

DIELECTROFORESIS CON ESTRUCTURAS AISLADORAS

INSULATOR-BASED DIELECTROPHORESIS

S. Ozuna-Chacón¹, B.H. Lapizco-Encinas^{1*}, M. Rito-Palomares²,
E. Collado-Arredondo³ y S.O. Martínez-Chapa³

¹*Departamento de Ingeniería Química y Centro de Biotecnología. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Monterrey. Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México.*

²*Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos y Centro de Biotecnología. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Monterrey. Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México.*

³*Departamento de Ingeniería Eléctrica. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Monterrey. Ave. Eugenio Garza Sada 2501 Sur, Monterrey, NL 64849, México.*

Recibido 5 de Abril 2007; Aceptado 28 de Septiembre 2007

Resumen

Existe en la actualidad un interés creciente en el desarrollo de laboratorios montados en un microdispositivo (*lab-on-a-chip*). Estos microsistemas portátiles realizan las funciones de un equipo de laboratorio convencional, con las ventajas de ser más rápidos y requerir menos muestra. Por este motivo las técnicas de separación aplicables en microescala están tomando cada vez mayor importancia. Entre estas técnicas se encuentra la dielectroforesis. La dielectroforesis es un mecanismo de transporte electrocinético, que ocurre en la presencia de un campo eléctrico no homogéneo. La dielectroforesis tiene un gran potencial para ser aplicada en la separación y concentración de biopartículas; ya que es una técnica no destructiva.

Con la dielectroforesis con estructuras aisladoras es posible atrapar y concentrar partículas dentro de microcanales, mediante la aplicación de un campo eléctrico. La magnitud de la fuerza dielectroforética depende de las condiciones de operación: geometría de las estructuras aisladoras, intensidad del campo eléctrico, concentración de las partículas, conductividad y pH del líquido de suspensión. El presente trabajo presenta un estudio paramétrico de la dielectroforesis producida con estructuras aisladoras con el fin de caracterizar el funcionamiento de un microdispositivo para dielectroforesis; y obtener las condiciones de operación óptimas que permitan concentrar y separar mezclas de partículas.

Palabras clave: dielectroforesis, electroforesis, electrocinética, flujo electroosmótico, microfluidica.

Abstract

Recently there has been an increasing interest in the development of laboratories machined on microdevices (*lab-on-a-chip*). These portable microsystems would be able to accomplish the same tasks as conventional laboratory equipment, with the advantage of being faster and requiring a smaller sample volume. Thus, separation techniques on a microscale are acquiring a greater importance. Among these techniques, we can find the separation of particles by a dielectrophoretic force. Dielectrophoresis is an electrokinetic transport mechanism that occurs in the presence of a non-homogeneous electric field. Dielectrophoresis is a non-destructive technique with great potential for the separation and concentration of bioparticles.

Insulator-based dielectrophoresis makes it possible to trap and concentrate particles inside a microchannel by applying an electric field. The magnitude of the dielectrophoretic force depends on the operating conditions: insulating structures geometry, electric field intensity, particle concentration, conductivity and pH of the suspending buffer. This work presents a parametric study on insulator-based dielectrophoresis with the object of characterizing the performance of a dielectrophoretic microdevice, and obtaining the optimal conditions for the concentration and separation of a mixture of particles.

Keywords: dielectrophoresis, electrophoresis, electrokinetics, electroosmotic flow, microfluidics.

1. Introducción

El área de microsistemas para análisis o microanalizadores se está desarrollando

significativamente; además del nombre de laboratorio sobre un microdispositivo, conocidos en inglés como: “*lab-on-a-chip*”; estos microdispositivos reciben también el nombre de

* Autor para la correspondencia: E-mail: blapizco@itesm.mx
Tel. (81) 8158-2034, fax. (81) 8328-4250.

sistemas bio-micro-eléctrico-mecánicos, conocidos en inglés como: “*BioMEMS*”. Las posibles aplicaciones para este tipo de microsistemas son inagotables, y van desde aplicaciones en medicina para analizar fluidos del cuerpo humano, aplicaciones en ingeniería ambiental para analizar la concentración de algún contaminante o como un sensor utilizado en control de calidad en un proceso de producción (Andersson y van den Berg, 2003; 2004). En los años 90’s se inició un gran desarrollo en la tecnología de microfabricación, esto permitió un gran avance de los microsistemas para análisis. Desde entonces ha habido un interés creciente en el desarrollo de técnicas de separación que puedan implementarse en microdispositivos. Las técnicas de separación empleadas más comúnmente en microsistemas son la cromatografía, electroforesis y dielectroforesis. El fenómeno de dielectroforesis, es el movimiento de partículas causado por efectos de polarización en un campo eléctrico no uniforme (Pohl, 1951; 1958). Este mecanismo de transporte no destructivo tiene un enorme potencial para la concentración y manipulación de biopartículas.

