

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 713**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

B29C 59/00 (2006.01)

B29C 59/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.08.2014 PCT/EP2014/068405**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.03.2015 WO15032701**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2014 E 14758531 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018 EP 3043909**

54 Título: **Componente para análisis de microfluidos y método de fabricación**

30 Prioridad:

09.09.2013 DE 102013217959

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

29.05.2019

73 Titular/es:

**EFFICIENT ROBOTICS GMBH (100.0%)
Bahnhofstraße 82
70806 Kornwestheim, DE**

72 Inventor/es:

KOLTERMANN, ALOIS

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 714 713 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

Componente para análisis de microfluidos y método de fabricación

5 [0001] La invención se refiere a un componente para análisis de microfluidos, que comprende un substrato capilar, un substrato de tapa contiguo a un lado de la tapa del substrato capilar y/o un substrato del fondo contiguo a un lado de la base del substrato capilar, una estructura capilar con al menos un capilar que forma un canal hueco en el interior del substrato capilar y/o en la interfaz del substrato capilar con el substrato de la tapa y/o en la interfaz del substrato capilar con el substrato de la base así como medios de conducción de fluido para la introducción de un fluido a través de la estructura capilar, y a un procedimiento de producción respectivo.

10 [0002] En la industria química, biológica y farmacéutica están en uso las llamadas instalaciones de análisis de alto rendimiento, con las que se pueden realizar hasta 100.000 análisis por día por un encadenamiento y combinación automatizados de puestos de procesamiento. Estos puestos sirven para el manejo, dispensación, mezcla, análisis, incubación y/o selección de muestras. Estas instalaciones están normalmente ligadas sin embargo a gastos relativamente elevados de manutención y de adquisición, una necesidad elevada de espacio, un consumo alto de reactivos y una puesta en servicio intensiva en personal. Para lograr mejoras aquí, hay un esfuerzo cada vez mayor para reemplazar partes de este proceso de análisis de cadena con el manejo de goteo en estructuras de microfluidos. Estos sistemas contienen estructuras capilares que se graban física o químicamente en un material de base como el vidrio o el silicio.

15 [0003] En el artículo de revista H. M. Joensson und H. Andersson Svahn, Droplet Microfluidics - A Tool for Single-Cell Analysis, Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, S. 12176-12192 se describe un sistema capilar de microfluidos de este tipo, cuyos elementos operacionales se ponen en servicio pasivamente mediante diferencias parciales de presión y geometrías capilares especiales en ventanas de proceso estrechas. Procesos complejos como una breve detención de corrientes de fluido, mezcla de fluidos conforme al volumen o individualización precisa de flujos parciales no son posibles con esta técnica.

20 [0004] A dichos sistemas capilares de microfluidos se puede asociar por ejemplo un sensor óptico para la medición de fluorescencia, que se encuentra normalmente fuera del sistema capilar, véase por ejemplo la contribución de la conferencia Agresti et al., Ultrahigh-throughput screening in drop-based microfluidics for directed evolution (Supporting information), Proc. of the Nat. Acad. of Science of the United States of America (PNAS), Band 107, Nr. 9 (2010), S. 4004-4009. Esta disposición no permite sin embargo ningún análisis directo de fluidos mediante contacto directo del sensor óptico con el fluido y así conduce a una detección peor y un gasto altamente de aparatos.

25 [0005] Otros diferentes componentes convencionales para análisis de microfluidos y procedimientos de producción respectivos se encuentran en las publicaciones US 200210142471 A1, DE 10 2005 061 629 A1, US 2006/0182738 A1, US 2004/0005582 A1 y US 2013/0190212 A1.

30 [0006] En los componentes para análisis de microfluidos convencionales, además, en la mayoría de los casos no son factibles análisis eléctricos del fluido dentro de los capilares. A causa de la intolerancia al material de los métodos cáusticos químicos o físicos utilizados, en la mayoría de los casos tampoco es posible una estructuración de sistema capilar, sensores y activadores de diferentes materiales con el mismo método sin influencia mutua. Además, en la mayoría de los casos no es posible, estructurar o integrar los elementos del accionador y sensor que consisten en otros materiales distintos del material de substrato del sistema capilar, de forma estanca a los fluidos en la pared capilar. Esto restringe de manera notable la elección de los principios del accionador y del sensor por utilizar.

35 [0007] La invención se basa en el problema técnico de la puesta a disposición de un componente para análisis de microfluidos y un método para su fabricación, con los que se puedan evitar los problemas explicados anteriormente de componentes convencionales para análisis de microfluidos y los métodos correspondientes de fabricación.

40 [0008] La invención resuelve este problema mediante la puesta a disposición de un componente para análisis de microfluidos con las características de la reivindicación 1 así como un método de fabricación con las características de la reivindicación 10.

45 [0009] Según la invención los medios de conducción del componente para análisis de microfluidos están dispuestos para compartimentalizar de forma controlada por impulso a presión dos fluidos no mezclables, dividiéndolos en un punto de embocadura, en el que se reagrupan dos capilares respectivos, en segmentos de fluido-fluido separados de forma consecutiva. Por lo tanto, no se tienen que poner a disposición para este objetivo geometrías capilares especiales. La conducción de fluido según la invención mediante impulsos a presión controlados y por ello producidos activamente permite además una mejor conducción del fluido y particularmente compartimentación de fluido de lo que es posible con geometrías capilares especiales y costosas y diferencias de presión parciales pasivas.

50

55

60

65

5 [0010] En un perfeccionamiento de la invención en el componente para análisis de microfluidos está integrado un elemento sensor en forma de línea, que se extiende hacia un capilar de la estructura capilar y desviándose de allí y está respectivamente en contacto con un extremo de contacto de fluidos así como al menos una parte contigua de su alimentación en el mismo plano paralelo al substrato capilar que el capilar. En este caso el elemento sensor en forma de línea termina con sus dos extremos de contacto de fluidos el ras en una pared lateral del capilar en el substrato capilar o se extiende hacia el interior del canal hueco. Esto hace posible que el elemento sensor en forma de línea entre en contacto durante el servicio en sus extremos de contacto de fluidos directamente con el fluido que fluye en el capilar, con lo que se puede mejorar de forma notable el comportamiento del sensor frente a sensores dispuestos fuera del componente para análisis de microfluidos.

10 [0011] En un perfeccionamiento de la invención el elemento sensor en forma de línea es un material de alambre ópticamente conductivo, p.ej. una fibra óptica, o un material de alambre eléctricamente conductivo. De esta manera se pueden poner a disposición de manera deseada sensores ópticos y/o eléctricos para el análisis de fluidos en una forma integrada en el componente para análisis de microfluidos.

15 [0012] En un perfeccionamiento de la invención el medio de conducción de fluidos se ha dispuesto para la puesta a disposición de los impulsos de presión con presiones de hasta el 10 bar y anchuras de impulso de entre 1µs y 10s. Esto permite particularmente una compartimentación fiable del fluido con rendimiento alto, es decir, un número elevado de compartimentos de fluidos o segmentos de fluidos por unidad de tiempo.

