



(10) **DE 10 2013 203 293 B4** 2016.01.21

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2013 203 293.5**
(22) Anmeldetag: **27.02.2013**
(43) Offenlegungstag: **28.08.2014**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **21.01.2016**

(51) Int Cl.: **B81B 5/00 (2006.01)**
B81B 1/00 (2006.01)
B01L 99/00 (2010.01)
G01N 35/00 (2006.01)
G01N 1/38 (2006.01)
F15C 3/00 (2006.01)

Innerhalb von neun Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
**Hahn-Schickard-Gesellschaft für angewandte
Forschung e.V., 78052 Villingen-Schwenningen,
DE; Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 79098
Freiburg, DE**

(72) Erfinder:
**Paust, Nils, 79100 Freiburg, DE; Schwemmer,
Frank, 79108 Freiburg, DE; Zehnle, Steffen, 79110
Freiburg, DE**

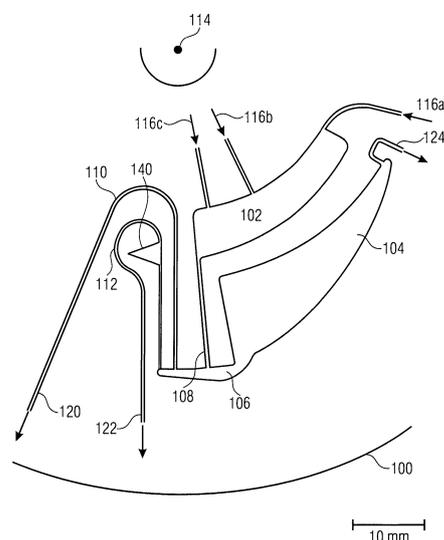
(74) Vertreter:
**Schoppe, Zimmermann, Stöckeler, Zinkler,
Schenk & Partner mbB Patentanwälte, 81373
München, DE**

(56) Ermittelter Stand der Technik:
siehe Folgeseiten

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung und Verfahren zum Leiten einer Flüssigkeit durch einen ersten oder zweiten Auslasskanal**

(57) Hauptanspruch: Fluidikvorrichtung, die um ein Rotationszentrum (114, 216) drehbar ist, zum Leiten einer Flüssigkeit durch einen ersten oder einen zweiten Auslasskanal, mit folgenden Merkmalen:
einer Kompressionskammer (104; 204);
einem Einlasskanal (108; 202), der mit der Kompressionskammer (104; 204) fluidisch gekoppelt ist;
dem ersten Auslasskanal (110; 206), der mit der Kompressionskammer (104; 204) fluidisch gekoppelt ist und einen ersten Strömungswiderstand aufweist; und
dem zweiten Auslasskanal (112; 208), der mit der Kompressionskammer (104; 204) fluidisch gekoppelt ist und einen zweiten Strömungswiderstand aufweist,
wobei der erste Auslasskanal (110; 206) und der zweite Auslasskanal (112; 208) bezüglich des Rotationszentrums (114, 216) radial ansteigende Abschnitte aufweisen, wobei die Kompressionskammer (104; 204) und der erste und zweite Auslasskanal (110, 112; 206, 208) derart ausgelegt sind, dass bei einer teilweisen Befüllung der Kompressionskammer (104; 204) mit einer Flüssigkeit über den Einlasskanal (108; 202) und einer Drehung der Fluidikvorrichtung mit einer erhöhten Drehfrequenz ein mittels der Flüssigkeit in der Kompressionskammer (104; 204) eingeschlossenes Gas durch einen Zentrifugaldruck komprimiert wird, der durch die Flüssigkeit in dem Einlasskanal (108; 202) und dem ersten und zweiten Auslasskanal erzeugt wird, wobei der erste Auslasskanal (110; 206) zumindest einen Abschnitt aufweist, der sich radial weiter nach innen erstreckt als ein radial innerster Abschnitt des zweiten Aus-

lasskanals (112; 208), und wobei der erste und der zweite Auslasskanal (110, 112; 206, 208) derart ausgelegt sind, dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer ersten Ausdehnungsrate die Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal (110; 206) leitbar ist und dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer zweiten Ausdehnungsrate, die kleiner als die erste Ausdehnungsrate ist, die Flüssigkeit über den zweiten Auslasskanal (112; 208) leitbar ist.



(56) Ermittelter Stand der Technik:

DE	10 2008 003 979	B3
DE	10 2009 050 979	A1
US	2003 / 0 207 457	A1
US	2008 / 0 110 500	A1
US	2009 / 0 111 190	A1
US	2010 / 0 135 859	A1
US	2012 / 0 039 769	A1
US	2012 / 0 295 781	A1

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Vorrichtungen und Verfahren zum Leiten einer Flüssigkeit durch einen ersten oder zweiten Auslasskanal, und insbesondere Vorrichtungen und Verfahren, die zum Schalten von Flüssigkeiten in einem zentrifugal-mikrofluidischen System geeignet sind.

[0002] Die zentrifugale Mikrofluidik erfuhr im letzten Jahrzehnt große Aufmerksamkeit aufgrund ihres Potentials für die Integration und Automatisierung von Analyse- und Diagnoseaufgaben, wobei hinsichtlich zentrifugaler mikrofluidischer Plattformen auf J. Ducee u. a., "The centrifugal microfluidic bio-disk platform," J. Micromech. Microeng., Vol. 17, No. 7, S. 103–115, Juli 2007, verwiesen werden kann. Wirtschaftlich sehr interessant ist insbesondere die Automatisierung von Routineaufgaben in günstigen Testträgern auf bezahlbaren Prozessierungsgeräten. Ein guter Kandidat für sehr günstige und überall verfügbare Prozessierungsgeräte sind Laborzentrifugen. Diese gehören ohnehin zur Standardausstattung von Laboren und sind aufgrund der großen Stückzahlen vergleichsweise günstig.

[0003] Insbesondere besteht Bedarf an einer Struktur, die das sequentielle Abtrennen (Schalten) von Flüssigkeiten aus einer gemeinsamen Einlasskammer in z. B. zwei verschiedene Auslasskammern ermöglicht, beispielsweise für ein DNA-Aufreinigung. Für typische Laboraufgaben müssen sowohl wässrige Lösungen als auch hochbenetzende Flüssigkeiten zuverlässig geschaltet werden. Bezüglich wässriger Lösungen beträgt die Oberflächenspannung von Wasser ca. 73 mN/m bei 20°C. Bezüglich hochbenetzender Flüssigkeiten beträgt die Oberflächenspannung von Ethanol ca. 23 mN/m bei 20°C.

[0004] Aus dem Stand der Technik sind zentrifugal-mikrofluidische Strukturen zum Schalten von Flüssigkeiten bekannt.

[0005] Eine publizierte Methode zum Schalten von Flüssigkeiten basiert auf der Coriolis-Kraft. Dies erlaubt das Schalten von Flüssigkeiten durch Umkehr der Drehrichtung, wie bei S. Haerberle u. a., "Automation of nucleic acid extraction by a coriolis-force actuated droplet router," Paris, Frankreich, 2007, S. 1231–1233; J. V. Zoval u. a., "Flow Switching an a Multi-Structured Microfluidic Cd (Compact Disc) Using Coriolis Force" und der US 2008/190503 A1 beschrieben ist. Dies ist offensichtlich auf einer Laborzentrifuge mit nur einer möglichen Drehrichtung keine geeignete Option, da ein Umschalten der Drehrichtung erforderlich ist. Zudem ist für eine zuverlässige Funktion eine lokale Modifikation des Kontaktwinkels auf dem Deckel notwendig, was den Herstellungsprozess verteuert.

[0006] Eine weitere publizierte Schalttechnik nutzt den Druck einer vorangehenden Flüssigkeitssäule auf eine eingeschlossene Luftblase, um eine nachfolgende Flüssigkeit in eine andere Auslasskammer zu zwingen. Eine solche Vorgehensweise ist bei J. Kim u. a., "Passive flow switching valves an a centrifugal microfluidic platform", Sens. Actuators B Chem., Vol. 128, No. 2, S. 613–621, Jan. 2008 beschrieben. Bei diesem System ist eine Einlasskammer über einen Fluidkanal mit einer ersten Kammer verbunden. Von dem Fluidkanal zweigt ein zweiter Fluidkanal ab, der mit einer zweiten Kammer fluidisch verbunden ist. Das Funktionsprinzip des Schalters basiert auf einer Flüssigkeitssäule und einer eingeschlossenen Luftblase, wobei eine erste Flüssigkeit von der Einlasskammer über den Fluidkanal in die erste Kammer läuft. Eine zweite Flüssigkeit wird eingebracht, wobei die dabei entstehende Flüssigkeitssäule einen Druck auf die zwischen der ersten Flüssigkeit und der zweiten Flüssigkeit eingeschlossene Luftblase ausübt, die die nachfolgende Flüssigkeit zum Fluss in eine zweite Kammer zwingt. Diese Lösung bringt eine starke Einschränkung in der Geometrie des mikrofluidischen Systems und der verwendbaren Flüssigkeitsmengen mit sich. Bei einer fest vorgegebenen Geometrie ist das Schalten nur von vorgegebenen, präzise abzumessenden Flüssigkeitsmengen möglich. Zusätzlich ist ein großer Abstand zwischen dem Ort, an dem der zweite Fluidkanal abzweigt, und dem Pegelstand der ersten Flüssigkeit in dem Fluidkanal notwendig, um zu verhindern, dass die Luftblase in die erste Kammer gedrückt wird, was den Schalteffekt negieren würde. Damit geht viel auf einer Disk stark begrenzter Platz verloren.

[0007] Eine weitere bekannte Lösung für das Schalten von Flüssigkeiten basiert auf zwei Auslasskanälen, die von einer gemeinsamen Einlasskammer abzweigen, wobei einer der Kanäle aufgrund einer lokalen, wasserabweisenden (hydrophoben) Beschichtung dem Flüssigkeitsfluss einen größeren Widerstand entgegensetzt. Je nach Rotationsfrequenz des mikrofluidischen Systems, wird dieser Widerstand entweder überwunden oder die Flüssigkeit in den alternativen Kanal gezwungen. Diese Lösung hat den Nachteil, dass die sehr präzise aufzubringende lokale hydrophobe Beschichtung kostenaufwändig ist und bei hochbenetzenden Flüssigkeiten an Effektivität verliert, da die Stopp-Wirkung der hydrophoben Beschichtung von der Oberflächenspannung der Flüssigkeit abhängt.

[0008] Eine weitere bekannte Struktur zum Schalten von Flüssigkeiten basiert auf dem selektiven Öffnen von Belüftungsöffnungen in Kammern und ist in der US 2008/0110500 A1 beschrieben. Der Schalt-Effekt beruht darauf, dass Flüssigkeit unter bestimmten Bedingungen nicht in eine unbelüftete Kammer fließt, da der Luftdruck die Flüssigkeit am Eindringen hindert. Eine Mehrzahl von radial außen liegenden Kammern

ist jeweils mit einer verschließbaren Entlüftungsöffnung versehen. Durch selektives Öffnen einer dieser Entlüftungsöffnungen fließt Flüssigkeit unter Rotation des Testträgers bevorzugt in die belüftete Kammer. Die Entlüftungsöffnungen können über eine Klebefolie oder ein Septum verschlossen werden. Zum Öffnen kann entweder ein Laser, ein zum Durchstoßen geeignetes Gerät oder ein Werkzeug verwendet werden. Das Öffnen wird somit entweder mit einer manuellen Operation erreicht oder durch einen komplizierten mechanischen oder laserbasierten zusätzlichen Aufbau.

[0009] Bei anderen bekannten Verfahren erfolgt ein Schalten durch externe Druckluft, wobei eine solche auf Luftdruck basierende Lösung das Schalten von Flüssigkeiten an einem T-förmig geformten Kanal erlaubt. Wie bei Matthew C. R. Kong u. a., „Pneumatic Flow Switching an Centrifugal Microfluidic Platforms in Motion“, Anal. Chem., 2011, 83, S. 1148–1151, beschrieben ist, wird dazu aktiv Druckluft in eine zentrifugale Plattform eingebracht. Abhängig davon, in welchen Kanal die Druckluft geleitet wird, wird die Flüssigkeit in einen der Kanäle geschaltet. Der Nachteil dieser Lösung ist, dass Druckluft extern vorgelagert werden muss und die Schaltung nicht nur über Änderung der Drehfrequenz erfolgen kann.

