

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5442010号
(P5442010)

(45) 発行日 平成26年3月12日(2014.3.12)

(24) 登録日 平成25年12月27日(2013.12.27)

(51) Int.Cl.

F I

G O 1 F 1/64 (2006.01)

G O 1 F 1/64

請求項の数 26 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願2011-515522 (P2011-515522)	(73) 特許権者	506423291
(86) (22) 出願日	平成21年6月19日 (2009.6.19)		コミサリア ア レネルジイ アトミック
(65) 公表番号	特表2011-526687 (P2011-526687A)		エ オ ゼネ ルジイ アルテアナティ
(43) 公表日	平成23年10月13日 (2011.10.13)		ーフ
(86) 国際出願番号	PCT/FR2009/000743		COMMISSARIAT A L' EN
(87) 国際公開番号	W02010/000977		ERGIE ATOMIQUE ET A
(87) 国際公開日	平成22年1月7日 (2010.1.7)		UX ENERGIES ALTERNA
審査請求日	平成24年4月20日 (2012.4.20)		TIVES
(31) 優先権主張番号	08/03761		フランス国 エフー75015 パリ パ
(32) 優先日	平成20年7月2日 (2008.7.2)		ティメン ” ル ポナーン デ” リュ
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		ルブラン 25

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 流体チャネル内で流れる液体の流量測定方法及びその実施装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ミリメートルからマイクロメートルのサイズの横断寸法を有する流体チャネル(1)と、少なくとも一对の測定電極(2a-2b、9a-9b、11a-11b、16a-16b、19a-19b、22a-22b)とを備え、電気二重層が導電性液体との各電極の界面に形成される装置において、層流レジーム内で規定方向(D)に沿って流れる前記導電性液体の流量測定方法であって、各電極に面する拡散層内の流速場が異なるように、且つ、各電極の界面における前記電気二重層の対流-拡散型電荷平衡が異なるように、前記一对の測定電極の一方の電極(2a、9a、11a、13a、16a、19a、22a)の近傍における、流れの方向に沿った前記チャネルの幾何学的特徴が、前記一对の測定電極の他方の電極(2b、9b、11b、13b、16b、19b、22b)の近傍における、流れの方向に沿った前記チャネルの幾何学的特徴とは異なることを特徴とし、該方法は、次の：

- a) 前記液体の流れを確立するステップと、
 - b) 前記一对の電極の電極間の電圧(V)を測定するステップと、
 - c) 前記測定から前記液体の流量を推定するステップと、
- を含む方法。

【請求項 2】

前記装置は参照電極(6)をさらに備え、前記ステップb)は、前記一对の測定電極の一方の電極(2a、9a)と前記参照電極(6)との間の電圧(V1)と、前記一对の測

10

20

定電極の他方の電極（２ｂ、９ｂ）と前記参照電極（６）との間の電圧（Ｖ２）とを測定することを含み、前記ステップｃ）は、前記ステップｂ）において測定された前記電圧（Ｖ、Ｖ１、Ｖ２）を用いて、前記液体の導電性とは無関係に前記液体の流量を推定することにある、請求項１に記載の方法。

【請求項３】

前記装置は単一对の測定電極（２ａ－２ｂ、９ａ－９ｂ）を備え、該一对の測定電極（２ａ－２ｂ、９ａ－９ｂ）の少なくとも一方の電極は、前記チャンネル内に突出するレリーフ（４、５、７、８）に配置される、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項４】

前記装置は単一对の測定電極（１１ａ－１１ｂ）を備え、前記装置の前記チャンネルには湾曲部（１０）が設けられ、前記一对の測定電極の一方の電極（１１ａ）は、前記湾曲部（１０）の内側流れ表面（１０ａ）の少なくとも一部に配置され、前記一对の測定電極の他方の電極（１１ｂ）は、前記湾曲部（１０）の外側流れ表面（１０ｂ）の少なくとも一部に配置される、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項５】

前記装置は単一对の測定電極（１３ａ－１３ｂ）を備え、前記装置の前記チャンネルには、連続した少なくとも２つの半湾曲部（１２）が設けられ、前記一对の測定電極の各電極（１３ａ－１３ｂ）は、各半湾曲部（１２）の外側流れ表面（１２ａ）の少なくとも一部に配置される、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項６】

前記装置は、単一对の測定電極（１６ａ－１６ｂ）と、前記一对の測定電極の一方の電極（１６ｂ）に接触する前記液体の流れ（Ａ２）に対して、前記一对の測定電極の他方の電極（１６ａ）に接触する前記液体の流れ（Ａ１）を加速させる構造（１５）とを備える、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項７】

前記装置は、単一对の測定電極（１９ａ－１９ｂ）と、前記一对の測定電極の一方の電極（１９ａ）と接触する前記液体を再循環（Ｆ１）させる構造（１８、２０）とを備え、直接流（Ｆ２）が、前記一对の測定電極の他方の電極（１９ｂ）と接触状態に維持される、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項８】

前記装置は、突出レリーフ（４、５、７、８）と、湾曲部（１０）と、連続した２つの半湾曲部（１２）と、前記液体の流れ（Ａ１）を加速させる構造（１５）と、前記液体を再循環（Ｆ１）させる構造（１８、２０）とから成る群から選択される、少なくとも２つの異なる手段を備える、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項９】

層流レジーム内で規定方向（Ｄ）に沿って流れる導電性液体の流量を測定する装置であって、チャンネル（１）と、一对の測定電極（２ａ－２ｂ、９ａ－９ｂ、１１ａ－１１ｂ、１３ａ－１３ｂ、１６ａ－１６ｂ、１９ａ－１９ｂ、２２ａ－２２ｂ）と、前記少なくとも一对の測定電極（２ａ－２ｂ、９ａ－９ｂ、１１ａ－１１ｂ、１３ａ－１３ｂ、１６ａ－１６ｂ、１９ａ－１９ｂ、２２ａ－２２ｂ）間の電圧（Ｖ）を測定する少なくとも１つのデバイス（３）とを備え、電気二重層が前記導電性液体との各電極の界面に形成され、前記装置が、各電極（２ａ－２ｂ、９ａ－９ｂ、１１ａ－１１ｂ、１３ａ－１３ｂ、１６ａ－１６ｂ、１９ａ－１９ｂ、２２ａ－２２ｂ）の界面における前記電気二重層の対流－拡散型電荷平衡が異なるように、且つ、前記導電性液体が前記チャンネル内を流れる際に、各電極に面する拡散層内の流速場が異なるように配置される手段（４、５、７、８、１０、１２、１５、１８、２０、２１）を備える流量測定装置。

