻¹, e o potencial é aplicado.

A diferença de potencial causa o movimento da solução de menor concentração que, ao alcançar o detector, deve gerar um sinal de menor intensidade, proporcional a sua menor concentração. A utilização do mesmo tampão em diferentes concentrações sugere que o tempo de migração observado é proporcional ao fluxo eletrosmótico (EOF). Na Figura 24 são mostradas 11 injeções consecutivas em um dispositivo sPDMS. O valor de diferença de potencial de cada injeção foi deslocado no eixo y para melhor visualização do comportamento do dispositivo. Deste modo, neste eixo, apenas a transição do estado de sinal mais alto para sinal mais baixo tem significado físico, enquanto o valor numérico do sinal serve de parâmetro para identificar as injeções. A primeira injeção é representada pela curva ao inferior do gráfico, com sinal inicial próximo a -6 V. A última injeção é aquela ao topo do gráfico, com sinal inicial próximo a 23 V. Nota-se que os valores de tempo de transição de sinal aproximam-se de um valor fixo após a série de injeções.

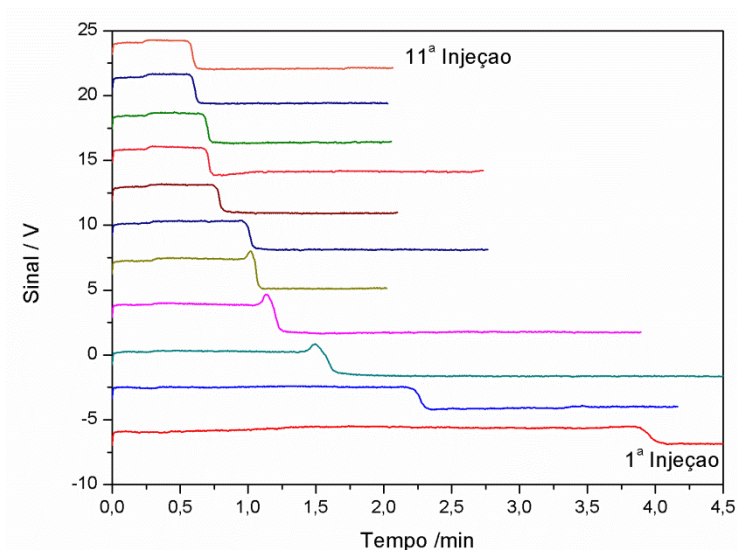
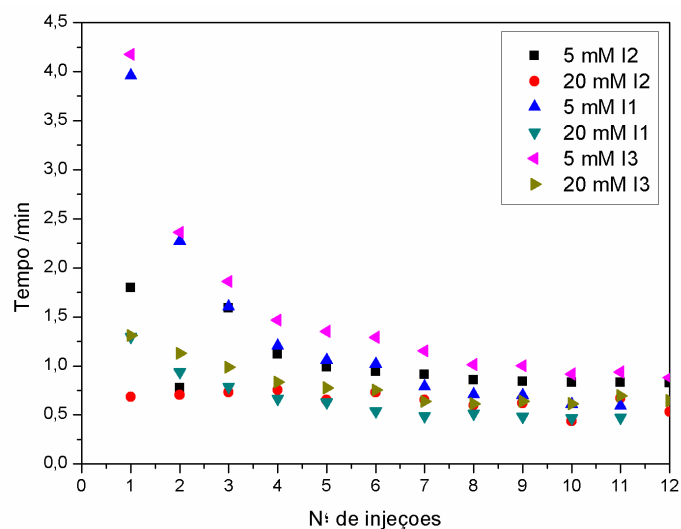
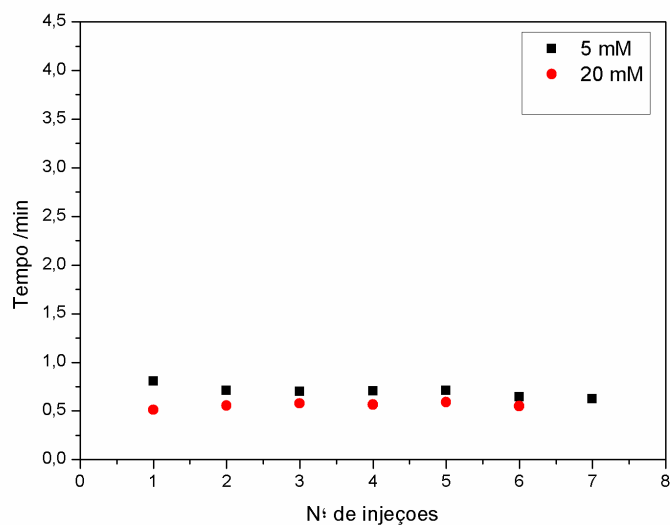


Figura 24 - Tempo de migração de tampão MES/His 5 mmol L⁻¹ em canal contendo tampão MES/His 20 mmol L⁻¹ para diferentes injeções consecutivas em um mesmo dispositivo de sPDMS. Tensão aplicada de 2 kV.

A Figura 25a indica os valores de tempo para três séries de injeções, efetuadas em três dias diferentes, para o mesmo dispositivo de sPDMS. Foram efetuadas injeções de soluções MES/His 5 mmol L⁻¹ em canal preenchido com solução MES/His 20 mmol L⁻¹ em alternância com a injeção de solução MES/His 20 mmol L⁻¹ em canal preenchido com MES/His 5 mmol L⁻¹. A tensão aplicada foi de 2 kV. A legenda dos gráficos em (a) e (b) representa a concentração do tampão MES/His que foi injetado.



(a)



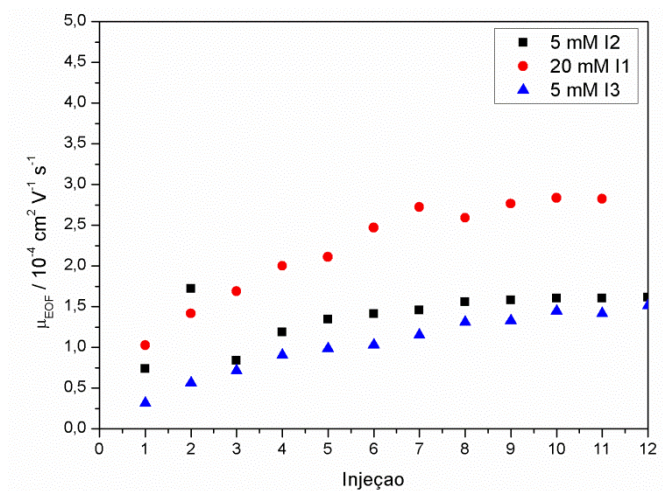
(b)

Figura 25 – Valores de tempo de migração para a injeção de tampão em (a) dispositivo de sPDMS e (b) de PDMS nativo. Tensão aplicada de 2 kV. I1, I2 e I3 representam o primeiro, segundo e terceiro dia respectivamente. A escala em (b) foi mantida para melhor comparação com (a).

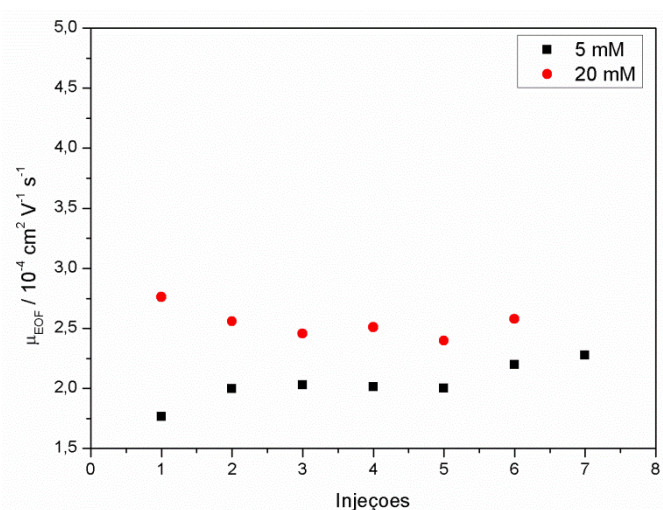
É possível observar a diminuição no tempo de migração da solução tampão com o aumento de injeções (Figuras 24 e 25), até se aproximarem de um valor fixo. A Figura 25a mostra que a tendência ao decréscimo permanece para as

diferentes séries de injeções, apesar das condições ambiente sugerirem diferentes tempos de migração iniciais. As injeções de 5 mmol L⁻¹ e 20 mmol L⁻¹ convergem para valores constantes. A Figura 25b é referente ao mesmo procedimento utilizando o dispositivo de PDMS nativo. Como resultado, foram obtidos tempos de migração próximos de um valor constante, tanto para injeções de 5 mmol L⁻¹ quanto para injeções de 20 mmol L⁻¹, com valores de tempo de 0,7 e 0,6 min, respectivamente.