[0010] Ferner sind beispielsweise aus der DE 10 2008 003 979 B3 und der DE 10 2009 050 979 A1 Verfahren zum zentrifugopneumatischen Schalten bekannt. Bei einem zentrifugopneumatischen Schalten wird ein zentrifugierbares strukturiertes Substrat mit einer oder mehreren radial weiter innen liegenden Kammern versehen. Diese sind mit Kanälen mit radial weiter außen liegenden Kammern verbunden, wovon mindestens eine keine andere Belüftung als den Verbindungskanal zu den anderen Kammern aufweist. Durch die Geometrie der Kanäle wird ein bevorzugter Fluss von Flüssigkeit von der radial innen liegenden Kammer in diese Kammer erzeugt, was während dieses Vorgangs die Kammer von der Außenluft trennt. Wird nun, unabhängig von der Drehrichtung, durch ein schnelles Drehen des Substrates um eine Drehachse eine hohe Zentrifugalkraft auf eine Flüssigkeit in der radial innen liegenden Kammer ausgeübt, fließt diese durch einen Phasenaustausch in die unbelüftete Kammer. Wird eine andere Flüssigkeit in der radial innen liegenden Kammer mit einer langsameren Rotationsfrequenz beaufschlagt, die nicht für einen Phasenaustausch ausreichend ist, wird sie durch den Gegendruck der Luft in der unbelüfteten Kammer in den Kanal zu einer belüfteten Kammer gezwungen. Dies ermöglicht das Schalten von Flüssigkeiten mit einer einfachen Struktur ohne lokale Beschichtungen auf einer Laborzentrifuge. Die Schaltfunktion des Luft-Gegendrucks ist deutlich stabiler gegenüber Flüssigkeiten mit niedrigen Oberflächenspannungen wie hydrophobe Ventile.

[0011] Wie ferner in der DE 10 2009 050 979 A1 beschrieben ist, wird bei einer weiteren Implementierung ebenfalls Flüssigkeit von einer oder mehreren radial weiter innen liegenden Einlasskammern zwischen mehreren Auslasskammern geschaltet. Die Kammern sind durch ein Kanalsystem verbunden. Hierbei wird der Fluss der Flüssigkeit durch das Kanalsystem bevorzugt in eine Kammer gelenkt, die über eine Entlüftung verfügt, deren Zugang unter bestimmten Bedingungen durch eine Flüssigkeit verschlossen ist. Beispielsweise kann der Zugang zur Entlüftung bei hohen Zentrifugalkräften geöffnet werden, indem Schaltflüssigkeit, die vorher den Zugang blockierte, in eine geschlossene Schaltkammer gedrückt wird und so die Entlüftung ermöglicht. Bei niedrigen Zentrifugalkräften wird diese Schaltflüssigkeit durch den Luftdruck in der geschlossenen Schaltkammer wieder in den Weg der Entlüftung gedrückt und zwingt so den Flüssigkeitsfluss in die belüftete Kammer.

[0012] Schließlich beschreiben Steffen Zehnle u. a., Centrifugo-dynamic inward pumping of liquids on a centrifugal microfluidic platform“, Lab Chip, 2012, 12, 5142–5145, die Verwendung eines in einer Kompressionskammer komprimierten Gasvolumens, um Flüssigkeit auf einer mikrofluidischen zentrifugalen Plattform radial nach innen zu pumpen. Flüssigkeit wird bei einer hohen Drehfrequenz in eine Kompressionskammer eingebracht und komprimiert dabei ein in der Kompressionskammer eingeschlossenes Gasvolumen. Ein schnelles Abbremsen der Plattform führt dabei zu einer schnellen Ausdehnung des komprimierten Gasvolumens, so dass die Flüssigkeit durch einen Auslasskanal aus der Kompressionskammer entweicht, wobei der Auslasskanal einen kleineren Strömungswiderstand aufweist als ein Einlasskanal, über den die Flüssigkeit in die Kompressionskammer eingebracht wurde.

[0013] Die beschriebenen bekannten Techniken sind nachteilig dahingehend, dass sie es nicht zulassen, hochbenetzende Flüssigkeiten auf einer Laborzentrifuge, die eine Drehung in nur einer Drehrichtung ermöglicht, in einem günstigen mikrofluidischen Testträger, z. B. ohne lokale Oberflächenmodifikationen von einem gemeinsamen Eingangsreservoir in verschiedene Ausgangsreservoirs flexibel, z. B. ohne strenge geometrische Einschränkungen des Designs, zu schalten. Somit weisen die beschriebenen Techniken Schwächen beispielsweise bei einer Verwendung zur DNA-Extraktion auf einer Laborzentrifuge auf.

[0014] Aus der US 2003/0207457 A1 ist ein Zentrifugenrotor bekannt, der eine Siphonstruktur aufweist, die zwischen einer ersten Fluidkammer und einer zweiten Fluidkammer angeordnet ist. Ein Einlass des Siphons in die erste Kammer ist radial weiter außen angeordnet als ein Auslass des Siphons in die zweite

Kammer, so dass die erste Kammer bis zu einem Pegel entleert wird, der der radialen Position des Auslasses entspricht.

[0015] In der US 2012/0295781 A1 ist eine mikrofluidische Vorrichtung zur Bluttrennung beschrieben, die eine Sedimentationskammer aufweist, in die ein Einlasskanal mündet. Ein Siphon-Kanal verbindet die Sedimentationskammer mit einer Sammelkammer, die mit einer Entlüftung versehen ist.

[0016] Die US 201 0/01 35859 A1 beschreibt eine mikrofluidische Vorrichtung mit mehreren Startreservoirs und einer Ausgabekammer, die mit einer Entlüftungsöffnung versehen ist.

[0017] Die US 2009/0111190 A1 offenbart eine mikrofluidische Vorrichtung mit einer Mikrokanalstruktur und die US 2012/0039769 A1 offenbart eine scheibenbasiertes Fluidtrennungssystem, das mindestens zwei Kanalmuster aufweist, die auf einer Seitenoberfläche der Scheibe gebildet sind.

[0018] Die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegende Aufgabe besteht darin, eine Vorrichtung und ein Verfahren zu schaffen, die es ermöglichen, eine Flüssigkeit durch einen ersten oder zweiten Auslasskanal zuverlässig und flexibel zu schalten bzw. zu leiten.

[0019] Diese Aufgabe wird durch eine Fluidikvorrichtung nach Anspruch 1 und ein Verfahren nach Anspruch 15 gelöst.

[0020] Ausführungsbeispiele der Erfindung schaffen eine Fluidikvorrichtung, die um ein Rotationszentrum drehbar ist, zum Leiten einer Flüssigkeit durch einen ersten oder einen zweiten Auslasskanal, mit folgenden Merkmalen:
 einer Kompressionskammer;
 einem Einlasskanal, der mit der Kompressionskammer fluidisch gekoppelt ist;
 dem ersten Auslasskanal, der mit der Kompressionskammer fluidisch gekoppelt ist und einen ersten Strömungswiderstand aufweist; und
 dem zweiten Auslasskanal, der mit der Kompressionskammer fluidisch gekoppelt ist und einen zweiten Strömungswiderstand aufweist,
 wobei der erste Auslasskanal und der zweite Auslasskanal bezüglich des Rotationszentrums radial ansteigende Abschnitte aufweisen, wobei die Kompressionskammer und der erste und zweite Auslasskanal derart ausgelegt sind, dass bei einer teilweisen Befüllung der Kompressionskammer mit einer Flüssigkeit über den Einlasskanal und einer Drehung der Fluidikvorrichtung mit einer erhöhten Drehfrequenz ein mittels der Flüssigkeit in der Kompressionskammer eingeschlossenes Gas durch einen Zentrifugaldruck komprimiert wird, der durch die Flüssigkeit in dem

Einlasskanal und dem ersten und zweiten Auslasskanal erzeugt wird,
 wobei der erste Auslasskanal zumindest einen Abschnitt aufweist, der sich radial weiter nach innen erstreckt als ein radial innerster Abschnitt des zweiten Auslasskanals, und wobei der erste und der zweite Strömungskanal derart ausgelegt sind, dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer ersten Ausdehnungsrate die Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal leitbar ist und dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer zweiten Ausdehnungsrate, die kleiner als die erste Ausdehnungsrate ist, die Flüssigkeit über den zweiten Auslasskanal leitbar ist.

[0021] Gemäß Ausführungsbeispielen der vorliegenden Erfindung weist ein Verfahren zum Leiten einer Flüssigkeit durch den ersten Auslasskanal oder den zweiten Auslasskanal einer entsprechenden Fluidikvorrichtung folgende Schritte auf:
 Beaufschlagen der Kompressionskammer, des Einlasskanals und des ersten und zweiten Auslasskanals mit der erhöhten Drehfrequenz, und
 ausgehend von der Rotation mit der erhöhten Drehfrequenz, Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate ausdehnt, um die Flüssigkeit durch den ersten Auslasskanal zu leiten, oder Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt, um die Flüssigkeit durch den zweiten Auslasskanal zu leiten.

[0022] Ausführungsbeispiele der Erfindung basieren auf der Erkenntnis, dass zumindest zwei Auslasskanäle derart ausgelegt sein können, dass es möglich ist, Flüssigkeit, die über einen Einlasskanal in eine Kompressionskammer eingebracht wurde, abhängig von der Ausdehnungsrate des in der Kompressionskammer komprimierten Gases durch einen der Auslasskanäle zu entleeren. Die kleinere Ausdehnungsrate kann dabei derart sein, dass der Flüssigkeitsstand in dem Einlasskanal und dem ersten und zweiten Auslasskanal langsam ansteigt, so dass die Flussrate so gering ist, dass Reibungskräfte im Fluid praktisch keinen Einfluss auf die Fluidodynamik haben. Folglich bleiben die Füllstände in den drei parallelen Fluidpfaden gleich, so dass die Flüssigkeit ausschließlich über den zweiten Auslasskanal abgeleitet wird, da der erste Auslasskanal einen Abschnitt aufweist, der sich radial weiter nach innen erstreckt als ein radial innerster Abschnitt des zweiten Auslasskanals. Anders ausgedrückt fließt die Flüssigkeit ausschließlich über den zweiten Auslasskanal ab, da dieser den niedrigsten, also radial äußersten, Scheitelpunkt besitzt. Die größere Ausdehnungsrate kann derart sein, dass die Flüssigkeitsstände in dem Einlasskanal, dem ersten Auslasskanal und dem zweiten Auslasskanal schnell ansteigen, so dass die Flussrate relativ hoch ist und Reibungskräfte die Fluidodynamik beeinflussen. Insbesondere können hohe Reibungskräfte in dem zweiten Auslasskanal die Fluss-

rate derart begrenzen, dass der erste Auslasskanal zuerst gefüllt und somit die Kompressionskammer über den ersten Auslasskanal entleert wird. Somit ist es möglich, abhängig von der Ausdehnungsrate des komprimierten Gases, die Flüssigkeit durch entweder den ersten Auslasskanal oder den zweiten Auslasskanal zu schalten.

[0023] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung ist der zweite Strömungswiderstand größer als der erste Strömungswiderstand, so dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer ersten Ausdehnungsrate die Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal leitbar ist und dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer zweiten Ausdehnungsrate, die kleiner als die erste Ausdehnungsrate ist, die Flüssigkeit über den zweiten Auslasskanal leitbar ist.

[0024] Bei alternativen Ausführungsbeispielen weist der zweite Auslasskanal einen Volumenpuffer auf, der ausgelegt ist, um Flüssigkeit aufzunehmen und zu verhindern, dass Flüssigkeit einen radial innersten Abschnitt des zweiten Auslasskanals erreicht, wenn die Flüssigkeit bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit der ersten Ausdehnungsrate durch den ersten Auslasskanal geleitet wird. Bei solchen Ausführungsbeispielen kann der zweite Strömungswiderstand gleich oder sogar kleiner wie der erste Strömungswiderstand sein.

[0025] Bei Ausführungsbeispielen weist der zweite Auslasskanal einen Siphon auf, wobei ein radial innerer Scheitelpunkt des Siphons radial weiter außen angeordnet ist als ein radial innerer Abschnitt des ersten Auslasskanals. Beispielsweise kann dieser radial innere Abschnitt des ersten Auslasskanals ein Siphon des ersten Auslasskanals sein. Somit ist es auf zuverlässige Weise möglich, die Flüssigkeit durch den zweiten Auslasskanal zu entleeren, wenn eine Ausdehnung des komprimierten Gases mit der ersten, geringen Ausdehnungsrate bewirkt wird.

