



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 28 016 T2 2004.04.01**

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 839 318 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 28 016.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US96/10308**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 925 261.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 97/000442**

(86) PCT-Anmeldetag: **14.06.1996**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **03.01.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **06.05.1998**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.05.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **01.04.2004**

(51) Int Cl.⁷: **G01N 30/00**
G01N 15/06

(30) Unionspriorität:

261 16.06.1995 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

DE, FR, IT

(73) Patentinhaber:

University of Washington, Seattle, Wash., US

(72) Erfinder:

YAGER, Paul, Seattle, US; BRODY, P., James, Seattle, US; HOLL, R., Mark, Seattle, US; FORSTER, K., Fred, Seattle, US; GALAMBOS, C., Paul, Seattle, US

(74) Vertreter:

Müller-Boré & Partner, Patentanwälte, European Patent Attorneys, 81671 München

(54) Bezeichnung: **MINIATURISIERTE DIFFERENTIELLE EXTRAKTIONSVORRICHTUNG UND VERFAHREN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Erfindung wurde mit Regierungsunterstützung gemäß Armee-Forschungsvertrag DAMD17-94-J-4460, der durch die U.S. Armee vergeben wurde, durchgeführt. Die Regierung hat bestimmte Rechte an der Erfindung.

Gebiet der Erfindung

[0002] Diese Erfindung bezieht sich allgemein auf miniaturisierte Extraktionssysteme und Verfahren zum Trennen von Analyten aus Strömen, enthaltend andere Bestandteile, durch Differentialtransportprinzipien, wie Diffusion und angelegte Felder. Die Erfindung ist beispielsweise zum Verarbeiten von Blut, um einen Strom, enthaltend kleinere Teilchen, wie Albuminmoleküle, aus einem Strom enthaltend Zellen, verwendbar bzw. nützlich.

Hintergrund der Erfindung

[0003] Eine chemische Analyse von biologischen Proben ist durch die Probengröße beschränkt. Ein Abziehen bzw. Entnehmen von einigen Millilitern Blut von einem Erwachsenen kann eine kleine Wirkung besitzen, wobei jedoch ein Wiederholen dieses Verfahrens jede Stunde oder selbst das einmalige Abziehen dieser Menge von einem Kind signifikant die Gesundheit des Subjekts beeinflussen kann. Aus diesen Gründen würde ein miniaturisiertes Blutanalysensystem verwendbar bzw. wünschenswert sein. Weiters könnte, während zahlreiche verfeinerte bzw. komplizierte Tests, die große Wichtigkeit für kritische Pflege bzw. Intensivpflege besitzen, in Laboratorien von großen Spitälern durchgeführt werden können, eine wesentliche Wirkung in der Praxis von Notfallmedizin erzielt werden, wenn einige wichtige bzw. Schlüsseltests an dem Patienten an dem Ort des Unfalls durchgeführt werden könnten. Für einige Versuche bzw. Untersuchungen ist es lebenswichtig, Messungen in der Abwesenheit von roten Blutkörperchen durchzuführen, so daß eine gewisse Form einer Abtrennung von Zellen aus Plasma erforderlich ist.

[0004] Diffusion ist ein Verfahren, welches leicht in großen Maßstäben außer Acht gelassen werden kann, jedoch schnell im Mikromaßstab wichtig wird. Die mittlere Zeit t für ein Molekül, um über einen Abstand d zu diffundieren, ist $2t = d^2/D$, worin D der Diffusionskoeffizient des Moleküls ist. Für ein Protein oder ein anderes großes Molekül ist die Diffusion relativ langsam in einem Makromaßstab (z. B. Hämoglobin mit D gleich 7×10^{-7} cm²/s in Wasser bei Raumtemperatur, braucht etwa 10^6 s (zehn Tage), um über bzw. durch ein Rohr von einem Zentimeter zu diffundieren, jedoch etwa eine Stunde, um über einen Kanal von 10 µm zu diffundieren).

[0005] Unter Verwendung von Werkzeugen, die durch die Halbleiterindustrie entwickelt wurden, um elektronische Bauteile zu miniaturisieren, ist es möglich, komplizierte Fluidsysteme mit Kanalgrößen herzustellen, die so klein wie ein Mikrometer sind. Diese Vorrichtungen können billig in Masse produziert werden und es wird erwartet, daß sie bald für einfache analytische Tests weit verbreitet sind. Siehe z. B. Ramsey, J. M et al. (1995), "Microfabricated chemical measurement systems," *Nature Medicine* 1: 1093–1096; und Harrison, D. J. et al (1993), "Micromachining a miniaturized capillary electrophoresis-based chemical analysis system on a chip," *Science* 261: 895–897.

[0006] Eine Miniaturisierung von analytischen Instrumenten ist nicht eine einfache Sache einer Reduktion ihrer Größe. In kleinen Maßstäben werden unterschiedliche Effekte wichtig, welche manche Prozesse ineffizient und andere nicht verwendbar bzw. wertlos machen. Es ist schwierig, kleinere Versionen von einigen Vorrichtungen aufgrund von Material- oder Verfahrensbeschränkungen nachzubilden. Aus diesen Gründen ist es notwendig, neue Verfahren zum Durchführen von üblichen Laboratoriumsaufgaben in einem Mikromaßstab zu entwickeln.

[0007] Vorrichtungen, die durch Mikrobearbeitung von planaren Substraten hergestellt wurden, wurden für chemische Trennung, Analyse und Abtastung bzw. Erfassung hergestellt und verwendet. Siehe z. B. Manz, A. et al. (1994), "Electroosmotic pumping and electrophoretic separations for miniaturized chemical analysis system," *J. Microchem. Microeng.* 4: 257–265.

[0008] Feld-Flußfraktionierungsvorrichtungen umfassen Teilchengrößentrennung unter Verwendung eines einzigen Einlaßstroms. Siehe z. B. Giddings, J. C., U.S. Patent 3,449,938, 17. Juni 1969, "Method for Separating and Detecting Fluid Materials"; Giddings, J. C., U.S. Patent 4,147,621, 3. April 1979, "Method and Apparatus for Flow Field-Flow Fractionation"; Giddings, J. C., U.S. Patent 4,214,981, 29. Juli 1980, "Steric Field-Flow Fractionation"; Giddings, J. C. et al., U.S. Patent 4,250,026, 10. Februar 1981, "Continuous Steric FFF Device for The Size Separation of Particles"; Giddings, J. C. et al. (1983), "Outlet Stream Splitting for Sample Concentration in Field-Flow Fractionation," *Separation Science and Technology* 18: 293–306; Giddings, J. C. (1980), "Optimized Field-Flow Fractionation System Based on Dual Stream Splitters," *Anal. Chem.* 57: 945–947; Giddings, J. C., U.S. Patent 4,830,756, 16. Mai 1989, "High Speed Separation of Ultra-High Molecular Weight Polymers by Hyperlayer Field-Flow Fractionation"; Giddings, J. C., U.S. Patent 4,141,651, 25. August 1992,

"Pinched Channel Inlet System for Reduced Relaxation Effects and Stopless Flow Injection in Field-Flow Fractionation"; Giddings, J. C., U.S. Patent 5,156,039, 20. Oktober 1992, "Procedure for Determining the Size and Size Distribution of Particles Using Sedimentation Field-Flow Fractionation"; Giddings, J. C., U.S. Patent 5,193,688, 16. März 1993, "Method and Apparatus for Hydrodynamic Relaxation and Sample Concentration in Field-Flow Fractionation Using Permeable Wall Elements"; Caldwell, K. D. et al., U.S. Patent 5,240,618, 31. August 1993, "Electrical Field-Flow Fractionation Using Redox Couple Added to Carrier Fluid"; Giddings, J. C. (1993), "Field-Flow Fractionation: Analysis of Macromolecular, Colloidal and Particulate Materials," Science 260: 1456-1465; Wada, Y. et al., U.S. Patent 5,465,849, 14. November 1995, "Column and Method for Separating Particles in Accordance with Their Magnetic Susceptibility"; Yue, V. et al. (1994), "Miniature Field-Flow Fractionation Systems for Analysis of Blood Cells," Clin. Chem. 40: 1810-1814; Afromowitz, M. A. and Samaras, J. E. (1989), "Pinch Field Flow Fractionation Using Flow Injection Techniques," Separation Science and Technology 24(5 und 6): 325-339.