O dispositivo de sPDMS pode ser comparado aquele fabricado com PDMS nativo em termos do EOF. Inicialmente, o dispositivo de sPDMS apresenta valores de mobilidade do EOF menores que os encontrados para o PDMS nativo (Figura 26). Após cerca de seis injeções, os valores de EOF do dispositivo modificado tendem à estabilização em valores próximos aos obtidos para o PDMS nativo. Para as injeções de tampão MES/His 5 mmol L⁻¹ em canal contendo o mesmo tampão a 20 mmol L⁻¹, os valores de EOF se estabilizam em torno de $1,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$, enquanto que nos dispositivos medidos utilizando injeção de tampão MES/His 20 mmol L⁻¹ em canal preenchido com tampão 5 mmol L⁻¹, o valor se estabiliza próximo a $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Para o PDMS nativo, estes valores são $2 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para a injeção de tampão 5 mmol L⁻¹ e $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para a injeção de tampão 20 mmol L⁻¹. Os valores de mobilidade têm essa discrepância esperada entre as duas diferentes injeções, pois a concentração do tampão que preenche o canal afeta o fluxo eletrosmótico, de modo que para o canal preenchido com concentração 20 mmol L⁻¹ (injeção de 5 mmol L⁻¹) é esperado menor fluxo eletrosmótico. Este efeito é devido à compressão da dupla camada elétrica em maiores concentrações de tampão e, conseqüentemente, ocorre a diminuição do valor do potencial zeta, que é diretamente proporcional ao valor do EOF. Assim, após a estabilização do EOF, deve-se esperar que o dispositivo sPDMS tenha características de fluxo próximas aquelas encontradas nos dispositivos de PDMS nativo. Os valores de EOF obtidos para o PDMS nativo estão de acordo com os valores reportados na literatura (89).



(a)



(b)

Figura 26 – Mobilidade do EOF para dispositivos em (a) sPDMS e (b) PDMS nativo. I1, I2 e I3 representam medidas em diferentes dias. Dados do microdispositivo: $L = 4,5$ cm e $l = 3,55$ cm. Voltagem aplicada de 2 kV.

Em termos práticos, foi observado que o dispositivo de sPDMS apresentou melhor molhabilidade e facilidade para se preencher o canal com o tampão, enquanto que o de PDMS nativo formava bolhas mais facilmente durante a etapa de preenchimento. Houve dificuldade maior também para se obter os dados do PDMS nativo devido à formação de bolhas após a aplicação da tensão de 2 kV

(efeito Joule) e instabilidade do sinal. Estes efeitos foram menos pronunciáveis no dispositivo de sPDMS. Em adição, a Figura 27 sugere que é possível a utilização deste dispositivo para separações práticas, mediante otimização de método específico e utilização do dispositivo após a estabilização do valor de EOF.

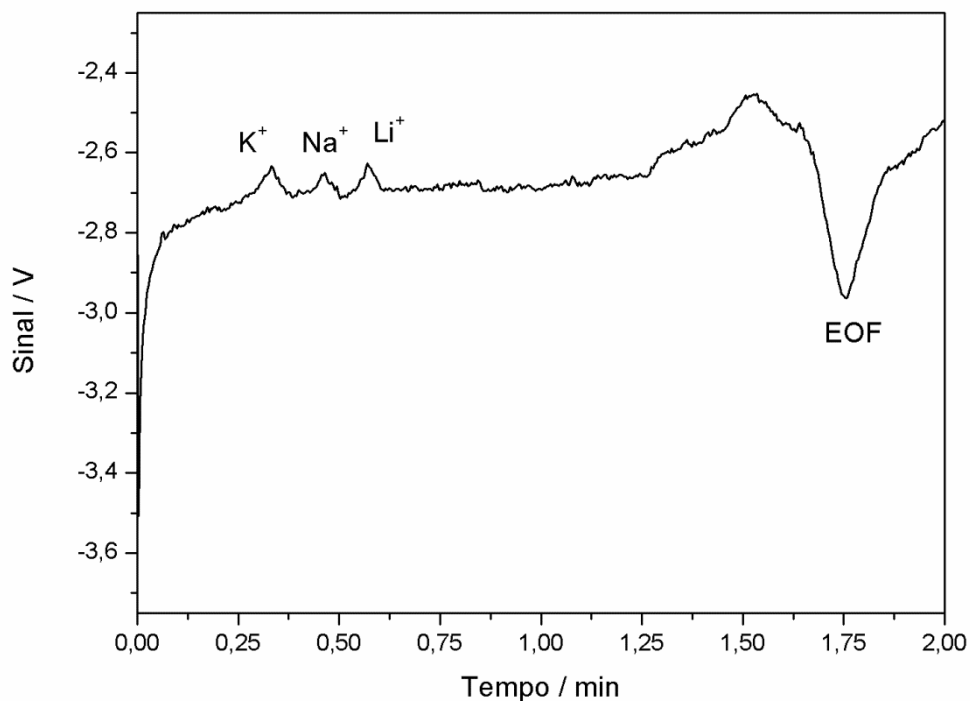


Figura 27 – Eletroferograma da separação de solução $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de K^+ , Na^+ e Li^+ em dispositivo de sPDMS utilizando o tampão MES/His 20 mmol L^{-1} . Potencial de separação de 1 kV.

5.2.3. Conclusões Preliminares

A modificação do PDMS nativo por adição de tensoativo durante o processo de mistura do pré-polímero e reticulante mostrou-se simples e de fácil execução. Quantidades maiores que 0,6% de Silwet L-77 geraram polímeros com bolhas mesmo após a mistura ter sido submetida a vácuo e esta foi adotada como a quantidade ótima a ser utilizada.

O produto sPDMS apresentou características de molhabilidade interessantes. Em um primeiro momento, o WCA apresentado quando em contato com água deionizada teve valores bastante próximos àqueles do PDMS nativo (em torno de 100°). Porém, quando o sPDMS é deixado em contato com o líquido, o WCA diminui e chega a valores próximos a 30°. Isto pode ser atribuído à presença do surfactante na interface sólido/líquido que, ao entrar em contato com a água, é extraído e aumenta a molhabilidade do polímero. Tal propriedade é traduzida na maior facilidade de molhar e preencher os canais de um dispositivo preparado com sPDMS quando em comparação aos dispositivos de PDMS nativo.

As propriedades eletroforéticas do dispositivo de sPDMS são tais que são necessárias corridas iniciais para a estabilização dos valores de tempo e EOF. Estes valores então adotam magnitude próximas aquelas observadas experimentalmente e na literatura para o PDMS nativo ($\mu_{eo} = 2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$). A separação de íons por eletroforese em dispositivos de sPDMS é possível mediante otimização do método e estabilização do EOF inicial.

Como principal ponto positivo desta modificação destaca-se a simplicidade de execução; a manutenção da característica aderente do polímero final, sendo possível sua selagem contra uma variedade de superfícies para a confecção de microdispositivos, como com o vidro ou mesmo o sPDMS; e a facilidade de preenchimento e limpeza dos canais oferecida pela presença de surfactante na estrutura do sPDMS.

5.3. Modificação III: Modificação de superfície por reação de hidrossililação

Nesta modificação, o substrato inicial é o Sylgard-184 já curado, preparado conforme procedimento descrito no item 4.2. Os modificadores testados foram o DVE-PEG, META-PEG e MA-PEG.

5.3.1. Caracterização da modificação de superfície

A reação de modificação da superfície do molde de PDMS via ativação do polímero e posterior adição do derivado de PEG está descrita na Figura 28.

Na Parte 1 da rota de reação proposta, os grupos Si-H são introduzidos na superfície do substrato, por reação de redistribuição, catalisada por H_2SO_4 . Na parte 2 cadeias de PEG são ancoradas na superfície por reação de hidrossililação entre Si-H da superfície e o grupo $\text{CH}=\text{CH}_2$ do PEG. Estas reações foram monitoradas por ATR-FTIR. Os espectros para o PDMS nativo, para o polímero ativado e o produto final são encontrados na Figura 29.