【請求項１０】

前記手段は、前記液体と接触して前記チャンネル（１）の表面に配置されると共に前記チャンネル内に突出する少なくとも１つのレリーフ（４、５、７、８）から成る、請求項９に記載の流量測定装置。

10

20

30

40

50

【請求項 1 1】

前記一对の測定電極の一方の電極(2 a、9 a)は、前記レリーフ(4、5、8)の表面に配置され、前記一对の測定電極の他方の電極(2 b、9 b)は、前記第1の電極(2 a、9 b)に面する前記チャンネル(1)の表面に配置される、請求項10に記載の流量測定装置。

【請求項 1 2】

前記一对の測定電極の一方の電極(2 a)は、前記液体の流れ方向(D)に対して前記レリーフ(7)の上流側面(7 a)に配置することができ、前記一对の測定電極の他方の電極(2 b)は、前記液体の前記流れ方向(D)に対して前記レリーフ(7)の下流側面(7 b)に配置することができる、請求項10に記載の流量測定装置。

10

【請求項 1 3】

前記一对の測定電極の2つの電極(2 a - 2 b)は同一であり、異なる高さ(h 4、h 5)を有する2つのレリーフ(4、5)にそれぞれ配置される、請求項10に記載の流量測定装置。

【請求項 1 4】

前記一对の測定電極の電極(9 a - 9 b)は異なるサイズを有することができ、同一の高さ(h 8)を有する2つのレリーフ(8)の表面にそれぞれ配置される、請求項10に記載の流量測定装置。

【請求項 1 5】

前記レリーフ(4、5、8)は、前記一对の測定電極(2 a - 2 b、9 a - 9 b)が対面するように配置される、請求項13又は14に記載の流量測定装置。

20

【請求項 1 6】

前記レリーフ(4、5、8)は、前記一对の測定電極(2 a - 2 b、9 a - 9 b)が前記液体の前記流れ方向(D)に沿って位置合わせされるように配置される、請求項13又は14に記載の流量測定装置。

【請求項 1 7】

前記装置は、

___ 2つのレリーフ(8)の表面に配置される前記一对の測定電極(9 a - 9 b)に面する、前記チャンネル(1)の一方の側に配置された参照電極(6)と、

___ 前記一对の測定電極の一方の電極(9 a)と前記参照電極(6)との間の電圧(V 1)を測定するデバイス(3 a)と、

30

___ 前記一对の測定電極の他方の電極(9 b)と前記参照電極(6)との間の電圧(V 2)を測定するデバイス(3 b)とをさらに備える、請求項14に記載の流量測定装置。

【請求項 1 8】

前記チャンネルは湾曲部(10)を備え、該湾曲部(10)は、前記一对の測定電極の一方の電極(11 a)が少なくとも一部に配置される内側流れ表面(10 a)と、前記一对の測定電極の他方の電極(11 b)が少なくとも一部に配置される外側流れ表面(10 b)とを有する、請求項9に記載の流量測定装置。

【請求項 1 9】

前記チャンネルは連続した少なくとも2つの半湾曲部(12)を備え、該半湾曲部(12)のそれぞれは、前記一对の測定電極(13 a - 13 b)の一方の電極がそれぞれの少なくとも一部に配置される外側流れ表面(12 a)を有する、請求項9に記載の流量測定装置。

40

【請求項 2 0】

前記一对の測定電極の一方の電極(16 a)は、前記一对の測定電極の他方の電極(16 b)に接触する前記液体の流れ(A 2)に対して、前記電極(16 a)の近傍における前記液体の流れ(A 1)を加速させることが可能な加速構造(15)の表面に配置される、請求項9に記載の流量測定装置。

【請求項 2 1】

前記チャンネルは、前記一对の測定電極の一方の電極(19 a)の近傍における液体の流

50

れを再循環（F 1）させることが可能な、前記液体を再循環させる構造（18、20）を備え、前記一对の測定電極の他方の電極（19b）は、前記液体の直接流（F 2）の領域内に配置される、請求項9に記載の流量測定装置。

【請求項22】

前記液体を再循環させる構造は、前記チャネル（1）の表面の凹部（18）から成る、請求項21に記載の流量測定装置。

【請求項23】

前記液体を再循環させる構造は、前記チャネル（1）の急な拡張部（20）から成る、請求項21に記載の流量測定装置。

【請求項24】

前記一对の測定電極（2a - 2b、9a - 9b、11a - 11b、13a - 13b、16a - 16b、19a - 19b、22a - 22b）は、前記電気二重層の厚みの3倍～1000倍の距離だけ離間される、請求項9～23のいずれか一項に記載の流量測定装置。

【請求項25】

請求項8に記載の方法を実施する、流量測定装置であって、突出レリーフ（4、5、7、8）と、湾曲部（10）と、連続した2つの半湾曲部（12）と、前記液体の流れ（A1）を加速させる構造（15）と、前記液体を再循環（F 1）させる構造（18、20）とから成る群から選択される、少なくとも2つの異なる手段を備える、流量測定装置。

【請求項26】

自由端を有する、ニードル又はコーン型の液体吸引／分注装置であって、前記自由端の近傍に、請求項9～25のいずれか1項に記載の導電性液体の流量測定装置を備えることを特徴とする、液体吸引／分注装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ミリメートルからマイクロメートルサイズの横断寸法を有する流体チャネル内で流れる液体の流量を測定する方法、及び該方法を実施する装置に関する。

【0002】

特に、本方法は、化学分子又は生体分子のアッセイプロトコルにおける正確且つ表示可能な液量測定に用いられる。

【背景技術】

【0003】

化学分子又は生体分子のアッセイ方法は、一般に、液体溶液中において、十分に規定された濃度及び十分に規定された反応量で化学的試薬又は生物学的試薬を混合するプロトコルの適用に基づいている。例として、ELISA試験法において用いられる酵素検出の場合では、測定される必要のある酵素製品の濃度は、その中で反応が生じる量に反比例する。したがって、用いられる様々な試薬の量を測定する際の誤差が、測定結果に直接的な影響を及ぼす。

【0004】

さらに、医療診断のための生体分子又は化学分子のアッセイの場合には、各試験結果について、この結果を得るのに用いた生化学的プロトコルが正しく行われたことを保証することができる点が有利であり、且つその必要性が高まっている。プロトコル手順のこの追跡能力は、用いる試薬のそれぞれの容量を正確に測定すると共に、試薬が反応容量に正確に分注されていることを保証するための方法を見つけねばならないことを意味する。

【0005】

測定容量を制御するこの必要性を満たすために、広範な技術的解決策が考え出されている。人手による解決策は、概して、採取（drawn up）量又は分注量の規定された幾何学的形状（メスピペット、設定又は調整可能な量を有する手動又は電動ピペット、シリンジピペット、マルチチャンネルピペット）に基づいている。これらのシステムは、概して、ツールが定期的に較正されるという条件下で再現性があり、正確であり、且つ低スループッ