20 [0013] En un perfeccionamiento de la invención los medios de guía de fluido presentan una o varias válvulas integradas en el substrato de tapa y/o en el substrato de fondo, válvulas controlables para el cierre y apertura de un capilar respectivo de la estructura capilar. Por consiguiente, también las válvulas que controlan la conducción de fluido están integradas en el componente para análisis de microfluidos.

25 [0014] En un perfeccionamiento ventajoso de la invención el componente para análisis de microfluidos comprende al menos dos módulos del grupo que consiste en un módulo de compartimentación, un módulo de adición de fluidos, un módulo incubador y un módulo de selección. De esta manera se puede conseguir una combinación estructuralmente compacta de dos o varios módulos de este tipo en el componente para análisis de microfluidos que un componente individual.

30 [0015] En un perfeccionamiento de la invención el componente para análisis de microfluidos presenta un módulo de compartimentación y/o un módulo de adición de fluidos con un primer capilar y un segundo capilar que desemboca en este con un ángulo agudo, y los medios de conducción de fluido se han dispuesto para la conducción controlada por presión de un primer fluido en el primer capilar y un segundo fluido en el segundo capilar. De esta manera se pueden compartimentalizar los dos fluidos de forma muy exacta en forma de segmentos de fluido individuales con alta tasa de cadencia o se pueden reunir hacia un fluido mezclador.

35 [0016] En un perfeccionamiento de la invención el componente de análisis de microfluidos presenta un módulo de selección con un capilar de fluidos de análisis y un segundo capilar de fluidos de selección que se cruza con aquel, y los medios de conducción de fluido están dispuestos para el desacoplamiento selectivo de segmentos de fluido individuales del capilar de fluidos de análisis por conducción correspondiente controlada por presión de un fluido de selección en el capilar de fluidos de selección. Esto permite la separación intencionada de segmentos de fluido individuales de un flujo de fluidos de análisis segmentado mediante impulsos de presión activos apropiados sobre el fluido de selección.

40 [0017] En un perfeccionamiento de la invención el componente para análisis de microfluidos presenta una o varias bobinas magnéticas como un sensor o accionador respectivo, donde la bobina está integrada en o dentro del substrato capilar. Mediante el uso de una bobina magnética de este tipo, así como partículas magnéticas en el fluido conducido en el capilar, se pueden controlar o conducir p.ej. las condiciones de la corriente y las condiciones del proceso dentro de la estructura capilar de una manera deseada.

45 [0018] Con el método según la invención se puede fabricar ventajosamente un componente para análisis de microfluidos según la invención de tal manera que se forma al menos un capilar de la estructura capilar por una fase de tratamiento con arranque de virutas del substrato capilar y/o del substrato de la tapa y/o del substrato del fondo. Esto resulta ventajoso frente a otras técnicas convencionales de fabricación de estructuras capilares, particularmente en cuanto a gasto y flexibilidad de los materiales utilizables.

50 [0019] En una configuración del método según la invención, al formarse la estructura capilar a través de la etapa de tratamiento con arranque de virutas, un elemento sensor formado previamente, en forma de línea, que se cruza con el capilar o penetra hacia el interior del mismo, se deshace o se estructura unilateralmente en el área del capilar, es decir, se separa. De esta manera se puede poner a disposición de forma muy segura un elemento sensor, cuyo extremo de contacto de fluidos termina enrasando en una pared lateral del capilar o se extiende hacia el interior de su canal hueco y de esta manera, estando en funcionamiento, puede entrar en contacto directamente con el fluido conducido.

65

[0020] Formas de realización ventajosas de la invención se representan en los dibujos y se describen a continuación. A este respecto se muestran:

- Fig. 1
5 Un diagrama de bloques de una instalación para análisis de microfluidos con un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 2
10 Una vista seccional detallada esquemática de una estructura de capas de un componente para análisis de microfluidos que se puede usar en la instalación de la Fig. 1 con un sistema capilar tridimensional,
- Fig. 3
15 Una vista desde arriba esquemática y seccional sobre el componente para análisis de microfluidos a lo largo de una línea III-III de la Fig. 2,
- Fig. 4
una vista desde arriba esquemática sobre un sistema capilar de una parte de compartimentación de un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 5
20 Una vista desde arriba, esquemática sobre una pieza operacional para el análisis óptico de fluidos de un componente de análisis de microfluidos,
- Fig. 6
25 Una vista seccional a lo largo de una línea VI-VI de la Fig. 5,
- Fig. 7
Una vista desde arriba esquemática sobre una pieza operacional para la adición de fluidos de un componente de análisis de microfluidos,
- Fig. 8
30 Una vista desde arriba esquemática sobre un módulo de incubación para un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 9
35 Una vista desde arriba esquemática de una pieza operacional para la selección de fluido de un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 10
40 Una representación esquemática de un contenedor de almacenamiento para el almacenamiento desordenado de segmentos de fluido seleccionados para un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 11
45 Una representación esquemática de un almacenamiento de tubo flexible para el almacenamiento ordenado de segmentos de fluido seleccionados para un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 12
Una vista desde arriba esquemática de una pieza operacional para el control del flujo/proceso de una estructura capilar de un componente para análisis de microfluidos,
- Fig. 13
50 Una vista en sección longitudinal a lo largo de una línea XIII-XIII de la Fig. 12,
- Fig. 14
55 Una vista seccional esquemática de una parte de la estructura capilar de un componente para análisis de microfluidos con elemento sensor integrado,
- Fig. 15
60 Una vista desde arriba esquemática sobre una pieza operacional de un componente para análisis de microfluidos con válvula de control de flujo integrada para una estructura capilar,
- Fig. 16
Una vista en sección longitudinal a lo largo de una línea XVI-XVI de la Fig. 15 con válvula abierta,
- Fig. 17
65 La vista seccional de la Fig. 16 con válvula cerrada y

Fig. 18

Una vista desde arriba esquemática sobre un componente para análisis de microfluidos con módulos integrados para la compartimentación, adición de fluidos, análisis de segmentos y selección de segmentos.

5

[0021] Con la instalación para análisis de microfluidos representada esquemáticamente en la figura 1 se pueden realizar análisis de alto rendimiento para hasta 107 análisis por día. La instalación comprende una parte de microreactor 1, al que está asociado un medio de control, que en el ejemplo mostrado comprende una unidad de ordenador con software de control, un ordenador de medición 3 y una unidad de control para el manejo de fluido 4. La parte de microreactor 1 comprende en el ejemplo mostrado como módulo funcional un bloque de compartimentación 5, un primer bloque de condiciones de incubación 6, un primer bloque de análisis de fluidos 7, un bloque de inyección o de adición de fluidos 8, un segundo bloque de incubación 9, un segundo bloque de análisis de fluidos 10, un bloque de selección 11 y un bloque de almacenamiento 12 para segmentos de fluido seleccionados. Los módulos funcionales 5 hasta 12 citados se pueden formar respectivamente según necesidad a partir de módulos individuales separados físicamente o varios o pueden estar todos reunidos en una unidad física común respectiva, es decir, estar integrados en una. Las dimensiones de tales módulos o unidades tienen típicamente una longitud de aristas entre 3mm hasta la 1.000mm. Particularmente, solo uno de estos módulos funcionales, una parte de los mismos o todos estos módulos funcionales 5 hasta 12 pueden estar integrados en un componente para análisis de microfluidos con estructura capilar apropiada. La estructura capilar se puede realizar de una manera sustancialmente conocida, particularmente con sección capilar en forma rectangular, en forma de V o semicircular. En este caso, las dimensiones laterales y profundidades capilares entre capilares diferentes de la estructura capilar o también en el interior de los capilares pueden ser de típicamente 1µm hasta aproximadamente 10mm o pueden variar algo hacia arriba.