[0026] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung ist der zweite Strömungswiderstand größer als der erste Strömungswiderstand, wobei der zweite Auslasskanal einen Volumenpuffer aufweist, der ausgelegt ist, um Flüssigkeit aufzunehmen und zu verhindern, dass Flüssigkeit den radial innersten Abschnitt des zweiten Auslasskanals erreicht, wenn die Flüssigkeit bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit der größeren Ausdehnungsrate durch den ersten Auslasskanal geleitet wird. Somit kann zuverlässig sichergestellt werden, dass Flüssigkeit ausschließlich durch den ersten Auslasskanal von der Kompressionskammer entleert wird.

[0027] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung sind der Einlasskanal und der erste und zweite Auslasskanal mit einem Fluidkanal fluidisch gekoppelt,

der in die Kompressionskammer, beispielsweise in ein radial äußeres Ende der Kompressionskammer, mündet. Eine solche Anordnung ermöglicht eine vollständige Entleerung der Kompressionskammer.

[0028] Bei Ausführungsbeispielen münden der Einlasskanal und der erste und zweite Auslasskanal in eine radial innere Seite des Fluidkanals, wobei eine radial äußere Seite des Fluidkanals eine Ausbuchtung aufweist. Dies ermöglicht auf vorteilhafte Weise die Ausbildung einer Sedimentationskammer auf der radial äußeren Seite des Fluidkanals, in die der Einlasskanal und die Auslasskanäle münden.

[0029] Bei Ausführungsbeispielen mündet ein erstes Ende des ersten Auslasskanals an einer Position in eine Auslasskammer, die radial weiter innen liegt als ein Auslass der Kompressionskammer, der mit einem zweiten Ende des ersten Auslasskanals fluidisch gekoppelt ist. Bei solchen Ausführungsbeispielen kann die Ausdehnung des komprimierten Gases zusätzlich verwendet werden, um ein radial nach innen gerichtetes Pumpen der Flüssigkeit zu implementieren.

[0030] Bei Ausführungsbeispielen ist ein erstes Ende des ersten Auslasskanals mit einer Analysekammer fluidisch gekoppelt, ein erstes Ende des zweiten Auslasskanals ist mit einer Abfallkammer fluidisch gekoppelt, und zweite Enden des ersten und des zweiten Auslasskanals sind mit der Kompressionskammer fluidisch gekoppelt. Somit sind Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung insbesondere auch zur Aufreinigung von Nukleinsäure auf einer rotierenden Plattform geeignet.

[0031] Bei Ausführungsbeispielen sind die Fluidikstrukturen, die die Kompressionskammer, den Einlasskanal, den ersten Auslasskanal und den zweiten Auslasskanal aufweisen, in einem Substrat gebildet, wobei das Substrat als Rotationskörper, beispielsweise als Scheibe, ausgebildet sein kann, oder als Fluidikmodul, das in einen Rotationskörper einsetzbar ist.

[0032] Ausführungsbeispiele einer Fluidikvorrichtung sind somit auf einen Rotationskörper bzw. ein Fluidikmodul mit entsprechenden Fluidikstrukturen gerichtet. Alternative Ausführungsbeispiele einer Fluidikvorrichtung umfassen ferner eine Einrichtung zum Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate oder der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt. Diese Einrichtung zum Bewirken, dass das sich das komprimierte Gas entsprechend ausdehnt, kann beispielsweise eine Antriebsvorrichtung, die ausgelegt ist, um die Kompressionskammer, den Einlasskanal und den ersten und zweiten Auslasskanal mit unterschiedlichen Rotationsgeschwindigkeiten zu beaufschlagen, eine Heizeinrichtung, die ausgelegt ist, um das Gas in der Kompressionskammer mit unterschiedlichen Temperaturgradi-

enten zu beaufschlagen, oder eine Einrichtung zum Erzeugen einer chemischen Reaktion in der Kompressionskammer aufweisen. Ferner sind Kombinationen derartiger Einrichtungen möglich.

[0033] Bei Ausführungsbeispielen weist die Einrichtung zum Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit einer entsprechenden Ausdehnungsrate ausdehnt, eine Antriebseinrichtung auf, die konfiguriert ist, um die Kompressionskammer, den Einlasskanal und den ersten und zweiten Auslasskanal mit einer Rotation mit der konstanten Drehfrequenz zu beaufschlagen, und um ausgehend von der Rotation der konstanten Drehfrequenz die Drehfrequenz entweder mit einer ersten Drehfrequenzverminderungsrate zu vermindern, um zu bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate ausdehnt und die Flüssigkeit durch den ersten Auslasskanal geleitet wird, oder mit einer zweiten Drehfrequenzverminderungsrate zu vermindern, die geringer ist als die erste Drehfrequenzverminderungsrate, um zu bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt und die Flüssigkeit durch den zweiten Auslasskanal geleitet wird.

[0034] Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung werden nachfolgend Bezug nehmend auf die beiliegenden Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

[0035] Fig. 1 eine schematische Draufsicht auf eine Fluidikvorrichtung gemäß einem Ausführungsbeispiel der Erfindung;

[0036] Fig. 2 eine schematische Darstellung unterschiedlicher Drehfrequenzprotokolle;

[0037] Fig. 3 schematische Darstellungen unterschiedlicher Phasen eines Verfahrens zum Leiten von Flüssigkeiten durch einen ersten oder zweiten Auslasskanal;

[0038] Fig. 4 eine schematische Draufsicht auf eine Fluidikvorrichtung gemäß einem alternativen Ausführungsbeispiel;

[0039] Fig. 5 schematische Darstellungen eines alternativen Ausführungsbeispiels einer Fluidikvorrichtung während unterschiedlicher Phasen beim Leiten einer Flüssigkeit durch einen ersten oder zweiten Auslasskanal;

[0040] Fig. 6 und Fig. 7 schematische Seitenansichten zur Erläuterung von Ausführungsbeispielen von Fluidikvorrichtungen.

[0041] Bevor spezielle Ausführungsbeispiele der Erfindung näher erläutert werden, sei zunächst darauf hingewiesen, dass Beispiele der Erfindung insbesondere auf dem Gebiet der zentrifugalen Mikrofluidik

Anwendung finden können, bei der es um die Prozessierung von Flüssigkeiten im Nanoliter- bis Milliliterbereich geht. Entsprechend können die Fluidikvorrichtungen geeignete Abmessungen im Mikrometerbereich für die Handhabung entsprechender Flüssigkeitsvolumina aufweisen. Insbesondere können Ausführungsbeispiele der Erfindung auf zentrifugalmikrofluidischen Systemen Anwendung finden, wie sie beispielsweise unter der Bezeichnung „Lab-on-a-Disk“ bekannt sind. Ein Anwendungsschwerpunkt von Ausführungsbeispielen der Erfindung kann dabei auf dem Gebiet der DNA-Extraktion/Aufreinigung liegen. Dabei werden Lysat und Waschpuffer durch eine Festphase geleitet und anschließend in eine Abfallkammer geschaltet. Als nächstes wird ein Elutionspuffer durch die Festphase geleitet und in eine separate Auslasskammer geschaltet und von dort aus entweder prozessiert oder entnommen. Die Erfindung ist jedoch nicht auf dieses Anwendungsgebiet beschränkt und kann in anderen Kontexten, die das mikrofluidische Schalten von Flüssigkeiten erfordern, verwendet werden.

[0042] Wird hierin der Ausdruck radial verwendet, so ist jeweils radial bezüglich des Rotationszentrums, um das das Fluidikmodul bzw. der Rotor drehbar ist, gemeint. Im Zentrifugalfeld ist somit eine radiale Richtung von dem Rotationszentrum weg radial abfallend und eine radiale Richtung zu dem Rotationszentrum hin ist radial ansteigend. Ein Fluidkanal, dessen Anfang näher am Rotationszentrum liegt als dessen Ende, ist somit radial abfallend, während ein Fluidkanal, dessen Anfang weiter vom Rotationszentrum entfernt ist als dessen Ende, radial ansteigend ist. Ein Kanal, der einen radial ansteigenden Abschnitt aufweist, weist also Richtungskomponenten auf, die radial ansteigen bzw. radial nach innen verlaufen. Es ist klar, dass ein solcher Kanal nicht exakt entlang einer radialen Linie verlaufen muss, sondern in einem Winkel zu der radialen Linie verlaufen kann.

[0043] Erfindungsgemäß hängt das Schalten durch einen von zumindest zwei Auslasskanälen von der Ausdehnungsrate des in der Kompressionskammer komprimierten Gases ab. Dabei müssen die Ausdehnungsraten nicht konstant sein. Lediglich in einem zeitlich begrenzten Abschnitt muss die erste Ausdehnungsrate größer als die zweite Ausdehnungsrate sein.

[0044] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung kann bei der Drehung mit der erhöhten Drehfrequenz eine Drehung mit einer konstanten Drehfrequenz stattfinden, so dass ein Kräftegleichgewicht zwischen einem Druck, der durch das mittels der Flüssigkeit in der Kompressionskammer eingeschlossene und komprimierte Gas erzeugt wird, und einem entgegengerichteten Zentrifugaldruck, der durch die Flüssigkeit in dem Einlasskanal und dem ersten und zweiten Auslasskanal erzeugt wird, entsteht.

[0045] Bezug nehmend auf die **Fig. 6** und **Fig. 7** werden zunächst Beispiele von zentrifugal-mikrofluidischen Systemen beschrieben, bei denen die Erfindung verwendet werden kann.

[0046] **Fig. 6** zeigt eine Vorrichtung mit einem Fluidikmodul **10** in Form eines Rotationskörpers, der ein Substrat **12** und einen Deckel **14** aufweist. Das Substrat **12** und der Deckel **14** können in Draufsicht kreisförmig sein, mit einer mittigen Öffnung, über die der Rotationskörper **10** über eine übliche Befestigungseinrichtung **16** an einem rotierenden Teil **18** einer Antriebsvorrichtung **20** angebracht sein kann. Das rotierende Teil **18** ist drehbar an einem stationären Teil **22** der Antriebsvorrichtung **20** gelagert. Bei der Antriebsvorrichtung **20** kann es beispielsweise um eine herkömmliche Zentrifuge mit einstellbarer Drehgeschwindigkeit oder auch ein CD- oder DVD-Laufwerk handeln. Eine Steuereinrichtung **24** kann vorgesehen sein, die ausgelegt ist, um die Antriebsvorrichtung **20** zu steuern, um den Rotationskörper **10** mit Rotationen mit unterschiedlichen Drehfrequenzen zu beaufschlagen. Die Steuereinrichtung **24** kann, wie für Fachleute offensichtlich ist, beispielsweise durch eine entsprechend programmierte Recheneinrichtung oder eine anwenderspezifische integrierte Schaltung implementiert sein. Die Steuereinrichtung **24** kann ferner ausgelegt sein, um auf manuelle Eingaben durch einen Benutzer hin die Antriebsvorrichtung **20** zu steuern, um die erforderlichen Rotationen des Rotationskörpers zu bewirken. In jedem Fall kann die Steuereinrichtung **24** konfiguriert sein, um die Antriebsvorrichtung **20** zu steuern, um den Rotationskörper mit den erforderlichen Drehfrequenzen zu beaufschlagen, um Ausführungsbeispiele der Erfindung, wie sie hierin beschrieben sind, zu implementieren. Als Antriebsvorrichtung **20** kann eine herkömmliche Zentrifuge mit nur einer Drehrichtung verwendet werden.

[0047] Der Rotationskörper **10** weist die erforderlichen Fluidikstrukturen auf. Die erforderlichen Fluidikstrukturen können durch Kavitäten und Kanäle in dem Deckel **14**, dem Substrat **12** oder in dem Substrat **12** und dem Deckel **14** gebildet sein. Bei Ausführungsbeispielen können beispielsweise Fluidikstrukturen in dem Substrat **12** abgebildet sein, während Einfüllöffnungen und Entlüftungsöffnungen in dem Deckel **14** gebildet sind. Bei Ausführungsbeispielen ist das strukturierte Substrat (inklusive Einfüllöffnungen und Entlüftungsöffnungen) oben angeordnet und der Deckel unten angeordnet.

[0048] Bei einem alternativen in **Fig. 7** gezeigten Ausführungsbeispiel sind Fluidikmodule **32** in einen Rotor **30** eingesetzt und bilden zusammen mit dem Rotor **30** den Rotationskörper **10**. Die Fluidikmodule **32** können jeweils ein Substrat und einen Deckel aufweisen, in denen wiederum entsprechende Fluidikstrukturen gebildet sein können. Der durch den Rotor

30 und die Fluidikmodule **32** gebildete Rotationskörper **10** ist wiederum durch eine Antriebsvorrichtung **20**, die durch die Steuereinrichtung **24** gesteuert wird, mit einer Rotation beaufschlagbar.