10

20

30

40

50

トで得られる測定容量を提供する。

【 0 0 0 6 】

より高いスループットを有する自動システムでは、容量の採取及び分注は、好ましくは非常に再現性のあるシステムによって行われ、採取及び分注された容量は、付随の測定システムによって定期的に確認される。採取又は分注された容量は、容量が採取されるリザーバ内で測定されてもよく、或いは、容量が分注される容器内で測定されてもよい。その含量 (contents) が秤量されてもよく、或いは含量のレベルが、光学的な方法、電気的接触、若しくはインピーダンス測定を用いて確認されてもよい。

【 0 0 0 7 】

これらの方法は多くの不都合な点を有する。小容量 ($10 \mu\text{l} \sim 100 \mu\text{l}$) に対する高精度の達成には困難を伴い、これらの方法は、高スループットに関連した影響を受けやすい。特に、液体のメニスカスが、容器の移動若しくは分注の勢い (violence)、気泡形成、又は重量測定の場合では、容器の慣性及び分注量の慣性によって乱されることを言及しておく。

【 0 0 0 8 】

別の解決策は、採取器具中の液体の流量の時間プロファイルを測定することによって、採取又は分注される容量を確定することにある。

【 0 0 0 9 】

様々なサイズの管及びチャネル内で流れる液体の流量を測定するための、多くの方法が開発されている。これらの方法は、様々な物理法則、すなわち、伝熱、機械的、光学的、又は電気的な方法、より正確には、電磁流体力学的又は動電学的方法に基づいている。

【 0 0 1 0 】

熱的、機械的、及び光学的な方法は、液体の導電性 (液体ごとに異なり得る) とは無関係であるという利点を有する。他方、これらの方法は、実施が技術的に複雑であるという不都合な点を有する。

【 0 0 1 1 】

さらに、かかるシステムは小型化が困難である。小容量を採取及び分注するシステムでは、液体は、概して細管又は細口フラスコの底面から採取され、採取されると、コーン (cone: 円錐部) 又はニードルのフレア状端部 (flared end) に入る。

【 0 0 1 2 】

機械的、熱的又は光学的なシステムは、概して、この場所に直接配置するには非常にかさばるため、離さなければならず、これにより、液体ピストン又は空気ピストンを介した、装置の上部における体積流量の間接測定が必要となる。

【 0 0 1 3 】

電気的な方法は、溶液の導電性に強く依存するが、特に小型化フォーマットにおいて設置及び実施することが最も容易であり、このことは、採取器具の入口 (input) を形成する吸引/分注装置の自由端近くにおいて、それらの方法を実施することを可能にする。

【 0 0 1 4 】

動電学的方法は、固体表面近くの領域内における電解液の移動に関係する。電気二重層がこの領域の特徴である。

【 0 0 1 5 】

この電気二重層は、論文 "Electrical double layer effects in a Poiseuille flow"、C. Lattes, S. Colin, S. Geoffroy, 及び L. Baldas 著、La Houille Blanche (Hydroelectric Power)、1 (2006) pp 47-52 において説明されている。これは以下のように概説することができる。

【 0 0 1 6 】

エタノール等の導電性が非常に弱い導電性液体でさえ、固体側壁 (solid sidewalls) と接触、例えば金属、金属酸化物、バイアスされた半導体等、又は、最終的に、炭素、グラファイト又はカーボンナノチューブから作製される固体側壁と接触すると、側壁は電荷を得る。金属は、例えば、金、白金又はステンレス鋼であってもよく、金属酸化物は ITO

10

20

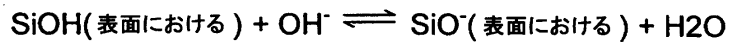
30

40

50

(酸化インジウムスズ)であってもよく、半導体はシリコン又はダイヤモンドであってもよい。固体側壁は、カーボン、グラファイト又はカーボンナノチューブから作製されることについても言及することができる。側壁の電荷は、特にイオン化によって決まり、したがって、溶液のpH、及び、側壁に対する吸収能又は液体への溶解能、側壁-液体の界面におけるイオンによって決まる。例えば、水と接触するシリコンの場合では、側壁における分子の解離は、以下の反応に従って、負に帯電した表面をもたらす。

【数1】



【0017】

10

これは、溶液内におけるイオン濃度の局所的な変化をもたらす。液体中の電荷のこの再分布によって影響を受ける領域は、電気層と呼ばれる。Sternモデルが大半の研究において用いられており、Sternモデルは、この層を、

厚み X_H を有し、側壁の表面に吸着されるイオンから成り、また、面(Stern面と呼ばれる)に沿って位置合わせされる、薄い緻密層(Stern層と呼ばれる)と、

イオンが移動可能である拡散層(Gouy-Chapman層と呼ばれる)と、から成る電気二重層(EDL)として提示している。

【0018】

したがって、機械的に与えられるか又は電場に起因する移動は、Gouy-Chapmanの拡散層においてしか観察されず、側壁の近傍のStern層には観察されないが、その理由は、Stern層内の対流が常に無視できるほどのものであるからである。

20

【0019】

側壁の表面上の電荷は、Stern層において吸着された電荷と拡散層における電荷とによって相殺され、したがって、全体の電気的中性を維持する。この状態は、側壁界面における電気二重層の対流-拡散型電荷平衡(CDE)と呼ばれる。それは、所与の液体/側壁の対に関する流れの特徴である。CDEは対流(流れ方向に作用する)及び拡散(流れ方向に対して垂直に作用する)によって決まる。

【0020】

溶液中のイオンの分布により電場が形成され、この電場の強度は側壁から離れるにつれて弱まる。

30

【0021】

Stern層とGouy-Chapman層とを分離する面は剪断面である。CDEの特徴である、この面における電位はゼータ(ζ)電位であり、これは電気化学電位又は界面動電位とも呼ばれる。

【0022】

電気二重層の厚みは以下のように定義される。

【0023】

【数2】

$$\delta = \sqrt{\frac{\epsilon \epsilon_0 k_b T}{2 n_0 e^2 z^2}}$$

40

【0024】

式中、 n_0 は初期濃度であり、 z はイオン価であり、 e は電子の電荷であり、 k_b はボルツマン定数であり、 T は温度である。

【0025】

Sternに従うと、 δ の三倍に等しい距離では、電位 ψ は、電極の表面におけるその値 ψ_0 に対して98%低減した。したがって、 δ は、電位の変化が著しい液体層の厚みの特徴を示す。