Parte 1:



Parte 2:

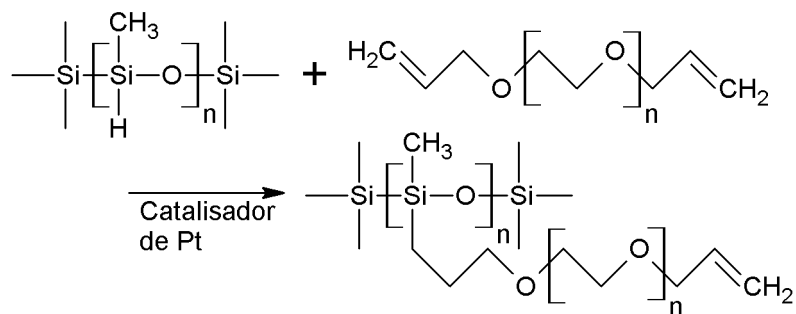


Figura 28 – Adição de derivados de PEG à superfície do molde PDMS. Parte 1 – ativação do PDMS com ligações Si-H. Parte 2 – Adição do PEG à cadeia do PDMS (43).

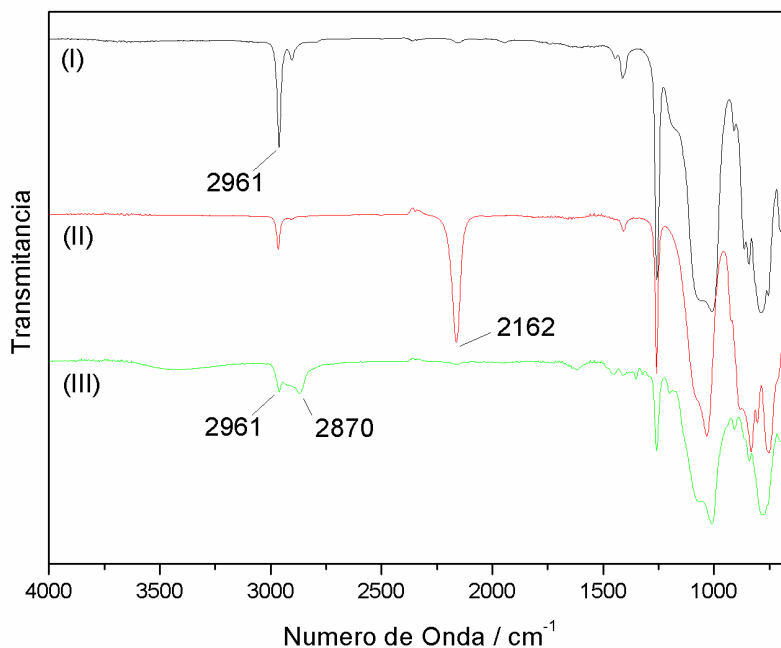


Figura 29 – Espectro de ATR-FTIR para as três etapas de modificação. (I) PDMS nativo; (II) PDMS ativado com ligações Si-H e (III) PDMS modificado com DVE-PEG.

Nesta figura é possível inferir que a reação foi efetuada com sucesso. O espectro (II) apresenta um pico de absorção em 2161 cm^{-1} característico do estiramento da ligação Si-H, comprovando a inserção de grupos $\text{-HSi(CH}_3\text{)-}$ na superfície do molde de PDMS. As absorções entre 2961 e 2870 cm^{-1} estão associadas à presença de CH_2 e CH_3 , na superfície do polímero. O grupo -CH_3 é típico do PDMS, mas absorção de $\text{-CH}_2\text{-}$ está associada ao produto da reação de hidrossililação, com a enxertia de PEG na superfície por uma interface covalente $\text{Si-CH}_2\text{-CH}_2\text{-PEG}$. Deste modo, esta rota de modificação da superfície do molde de PDMS demonstra-se apropriada para a inserção de derivados de PEG, via ligação covalente, à superfície do PDMS nativo.

A Tabela 6 apresenta uma média dos valores do ângulo de contato, efetuado em três amostras diferentes para cada material. Para cada amostra efetuou-se a leitura em 5 pontos diferentes ($n=5$). Dentre os modificadores testados, o melhor resultado foi obtido para o modificador DVE-PEG, com uma diminuição do ângulo de contato de 21% em relação ao PDMS nativo. Por este

motivo, o DEV-PEG foi selecionado para os outros testes com modificadores derivados de PEG. O produto desta modificação de superfície é referido como dPDMS.

Tabela 6 – Valores de ângulo de contato para o PDMS modificado com derivados de PEG.

Modificador	WCA	Referência*	Diminuição do WCA
DVE-PEG	75 ± 4	95 ± 3	21%
META-PEG	90 ± 8	108 ± 7	17%
MA-PEG	89 ± 9	108 ± 7	17%

*PDMS nativo

5.3.2. Rota de reação modificada

Os dados apresentados na Tabela 6 indicam diminuição no ângulo de contato e, portanto, um aumento da hidrofiliabilidade na superfície do polímero. Porém, o processo utilizado até este momento demanda muitas horas (cerca de 60 horas) para a produção do polímero modificado.

Tendo em vista este fato, foi proposta a alteração de alguns parâmetros de reação para otimização do tempo. A reação de ativação da superfície do PDMS foi alterada para 30 minutos sob agitação, utilizando bis(2-metoximetil)éter como solvente, para evitar que o metanol intumescesse o PDMS nativo. O produto da reação foi lavado com o mesmo solvente, levado à estufa por 10 minutos e seco a vácuo por 1 hora. Posteriormente, o polímero foi submetido à segunda reação, já descrita no item 4.5, modificando o tempo para 2 horas, com posterior lavagem e secagem. O fluxograma para a nova rota de modificação está disposto na Figura 30.

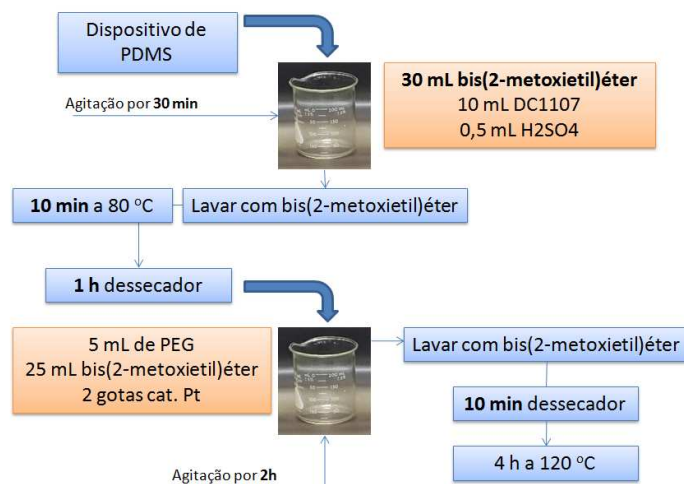


Figura 30 – Fluxograma para a nova rota de modificação de superfície do PDMS nativo com DVE-PEG – Produção do dPDMS.

5.3.3. Avaliação do comportamento do WCA para o dPDMS

A Figura 31 mostra o gráfico de medição do WCA para o dPDMS, armazenado à vácuo e ao ar, para medidas realizadas nos dias após sua fabricação. O WCA obtido no primeiro dia após a fabricação do dPDMS pela nova rota de modificação foi pequeno ao ponto de não ser possível o cálculo pelo software do equipamento, formando um filme de água sobre a superfície polimérica. Isto evidencia a característica altamente hidrofílica do material no primeiro dia após a fabricação, evidenciando que o solvente melhorou o rendimento da reação.

Entretanto, a Figura 31 mostra que o valor ângulo de contato aumenta com o passar dos dias e após 10 dias alcança valores próximos aos obtidos na Tabela 6. De fato, os valores de WCA obtidos no décimo dia não diferem significativamente dos valores encontrados para o PDMS nativo de referência (em torno de 101,5°), evidenciando a restauração da característica hidrofóbica do polímero modificado após este período de tempo. A Figura 31 também sugere que o armazenamento do dispositivo a vácuo e a ar não interfere no comportamento

observado, já que ambas as amostras apresentaram características similares com o passar dos dias. Isto indica que este comportamento não se deve a nenhuma reação entre o dPDMS e os compostos presentes na atmosfera.

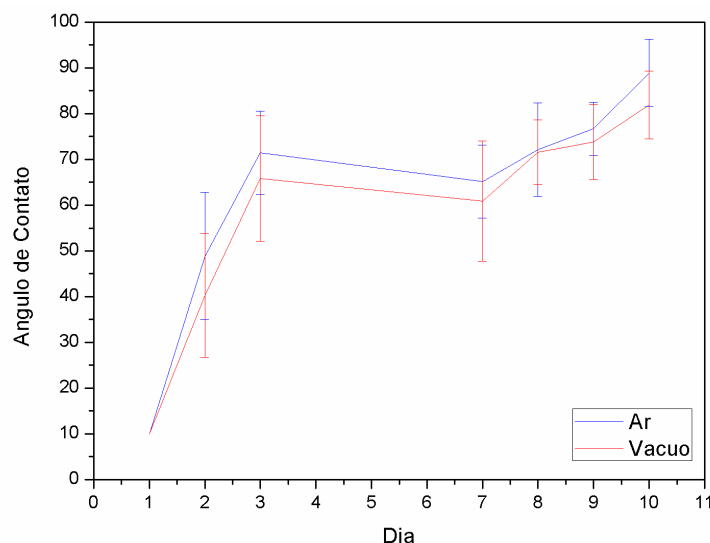


Figura 31 – WCA para o dPDMS produzido pela nova rota de reação versus quantidade de dias após sua preparação. A linha azul indica o polímero armazenado ao ar, enquanto a vermelha ao vácuo.

