

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 325**

51 Int. Cl.:

G01N 15/10 (2006.01)

G01N 15/02 (2006.01)

B03C 5/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.07.2005 PCT/EP2005/053235**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.01.2006 WO06003214**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.07.2005 E 05769800 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018 EP 1774284**

54 Título: **Métodos y aparato para la separación y cuantificación de partículas**

30 Prioridad:

07.07.2004 IT BO20040420

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

10.07.2018

73 Titular/es:

**MENARINI SILICON BIOSYSTEMS S.P.A. (100.0%)
Via G. di Vittorio, 21 B/3
40013 Castel Maggiore (BO), IT**

72 Inventor/es:

**MANARESI, NICOLÒ y
MEDORO, GIANNI**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 675 325 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos y aparato para la separación y cuantificación de partículas

5 **Campo de la invención**

La presente invención pertenece a métodos y aparatos para separar partículas con diferentes propiedades físicas y/o para medir la cantidad o el tamaño de las partículas. La invención encuentra aplicación principalmente en el análisis y la separación de muestras biológicas.

10

Antecedentes de la invención

La solicitud de patente PCT/WO 00/69565 de G. Medoro describe un aparato y un método para manipular y localizar partículas que usan jaulas cerradas de potencial dielectroforético. Además de esto, el documento PCT/WO 00/69565 enseña métodos de separación. Un primer método se basa en la acción diferencial, en las poblaciones de diferentes células, de dielectroforesis (DEP) negativa (NDEP) y positiva (PDEP) y no permite discriminar partículas si ambas se someten a NDEP o PDEP. Otros métodos de separación en su lugar requieren usar información de sensores integrados en el dispositivo y no pueden implementarse cuando no hay dichos sensores.

15

20

Se conocen muchos otros métodos de separación que sin embargo requieren el uso de flujos de líquido, que es una característica indeseable en muchas aplicaciones, ya que requiere generar fluidos bien controlados. Una revisión de estos métodos, por encima de todo lo que se refiere al uso de la dielectroforesis, se da en *Electrophoresis* 2002, 23, 2569-2582 M. P. Hughes y en *Electrophoresis* 2002, 23, 1973-1983 P.R.C. Gascoyne, J. Vykoukal y en las referencias bibliográficas relacionadas.

25

En particular, la patente US 5.888.370 de Becker et al. enseña entre otras cosas a usar la dielectroforesis para determinar la altura de las partículas en un perfil de velocidad de flujo líquido, al que sigue la separación de las partículas.

30

OHARA T et Al. "Ratcheting electrophoresis microchip (REM) for programmable transport and separation of macromolecules", *Proceedings of the International Mechanical Engineering Congress and Exposition - IMECE - ASME*, vol. 3, 11 Noviembre 2001 (2001-11-11), páginas 619-628 no permite un control fiable. Otros métodos de separación basados en la dielectroforesis no requieren el uso de flujos de líquido, pero utilizan las denominadas Ondas de viaje (TWD, por sus siglas en inglés, de *Travelling waves*). Estos métodos se basan en la aplicación de una matriz de electrodos de voltajes sinusoidales a frecuencias de radio adecuadamente desplazadas de fase (por ejemplo, 0, 90, 180, 270 grados). El resultado es un campo eléctrico que viaja en el espacio a una velocidad (VTW) igual a la distancia entre los electrodos con la misma fase dividida por el periodo del voltaje sinusoidal único. El desplazamiento de fase entre la polarización inducida en la partícula y el campo eléctrico que lo genera provoca una traslación de la partícula, a una velocidad de órdenes de magnitud menores que la VTW y asíncrona con ella. En consecuencia no es posible mantener un control preciso de la posición de las partículas después de la separación, que puede ser deseable en muchas aplicaciones, por ejemplo si se desea determinar la cantidad de partículas separadas colocándolas encima de sensores.

35

40

45

Las limitaciones de la técnica conocida se reemplazan por la presente invención que permite separar partículas incluso si se someten a la misma fuerza (por ejemplo, NDEP), no requiere flujo de líquido y permite mantener un control de la posición de las partículas durante y después de la separación o medición.

Sumario de la invención

50

La presente invención pertenece a campos de fuerzas no uniformes. Los campos de fuerzas pueden ser por dielectroforesis (positiva o negativa), electroforesis o movimiento electrohidrodinámico, caracterizado por un conjunto de métodos estables en equilibrio de acuerdo con las reivindicaciones respectivas 1-2 y a un aparato correspondiente de acuerdo con la reivindicación 8.