Existe un interés creciente en utilizar dielectroforesis para manipular, separar y concentrar microorganismos y biomoléculas (Washizu y col., 1995; Chou y col., 2002; Holzel y Bier, 2003; Washizu, 2003; Zheng y col., 2004). La aplicación de la dielectroforesis para la separación de microorganismos fue demostrada por Crane y Pohl (1968), logrando la separación de células de levaduras vivas y muertas. Recientemente, debido a la disponibilidad de las técnicas de micro fabricación, los estudios con dielectroforesis se han llevado a cabo con arreglos de micro electrodos y campos eléctricos de corriente alterna (Crane y Pohl, 1968). Con estos sistemas ha sido posible llevar a cabo una gran variedad de separaciones de microorganismos (Markx y col., 1994; Li y Bashir, 2002), ADN y proteínas (Washizu y col., 1995; Yamamoto y col., 2000; Zheng y col., 2003, 2004).

Gascoyne y colaboradores han llevado a cabo estudios sobre la aplicación de la dielectroforesis para la identificación de células cancerígenas, demostrando que esta técnica puede utilizarse para detectar y separar células de un tumor (Gascoyne y col., 1997; Gascoyne y Vykoukal, 2002). Rousselet y su grupo de trabajo demostraron la separación de eritrocitos mezclados con partículas inertes de látex (Rousselet y col., 1998). Chou y Zenhausem demostraron la ruptura de eritrocitos utilizando fuerzas dielectroforéticas intensas (Chou y Zenhausem, 2003).

A pesar de la gran aplicación que tienen los arreglos de micro electrodos para llevar a cabo la dielectroforesis, existen importantes desventajas en el uso de micro electrodos: como son la complejidad y alto costo en la fabricación, y la pérdida de eficacia con el desgaste. Por estos motivos, ha surgido una nueva técnica mediante el uso de materiales aislantes

eléctricos que funcionan como “obstáculos” para el campo eléctrico. El uso de estructuras aisladoras en lugar de electrodos representa una serie de ventajas, como lo es la simplicidad en la construcción de sistemas y retención de su funcionalidad a pesar del desgaste. La gran mayoría de los estudios realizados con dielectroforesis con estructuras aisladores se han llevado a cabo utilizando campos eléctricos con corriente alterna. Chou y col. (2002) demostraron la concentración de ADN utilizando un microdispositivo con obstáculos aisladores. Un grupo de investigadores de Japón utilizaron un microcanal empacado con micro-esferas de vidrio, como aisladores, para la concentración y separación de células de levadura en agua (Zhou y col., 2002; Suehiro y col., 2003). Dentro de las aplicaciones de dielectroforesis con corriente directa se tiene a los investigadores de Sandia National Laboratories, Cummings y Singh, quienes demostraron la concentración de partículas en un microcanal con obstáculos aisladores de vidrio (Cummings y Singh, 2000; 2003). Posteriormente, dentro del mismo grupo de investigación, Lapizco-Encinas y colaboradores demostraron la separación entre bacterias vivas y muertas, entre bacterias vivas de distintas especies y además reportaron la caracterización de un microsistema para la remoción de microorganismos en agua (Lapizco-Encinas y col., 2004a; 2004b; Lapizco-Encinas y col., 2005).