A literatura descreve o comportamento de recuperação da característica hidrofílica após oxidação da superfície do PDMS nativo com plasma de O_2 (37). Após a oxidação, o PDMS adquire característica hidrofílica por algumas horas, voltando a sua característica hidrofóbica original após determinado período de tempo. Este comportamento é atribuído à migração de cadeias livres de PDMS presentes no *bulk* do material, que não sofreram reticulação, para a superfície do molde. Deste modo, com o tempo, as cadeias predominantes na superfície do polímero voltam a ser aquelas do PDMS nativo e perde-se a característica hidrofílica concedida pela oxidação da superfície. O comportamento apresentado pela Figura 31 poderia ser explicado com base na mesma teoria. Para analisar a veracidade desta suposição, o PDMS nativo foi submetido a uma rota de extração

proposta por Vickers et al. (16). Nesta referência, o PDMS extraído apresentou característica hidrofílica constante após sete dias da extração.

Após a rota de extração, foi obtido $e_{PDMS} = 4,7\%$. A Figura 32 mostra o valor do WCA para o dPDMS em função dos dias após sua fabricação. As linhas azul e preta representam o dPDMS produzido a partir do PDMS nativo e são exatamente aquelas apresentadas na Figura 31. As linhas verde e vermelha representam o dPDMS produzido a partir do PDMS nativo após a extração descrita acima. O comportamento apresentado pela amostra produzida a partir do PDMS extraído (dPDMS-E) é bastante similar aquele discutido anteriormente para o dPDMS, produzido a partir apenas do PDMS nativo. O dPDMS-E também apresenta valores de WCA que aumentam com o passar dos dias até alcançar valor bastante próximo aquele apresentado pelo PDMS nativo referência (em torno de $101,5^\circ$). Isto indica que o processo de extração não foi eficiente para aumentar significativamente o tempo que o substrato permanece com propriedade hidrofílica.

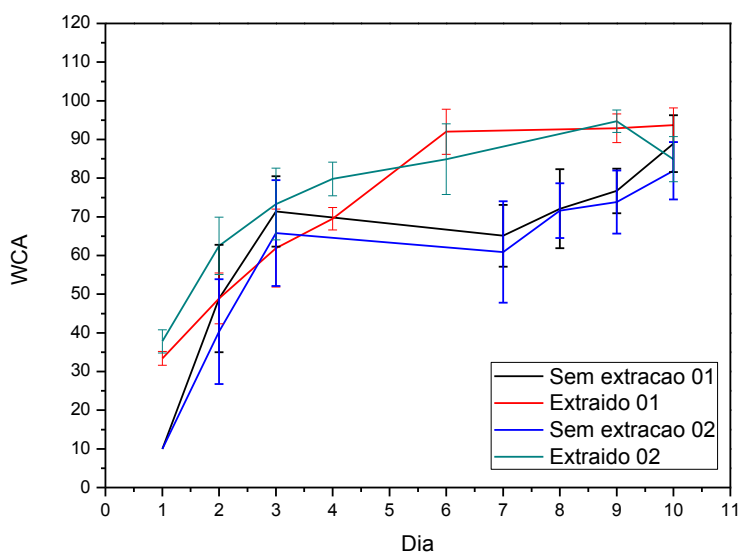


Figura 32 – WCA para o dPDMS em função dos dias. Comparação entre o dPDMS produzido a partir do PDMS nativo e o produzido a partir do PDMS nativo extraído.

Pode-se comparar o comportamento do WCA para o dPDMS-E com o comportamento do WCA para o PDMS nativo e o PDMS nativo extraído medidos após a exposição de 15 s em plasma de O_2 . O comportamento do WCA é ilustrado pela Figura 33. As medidas foram realizadas depositando-se novas alíquotas de 10 μ L de água deionizada em intervalos de 15 minutos para ambos os polímeros. Todos os valores foram obtidos após o total de cinco medidas ($n=5$). Observa-se que o PDMS nativo oxidado tem valor inicial de WCA menor que o PDMS extraído e oxidado, e que ambos apresentam valores crescentes após a medida inicial ($t = 0$), comportamento contrário aquele esperado após a análise da literatura (16). No trabalho de Vickers et al., o PDMS extraído permanece com a porcentagem de SiO_2 na superfície do polímero acima de 80% sete dias após a oxidação e, deste modo, deveria apresentar características mais hidrofílicas que o PDMS nativo durante todo este período. Os valores de WCA obtidos neste trabalho foram de $75 \pm 6^\circ$ para o PDMS nativo e $82 \pm 3^\circ$ para o PDMS extraído, sete dias após a oxidação. Isto pode ser devido ao tempo de exposição ao plasma, que segundo os autores preferencialmente deve ser maior que 60 s, e também à possível oxidação não efetiva da superfície durante o processo.

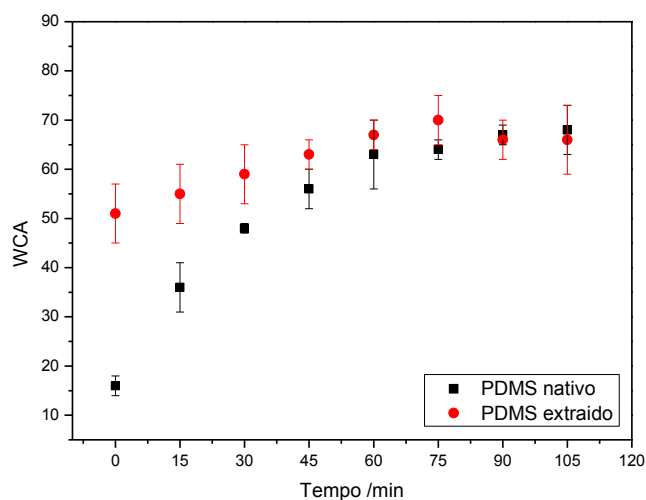


Figura 33 – Valores de WCA para o PDMS nativo e o PDMS extraído após 15s de oxidação com plasma de O_2 .

Não foi possível comparar os dados obtidos com os dados relatados na literatura para a extração do PDMS nativo e posterior oxidação da superfície. Ainda sim, referente aos substratos que não foram submetidos ao processo de extração, o dPDMS apresenta comportamento de retorno à característica hidrofóbica mais lento que o PDMS nativo tratado com plasma de O_2 . O dPDMS leva cerca de três dias para alcançar valores de WCA próximos a 70° , enquanto o PDMS nativo tratado com plasma alcança estes valores cerca de 1 hora após a oxidação. Deste modo, o dPDMS pode ser utilizado para a fabricação de dispositivos com característica hidrofílica mais duradoura que aqueles feitos a partir da oxidação em plasma de O_2 do PDMS nativo.

5.3.4. Medidas de EOF

Para as medidas de EOF com dispositivos de dPDMS foi utilizado o mesmo aparato experimental utilizado em 5.2.2, isto é, os dispositivos com base em cobre/fenolite contendo 2 eletrodos espaçados entre si para detecção C^4D . Neste caso específico, não foi possível realizar a medida fazendo a modificação também sobre o filme fino polimérico depositado sobre a placa de cobre/fenolite, pois a imersão deste conjunto no solvente utilizado para a modificação de superfície causa o desprendimento da camada fina de PDMS, o que impossibilitaria a selagem do dispositivo. Além disto, após a modificação de superfície, o dPDMS perde a capacidade de aderir à camada fina de PDMS por meio de selagem reversível. A estratégia utilizada foi a selagem irreversível proporcionada após a oxidação da superfície do dPDMS em plasma de O_2 . Deste modo, tanto a superfície de dPDMS quanto a placa de cobre/fenolite foram expostas ao plasma de O_2 durante 15 segundos e postas em contato para selagem irreversível. Neste caso específico, os dispositivos ficaram compostos por três camadas, seladas irreversivelmente: (1) placa de cobre/fenolite contendo os eletrodos utilizados para a detecção; (2) fina camada polimérica de PDMS nativo; (3) camada de dPDMS

com os microcanais. Este dispositivo tem o mesmo formato e dimensões que aquele representado na Figura 11. O dPDMS utilizado foi o não extraído.