55

En lo sucesivo en el presente documento, el término partículas se usará para indicar entidades micrométricas o nanométricas, naturales o artificiales, tales como células, componentes subcelulares, virus, liposomas, niosomas, microesferas y nanoesferas, o entidades incluso más pequeñas tales como macro-moléculas, proteínas, ADN, ARN, etc., así como gotas de líquido inmiscible en el medio de suspensión, por ejemplo aceite en agua o agua en aceite.

60

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el principio de generación del campo de fuerza por medio de una matriz de electrodos.

La Figura 2 muestra algunos datos experimentales y simulaciones de velocidad de traslación de microesferas de poliestireno.

65

La Figura 3 muestra el principio de separación por medio solamente de dos grupos de puntos de equilibrio estables.

La Figura 4 muestra un dispositivo para llevar el método de separación por medio de solamente dos grupos de puntos de equilibrio estable.

Descripción detallada de la invención

El fin de la invención es crear un método y un aparato para la separación de partículas de acuerdo con sus propiedades físicas o su cuantificación o la determinación de su tamaño. El método se basa en el uso de un campo (F) de fuerza no uniforme. Este campo puede por ejemplo ser un campo de dielectroforesis (DEP) negativa (NDEP) o positiva (PDEP), un campo electroforético (EF) o un campo de movimiento electrohidrodinámico (EHD).

Generación del campo de fuerza

La Figura 1 muestra algunos métodos de generación del campo de fuerza, de acuerdo con la técnica conocida, usando una matriz de electrodos (EL), realizada en al menos un sustrato (SUB, SUB2). Una cubierta (LID), que puede a su vez ser un electrodo, limita una micro-cámara, en uso cargada con un líquido que tiene una cierta viscosidad. En el caso de DEP, los voltajes aplicados son voltajes periódicos (preferentemente sinusoidales) en fase (+) y contra-fase (-). Los voltajes a contra-fase se entiende que son voltajes desplazados de fase en 180 grados. El campo genera una fuerza (F) que actúa tanto en partículas más rápidas (FP) como en partículas más lentas (SP), ambas atraídas hacia puntos de equilibrio (PEQ). Dependiendo de la configuración de los voltajes aplicados es posible identificar coordinados (DEPC) que corresponden a la posición del punto de equilibrio estable (PEQ), y coordinados (WS) que corresponden a puntos de equilibrio inestable, esto es al límite de la cuenca de atracción de diferentes puntos de equilibrio estable. Estas líneas forman de forma ideal una clase de línea divisoria que determina hacia qué punto de equilibrio estable tiende a ir la partícula. En el caso de DEP negativa (NDEP), es posible hacer jaulas de fuerza cerrada si la cubierta (LID) es un electrodo conductor. El punto de equilibrio (PEQ) se encuentra normalmente en el líquido a una cierta altura en comparación con los electrodos, de tal manera que las partículas (SP, FP) están, en estado estacionario, en levitación. En el caso de DEP positiva (PDEP), el punto de equilibrio (PEQ) se encuentra normalmente en correspondencia con la superficie en la que se hacen los electrodos y las partículas (FP, SP) están, en estado estacionario, en contacto con él. Para PDEP no es necesario tener electrodos adicionales en la cubierta debido a que los puntos de equilibrio de PDEP corresponden al máximo del campo eléctrico.

El campo puede tener una periodicidad espacial (CPIT) que es un múltiplo de la periodicidad de los electrodos (EPIT), en los casos en que estos pueden definirse.

Propiedad de separación

Cuando los puntos de equilibrio estable del campo de fuerza (F) se mueven por una etapa (EPIT) que cambia la configuración de los voltajes (+, -) aplicados a los electrodos (EL), las partículas convergen hacia el nuevo punto de equilibrio con un tiempo que depende sustancialmente de la relación entre la fuerza de fricción viscosa y la fuerza del campo (F). La Figura 2 muestra algunos datos experimentales y las simulaciones del tiempo necesario para completar un movimiento igual a media etapa EPIT que sigue al movimiento de los puntos de equilibrio del campo de fuerza de una etapa EPIT (en el caso específico igual a 25 μm), para microesferas de poliestireno sometido a NDEP, respectivamente 3 μm y 10 μm de diámetro, dependiendo de la amplitud de pico a pico del voltaje sinusoidal aplicado a los electrodos. Para el mismo material de partículas, la fuerza del campo (F) es proporcional al volumen, esto es al cubo del radio, mientras que la fuerza viscosa es proporcional al radio, por lo que las partículas con un radio mayor se moverán más rápido (FP) que aquellas de diámetro más pequeño (SP). Este efecto se explota, de acuerdo con la invención, a separar las partículas o cuantificar grupos de partículas o a determinar el tamaño de dichas partículas, como se describe a continuación en el presente documento. Es evidente para los expertos en el sector con habilidades ordinarias que la diferencia en la velocidad también puede ocurrir para partículas del mismo diámetro (misma fuerza de fricción viscosa), sobre la que el campo de fuerza (F) actúa con diferente intensidad. En este caso las partículas sobre las que actúa con mayor intensidad (FP) son más rápidas que aquellas sobre las que actúa con menor intensidad (SP).