【0026】

50

液体の特性に応じて、電気二重層の厚み δ は数ナノメートルから約1マイクロメートルまで様々である。

【0027】

J. Collins及びA. P. Leeは、Lab on a Chip, 4 (2004) pp 7-10に掲載された、“Microfluidic flow transducer based on the measurement of electrical admittance”と題する論文において、流れに対して横断方向に配置された2つの裸電極間に形成される静電容量を測定すると共に、その裸電極間に外部から電位が印加される装置を提案している。流れが電気二重層の厚みに影響を与えることによって、この静電容量を変化させる。

【0028】

この第1の装置は、測定される電流が液体の導電性に比例するため、その流量測定が、望まれる液体に依存するという不都合な点を有する。さらに、電極間に電流を印加することによって、溶液が加水分解される危険性がある。

【0029】

Karin D. Caldwell及びMarcus N. Myersは、Anal. Chem., 58 (1986) pp 1583-1585に掲載された、“Flowmeter Based on Measurement of Streaming Potentials”と題する論文において、流れに対して長手方向に配置された2つの裸電極間の電位を測定する、すなわち、一方の電極が液体の流れ方向に対して他方の電極の上流にある装置を提案している。これらの電極は、チャンネルの2つのセクション間に長手方向に配置されねばならず、且つ、チャンネルの直径よりも大きな直径を有するスリーブ内に配置される。

【0030】

生じる電位は、液体中で一方の電極から他方の電極へ運ばれる移動電荷に関連する。この流動電位は、溶液の流れに対向する。

【0031】

この第2の装置もまた、測定される電圧が液体の導電性に反比例するため、その流量測定が、望まれる液体に依存するという不都合な点を有する。さらに、測定スリーブをチャンネル内に組み入れるために、或る特定の長さを割り当てる必要がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0032】

本発明の目的は、上記不都合点を軽減すると共に、流量を測定する方法及び該方法を実施する測定装置を提供することである。これらは採用が容易であり、製造が単純であり、採取システムの入口に配置するのに十分にコンパクトであり、採取又は分注された液体と直接接触し、(マイクロリットル程度の)小容量の測定に適合性がある。

【0033】

好ましくは、本発明はまた、液体が導電性を有する場合に、液体の物理的特性とは無関係である流量測定方法、及び該方法を実施する測定装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0034】

この目的のために、本発明の1つの主題は、ミリメートルからマイクロメートルのサイズの横断寸法を有する流体チャンネルと、少なくとも一対の測定電極とを備え、電気二重層が導電性液体との各電極の界面に形成される装置において、層流レジーム(laminar flow regime)内で規定方向に沿って流れる前記導電性液体の流量測定方法であって、各電極に面する拡散層内の流速場が異なるように、且つ、各電極の界面における前記電気二重層の対流-拡散型電荷平衡が異なるように、前記一対の測定電極の一方の電極の近傍における、流れの方向に沿った前記チャンネルの幾何学的特徴が、前記一対の測定電極の他方の電極の近傍における、流れの方向に沿った前記チャンネルの幾何学的特徴とは異なるように、前記装置の前記電極が配置され、該方法は、次のステップを含む方法である。

- 前記液体の流れを確立するステップと、
- 前記一対の電極の電極間の電圧を測定するステップと、
- 前記測定から前記液体の流量を推定するステップ。

【 0 0 3 5 】

液体の流量は、流量を電圧の増加関数として与える関係に従い、この関係は、較正プロセスによって、又は、カップリングした動電学的及び流体力学的効果をモデリングすることによって達成される。

【 0 0 3 6 】

慣例により、以下の方法のステップがアルファベット順に実行される。

【 0 0 3 7 】

他の実施の形態によれば：

前記装置は参照電極をさらに備え、前記ステップ b) は、前記一对の測定電極の一方の電極と前記参照電極との間の電圧と、前記一对の測定電極の他方の電極と前記参照電極との間の電圧とを測定することも含み、前記ステップ c) は、前記ステップ b) において測定された前記電圧を用いて、前記液体の導電性とは無関係に前記液体の流量を推定することにあり；

10

前記装置は単一对の測定電極を備えることができ、該一对の測定電極の少なくとも一方の電極は、前記チャンネル内に突出するレリーフに配置され；

前記装置は単一对の測定電極を備えることができ、前記装置の前記チャンネルには湾曲部が設けられ、前記一对の測定電極の一方の電極は、前記湾曲部の内側流れ表面の少なくとも一部に配置され、前記一对の測定電極の他方の電極は、前記湾曲部の外側流れ表面の少なくとも一部に配置され；

前記装置は単一对の測定電極を備えることができ、前記装置の前記チャンネルには、連続した少なくとも2つの半湾曲部を設けることができ、前記一对の測定電極の各電極は、各半湾曲部の外側流れ表面の少なくとも一部に配置され；

20

前記装置は、単一对の測定電極と、前記一对の測定電極の一方の電極に接触する前記液体の流れに対して、前記一对の測定電極の他方の電極に接触する前記液体の流れを加速させる構造とを備えることができ；

前記装置は、単一对の測定電極と、前記一对の測定電極の一方の電極と接触する前記液体を再循環させる構造とを備えることができ、直接流が、前記一对の測定電極の他方の電極と接触状態に維持され；及び / 又は

前記方法は、上記種々の方法のうちの少なくとも2つを実施することができる。

【 0 0 3 8 】

30

本発明はまた、層流レジーム内で規定方向に沿って流れる導電性液体の流量を測定する装置であって、チャンネルと、一对の測定電極と、前記少なくとも一对の測定電極間の電圧を測定する少なくとも1つのデバイスとを備え、電気二重層が前記導電性液体との各電極の界面に形成され、前記装置が、各電極の界面における前記電気二重層の前記対流 - 拡散型電荷平衡が異なるように、且つ、前記導電性液体が前記チャンネル内を流れる際に、各電極に面する拡散層内の流速場が異なるように配置される手段を備えることを特徴とする、流量測定装置に関する。

【 0 0 3 9 】

換言すれば、各電極に面する拡散層における、流れの軸に沿った流速場が異なるように、(凹部、凸部、平面)電極の一方の電極の近傍における、流れの軸に沿った側壁の幾何学的形状の変化は、他方の電極の近傍における、流れの軸に沿った側壁の幾何学的形状の変化とは異なり、その結果として、電気的中性を維持する対流 - 拡散型電荷平衡が異なる。

40

【 0 0 4 0 】

他の実施の形態によれば：

前記手段は、前記液体と接触して前記チャンネルの表面に配置されると共に前記チャンネル内に突出する少なくとも1つのレリーフから成ることができ；

前記一对の測定電極の一方の電極は、前記レリーフの表面に配置することができ、前記一对の測定電極の他方の電極は、前記第1の電極に面する前記チャンネルの表面に配置することができ；