[0049] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung können das Fluidikmodul bzw. der Rotationskörper, das bzw. der die fluidischen Strukturen aufweist, aus einem beliebigen geeigneten Material gebildet sein, beispielsweise einem Kunststoff, wie PMMA (Polymethylmethacrylat), PC (Polycarbonat), PVC (Polyvinylchlorid) oder PDMS (Polydimethylsiloxan), Glas oder dergleichen. Der Rotationskörper **10** kann als eine zentrifugal-mikrofluidische Plattform betrachtet werden.

[0050] Ausführungsbeispiele von Fluidikstrukturen zur Implementierung erfindungsgemäßer Fluidikvorrichtungen werden nachfolgend Bezug nehmend auf die **Fig. 1** bis **Fig. 5** näher erläutert. Solche Fluidikstrukturen ermöglichen, in einem Zentrifugenrotor Flüssigkeit von einem Einlassreservoir abhängig vom Frequenzprotokoll in einen von zwei oder mehr verschiedenen nachfolgenden Auslasskanälen zu schalten. In welche der Auslasskanäle die Flüssigkeit geschaltet wird, hängt vom verwendeten Frequenzprotokoll ab. Dabei kann zunächst bei hoher Drehfrequenz Flüssigkeit durch einen oder mehrere Einlasskanäle radial nach außen in eine Kompressionskammer gepumpt werden, in der ein kompressibles Medium eingeschlossen und komprimiert wird. Gleichzeitig werden zwei oder mehr Auslasskanäle, welche mit der Kompressionskammer verbunden sind teilweise befüllt. Beispielsweise durch Abbremsung des Rotors auf eine geringe Drehfrequenz dehnt sich das kompressible Medium wieder aus. In Abhängigkeit der vordefinierten hydraulischen Widerstände und der Höhe jeweiliger Siphon-Strukturen der Auslasskanäle füllt die Flüssigkeit nun einen oder mehrere der Siphon-Strukturen vollständig. Dabei bestimmt die Abbremsrate, welche der Auslasskanäle vollständig gefüllt werden. Alternativ kann der Entleerungsvorgang (Pumpvorgang) auch ohne Abbremsung ausschließlich durch Ausdehnung des kompressiblen Mediums in der Kompressionskammer erfolgen. Eine solche Ausdehnung kann thermisch induziert sein oder durch Gasentwicklung aufgrund chemischer Reaktionen ausgelöst werden. Kombinationen der beschriebenen Effekte sind ebenfalls möglich. Nach der vollständigen Befüllung eines oder mehrerer Auslasskanäle wird die zu schaltende Flüssigkeit dann vollständig oder teilweise in den entsprechenden Auslasskanal bzw. die entsprechenden Auslasskanäle überführt.

[0051] **Fig. 1** zeigt schematisch eine Draufsicht auf ein Ausführungsbeispiel einer Fluidikvorrichtung in Form einer zentrifugalen Scheibe. Fluidikstrukturen, die in der zentrifugalen Scheibe **100** gebildet sind, sind beispielsweise für eine automatisierte Bakteri-

en-DNA-Extraktion aus Vollblut geeignet. Die Fluidikstrukturen weisen ein Einlassreservoir **102**, eine Kompressionskammer **104**, eine Sedimentationskammer **106**, einen Einlasskanal **108**, der das Einlassreservoir **102** mit der Sedimentationskammer **106** fluidisch verbindet, einen ersten Auslasskanal **110** und einen zweiten Auslasskanal **112** auf. Die Fluidikvorrichtung **100** ist um ein Rotationszentrum **114** drehbar. Mehrere Flüssigkeitseinlässe **116a** bis **116c** für das Einlassreservoir **102** sind vorgesehen. Ein erstes, radial inneres Ende des Einlasskanals **108** mündet in einen radial äußeren Abschnitt des Einlassreservoirs **102** und ein zweites, radial äußeres Ende des Einlasskanals **108** mündet in einen radial inneren Abschnitt der Sedimentationskammer **106**.

[0052] Der erste Auslasskanal **110** und der zweite Auslasskanal **112** weisen jeweils eine Siphon-Struktur auf. Erste Enden **120** und **122** des ersten Auslasskanals **110** und des zweiten Auslasskanals **112** sind an einer Position angeordnet, die radial weiter außen liegt als die Kompressionskammer **104** und die Sedimentationskammer **106**, so dass die Auslasskanäle **110** und **112** geeignet sind, um diese Kammern vollständig zu entleeren. Ein zweites Ende der ersten und zweiten Auslasskanäle **110** und **112** mündet in einen radial inneren Bereich der Sedimentationskammer **106**.

[0053] Der zweite Auslasskanal **112** weist einen höheren Strömungswiderstand als der erste Auslasskanal **110** auf. Allgemein können bei Ausführungsbeispielen der Erfindung unterschiedliche Strömungswiderstände (hydraulische Widerstände) jeweiliger Fluidkanäle über unterschiedliche Strömungsquerschnitte erreicht werden. Somit kann der zweite Auslasskanal mit einem geringeren Strömungsquerschnitt implementiert sein als der erste Auslasskanal und somit als ein enger Fluidkanal bezeichnet werden.

[0054] Unter Kompressionskammer ist hierin eine Kammer zu verstehen, die das Komprimieren eines kompressiblen Mediums ermöglicht. Bei Ausführungsbeispielen der vorliegenden Erfindung handelt es sich dabei um eine nicht entlüftete Kammer. Bei Ausführungsbeispielen weist die Kompressionskammer mit Ausnahme des Fluideinlasses und der zwei oder mehr Fluidauslässe keine weiteren Fluidöffnungen auf. Bei alternativen Ausführungsbeispielen kann die Kompressionskammer über einen optionalen zusätzlichen Kanal **124** mit zusätzlichem Kompressionsvolumen gekoppelt sein. Bei wiederum alternativen Ausführungsbeispielen kann die Kompressionskammer eine Entlüftungsöffnung aufweisen, die verschließbar ist, um die Kompression eines kompressiblen Mediums in der Kompressionskammer zu ermöglichen.

[0055] Über die Flüssigkeitseinlässe **116a** bis **116c** können Flüssigkeitsreagenzien, die vorgelagert sein können, in das Einlassreservoir **102** eingeleitet werden. Von dort aus können die Flüssigkeiten zentrifugal durch den Einlasskanal **108** über die Sedimentationskammer **106** in die Kompressionskammer **104** gepumpt werden. Dabei kann in der Kompressionskammer ein Gasvolumen **130** eingeschlossen und komprimiert werden. Gleichzeitig baut sich im Einlasskanal **108** sowie den Auslasskanälen **110** und **112** ein zentrifugaler Gegendruck auf. Bei einer (in der Regel konstanten) Drehfrequenz der Fluidikvorrichtung **100** (der zentrifugalen Scheibe), die geeignet ist, um das in der Kompressionskammer **104** eingeschlossene Gasvolumen (in der Regel Luft) zu komprimieren, stellt sich ein Kräftegleichgewicht zwischen dem Luftdruck des Gasvolumens und dem entgegenwirkenden Zentrifugaldruck der Flüssigkeiten in dem Einlasskanal **108**, dem ersten Auslasskanal **110** und dem zweiten Auslasskanal **112** ein. Eine geeignete Drehfrequenz kann beispielsweise im Bereich von 30 bis 120 Hz liegen, beispielsweise in der Größenordnung von 75 Hz. Eine solche Drehfrequenz kann als hohe Drehfrequenz bezeichnet werden. Der sich ergebende Gleichgewichtszustand ist in **Fig. 3A** dargestellt, wobei sich in der Kompressionskammer **104** ein komprimiertes Gasvolumen **130** befindet. Die zugeordnete hohe Drehfrequenz ist ferner in dem Frequenzprotokoll in **Fig. 2** unter A zu erkennen.

[0056] Ausgehend von der in **Fig. 3A** gezeigten Situation kann nunmehr die Flüssigkeit durch entweder den ersten Auslasskanal **110** oder den zweiten Auslasskanal **112** geschaltet werden, abhängig von der Rate, mit der die Drehfrequenz vermindert wird. **Fig. 3B** zeigt den Fall, bei dem eine langsame Drehfrequenzverminderung stattfindet, während in **Fig. 3C** der Fall gezeigt ist, bei dem eine schnelle Drehfrequenzverminderung stattfindet.

[0057] Anders ausgedrückt entscheidet bei einer anschließenden Verminderung der Drehfrequenz auf eine niedrige Drehfrequenz, von beispielsweise 15 Hz, die Geschwindigkeit, mit welcher die Drehfrequenz verringert wird, durch welchen Auslasskanal, d. h. Siphon, die prozessierte Flüssigkeit abläuft. Bei einer langsamen Verminderung der Drehfrequenz, beispielsweise mit einer Rate von weniger als 5 Hz/s, dehnt sich das Gasvolumen langsam aus und die Flüssigkeit wird langsam aus der Kompressionskammer verdrängt. Dadurch steigt der Flüssigkeitsstand im ersten Auslasskanal **110**, im zweiten Auslasskanal **112** und im Einlasskanal langsam an, so dass die Flussrate annähernd Null ist. Somit haben Reibungskräfte im Fluid praktisch keinen Einfluss auf die Fluidynamik und die Füllstände in den drei parallelen Fluidpfaden bleiben im Wesentlichen gleich. Es liegt somit ein quasi-statischer Fall vor. Da der Scheitelpunkt des zweiten Auslasskanals **112** radial weiter außen liegt als der Scheitelpunkt des ersten Auslass-

kanals **110**, fließt die Flüssigkeit somit ausschließlich über den zweiten Auslasskanal **112** ab, da dieser den niedrigsten, also radial äußersten, Scheitelpunkt besitzt. Dieser Fall ist in **Fig. 3B** gezeigt. Die entsprechend langsame Drehfrequenzverminderung ist ferner in dem Frequenzprotokoll von **Fig. 2** unter B zu erkennen.

[0058] Erfolgt alternativ ausgehend von dem in **Fig. 3A** gezeigten Zustand eine schnelle Verminderung der Drehfrequenz, beispielsweise mit einer Rate von mehr als 10 Hz/s, so wird bewirkt, dass sich das Gasvolumen schnell ausdehnt und die Flüssigkeit schnell verdrängt. Somit steigen die Flüssigkeitsstände in dem Einlasskanal, dem ersten Auslasskanal und dem zweiten Auslasskanal schnell an, so dass die Flussrate relativ hoch ist und Reibungskräfte die Fluidodynamik beeinflussen. Da somit ein dynamischer Vorgang stattfindet, können unterschiedliche Füllhöhen in den drei parallelen Fluidpfaden erreicht werden, so dass Flüssigkeit ausschließlich über den ersten Auslasskanal abgeleitet, d. h. geschaltet werden kann. Insbesondere begrenzen die hohen Reibungskräfte in dem zweiten Auslasskanal **112** die Flussrate durch denselben derart, dass der erste Auslasskanal **110** zuerst gefüllt wird. Je nach geometrischer Auslegung der Auslasskanäle, d. h. der Siphons, kann bewerkstelligt werden, dass die Flüssigkeit den Scheitelpunkt des zweiten Auslasskanals **112** nicht erreicht, so dass ausschließlich der Siphon des ersten Auslasskanals geschaltet und die Flüssigkeit ausschließlich durch diesen Auslasskanal abgeführt wird. Zu diesem Zweck kann, wie in **Fig. 1** gezeigt ist, der zweite Auslasskanal **112** einen Volumenpuffer **140** aufweisen, der ein bestimmtes Flüssigkeitsvolumen aufnehmen kann, so dass sichergestellt werden kann, dass die Flüssigkeit den Scheitelpunkt des zweiten Auslasskanals **112** nicht erreicht. Der entsprechende Zustand ist in **Fig. 3C** gezeigt. Die entsprechende schnelle Drehfrequenzverminderung ausgehend von der hohen Drehfrequenz ist in dem Frequenzprotokoll von **Fig. 2** unter C gezeigt.

[0059] Nachdem bei dem gezeigten Ausführungsbeispiel Flüssigkeit nur dann durch den zweiten Auslasskanal **112** geleitet wird, wenn nach einer Drehfrequenzverminderung ein hohes Flüssigkeitsvolumen in das Einlassreservoir rückgepumpt wurde, ist dieser Auslasskanal in **Fig. 2** als Volumen-Siphon bezeichnet, während der erste Auslasskanal **110**, durch den Flüssigkeit aufgrund eines dynamischen Vorgangs entleert wird, als dynamischer Siphon bezeichnet ist.