Es además evidente que el método se aplica eficazmente también en casos en que el campo actúa con la misma fuerza en todas las partículas, pero la fricción viscosa es diferente debido, por ejemplo, al material o la forma diferentes de las partículas.

El principio de la separación explota el equilibrio entre una fuerza generada por el campo (F), no uniforme en el espacio y que se mueve de una manera controlada, y una fuerza que actúa uniformemente. Esto puede ser la fricción viscosa, como se describe anteriormente, pero también, por ejemplo, la fuerza de la gravedad. Por ejemplo, dos partículas sobre las que actúa el campo (F) con la misma fuerza y que tienen la misma fricción viscosa (por ejemplo que tienen el mismo diámetro) sin embargo serían capaces de tener diferente masa. En este caso, inclinar el dispositivo de tal manera que la fuerza de gravedad tenga un componente no nulo en la dirección de movimiento del campo de fuerza (F) provocaría que las partículas tuvieran una velocidad diferente, de manera que sea posible de cualquier manera aplicar el método. En general, una propiedad física diferente entre las partículas es suficiente para permitir la separación. Las propiedades físicas de acuerdo con las que las partículas se discriminan pueden ser

por ejemplo el diámetro, la forma, el material de que están hechos o la proporción relativa y la disposición de los materiales de componentes, o incluso las propiedades de superficie. En otros casos pueden incluir la carga eléctrica. Pueden ser también obviamente combinaciones de las propiedades anteriormente mencionadas. A modo de ejemplo, pero sin restringirse al fin de la invención los presentes inventores pueden mencionar la separación de:

- 5
- células del mismo tipo pero de dimensiones diferentes;
 - células del mismo tipo pero con diferentes propiedades funcionales;
- 10
- células espermáticas con anomalías morfológicas de células espermáticas normales;
 - células de las mismas dimensiones pero con una composición diferente del citoplasma;
 - células apoptóticas de células vitales;
 - células infectadas con virus o parásitos intracelulares de células no infectadas;
- 15
- células infectadas con SIDA de células no infectadas;
 - células infectadas con malaria de células no infectadas;
 - células infectadas con *Chlamydia* de células no infectadas;
- 20
- células decoradas con anticuerpos de células no decoradas;
 - células de diferentes tipos:
- células rojas de la sangre de linfocitos;
 - células rojas de la sangre de células eritromieloides;
 - células espermáticas de células epiteliales vaginales;
- 25
- liposomas de diferentes dimensiones pero con el mismo contenido;
 - microesferas de diferentes dimensiones;
- 30
- esferas de poliestireno de 3 μm y 10 μm ;
 - esferas de 6 μm y 15 μm ;
- microesferas de las mismas dimensiones pero con diferentes funcionalidades de superficie;
- 35
- esferas de 3 μm funcionalizadas con grupos amina y esferas no funcionalizadas;
 - microesferas de las mismas dimensiones pero con diferente carga superficial;
 - microesferas cargadas positivamente de microesferas neutras;
 - células de virus
 - virus de diferentes tipos
- 40
- fragmentos de ADN de diferente peso molecular;
 - proteínas con una relación diferente entre masa y carga.

Método de separación con matriz no uniforme de electrodos

45 En los ejemplos anteriores los presentes inventores han considerado una matriz regular de electrodos, de igual anchura, con EPIT de periodicidad espacial. Un aspecto del método de acuerdo con la invención abarca el caso en que la matriz de electrodos es irregular. Por ejemplo, es posible usar electrodos de dimensiones fijas pero con una distancia variable entre los electrodos, o electrodos de dimensiones variables con la misma distancia entre los electrodos o dimensiones variables tanto en su anchura como para la distancia entre los electrodos.

50 En estos casos, además de variar la posición de los puntos de equilibrio del campo de fuerza, su intensidad varía durante la traslación y en general la forma del campo también varía, esto es las líneas de fuerza no solamente se trasladan sino que se distorsionan también.

55 Explotando la no homogeneidad del campo, las partículas de diferente tamaño pueden separarse empujándolas hacia la misma dirección hasta que el campo se deforme tanto que ya no sea capaz de transportar solo uno de los dos tipos de partículas. Es evidente además que el mismo método de separación puede aplicarse al caso genérico de la separación de más de dos tipos de partículas.

