

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 746 212**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)

F16K 99/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2014 PCT/DE2014/000487**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015 WO15051776**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2014 E 14799657 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019 EP 3055065**

54 Título: **Sistema de microrreactor**

30 Prioridad:

07.10.2013 DE 102013016521

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

05.03.2020

73 Titular/es:

**M2P-LABS GMBH (100.0%)
Arnold-Sommerfeld-Ring 2
52499 Baesweiler, DE**

72 Inventor/es:

**KENSY, FRANK;
FRISCHE, NIKLAS y
MÜLLER, CARSTEN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 746 212 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

Sistema de microrreactor

La invención se refiere a un sistema de microrreactor con una membrana y un paso dispuesto debajo hacia una cámara de reacción o un reactor que está rodeado por una superficie que forma junto con la membrana un conducto de fluido, y a una utilización de un sistema de microrreactor de este tipo.

En particular, la invención se refiere a un dispositivo para la dosificación o evacuación de pequeñas cantidades de líquidos o gases en microrreactores y matrices de microrreactores, por ejemplo, placas microtituladoras. Además, la invención describe un sistema global para la realización sencilla de un transporte de líquido o gas dentro de una matriz de microrreactores.

Una matriz de este tipo de acuerdo con la invención puede estar compuesta por un bloque de conexiones de accionamiento, la matriz de microrreactores con chip de microfluidos integrado, una cubierta de la matriz y un dispositivo de sujeción. A este respecto, el sistema debe poder manipularse de manera muy sencilla y no deben ser necesarias laboriosas conexiones tubulares de manera manual. La matriz de microrreactores con chip de microfluidos integrado se inserta de manera sencilla, se sujeta y después funciona directamente. El sistema de accionamiento puede estar realizado con autoajuste y no requiere ninguna intervención manual. El chip de microfluidos está compuesto de válvulas que están realizadas a partir de un segmento esférico con una junta lineal concéntrica y una membrana flexible. En el centro de la válvula y en el perímetro del segmento esférico desembocan microcanales. La membrana flexible se puede mover por medio de un sistema de accionamiento y puede abrir y cerrarse de tal modo que se puede controlar un transporte de líquido o de gas al menos entre dos canales.

En la biotecnología, están muy extendidas las placas microtituladoras para la realización de pruebas. Por medio de placas tituladoras convencionales, se pueden realizar matrices de microrreactores de hasta 6, 24, 48, 96, 384 o incluso 1536 microrreactores individuales. Al igual que varía mucho el número de los microrreactores, también puede ser diferente el volumen de los reactores individuales. Mientras que ya en escalas de menos de 10 ml se habla de microrreactores, una mayor reducción del volumen a menos de 1 ml, menos de 500 μ l, menos de 100 μ l o incluso menos de 10 μ l puede traer consigo algunas ventajas. La relación superficie-volumen elevada por la reducción de volumen aumenta y, con ello, se hace más sencillo un aporte de oxígeno a la solución de reacción mediante difusión sencilla. Las matrices de microrreactores pueden ser agitadas continuamente hasta la finalización de la reacción. La dosificación individual permite la realización de diferentes ensayos en cada uno de los reactores individuales. La invención es apropiada en particular para la automatización de pruebas de detección en un modo de funcionamiento *fed-batch*, un modo de funcionamiento continuo y/o con regulación de pH. Se refiere particularmente a reacciones microbianas, de cultivos celulares, bioquímicas, enzimáticas y químicas. La invención permite un funcionamiento estéril, aséptico o monoséptico.

Como magnitudes de ajuste para la regulación de la dosificación, pueden utilizarse parámetros de procedimiento como, por ejemplo, el valor pH, concentraciones de oxígeno diluido, dióxido de carbono diluido, de biomasas, de eductos y productos o la temperatura. En particular, en relación con la invención, es apropiada una detección no invasiva de los parámetros procedimentales mediante métodos de medición ópticos o eléctricos a través de la base, permeable a la radiación electromagnética.

Precisamente en sistemas biocatalizadores es particularmente elevada la necesidad de muchas pruebas paralelas a escala de microlitros, ya que estos procedimientos se desarrollan de manera relativamente lenta y en la fase de desarrollo son más caros que procedimientos químicos comparables. Por ello, existe la necesidad de desarrollar microrreactores que ofrezcan en el menor espacio posible un entorno apropiado para el cultivo biológico y las reacciones biocatalizadoras. Como presupuestos importantes para unas condiciones de funcionamiento apropiadas deben destacarse en este sentido dos criterios: la posibilidad de realizar las correspondientes pruebas en condiciones estériles o monosépticas y la garantía de una transferencia de masa apropiada y suficiente para el cultivo biológico o el sistema de reacción biocatalizador (líquido-líquido, líquido-gas, sólido-líquido, sólido-gas).

Para las pruebas de sistemas biológicos, se llenan las cámaras de reacción individuales, se inoculan y se incuban en un agitador rotativo. Mediante el movimiento de agitación se mejora el aporte de oxígeno a los líquidos de reacción y se obtiene un mezclado de los líquidos de reacción. Para mantener estéril el sistema, se cultivan las placas microtituladoras cubiertas por una membrana permeable al aire (tamaño de poro $< 0,2 \mu$ m) o una lámina estanca al aire o una construcción de cubierta, o al descubierto en un entorno estéril.

Para la realización de las diferentes reacciones biocatalizadoras es necesario en muchas ocasiones añadir durante la prueba que se está realizando diferentes fluidos (incluidos gases) a la reacción en marcha. En este sentido, deben destacarse particularmente la adición de agentes de ajuste del pH (soluciones alcalinas y ácidos) para la titulación del pH de la reacción en marcha y la adición de sustratos. Solo la adición de sustratos durante el procedimiento permite la realización de procedimientos regulados "batch", "fed-batch" y continuos. Estos modos de funcionamiento son particularmente importantes para una detección flexible y biológica exitosa y un adicional desarrollo de procedimiento.

La introducción de sensores para la vigilancia de los parámetros de cultivo representa a este respecto menos un problema que el transporte de líquido a los pozos de cultivo individuales.