[0060] Bei dem beschriebenen Ausführungsbeispiel weist die Sedimentationskammer **106** eine Ausbuchtung an einem radial äußeren Abschnitt derselben auf. Ferner ist die Sedimentationskammer **106** mit einem radial äußeren Abschnitt der Kompressionskammer **104** mit derselben gekoppelt. Somit können bei der Rotation mit der hohen Drehfrequenz in der Flüssigkeit

befindliche Stoffe höherer Dichte in der Ausbuchtung abgelagert werden. Somit kann neben dem Schalten eine weiterte Funktionalität, nämlich eine Sedimentation erreicht werden. Bei den abgeleiteten Flüssigkeiten kann es sich dann jeweils um entsprechend prozessierte Flüssigkeiten handeln.

[0061] Wie oben beschrieben wurde, kann der zweite Auslasskanal **112** einen Volumenpuffer **140** aufweisen. Der Volumenpuffer **140** kann eine beliebige Form aufweisen, solange er geeignet ist, ein Flüssigkeitsvolumen aufzunehmen, um sicherzustellen, dass die Flüssigkeit den Scheitelpunkt des Volumen-Siphons nicht erreicht, bevor eine Entleerung über den ersten Auslasskanal stattfindet.

[0062] Eine alternative Ausgestaltung eines Volumenpuffers ist in **Fig. 4** gezeigt. Bei dieser alternativen Ausgestaltung weist der zweite Auslasskanal **112** einen Volumenpuffer **142** auf, der als geschwungener Kanal ausgeführt ist. Dies ermöglicht, dass, wenn eine Entleerung über den zweiten Auslasskanal **112** stattfindet, d. h. der Volumen-Siphon geschaltet wird, die zu prozessierende Flüssigkeit restlos aus dem Volumen-Siphon abgeführt wird. Im Gegensatz dazu würde bei dem in **Fig. 1** dargestellten Ausführungsbeispiel Restflüssigkeit in dem Volumenpuffer **140** verbleiben.

[0063] Ein alternatives Ausführungsbeispiel einer Fluidikvorrichtung, die für eine Nukleinsäureaufreinigung mit einer Einschnitt-Reinigung geeignet ist, wird nunmehr Bezug nehmend auf **Fig. 5** beschrieben, wobei in **Fig. 5** unterschiedliche Phasen der Vorrichtung während eines entsprechenden Prozesses dargestellt sind.

[0064] Wie in **Fig. 5** gezeigt ist, weisen die Fluidikstrukturen einer entsprechenden Fluidikvorrichtung eine Einlasskammer **200**, einen Einlasskanal **202**, der die Einlasskammer mit einer Kompressionskammer **204** fluidisch verbindet, einen ersten Auslasskanal **206**, einen zweiten Auslasskanal **208**, eine Abfallkammer **210** und eine Auslasskammer **212** auf. Die entsprechenden Fluidikstrukturen sind in einem Rotationskörper **214** gebildet, der um ein Rotationszentrum **216** drehbar ist. Ein weiterer Fluidkanal **218** kann mit der Auslasskammer **212** fluidisch gekoppelt sein, der beispielsweise eine fluidische Verbindung zu weiteren Verarbeitungsstufen herstellen kann.

[0065] In der Einlasskammer **200** kann bei diesem Ausführungsbeispiel ein besonders beschichteter Sorbent (Nexttec clean column) angeordnet sein.

[0066] Zur Aufreinigung von Nukleinsäure im sogenannten Ein-Schritt-Verfahren (One-Step-Verfahren) wird der Sorbent zunächst mit einem Puffer **220** benetzt. Der Puffer **220** ist in **Fig. 5** durch eine schräge Schraffur dargestellt. Unter Zentrifugation bei einer

hohen Drehgeschwindigkeit wird nach der Benetzung überschüssige Flüssigkeit aus dem Sorbenten entfernt und in die Kompressionskammer überführt. Dadurch wird in der Kompressionskammer eine Gasblase eingeschlossen und komprimiert. Der sich durch den entsprechenden Druck p ergebende Gleichgewichtszustand ist in **Fig. 5B** dargestellt. Ausgehend von diesem Zustand benetzt durch eine langsame Verringerung der Zentrifugationsgeschwindigkeit die Flüssigkeit den Volumen-Siphon, d. h. den zweiten Auslasskanal **208** und wird durch Zentrifugalkäfte in das Abfallreservoir **210** überführt. Der sich ergebende Zustand ist in **Fig. 5C** dargestellt.

[0067] Im nächsten Schritt wird der Sorbent (die Säule) durch die eigentliche Probenflüssigkeit **222** benetzt, die in **Fig. 5C** durch eine Kreuzschraffur dargestellt ist. Die dadurch aufgereinigte Probe wird wiederum durch Zentrifugation bei einer hohen Drehfrequenz in die Kompressionskammer überführt. Durch rasche Verringerung der Drehfrequenz kommt es zu einer raschen Ausdehnung des in der Kompressionskammer eingeschlossenen Luftvolumens, so dass die Flüssigkeit nun hauptsächlich durch den ersten Auslasskanal **206** (dynamischen Auslass), der einen geringeren hydraulischen Widerstand als der zweite Auslasskanal aufweist, gepumpt wird, wie in **Fig. 5D** gezeigt ist. Dadurch gelangt die aufgereinigte Probenflüssigkeit in die Auslasskammer, die eine Analyse kammer darstellt. Wie in **Fig. 5** gezeigt ist, kann sich die Analyse kammer **212** radial weiter innen befinden als die Kompressionskammer **204**, so dass zusätzlich zu dem Schalten ein radiales Einwärts pumpen implementiert wird.

[0068] Bei Ausführungsbeispielen kann der Einlasskanal einen höheren oder niedrigeren Strömungswiderstand aufweisen als die Auslasskanäle.

[0069] Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung eignen sich zu einer Bakterien-DNA-Extraktion aus Vollblut, siehe beispielsweise das in **Fig. 1** gezeigte Ausführungsbeispiel, oder zur Nukleinsäureaufreinigung mit einer Ein-Schritt-Reinigung, siehe das in **Fig. 5** gezeigte Ausführungsbeispiel.

[0070] Ausführungsbeispiele der Erfindung schaffen einen zentrifugo-dynamischen Schalter, der das Spektrum zentrifugaler Schalter erweitert, indem beispielsweise variable Drehzahlverminderungsraten gezielt genutzt werden können. Somit eignen sich Ausführungsbeispiele der Erfindung insbesondere für komplexe fluidische Vorgänge. Für die Sepsisdiagnostik, welche die Detektion bakterieller Infektionen im Blut (Blutvergiftung) ermöglicht, sind komplexe Prozessabläufe mit einer Vielzahl von Einzelschritten nötig. So erfordert die hochsensitive Pathogen diagnostik Einzelschritte zum Mischen von Flüssigkeiten, zum Sedimentieren der Bakterien, zum Abführen des Überstandes in eine Ablaufkammer bzw. auf

eine Silikasäule und zum Resuspendieren des Sediments. Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung eignen sich für eine Automatisierung derartiger Prozessabläufe auf einer zentrifugalen mikroluidischen Plattform, für die fluidische Schalter nötig werden, die Flüssigkeit, von einem Einlasskanal kommend, wahlweise in zwei oder mehr verschiedene Auslasskanäle ableiten kann.

[0071] Bei den beschriebenen Ausführungsbeispielen sind zwei Auslasskanäle vorgesehen. Bei alternativen Ausführungsbeispielen kann eine größere Anzahl von Auslasskanälen vorgesehen sein, die jeweils Siphon-Strukturen aufweisen können, deren Scheitel an unterschiedlichen radialen Positionen angeordnet sein kann. Bei den beschriebenen Ausführungsbeispielen wurde Flüssigkeit entweder durch den einen Auslasskanal oder den anderen Auslasskanal geschaltet. Bei alternativen Ausführungsbeispielen können bei einer mittelschnellen Verringerung der Drehzahl beide (oder noch weitere) Siphons gefüllt werden. Auf diese Weise kann Flüssigkeit auf mehrere verschiedene Pfade verteilt werden, so dass eine Aliquotierung erreicht werden kann.

[0072] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung können Kanalquerschnitte der Auslasskanäle, z. B. der Siphons im Bereich von wenigen 10 μm bis einigen 100 μm liegen. Dabei können sich die Kanalquerschnitte (beispielsweise Kanaldurchmesser) des Hochwiderstands-Bereichs (zweiter Auslasskanal) und des Niedrigwiderstands-Bereichs (erster Auslasskanal) je nach Auslegung der Struktur und je nach Flüssigkeitseigenschaften um nur wenige 10% oder auch um mehrere 100% unterscheiden. Die genaue Dimensionierung der Kanalwiderstände hängt von den Flüssigkeitseigenschaften und weiteren geometrischen Parametern, beispielsweise der Länge der jeweiligen Kanäle usw. ab, wobei eine entsprechende Dimensionierung zum Erreichen der angestrebten Wirkung für Fachleute ohne Weiteres implementiert werden kann.

[0073] Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung findet nur ein Schaltvorgang durch jeweils einen der Auslasskanäle statt. Die Schaltvorgänge können jedoch bei allen Implementierungen beliebig oft wiederholt werden, wobei die Reihenfolge der Schaltvorgänge beliebig gewählt werden kann. Des Weiteren kann bei allen Implementierungen einer oder mehrere Auslasskanäle in eine zum Eingangskanal führende Fluidstruktur rückgeführt werden, womit eine Rezirkulation der prozessierenden Fluide ermöglicht wird.

[0074] Bei Ausführungsbeispielen ist der erste Strömungswiderstand geringer als der zweite Strömungswiderstand, so dass der Flüssigkeitsfluss durch den zweiten Auslasskanal stark begrenzt wird. In alternativen Ausführungsbeispielen kam der erste Strö-

mungswiderstand auch höher sein, als der zweite Strömungswiderstand, wenn ein Volumenpuffer im Volumensiphon groß genug ist, um das entsprechende Flüssigkeitsvolumen aufzunehmen.

[0075] Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung schaffen somit Fluidikstrukturen, die mindestens eine Kammer zum Einschluss und zur Kompression eines kompressiblen Mediums und mindestens einen Einlasskanal und mindestens zwei Auslasskanäle aufweisen, wobei mindestens einer der Auslasskanäle hydrodynamisch befüllt wird, d. h. aufgrund verschiedener hydraulischer Widerstände gegenüber den Einlasskanälen oder anderen Auslasskanälen. Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung ist mindestens einer der Auslasskanäle Volumen-gesteuert, d. h. der oder die Auslasskanäle werden durch hydrostatischen Druck befüllt. Bei Ausführungsbeispielen der Erfindung kann die Ausdehnung des kompressiblen Mediums durch Verringerung der Drehfrequenz des Rotors aktuiert werden. Bei alternativen Ausführungsbeispielen der Erfindung kann die Ausdehnung des kompressiblen Mediums durch thermische Ausdehnung aktuiert werden. Bei wiederum alternativen Ausführungsbeispielen kann die Ausdehnung des kompressiblen Mediums durch chemische Reaktionen aktuiert werden.

[0076] Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung ermöglichen somit die Implementierung zentrifugo-pneumatischer Schalter, die Flüssigkeiten von einem Einlasskanal in einen von zwei Auslasskanälen oder in beide Auslasskanäle leiten können sowie zurück in den Eingangskanal. Das Schalten der Flüssigkeit kann in beliebiger Reihenfolge stattfinden. Ferner kann der Schalter beliebig oft verwendet werden. Der Schalter ist weitgehend unabhängig von Benutzungs- und Materialeigenschaften, insbesondere unabhängig von Oberflächenspannung und Kontaktwinkel. Bei Ausführungsbeispielen kann die Aktuierung ausschließlich durch Zentrifugation erfolgen.

[0077] Ausführungsbeispiele der Erfindung schaffen somit eine Fluidikvorrichtung mit Fluidikstrukturen, die über mindestens eine Kammer zum Einschluss und zur Kompression einer kompressiblen Mediums und mindestens einen Einlasskanal und mindestens zwei Auslasskanälen verfügen. Dabei wird mindestens einer der Auslasskanäle hydrodynamisch befüllt, d. h. aufgrund verschiedener geometrischer Auslegungen gegenüber dem oder den Einlasskanälen oder anderer Auslasskanälen.