2. Teoría de la Dielectroforesis: Fundamentos.

La dielectroforesis puede llevarse a cabo en campos eléctricos de corriente directa o alterna. Cualquier dipolo (permanente o inducido) tendrá una separación finita entre cantidades iguales de cargas positivas y negativas. Si el campo no es uniforme, se producirá un desbalance en las fuerzas electrostáticas en el dipolo. La Fig. 1 muestra una partícula neutra expuesta a un campo eléctrico no homogéneo. El lado negativo del dipolo se encuentra en una región donde el campo eléctrico es más denso. Lo anterior ocasiona que las cargas negativas se concentren más que las positivas, generando un movimiento neto de la partícula hacia el electrodo positivo (Betts, 1995). Las partículas que sean más polarizables que el medio, exhibirán dielectroforesis positiva, y serán atraídas hacia las regiones de mayor intensidad del campo eléctrico. Contrariamente, las partículas que sean menos polarizables que el medio de inmersión, exhibirán dielectroforesis negativa, donde serán repelidas de las regiones de alta intensidad de campo eléctrico (Pohl, 1958; Jones, 1995; Cummings y Singh, 2003).

Además de la dielectroforesis, existe otra fuerza que también es importante en estos microsistemas. Esta fuerza es la electro-cinética, la cual es de primer orden con el campo eléctrico y comprende los fenómenos de electro-ósmosis y electroforesis, los cuales son proporcionales a la

intensidad del campo eléctrico aplicado (Cummings y Singh, 2000; 2003). La dielectroforesis, en cambio, es un efecto de segundo orden en el campo eléctrico. A campos eléctricos de baja intensidad, la fuerza dielectroforética es despreciable comparada con la fuerza electrocinética. A campos eléctricos relativamente altos, la fuerza dielectroforética puede dominar a la fuerza electrocinética.

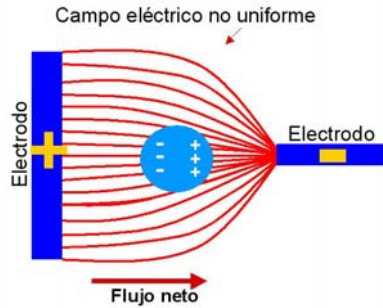


Fig. 1. Movimiento de una partícula en un campo eléctrico no uniforme (dielectroforesis positiva).

Existen dos tipos de regímenes de dielectroforesis, el primer régimen se denomina “dielectroforesis de corrientes” y ocurre cuando la dielectroforesis es capaz de superar el transporte de partículas debido a la difusión, pero no supera el flujo electrocinético. El segundo régimen se denomina “dielectroforesis atrapante” y ocurre cuando la dielectroforesis supera el transporte de partículas debido a la difusión y a la electrocinética. Bajo este régimen, las partículas son inmovilizadas por la dielectroforesis y pueden ser concentradas en forma significativa, casi a la densidad de un sólido (Cummings y Singh, 2003). La fuerza dielectroforética que actúa sobre una partícula esférica se define como:

$$F_{DEF} = 2\pi\epsilon_0\epsilon_m r_p^3 f \nabla E^2 \quad (1)$$

donde ϵ_0 es la permitividad del espacio libre, ϵ_m es la permitividad relativa del medio suspendido, r_p es el radio de la partícula y f es el factor de Clausius-Mossotti (CM) (Lapizco-Encinas y col., 2004a):

$$f = \left[\frac{\tilde{\sigma}_p - \tilde{\sigma}_m}{\tilde{\sigma}_p + 2\tilde{\sigma}_m} \right] \quad (2)$$

donde $\tilde{\sigma}_p$ y $\tilde{\sigma}_m$ son las conductividades complejas de la partícula y del medio respectivamente. Como se observa en las ecs. (1) y (2), la fuerza dielectroforética ejercida en una partícula depende de la intensidad de campo eléctrico, del tamaño de partícula, de las propiedades dieléctricas de la partícula, así como de la conductividad del medio de suspensión. Estas condiciones de operación pueden ser manipuladas para aumentar/disminuir la fuerza dielectroforética ejercida en una partícula, y con esto lograr separar y/o concentrar un tipo de partícula específico. Debido a esta flexibilidad en condiciones de operación, la dielectroforesis representa una

excelente opción para la concentración y manipulación de partículas (Lapizco-Encinas y col., 2004a).