- 5 En la aplicación "fed-batch" de microfluidos, el objetivo principal es el transporte controlado, estéril de líquido, que se sitúa en el intervalo de nanolitros de una a dos cifras. Para poder lograr esto, hasta ahora se han empleado muchos tipos de micro-válvulas, de las cuales las más prometedoras son las válvulas de membrana neumáticas por su rápido tiempo de respuesta y elevada sollicitación de presión. Estas pueden integrarse directamente en el chip en una única etapa de fabricación, y con ello, esterilizarse. Otra posibilidad es la utilización de actuadores piezoeléctricos que, sin embargo, debido a su fuerza y recorridos de ajuste dependientes del tamaño, solo se utilizan en canales de fluido menos complejos.
- 10 Los planteamiento de microfluidos que existen para el transporte y el control de las más pequeñas cantidades de líquido en microrreactores presentan sobre todo el defecto de que no permiten el cierre estéril de las matrices de microrreactores mediante una membrana o una tapa y ninguna dosificación o evacuación de líquidos durante la agitación continua de las matrices de microrreactores para el mezclado de los líquidos de reacción y para el ajuste de tasas de transferencia de masas suficientes.
- 15 El documento EP-A-1331538, el documento US2003/0234376 y el documento WO2004/034028 muestran matrices de microrreactores genéricas. Estas matrices ofrecen, sin embargo, en particular con oscilaciones de presión, un sellado solo poco fiable.
- Partiendo de este estado de la técnica, la invención se basa en el objetivo de perfeccionar un sistema de microrreactor para la conducción de líquidos y gases.
- Este objetivo se resuelve con un sistema de microrreactor con las características de la reivindicación 1.
- Perfeccionamientos ventajosos son objeto de las reivindicaciones dependientes.
- 20 Además, por ejemplo, la membrana puede estar dispuesta entre un chip que presente los reactores y un estante. Sobre la membrana puede estar dispuesto un sistema de accionamiento autocentrante.
- El sistema puede autocentrarse sobre una superficie de apoyo y cada reactor puede presentar varios pasos. El sistema de microrreactor puede presentar sensores que midan los parámetros en los reactores para actuar sobre un sistema de accionamiento.
- 25 En un lado del reactor, puede estar dispuesta la membrana y en el lado opuesto, un sensor.
- Es ventajoso si el sistema de microrreactor presenta un sistema óptico.
- En particular es ventajoso si presenta un agitador para el movimiento del reactor.
- Las válvulas pueden estar dispuestas en el borde el sistema de microfluidos y permitir un acceso visual a las cámaras de reacción.
- 30 Además, es ventajoso si en la reserva y/o el recipiente de reacción están instalados sensores químicos o eléctricos y su información puede ser leída.
- Es ventajoso si la cámara de reacción y/o la reserva se pueden rellenar.
- Además, es ventajoso si la cámara de reacción es alimentada por una válvula de una vía.
- El sistema de microrreactor puede unir una pluralidad de cámaras de reacción.
- 35 El sistema de microfluidos puede ser colocado en posición con un dispositivo de sujeción y sellarse.
- Puede estar compuesto por un bloque de conexiones de accionamiento, una placa microtituladora, un sistema de gaseado y un dispositivo de sujeción.
- A este respecto, se pueden controlar o regular una pluralidad de reacciones químicas, bioquímicas o biológicas en cámaras de reacción.
- 40 Es ventajoso si el sistema de microrreactor presenta un agitador para el movimiento del reactor.
- El sistema de microfluidos puede ser accionado con un sistema hidráulico y puede ser accionado con componentes mecánicos y electromagnéticos.
- Una utilización ventajosa de un sistema de microrreactor de este tipo es un bombeo de fluido de un reactor a un reactor de una matriz de microrreactores.
- 45 Además, la cámara de reacción puede funcionar de manera estéril o aséptica.
- Tales sistemas de microrreactor, en diferentes formas de realización, pueden realizar las siguientes tareas: adición y

evacuación de líquidos o gases en cantidades de fluido en intervalos de nanolitros o picolitros, transporte controlado de líquidos o gases a través de válvulas de membrana conectadas, conexión "plug and play" de los reactores de microfluidos con el sistema de accionamiento, medición online de parámetros de procedimiento, regulación de los parámetros de procedimiento en los microrreactores mediante transporte de líquidos o gases a los microrreactores y fuera de ellos (dentro de un circuito de regulación), funcionamiento estéril o monoséptico de los microrreactores, realización de condiciones de funcionamiento técnico-procedimentales similares (valor kLa, OTR, emax, etc.) como a escala de laboratorio y producción, fabricación y uso como productos desechables, cuantificación de los volúmenes dosificados.

Para ello, es ventajosa una combinación de matrices de microrreactores con correspondientes entradas y salidas de diferentes canales de fluido, un denominado sistema de fluidos. El sistema de fluidos puede consistir en una placa microestructurada que, para el control de los flujos de líquido y gas, utilice válvulas de membrana con juntas lineales. Las válvulas de membrana pueden tener a este respecto la forma de un segmento esférico cóncavo con una junta lineal dispuesta concéntricamente (toro seccionado, polígono, nervio de cualquier forma) y poseer una membrana que se pueda accionar para conmutar la válvula (apertura y cierre de la conexión entre dos canales). La placa de microfluidos puede constituir la base de una matriz de microrreactores o de una placa microtituladora y está unida con esta. Las válvulas de membrana, pueden estar dispuestas de tal modo que se sitúen en cada caso en el borde de la placa y dejen libre la zona central de la base para mediciones en los microrreactores (acceso libre a los microrreactores). La matriz de microrreactores está cerrada preferentemente por arriba con una membrana o cubierta permeable al gas. Además, la placa de microfluidos con la matriz de microrreactores puede ser emplazada de manera sencilla sobre un estante con sistema de accionamiento integrado sin que deban conectarse unidades de accionamiento individuales. La matriz de microrreactores puede estar realizada con autoajuste y autocentrarse por medio del sistema de accionamiento instalado (por ejemplo, por medio de clavijas de bloqueo). Mediante sencilla aplicación de fuerza desde arriba sobre la matriz de microrreactores, se puede unir con arrastre de forma el sistema con el sistema de accionamiento (de manera neumáticamente estanca o mecánicamente sin deslizamiento). Además, la matriz de microrreactores puede estar instalada sobre un agitador y/o rodeada por una cámara de incubación. Desde la base de la matriz de microrreactores, pueden detectarse señales de sensor (pH, pO₂, pCO₂, biomasa, fluorescencia, glucosa, vitalidad y otras magnitudes procedimentales) de los microrreactores. Las señales de sensor pueden ser procesadas después por un ordenador o microprocesador en un circuito de regulación y, en función de la configuración de regulación, se pueden calcular volúmenes para la dosificación a los microrreactores. Estos volúmenes son transportados después por el sistema de fluidos descrito a los microrreactores individuales de la matriz. A cada magnitud de medición de sensor puede estar asociada una reserva especial desde la que se transporte el volumen. A este respecto, para la regulación del pH se pueden almacenar previamente en la reserva ácidos y/o bases y, para el crecimiento de biomasas y la fabricación de producto, sustratos como glucosa o glicerina.

La matriz de microrreactores puede estar diseñada, además, de tal modo que la cubierta de los reactores pueda abrirse de manera individual y reversible y se obtenga así acceso manual o como un robot de pipeteo a los microrreactores individuales. Esto puede realizarse mediante un septo o un cierre (como, por ejemplo, un tapón). De esta manera, se pueden evacuar mediante una pipeta volúmenes fuera de los microrreactores (por ejemplo, para una extracción de prueba), así como, a la inversa, dosificar volúmenes en su interior. Puede ser necesario que también se agreguen dosis de gas desde arriba a los microrreactores, por ejemplo, para regular la concentración de gas en la zona alta de las cámaras de reacción. En este caso, está previsto aplicar otra cubierta sobre la matriz de microrreactores que contiene un sistema de gaseado. El sistema de gaseado conduce gases definidos a las cámaras de reacción individuales. La dosificación y conmutación de los gases a través del sistema de gaseado se efectúa por medio de válvulas externas. El sistema de gaseado puede estar configurado como el sistema para la introducción de líquidos. A este respecto, en el lado superior del sistema de microrreactor, puede estar dispuesto un sistema de gaseado y, en el lado inferior, un sistema de entrada y salida de líquido.