[0022] De una manera también conocida en sí misma el sistema capilar se puede configurar de forma bidimensional en un plano de una estructura típicamente a modo de capas del componente para análisis de microfluidos o alternativamente se puede configurar de forma tridimensional. En el último caso el sistema capilar también se extiende en la dirección perpendicular a los planos de capa. Las Fig. 2 y 3 ilustran en una sección correspondiente de un componente para análisis de microfluidos una estructura capilar tridimensional de este tipo. Como se puede ver, el componente para análisis de microfluidos comprende en este caso un substrato capilar 13, un substrato de tapa 14 contiguo a un lado de la tapa 13a del substrato capilar 13 así como un substrato de fondo 15 contiguo a un lado de base 13b del substrato capilar 13. En el ejemplo mostrado el substrato capilar 13 es de doble capa formado por una capa superior 13c y una capa inferior 13d, en formas de realización alternativas puede estar formado por una sola pieza o puede consistir o en más de dos capas. En el ejemplo mostrado se trata de substratos planos, pero de forma alternativa también son posibles substratos no planos.

[0023] En la estructura de capas está integrada una estructura capilar 16, que comprende uno o varios capilares 16a en uno o varios planos paralelos a los substratos de capas 13, 14, 15 y caminos de fluido 16b que unen, donde los caminos de fluido producen conexiones con los capilares 16a que se extienden en paralelo a los planos de capas. En el ejemplo mostrado los caminos de conexión 16b están formados de agujeros pasantes, que se extienden en vertical, es decir, perpendicular a los planos de capas, por el substrato capilar 13 o por una o varias de sus capas 13c, 13d. De forma alternativa, los caminos de conexión pueden estar formados por tubos flexibles, que conectan entre sí capilares 16a paralelos fuera de la estructura de capas, p.ej. en los bordes laterales de la estructura a capas.

[0024] Fig. 4 ilustra esquemáticamente una pieza funcional integrada en un componente para análisis de microfluidos para la compartimentación de fluidos, bajo lo que se entiende la formación de espacios de reacción separados dentro de una corriente de fluido a través de segmentos de fluido-fluido, por ejemplo, por formación estable de gotas. El módulo de compartimentación se puede integrar particularmente en el componente para análisis de microfluidos con un sistema capilar tridimensional según la forma de las Fig. 2 y 3 o alternativamente puede estar integrado con un sistema capilar bidimensional. En este caso el sistema capilar comprende un primer capilar 17 y un segundo capilar 18, que desemboca en el primer capilar 17. En el primer capilar 17 se alimenta un primer fluido 19, p.ej. un fluido por analizar. En el otro capilar 18 se alimenta un segundo fluido 20, p.ej. un fluido de separación. Ambos capilares 17, 18 se extienden exactamente en paralelo al substrato capilar 13. En el ejemplo mostrado desemboca el segundo capilar 18 en un ángulo agudo hacia la dirección de flujo del fluido FR del primer capilar 17 en el primer capilar.

[0025] De modo característico en el caso presente la compartimentación de fluido se realiza por alimentación o conducción controlada por impulso a presión de cada uno de los dos fluidos 19, 20 en sus capilares correspondientes 17, 18. Los impulsos a presión necesarios para esto se realizan por ejemplo mediante el control electrónico de válvulas piezoeléctricas o magnéticas, donde los horarios de apertura de las válvulas se modifican individualmente en una franja de algunos segundos hasta microsegundos. En este caso se pueden implementar diferencias de presión de los fluidos involucrados 19, 20 entre aproximadamente 10bar y aproximadamente 1 o menos. Los impulsos a presión para un fluido 19 por un lado y el otro fluido 20 por otro lado se sintonizan de forma adecuada entre sí, de modo que en el camino del capilar detrás del punto de desembocadura del capilar 18 en el capilar 17 utilizando dos líquidos no mezclables, como por ejemplo, un fluido por analizar a base de agua y un

aceite usado para fines de separación, surgen o se mantienen superficies respectivas de límites de fluido y de este modo se forman segmentos de fluido-fluido separados en forma de segmentos de compartimento 21 de los segmentos de separación y fluido 22 por analizar con el fluido de separación. El volumen de los segmentos individuales 21,22 se puede ajustar individualmente entre algunos mililitros hasta uno o unos pocos nanolitros. Cada segmento 21,22 se puede considerar como una gota o un volumen reactivo cerrado. Según la aplicación se puede realizar el transporte de fluidos sin dispersión o emulsiones controladas, eligiendo correspondientemente las geometrías capilares, los líquidos utilizados y los parámetros de proceso correspondientes, como lo entiende el experto.

[0026] En el ejemplo mostrado las secciones capilares 16a se encuentran exactamente en paralelo tanto entre las dos láminas de capa del substrato capilar 13c, 13d en el interior del substrato capilar 13 como también en la interfaz del substrato capilar 13 con el substrato de la tapa 14 y en la interfaz del substrato capilar 13 con el substrato de fondo 15. En este caso las secciones capilares exteriores se han formado respectivamente en los lados exteriores del substrato capilar 13 y se cubren por el substrato de la tapa 14 o el substrato del fondo 15 cubierto. De forma alternativa, estos capilares exteriores pueden estar formado completa o parcialmente por cavidades correspondientes en el substrato de la tapa 14 o en el substrato del fondo 15. La invención comprende por lo demás también formas de realización, en las que falta o bien el substrato de la tapa o el substrato del fondo y los capilares externos del substrato capilar están entonces presentes solo de forma contigua al substrato del fondo o el substrato de la tapa.

[0027] Por lo demás, se pueden usar para la conducción de fluido en el sistema capilar según la Fig. 4 así como en los demás sistemas capilares mencionados y sus piezas medios de conducción de fluido conocidos en sí mismos, lo que por lo tanto no requiere aquí de mayor explicación. El mando por impulso a presión específico se puede implementar particularmente en la parte de control de la instalación de la Fig. 1 y aquí particularmente en la unidad de control 4 que sirve para el manejo de fluido, en su caso con apoyo de la parte de software de los medios de control 2.