3. Procedimiento Experimental.

3.1 Equipos y materiales

Se realizaron una serie de experimentos utilizando la técnica de dielectroforesis con estructuras aisladoras. Los experimentos se realizaron utilizando un microdispositivo construido en vidrio. El microdispositivo contiene 8 microcanales, cada canal tiene un reservorio de entrada y uno de salida. El largo del canal es de 10.16 mm, un ancho de 2 mm y profundidad de 10 μm . Cada microcanal tiene un arreglo de obstáculos aisladores de geometría cilíndrica, de 440 μm de diámetro, con una separación de centro a centro de 80 μm , la altura de los obstáculos aisladores es de 10 μm . En la Fig. 2 se muestra un diagrama del microdispositivo y una ampliación del microcanal. La primera fila de obstáculos aisladores en cada extremo tiene una geometría triangular, que se utilizó con el fin de evitar que las partículas se impactaran en los obstáculos aisladores y produjeran aglomerados que obstruyeran el microcanal. Los microdispositivos fueron fabricados por la compañía NexGen (Atlanta, GA, USA).

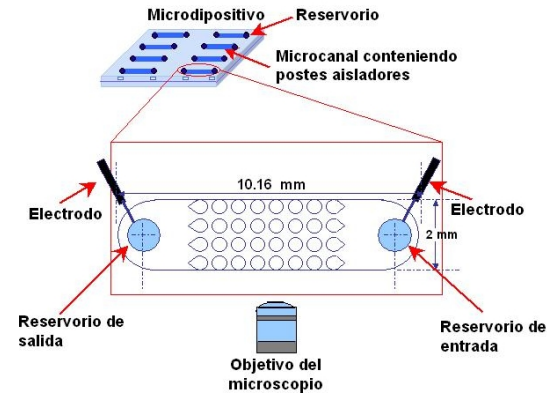


Fig. 2. Representación del microdispositivo y de un microcanal con los obstáculos aisladores.

Se utilizó también un microscopio para la observación de fenómenos microfluidicos, una fuente de poder, y una computadora para manejar el microscopio y la fuente de poder. La Fig. 3 muestra fotografías del microscopio y fuente de poder. Ambos equipos se adquirieron de la compañía LabSmith (Livermore, CA, USA). El microscopio es invertido y esta equipado con una cámara de video. Además, el microscopio cuenta con diodos que emiten luz azul, lo que permite observar las partículas mediante fluorescencia. La excitación de las partículas se realiza a una longitud de onda de 488 nm, y la detección se realiza con emisiones a longitud de onda mayores a 515 nm.

Se utilizaron microesferas fluorescentes carboxiladas de color verde amarillo de 1 μm de diámetro (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), a una concentración de 7.639×10^{10} esferas/ml. Estas microesferas están impregnadas con un tinte similar a la fluoresceína, que tiene una excitación máxima a 505 nm y emisión máxima a 515 nm, lo que las microesferas adecuadas para ser visualizadas en el microscopio de trabajo.



Fig. 3. (a) Microscopio para microfluidica SVM 340, (b) Fuente de alto voltaje HVS448-3000D.

Los microcanales se llenaron con agua bidestilada, cuyo pH y conductividad se ajustaron cuidadosamente para obtener un pH de 8, el cual es óptimo para la generación de flujo electroosmótico. Se utilizaron conductividades de 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 105 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Los distintos valores de conductividad se emplearon para evaluar el efecto de este parámetro sobre la respuesta dielectroforética de las partículas.

3.2 Preparación de las corridas experimentales.

Antes de cada experimento, se debe llenar el microcanal con el agua bidestilada, se coloca el microdispositivo sobre el microscopio y se enfoca, posteriormente se introduce la muestra de micropartículas, se colocan los electrodos en la entrada y salida del microcanal. Paso seguido se aplica el campo eléctrico de corriente directa y se observa la respuesta dielectroforética de las micropartículas, la cual se graba en forma de video y fotografías con ayuda de la computadora de trabajo. Se realizaron experimentos variando la conductividad y pH del medio de suspensión, con el fin de observar como estos parámetros afectan los resultados obtenidos.

4. Resultados y discusión

Además del trabajo experimental, se realizó simulación matemática para obtener el gradiente de campo eléctrico, utilizando el paquete comercial FEMLAB. La Fig. 4 muestra la intensidad de campo eléctrico a lo largo del arreglo de obstáculos aisladores. De esta figura es posible observar como el campo eléctrico tiene una mayor intensidad en la región estrecha entre los obstáculos aisladores de geometría cilíndrica. Es decir, por la presencia de los obstáculos aisladores se generaron zonas de mayor y

de menor intensidad de campo a lo largo del arreglo de los obstáculos aisladores.