El control de las válvulas de membrana individuales se puede realizar mediante diferentes procedimientos. Entran en consideración en este caso, entre otros, canales de control neumáticos, pero también se pueden utilizar interruptores accionados óptica, térmica, hidráulica, electromecánica o magnéticamente. Para minimizar una difusión de los medios de reacción del reactor de regreso a los canales de fluidos, se pueden realizar adicionalmente válvulas sencillas pasivas (por ejemplo, válvulas linfáticas o válvulas venosas) en la salida de un canal hacia la cámara de reacción.

El sistema de microrreactor se puede utilizar para dosificar en cada microrreactor de una matriz al menos dos soluciones nutrientes diferentes de pocos nl (1-1000 nl) y, de esta manera, permitir una alimentación de líquido o gas controlada a un microrreactor. Esto se facilita mediante la utilización de una membrana elástica (PE, PU, PTFE), que se añade a un chip de microfluidos (PS, PC, PP, PET, PMMA, PL, PEEK, PTFE). La membrana es impermeable al gas en gran medida y, para ello, muy flexible, de tal modo que las válvulas del chip de microfluidos se pueda sellar sin fugas. Esto es favorecido por la forma constructiva presentada en este caso de la válvula de membrana como segmento esférico cóncavo con guía lineal concéntrica y al menos dos entradas de canal. La secuencia de conmutación de las válvulas puede diseñarse de tal modo que siempre se transporte un volumen constante que no dependa del medio. Las ventajas de esta combinación material son, además de la funcionalidad, la posibilidad de una económica fabricación en serie.

Además, se pueden vigilar parámetros procedimentales en los microrreactores de manera continua mediante un sistema de sensores. Las señales de sensor pueden utilizarse para un entrada controlada o regulada de líquidos y

gases a través del sistema de fluidos en los microrreactores. La utilización de una cubierta sobre los microrreactores permite realizar procedimientos estériles o monosépticos. Para ello, todos los materiales utilizados se esterilizan primero térmicamente o mediante radiación. Toda la matriz de microrreactores con el chip de microfluidos (base) está diseñada como producto desechable y puede utilizarse directamente sin grandes preparaciones y después eliminarse.

5 Una forma de realización particular prevé la sujeción sencilla de la matriz de microrreactores en un aparato mediante ejercicio de fuerza desde arriba. De esta manera, la matriz de microrreactores es presionada sobre el sistema de accionamiento que se orienta preferentemente de manera automática y se mantiene en posición sobre el estante de agitador. La matriz de microrreactores puede emplazarse con sencillas manipulaciones en la sujeción integrada en el estante de agitador y se orienta allí automáticamente mediante orificios de bloqueo del chip de microfluidos y las clavijas de bloqueo adaptadas a ellos sobre el estante de agitador. De esta manera, se posicionan preferentemente todas las válvulas del chip de microfluidos automáticamente por medio del correspondiente sistema de accionamiento. El chip y el estante están separados entre sí por una junta elástica (por ejemplo, PDMS). La sujeción estanca al aire se efectúa mediante un dispositivo neumático. Tras la instalación de la matriz de microrreactores, el sistema de microrreactor puede ser utilizado directamente como sistema de microrreacción con regulación individual de parámetros procedimentales (por ejemplo, valor pH) y con entrada y evacuación continua de agentes reactivos (por ejemplo, sustratos en la fermentación).

20 Se ha diseñado un sistema global que presenta las siguientes propiedades: matriz de microrreactores de 2-2000 microrreactores, sistema de microfluidos con válvulas de membrana, medición online de parámetros de procedimiento, regulación individual de pH, dosificación individual de agentes reactivos, regulación individual de la concentración de gas en las cámaras de reacción mediante entrada de gas por medio de un sistema de gaseado desde arriba, realización de reacción estéril o monoséptica, instalación "plug and play" y uso, realización de la reacción en una incubadora con temperatura, humedad, regulación de O₂, N₂, CO₂, escalabilidad sencilla mediante mantenimiento de valores característicos técnico-procedimentales (por ejemplo, valor kLa), mediante uso de un agitador, producto desechable y cuantificación de los volúmenes dosificados.

25 Los componentes anteriormente mencionados, así como reivindicados y descritos en los ejemplos de realización que deben utilizarse de acuerdo con la invención no están sometidos en su tamaño, forma, diseño, elección de material y concepciones técnicas a ninguna condición excepcional en particular, de tal modo que pueden aplicarse los criterios de selección conocidos en el campo de aplicación.

30 Particularidades, características y ventajas del objeto de la invención se desprenden de las reivindicaciones dependientes, así como de la siguiente descripción de los respectivos dibujos, en los que se representan a modo de ejemplo ejemplos de realización preferentes de la invención. Muestra

- la Figura 1 una sección de una válvula del sistema de microrreactor con paso abierto,
- la Figura 2 otra sección del sistema de microrreactor mostrado en la figura 1 con paso cerrado,
- la Figura 3 una vista de la válvula desde abajo sin membrana,
- 35 la Figura 4 esquemáticamente, el cambio de plano dentro de una matriz de microrreactores,
- la Figura 5 esquemáticamente, la disposición de las válvulas como multiplexores,
- la Figura 6 esquemáticamente, una bomba,
- la Figura 7 el emplazamiento de las válvulas,
- la Figura 8 el centrado de las válvulas,
- 40 la Figura 9 un chip en una placa microtituladora,
- la Figura 10 la sujeción de una placa microtituladora,
- la Figura 11 una sección de una placa microtituladora sujeta,
- la Figura 12 la vista inferior de la cubierta de gaseado,
- la Figura 13 una vista superior de una cubierta de gaseado,
- 45 la Figura 14 esquemáticamente, una secuencia de bombeo con una válvula de salida en el ejemplo de una regulación de pH y
- la Figura 15 esquemáticamente, una secuencia de bombeo con varias válvulas.

50 La válvula 1 mostrada en las figuras 1 a 3 de un sistema de microrreactor tiene una entrada de líquido situada arriba que sirve como paso 2, y, ortogonalmente al respecto, un canal de salida 3 en el lado inferior 4 que está cubierto con una fina membrana 5. Para un mejor sellado, está instalada una elevación con forma anular 7 como junta lineal de

manera concéntrica alrededor del paso 2 para un líquido 6. Con una sollicitación, mostrada en la figura 2, de la membrana 5 con presión neumática o mecánica 8, la membrana 5 se junta con la junta lineal y así sella la válvula 1.