50

前記一对の測定電極の一方の電極は、前記液体の流れ方向に対して前記レリーフの上流側面に配置することができ、前記一对の測定電極の他方の電極は、前記液体の前記流れ方向に対して前記レリーフの下流側面に配置することができ；

前記一对の測定電極の2つの電極は同一であり、異なる高さを有する2つのレリーフにそれぞれ配置することができ；

前記一对の測定電極の電極は異なるサイズを有することができ、同一の高さを有する2つのレリーフの表面にそれぞれ配置され；

前記レリーフは、前記一对の測定電極が対面するように配置することができ；

前記レリーフは、前記一对の測定電極が前記液体の前記流れ方向に対して位置合わせされるように配置することができ；

10

参照電極を、2つのレリーフの表面に配置される前記一对の測定電極に面する、前記チャネルの一方の側に配置することができ、前記装置は、前記一对の測定電極の一方の電極と前記参照電極間との電圧を測定するデバイスと、前記一对の測定電極の他方の電極と前記参照電極との間の電圧を測定するデバイスとをさらに備え；

前記チャネルは湾曲部を備え、該湾曲部は、前記一对の測定電極の一方の電極が少なくとも一部に配置される内側流れ表面と、前記一对の測定電極の他方の電極が少なくとも一部に配置される外側流れ表面とを有することができ；

前記チャネルは連続した少なくとも2つの半湾曲部を備え、該半湾曲部のそれぞれは、前記一对の測定電極の一方の電極がそれぞれの少なくとも一部に配置される外側流れ表面を有することができ；

20

前記一对の測定電極の一方の電極は、前記一对の測定電極の他方の電極に接触する前記液体の流れに対して、前記電極の近傍における前記液体の流れを加速させることが可能な加速構造の表面に配置することができ；

前記チャネルは、前記一对の測定電極の一方の電極の近傍における液体の流れを再循環させることが可能な、前記液体を再循環させる構造を備えることができ、前記一对の測定電極の他方の電極は、前記液体の直接流の領域内に配置され；

前記液体を再循環させる構造は、前記チャネルの表面の凹部(indentation)から成ることができ；

前記液体を再循環させる構造は、前記チャネルの急な拡張部から成ることができ；

前記一对の測定電極は、前記電気二重層の厚みの3倍～1000倍の距離だけ離間させることができ；

30

前記装置は、上記様々な装置のうちの少なくとも2つを備えることができる。

【0041】

本発明はまた、自由端を有し、その自由端の近傍に、上記した導電性液体の流量測定装置を備える、ニードル又はコーン型の液体吸引/分注装置に関する。

【0042】

本発明による装置は、電圧発生器を必要としないという点で、J. Collins及びA. P. Leeが提案している装置よりも単純である。さらに、電流を通すことによって溶液を加水分解する危険性がない。

【0043】

40

本発明による装置はコンパクトであり、また、測定電極間に位置するチャネルの長さを犠牲にする必要があるKarin D. Caldwell及びMarcus N. Myersが提案している装置とは異なり、本発明による装置は、採取又は分注された導電性液体と直接接触してチャネルの横断面内に位置し得る。

【0044】

本発明による装置のコンパクト性は、導電性、誘電率、ゼータ電位等、液体の或る特定の物理的特性を流量推定の関係から除くように、異なる複数の構造すなわち異なって動作する複数の機能を、1つの同じマイクロシステムに一体化することを可能にする。

【0045】

さらに、1つ又は複数の機能を電子チップに組み込むことが可能である。

50

【 0 0 4 6 】

本発明の他の特徴は、以下に示す詳細な説明に、それぞれ示す図を参照しながら説明される。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 7 】

【図 1】一対の電極が同一であり、異なる高さのレリーフに配置される、第 1 の実施の形態の 4 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 2】一対の電極が同一であり、異なる高さのレリーフに配置される、第 1 の実施の形態の 4 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 3】一対の電極が同一であり、異なる高さのレリーフに配置される、第 1 の実施の形態の 4 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

10

【図 4】一対の電極が同一であり、異なる高さのレリーフに配置される、第 1 の実施の形態の 4 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 5】一対の電極が異なる流体力学的条件を示すレリーフの 2 つの側面に位置する、第 2 の実施形態による装置の長手方向断面概略図である。

【図 6】一対の電極が異なっており、同一の高さのレリーフに配置される、第 3 の実施形態の 3 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 7】一対の電極が異なっており、同一の高さのレリーフに配置される、第 3 の実施形態の 3 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 8】一対の電極が異なっており、同一の高さのレリーフに配置される、第 3 の実施形態の 3 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

20

【図 9】チャンネルが 1 つの湾曲部を有する、第 4 の実施形態の 2 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略上面図である。

【図 10】チャンネルが 1 つの湾曲部を有する、第 4 の実施形態の 2 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略上面図である。

【図 11】チャンネルが 2 つの半湾曲部を有する、第 5 の実施形態の 2 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略上面図である。

【図 12】チャンネルが 2 つの半湾曲部を有する、第 5 の実施形態の 2 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略上面図である。

【図 13】チャンネルが加速構造を有する、第 6 の実施形態による装置の長手方向断面概略図である。

30

【図 14】チャンネルに再循環構造が設けられている、第 7 の実施形態の 2 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 15】チャンネルに再循環構造が設けられている、第 7 の実施形態の 2 つの変形形態のうちの 1 つによる装置の長手方向断面概略図である。

【図 16】一方の電極の上流にチャンネルが障害物を有する、第 8 の実施形態による装置の長手方向断面概略図である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 8 】

本発明は、ミリメートルからマイクロメートルサイズの横断寸法を有する流体チャンネル内で規定方向に沿って流れる導電性液体の流量を測定するために、電気二重層の電荷分布の対流 - 拡散型電荷平衡が、流量に応じて、2 つの電極の一方の電極のみにわたって又は双方の電極にわたって、ただし一方の電極と他方の電極とで異なるように変化することを利用する。

40

【 0 0 4 9 】

上記方法を実施する装置の第 1 の実施形態は、液体流の流体力学的条件を局所的に変えるように、液体流チャンネルの空洞 (cavity) 内に突出する、異なる高さの 1 つ又は複数のレリーフを設けることにある。したがって、電極の一方の電極の近傍における、流れの軸に沿ったチャンネルの幾何学的特徴は、上記一対の電極の他方の電極の近傍における、流れの軸に沿ったチャンネルの幾何学的特徴とは異なる。このようにして、各電極の界面の拡散