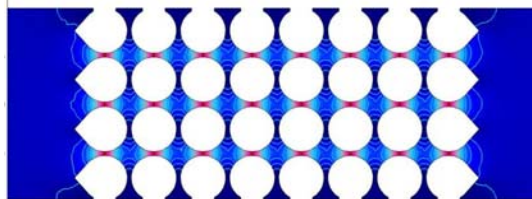


Fig. 4. Representación de la intensidad de campo eléctrico a lo largo de un microcanal con obstáculos aisladores.

La Fig. 5a muestra los resultados obtenidos utilizando como medio de suspensión agua bidestilada con un pH de 8 y una conductividad de 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Se aplicaron 3 distintos campos eléctricos de 350, 500 y 650 V/cm. Como puede observarse en la Fig. 5a, cuando se aplica un campo de 350 V/cm, se observa claramente a las microesferas fluyendo de izquierda a derecha. Las microesferas fluyen por acción de la fuerza electrocinética, donde el componente más significativo es el flujo electroosmótico. Puede observarse que la dielectroforesis no es una fuerza significativa a esta magnitud de campo eléctrico. En la Fig. 5b, puede observarse que a un campo eléctrico de 500 V/cm la dielectroforesis ha empezado a dominar parte del comportamiento de las micropartículas, ya que se observa una pequeña concentración de partículas en la región estrecha entre los obstáculos aisladores. Por último, en la Fig. 5c, se observa atrapamiento dielectroforético a un campo eléctrico de 650 V/cm. De acuerdo a la Ec. (1), la fuerza dielectroforética depende de la magnitud del campo eléctrico aplicado, a mayor magnitud de campo, mayor será la fuerza dielectroforética. En la Fig. 5c la dielectroforesis ha vencido a la electro-cinética y las partículas fueron atrapadas y concentradas con dielectroforesis negativa. Si las partículas se hubieran atrapado con dielectroforesis positiva, el atrapamiento se hubiera localizado exactamente en la región estrecha entre los obstáculos. En la Fig. 5c el atrapamiento esta antes de la región estrecha, lo que demuestra que las partículas fueron repelidas de la región de mayor intensidad de campo, es decir, dielectroforesis negativa, o menor polarización que el medio de suspensión.

Resultados similares se obtuvieron utilizando un medio de suspensión con un pH de 8 y conductividad de 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Como ya se demostró en la Fig. 5, las micropartículas de poliestireno exhiben dielectroforesis negativa. La Ec. (2) muestra el factor de Clausius-Mossotti, donde se muestra que cuando una partícula exhibe dielectroforesis negativa es porque la conductividad de la partícula es menor a la conductividad del medio de suspensión. En este caso que tenemos dielectroforesis negativa, el factor de CM será mas negativo si se aumenta la

conductividad del medio de suspensión, además de incrementarse la magnitud de la fuerza dielectroforética.

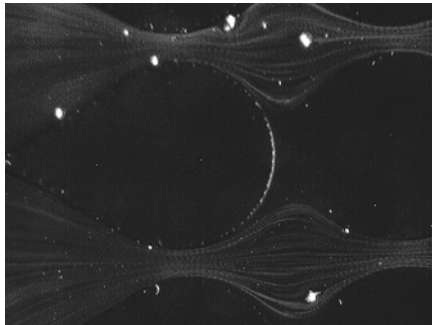


Fig. 5. a) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8 y conductividad de 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$, aplicando un campo de 350 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

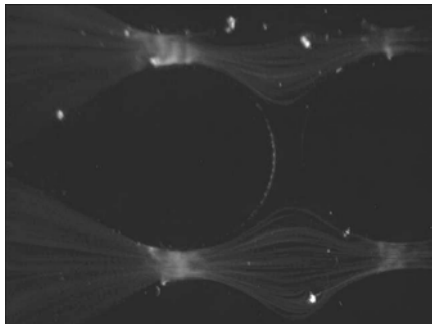


Fig. 5. b) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8 y conductividad de 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$, aplicando un campo eléctrico de 500 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