[0009] Dünn-Kanal-Spaltflußfraktionierungs-(SPLITT)-Technologie stellt auch eine Teilchentrennung in einer Separations- bzw. Trennzelle zur Verfügung, die einen engen bzw. dünnen Kanal aufweist. Eine Feldkraft wird in einer Richtung senkrecht auf die Flußrichtung aufgebracht bzw. ausgeübt. Teilchen diffundieren oder werden in anderer Weise von einem teilchenhaltigen Strom über einen Transportstrom zu einem teilchenfreien Strom transportiert. Die Vorrichtung zum Betätigen bzw. Durchführen des Verfahrens wird allgemein aus Blasplatten mit Teflonplättchen hergestellt, die als Abstandhalter verwendet werden, um die Kanäle auszubilden. Die Kanaltiefe kann daher nicht kleiner als die Abstandhalter sein, welche allgemein etwa 100 bis 120 µm dick sind. Siehe z. B. Giddings, J. C., U.S. Patent 4,737,268, 12. April 1988, "Thin Channel Split Flow Continuous Equilibrium Process and Apparatus for Particle Fractionation"; Giddings, J. C., U.S. Patent 4,894,146, 16. Jänner 1990, "Thin Channel Split Flow Process and Apparatus for Particle Fractionation"; Giddings, J. C., U.S. Patent 5,093,426, 13. August 1991, "Process for Continuous Particle and Polymer Separation in Split-Flow Thin Cells Using Flow-Dependent Lift Forces"; Williams, P. S. et al. (1992), "Continuous SPLITT Fractionation Based on a Diffusion Mechanism," Ind. Eng. Chem, Res. 31: 2172-2181; and Levin, S. and Tawil, G. (1993), "Analytical SPLITT Fractionation in the Diffusion Mode Operation as a Dialyses-like System Devoid of Membrane. Application to Drug-Carrying Liposomes," Anal. Chem. 65: 2254-261.

[0010] Das Ziel dieser Erfindung ist es, ein miniaturisiertes Extraktionssystem unter Verwendung von Differentialtransportprinzipien zur Verfügung zu stellen, in welchem ein Analyt extrahiert, detektiert und quantifiziert werden kann.

[0011] Die hier geoffenbarten Vorteile von Diffusionstrennvorrichtungen in dem Mikromaßstab, die beispielsweise Kanaltiefen von nicht mehr als 100 µm aufweisen, scheinen in der Technik noch nicht erkannt worden zu sein. Siehe z. B. Kittilsand, G. und Stemme, G. (1990), Sensor and Actuators A21-A23: 904-907, und Wilding, P. et al. (1994), J. Clin. Chem. 40: 43-47.

Zusammenfassung der Erfindung

[0012] Diese Erfindung stellt ein Extraktionsverfahren und eine Vorrichtung zur Verfügung, die von konventionellen Filtrationstechniken und Vorrichtungen unterschieden ist, indem sie Vorteile der Größe, Produktionsökonomie, Integrierbarkeit mit mikrochemischen Analysensystemen, niedrigen Leistungskonsums aufweisen, und welche entweder in einem probenweisen oder kontinuierlichen Verarbeitungsmodus betätigt bzw. betrieben werden können. Die Vorrichtung ist insbesondere für eine Integration bzw. einen Einbau mit mikrohergestellten, chemischen Analysensystemen gut geeignet, in welchen beispielsweise eine bevorzugte Ausbildung eine mikrofabrizierte Extraktionsvorrichtung oder ein System zur Verfügung stellt, die (das) fähig ist, ein verdünntes Plasmaprodukt, das ein Volumen aufweist, das von Pikolitern bis Nanolitern reicht, ausgehend von Proben, wie einem Mikroliter Gesamtblut, mit einem vergleichbaren Extraktionsstromvolumen zur Verfügung zu stellen.

[0013] Das Extraktionssystem ist als ein Element in einem integrierten System von Mikrofluid- und Detektionselementen (wie optischen Detektoren) für Tests von medizinischem Interesse an Blut geeignet bzw. nützlich und weist auch Anwendungen in zahlreichen anderen Bereichen der analytischen Chemie auf. In einer bevorzugten Ausbildung, die für eine Blutanalyse verwendbar ist, erlaubt die Vorrichtung die Extraktion von Plasmapbestandteilen aus Gesamtblut, wodurch ein zellfreier Fluidstrom für eine nachfolgende Analyse hergestellt wird.

[0014] Das mikrohergestellte bzw. miniaturisierte Extraktionssystem dieser Erfindung in seinem einfachsten Konzept ist durch eine Diffusionsextraktionsvorrichtung, umfassend Mikrokanäle in der Form eines "H" dargestellt. Eine Mischung von Teilchen, die in einem Probenstrom suspendiert sind, tritt in den Extraktionskanal (den Querbalken des "H") von einem der Arme, z. B. dem oberen, linken ein, und ein Extraktionsstrom (ein Verdünnungsstrom) tritt von dem Boden links ein. Die zwei Ströme fließen bzw. strömen gemeinsam in den Extraktionskanal; jedoch aufgrund der kleinen Größe der Kanäle ist der Fluß bzw. die Strömung laminar und die Ströme vermischen sich nicht. Der Probenstrom tritt als ein Nebenproduktstrom oben rechts aus und der

Extraktionsstrom tritt als ein Produktstrom unten rechts aus. Während die Ströme sich in einem parallelen, laminaren Fluß in dem Extraktionskanal befinden, besitzen Teilchen, die einen größeren Diffusionskoeffizienten besitzen (kleinere Teilchen, wie Albumin, Zucker und kleine Ionen) Zeit, um in den Extraktionsstrom zu diffundieren, während größere Teilchen (z. B. Blutkörperchen) in dem Probenstrom verbleiben. Teilchen in dem austretenden Extraktionsstrom (der nun Produktstrom genannt wird) können ohne Wechselwirkung mit den größeren Teilchen analysiert werden.

[0015] In dieser Patentanmeldung wird die Flußrichtung eines Kanals seine Länge (L) genannt. Die Kanalabmessung in der Richtung eines Teilchentransports unter rechten Winkeln zu der Länge (L) wird seine Tiefe (d) genannt. Die dritte Kanalabmessung unter rechten Winkeln sowohl zu der Länge als auch der Tiefe, wird seine Breite (w) genannt. Die Tiefe (d) ist daher senkrecht zu der Ebene der Grenzfläche des Proben- und Extraktionsstroms. Tabelle 1 listet andere Abkürzungen auf, die hier verwendet werden.