[0078] Ausführungsbeispiele der Erfindung schaffen gegenüber dem Stand der Technik zahlreiche Vorteile. So ist kein Wechsel der Drehrichtung für den Schaltvorgang notwendig. Ferner sind keine exakt definierten Eingangs-Flüssigkeitsvolumina für den Schaltvorgang notwendig und die Geometrie ist in größeren Grenzen variierbar. Bei Ausführungs-

beispielen sind weder lokale noch großflächige Beschichtungen notwendig. Ferner sind keine externen aktiven Komponenten notwendig. Das Schalten erfolgt durch die hohen Drehfrequenzen weitgehend unabhängig von Benetzungseigenschaften der Flüssigkeiten und Oberflächen. Das mehrmalige Schalten von Flüssigkeiten in verschiedene Kammern ist möglich, beispielsweise ein Schalten einer ersten Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal in eine erste Kammer, einer zweiten Flüssigkeit über den zweiten Auslasskanal in eine zweite Kammer, und einer dritten Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal wieder in die erste Kammer.

Patentansprüche

1. Fluidikvorrichtung, die um ein Rotationszentrum (**114, 216**) drehbar ist, zum Leiten einer Flüssigkeit durch einen ersten oder einen zweiten Auslasskanal, mit folgenden Merkmalen:
 einer Kompressionskammer (**104; 204**);
 einem Einlasskanal (**108; 202**), der mit der Kompressionskammer (**104; 204**) fluidisch gekoppelt ist;
 dem ersten Auslasskanal (**110; 206**), der mit der Kompressionskammer (**104; 204**) fluidisch gekoppelt ist und einen ersten Strömungswiderstand aufweist; und
 dem zweiten Auslasskanal (**112; 208**), der mit der Kompressionskammer (**104; 204**) fluidisch gekoppelt ist und einen zweiten Strömungswiderstand aufweist, wobei der erste Auslasskanal (**110; 206**) und der zweite Auslasskanal (**112; 208**) bezüglich des Rotationszentrums (**114, 216**) radial ansteigende Abschnitte aufweisen, wobei die Kompressionskammer (**104; 204**) und der erste und zweite Auslasskanal (**110, 112; 206, 208**) derart ausgelegt sind, dass bei einer teilweisen Befüllung der Kompressionskammer (**104; 204**) mit einer Flüssigkeit über den Einlasskanal (**108; 202**) und einer Drehung der Fluidikvorrichtung mit einer erhöhten Drehfrequenz ein mittels der Flüssigkeit in der Kompressionskammer (**104; 204**) eingeschlossenes Gas durch einen Zentrifugaldruck komprimiert wird, der durch die Flüssigkeit in dem Einlasskanal (**108; 202**) und dem ersten und zweiten Auslasskanal erzeugt wird,
 wobei der erste Auslasskanal (**110; 206**) zumindest einen Abschnitt aufweist, der sich radial weiter nach innen erstreckt als ein radial innerster Abschnitt des zweiten Auslasskanals (**112; 208**), und wobei der erste und der zweite Auslasskanal (**110, 112; 206, 208**) derart ausgelegt sind, dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer ersten Ausdehnungsrate die Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal (**110; 206**) leitbar ist und dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer zweiten Ausdehnungsrate, die kleiner als die erste Ausdehnungsrate ist, die Flüssigkeit über den zweiten Auslasskanal (**112; 208**) leitbar ist.

2. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 1, bei dem der zweite Strömungswiderstand größer ist als der erste Strömungswiderstand, so dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer ersten Ausdehnungsrate die Flüssigkeit über den ersten Auslasskanal (**110; 206**) leitbar ist und dass bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit einer zweiten Ausdehnungsrate, die kleiner als die erste Ausdehnungsrate ist, die Flüssigkeit über den zweiten Auslasskanal (**112; 208**) leitbar ist.

3. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, bei der der zweite Auslasskanal (**112; 208**) einen Volumenpuffer (**140; 142**) aufweist, der ausgelegt ist, um Flüssigkeit aufzunehmen und zu verhindern, dass Flüssigkeit einen radial innersten Abschnitt des zweiten Auslasskanals (**112; 208**) erreicht, wenn die Flüssigkeit bei einer Ausdehnung des komprimierten Gases mit der ersten Ausdehnungsrate durch den ersten Auslasskanal (**110; 206**) geleitet wird.

4. Fluidikvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der der zweite Auslasskanal (**112; 208**) einen Siphon aufweist, wobei ein radial innerer Scheitelpunkt des Siphons radial weiter außen angeordnet ist als ein radial innerer Abschnitt des ersten Auslasskanals (**110; 206**).

5. Fluidikvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei der der Einlasskanal (**108; 202**) und der erste und zweite Auslasskanal (**110, 112; 206, 208**) mit einem Fluidkanal (**106**) fluidisch gekoppelt sind, der in eine Kompressionskammer (**104; 204**) mündet.

6. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 5, bei der der Einlasskanal (**108; 202**) und der erste und zweite Auslasskanal (**110, 112; 206, 208**) in eine radial innere Seite des Fluidkanals (**106**) münden, wobei eine radial äußere Seite des Fluidkanals (**106**) eine Ausbuchtung aufweist.

7. Fluidikvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, bei der ein erstes Ende des ersten Auslasskanals (**206**) an einer Position in eine Auslasskammer (**212**) mündet, die radial weiter innen liegt als ein Auslass der Kompressionskammer (**104; 204**), der mit einem zweiten Ende des ersten Auslasskanals (**206**) fluidisch gekoppelt ist.

8. Fluidikvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, bei der ein erstes Ende des ersten Auslasskanals (**206**) mit einer Analysekammer (**212**) fluidisch gekoppelt ist, bei der ein erstes Ende des zweiten Auslasskanals (**208**) mit einer Abfallkammer (**210**) fluidisch gekoppelt ist, und bei der zweite Enden des ersten und des zweiten Auslasskanals (**206, 208**) mit der Kompressionskammer (**104; 204**) fluidisch gekoppelt sind.

9. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 8, bei der eine Position, an der das erste Ende des ersten Auslasskanals (**206**) in die Analysekammer (**212**) mündet, radial weiter innen liegt als ein Auslass der Kompressionskammer (**104; 204**), der mit dem zweiten Ende des ersten Auslasskanals (**206**) fluidisch gekoppelt ist.

10. Fluidikvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, bei der die Kompressionskammer (**104; 204**), der Einlasskanal (**108; 202**) und der erste und zweite Auslasskanal (**110, 112; 206, 208**) in einem Rotationskörper (**100; 214**) oder in einem in einen Rotationskörper einsetzbaren Modul gebildet sind.

11. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 10, die eine Einrichtung (**22, 24**) zum Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate oder der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt, aufweist.

12. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 11, bei der die Einrichtung (**22, 24**) zum Bewirken eine Antriebseinrichtung, die ausgelegt ist, um den Rotationskörper (**110; 214**) mit unterschiedlichen Rotationsgeschwindigkeiten zu beaufschlagen, eine Heizeinrichtung, die ausgelegt ist, um das Gas in der Kompressionskammer (**104; 204**) mit unterschiedlichen Temperaturgradienten zu beaufschlagen, eine Einrichtung zum Erzeugen einer chemischen Reaktion in der Kompressionskammer (**104; 204**) oder eine Kombination solcher Einrichtungen aufweist.

13. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 10 oder 11, die eine Antriebseinrichtung (**22, 24**) aufweist, die ausgelegt ist, um den Rotationskörper (**100; 214**) mit unterschiedlichen Rotationsgeschwindigkeiten zu beaufschlagen.

14. Fluidikvorrichtung nach Anspruch 13, bei der die Antriebseinrichtung (**22, 24**) konfiguriert ist, um den Rotationskörper (**110; 214**) mit einer Rotation mit der erhöhten Drehfrequenz zu beaufschlagen, und um ausgehend von der Rotation mit der erhöhten Drehfrequenz die Drehfrequenz entweder mit einer ersten Drehfrequenzverminderungsrate zu vermindern, um zu bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate ausdehnt und die Flüssigkeit durch den ersten Auslasskanal (**110; 206**) geleitet wird, oder mit einer zweiten Drehfrequenzverminderungsrate zu vermindern, die geringer ist als die erste Drehfrequenzverminderungsrate, um zu bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt und die Flüssigkeit durch den zweiten Auslasskanal (**112; 208**) geleitet wird.

15. Verfahren zum Leiten einer Flüssigkeit durch den ersten Auslasskanal (**110; 206**) oder den zweiten Auslasskanal (**112; 208**) einer Fluidikvorrichtung

gemäß einem der Ansprüche 1 bis 14, mit folgenden Schritten:

Beaufschlagen der Kompressionskammer (**104; 204**), des Einlasskanals (**108; 202**) und des ersten und zweiten Auslasskanals mit der erhöhten Drehfrequenz, und

ausgehend von der Rotation mit der erhöhten Drehfrequenz, Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate ausdehnt, um die Flüssigkeit durch den ersten Auslasskanal (**110; 206**) zu leiten, oder Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt, um die Flüssigkeit durch den zweiten Auslasskanal (**112; 208**) zu leiten.

16. Verfahren nach Anspruch 15, bei dem das Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der ersten Ausdehnungsrate ausdehnt, ein Vermindern der Drehfrequenz mit einer ersten Drehfrequenzverminderungsrate aufweist, und bei dem das Bewirken, dass sich das komprimierte Gas mit der zweiten Ausdehnungsrate ausdehnt, ein Vermindern der Drehfrequenz mit einer zweiten Drehfrequenzverminderungsrate aufweist.