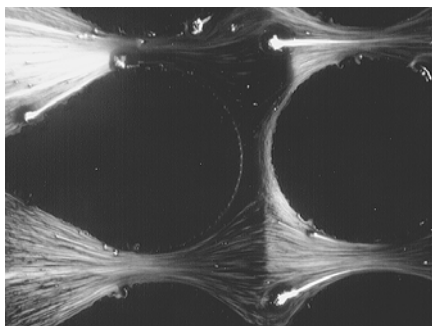


Fig. 5. c) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8 y conductividad de 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$, aplicando un campo eléctrico de 650 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

Lo anterior es demostrado con los resultados de la Fig. 6, obtenidos con un medio de suspensión con pH de 8 y conductividad de 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$. La Fig. 6a muestra las partículas fluyendo a lo largo del

canal. La Fig. 6b muestra ya cierto atrapamiento dielectroforético logrado a campo eléctrico de 450 V/cm. La Fig. 6c muestra claro atrapamiento y concentración de micropartículas cuando se aplicó un campo de 600 V/cm.

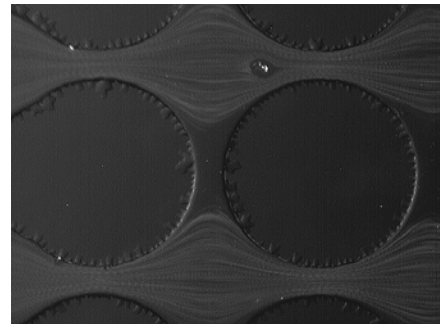


Fig. 6. a) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8, conductividad de 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y un campo eléctrico de tan solo 250 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

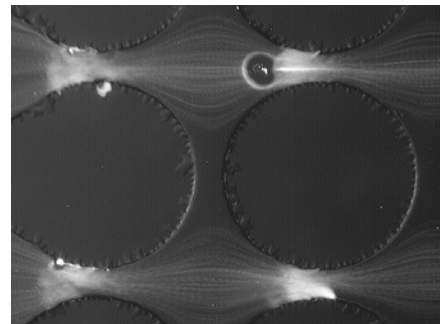


Fig. 6. b) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8, conductividad de 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y un campo eléctrico de tan solo 450 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

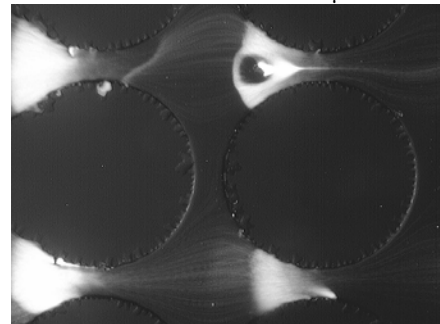


Fig. 6. c) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8, conductividad de 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y un campo eléctrico de tan solo 600 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

La Fig. 7 muestra los resultados obtenidos cuando la conductividad del medio de suspensión se incrementó a 105 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Con un campo eléctrico de

250 V/cm, la Fig. 7a muestra las partículas fluyendo. Aplicando un campo eléctrico de 300 V/cm puede ya observarse la presencia de fuerza dielectroforética (Fig. 7b). A un campo eléctrico de 500 V/cm es posible observar las partículas concentradas en una banda muy densa, exhibiendo dielectroforesis negativa (Fig. 7c).

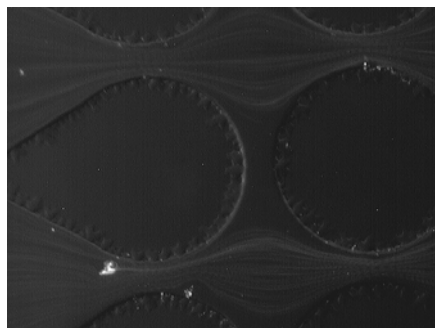


Fig. 7. a) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8, conductividad de 105 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y un campo eléctrico de 250 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

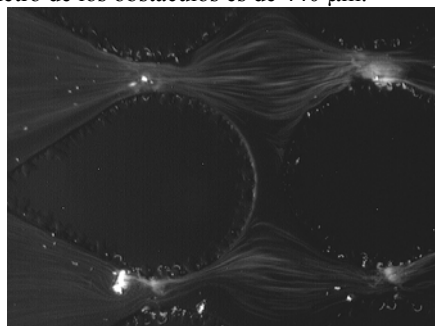


Fig. 7. b) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8, conductividad de 105 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y un campo eléctrico de 300 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