Tabelle 1

V	Volumen
\dot{V}_{ss}	Probenstromflußgeschwindigkeit bzw. -strömungsrate (m^3/s)
\dot{V}_{es}	Extraktionsstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate (m^3/s)
\dot{V}_{ps}	Produktstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate (m^3/s)
\dot{V}_{bps}	Nebenproduktstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate (m^3/s)
\dot{V}_{ind}	Indikatorfarbstoffstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate (m^3/s)
\dot{V}_{ds}	Detektionsstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate (m^3/s)
$C_{i,ss}$	Konzentration von Probenstrombestandteil i (kg/kg)
$C_{i,es}$	Konzentration von Extraktionsstrombestandteil i (kg/kg)
$C_{i,bps}$	Konzentration von Nebenproduktstrombestandteil i (kg/kg)
$C_{i,ps}$	Konzentration von Produktstrombestandteil i (kg/kg)
$C_{dye,ind}$	Indikatorstromfarbstoffkonzentration (kg/kg)
$C_{i,ds}$	Konzentration von Detektorstrombestandteil i (kg/kg)
d	Diffusionsrichtungsextraktionskanaltiefe (m)
w	Extraktionskanalbreite (m)
L	Extraktionskanallänge (m)

$a_{\%}$	Prozentabweichung von Gleichgewichtskonzentration
$L_{a\%}$	Vorrichtungslänge, die zum Erreichen von $a_{\%}$ erforderlich ist (m)
z_s	Grenzflächenstromlinienort zwischen Proben- und Extraktionsstrom an dem Extraktionskanaleintritt (m)
z_p	Grenzflächenstromlinienort zwischen dem Nebenprodukt- und Produktstrom (m)
p	absoluter Druck innerhalb des Fluidstroms (Pa)
Δp	Differentialdruck zwischen dem Eintritt und Austritt des Extraktionskanals (Pa)
D_i	Einärer Diffusionskoeffizient des Bestandteils i (m^2/s)
μ	Fluidviskosität ($Pa \cdot s$)
ρ	Fluiddichte (kg/m^3)
ξ	Gleichgewichtskonzentration eines normalisierten Bestandteils für einen Extraktionskanal unendlicher Länge (dimensionslos)
c	Konzentration des normalisierten Bestandteils (dimensionslos)
x	Kanallängen-Koordinatenrichtung (Flußrichtung)
y	Kanalbreiten-Koordinatenrichtung
z	Diffusionsrichtungs-Koordinatenrichtung
\tilde{x}, \tilde{z}	Nicht-gerichtete, normalisierte Variablen (dimensionslos)
w/d	Längen- bzw. Aspektverhältnis
D	Diffusionskoeffizient
Re	Reynolds-Zahl
T	Temperatur
u	Axialgeschwindigkeit

[0016] Die Länge des Extraktionskanals und die Extraktionskanalflußgeschwindigkeit sind Schlüsselparameter, die das Ausmaß an Zeit bestimmen, welche Teilchen besitzen, um in den Extraktionsstrom zu diffundieren. Die Teilchen in dem oben beschriebenen Fall werden differentiell von dem Probenstrom zu dem Extraktions-

strom unter Verwendung der Diffusion als den Transportmechanismus transportiert. Andere Mittel zum Durchführen des Differentialtransports der gewünschten Teilchen können auch verwendet werden. Der Ausdruck "Differentialtransport" bedeutet, daß ein Teil der gewünschten Teilchen von dem Probenstrom in den Extraktionsstrom für den im wesentlichen Ausschluß der ungewünschten Teilchen transportiert wird. Beispielsweise können magnetische, elektrische oder andere Kräfte über den Extraktionsstrom angelegt werden, Temperaturgradienten können verwendet werden, oder Absorbentien oder absorbierende Materialien, wie Antikörper, können zu dem Extraktionsstrom hinzugefügt werden, um die gewünschten Teilchen zu fangen.

[0017] Eine bevorzugte Ausbildung bringt die Inkorporation bzw. Aufnahme eines Absorbensmaterials, wie eines Rezeptors, in den Extraktionsstrom mit Spezifität für die gewünschten Ligandenteilchen auf ein effektiv nicht-diffundierendes Substrat, wie Kunststoffkügelchen oder Polymere mit hohem Molekulargewicht, mit sich. Eine weitere, bevorzugte Ausbildung verwendet ein tatsächlich nicht-diffundierendes, absorbierendes, teilchenförmiges Material mit Spezifität für die gewünschten Teilchen. Derartigen Materialien werden als "tatsächlich nicht-diffundierend" bezeichnet, wenn sie nicht in dem Probenstrom diffundieren oder wenn sie nicht in den Probenstrom in derartigen Mengen diffundieren, die groß genug sind, um mit der Detektion der unerwünschten Teilchen in dem Nebenproduktstrom wechselzuwirken. In der Absorbensausbildung werden gewünschte Teilchen innerhalb des effektiv nicht-diffundierenden, absorbierenden teilchenförmigen Material absorbiert, während in der Adsorbensausbildung die gewünschten Teilchen sich an der Oberfläche der tatsächlich nicht-diffundierenden Substratkunststoffkugeln oder an daran festgelegten Liganden festlegen. Zahlreiche, geeignete Liganden für gewünschte Teilchen in der Adsorbens/Absorbensausbildung sind in der Technik bekannt und spezifische Lehren betreffend diese Techniken sind in der ebenfalls anhängigen, provisorischen Anmeldung Serial Nr. 60/019904 [Anwaltsdokument Nr. 35-96P, die gleichzeitig mit dieser Anmeldung eingereicht wurde] offenbart.

[0018] Die miniaturisierte bzw. mikrohergestellte Vorrichtung dieser Erfindung zum Extrahieren gewünschter Teilchen aus einem Probenstrom, enthaltend diese Teilchen, umfaßt:

- a. einen Probenstromeinlaß;
- b. einen Extraktionsstromeinlaß;
- c. einen Extraktionskanal, der ein Aspekt- bzw. Längenverhältnis, d. h. (Kanalbreite zu -tiefe), kleiner als 50 in Fluidwechselwirkung mit dem Probenstromeinlaß und dem Extraktionsstromeinlaß für ein Erhalten eines Probenstroms von dem Probenstromeinlaß und eines Extraktionsstroms von dem Extraktionsstromeinlaß, und ein Ausbilden eines parallelen, laminaren Stroms damit;
- d. einen Nebenproduktstromauslaß in Fluidwechselwirkung bzw. -verbindung mit dem Extraktionskanal zum Empfangen bzw. Erhalten eines Nebenproduktstroms, umfassend wenigstens einen Teil des Probenstroms, von welchem die gewünschten Teilchen extrahiert wurden;
- e. einen Produktstromauslaß in Fluidwechselwirkung mit dem Extraktionskanal zum Empfangen eines Produktstroms, umfassend wenigstens einen Teil des Extraktionsstroms und umfassend gewünschte Teilchen, die aus dem Probenstrom extrahiert wurden; worin der parallele, laminare Strom durch den Extraktionskanal aufrecht erhalten wird.