La figura 3 muestra, que la válvula 1 tiene un diámetro circular y está diseñada como segmento esférico cóncavo 9 con una profundidad máxima del centro 10. Céntricamente, está practicado un paso 2 que sirve como entrada de líquido que transporta el líquido 6 desde arriba a la válvula 1. Alrededor del paso 2, se ha creado una estructura que sobresale y que actúa, por ejemplo, como elevación con forma anular 7 como junta lineal. En este caso, la membrana 5 se puede apoyar sin fugas y, por tanto, sellar la válvula 1. La salida de válvula 3 está creada en el borde de la válvula 1 y conduce directamente a un canal de microfluidos 10. Lateralmente, junto a la salida 3, la membrana se apoya en el lado inferior 4 del cuerpo básico 11 de la válvula 1. Así, el paso está rodeado por una superficie 12 que forma junto con la membrana 5 un conducto de fluido 13, y presenta para el refuerzo del sellado una elevación 7 con forma anular.

La membrana tiene en el ejemplo de realización un lado plano 14 orientado al cuerpo básico 11 y, opuestamente a este lado, está configurada la elevación 7 con forma anular arqueada en la sección, para ofrecer con la superficie arqueada 15, por un lado, una suficiente superficie de apoyo y, por otro lado, una presión suficiente.

El modo de funcionamiento particular de las válvulas 1 se pone particularmente de manifiesto en un cambio de plano del líquido del lado superior al lado inferior de una matriz de microrreactores 16 configurada como chip de microfluidos. Esto significa que, al usar las válvulas 1 descritas están presentes redes de microcanales en los dos lados 17, 18 del chip y así conducen los fluidos desde reservas por medio de las válvulas a cámaras de reacción. En la figura 4, la placa 22 estructurada para microfluidos de la matriz de microrreactores 16 está configurada con un paso 19 que conduce de un canal inferior 20 a un canal superior 21 y que está cubierto con la membrana 23.

La disposición mostrada en la figura 5 de las válvulas está diseñada de tal modo que siempre se activan una válvula de entrada (24, 25), una válvula de bombeo (26, 27) y cuatro válvulas de salida (28, 29, 30, 31) consecutivamente. De esta manera, se genera un multiplexor, de tal modo que, en este caso, por ejemplo, se pueden abastecer hasta cuatro cámaras de reacción ("well") mediante una reserva.

La figura 6 muestra, una bomba 40 con la que, por ejemplo, un líquido 41 procedente de una reserva llega a través de una válvula de entrada 42 a una cámara de bombeo 43. De este modo, el líquido está sometido a presión con válvula de entrada 42 cerrada para ser transportado por medio de un sistema de fluidos 44 en función de los requisitos mediante apertura de una de las válvulas 45 a 48 a una cámara (no mostrada). Para ello, las válvulas son accionadas por medio de un sistema de accionamiento o bloque de conexiones de accionamiento 49 de vástagos o conductos neumáticos 50 a 55.

Las figuras 7 y 8 muestran un emplazamiento ventajoso de las válvulas 60 en el borde superior 61 del chip de microfluidos 62, directamente por debajo de la reserva (no mostrada). Esto garantiza una superficie visualmente libre bajo las cámaras de reacción para la lectura óptica de las señales, por ejemplo, con optodos 63 y 64. El centrado exacto de las válvulas 60 se efectúa por medio de orificios de bloqueo 65 a 68 en los que se insertan clavijas 95 previstas en un bloque de conexiones 90. Esto garantiza una orientación exacta de las válvulas.

La figura 9 muestra, cómo se puede integrar un chip 70 en una placa microtituladora 71 de tal modo que las válvulas 72 se sitúen por debajo de la reserva 73. En este caso, las válvulas 72 cubren en este caso dos reservas 73, 74. En cada reserva hay al menos una entrada 75 que está conectada con canales de fluido 76 y una red a válvulas 72. Cada cámara de reacción 77 tiene al menos una salida 78, 79, para que se pueda dosificar al menos un fluido. El transporte de fluido tiene lugar partiendo de la reserva 73, 74 a través de la entrada 75 a la válvula de entrada 80, la cámara de bombeo 81, la válvula de salida 82, por medio de la salida 78 para desembocar después en la cámara de reacción 77. Optodos 83, 84 en las cámaras de reacción 77 miden como sensores los parámetros procedimentales en las cámaras de reacción 77 y pueden ser leídas a través de la base 85 de la placa microtituladora 71. La figura 9 muestra un fragmento con dos filas de reservas 86, 87 y una fila de cámaras de reacción 88 también denominada como fila de pozos. En un circuito de regulación cerrado pueden regularse los parámetros procedimentales en las cámaras de reacción mediante alimentación de fluidos.

La placa microtituladora 71 debe ser conectada de manera estanca al aire con un control neumático 90. Para ello, la base 85 de la placa microtituladora 71, que forma el chip de microfluidos 70, se coloca en el lado de válvula 91 sobre una junta 92. Mediante ejercicio de fuerza permanente 93 sobre la tapa de sujeción 94 fijada sobre la placa microtituladora 71, la placa microtituladora 71 y el chip de microfluidos 70 se conectan con el control neumático 90. La tapa de sujeción 94 presenta una salida neumática de presión inicial y una junta.

El sistema global para la funcionalidad de la placa microtituladora de microfluidos se muestra en la figura 11 y se compone de la sujeción 100 estanca al aire de la placa microtituladora 101, que está unida mediante una junta 92 con el bloque de distribución 90. Resortes de retracción (no mostrados) hacen que en la relajación se levante la tapa 102. La tapa 102 posee al menos dos entradas de aire 103 que alimentan la placa microtituladora 101 en caso necesario con sobrepresión para presionar líquido en el chip de microfluidos 104. El bloque de distribución 90 tiene para cada válvula una conexión tubular 105 a través de la cual se deriva la presión neumática a las microválvulas 106 que regulan el flujo. Por encima de la placa microtituladora, se encuentra un dispositivo de gaseado 107. En este dispositivo, están elaborados canales 108 que conducen los gases a las cámaras de reacción 77 y tienen adicionalmente un aireador

para proporcionar un intercambio de gas óptimo de las cámaras de reacción 77.

5 El sistema de gaseado 109 con la cubierta de gaseado 110 se encuentra por encima de las cámaras de reacción 77. El sistema está diseñado de tal modo que al menos un canal de gaseado 108 con un orificio de salida 112 para el gaseado conduce a cada cámara de reacción 77 y, con ello, es posible una transferencia de gas individual a cada cámara de reacción 77 necesaria. Con ello, se pueden regular concentraciones de gas dentro de las cámaras de reacción 77. El sistema de gaseado 109 presenta adicionalmente orificios de aireación 111 para el intercambio de gas entre las cámaras de reacción 77 y el entorno.