Método de separación con solamente dos configuraciones de campo

60 En los ejemplos anteriores los presentes inventores han considerado una sucesión de configuraciones de fuerzas en el espacio; el número mínimo de configuraciones de fuerzas, necesario para permitir el movimiento de las partículas en una dirección específica y por lo tanto su separación, es dos. De hecho, como se muestra en la Figura 14, es posible con una distribución apropiada de electrodos y voltajes aplicados (V_1, V_2) hacer solamente dos distribuciones de fuerzas (F_1, F_2) caracterizadas por grupos de puntos de equilibrio estable (GSEP1, GSEP2) de tal manera que

65

cualquier primer punto de equilibrio (SEP1, SEP2) de uno de dichos grupos (GSEP1, GSEP2) se incluya inequívocamente dentro del límite de atracción de un único segundo punto de equilibrio estable (SEP2, SEP1) del otro grupo (GSEP2, GSEP1) y que dicho segundo punto a su vez no se contiene en el límite de atracción de dicho primer punto (SEP1, SEP2); de esta manera, al pasar de una configuración de fuerzas a la una siguiente, las partículas se mueven en una dirección específica; volviendo a la configuración de fuerzas previa, sin embargo, las partículas no revierten el movimiento sino que continúan en la misma dirección. Alternando las dos configuraciones de fuerzas a una velocidad apropiada, es posible mover las partículas que responden más (FP) dejando las unas que responden menos (SP) estacionarias o por detrás.

Este método requiere tanto una no homogeneidad espacial como una no repetibilidad espacial del campo; esto puede obtenerse, por ejemplo, por medio del aparato objeto de la invención como se describe con detalle a continuación en el presente documento.

De acuerdo con este método es posible separar partículas de al menos dos tipos (FP, SP), para obtener un movimiento neto solamente de dichas partículas de un primer tipo (FP) cambiando la configuración del campo de fuerzas a una frecuencia sustancialmente comparable a la inversa del tiempo de asentamiento de las partículas de un primer tipo (FP) en el nuevo punto de equilibrio, pero mayor que la inversa del tiempo de ajuste de las partículas de al menos un segundo tipo (SP). De acuerdo con este método también es posible separar partículas de al menos dos tamaños (BP, LP). De hecho, cuando una partícula (BP) es mucho mayor que la cuenca de atracción de un punto de equilibrio estable, de manera que se someta a la atracción de más de un punto de equilibrio, la partícula no se mueve, ya que el resultante de fuerzas no es suficiente para propulsar la partícula (BP) hacia uno de los puntos de equilibrio. Por lo tanto, para llevar a cabo la separación de partículas pequeñas (LP) uno puede generar una primera distribución en el espacio de un campo de fuerza (F1) caracterizado por un primer conjunto de puntos de equilibrio estable (GSEP1) para dichas partículas (BP, LP); donde dichas dos distribuciones de fuerzas (F1, F2) son de tal manera que cualquier primer punto de equilibrio (SEP1, SEP2) se incluye inequívocamente dentro de la cuenca de atracción de un único segundo punto de equilibrio estable (SEP1, SEP2) del otro grupo (GSEP2, GSEP1) y que dicho segundo punto a su vez no está contenido en la cuenca de atracción de dicho primer punto (SEP1, SEP2); y que el tamaño de la cuenca de atracción de dicho primer punto (SEP1, SEP2) es mayor o menor que el tamaño de la cuenca de atracción de dicho único segundo punto de equilibrio estable (SEP1, SEP2) que lo contiene; y después puede alternar las distribuciones (F1, F2) de dicho campo de fuerza a una frecuencia comparable a la inversa del tiempo de asentamiento de ambos tipos de partículas (BP, LP), para mover dichas partículas (BP, LP) desde un nuevo punto de equilibrio hasta al siguiente siempre que el tamaño de las partículas sea compatible con aquella de la cuenca de atracción. Conforme el tamaño de las cuencas de atracción reduce gradualmente, las partículas grandes (BP) de hecho parará de moverse más pronto que las partículas más pequeñas (LP) mayor que el movimiento global de las partículas grandes (BP).