[0019] Der Probenstrom- und Extraktionsstromeinlaß und der Nebenproduktstrom- und Produktstromauslaß können Kanäle, Reservoirs, Öffnungen bzw. Anschlüsse oder andere Behälter umfassen. Der Probenstromeinlaß ist ausgebildet, um einen Probenstrom zu empfangen, enthaltend "gewünschte Teilchen", d. h. Teilchen, von welchen gewünscht wird, daß sie extrahiert werden, so daß ihre Anwesenheit detektiert werden kann. Der Probenstrom umfaßt bzw. beinhaltet auch andere Teilchen, welche nicht extrahiert werden; die als "ungewünschte Teilchen" hier bezeichnet werden. Diese ungewünschten Teilchen umfassen Teilchen, welche mit der Detektion der gewünschten Teilchen Wechselwirken bzw. diese beeinflussen könnten. In einer bevorzugten Ausbildung umfaßt der Probenstrom Vollblut. Die gewünschten Teilchen können Albumin oder andere Blutplasmakomponenten sein, und die unerwünschten Teilchen sind Blutkörperchen. Die Vorrichtung ist insbesondere für den Erhalt von zellfreiem Plasma von bzw. aus Vollblut geeignet. Andere Fluids, für welche die vorliegende Erfindung verwendbar ist, umfassen bzw. beinhalten Lösungen oder Suspensionen von DNA-Fragmenten unterschiedlicher Längen oder Proteine unterschiedlicher Größen. Probenströme, die in der Praxis dieser Erfindung verwendbar bzw. nützlich sind, umfassen Fermentationsbrühen, rohes bzw. ungeklärtes Abwasser, verflüssigte Nahrungsproben, Bodenproben und biologische Fluids, wie Sputum, Urin und Zerebralspinalfluid.

[0020] Der Ausdruck "Teilchen" bezieht sich auf Moleküle, Zellen große Moleküle, wie Proteine, kleine Moleküle, bestehend aus einem oder mehreren Atomen, und Ionen. Die Teilchen können in dem Strom suspendiert oder gelöst sein. Der Ausdruck "Strom" bezieht sich auf ein Trägerfluid, wie Wasser oder eine andere Flüssigkeit, Luft oder ein anderes Gas, enthaltene gewünschte und/oder nicht erwünschte Teilchen. Der Ausdruck "Teilchen", wie er hier verwendet wird, umfaßt nicht die Moleküle des Trägerstroms.

[0021] Der Ausdruck "Extraktion" bezieht sich auf die Trennung von wenigstens einem Teil, d. h. einem detektierbaren Teil der gewünschten Teilchen von dem Probenstrom zu dem im wesentlichen Ausschluß von un-

gewünschten Teilchen. Es wird festgehalten bzw. erkannt, daß sehr kleine Mengen unerwünschter Teilchen in den Extraktionsstrom transportiert werden können; jedoch wird die Anwesenheit von derartigen unerwünschten Teilchen minimiert, so daß sie nicht mit der Detektion oder nachfolgenden Verarbeitung der Ströme, enthaltend die gewünschten Teilchen, Wechselwirken bzw. diese beeinflussen.

[0022] Der Ausdruck "laminarer Strom" von zwei Strömen bedeutet einen stabilen, nebeneinander liegenden, nicht rezirkulierenden Fluß von zwei Strömen ohne Vermischen. Es gibt keine Rezirkulationszone und eine Turbulenz ist vernachlässigbar. Wie dies in der Technik bekannt ist, ist die Reynolds-Zahl eines Flusses bzw. Stromes das Verhältnis von Trägheits- bzw. Inertialkräften zu viskosen Kräften. Für einen Fluß durch eine Leitung wird die Reynolds-Zahl unter Verwendung der Gleichung $Re = \rho d(v/\mu)$ berechnet, worin Re die Reynolds-Zahl ist, ρ die Massendichte des Fluids ist, d eine typische Querschnittsabmessung der Leitung in Abhängigkeit von der Form der Leitung ist, v die mittlere Geschwindigkeit über den Leitungsquerschnitt ist und μ die Viskosität ist.

[0023] Wenn die Reynolds-Zahl reduziert ist, hängen Flußmuster stärker von den viskosen Effekten und weniger von den Inertialeffekten ab. Unter einer bestimmten Reynolds-Zahl (basierend auf einer Lochgröße für ein System von Kanälen Biegungen und Änderungen einer Lumengröße bzw. Lochgröße), sind Inertialeffekte unzureichend, um Phänomene zu bewirken, die für ihre signifikante Anwesenheit, wie beispielsweise laminare Rezirkulationszonen und einen turbulenten Strom hinweisend sind. Daher tritt ein nicht-turbulenter, laminarer, nicht-rezirkulierender Fluß in den Extraktionsvorrichtungen, die hier diskutiert sind, nicht auf. In derartigen Vorrichtungen tritt eine minimale, dispersive Vermischung als ein Ergebnis der viskosen Strömungs- bzw. Flußgeschwindigkeitsprofile auf, die innerhalb eines laminaren, viskosen Stroms vorliegen. Dies erlaubt es zwei laminaren, nicht-rezirkulierenden Fluidströmen nach unten in einem Extraktionskanal für den Zweck einer gewünschten Teilchenextraktion von einem Strom in den anderen zu fließen bzw. zu strömen.

[0024] Die Strömen können am Ende der Leitung an einem beliebigen Ort durch eine präzise Regulierung der Austrittsflußgeschwindigkeit bzw. -Strömungsrate an den Auslässen abgetrennt werden, wobei dies bei höheren Reynolds-Zahlen nicht möglich ist, die die nicht-rezirkulierenden und nicht-turbulenten Kriterien nicht erfüllen.

[0025] Der Extraktionsstromeinlaß ist ausgebildet, um einen Extraktionsstrom zu erhalten bzw. zu empfangen, der fähig ist, gewünschte Teilchen zu akzeptieren, wenn er in laminarem Flußkontakt mit dem Probenstrom vorliegt. Der Extraktionsstrom kann jedes Fluid sein, das fähig ist, Teilchen zu akzeptieren bzw. aufzunehmen, die von dem Probenstrom transportiert werden. Bevorzugte Extraktionsströme sind Wasser und isotonische Lösungen, wie physiologische Kochsalzlösung. Andere verwendbare, extrahierende Ströme umfassen organische Lösungsmittel, wie Aceton, Isopropylalkohol, superkritisches Kohlendioxid oder Ethanol. Luft und andere Gase können auch als Proben- und Extraktionsströme verwendet werden.

[0026] Der Nebenproduktstrom umfaßt den Probenstrom, aus bzw. von welchem ein Teil der gewünschten Teilchen extrahiert wurde, und kann oder kann nicht, wie dies unten diskutiert wird, aus einer Fraktion des Extraktionsstroms bestehen, in welchen gewünschte Teilchen von dem Probenstrom gefördert wurden.

[0027] Der Nebenproduktstromauslaß ist so ausgebildet, um den Nebenproduktstrom zu führen (zusammengesetzt aus dem Probenstrom und möglicherweise aus einem Teil des Extraktionsstroms), welcher von dem Extraktionskanal zum Verwerfen, Rezyklieren oder einer anderen Systemkomponente zur weiteren Verarbeitung abgezogen wurde.