Es folgen 7 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

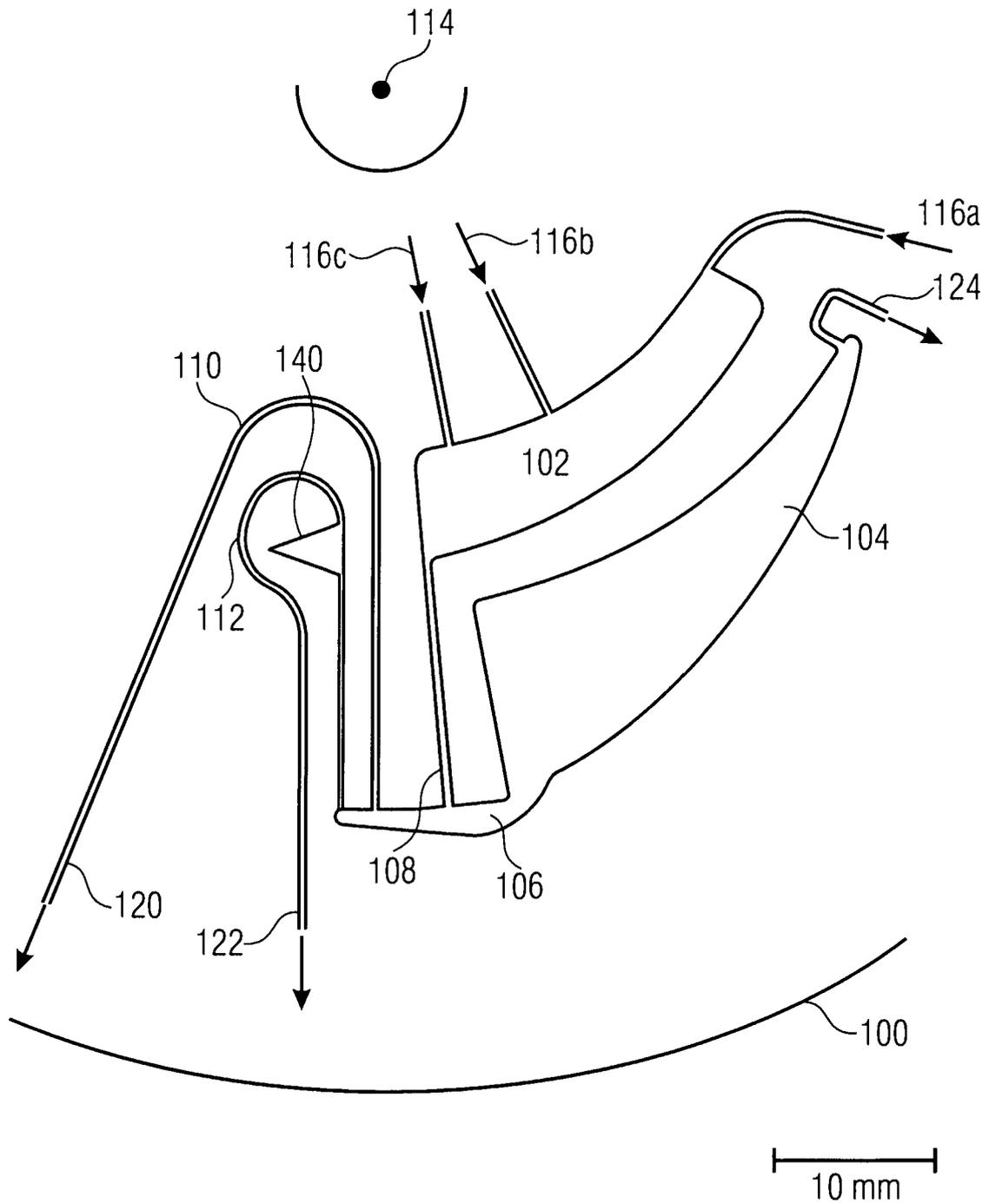


FIG 1

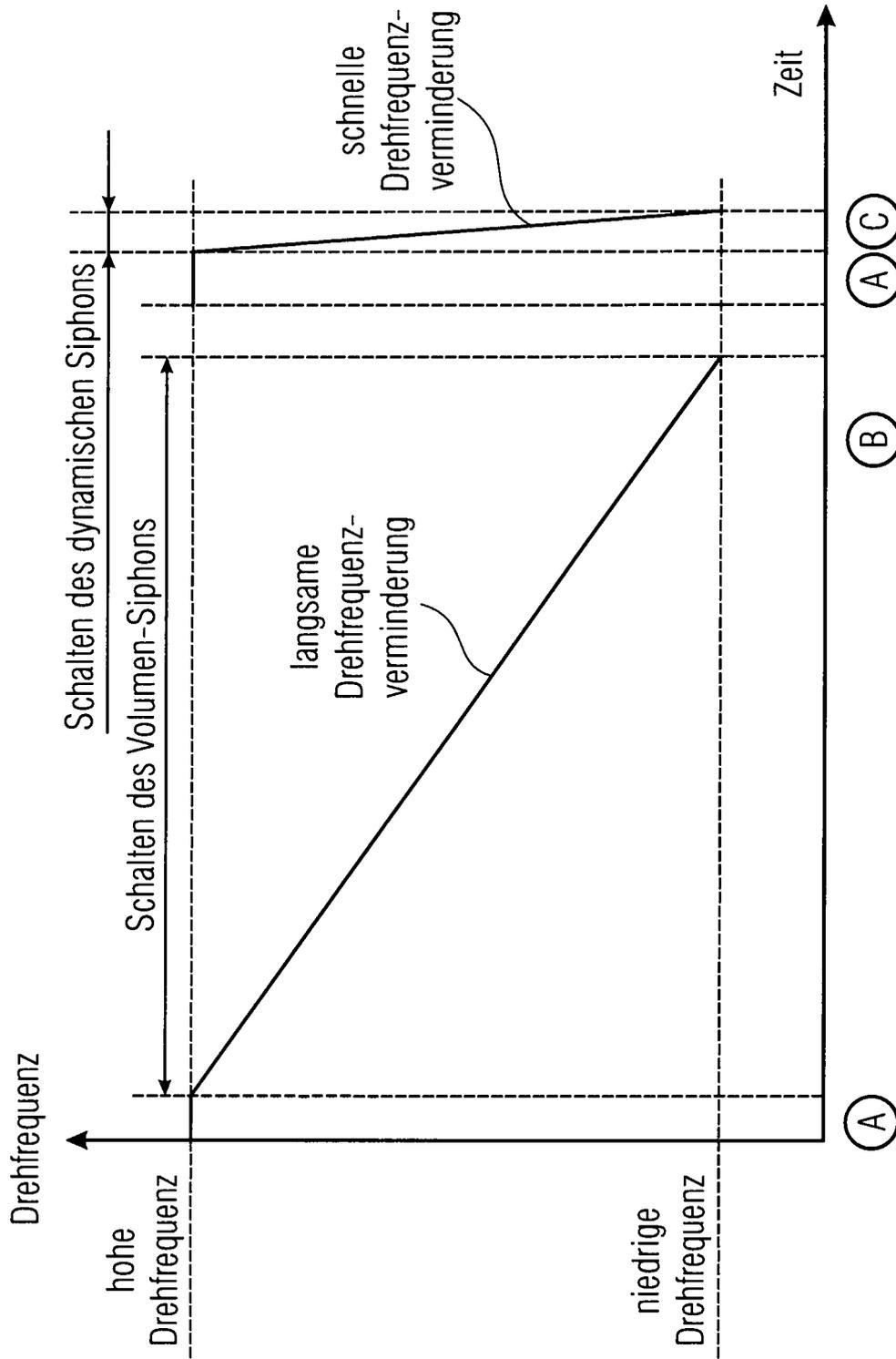


FIG 2

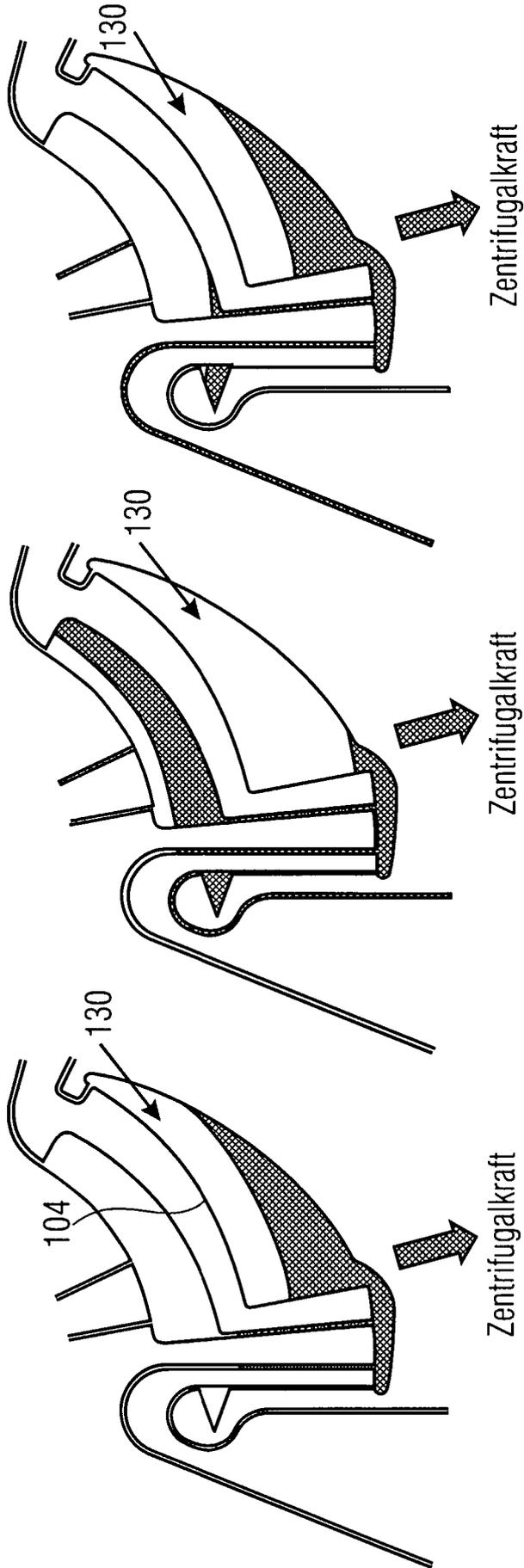


FIG 3C

FIG 3B

FIG 3A

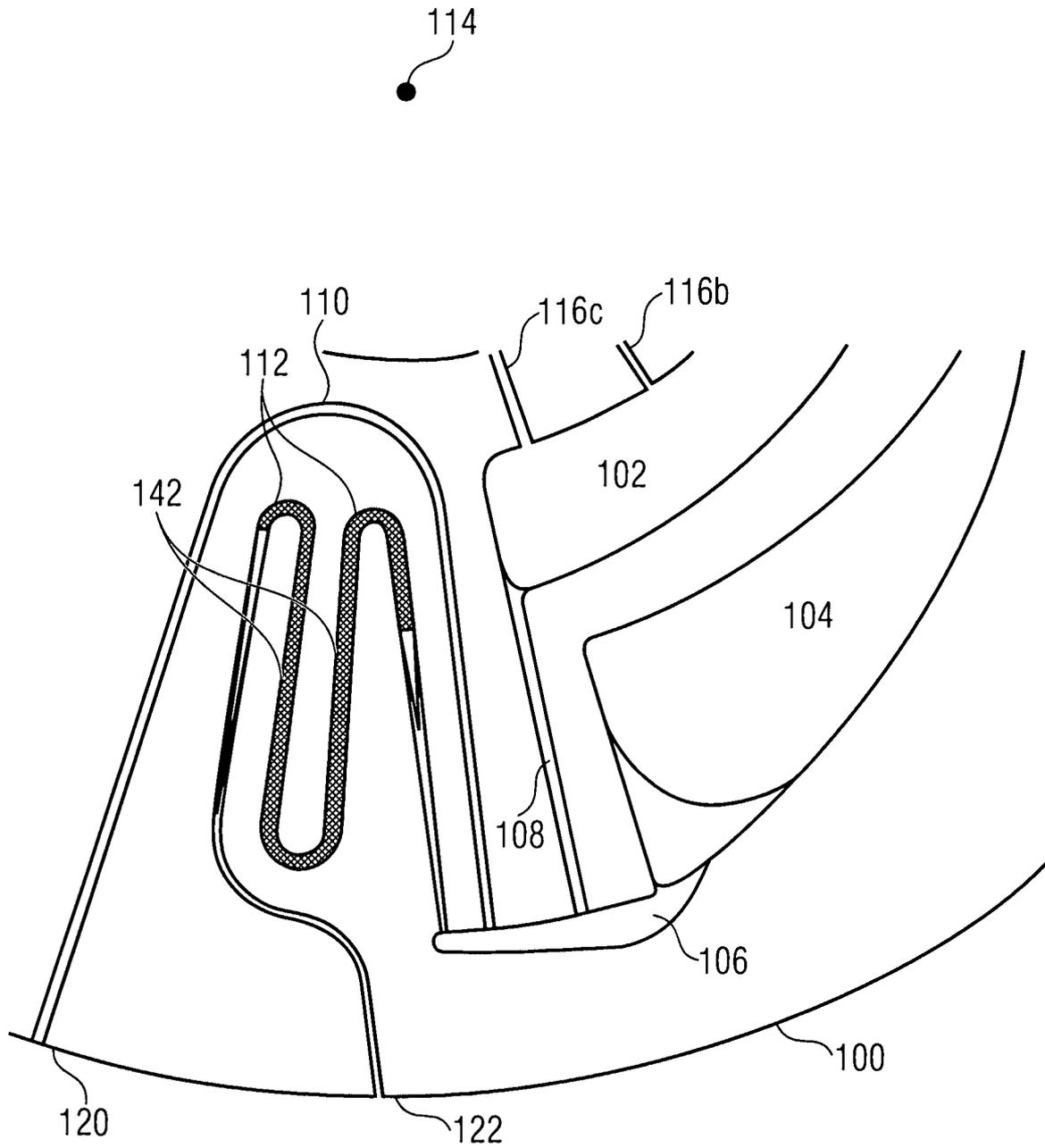


FIG 4