Aparato para la separación de partículas

El objeto de esta invención es además un aparato para hacer configuraciones de campo apropiadas que son necesarias para el movimiento selectivo de partículas; este dispositivo, en una de sus implementaciones típicas, tiene dos matrices de electrodos (EL1, EL2) y, si es necesario, una cubierta (LID); **también se incluyen medios para aplicar un potencial eléctrico (V1) a dicha primera matriz de electrodos (EL1) y al menos un segundo potencial (V2) a dicha al menos segunda matriz de electrodos (EL2) incluso si no se muestran debido a sustancialmente tipo conocido; dichos electrodos y dichos medios para aplicar un potencial eléctrico a dichos electrodos se asocian operativamente de tal manera** que se aplican sobre los electrodos (EL1, EL2) estímulos apropiados (V1, V2) para hacer al menos dos distribuciones espaciales diferentes de fuerzas (F1, F2), cada una caracterizada por un grupo de puntos de equilibrio estable (SEP1, SEP2). Una característica de estos puntos de equilibrio estable es que cada uno se incluye inequívocamente en solo una de las cuencas de atracción de los puntos de equilibrio estables de la otra configuración de fuerzas. De esta manera el dispositivo objeto de la invención permite atrapar partículas y moverlas en una dirección a una velocidad que depende de la velocidad con la que las dos configuraciones de fuerzas se alternan y en la capacidad de respuesta de las partículas. Estas distribuciones de fuerzas pueden realizarse, por ejemplo, utilizando electrodos de anchura en aumento o en disminución y con distancia inter-electrodo constante (Figura 3) o con una distancia inter-electrodo en aumento o en disminución y anchura constante. Otra implementación puede basarse en el uso de electrodos de dimensiones constantes y distancia inter-electrodo constante pero con una distancia en aumento o en disminución entre los electrodos y la cubierta (Figura 4). Es obviamente posible una combinación de las implementaciones anteriormente descritas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para separar partículas de al menos dos tipos (FP, SP), que comprenden las etapas de:

- 5 i. generar una primera distribución en el espacio de un campo de fuerza (F1) **caracterizado por** un primer conjunto (GSEP1) de puntos (SEP1) de equilibrio estable para las partículas (FP, SP);
- ii. generar una segunda distribución en el espacio de un campo de fuerza (F2) **caracterizado por** un segundo conjunto (GSEP2) de puntos (SEP2) de equilibrio estable para las partículas (FP, SP);

10 en el que dichas dos distribuciones de fuerzas (F1, F2) son de tal manera que cualquier primer punto de equilibrio (SEP1, SEP2) de uno de dichos conjuntos (GSEP1, GSEP2) se incluye inequívocamente dentro de la cuenca de atracción de un segundo punto de equilibrio estable (SEP2, SEP1) del otro conjunto (GSEP2, GSEP1) y que dicho segundo punto a su vez no está contenido en la cuenca de atracción de dicho primer punto (SEP1, SEP2);

- 15 iii. alternar dichas distribuciones de fuerzas (F1, F2) cambiando la configuración del campo de fuerzas a una frecuencia sustancialmente comparable a la inversa del tiempo de asentamiento de las partículas de un primer tipo (FP) en el nuevo punto de equilibrio, pero mayor que la inversa del tiempo de asentamiento de las partículas de al menos un segundo tipo (SP);

20 de manera que se obtenga un movimiento neto de solamente dichas partículas de un primer tipo (FP).

2. Un método para separar partículas de al menos dos tamaños (BP, LP), que comprenden las etapas de:

- 25 i. generar una primera distribución en el espacio de un campo de fuerza (F1) **caracterizado por** un primer conjunto de puntos de equilibrio estable (GSEP1) para las partículas (BP, LP);
- ii. generar una segunda distribución en el espacio de un campo de fuerza (F2) **caracterizado por** un segundo conjunto de puntos de equilibrio estable (GSEP2) para las partículas (BP, LP);

30 en el que dichas dos distribuciones de fuerzas (F1, F2) son de tal manera que cualquier primer punto de equilibrio (SEP1, SEP2) de uno de dichos conjuntos (GSEP1, GSEP2) se incluye inequívocamente dentro de la cuenca de atracción de un único segundo punto de equilibrio estable (SEP2, SEP1) del otro conjunto (GSEP2, GSEP1) y que dicho segundo punto a su vez no está contenido en la cuenca de atracción de dicho primer punto (SEP1, SEP2); y que el tamaño de la cuenca de atracción de cada primer punto (SEP1, SEP2) es mayor que el tamaño de la cuenca de atracción de dicho segundo punto de equilibrio estable (SEP2, SEP1) que contiene el primer punto.

- 35 iii. alternar las distribuciones de fuerzas (F1, F2) a una frecuencia sustancialmente comparable a la inversa del tiempo de asentamiento de ambos tipos de partículas (BP, LP) desde un nuevo punto de equilibrio al siguiente siempre que el tamaño de las partículas sea compatible con aquel de la cuenca de atracción;

40 de manera que se obtenga un movimiento neto global de las partículas pequeñas (LP) mayor que el movimiento global neto de las partículas grandes (BP).