[0028] Der Produktstrom umfaßt wenigstens einen Teil des Extraktionsstroms, in welchen gewünschte Teilchen extrahiert wurden. Der Produktstromauslaß, welcher, wie oben ausgeführt, einen Produktstromkanal umfassen kann, ist ausgebildet, um den Produktstrom enthaltend eine detektierbare Menge von gewünschten Teilchen zu einem Bereich oder einer Systemkomponente einer Detektion oder einer weiteren Verarbeitung zu leiten. Eine ausreichende Menge des Extraktionsstroms muß in dem Produktstrom vorhanden sein, umfassend eine ausreichende Menge an gewünschten Teilchen, so daß die Anwesenheit der gewünschten Teilchen in dem Produktstrom durch die in der Technik bekannten Mittel detektierbar bzw. feststellbar ist.

[0029] Der Produktstrom kann zu einer Reservoir- bzw. Vorratskammer oder einer anderen Vorrichtung geführt werden, wo er weiter behandelt werden kann, z. B. durch Mischen, Trennen, Analysieren, Erwärmen oder anderes Be- bzw. Verarbeiten, beispielsweise wie dies in Wilding, P., et al., U.S. Patent 5,304,487, erteilt 19. April 1994, offenbart ist, welche hier als Bezug enthalten ist.

[0030] Der Ausdruck "miniaturisiert" bezieht sich auf Vorrichtungen, die fähig sind, auf Silikonwafern hergestellt zu werden, die dem Techniker der Silizium-Mikrofabrikation leicht verfügbar sind und die die Merkmalsgrößen und Geometrien aufweisen, die durch Verfahren, wie LIGA, thermoplastische Mikromusterübertragung, auf Harz basierendes Mikrogießen, Mikroformen in Kapillaren (MIMIC), nasses, isotropisches und anisotropisches Ätzen, laserunterstütztes, chemisches Ätzen (LACE), und reaktives Ionenätzen (RIE) oder andere Techniken, die in der Technik der Mikroherstellung bekannt sind, herstellbar sind. In dem Fall von Silizium-Mikroherstellung werden größere Wafer eine Mehrzahl der Vorrichtungen dieser Erfindung in einer Mehrzahl von Konfigurationen aufnehmen. Einige Waferstandardgrößen sind 3", 4", 6" und 8". Eine Anwendung der hier dargestellten Prinzipien unter Verwendung von neuen und entstehenden bzw. sich entwickelnden Mikroherstel-

lungsverfahren liegt innerhalb des Rahmens und des Ziels der Patentansprüche davon.

[0031] Der Probenstromeinlaß und der Extraktionsstromeinlaß müssen nur groß genug dimensioniert sein, um den Proben- und Extraktionsstrom in einen parallelen, laminaren Fluß zu führen, d. h. sie können Kanäle umfassen, die weniger als oder gleich etwa 5 mm lang, weniger als etwa 100 µm tief und weniger als oder gleich 5 mm breit sind. Der Nebenproduktausgang und die Produktauslässe können in gleicher Weise minimal in der Größe sein, umfassend Kanäle mit Abmessungen, wie sie oben für den Proben- oder Extraktionsstromeinlaß ausgeführt sind. Diese Einlässe und Auslässe können so lang, tief und weit bzw. breit sein, wie dies durch das System gefordert wird, von welchem sie Teil sind, jedoch haben sie vorzugsweise ein Volumen kleiner als etwa 2,5 µl, um kleine Probengrößen bzw. Proben kleiner Größe aufnehmen zu können.

[0032] Der Extraktionskanal erhält den Zustrom des Proben- und Extraktionsstroms von dem Proben- und Extraktionsstromeinlaß und führt diese Ströme in einem parallelen, laminaren Fluß für einen Abstand, der ausreichend ist, um eine Extraktion der gewünschten Teilchen in den Extraktionsstrom zu ermöglichen bzw. zu erlauben.

[0033] Die Breite und Tiefe des Probenstromeinlaßkanals, Extraktionskanals und Nebenproduktaustritts müssen groß genug sein, um einen Durchgang der unerwünschten Teilchen zu erlauben, vorzugsweise irgendwo zwischen dem 2- oder 3-fachen des Durchmessers der unerwünschten Teilchen in dem Probenstrom und kleiner als oder gleich etwa 5 mm. Teilchengrößen reichen von einem oder einigen Å für kleine, organische oder anorganische Moleküle und Ionen bis zu etwa 0,01 µm in der Tiefe für Proteine, bis etwa 0,1 bis 1 µm für flexible, langkettige Moleküle, bis zu etwa 8 µm für rote Blutkörperchen, bis zu etwa 15 µm für die meisten weißen Blutkörperchen und bis zu etwa 25 µm für einige weiße Blutkörperchen. Der Extraktionskanal muß zusätzlich groß genug sein, um einen Durchgang von Teilchen, die in den Extraktionsstrom verwendet werden, wie Adsorbens- oder Absorbensteilchen zu ermöglichen, und liegt vorzugsweise zwischen etwa 2 oder 3 mal dem Durchmesser von derartigen Teilchen und kleiner als oder gleich 5 mm. Der Extraktionskanal ist am meisten bevorzugt kleiner als 100 µm, um einen Teilchentransport in einem akzeptablen Zeitraum zu erreichen bzw. zu erzielen.

[0034] Die Breite und Tiefe des Extraktionsstromkanals und der Produktauslaßkanäle muß groß genug sein, um den Durchgang der gewünschten Teilchen und jeglichen anderen Teilchen zu ermöglichen, die mit diesen assoziiert sind, wie Adsorbens- oder Absorbensteilchen, und ist vorzugsweise zwischen etwa 2 oder 3 mal dem Durchmesser von jeglichen Absorbens- oder Adsorbensteilchen, die in dem Extraktions- oder Nebenproduktstrom vorhanden sind, und kleiner als oder gleich 5 mm.

[0035] Wenn die Breitenabmessung in der Richtung der Dicke des Wafers vorliegt, dann ist die Breite für die miniaturisierten Silizium-Ausbildungen der Mikromaßstabs-Extraktionsvorrichtungen der vorliegenden Erfindung die Breite der Proben-, Extraktions-, Produkt- oder Nebenproduktkanäle, -einlässe und -auslässe, kleiner als die Dicke des Siliziumwafers, d. h. etwa 300 µm.

[0036] Wenn die Tiefenabmessung in der Richtung der Dicke des Wafers vorliegt, dann ist für die miniaturisierten Silizium-Ausbildungen der Mikromaßstabs-Extraktionsvorrichtungen der vorliegenden Erfindung die Tiefe der Proben-, Extraktions-, Produkt- und Nebenproduktkanäle, -einlässe und -auslässe kleiner als die Siliziumwaferdicke, d. h. etwa 300 µm. Vorzugsweise ist die Tiefe, insbesondere jene des Extraktionskanals, kleiner als etwa 200 µm und noch bevorzugter kleiner als etwa 100 µm.

[0037] In einer bevorzugten Ausbildung sind in dem "H"-Design die Einlaß- und Auslaßkanäle zwischen etwa 2 bis 3 mal der Maximalgröße der Stromteilchendurchmesser und etwa 100 µm in der Breite und zwischen etwa 2 bis 3 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und weniger als etwa 100 µm in der Tiefe, und der Extraktionskanal ist etwa 2 bis 3 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und etwa 2/3 der Waferdicke in der Breite, zwischen etwa 2 bis 3 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und weniger als etwa 100 µm in der Tiefe, und zwischen etwa 4 und etwa 10 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und kleiner oder gleich 5 mm Länge.