50

層における流速場が異なる。

【0050】

本発明による流量測定装置のこの第1の実施形態の第1の変形形態を図1に示す。この装置はチャンネル1と、一对の測定電極2a、2bと、これらの電極間の電圧を測定するデバイス3とを備える。導電性液体が電極と接触すると、規定された高さ δ の電気二重層が各電極の界面に形成される。

【0051】

電極2a、2bはそれぞれ、チャンネル1の両側の表面に配置され、液体に接触すると共にチャンネル内に突出するレリーフ4、5に、対面して配置される。代替的に、レリーフは任意の角度で角度的にオフセットされてもよく、必ずしも対面している必要はない。

10

【0052】

これらの突出レリーフ4、5により流体の流れが変化する。図1に示す第1の実施形態によれば、レリーフ4は、レリーフ5の高さ h_5 よりも低い高さ h_4 を有する。

【0053】

レリーフ4及び5は、チャンネル1内の流れの流体力学的条件を変化させる。レリーフ4及び5間の高さの差により、電極2a及び2bと接触する流れの流体力学的条件に差が生じる。したがって、電極2aの界面における電気二重層の電荷分布の対流-拡散型電荷平衡は、電極2bの界面における電気二重層の電荷分布の対流-拡散型電荷平衡とは異なる。よって、電極2aの電位は電極2bの電位とは異なる。この差はデバイス3によって測定され、チャンネル内の液体の流量を、この流量を電圧の増加関数として示す関係に従って計算することを可能にする。この関係は、較正プロセスによって、又はカップリングされた動電学的及び流体力学的効果をモデリングすることによって得られる。

20

【0054】

図2に示すように、レリーフ5の高さがゼロでなければ、レリーフ4の高さはゼロであってもよい。この例では、一对の測定電極の一方の電極2bは、液体の流れ方向Dに対して実質的に平行なレリーフ5の表面に配置され、他方の電極2aは第1の電極2bに面して配置される。

【0055】

図3に示す、本発明による第1の実施形態の第3の変形形態によれば、2つの測定電極2a及び2bは同一であり、それぞれ液体の流れ方向Dに対して実質的に平行なレリーフ4及び5にそれぞれ配置される。2つのレリーフ4及び5は、異なる高さ h_4 及び h_5 をそれぞれ有する。レリーフが異なる高さを有することから、電極2aの近傍における流体力学的条件が電極2bの近傍における流体力学的条件と異なるので、液体の流れが各電極2a、2bの界面における電気二重層の構造を変化させる。各電極の電位は測定デバイス3によって測定することができ、この電位差により液体の流量が測定可能となる。

30

【0056】

図3では、レリーフ4はレリーフ5に対して上流に位置する。

【0057】

図3に示す変形形態では、レリーフ4及び5は、電極が液体の流れ方向に対して位置合わせされるように配置される。したがって、これらのレリーフは長手方向にオフセットされる限り、任意の角度で角度的にオフセットさせることができる。

40

【0058】

液体の導電性とは無関係にチャンネル内の液体の流量を測定することができるようにするために、本発明による方法は、図4に示す第4の変形形態又は図8に示す第8の変形形態による装置を採用することができる。

【0059】

この装置では、参照電極6が、2つのレリーフ4及び5の表面に配置された測定電極2a、2bに面してチャンネル1の表面に配置される。装置はさらに、電極2a及び参照電極6間の電圧 V_1 を測定するデバイス3aと、電極2b及び参照電極6間の電圧 V_2 を測定するデバイス3bとを備える。

50

【 0 0 6 0 】

この場合、液体の流れは、測定方法のステップ a) と、電圧測定ステップ b) の、上記一対の測定電極の一方の電極及び参照電極 6 間の電圧 V_1 を測定すること、及び、上記一対の測定電極の他方の電極及び参照電極 6 間の電圧 V_2 を測定することの際に確立される。

【 0 0 6 1 】

測定装置 3、3 a 及び 3 b によって測定される電圧により、ステップ c) の際に、液体の導電性とは無関係に液体の流量が推定可能となる。

【 0 0 6 2 】

この理由は、各電圧 V_1 及び V_2 に関して、較正プロセスによって、又はカップリングされた動電学的及び流体力学的効果をモデリングすることによって得られる関係が、流量を電圧の増加関数として示すからである。

【 0 0 6 3 】

各電極に関するそれぞれの電圧 / 流量の関係では、電圧は液体の導電性に反比例する。したがって、これらの関係の比を得ることによって、導電性を排除することができる。このようにして、導電性を特徴としない、流量と 2 つの電圧 V_1 、 V_2 との関係が得られる。

【 0 0 6 4 】

図 5 に示す第 2 の実施形態によれば、流量測定装置は、チャンネル 1 と、液体の流れ方向 D に対してレリーフ 7 の上流側面 7 a 及び下流側面 7 b にそれぞれ配置される、異なるサイズの 2 つの測定電極 2 a、2 b とを備える。したがって、流体力学的条件（拡散層内の流速場）は、2 つの電極 2 a 及び 2 b の近傍で異なる。上述したように、電極 2 a 及び 2 b 間の電位差を測定すると共にその電位差から液体の流量を推定するように、流体力学的条件におけるこれらの差を用いて、これら 2 つの電極の界面における電気二重層の電荷分布の対流 - 拡散型電荷平衡を異なるように変化させる。

【 0 0 6 5 】

図 6 に示す第 3 の実施形態によれば、用いる 2 つのレリーフ 8 は同一の高さ h_8 を有する。用いる一対の測定電極は 2 つの異なるサイズの電極 9 a、9 b から成る。

【 0 0 6 6 】

図 7 に示す第 3 の実施形態の第 1 の変形形態によれば、レリーフ 8 は、それらが支持する電極が液体の流れ方向 D に対して位置合わせされるように、チャンネル内に配置される。レリーフ 8 は角度的にオフセットされてもよい。

【 0 0 6 7 】

図 8 に示すように、前述の装置は、2 つのレリーフ 8 の表面に配置された測定電極 9 a、9 b に面してチャンネル 1 の表面に配置される参照電極 6 も備えることができる。図 4 に示す装置の場合におけるように、電極 2 a、2 b 及び 6 間で測定される電位差により、液体の導電性とは無関係に流量が測定可能となる。

【 0 0 6 8 】

図 9 及び図 10 に示す、本発明の第 4 の実施形態は、チャンネル 1 内に湾曲部 10 を設けることにある。この湾曲部は、内側流れ表面 10 a 及び外側流れ表面 10 b を有する。測定電極 11 a が内側流れ表面 10 a に配置され、測定電極 11 b が外側流れ表面 10 b に配置される。湾曲部 10 の内側流れ表面 10 a における流体力学的条件は、外側流れ表面 10 b の流体力学的条件とは異なるため、この構成により各電極 11 a、11 b の界面における電気二重層の構造が変化し、したがって、各電極の電位が変化する。2 つの電極 11 a 及び 11 b 間の電位差は、測定デバイス 3 によって測定される。