3. Un método como en la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por** el hecho de que dichos conjuntos de puntos de equilibrio estable (GSEP1, GSEP2) se generan por al menos un conjunto no homogéneo de electrodos (EL) distribuidos con una etapa constante de repetición espacial.

4. Un método como en la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por** el hecho de que dichos conjuntos de puntos de equilibrio estable (GSEP1, GSEP2) se generan por al menos un conjunto homogéneo de electrodos (EL) distribuidos con una etapa no constante de repetición espacial.

5. Un método como en la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por** el hecho de que dichos conjuntos de puntos de equilibrio estable (SEP1, SEP2) se generan por al menos un conjunto no homogéneo de electrodos (EL) distribuidos con una etapa no constante de repetición espacial.

55 6. Un método como en la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por** el hecho de que dichos conjuntos de puntos de equilibrio estable (SEP1, SEP2) se generan por al menos un conjunto homogéneo de electrodos (EL) distribuidos con una etapa constante de repetición espacial, suministrada con voltajes de amplitud no constante.

60 7. Un método como en una de las reivindicaciones 3, 4, 5 o 6, **caracterizado por** el hecho de que dichos conjuntos de puntos de equilibrio estable (SEP1, SEP2) se generan por dicho conjunto de electrodos (EL) y por al menos un electrodo (LID) que está hacia y con un ángulo a dicho conjunto de electrodos (EL).

8. Un aparato para realizar el método de la reivindicación 1 o 2, que comprende:

- 65 i. un número de matrices de al menos un electrodo, compuesto por una primera matriz de electrodos (EL1) y al menos una segunda matriz de electrodos (EL2);

ii. medios para aplicar un potencial eléctrico (V1) a dicha primera matriz de electrodos (EL1) y al menos un segundo potencial (V2) a dicha al menos segunda matriz de electrones (EL2);

5 en el que dichos electrodos y dichos medios para aplicar un potencial eléctrico a dichos electrodos se asocian operativamente de tal manera que sean capaces de

- generar una primera distribución en el espacio de un campo de fuerza (F1) **caracterizado por** un primer conjunto de puntos de equilibrio estable (GSEP1) para dichas partículas;

10 - generar una segunda distribución en el espacio de un campo de fuerza (F2) **caracterizado por** un segundo conjunto de puntos de equilibrio estable (GSEP2) para dichas partículas;

en el que dichas dos distribuciones de fuerzas (F1, F2) son de tal manera que cualquier primer punto de equilibrio (SEP1, SEP2) de uno de dichos conjuntos (GSEP1, GSEP2) se incluye inequívocamente dentro de la cuenca de atracción de un único segundo punto de equilibrio estable (SEP2, SEP1) del otro conjunto (GSEP2, GSEP1) y que dicho segundo punto a su vez no está contenido en la cuenca de atracción de dicho primer punto (SEP1, SEP2);