10 En el uso del dispositivo 120, las válvulas activas 121 son accionadas por el aire comprimido 122 activado externamente. Las válvulas 121 están compuestas de una capa de base 123 con canales de fluido incrustados 124. En el asiento de válvula, los canales de fluido están interrumpidos por un escalón 125. Hacia arriba, los canales 124 están cerrados por una membrana 126 elásticamente deformable que se une sobre la capa de base 123 del chip de microfluidos 127. En el asiento de válvula 128, la membrana 126 no se une a la capa de base 123, se puede levantar del asiento de válvula 128 y posibilitar un flujo de fluido cuando la presión neumática por medio de la membrana 126 es suficientemente pequeña con respecto a la presión en el conducto de fluido de los canales de fluido 124. Una presión neumática externa elevada cierra la válvula 121. De esta manera, se puede abrir y cerrar un canal de fluido 15 124 entre una reserva 129 que se encuentra bajo presión y una cámara 130 en una placa microtituladora 131. En la cámara 130, se encuentran optodos de pH y DOT y bajo la membrana se encuentra una junta de silicona 132 para el sellado del aire comprimido 122.

20 Todos los chips de microfluidos y placas microtituladoras descritos pueden disponerse de manera particularmente sencilla sobre una bandeja de agitador 133 cuando en la bandeja 133 de un agitador (no mostrado) están previstas conexiones neumáticas.

25 Esta estructura descrita en el ejemplo de la válvula puede presentar para elevar la presión, como los equipos anteriormente descritos, una elevación con forma anular que en una válvula de este tipo no esté dispuesta en torno a un paso, sino en el asiento de válvula y preferentemente de manera concéntrica al asiento de válvula, como se muestra en las figuras 1 a 3.

A este respecto, hay dos tipos de dosificación: Una representación de la secuencia de bombeo con control de pH preferentemente por tiempos la muestra la figura 14: a) presión previa desde arriba, apertura de entrada, válvula de bombeo, b) apertura de válvula de salida (durante un determinado tiempo = volumen), c) cierre de todas las válvulas.

30 Esta secuencia de bombeo se puede implementar, como se muestra en la figura 15, con varias válvulas, o también, como se muestra en la figura 14, de manera simplificada con solo una válvula de salida. En este caso, solo la válvula de salida se abre durante un determinado tiempo y, por tanto, fluye un determinado volumen a la cámara de reacción.

35 En la secuencia de bombeo mostrada en la figura 15, con "fed-batch", se diferencian las siguientes etapas: a) presión previa desde arriba, apertura de entrada, válvula de bombeo, b) cierre de válvula de entrada, c) apertura de válvula de salida y cierre de válvula de bombeo (volumen definido por elevación de bomba, desarrollo múltiple de secuencia de bombeo).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Sistema de microrreactor con una membrana impermeable al gas y flexible (5) y un paso (2) a una cámara de reacción o un reactor que está rodeado por una superficie (12) que forma con la membrana (5) un conducto de fluido (13), presentando la membrana (5) un lado plano orientado hacia el paso (2) y presentando la superficie (12) una elevación con forma anular (7) que está dispuesta alrededor del paso (2) para formar junto con una salida (3) una válvula (60), **caracterizado porque** la elevación (7) está configurada con forma anular con superficie arqueada (15) como junta lineal.
2. Sistema de microrreactor según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el paso (2) presenta una depresión configurada como segmento esférico (9).
- 10 3. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** presenta una matriz de microrreactores (16) que está cubierta por una membrana (23), conduciendo al menos un paso (19) en cada caso a al menos un reactor.
4. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el paso (19) está dispuesto entre dos canales (20, 21).
- 15 5. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** están dispuestos canales de reactor (20, 21) y al menos un paso (19) en una placa (22) estructurada microfluídicamente.
6. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** presenta un sistema de accionamiento (49) que actúa en la zona del paso (22) sobre la membrana (23).
- 20 7. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** un sistema neumático (90) actúa en la zona de las aberturas sobre la membrana (23).
8. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** están dispuestos varios pasos (2) de tal modo que se posibilita con ellos una función de bombeo al disponer una cámara de bombeo (43) entre una válvula de entrada (42) y una válvula de salida (45 a 48).
- 25 9. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** los canales que desembocan en la válvula (60) se sitúan en planos diferentes.
10. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** están conectadas entre sí varias válvulas (60).
11. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** el sistema está realizado con materiales ópticamente transparentes.
- 30 12. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la válvula (106) une una reserva (73, 74) y un recipiente de reacción (77).
13. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la reserva (73, 74) está solicitada con presión.
- 35 14. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** en la cámara de reacción desembocan varias reservas (73, 74).
15. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la cámara de reacción está cubierta con una cubierta permeable al gas (102).
16. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** la válvula (24, 25, 26, 27) está conectada antes de múltiples válvulas adicionales (28, 29, 30, 31) y se usa para la multiplexación.
- 40 17. Sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado porque** está compuesto por un bloque de conexión de accionamiento (49), una placa microtituladora (71) y un dispositivo de sujeción (100).
18. Uso de un sistema de microrreactor según una de las reivindicaciones anteriores para la apertura y el cierre de conexiones entre reactores (77) de una matriz de microrreactores.