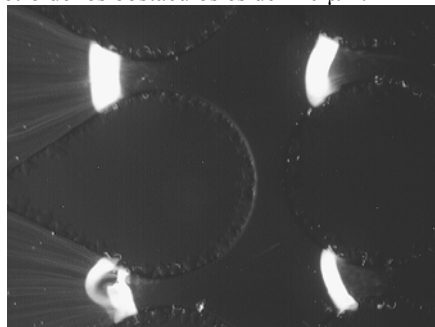


Fig. 7. c) Resultados obtenidos utilizando un medio de suspensión con pH de 8, conductividad de 105 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y un campo eléctrico de 500 V/cm. La dirección de flujo es de izquierda a derecha. El diámetro de los obstáculos es de 440 μm .

Como ya se mencionó anteriormente, a mayor conductividad del medio de suspensión, se aumenta la magnitud de la fuerza dielectroforética. En este

caso, el emplear una conductividad de 105 $\mu\text{S}/\text{cm}$ permitió que se alcanzara un claro atrapamiento dielectroforético con un campo eléctrico de tan solo 500 V/cm (Fig. 7c), mientras que los experimentos anteriores requirieron campos eléctricos mas elevados para lograr el atrapamiento dielectroforético.

Conclusiones

Los microanalizadores son dispositivos que están tomando gran importancia en el mundo moderno. Entre las técnicas que se utilizan en estos microanalizadores se encuentra la dielectroforesis, la cual es un mecanismo de transporte electrocinético que se produce en la presencia de un campo eléctrico no homogéneo.

En el presente trabajo de investigación se analizó la dielectroforesis producida con estructuras aisladoras y campos eléctricos de corriente directa. Se utilizó un microdispositivo fabricado en vidrio, con microcanales conteniendo obstáculos aisladores de geometrías cilíndricas. Se utilizaron como muestra partículas fluorescentes de poliestireno de un micrómetro de diámetro. Se realizaron experimentos variando la conductividad del medio de suspensión con el fin de observar el efecto de este parámetro sobre la respuesta dielectroforética de las micropartículas. Los resultados demostraron que a mayor conductividad del medio de suspensión, mayor era la fuerza dielectroforética ejercida en las partículas y era posible alcanzar atrapamiento aplicando un menor campo eléctrico.

Los resultados obtenidos con este trabajo, son parte de un estudio global que busca identificar las condiciones de operación óptimas para concentración y separación de micropartículas, en especial biopartículas, utilizando la técnica de dielectroforesis con aisladores. Estos resultados serán utilizados para el diseño de futuros microdispositivos para dielectroforesis.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo económico de la Cátedra de Investigación del ITESM (CAT 005). Se agradece el apoyo a CONACYT en la modalidad de repatriación para la Dra. Lapizco Encinas. Los autores agradecen al M.C. Susheel Yadav y al Sr. Francisco Carmona por apoyo técnico con el equipo experimental.

Referencias

- Andersson, H. y van den Berg, A. (2003). Microfluidic devices for cellomics: a review. *Sensors and Actuators B: Chemical* 92, 315-325.
- Andersson, H. y van den Berg, A. (2004). Microtechnologies and nanotechnologies for