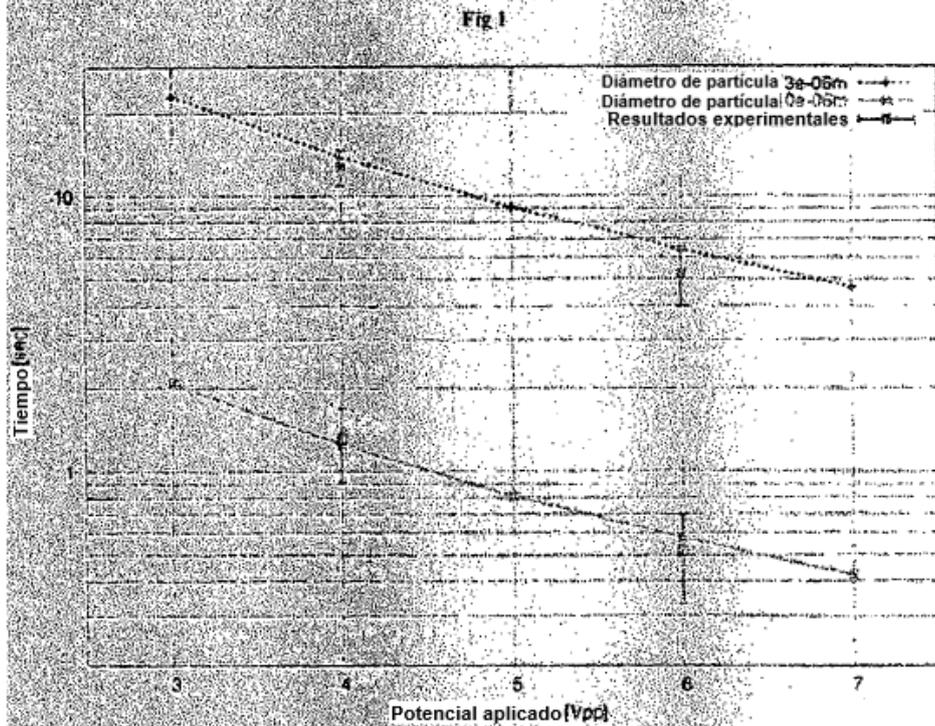
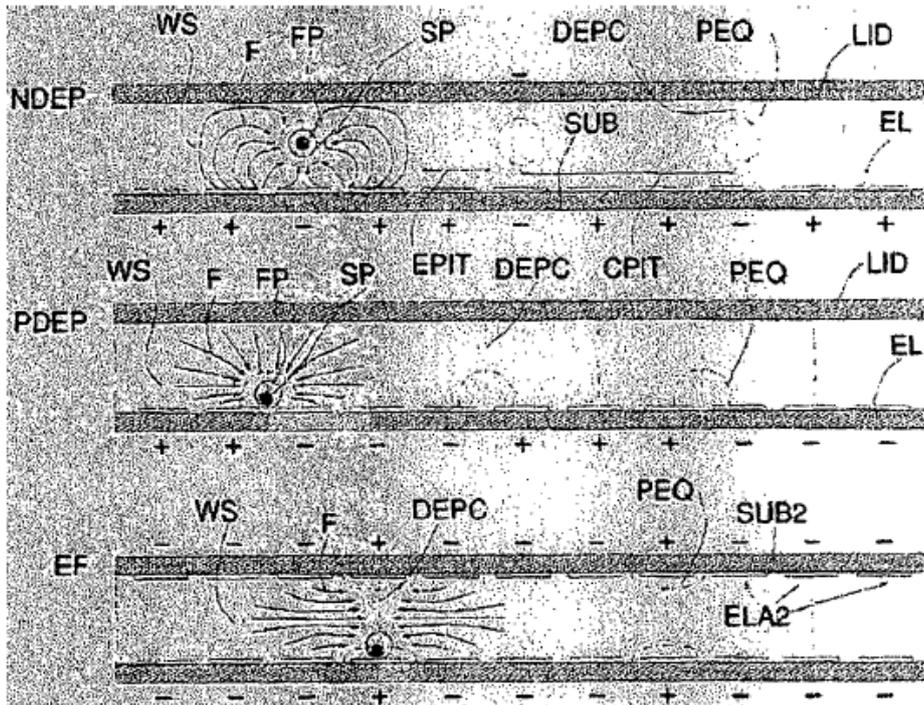
15 - alternar las distribuciones de fuerzas (F1, F2) a la dicha frecuencia;

20 y en el que el tamaño de la cuenca de atracción de cada primer punto (SEP1, SEP2) es mayor que el tamaño de la cuenca de atracción de dicho único segundo punto de equilibrio estable (SEP2, SEP1) que contiene el primer punto.

9. Un aparato como en la reivindicación 8, **caracterizado por** el hecho de que dichas matrices (EL1, EL2) están compuestas por electrodos distribuidos con una etapa no constante de repetición espacial.

25 10. Un aparato como en la reivindicación 8, **caracterizado por** el hecho de que dichas matrices (EL1, EL2) están compuestas por electrodos distribuidos en un sustrato (SUB) con una etapa constante de repetición espacial y una cubierta que está hacia y con un ángulo a dicho sustrato (SUB).

30 11. Un aparato como en la reivindicación 8, **caracterizado por** el hecho de que dichos electrodos de dicho número de matrices se distribuyen con una etapa constante de repetición espacial y que dichos medios para aplicar un potencial eléctrico a dichos electrodos son de tal manera que generen potenciales que tengan una amplitud en aumento o en disminución.