O método utilizado para medir o EOF aplicado no item 5.2.2 mostrou-se inadequado para este tipo de dispositivo, pois os resultados obtidos apresentaram-se de difícil determinação do ponto onde ocorre a transição do sinal de maior valor para o de menor valor. A Figura 34 exemplifica os resultados obtidos após a aplicação de tampão MES/His 5 mmol L⁻¹ em canal preenchido com tampão MES/His 20 mmol L⁻¹, com potencial aplicado de 2 kV. As consecutivas injeções apresentam o mesmo comportamento, ou seja, a transição ocorre na mesma faixa de tempo. Entretanto, devido ao efeito de *stacking*, o sinal apresenta a formação de um pico antes da queda de sinal característica para essa medida. Deste modo, a determinação do ponto de transição é prejudicada mesmo aplicando a derivada sobre a curva. Por este motivo o EOF foi medido e analisado pelo método da injeção de plug de amostra.

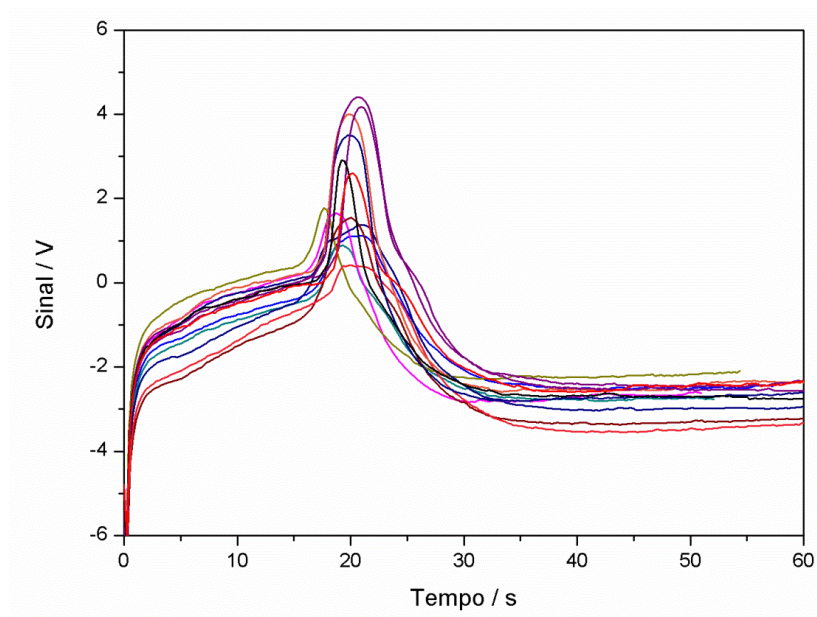
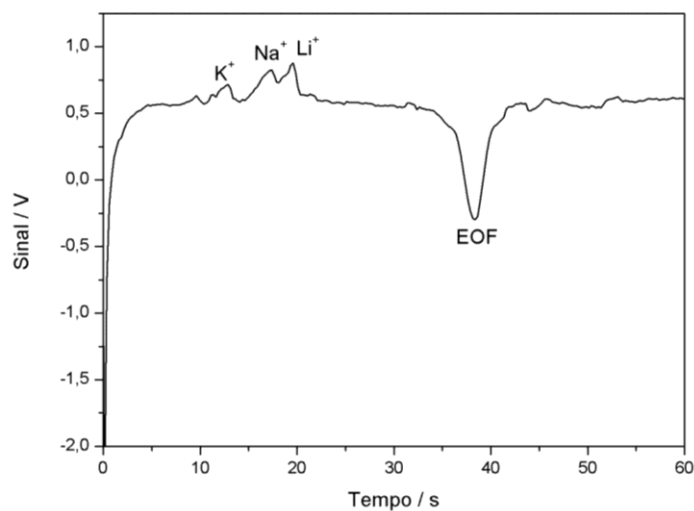
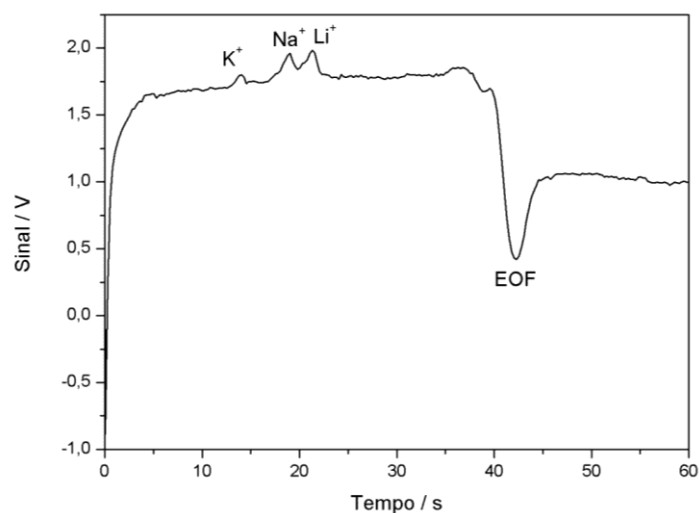


Figura 34 – Tempo de migração de tampão MES/His 5 mmol L⁻¹ em canal contendo tampão MES/His 20 mmol L⁻¹ para diferentes injeções consecutivas em um mesmo dispositivo de dPDMS. Tensão aplicada de 2 kV.

A Figura 35 representa dois eletroferogramas obtidos em dois dias diferentes utilizando o mesmo dispositivo de dPDMS sob as mesmas condições descritas para o método determinação de EOF por injeção de plugs de amostra. A Figura 35a representa o eletroferograma obtido sete dias após a reação de modificação de superfície, enquanto a Figura 35b representa o eletroferograma obtido nove dias após a reação de modificação de superfície.



(a)



(b)

Figura 35 – Eletroferograma da separação de solução $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ de K^+ , Na^+ e Li^+ em dispositivo de dPDMS utilizando tampão MES/His 20 mmol L^{-1} . Injeção em cruz. Potencial de separação de 1 kV.

Nesta figura é possível observar que o tempo de migração do EOF não varia do sétimo para o nono dia após a reação de adição de PEG à superfície do PDMS nativo. Não foram obtidos picos de separação com grande intensidade ou resolução para a separação dos cátions sódio, lítio e potássio e, para tanto, a otimização do método seria necessária. Entretanto, foram obtidos resultados bastante similares nos dois dias, com tempos de migração reprodutíveis para todas as espécies. Além disso, o tempo de corrida utilizando-se a tensão de separação de 1 kV foi inferior a 1 minuto. O tempo médio de migração do plug de amostra e a mobilidade do EOF foram calculados com base nos dados obtidos nas corridas feitas nos sétimo e nono dias após a reação de modificação (Tabela 7).

Tabela 7 – Dados de EOF para o dispositivo de dPDMS. Injeções realizadas sete e nove dias após a reação de modificação. $L = 4,6$ cm e $\ell = 3,0$ cm.

Número de injeções	Tempo de migração do plug / s		Mobilidade Eletroforética / $10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$	
	Sétimo dia	Nono dia	Sétimo dia	Nono dia
1	37,59	35,19	3,67	3,92
2	36,51	36,65	3,78	3,76
3	37,11	36,28	3,72	3,80
4	37,59	39,15	3,67	3,53
5	38,47	37,25	3,59	3,70
6	38,38	40,96	3,60	3,34
7	38,93	39,82	3,55	3,46
8	-	42,31		3,26
9	-	39,17		3,52
Média	37,8	39	3,7	3,6
s	0,8	2	0,1	0,2

*onde s = estimativa do desvio padrão.

Os valores de EOF para o dispositivo, no nível de 95% de confiança, são de $(3,7 \pm 0,1) \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para as medidas no sétimo dia e $(3,6 \pm 0,2) \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para as medidas no nono dia e não diferem significativamente entre si.

5.3.5. Conclusões Preliminares

A rota de reação proposta se mostrou eficiente para a modificação de superfície do PDMS nativo com a adição de derivados de PEG, especialmente para o DVE-PEG, modificador que apresentou os melhores resultados experimentais iniciais em respeito à hidrofiliidade e foi adotado para os experimentos posteriores.

A rota de reação modificada, com tempos reduzidos, produziu modificação satisfatória e houve a obtenção do dPDMS, com a formação de filme de H₂O no primeiro dia após a modificação. Esta modificação, entretanto, apresentou a característica de retomar a propriedade hidrofóbica com o decorrer dos dias após a modificação da superfície do PDMS. A extração de cadeias livres presentes no *bulk* do dPDMS não foi satisfatória para a manutenção da característica hidrofílica e, portanto, para esta modificação não foram obtidos resultados similares aqueles da extração do PDMS antes de sofrer oxidação via plasma de CO₂.