[0028] Las Fig. 5 y 6 ilustran un módulo del sensor, tal como puede ser componente integral de un componente para análisis de microfluidos según el tipo de la Fig. 2 hasta 4, por ejemplo, para la realización de uno de los dos bloques de análisis de fluido 7,10 en la instalación de la Fig. 1. El sensor mostrado esquemáticamente en las Fig. 5 y 6 comprende un sensor óptico con un elemento sensor 23 óptico integrado en el sistema capilar en forma de una fibra óptica u otro material de alambre en forma de línea de un material ópticamente conductor. El elemento sensor óptico en forma de línea tiene típicamente un diámetro de aproximadamente como máximo 1mm. Con ayuda del elemento sensor óptico 23 se puede analizar un fluido por conducir en un capilar de análisis 24, por analizar dentro del capilar 24 a través de estimulación, amortiguación y/o transferencia de energía en cuanto a su concentración fluorescente en el área de aprox. 1mM hasta aprox. 1nM. Además, por el elemento sensor óptico 23 es posible hacer una declaración sobre la polarización, vida útil, translucidez, absorción y/o dispersión del fluido. El fluido por analizar se conduce en el capilar 24 en los compartimentos 21 individuales mencionados anteriormente en la Fig. 4, donde los compartimentos están separados entre sí por los segmentos de separación 22.

[0029] El elemento sensor 23 en forma de línea se extiende de modo característico, como mostrado, en el mismo plano que el capilar que conduce fluido 24, donde cruza este, p.ej. en un ángulo recto, y con respectivamente un extremo del contacto con el fluido 23a, 23b termina enrasando con la pared lateral capilar respectiva con contacto libre con la cavidad capilar. De esta manera el elemento sensor óptico 23 durante el servicio está en contacto directo con el fluido por analizar conducido en el capilar 24. De forma alternativa al cierre al ras con la pared lateral capilar, los extremos de contacto del fluido 23a, 23b del elemento-sensor 23 se pueden adentrar con una longitud ajustada definida de por ejemplo algunos micrómetros hacia el interior del canal hueco del capilar 24. El elemento sensor 23 óptico en forma de línea está unido a través de encolado, moldeo, corte, impresión, fundición o por otra técnica convencional de forma fija y de forma hermética a fluidos al substrato del capilar 13. Las mediciones ópticas realizadas con el elemento sensor 23 con los medios de control de por ejemplo el ordenador de medición 3 de la Fig. 1 se pueden realizar p.ej. con frecuencias de muestreo mayores que 100Hz.

[0030] En el ejemplo mostrado el elemento sensor 23 se extiende en ambos lados del capilar 24 hacia este y apartándose de este. En formas de realización alternativas el elemento sensor puede consistir también solo en un elemento en forma de línea que conduce al capilar o de un elemento en forma de línea que se desvía del capilar. Bajo la caracterización de que el elemento sensor termina con su extremo respectivo de contacto con fluidos, enrasando con la pared lateral del capilar con contacto libre con la cavidad capilar, en el caso presente también se tiene que entender el caso de que el capilar presenta una convexidad lateral o un agujero ciego que parte lateralmente o un canal ciego correspondiente, hasta que el elemento sensor se extiende con su extremo de contacto de fluidos, sin tener que extenderse hasta la altura completa del resto del canal hueco. Esencial es en este punto respectivamente solo que el elemento sensor está en contacto directo en su extremo de contacto con fluidos con el fluido en el capilar.

[0031] Mientras en el ejemplo mostrado toda la sección mostrada del elemento sensor 23 en forma de línea se encuentra en el plano del capilar 24, en formas de realización alternativas una pieza del elemento sensor distanciada del capilar puede estar fuera de este plano. Hasta este punto solamente es importante respectivamente

que el extremo de contacto con el fluido mismo y preferiblemente también una pieza del elemento sensor en forma de línea que se une a aquel se encuentre en el plano del capilar asociado.

[0032] De forma alternativa al elemento sensor óptico mencionado se puede usar analógicamente un elemento sensor eléctrico en forma de línea, que a tal objeto consiste correspondientemente en un material de alambre eléctricamente conductor, así como un metal o un material compuesto eléctricamente conductor. También en este caso el elemento sensor eléctricamente conductor con extremos libres de contacto con fluido puede tener contacto directo con el fluido por analizar conducido por el capilar, en tanto en cuanto estos extremos de contacto con fluido cierran de nuevo enrasando con la pared lateral capilar o con una longitud definida de por ejemplo algunos micrómetros se adentran hacia en interior del canal hueco del capilar. Un elemento sensor de este tipo eléctricamente conductor, en forma de línea tiene normalmente un diámetro de a lo sumo aproximadamente 1mm y en acción conjunta con una electrónica de evaluación adecuada, como se puede implementar p.ej. en el ordenador de medición 3 de la Fig. 1, permite una determinación de la conductividad eléctrica del fluido por analizar en el área de hasta aproximadamente 200mS. La resistencia específica del fluido por analizar se puede ser determinar o disolver en el área de aprox. 1mΩ hasta aprox. 1MΩ. El material de alambre eléctricamente conductor está unido de forma fija y estanca al fluido por medio de encolado, moldeo, separación, impresión o fundición o cualquier otra técnica adecuada al substrato del capilar 13. Las mediciones se pueden realizar por ejemplo a su vez con frecuencias de muestreo de más de 100Hz.

[0033] Fig. 7 ilustra de forma esquemática y seccional un módulo de adición de fluidos, que puede ser a su vez componente integral de un componente para análisis de microfluidos de la Fig. 2 hasta 4, particularmente para la realización de un bloque de módulo de inyección de fluido 8 en la instalación de la Fig. 1. La estructura capilar del módulo de adición de fluidos se asemeja a aquella del módulo de compartimentación de la Fig. 4, en tanto en cuanto comprende un primer capilar 25 y un segundo capilar 26, que desemboca p.ej. en ángulo agudo respecto a la dirección de flujo de fluido FR del primer capilar 25 en el primer capilar 25. En el primer capilar 25 se conduce antes del punto de desembocadura un fluido ya compartimentalizado previamente, es decir, la corriente de fluido de allí consiste en los segmentos de compartimento individuales 21 y los segmentos de separación 22 individuales que separan estos, tal y como se produce en el módulo de compartimentación de la Fig. 4. En el otro capilar 26 se alimenta un fluido 27 por mezclar.

[0034] La alimentación del fluido 27 por mezclar se realiza a su vez controlada por impulso a presión de tal manera que el fluido por mezclar en el punto de desembocadura del capilar se inyecta específicamente en los segmentos de compartimentación 21, que permanecen separados por los segmentos de separación 22. Detrás del punto de desembocadura existen de esta manera segmentos de compartimento 21', que además del fluido de entrada contienen el fluido añadido y además están separados entre sí por los segmentos de separación 22. Con presiones de hasta aprox. 10bar se puede ajustar de manera intencionada el volumen del fluido por añadir en el área de entre aprox. 1nl y aprox. 1ml a través de una variación de los horarios de apertura de las válvulas coordinadas entre aprox. 1μs y algunos segundos. Las válvulas se pueden disponer a su vez en el exterior o en el sistema capilar. Se entiende, que la mezcla de fluido se puede añadir según necesidad en cada segmento de compartimento o alternativamente solo en segmentos de compartimento de la corriente de fluido de entrada seleccionados delante del punto de mezcla, ajustando de forma correspondiente el control de impulso a presión.