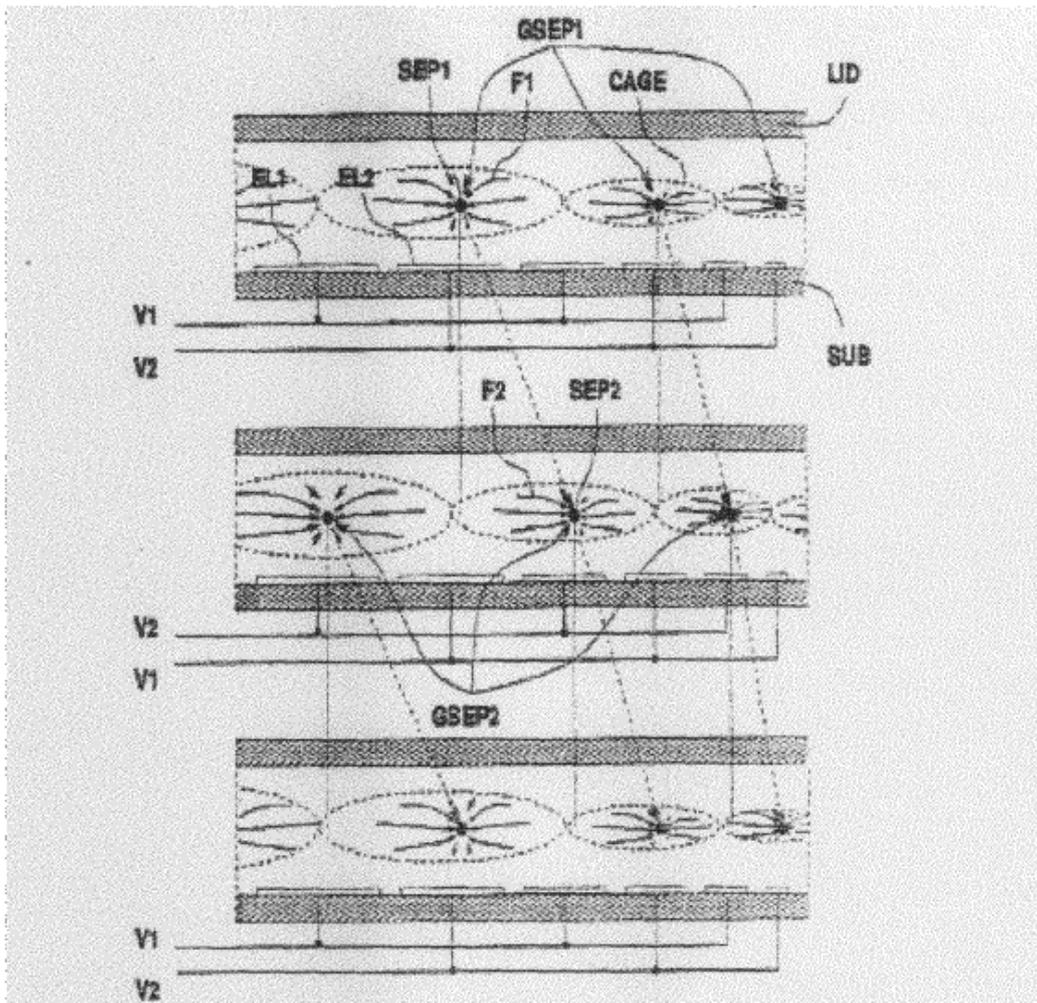


Fig. 3

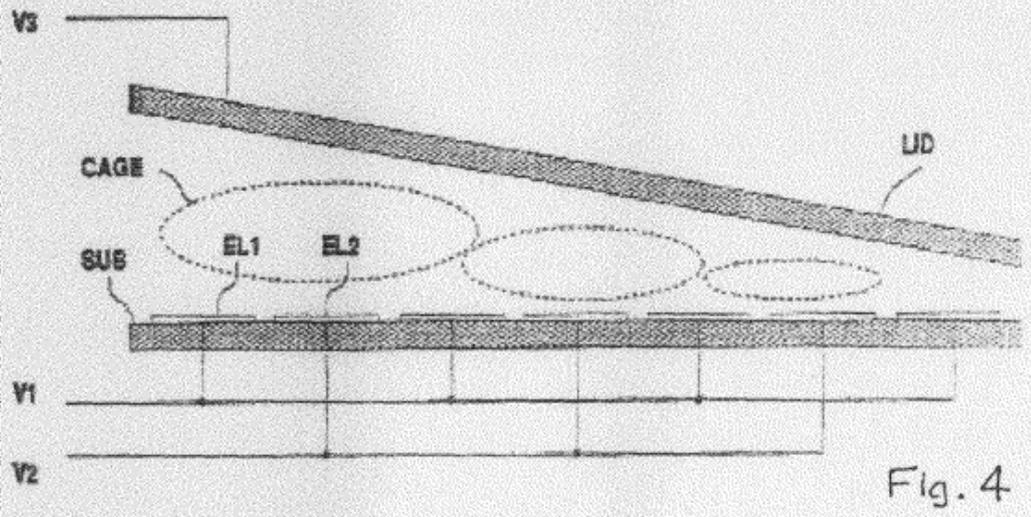


Fig. 4