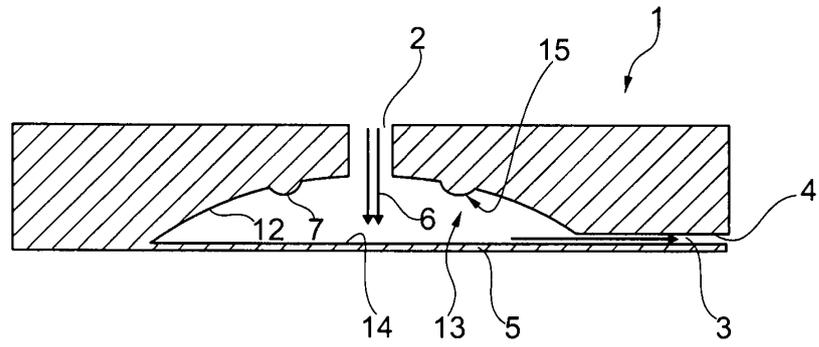


Fig. 1

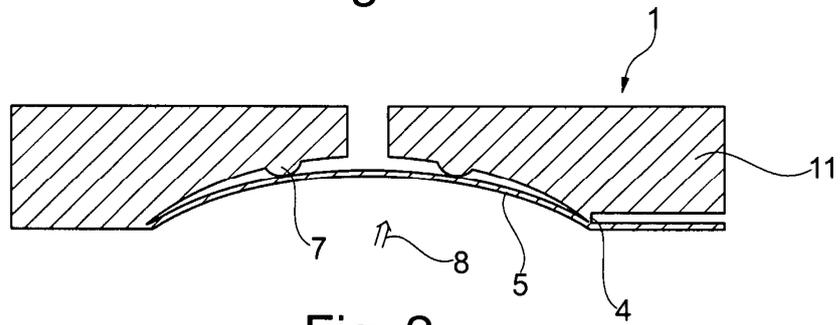


Fig. 2

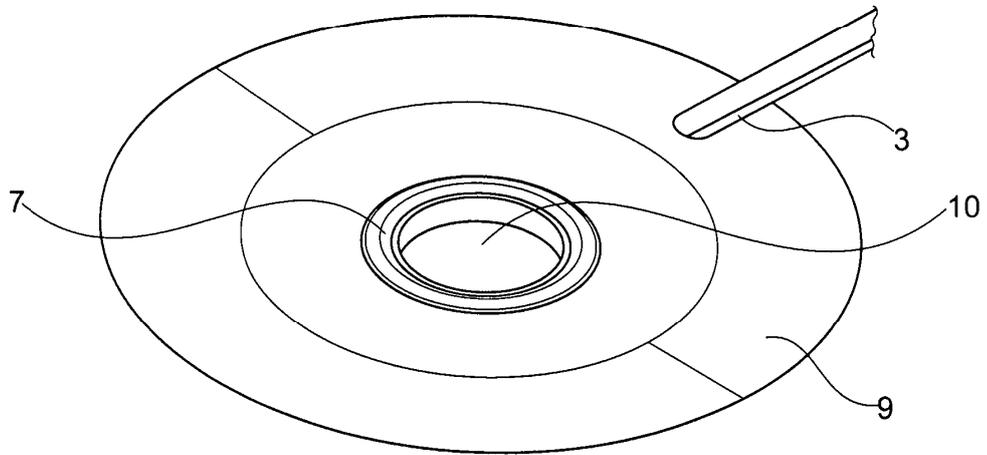


Fig. 3

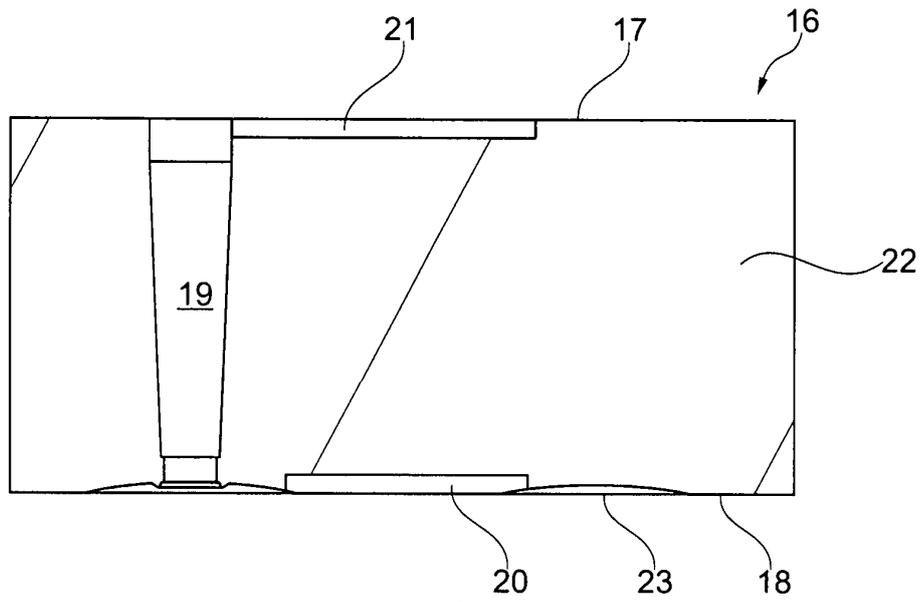


Fig. 4

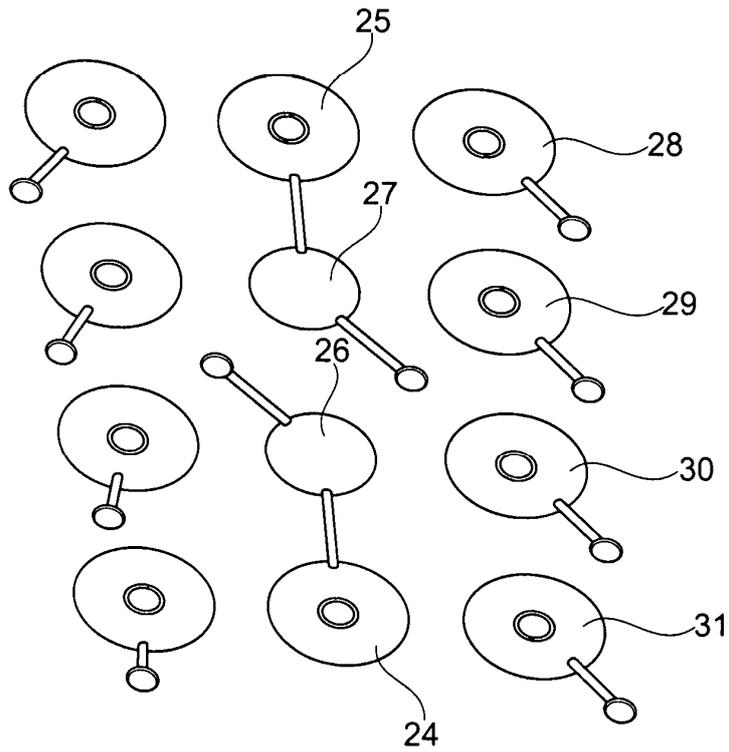


Fig. 5

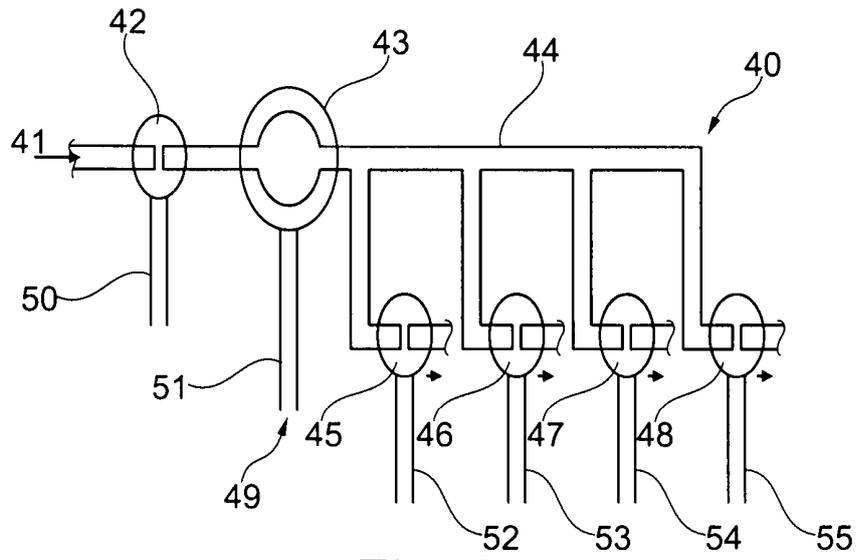


Fig. 6