[0038] In einer zweiten Ausbildung, in welcher die Teilchentransportrichtung um 90 Grad von jener des "H" Designs gedreht ist, welche die "flache Extraktionsvorrichtung" hier genannt wird, haben die Einlaßkanäle eine Breite gleich der Extraktionskanalsbreite am Eintritt zu dem Extraktionskanal von vorzugsweise zwischen 2 und 3 Teilchendurchmessern und etwa 500 µm, liegt der Extraktionskanal vorzugsweise zwischen etwa 2 bis 3 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und weniger oder gleich 5 mm in der Breite ist, zwischen etwa 2 und 3 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und kleiner als etwa 100 µm in der Tiefe, und zwischen etwa 4 und etwa 10 mal dem Durchmesser der größten Teilchen und weniger oder gleich 5 mm Länge.

[0039] Der Ausdruck "Längenverhältnis", wie er hier verwendet wird, bezieht sich auf das Verhältnis der Breite zu der Tiefe eines Kanals.

[0040] Die Extraktionskanäle dieser Erfindung weisen ein Aspekt- bzw. Längenverhältnis von weniger als 50 auf. Das Längenverhältnis kann weniger als 25 oder jede Zahl kleiner als 1 bis 49 sein. Miniaturisierte Vorrichtungen dieser Erfindung, welche mit Extraktionskanälen hergestellt werden können, die ein Längenverhältnis kleiner 50 aufweisen und Tiefen kleiner 100 µm aufweisen, haben zahlreiche Vorteile gegenüber ähnlichen Konstruktionen mit größeren Längenverhältnissen und größeren Extraktionskanaltiefen. Bewegungskräfte auf

Teilchen, die fähig sind, einen Differentialtransport von gewünschten Teilchen in dem Extraktionskanal auszuführen, sind das Ergebnis von lokalen Feldgradienten. Ultrakleine Transportabstände erlauben einen Differentialtransport von gewünschten Teilchen schneller als von unerwünschten Teilchen in kurzen Zeiträumen, was eine signifikante Minimierung der erforderlichen Größe für die Vorrichtung bei moderaten Extraktionskanalflußgeschwindigkeiten bzw. -raten ermöglicht. Zusätzlich können niedrigere Flußgeschwindigkeiten bzw. Strömungsraten verwendet werden.

[0041] Die Vorrichtung innerhalb des Größenbereichs, der oben beschrieben ist, ergeben unterscheidbare Vorteile, wenn sie in den folgenden Leistungskategorien ausgewertet werden: (a) Leistungsverbrauch, um das Ziel zu erreichen, (b) Größe der Vorrichtung, die erforderlich ist, um das Ziel zu erreichen, und (c) Integrierbarkeit von Vorrichtungen in eine Mehrzahl von Systemen für ein Management bzw. eine Handhabung und Verarbeitung von sehr kleinen Fluidvolumina in einem batchweisen (probenweisen) Modus.

[0042] Einige Gebiete, welche in der Technik bekannt sind, welche für einen Differentialtransport der Teilchen in den Vorrichtungen dieser Erfindung verwendet werden können, sind jene, welche erzeugt werden durch:

- Sedimentation
- elektrische Energie
- Temperaturgradienten
- Quer- bzw. Kreuzstrom
- dielektrische Gradienten
- Scherkräfte
- magnetische Kräfte
- Konzentrationsgradienten

[0043] Mittel zum Ausbilden derartiger Felder sind in der Technik im Zusammenhang mit Mesomaßstabs- und Makromaßstabsvorrichtungen bekannt.

[0044] Aufgrund der kleinen Größen der hier beschriebenen Kanäle tritt ein Differentialtransport von gewünschten Teilchen durch Diffusion oder andere Mittel extrem schnell auf, d. h. innerhalb von weniger als etwa 300 s und falls dies gewünscht ist, weniger als etwa 1 s. Vorrichtungen gemäß dieser Erfindung können hergestellt werden, welche die Anwesenheit bzw. das Vorhandensein von gewünschten oder unerwünschten Teilchen in dem Produkt- und/oder Nebenproduktstrom, wo diese Teilchen vorkommen, in weniger als fünf Minuten bestimmen, oder falls dies gewünscht wird, weniger als vier Minuten, oder weniger als drei Minuten, oder weniger als zwei Minuten, oder weniger als eine Minute, oder weniger als 10 Sekunden, oder weniger als eine Sekunde, detektieren oder die Konzentration davon bestimmt werden.

[0045] In den miniaturisierten Vorrichtungen dieser Erfindung können im Vergleich mit den Vorrichtungen größeren Maßstabs gemäß dem Stand der Technik, die Kanaltiefen von mehr als 100 µm aufweisen, Proben mit bedeutend kleinerer Größe, z. B. etwa 1 ml, und hinunter bis zu etwa 1 pl behandelt werden, wohingegen in größeren Vorrichtung sehr kleine Proben an den Kanalwänden absorbiert werden könnten. Zusätzlich werden niedrige Reynolds-Zahlen für den Fluß erreicht, was einen laminaren Strom erlaubt und eine Turbulenz minimiert oder vollständig eliminiert, welche mit der Differentialextraktion von gewünschten Teilchen Wechselwirkungen würde.

[0046] Ein Teil der gewünschten Teilchen in dem Probenstrom (die größere Diffusionskoeffizienten als die unerwünschten Teilchen besitzen, oder die fähiger als die unerwünschten Teilchen für einen Transport in den Extraktionsstrom sind, wenn die Differentialtransportmittel an dem System angewandt sind), werden zu dem Produktstrom transportiert. Wenn die Extraktion auf Diffusion basiert, werden einige der kleineren Teilchen immer in dem Probenstrom verbleiben; jedoch kann der Prozentsatz der gewünschten Teilchen, die zu dem Produktstrom transportiert werden, durch Erhöhen der Kontaktzeit des Proben- und Extraktionsstroms erhöht werden, z. B. durch Erhöhen der Länge des Extraktionskanals oder durch Reduzieren der Flußgeschwindigkeit. Für einfache Diffusionssysteme kann das Verfahren so zeitlich gesteuert werden, daß die zwei Ströme in Kontakt bis zu dem Punkt sind, wo die Konzentration der kleineren Teilchen in beiden Strömen nahezu gleich ist.

[0047] Der Proben- und Extraktionsstrom können unterschiedliche Eigenschaften, z. B. Viskositäten, Dichten, Oberflächenenergien, Diffusionskoeffizienten, Homogenitäten, chemische Zusammensetzungen und dgl. besitzen, welche die differentialen Transportgeschwindigkeiten bzw. -raten beeinflussen können. Systemparameter können eingestellt und optimiert werden müssen, um diese unterschiedlichen Eigenschaften zu berücksichtigen, wie dies dem Fachmann offensichtlich sein wird.

[0048] Der Proben- und Extraktionsstrom sind in dem Extraktionskanal für einen Zeitraum in Kontakt gehalten, der ausreichend ist, um zu erlauben, daß eine analysierbare Menge der gewünschten Teilchen in den Extraktionsstrom transportiert wird. Das Ausmaß an Produkt, das aus der Vorrichtung rückgewonnen werden kann, kann zwischen etwa 0,001 pl/s und etwa 50 µl/s oder mehr liegen. Beispielsweise beträgt, wie dies hier illustriert ist, eine optimale Flußgeschwindigkeit bzw. Strömungsrate für den Produktstrom etwa 200 nl/s. Wie dies in der Technik bekannt wird, können selbst die sehr kleinen Mengen an Analyten, die in derartigen kleinen Produktströmen vorhanden sind, durch spektroskopische oder andere Mittel detektiert werden.