【 0 0 6 9 】

図 10 に示すこの第 4 の実施形態の一変形形態によれば、測定電極 11 a 及び 11 b は、湾曲部 10 の各内側流れ表面 10 a 及び外側流れ表面 10 b の一部にわたってのみ延在してもよい。

【 0 0 7 0 】

図 1 1 及び図 1 2 に示す第 5 の実施形態によれば、本発明による流量測定装置は、連続した 2 つの半湾曲部 1 2 が備わっているチャンネルを備える。測定電極 1 3 a、1 3 b が、各半湾曲部 1 2 の外側流れ表面 1 2 a の少なくとも一部に配置される。

【 0 0 7 1 】

本発明による装置の第 6 の実施形態を図 1 3 に示す。この装置は、液体の流れを加速させる構造 1 5 が備わったチャンネル 1 を備える。測定電極 1 6 a が、液体の流れを局所的に、すなわち電極 1 6 a の近傍で加速させることが可能なこの加速構造内に配置される。電極 1 6 b が、チャンネルのうち液体の流れが一定である領域内に、電極 1 6 a に面して配置される。対面する配置は必須ではない。

【 0 0 7 2 】

液体の一定の流れ（矢印 A_2 で示す）に対する液体の流れ（矢印 A_1 で示す）の加速により、電極 1 6 b と接触する流体力学的条件に比して、電極 1 6 a と接触する流体力学的条件が変化し、この変化は液体の流量に依存する。電極 1 6 a の電気二重層の構造は、電極 1 6 b の電気二重層の構造とは異なり、そのため、2 つの電極 1 6 a、1 6 b 間の電位差を測定装置 3 によって測定することが可能となる。したがって、液体を加速させる構造により、液体の流れの流量が測定可能となる。

【 0 0 7 3 】

本発明による装置の第 7 の実施形態を図 1 4、図 1 5 及び図 1 6 に示す。この第 7 の実施形態によれば、本発明による装置は、液体を再循環させる構造が備わったチャンネルを備える。図 1 4 では、液体を再循環させるこの装置は、チャンネル 1 の表面の凹部 1 8 から成る。測定電極 1 9 a が凹部 1 8 の底面に配置され、それにより、液体がチャンネル 1 内に流れると、液体流の再循環 F_1 が電極 1 9 a の表面にわたって生じる。別の測定電極 1 9 b が液体の直接流（direct flow）の領域 F_2 に、電極 1 9 a に面して配置される。

【 0 0 7 4 】

図 1 5 に示す別の変形形態によれば、液体を再循環させる構造は、チャンネル 1 の急な拡張部 2 0 から成っていてもよい。

【 0 0 7 5 】

第 7 の実施形態のこれらの 2 つの変形形態では、測定電極の一方の電極のみにわたる液体の再循環と、測定電極の他方の電極にのみ接触する直接流の維持とにより、各電極の界面における流速場が異なるように、これらの電極の近傍に流体力学的条件の差を確立させる。これにより、これらの電極のそれぞれの界面における電気二重層が、異なる構造を有するに至る。上記のように、電気二重層の電荷分布の対流 - 拡散型電荷平衡の差異により、デバイス 3 によって測定される電圧が生じる。こうして、流体の流量はこの電位差から推定することができる。

【 0 0 7 6 】

図 1 6 に示す第 8 の実施形態によれば、本発明による流量測定装置は、測定電極 2 2 a、2 2 b の一方のみの上流に配置される障害物 2 1 を備えることができる。

【 0 0 7 7 】

より一般的には、レリーフは、自身が支持する電極の一方の電極の近傍における流体力学的条件が異なっていれば、いかようにも配置することができる。したがって、上記に記載の実施形態の全てにおいて、また、それらの変形形態において、上記少なくとも一対の電極の測定電極は、好ましくは、電気二重層の厚み δ の 3 倍 ~ 1 0 0 0 倍、より好ましくは電気二重層の厚み δ の約 1 0 倍の距離だけ離間する。電気二重層は、約数ナノメートルから約 1 マイクロメートルの厚みを有することができ、2 つの電極間の最小距離は、数十ナノメートルから約 1 0 マイクロメートルである。

【 0 0 7 8 】

本発明による測定装置の一実施形態によれば、上記の 8 つの実施形態及びそれらの変形形態のうち少なくとも 2 つの異なる装置が、チャンネル内に配置される。この流量計の実施により、液体の特性、すなわち導電性、誘電率、ゼータ電位、密度、および温度とは無関係に、液体の流量が計算可能となる。流体の連結が行われる場合、2 つの装置が同時に並

10

20

30

40

50

列又は直列に用いられるであろう。

【 0 0 7 9 】

流量測定装置は、例えば、マイクロエレクトロニクスの技法を用いてシリコン上に形成することができる。したがって、図 9 ~ 図 1 6 に示す装置は、次のプロセスによって製造することができる：

厚い（約 2 μ m）酸化シリコン（ SiO_2 ）層を形成する；

薄い（約 3 0 0 nm）金属（金又は白金等）層を堆積させ、次いでエッチングして電極 1 0 a、1 0 b、1 3 a、1 3 b、1 6 a、1 6 b、1 9 a、2 2 a、2 2 b を形成する；

厚い（数十～数百マイクロメートル）感光性の乾燥塗膜を堆積させ、次いでエッチングして微小流体チャネルを形成する；及び 10

粘着スクリーン印刷法を用いて、ポリカーボネート製又はガラス製のキャップ（cap）を乾燥塗膜に接合する。

【 0 0 8 0 】

図 1 ~ 図 8 に示す装置は、例えば 4 4 % の K O H 溶液を用いた化学エッチングによってシリコン中に形成することができるレリーフを備える。チャネルが所望のレリーフを有して形成される基板を作製するこのステップの後、電極を形成する上記ステップ、次いで微小流体チャネルを形成するステップを実行することができる。

【 0 0 8 1 】

上記した導電性液体の流量測定装置は、コーン又はニードル型の吸引 / 分注装置の自由端に設けられることが好ましい。 20

【 0 0 8 2 】

他の実施形態によれば、一对の電極の一方の電極の近傍におけるチャネルの幾何学的特徴が、上記一对の電極の他方の電極の近傍におけるチャネルの幾何学的特徴とは異なるように配置される手段は、各対の電極が：