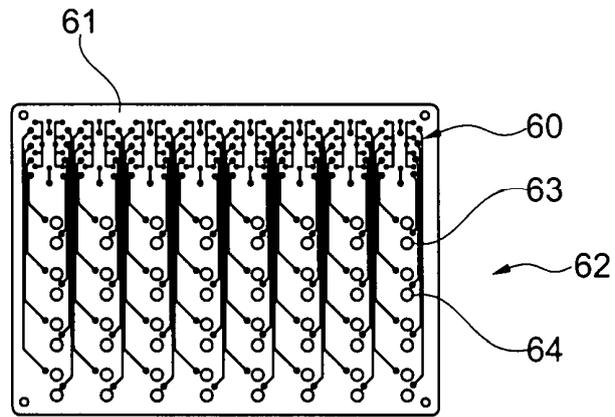


Fig. 7

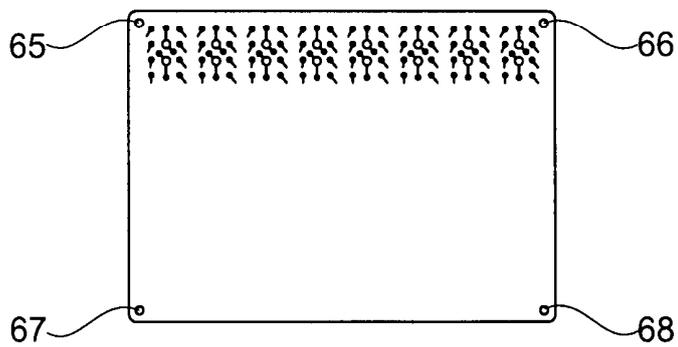


Fig. 8

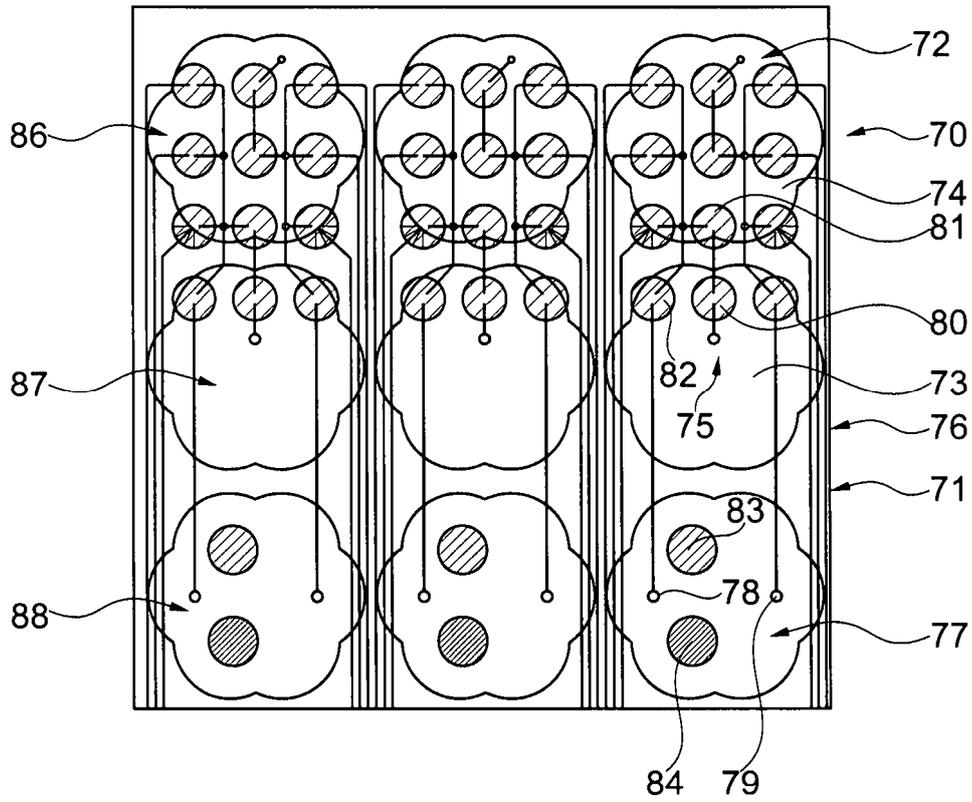


Fig. 9

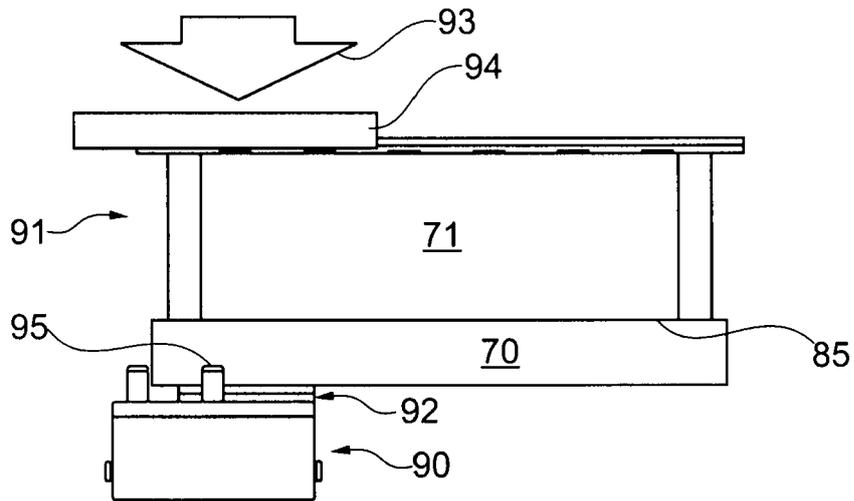


Fig. 10

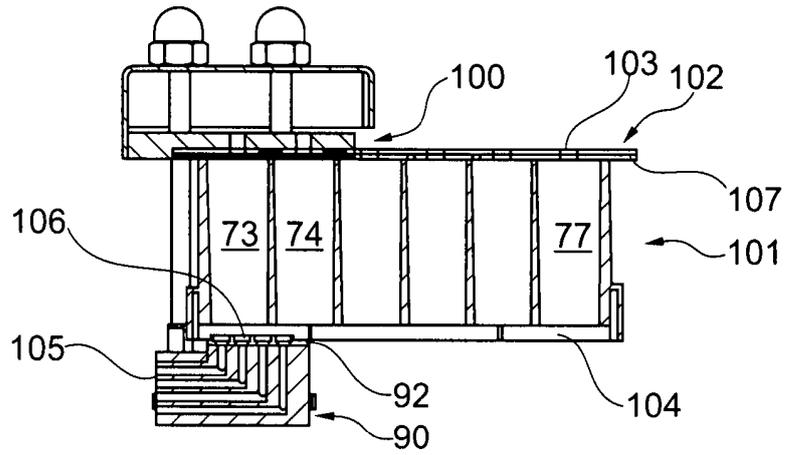


Fig. 11

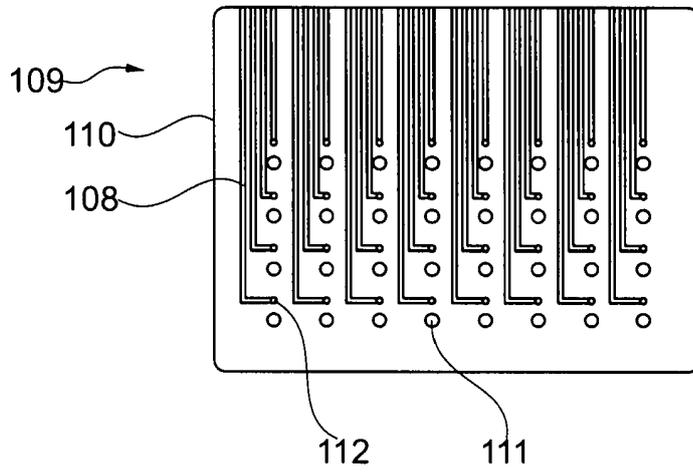


Fig. 12