[0049] Eine erfolgreiche Durchführung der Erfindung, die hier beschrieben ist, erfordert eine präzise Steuerung bzw. Regelung der Volumsflußgeschwindigkeiten an drei der vier Kanäle der Vorrichtung (d. h. Proben-, Extraktions-, Produkt- oder Nebenproduktstrom). Der vierte Kanal muß nicht oder sollte nicht reguliert werden, da, wenn dieser Kanal unreguliert verbleibt, dies der Vorrichtung ermöglichen wird, unvorhersehbare Änderungen in dem Volumen der Probe aufgrund von ΔV eines Mischens des Proben- und Extraktionsstroms auszugleichen. Mittel zum Erreichen von präzise regulierten Flußgeschwindigkeiten sind in der Technik bekannt.

[0050] Um beim Steuern bzw. Regeln der Größe von Teilchen, die zu dem Produktstrom zu transportieren sind, in einem auf Diffusion basierenden Extraktionssystem gemäß dieser Erfindung zu helfen und das Vorhandensein von größeren Teilchen in dem Produktstrom zu reduzieren, kann eine Fluidbarriere in dem Extraktionskanal ausgebildet werden. Eine derartige Fluidbarriere ist vorhanden, wenn der Extraktionsstrom in einem ausreichenden Volumen vorhanden ist, um einen Teil des Extraktionsstroms zu veranlassen, durch den Nebenproduktausgang mit dem austretenden Nebenproduktstrom zu fließen, wie dies in **Fig. 3** dargestellt ist. Kleinere Teilchen, die in den Extraktionsstrom diffundieren, müssen die Breite dieser Fluidbarriere kreuzen, bevor sie fähig sind, mit dem Produktstrom auszutreten. Derartige Fluidbarrieren, die in einem größeren Maßstab ausgebildet sind, sind in Williams P. S., et al. (1992), "Continuous SPLITT Fractionation Based on a Diffusion Mechanism," Ind. Eng. Chem. Res. 2172–2181 diskutiert.

[0051] Indem der Druck des Proben- und Extraktionsstroms gesteuert bzw. gerempelt wird, kann das Volumsverhältnis von jedem, der in den Extraktionskanal eintritt, gesteuert bzw. geregelt werden. Das Volumsverhältnis des Probenstroms und des Extraktionsstroms kann auch durch die Geometrie der Auslaß- und Einlaßkanäle für einen festgelegten Lieferdruck auf den Proben- und Extraktionsstrom festgelegt werden. Diese Volumsstromrate des Produkt- und Nebenproduktstroms kann auch durch Manipulieren der Produkt- und Nebenproduktstromdrücke oder durch Verwenden von beliebigen Anschlußdrücken (Einlaß) und andern des Flußwiderstands der Einlässe gesteuert bzw. geregelt werden. Unabhängig von dem Steuer- bzw. Regelmodus müssen die Einlaß- und Auslaßkanäle die Kriterien für minimale Kanalabmessungen basierend auf der Größe der zu verarbeitenden Teilchen, wie dies oben beschrieben ist, erfüllen. Wenn das Volumen des Extraktionsstroms, der in den Extraktionskanal eintritt, größer als das Volumen des Probenstroms ist, und die zwei Austrittsströme identisch sind, wird eine Fluidbarriere ausgebildet. Wenn die Volumsstromgeschwindigkeit des Produktstroms zu klein ist, um den gesamten Volumsstrom des Extraktionsstroms aufzunehmen, dann wird ebenfalls eine Fluidbarriere ausgebildet.

[0052] Extraktionsvorrichtungen dieser Erfindung können Mittel zum Steuern bzw. Regeln des Volumens des Extraktionsstroms in dem Extraktionskanal in bezug auf das Volumen des Probenstroms umfassen, wobei die Mittel einen Produktstromauslaß umfassen, der kleiner als erforderlich ist, um den gesamten Extraktionsstrom ein Austreten zu ermöglichen, gekoppelt mit einem Nebenproduktstromauslaß, der groß genug ist, um den Überschußextraktionsstrom handzuhaben. Extraktionsvorrichtungen dieser Erfindung können mehrfache Produktstromauslässe umfassen, so daß Produktströme, umfassend unterschiedliche Arten von gewünschten Teilchen rückgewonnen werden können.

[0053] Die Vorrichtungen dieser Erfindung können als ein Probenvorbehandlungssystem für ein analytisches System, umfassend Erfassungs- bzw. Abtastmittel zum Detektieren gewünschter Teilchen in dem Produktstrom verwendet werden. Derartige Mittel beinhalten Mittel zum Mischen des Produktstroms mit einem Indikatorstrom, welcher mit den gewünschten Teilchen so wechselwirkt, um es diesen zu ermöglichen, daß sie durch Abtastmittel, die in der Technik bekannt sind, detektiert bzw. festgestellt werden, umfassend optische Mittel, wie optische, spektroskopische Einrichtungen, und andere Mittel, wie absorptionsspektroskopische Einrichtungen, oder Mittel zum Detektieren von Fluoreszenz, chemische Indikatoren, welche die Farbe oder andere Eigenschaften verändern, wenn sie an die gewünschten Teilchen des Analyten ausgesetzt sind, immunologische Mittel, elektrische Mittel, z. B. Elektroden, die in die Vorrichtung eingesetzt sind, elektrochemische Mittel, radioaktive Mittel oder nahezu jede mikroanalytische Technik, die in der Technik bekannt ist, umfassend Magnetresonanzeinrichtungen oder andere Mittel, die in der Technik bekannt sind, um die Anwesenheit von Analyteinteilchen, wie Ionen, Molekülen, Polymeren, Viren, DNA-Sequenzen, Antigenen, Mikroorganismen oder andere Faktoren zu detektieren. Bevorzugt werden optische oder fluoreszierende Mittel verwendet, und Antikörper, DNA-Sequenzen und dgl. sind an fluoreszierende Marker festgelegt. Indikatoren und miniaturisierte Mischmittel, ebenso wie Detektions- und Abtastmittel sind z. B. in der ebenfalls anhängigen Anmeldung Serial Nr. 08/625,808, die hier als Bezug enthalten ist, beschrieben.

[0054] In einer bevorzugten Ausbildung dieser Erfindung ist die Differentialextraktionsvorrichtung, die oben beschrieben ist, in ein analytisches System integriert, umfassend Mittel zum weiteren Verarbeiten der Produkt- und/oder Nebenproduktströme, wie auf Diffusion basierende Mischvorrichtungen zum Mischen des Produktstroms mit einer Indikatortsubstanz (z. B. wie in der ebenfalls anhängigen Anmeldung Serial Nr. 08/625,808, die hier als Bezug enthalten ist, beschrieben) und Detektionskammern, worin die Anwesenheit von gewünschten Analyteinteilchen detektiert werden kann. Diese zusätzlichen Verarbeitungsmittel sind vorzugsweise mit den Differentialextraktionsvorrichtungen in einem "lab-on-a-chip" ("Labor auf einem Chip"), das auf einem Standardsiliziumwafer hergestellt ist, inkorporiert bzw. aufgenommen. In einer bevorzugten Ausbildung umfaßt

das System Quantifizierungsmittel zum Bestimmen der Konzentration der Analytenteilchen (gewünschten oder unerwünschten Teilchen) in dem Produkt- und/oder Nebenproduktstrom und/ oder Bestimmen der Konzentration der Analytenteilchen in dem Probenstrom. Derartige Mittel umfassen spektroskopische Einrichtungen, potentiometrische, amperometrische und dielektrische Entspannungseinrichtungen. Konzentrationsbestimmungen können durch Berechnung oder Kalibrierung mit Mitteln, die in der Technik bekannt sind und dort veröffentlicht sind, durchgeführt werden.