一方が凹部、他方が凸部；又は

一方が凹部、他方が平面；又は

一方が凸部、他方が平面であるようなレリーフである。

【図 1】

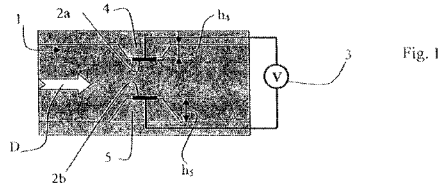


Fig. 1

【図 4】

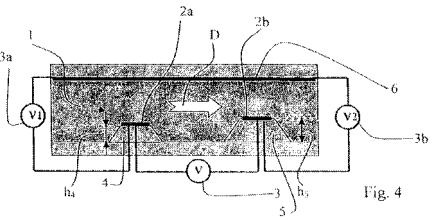


Fig. 4

【図 2】

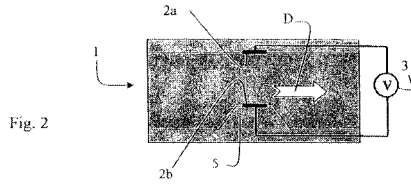


Fig. 2

【図 5】

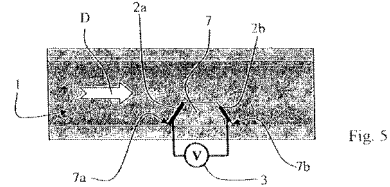


Fig. 5

【図 3】

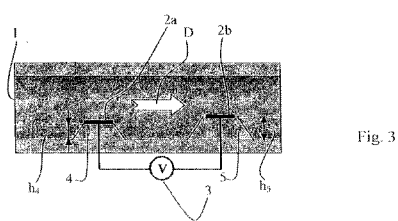


Fig. 3

【図 6】

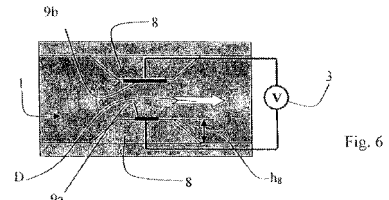


Fig. 6

【図 7】

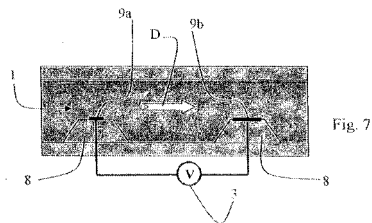


Fig. 7

【図 10】

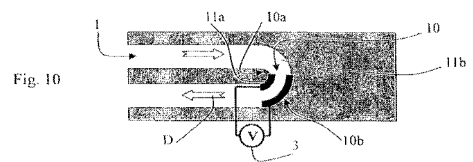


Fig. 10

【図 8】

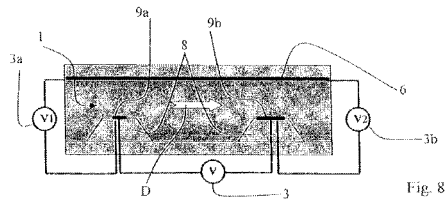


Fig. 8

【図 11】

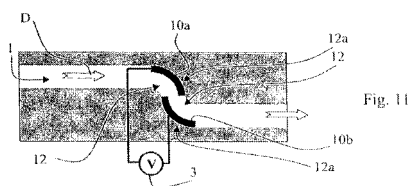


Fig. 11

【図 9】

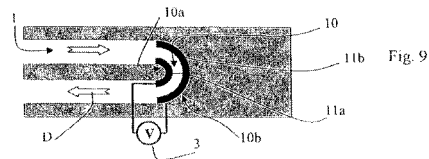


Fig. 9

【図 12】

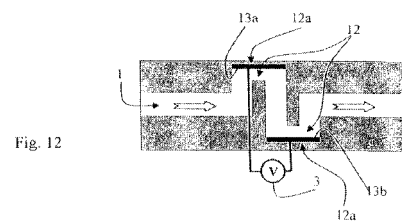


Fig. 12

【図 13】

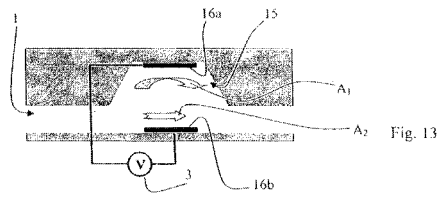


Fig. 13

【図 16】

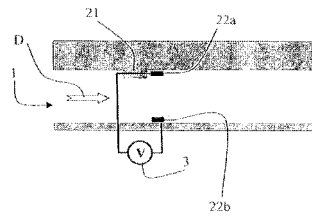


Fig. 16

【図 14】

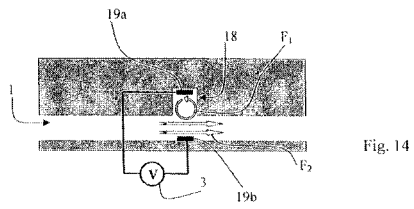


Fig. 14

【図 15】

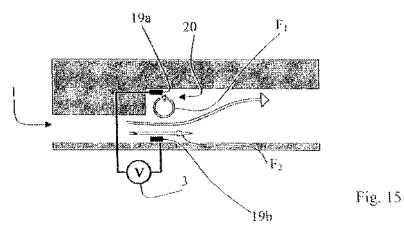


Fig. 15

フロントページの続き

(73)特許権者 502205846

サントル ナショナル ドゥ ラ ルシェルシュ シアンティフィク
フランス国 エフ - 7 5 0 1 6 パリ リュ ミシェル - アンジュ 3

(73)特許権者 511004737

ビオムリュ
フランス国 エフ - 6 9 2 8 0 マーシー レトワル シュマン ド オルム (番地なし)

(74)代理人 110000796

特許業務法人三枝国際特許事務所

(72)発明者 アシャール ジャン - リュック

フランス国 エフ - 3 8 1 0 0 グルノーブル リュ ド フレール ルイ エ オーギュスト
リュミエール イメブル レ ブラジリア

(72)発明者 ジョリー ピエール

フランス国 エフ - 3 8 0 0 0 グルノーブル ブルヴァール ジョセフ ヴァリエ 6

(72)発明者 ルー ジャン - マクシム

フランス国 エフ - 3 8 0 0 0 グルノーブル リュ ダンフェール ロシュロー 2 1

審査官 藤原 伸二

(56)参考文献 特表2005 - 525568 (JP, A)

特開昭54 - 054068 (JP, A)

特表2007 - 506080 (JP, A)

国際公開第2008 / 042274 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 0 1 F 1 / 5 6 - 1 / 9 0

G 0 1 N 2 7 / 0 0 - 2 7 / 2 4

G 0 1 N 1 / 0 0 - 1 / 3 4

G 0 1 N 3 5 / 0 0 - 3 7 / 0 0

B 0 1 L 1 / 0 0 - 9 9 / 0 0