As medidas de EOF foram realizadas utilizando-se o método de injeção de plug de amostra devido à dificuldade de tratamento dos dados obtidos pelo método que utiliza o mesmo tampão em concentrações diferentes no microcanal. Os resultados obtidos foram satisfatórios e os valores de EOF foram reprodutíveis em ambos os dias em que o dispositivo foi testado. Além disso, o valor de EOF obtido foi de aproximadamente $3,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$, maior que aquele encontrado neste trabalho e nas referências para o PDMS nativo (em torno de $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$), levando a separações de menos de 1 minuto para os cátions sódio, lítio e potássio com potencial de separação de 1 kV. A utilização do dispositivo de dPDMS para a obtenção de eletroferogramas é possível e os métodos devem ser estudados para resultados ótimos.

Do ponto de vista prático, é necessária a selagem irreversível por exposição a plasma de O₂ e, portanto, a placa de cobre/fenolite não pode ser facilmente reaproveitada como no caso da modificação com surfactante, o que não é um problema devido ao baixo custo do material.

Tentou-se ainda realizar a reação de modificação no interior do microcanal, mas esta não foi possível devido à formação de pequenas incrustações que obstruem o canal, durante a primeira parte da modificação. Além disso, as dimensões pequenas do canal (65x15 μm) dificultam o preenchimento do mesmo com a solução contendo poli(metilsiloxano), de viscosidade alta. A possível solução para estes problemas seria a utilização de canais mais largos e tempo de reação menor, ou ainda, a aplicação em fluxo de solvente no interior do canal para evitar a formação dessas incrustações.

6. Conclusões Gerais

Nas modificações inicialmente propostas, a obtenção de substratos por reticulação do PDMS com organossilanos MPTMS e APTS não levaram a bons resultados na obtenção de microchips devido a baixa robustez e dificuldade de selagem após a cura. A diminuição da hidrofobicidade da superfície mostrou-se insatisfatória devido à oclusão dos grupos de interesse no *bulk* do polímero obtido. Entretanto, os resultados da espectroscopia Raman e RIS propiciaram a avaliação da rota de reação, do grau de homogeneidade da superfície do mPDMS, da topografia do dispositivo e dos efeitos causados pelas condições de ablação a laser deste trabalho. Estes resultados evidenciam a técnica como satisfatória para a avaliação destas características do substrato.

As modificações da superfície dos moldes pela introdução de derivados de PEG e o procedimento da obtenção do substrato de PDMS contendo o surfactante a base de etoxilato de trissiloxano disperso apresentaram resultados mais promissores. O sPDMS pode ser facilmente obtido adicionando-se o tensoativo na etapa de mistura dos componentes do PDMS nativo, pode ser selado contra outro substrato de sPDMS ou vidro, tem baixo custo e apresenta melhor molhabilidade do canal, formando menos bolhas neste processo quando comparado ao PDMS nativo. Tem como principal desvantagem o fato de necessitar de injeções preliminares para estabilização do fluxo eletrosmótico, cujo valor fica em torno de $2,5 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1}$.

O dPDMS apresentou os melhores resultado em termos de hidrofiliidade e estabilidade do EOF. Em termos de aplicação prática, exige uma etapa a mais de preparação que o sPDMS, mas apresenta melhor molhabilidade e menor geração de bolhas. A necessidade de selagem irreversível não aumenta significativamente o custo do dispositivo. A modificação de superfície pôde ser monitorada via espectroscopia no infravermelho. O dispositivo tem como característica principal o valor de mobilidade do EOF em $3,6 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

A separação de cátions sódio, lítio e potássio pôde ser obtida nos dispositivos sPDMS e dPDMS e sugere que com a otimização do método melhores eletroferogramas podem ser obtidos. A detecção C^4D foi satisfatória no monitoramento das propriedades do EOF em ambos os casos. Para todas as modificações estudadas, as medidas de WCA foram de fundamental importância para o estudo da hidrofobicidade do substrato.

Sugestões de trabalhos futuros incluem o estudo do dPDMS para manutenção da propriedade hidrofílica inicial, a modificação com DVE-PEG no interior do canal para diminuir a utilização de reagentes no processo, estudos para melhorar a estabilidade dos materiais modificados, o estudo de outras modificações de superfície por RIS, e a utilização da espectroscopia Raman para determinação das dimensões do canal.

7. Referências Bibliográficas

1. Auroux, P. A., Iossifidis, D., Reyes, D. R., and Manz, A. (2002) Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications, *Analytical Chemistry* 74, 2637-2652.
2. Reyes, D. R., Iossifidis, D., Auroux, P. A., and Manz, A. (2002) Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology, *Analytical Chemistry* 74, 2623-2636.
3. Vilkner, T., Janasek, D., and Manz, A. (2004) Micro total analysis systems. Recent developments, *Analytical Chemistry* 76, 3373-3385.
4. Madou, M. J. (2002) *Fundamentals of Microfabrication*, 2nd ed., CRC Press, New York.
5. Coltro, W. K. T., Piccin, E., Carrilho, E., Jesus, D. P. d., Silva, J. A. F. d., Silva, H. D. T. d., and Lago, C. L. d. (2007) Microsistemas de análises químicas: introdução, tecnologias de fabricação, instrumentação e aplicações, *Química Nova* 30, 1986-2000.
6. Martinez, A. W., Phillips, S. T., Whitesides, G. M., and Carrilho, E. (2009) Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices, *Analytical Chemistry* 82, 3-10.
7. Kim, E., Xia, Y., and Whitesides, G. M. (1995) Polymer microstructures formed by moulding in capillaries, *Nature* 376, 581-584.
8. Kim, H. T., and Jeong, O. C. (2011) PDMS surface modification using atmospheric pressure plasma, *Microelectronic Engineering* 88, 2281-2285.
9. Effenhauser, C. S., Bruin, G. J. M., Paulus, A., and Ehrat, M. (1997) Integrated Capillary Electrophoresis on Flexible Silicone Microdevices: Analysis of DNA Restriction Fragments and Detection of Single DNA Molecules on Microchips, *Analytical Chemistry* 69, 3451-3457.
10. Duffy, D. C., McDonald, J. C., Schueller, O. J. A., and Whitesides, G. M. (1998) Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane), *Analytical Chemistry* 70, 4974-4984.
11. Qiu, J., Hu, P., and Liang, R. (2007) Separation and simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid on a dynamically modified poly(dimethylsiloxane) microchip, *Analytical Sciences* 23, 1409-1414.
12. Arora, A., Simone, G., Salieb-Beugelaar, G. B., Kim, J. T., and Manz, A. (2010) Latest Developments in Micro Total Analysis Systems, *Analytical Chemistry* 82, 4830-4847.
13. Makamba, H., Kim, J. H., Lim, K., Park, N., and Hahn, J. H. (2003) Surface modification of poly(dimethylsiloxane) microchannels, *Electrophoresis* 24, 3607-3619.
14. Zhou, J., Ellis, A. V., and Voelcker, N. H. (2010) Poly(dimethylsiloxane) Surface Modification by Plasma Treatment for DNA Hybridization Applications, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 10, 7266-7270.
15. Pinto, S., Alves, P., Matos, C. M., Santos, A. C., Rodrigues, L. R., Teixeira, J. A., and Gil, M. H. (2010) Poly(dimethyl siloxane) surface modification by