[0035] Fig. 8 ilustra un módulo de incubación, tal y como puede estar integrado en un componente para análisis de microfluidos o puede estar asociado a este de forma externa, por ejemplo, para el uso para los bloques de función de incubación 6,9 en la instalación de la Fig. 1. En el ejemplo mostrado el módulo de incubación 28 comprende una estructura capilar en forma de meandro en el substrato capilar 13 o una interfaz de la misma respecto a un substrato del fondo o de la tapa. En esta estructura capilar 28 con forma de meandros se pueden usar también de forma alternativa estructuras de incubación en forma de tubo flexible, se pueden alojar hasta 107 segmentos de fluido durante varias horas hasta días. En este caso permanece la asignación de cada segmento de fluido a sus parámetros de proceso, así como a las informaciones en cuanto a concentraciones y reactivos inyectados. La temperatura ambiente del módulo de condiciones de incubación se puede regular para el control de reacciones químicas o biológicas. En caso de necesidad se puede enriquecer el entorno del módulo de incubación o la estructura capilar con gases del proceso. El tiempo de permanencia de cada segmento en el módulo de condiciones de incubación se ajusta preferiblemente de forma individual mediante válvulas accionadas electrónicamente.

[0036] Fig. 9 ilustra de forma esquemática y fragmentada un módulo de selección, como se puede integrar en un componente para análisis de microfluidos, por ejemplo, para la puesta a disposición del bloque de función de selección 11 en la instalación de la Fig. 1. El módulo de selección tiene una estructura capilar al lado de o en el substrato capilar 13, que comprende un capilar 29 que conduce el fluido analizado y un capilar de fluido de selección 30 que se cruza con aquel, en que a su vez se alimenta controlado por presión un fluido de separación 31. La corriente de fluido analizada en el capilar 29 consiste en la sucesión mencionada varias veces de segmentos de compartimento 21 y segmentos de separación 22. El punto de intersección de ambos capilares 29,30 forma un punto de separación, en el que un segmento de fluido 32 prefijable, seleccionado, por seleccionar, se presiona por un impulso a presión correspondiente sobre el fluido de selección 31 hacia fuera del capilar 29 y hacia el interior del capilar del fluido de selección 30. En el capilar del fluido de selección 30 detrás del punto de separación o de

intersección están por tanto secuencialmente los segmentos de fluido seleccionados separados a través de un segmento de fluido de selección respectivo. Para la selección de los segmentos de fluido se realiza la alimentación del fluido de selección por impulsos a presión regulados entre aprox. 0,1bar y aprox. 10bar. Estos impulsos a presión se pueden producir p.ej. a través de válvulas controladas electrónicamente a través de horarios de apertura en el área de aproximadamente 1µs a aproximadamente 10s o por encima. El volumen del segmento de fluido seleccionado así se encuentra típicamente en el área de aprox. 1nl a aprox. 1ml.

[0037] Las figuras 10 y 11 ilustran dos implementaciones posibles de un módulo de almacenamiento, tal y como se puede usar para el bloque de funciones de almacenamiento 12 en la instalación de la figura. Para este propósito, la figura 10 muestra un contenedor de almacenamiento en forma de tanque 33 que está lleno con un medio de almacenamiento líquido 34 que recibe segmentos de fluido seleccionados 35 de manera flotante. Dado que los segmentos de fluido seleccionados 35 se dispensan de esta manera desordenadamente en el contenedor de recolección 33, esto representa un método de almacenamiento sin mantener la asignación de segmentos.

[0038] Fig. 11 muestra de forma alternativa un método de almacenamiento, en el que se mantiene la asignación de segmentos a los parámetros del proceso correspondientes, así como la información referente a las concentraciones y reactivos inyectados. Para ello sirve un tubo flexible 36, en el que se alojan de forma secuencial y separados entre sí a través de segmentos de separación 38, segmentos de fluido seleccionados 37. Los segmentos 37 se pueden dispensar en un sitio previamente determinado de una placa de microtítulo.

[0039] Las Fig. 12 y 13 ilustran esquemáticamente una sección de un componente para análisis de microfluidos con una estructura capilar, a la que están asociadas bobinas magnéticas, que pueden actuar por ejemplo como sensores o accionadores y que están integrados en o dentro del substrato capilar 13. En el ejemplo mostrado dos bobinas magnéticas 39 están dispuestas una detrás de la otra con distancia predeterminada en la dirección del flujo de fluido en un capilar 40, que a su vez sirve para la conducción de los segmentos de fluido de compartimento 41 separados entre sí por medio de segmentos de separación 22. Las dos bobinas 39 están dispuestas en el caso mostrado directamente en el capilar 40 en dos lados desplazados entre sí en 90° respecto a un eje longitudinal del capilar 40. Con alturas de bobinas y con dimensiones de bobinas de menor tamaño que aprox. 6mm, es posible generar con tales bobinas 39 inducciones de aprox. 1nH hasta aprox. 10mH con ciclos de funcionamiento de entre aprox. 0,01Hz y aprox. 100kHz. Por medio del uso de partículas magnéticas en el fluido conducido en el capilar 40 se pueden controlar o conducir de este modo las condiciones de corriente y condiciones del proceso dentro de la estructura capilar.

[0040] Fig. 14 ilustra en una vista seccional de forma similar a la Fig. 6 una etapa del procedimiento característica del proceso según la invención para la fabricación de un componente para análisis de microfluidos. Esta etapa del procedimiento comprende la producción de la estructura capilar, en la Fig. 14, especialmente de un capilar mostrado 42, por una fase mecanizada de tratamiento del substrato capilar 13, según el caso de aplicación de forma alternativa o adicional una fase mecanizada de tratamiento del substrato de la tapa y/o del substrato del fondo. Por esta fabricación mecanizada del capilar 42 se puede estructurar además un elemento sensor 43 lineal, óptico o eléctrico, que se cruza con el capilar 42 o se introduce en su interior. Por estructuración del elemento sensor 43 se puede entender a este respecto la fabricación de un extremo del contacto del fluido del elemento sensor, que se encuentra al ras con una pared lateral del capilar 42 o que se extiende en una longitud prefijable hacia el interior del canal hueco o desplazado frente a este o en una distancia prefijada respecto a este canal hueco hasta una convexidad o un desvío ciego del canal hueco. Esta estructuración puede comprender la separación de un elemento sensor que se extiende a ambos lados del capilar 42 o la separación de un elemento sensor que se extiende solo unilateralmente hacia el capilar 42 o desviándose de este. Para ello el elemento sensor 43 no tiene que ser del mismo material o de un material similar al substrato del capilar 13, la fabricación mecanizada de la estructura capilar y del extremo del contacto con fluidos del elemento sensor más bien permiten una flexibilidad alta en la elección de los materiales para el sistema capilar 13 por un lado y el elemento sensor 43 por otro lado.

[0041] Las Fig. 15 hasta 17 ilustran una integración ya mencionada anteriormente y ventajosa de una válvula de conducción de fluido 44 en un substrato de tapa 45 de una estructura de capas con substrato capilar 13 y substrato de tapa 15. La válvula 44 consiste en un material dúctil, como silicona, y está introducida en una abertura de paso vertical del substrato de la tapa 45 introducido de tal manera, que según el estado de la estimulación deja abierto un capilar 46 que está debajo, como mostrado en la Fig. 16, o se cierra, como se muestra en la Fig. 17. Por accionamiento correspondiente de la válvula 44 se puede controlar desde fuera por lo tanto de una manera deseada la corriente de fluido a través del capilar 46.