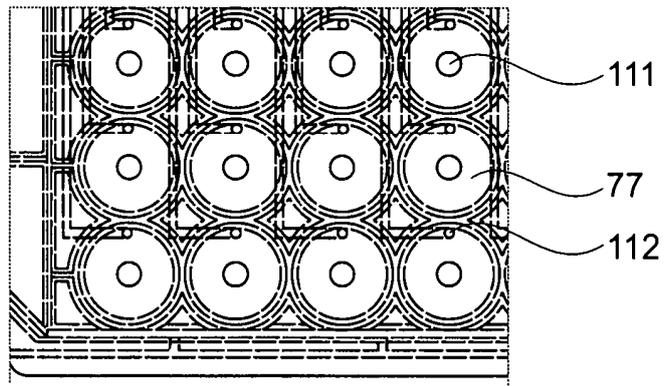
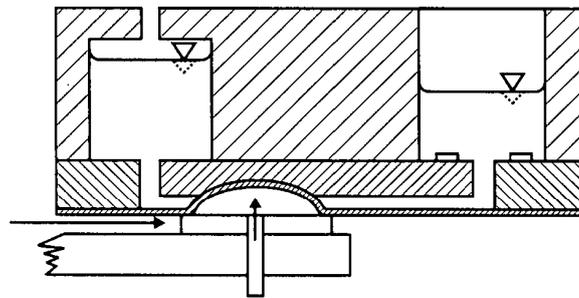
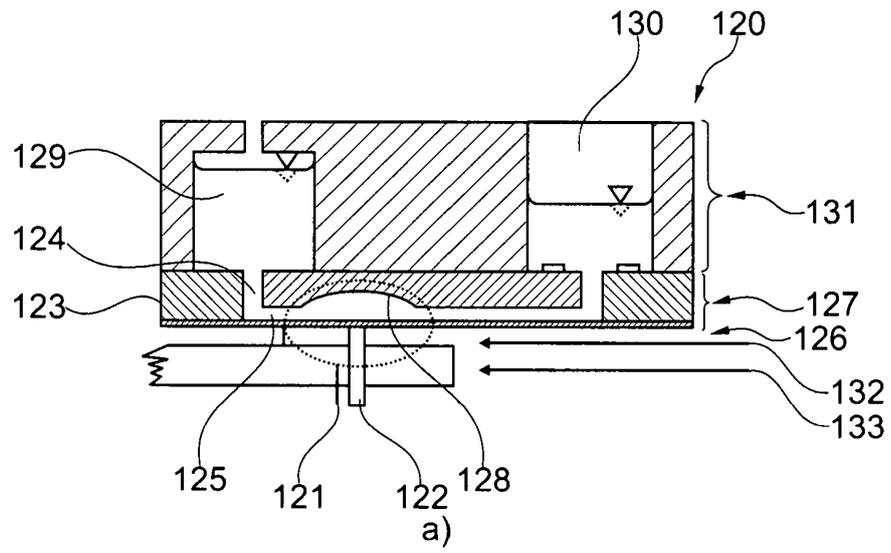
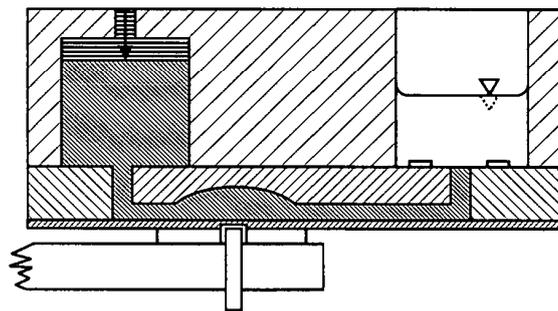


Fig. 13



b)



c)

Fig. 14

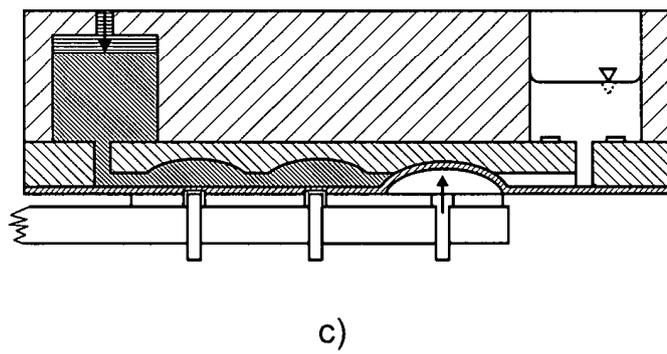
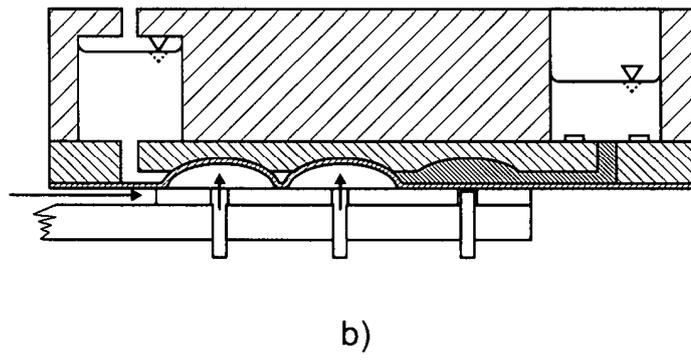
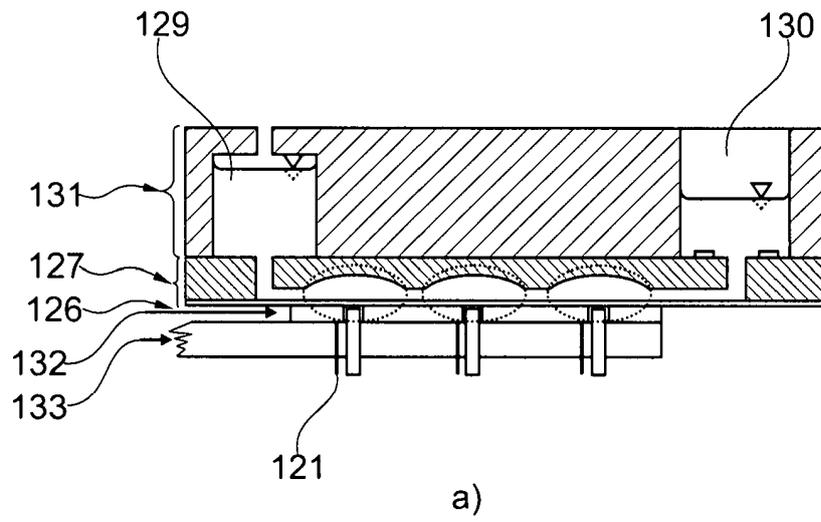


Fig. 15