- low pressure plasma to improve its characteristics towards biomedical applications, *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 81, 20-26.
16. Vickers, J. A., Caulum, M. M., and Henry, C. S. (2006) Generation of hydrophilic poly(dimethylsiloxane) for high-performance microchip electrophoresis, *Analytical Chemistry* 78, 7446-7452.
 17. Ma, K., Rivera, J., Hirasaki, G. J., and Biswal, S. L. (2011) Wettability control and patterning of PDMS using UV-ozone and water immersion, *Journal of Colloid and Interface Science* 363, 371-378.
 18. Yamamoto, T. (2011) Study on 172-nm vacuum ultraviolet light surface modifications of polydimethylsiloxane for micro/nanofluidic applications, *Surface and Interface Analysis* 43, 1271-1276.
 19. Anand, V., Ghosh, S., Ghosh, M., Rao, G. M., Railkar, R., and Dighe, R. R. (2011) Surface modification of PDMS using atmospheric glow discharge polymerization of tetrafluoroethane for immobilization of biomolecules, *Applied Surface Science* 257, 8378-8384.
 20. Chen, H.-Y., McClelland, A. A., Chen, Z., and Lahann, J. (2008) Solventless Adhesive Bonding Using Reactive Polymer Coatings, *Analytical Chemistry* 80, 4119-4124.
 21. Xu, J., and Gleason, K. K. (2010) Conformal, Amine-Functionalized Thin Films by Initiated Chemical Vapor Deposition (iCVD) for Hydrolytically Stable Microfluidic Devices, *Chemistry of Materials* 22, 1732-1738.
 22. Huszank, R., Szikra, D., Simon, A., Szilasi, S. Z., and Nagy, I. P. (2011) (4)He(+) Ion Beam Irradiation Induced Modification of Poly(dimethylsiloxane). Characterization by Infrared Spectroscopy and Ion Beam Analytical Techniques, *Langmuir* 27, 3842-3848.
 23. Kang, D.-W., Kuk, I.-S., Jung, C.-H., Hwang, I.-T., Choi, J.-H., Nho, Y.-C., Mun, S., and Lee, Y.-M. (2011) Electron Beam-Induced Modification of Poly(dimethyl siloxane), *Polymer-Korea* 35, 157-160.
 24. Schmolke, H., Demming, S., Edlich, A., Magdanz, V., Buettgenbach, S., Franco-Lara, E., Krull, R., and Klages, C.-P. (2010) Polyelectrolyte multilayer surface functionalization of poly(dimethylsiloxane) (PDMS) for reduction of yeast cell adhesion in microfluidic devices, *Biomicrofluidics* 4.
 25. Xiao, Y., Wang, K., Yu, X.-D., Xu, J.-J., and Chen, H.-Y. (2007) Separation of aminophenol isomers in polyelectrolyte multilayers modified PDMS microchip, *Talanta* 72, 1316-1321.
 26. Boonsong, K., Caulum, M. M., Dressen, B. M., Chailapakul, O., Crokek, D. M., and Henry, C. S. (2008) Influence of polymer structure on electroosmotic flow and separation efficiency in successive multiple ionic layer coatings for microchip electrophoresis, *Electrophoresis* 29, 3128-3134.
 27. Abate, A. R., Lee, D., Do, T., Holtze, C., and Weitz, D. A. (2008) Glass coating for PDMS microfluidic channels by sol-gel methods, *Lab on a Chip* 8, 516-518.
 28. Cortecchia, E., Pacilli, A., Pasquinelli, G., and Scandola, M. (2010) Biocompatible Two-Layer Tantalum/Titania-Polymer Hybrid Coating, *Biomacromolecules* 11, 2446-2453.

29. Roman, G. T., and Culbertson, C. T. (2006) Surface engineering of poly(dimethylsiloxane) microfluidic devices using transition metal sol-gel chemistry, *Langmuir* 22, 4445-4451.
30. Suzuki, Y., Yamada, M., and Seki, M. (2010) Sol-gel based fabrication of hybrid microfluidic devices composed of PDMS and thermoplastic substrates, *Sensors and Actuators B: Chemical* 148, 323-329.
31. Sui, G., Wang, J., Lee, C.-C., Lu, W., Lee, S. P., Leyton, J. V., Wu, A. M., and Tseng, H.-R. (2006) Solution-Phase Surface Modification in Intact Poly(dimethylsiloxane) Microfluidic Channels, *Analytical Chemistry* 78, 5543-5551.
32. Deepak, K. L. N., Rao, S. V., and Rao, D. N. (2010) Femtosecond laser-fabricated microstructures in bulk poly(methylmethacrylate) and poly(dimethylsiloxane) at 800 nm towards lab-on-a-chip applications, *Pramana-Journal of Physics* 75, 1221-1232.
33. Fan, D.-H., Yuan, S.-W., and Shen, Y.-M. (2010) Surface modification with BSA blocking based on in situ synthesized gold nanoparticles in poly(dimethylsiloxane) microchip, *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* 75, 608-611.
34. Garcia, C. D., Dressen, B. M., Henderson, A., and Henry, C. S. (2005) Comparison of surfactants for dynamic surface modification of poly(dimethylsiloxane) microchips, *Electrophoresis* 26, 703-709.
35. Cortese, G., Martina, F., Vasapollo, G., Cingolani, R., Gigli, G., and Ciccarella, G. (2010) Modification of micro-channel filling flow by poly(dimethylsiloxane) surface functionalization with fluorine—Substituted aminonaphthols, *Journal of Fluorine Chemistry* 131, 357-363.
36. Séguin, C., McLachlan, J. M., Norton, P. R., and Lagugné-Labarthet, F. (2010) Surface modification of poly(dimethylsiloxane) for microfluidic assay applications, *Applied Surface Science* 256, 2524-2531.
37. Bodas, D., and Khan-Malek, C. (2007) Hydrophilization and hydrophobic recovery of PDMS by oxygen plasma and chemical treatment—An SEM investigation, *Sensors and Actuators B: Chemical* 123, 368-373.
38. Riche, C. T., Marin, B. C., Malmstadt, N., and Gupta, M. (2011) Vapor deposition of cross-linked fluoropolymer barrier coatings onto pre-assembled microfluidic devices, *Lab on a Chip* 11, 3049-3052.
39. Zhou, J., Khodakov, D. A., Ellis, A. V., and Voelcker, N. H. (2012) Surface modification for PDMS-based microfluidic devices, *Electrophoresis* 33, 89-104.
40. Bauer, W.-A. C., Fischlechner, M., Abell, C., and Huck, W. T. S. (2010) Hydrophilic PDMS microchannels for high-throughput formation of oil-in-water microdroplets and water-in-oil-in-water double emulsions, *Lab on a Chip* 10, 1814-1819.
41. Kuo, W. H., Wang, M. J., Chien, H. W., Wei, T. C., Lee, C., and Tsai, W. B. (2011) Surface Modification with Poly(sulfobetaine methacrylate-co-acrylic acid) To Reduce Fibrinogen Adsorption, Platelet Adhesion, and Plasma Coagulation, *Biomacromolecules* 12, 4348-4356.

42. Morais, E. A. d. (2002) Incorporação de Er em SnO₂ obtido via sol-gel: uma análise de xerogéis e filmes finos, In *Ciência e Engenharia dos Materiais*, Universidade de São Paulo, São Carlos.
43. Chen, H., Brook, M. A., Sheardown, H. D., Chen, Y., and Klenkler, B. (2005) Generic Bioaffinity Silicone Surfaces, *Bioconjugate Chemistry* 17, 21-28.
44. Zhou, J., Ellis, A. V., and Voelcker, N. H. (2010) Recent developments in PDMS surface modification for microfluidic devices, *Electrophoresis* 31, 2-16.
45. Youssouf Badal, M., Wong, M., Chiem, N., Salimi-Moosavi, H., and Harrison, D. J. (2002) Protein separation and surfactant control of electroosmotic flow in poly(dimethylsiloxane)-coated capillaries and microchips, *Journal of Chromatography A* 947, 277-286.
46. Yang, W., Nam, Y. G., Lee, B.-K., Han, K., Kwon, T. H., and Kim, D. S. (2010) Fabrication of a Hydrophilic Poly(dimethylsiloxane) Microporous Structure and Its Application to Portable Microfluidic Pump, *Japanese Journal of Applied Physics* 49.
47. Wu, Z., and Hjort, K. (2009) Surface modification of PDMS by gradient-induced migration of embedded Pluronic, *Lab on a Chip* 9, 1500-1503.
48. Luo, Y. Q., Huang, B., Wu, H., and Zare, R. N. (2006) Controlling electroosmotic flow in poly(dimethylsiloxane) separation channels by means of prepolymer additives, *Analytical Chemistry* 78, 4588-4592.
49. Ren, X. Q., Bachman, M., Sims, C., Li, G. P., and Allbritton, N. (2001) Electroosmotic properties of microfluidic channels composed of poly(dimethylsiloxane), *Journal of Chromatography B* 762, 117-125.
50. Jayes, L., Hard, A. P., Séné, C., Parker, S. F., and Jayasooriya, U. A. (2003) Vibrational Spectroscopic Analysis of Silicones: A Fourier Transform-Raman and Inelastic Neutron Scattering Investigation, *Analytical Chemistry* 75, 742-746.
51. Chakradhar, R. P. S., Kumar, V. D., Rao, J. L., and Basu, B. J. (2011) Fabrication of superhydrophobic surfaces based on ZnO-PDMS nanocomposite coatings and study of its wetting behaviour, *Applied Surface Science* 257, 8569-8575.
52. Bodas, D., Rauch, J.-Y., and Khan-Malek, C. (2011) Creation of a stable hydrophilic poly(dimethyl siloxane) surface by the plasma-induced crosslinking of monomers, *Journal of Applied Polymer Science* 120, 1426-1430.
53. Madhurima, V., Purkayastha, D. D., and Rao, N. V. S. (2011) Wettability, FTIR and dielectric studies of 1,4-dioxane and water system, *Journal of Colloid and Interface Science* 357, 229-233.
54. Gould, R. F. (1964) *Advances in Chemistry Series*, Los Angeles.
55. Young, T. (1805) An Essay on the Cohesion of Fluids, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 95, 65-87.
56. Marshall, S. J., Bayne, S. C., Baier, R., Tomsia, A. P., and Marshall, G. W. (2010) A review of adhesion science, *Dental Materials* 26, e11-e16.
57. Tseng, S.-F., Hsiao, W.-T., Chen, M.-F., Huang, K.-C., Hsiao, S.-Y., Lin, Y.-S., and Chou, C.-P. (2010) Surface wettability of silicon substrates