[0042] La Fig. 18 ilustra esquemáticamente en una vista desde arriba un componente para análisis de microfluidos de una sola pieza 60, que contiene de forma integrada un módulo de compartimentación 47, un módulo de mezcla de fluidos 48, un módulo de análisis de segmentos 49 y un módulo de selección 50. En el módulo de compartimentación 47 se introduce por el lado de la entrada a través de un capilar 52, 53 respectivo un fluido de separación o una solución acuosa como fluido por analizar. El fluido por analizar abandona el módulo de compartimentación 47 en forma de compartimentos en un capilar 51 separados entre sí por los segmentos de separación. Al módulo de mezcla de fluidos 48 se ha asociado delante del punto de mezcla un elemento sensor

54 lineal, preferiblemente eléctrico, que funciona como un primer detector de compartimento. El fluido por añadir se conduce al módulo de mezcla de fluidos 48 por medio de un capilar de fluidos por añadir 55 correspondiente. Por el detector de compartimento 54 se detecta la posición y sucesión del compartimento del fluido en el capilar 51, y dependiendo de esto se añade el fluido por añadir controlado por impulso a presión en el capilar 51.

5

[0043] Al módulo de análisis de segmento 49 se asocia un elemento sensor 56 en forma de línea, donde se puede tratar particularmente de un elemento sensor óptico o eléctrico del tipo mencionado anteriormente, que sirve para el análisis del fluido compartimentalizado. En el lado de salida del módulo para análisis de segmentos 49 se encuentra un segundo detector de compartimento 57, para detectar a su vez allí la posición y sucesión del compartimento de fluido. Al módulo de selección contiguo 50 se asocia un capilar de fluido de separación 58 que intersecciona con el capilar 51, alimentándose el capilar de fluido de separación delante del capilar 51 controlado por impulso a presión con un fluido de selección en dependencia de la detección de los segmentos de fluido por el segundo detector de compartimento 57 y donde el módulo que va en dirección corriente abajo del punto de intersección con el capilar 51 aloja los segmentos de fluido seleccionados separándolos entre sí por segmentos correspondientes del fluido de separación. El fluido restante en el capilar 51 abandona entonces el componente para análisis de microfluidos 60 sin los segmentos de fluido separados.

10

15

[0044] Se entiende que en formas de realización alternativas un componente para análisis de microfluidos según la invención puede comprender solo una parte de los cuatro módulos 47, 48, 49, 50 mostrados en la Fig. 18 o cualquier otra combinación de los módulos o bloques funcionales, tal y como son componente del microreactor 1 en la instalación de análisis de la Fig. 1.

20

[0045] El componente para análisis de microfluidos según la invención es adecuado para diversos usos de análisis y aplicaciones como detección de drogas, optimización de enzimas, células y/o proteínas, optimización y sintetización de anticuerpos y diagnóstico.

25

REIVINDICACIONES

1. Componente para análisis de microfluidos que comprende

- 5 - un sustrato capilar (13),
 - un sustrato de la tapa (14) contiguo a un lado de la cubierta del sustrato capilar y/o un sustrato de la base (15) contiguo a un lado de la base del sustrato capilar,
 - una estructura capilar (16) que tiene al menos un capilar que forma un canal hueco en el interior del sustrato capilar y/o en la interfaz del sustrato capilar con el sustrato de la tapa y/o en la interfaz del sustrato capilar con el sustrato de la base y
 10 - elementos de conducción de fluido para la conducción de un fluido a través de la estructura capilar,

caracterizado por el hecho de que

- 15 - los medios de conducción de fluido presentan una pieza funcional de compartimentación de fluido para la compartimentación de fluido controlada por impulso a presión, que conduce a dos fluidos (19,20) no mezclables a dos capilares (17, 18) de la estructura capilar reunidos en un punto de desembocadura y en el punto de desembocadura compartimentaliza en segmentos separados sucesivos de fluido-fluido (21, 22).

- 20 2. Componente para análisis de microfluidos según la reivindicación 1, **caracterizado además por el hecho de que** además caracterizado por el hecho de que en el componente para análisis de microfluidos está integrado un elemento sensor (23) en forma de línea, que se extiende hacia un capilar de la estructura capilar y desviándose de allí y está respectivamente en contacto con un extremo de contacto de fluidos (23a, 23b) así como al menos una parte contigua de su alimentación en el mismo plano paralelo al sustrato capilar que el capilar, donde En este caso el elemento sensor en forma de línea termina con sus dos extremos de contacto de fluidos al ras con una pared lateral del capilar en el sustrato capilar o se extiende hacia el interior del canal hueco.
- 25

- 30 3. Componente para análisis de microfluidos según la reivindicación 2, **caracterizado además por el hecho de que** el elemento sensor lineal comprende un material de alambre ópticamente conductor o eléctricamente conductor.

- 35 4. Componente para análisis de microfluidos según una de las reivindicaciones 1 hasta 3, **caracterizado además por el hecho de que** los medios de conducción de fluido están diseñados para la puesta a disposición de los impulsos de presión con presiones de hasta 10bar y anchos de pulso de entre 1µs y 10s.

5. Componente para análisis de microfluidos según una de las reivindicaciones 1 hasta 4, **caracterizado además por el hecho de que** los medios de conducción de fluido presentan al menos una válvula (44) activable integrada en el sustrato de las tapa o el sustrato de la base, para el cierre y apertura de un capilar de la estructura capilar.

- 40 6. Componente para análisis de microfluidos según una de las reivindicaciones 1 hasta 5, **caracterizado además por el hecho de que**

- contiene de forma integrada al menos dos módulos del grupo, que consiste en un módulo de compartimentación, un módulo de adición de fluidos, un módulo de incubación, un módulo de análisis de fluidos y un módulo de selección, y/o