- single-cell analysis. *Current Opinion in Biotechnology* 15, 44-49.
- Betts, W.B. (1995). The potential of dielectrophoresis for the real-time detection of microorganisms in foods. *Trends in Food Science and Technology* 6, 51-58.
- Chou, C., Tegenfeldt, J., Bakajin, O., Chan, S., Cox, E., Darnton, N., Duke, T. y Austin, R. (2002). Electrodeless dielectrophoresis of single- and double-stranded DNA. *Biophysical Journal* 83, 2170-2179.
- Chou, C. y Zenhausem, F. (2003). Electrodeless dielectrophoresis for micro total analysis systems. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine* 22, 62-67.
- Crane, J. y Pohl, H. (1968). A study of living and dead yeast cells using dielectrophoresis. *Journal of the Electrochemical Society* 115, 584-586.
- Cummings, E. y Singh, A. (2000). Dielectrophoretic trapping without embedded electrodes, SPIE: *Conference on Microfluidic Devices and Systems III* 4177, 164-173.
- Cummings, E. y Singh, A. (2003). Dielectrophoresis in Microchips Containing Arrays of Insulating Posts: Theoretical and Experimental Results. *Analytical Chemistry* 75, 4724-4731.
- Gascoyne, P., Wang, X., Huang, Y. y Becker, F. (1997). Dielectrophoretic separation of cancer cells from blood. *IEEE Transactions on Industry Applications* 33, 670-678.
- Gascoyne, P.R.C. y Vykoukal, J. (2002). Particle separation by dielectrophoresis. *Electrophoresis* 23, 1973-1983.
- Holzel, R. y Bier, F.F. (2003). Dielectrophoretic Manipulation of DNA. *IEEE Proceedings-Nanobiotechnology* 150, 47-53.
- Jones, T.B. (1995). *Electromechanics of Particles*, Pp. 265. Cambridge University Press, USA.
- Lapizco-Encinas, B.H., Davalos, R., Simmons, B.A., Cummings, E.B. y Fintschenko, Y. (2005). An Insulator-Based (Electrodeless) Dielectrophoretic Concentrator for Microbes in Water. *Journal of Microbiological Methods* 62, 317-326.
- Lapizco-Encinas, B.H., Simmons, B.A., Cummings, E.B. y Fintschenko, Y. (2004a). Dielectrophoretic Concentration and Separation of Live and Dead Bacteria in an Array of Insulators. *Analytical Chemistry* 76, 1571-1579.
- Lapizco-Encinas, B.H., Simmons, B.A., Cummings, E.B. y Fintschenko, Y. (2004b). Insulator-Based Dielectrophoresis for the Selective Concentration and Separation of Live Bacteria in Water. *Electrophoresis* 25, 1695-1704.
- Li, H. y Bashir, R. (2002). Dielectrophoretic separation and manipulation of live and heat-treated cells of *Listeria* on microfabricated devices with interdigitated electrodes. *Sensors and Actuators B-Chemical* 86, 215-221.
- Markx, G.H., Huang, Y., Zhou, X.F. y Pethig, R. (1994). Dielectrophoretic characterization and separation of microorganisms. *Microbiology-UK* 140, 585-591.
- Pohl, H. (1951). The Motion and Precipitation of Suspensoids in Divergent Electric Fields. *Applied Physics* 22, 869-871.
- Pohl, H. (1958). Some Effects of Nonuniform Fields on Dielectrics. *Applied Physics* 29, 1182-1188.
- Rousselet, J., Markx, G. y Pethig, R. (1998). Separation of erythrocytes and latex beads by dielectrophoretic levitation and hyperlayer field-flow fractionation. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects* 140, 209-216.
- Suehiro, J., Zhou, G., Imamura, M. y Hara, M. (2003). Dielectrophoretic filter for separation and recovery of biological cells in water. *IEEE Annual Meeting of the Industry-Applications-Society* 39, 1514-1521.
- Washizu, M. (2003). Bio-nanotechnology of DNA based on electrostatic manipulation, *Institute of Physics Conference Series No. 178*, 89-94.
- Washizu, M., Kurosawa, O., Arai, I., Suzuki, S. y Shimamoto, N. (1995). Applications of electrostatic stretch-and-positioning of DNA. *IEEE Transactions on Industry Applications* 31, 447-456.
- Yamamoto, T., Kurosawa, O., Kabata, H., Shimamoto, N. y Washizu, M. (2000). Molecular surgery of DNA based on electrostatic micromanipulation. *IEEE Transactions on Industry Applications* 36, 1010-1017.
- Zheng, L., Brody, J. y Burke, P. (2004). Electronic manipulation of DNA, proteins, and nanoparticles for potential circuit assembly. *Biosensors and Bioelectronics* 20, 606-619.
- Zheng, L., Li, S., Burke, P. y Brody, J. (2003). Towards Single Molecule Manipulation with Dielectrophoresis Using Nanoelectrodes. *3rd IEEE Conference on Nanotechnology* 1, 437-440.
- Zhou, G., Imamura, M., Suehiro, J. y Hara, M. (2002). A dielectrophoretic filter for separation and collection of fine particles suspended in liquid. *37th Annual Meeting of the IEEE-Industry-Applications-Society* 2, 1404-1411.