- enhanced by laser ablation, *Applied Physics A: Materials Science & Processing* 101, 303-308.
58. <http://www.accudynetest.com>. (2009) Critical Surface Tension and Contact Angle with Water for Various Polymers.
 59. Liu, X., Wu, D., Turgman-Cohen, S., Genzer, J., Theyson, T. W., and Rojas, O. J. (2010) Adsorption of a Nonionic Symmetric Triblock Copolymer on Surfaces with Different Hydrophobicity, *Langmuir* 26, 9565-9574.
 60. Adamson, A. W., and Gast, A. P. (1997) *Physical Chemistry of Surfaces*, Sixth Edition ed., John Wiley & Sons, Inc.
 61. Baker, D. R. (1995) *Capillary electrophoresis*, Wiley-Interscience.
 62. Weinberger, R. (1993) *Practical capillary electrophoresis*, Academic Press Inc.
 63. Sacré, P.-Y., Deconinck, E., Saerens, L., De Beer, T., Courselle, P., Vancauwenberghe, R., Chiap, P., Crommen, J., and De Beer, J. O. (2011) Detection of counterfeit Viagra® by Raman microspectroscopy imaging and multivariate analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 56, 454-461.
 64. Zieba-Palus, J., Michalska, A., and Weselucha-Birczynska, A. (2011) Characterisation of paint samples by infrared and Raman spectroscopy for criminalistic purposes, *J. Mol. Struct.* 993, 134-141.
 65. Sala, O. (1996) *Fundamentos de espectroscopia Raman e no infravermelho*, Editora da Universidade Estadual Paulista.
 66. Amigo, J. M., Cruz, J., Bautista, M., MasPOCH, S., Coello, J., and Blanco, M. (2008) Study of pharmaceutical samples by NIR chemical-image and multivariate analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27, 696-713.
 67. Gabriele, R. (2005) Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications, *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1109-1143.
 68. Campos, R. P. S. d., Yoshida, I. V. P., Breitzkreitz, M. C., Poppi, R. J., and Silva, J. A. F. d. (2011) Raman Imaging Spectroscopic characterization of modified Poly(dimethylsiloxane) for micro total analysis systems applications, Universidade de Campinas, Campinas.
 69. Furuyama, N., Hasegawa, S., Hamaura, T., Yada, S., Nakagami, H., Yonemochi, E., and Terada, K. (2008) Evaluation of solid dispersions on a molecular level by the Raman mapping technique, *International Journal of Pharmaceutics* 361, 12-18.
 70. Strachan, C. J., Windbergs, M., and Offerhaus, H. L. (2011) Pharmaceutical applications of non-linear imaging, *International Journal of Pharmaceutics* 417, 163-172.
 71. Gordon, K. C., and McGoverin, C. M. (2011) Raman mapping of pharmaceuticals, *International Journal of Pharmaceutics* 417, 151-162.
 72. Quinten, T., Beer, T. D., Vervaet, C., and Remon, J. P. (2009) Evaluation of injection moulding as a pharmaceutical technology to produce matrix tablets, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 71, 145-154.
 73. Cheng, A.-J., Manno, M., Khare, A., Leighton, C., Campbell, S. A., and Aydil, E. S. (2011) Imaging and phase identification of Cu₂ZnSnS₄

- 4] thin films using confocal Raman spectroscopy, *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films* 29, 051203.
74. Emmons, E. D., Tripathi, A., Guicheteau, J. A., Christesen, S. D., and Fountain, A. W. (2009) Raman Chemical Imaging of Explosive-Contaminated Fingerprints, *Appl. Spectrosc.* 63, 1197-1203.
75. Lee, Y. J., Moon, D., Migler, K. B., and Cicerone, M. T. (2011) Quantitative Image Analysis of Broadband CARS Hyperspectral Images of Polymer Blends, *Analytical Chemistry* 83, 2733-2739.
76. de Jong, B. W. D., Bakker, T. C. S., Maquelin, K., van der Kwast, T., Bangma, C. H., Kok, D.-J., and Puppels, G. J. (2006) Discrimination between nontumor bladder tissue and tumor by Raman spectroscopy, *Analytical Chemistry* 78, 7761-7769.
77. Coltro, W. K. T., Fracassi da Silva, J. A., and Carrilho, E. (2008) Fabrication and integration of planar electrodes for contactless conductivity detection on polyester-toner electrophoresis microchips, *Electrophoresis* 29, 2260-2265.
78. Fu, L.-M., Lee, C.-Y., Liao, M.-H., and Lin, C.-H. (2008) Fabrication and testing of high-performance detection sensor for capillary electrophoresis microchips, *Biomedical Microdevices* 10, 73-80.
79. Guijt, R. M., Armstrong, J. P., Candish, E., Lefleur, V., Percey, W. J., Shabala, S., Hauser, P. C., and Breadmore, M. C. (2011) Microfluidic chips for capillary electrophoresis with integrated electrodes for capacitively coupled conductivity detection based on printed circuit board technology, *Sensors and Actuators B-Chemical* 159, 307-313.
80. Brito-Neto, J. G. A., Fracassi da Silva, J. A., Blanes, L., and do Lago, C. L. (2005) Understanding Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection in Capillary and Microchip Electrophoresis. Part 1. Fundamentals, *Electroanalysis* 17, 1198-1206.
81. Zhao, J., Chen, Z., Li, X., and Pan, J. (2011) A novel microchip based on indium tin oxide coated glass for contactless conductivity detection, *Talanta* 85, 2614-2619.
82. Brito-Neto, J. G. A., Fracassi da Silva, J. A., Blanes, L., and do Lago, C. L. (2005) Understanding Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection in Capillary and Microchip Electrophoresis. Part 2. Peak Shape, Stray Capacitance, Noise, and Actual Electronics, *Electroanalysis* 17, 1207-1214.
83. Coltro, W. K. T. (2008) Detecção condutométrica sem contato: uma nova ferramenta para monitoramento de interações biomoleculares em microssistemas analíticos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
84. Moreira, N. H., Almeida, A. L. d. J. d., Piazzeta, M. H. d. O., Jesus, D. P. d., Deblire, A., Gobbia, A. L., and Silva, J. A. F. d. (2009) Single Electrode Electrochemical Detection in Hybrid Poly(dimethylsiloxane)/Glass Multichannel Microdevices.
85. Fracassi da Silva, J. A., Deblire, A., de Jesus, D. P., and Coltro, W. K. T. (2011) Visible LED-Based Instrumentation for Photometric Determination of Electroosmotic Flow in Microchannels, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 22, 736-U193.

86. Pisuchpen, T., Chaim-ngoen, N., Intasanta, N., Supaphol, P., and Hoven, V. P. (2011) Tuning Hydrophobicity and Water Adhesion by Electrospinning and Silanization, *Langmuir* 27, 3654-3661.
87. Fogarty, B. A., Heppert, K. E., Cory, T. J., Hulbutta, K. R., Martin, R. S., and Lunte, S. M. (2005) Rapid fabrication of poly(dimethylsiloxane)-based microchip capillary electrophoresis devices using CO₂ laser ablation, *Analyst* 130, 924-930.
88. Thomas, K. J., Sheeba, M., Nampoori, V. P. N., Vallabhan, C. P. G., and Radhakrishnan, P. (2008) Raman spectra of polymethyl methacrylate optical fibres excited by a 532 nm diode pumped solid state laser, *Journal of Optics a-Pure and Applied Optics* 10.
89. Ocvirk, G., Munroe, M., Tang, T., Oleschuk, R., Westra, K., and Harrison, D. J. (2000) Electrokinetic control of fluid flow in native poly(dimethylsiloxane) capillary electrophoresis devices, *Electrophoresis* 21, 107-115.