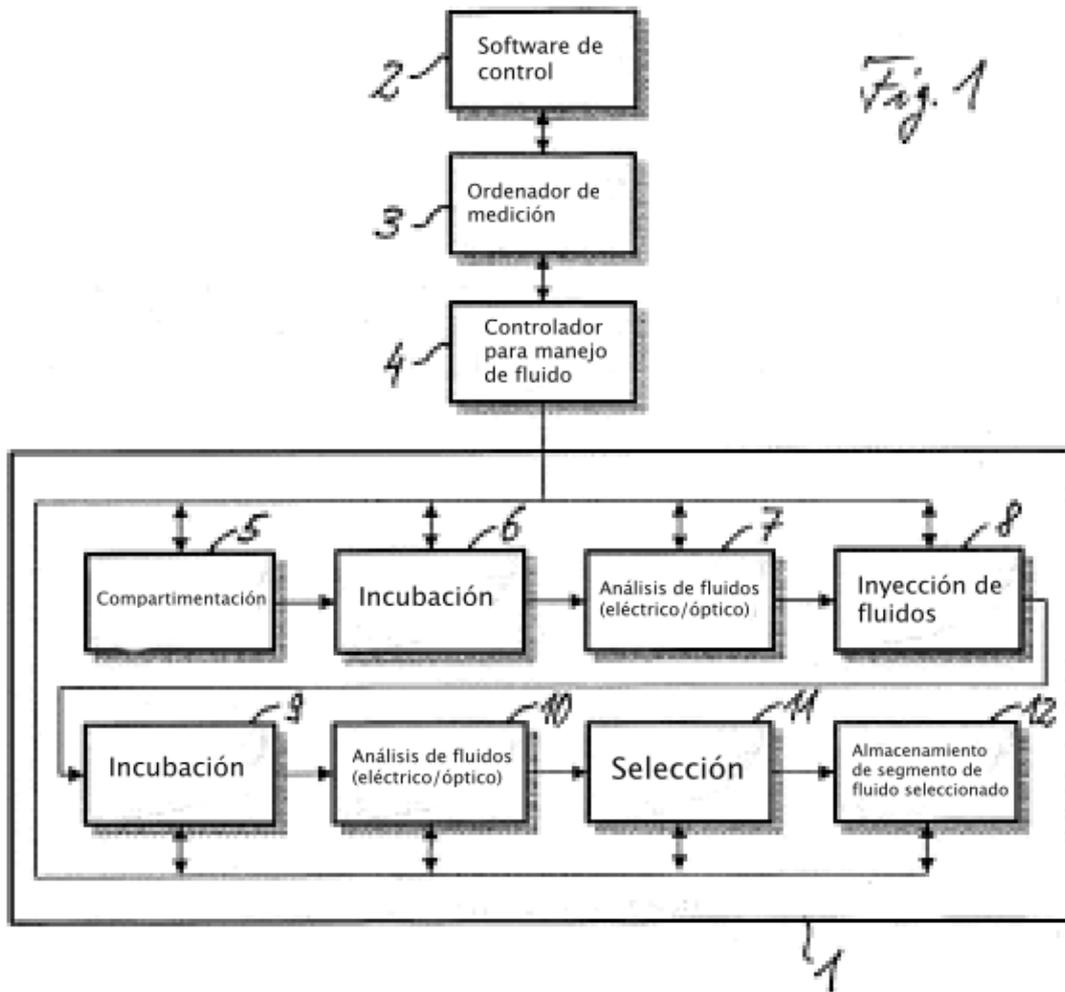
- 45 - presenta un tubo flexible de almacenamiento (36), en el que segmentos de fluido seleccionados (37) de los segmentos de fluido-fluido se alojan de forma secuencial y separados entre sí a través de segmentos de separación (38).

- 50 7. Componente para análisis de microfluidos según una de las reivindicaciones 1 hasta 6, **caracterizado además por el hecho de que** incluye un módulo de compartimentación y/o un módulo de adición de fluidos con un primer capilar (17,25) y un segundo capilar (18,26) que desemboca en este, y los medios de conducción de fluido se han dispuesto para la conducción controlada por presión de un primer fluido en el primer capilar y de un segundo fluido en el segundo capilar.

- 55 8. Componente para análisis de microfluidos según la reivindicación 6 o 7, **caracterizado además por el hecho de que** presenta un módulo de selección con un capilar de fluidos de análisis (29) y capilar de fluidos de selección (30) que se cruza con aquel, y los medios de conducción de fluido están dispuestos para el desacoplamiento selectivo de segmentos de fluido individuales del capilar de fluidos de análisis por conducción correspondiente controlada por presión de un fluido de selección (31) en el capilar de fluidos de selección.

- 60 9. Componente para análisis de microfluidos según la reivindicación 1, **caracterizado además por el hecho de que** presenta unas o varias bobinas magnéticas como un sensor o accionador respectivo, que está/están integrado/s en o dentro del sustrato capilar.

10. Método para la fabricación de un componente para análisis de microfluidos según una de las reivindicaciones 1 hasta 9, **caracterizado por el hecho de que** se forma al menos un capilar de la estructura capilar por una fase mecanizada de tratamiento del substrato capilar y/o del substrato de la tapa y/o del substrato de la base.
- 5 11. Método según la reivindicación 10, **caracterizado además por el hecho de que** a través de una fase mecanizada de tratamiento con la que se forma el capilar correspondiente, un elemento sensor formado previamente que se cruza con el capilar o se introduce en el capilar, se abre o secciona en el área del capilar.