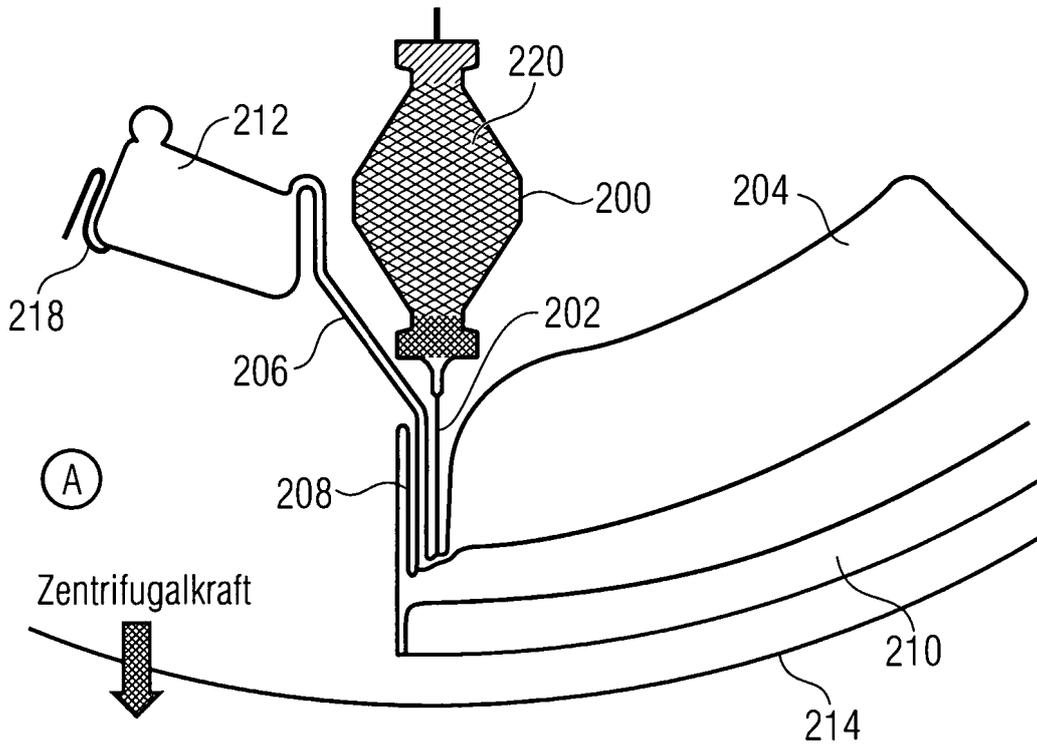


FIG 5A

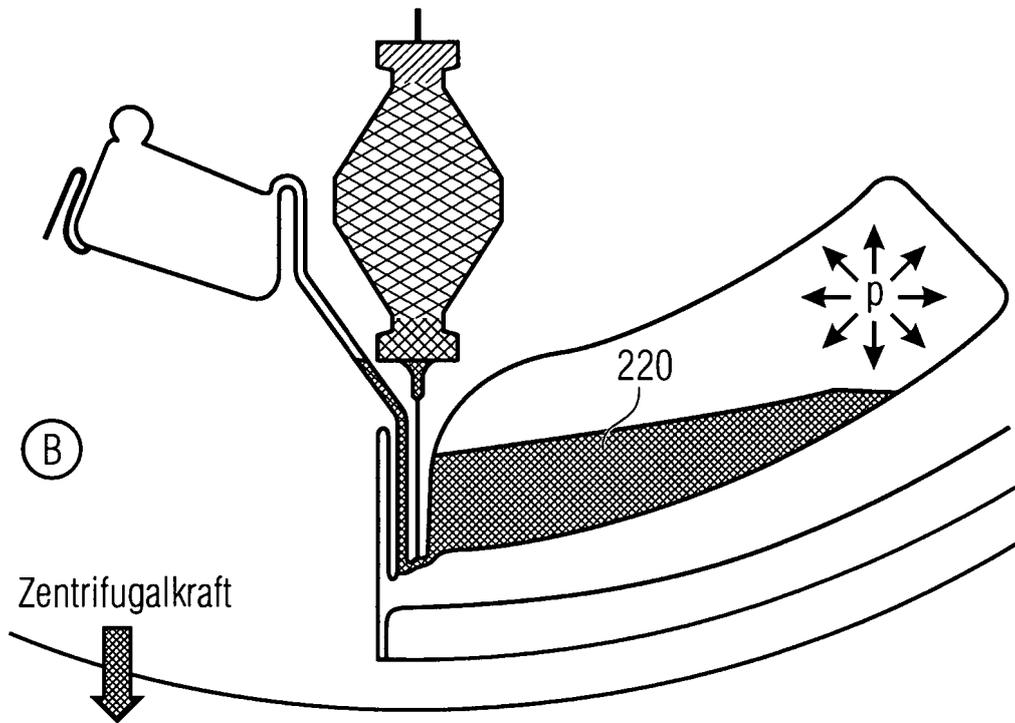


FIG 5B

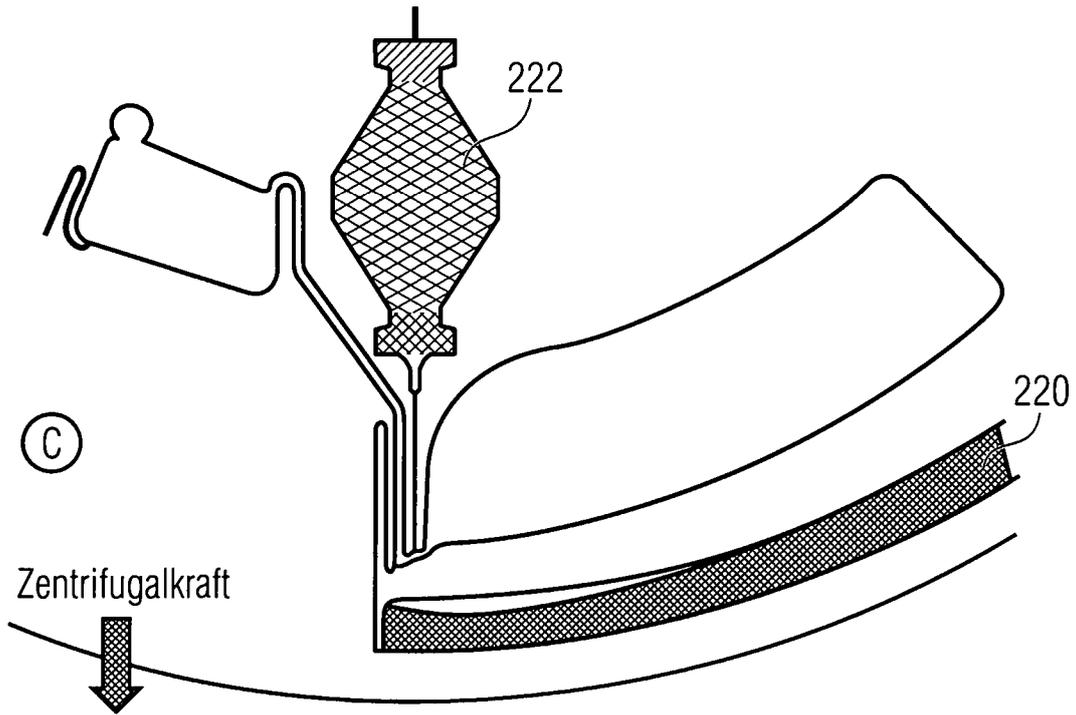


FIG 5C

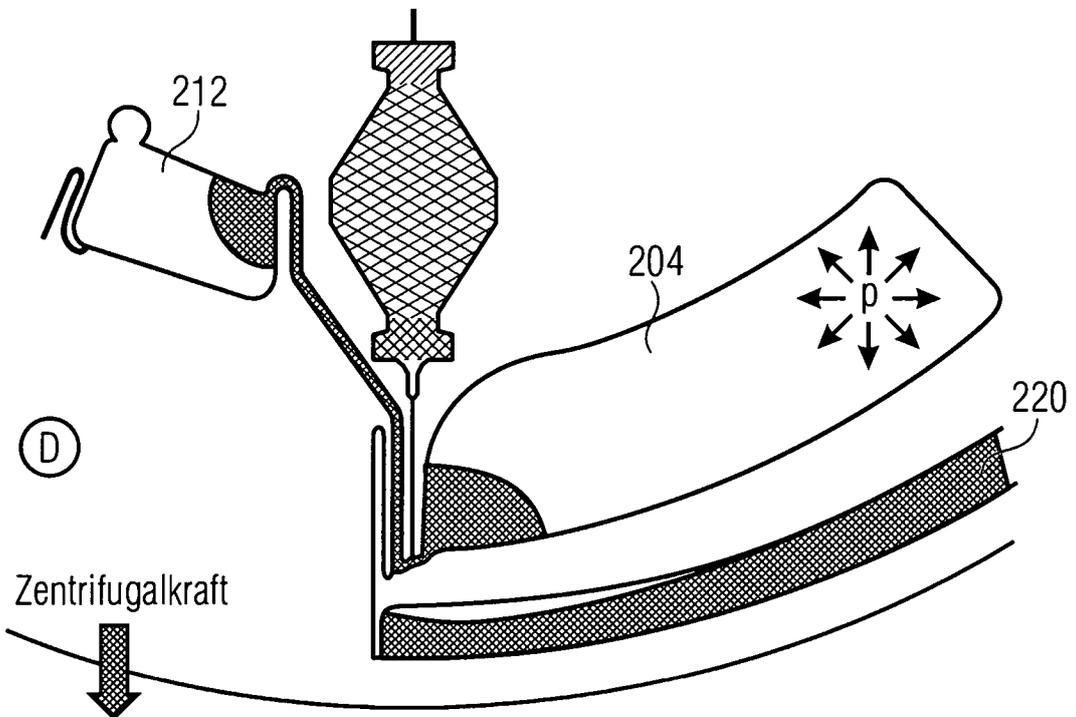


FIG 5D

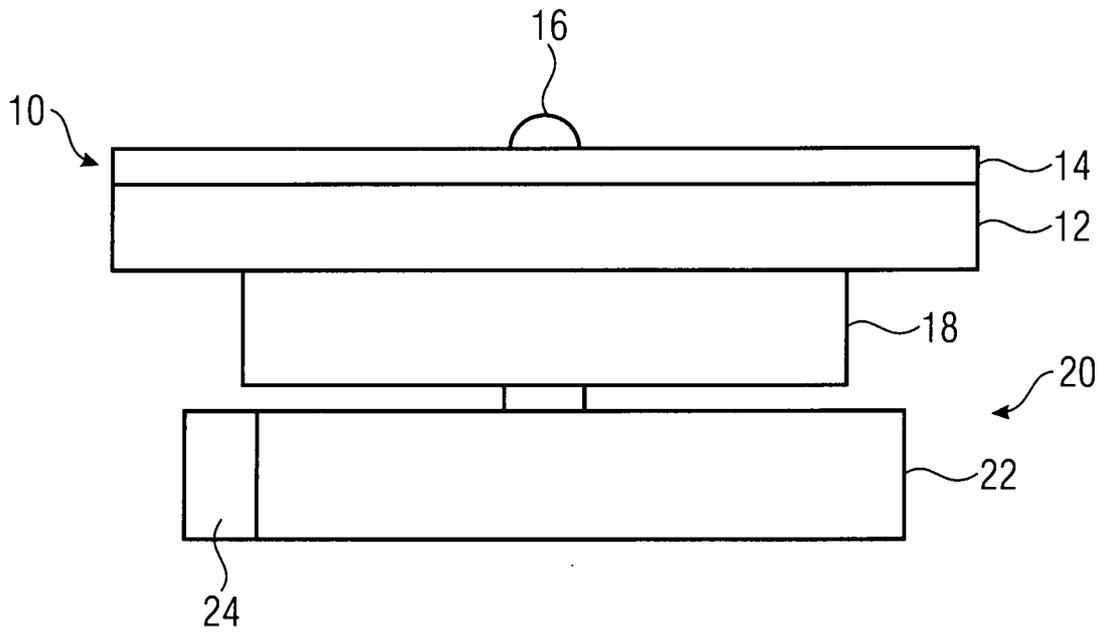


FIG 6

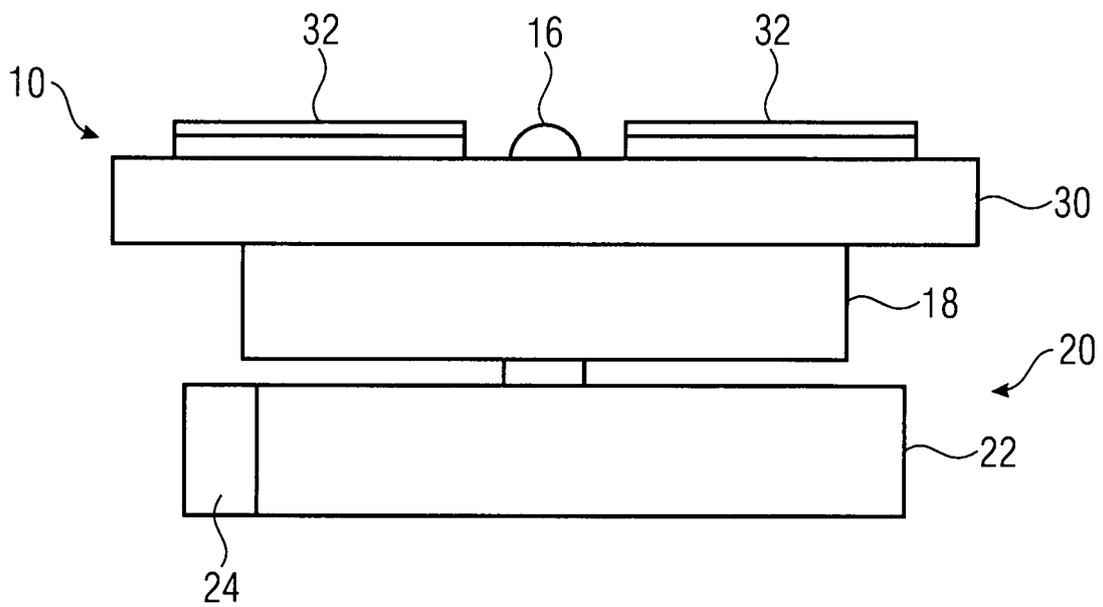


FIG 7