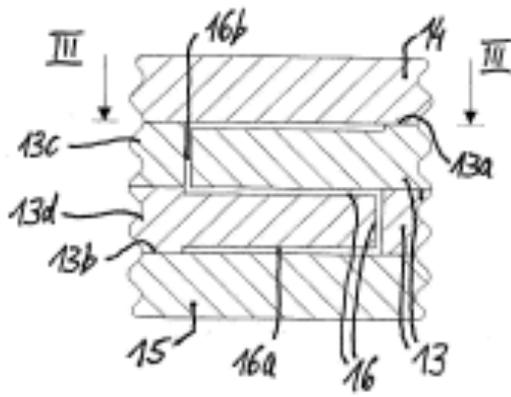


Fig. 2

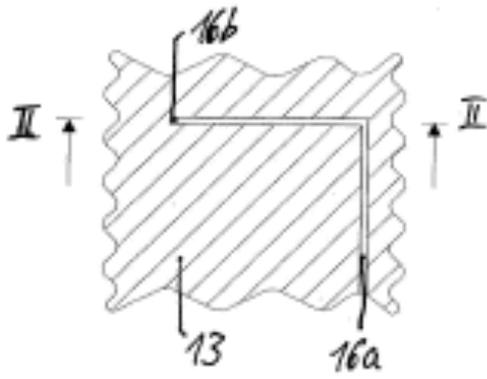


Fig. 3

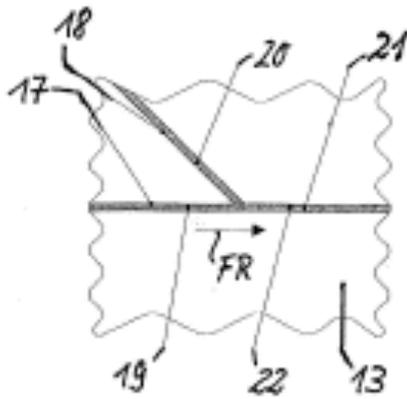


Fig. 4

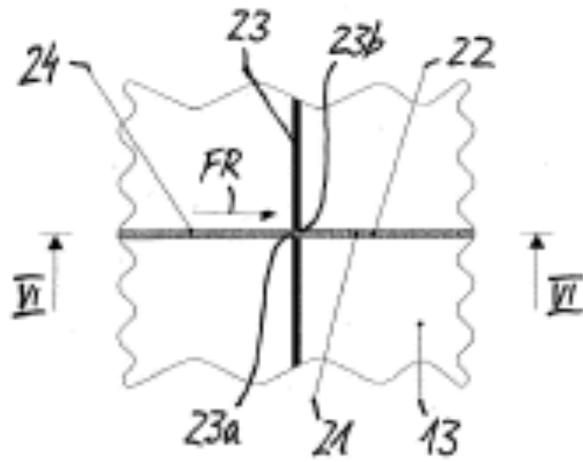


Fig. 5

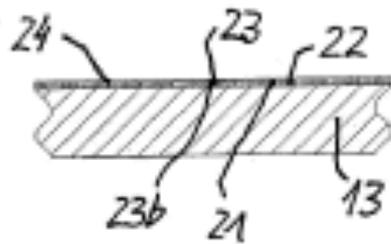


Fig. 6

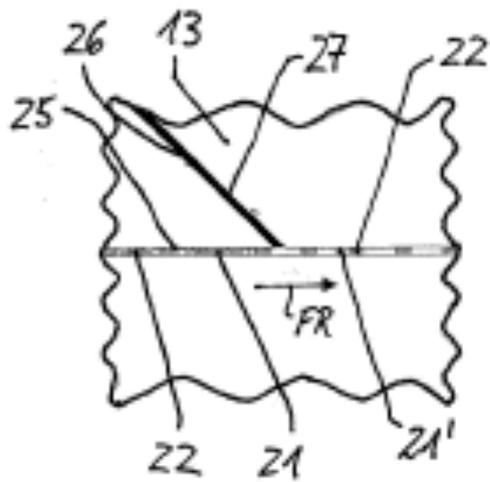


Fig. 7

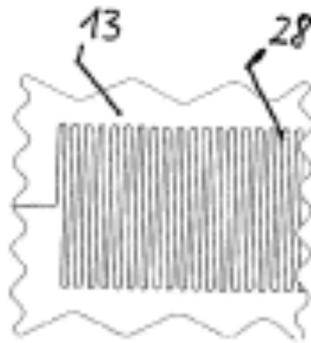


Fig. 8

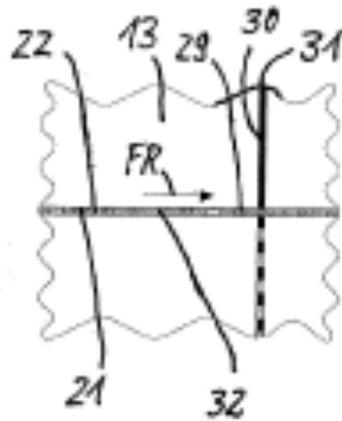


Fig. 9

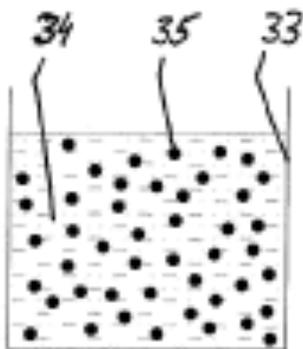


Fig. 10

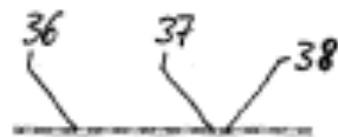


Fig. 11

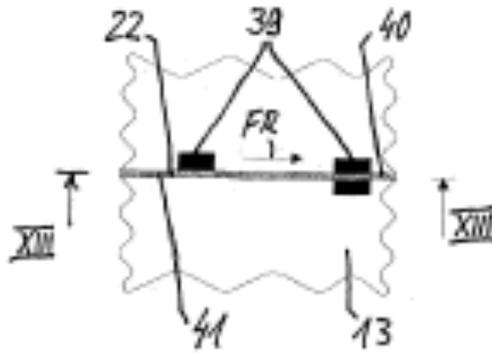


Fig. 12

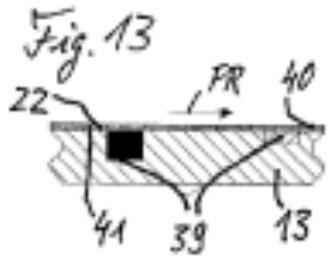


Fig. 13

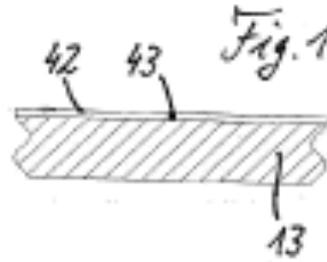


Fig. 14

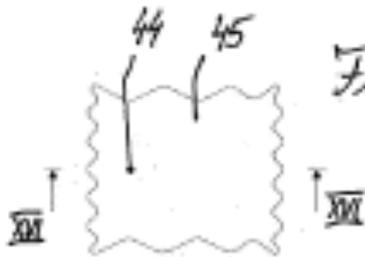


Fig. 15

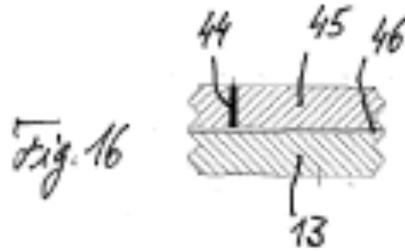


Fig. 16

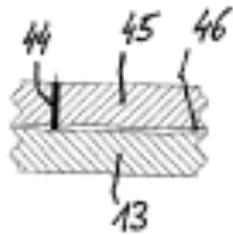


Fig. 17

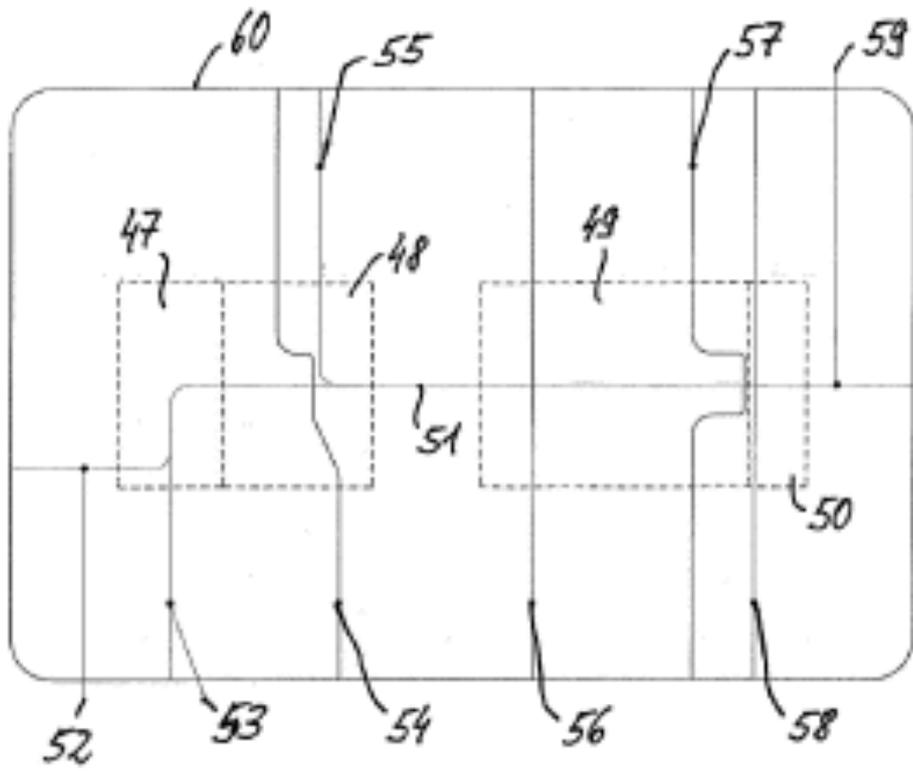


Fig. 18