[0055] Die Differentialextraktionsvorrichtungen dieser Erfindung werden in einem Verfahren zur Extraktion von wenigstens einem Teil von gewünschten Teilchen aus einem Probenstrom verwendet, umfassend die gewünschten Teilchen und ebenfalls enthaltend unerwünschte Teilchen, umfassend:

- a. Einbringen des Probenstroms in den Probenstromeinlaß einer miniaturisierten Extraktionsvorrichtung, wie sie oben beschrieben ist;
- b. Einbringen eines Extraktionsstroms in den Extraktionskanal der Extraktionsvorrichtung; und
- c. Abziehen eines Produktstroms, umfassend gewünschte Teilchen von dem Produktstromauslaß der Vorrichtung.

[0056] Das Verfahren wird entweder batch- oder chargenweise oder in einem Modus eines kontinuierlichen Betriebs durchgeführt. In dem chargenweisen Modus können Probengrößen so klein wie ein Picoliter sein, vorzugsweise nicht mehr als etwa 250 Mikroliter, oder noch bevorzugter nicht mehr als 50 Mikroliter sein, obwohl Probengrößen von bis zu 1 ml oder 10 ml oder mehr ebenfalls ins Auge gefaßt werden. Das Verfahren wird in einem Zeitraum von weniger als 1 s bis nicht mehr als 5 Minuten durchgeführt, obwohl wiederum die Vorrichtung hergestellt werden kann, um chargenweise Verarbeitungszeiten von 10, 30 oder 45 s oder 1, 2, 3 oder 4 Minuten oder weniger zu ermöglichen.

[0057] Das chargenweise Verfahren umfaßt eine Startübergangsperiode, worin das Fluid (welches ein Gas sein kann), das in der Extraktionsvorrichtung vorhanden ist, durch den Extraktions- und Probenstrom verlagert wird, wenn sie in den Extraktionskammern eintreten, bis zu der Zeit, wenn der Proben- und Extraktionsstrom in einem nahezu Gleichgewichtsmassentransportzustand vorliegen.

[0058] Eine Extraktionsperiode folgt, während welcher Zeit der Proben- und Extraktionsstrom in Kontakt in dem Extraktionskanal für einen Zeitraum sind, der ausreichend ist, um es ausreichend gewünschten Teilchen zu ermöglichen, das sie differentiell in den Extraktionsstrom zur Analyse oder Weiterverarbeitung transportiert werden.

[0059] Eine die Vorrichtung herunterfahrende Spülperiode kann dann erforderlich sein, während welcher ein Reinigungsfluid, wie Wasser (oder Seifenlösung) oder Luft oder aufeinanderfolgende Kombinationen von Wasser (oder Seifenlösung) und Luft, durch die Vorrichtung zyklisiert werden, um sowohl gewünschte als auch unerwünschte Teilchen, welche an der Oberfläche der Vorrichtung zurückgehalten sein können, zu entfernen.

[0060] Das chargenweise Verfahren dieser Erfindung, welches ein Verarbeiten von einer einzigen diskreten Probe zu einer Zeit umfaßt, kann ein Rezyklisieren des Nebenproduktstroms in den Probenstromeinlaß und ein Wiederholen des Verfahrens umfassen, um die Menge an gewünschten Teilchen, die von der ursprünglichen Probe entfernt wurden, zu erhöhen. In dieser Ausbildung wird eine Probe der unerwünschten Teilchen ausgebildet, welche für eine nachfolgende Analyse verwendbar sein kann. Die Verfahren dieser Erfindung können wiederholt werden, bis die gewünschten Teilchen im wesentlichen vollständig aus dem Probenstrom extrahiert wurden.

[0061] In dem kontinuierlichen Modus dieser Erfindung kann das Verfahren für Zeiträume von mehr als 5 Minuten fortgesetzt sein. Mehrere Vorrichtungen dieser Erfindungen können in Serie für den kontinuierlichen Modus angeordnet sein, so daß der Nebenproduktstrom von jeder Vorrichtung der eintretende Probenstrom für die nächste wird. Diese kontinuierliche Anwendung der beschriebenen Vorrichtungen produziert als ein Ergebnis eine Serie von fein regulierten Verdünnungen der gewünschten Teilchen ebenso wie einen im wesentlichen reinen Strom von unerwünschten Teilchen nach bzw. bei einem Austritt aus der letzten Vorrichtung der Serie. In einer derartigen Ausbildung kann der reine Nebenproduktstrom an unerwünschten Teilchen ebenfalls zu Detektionselementen der oben erwähnten Art oder zu Teilchensortiervorrichtungen, Zählern oder Größenbestimmungselementen, wie einem miniaturisierten Silizium-Fluözytometer, z. B. einem auf Silizium basierenden V-Nutfluözytometer, wie dies in der U.S. Patentanmeldung Nr. 08/534,515, hinterlegt am 27. September 1995; und 08/621,170, hinterlegt am 20. März 1996, beschrieben ist, welche hier als Bezug enthalten sind, oder zu einer weiteren Verwendung geführt werden. Beispielsweise können in dem kontinuierlichen Modus die Vorrichtungen dieser Erfindung zur Dialyse verwendet werden und der reine Plasmastrom kann einem Patientenkörper rezyklisiert werden.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

[0062] **Fig. 1** zeigt eine Mikrokanalkonfiguration, die einen laminaren Strom von zwei Eingangsströmen, die eine niedrige Reynolds-Zahl aufweisen, zeigt.

- [0063] **Fig. 2** zeigt eine Mikrokanalkonfiguration, die die Diffusion von kleineren Teilchen von einem Probenstrom in einen Extraktionsstrom illustriert.
- [0064] **Fig. 3** zeigt eine Mikrokanalkonfiguration, die die Ausbildung einer Fluidbarriere zwischen einem Probenstrom und einem Extraktionsstrom illustriert.
- [0065] **Fig. 4** zeigt eine Mikrokanalkonfiguration (nicht maßstabsgemäß), die eine Ausbildung dieser Erfindung illustriert, die mehrere Produktkanäle aufweist, um unterschiedlich große Teilchen zu trennen. Schwarze Kreise repräsentieren die größten Teilchengrößen. Diagonale Linien, die von oben links nach unten rechts verlaufen, repräsentieren mittelgroße Teilchen und diagonale Linien, die von unten links nach oben rechts verlaufen, repräsentieren die kleinsten Teilchen.
- [0066] **Fig. 5** zeigt eine perspektivische Ansicht einer miniaturisierten, ebenen bzw. flachen Diffusions-Extraktionssystemausbildung, wobei die Diffusionsrichtung um 90° von dem "H"-Design, das in den **Fig. 1–4** gezeigt ist, gedreht ist. **Fig. 6** zeigt eine Draufsicht des miniaturisierten, ebenen bzw. flachen Diffusions-Extraktionssystemsdesigns von **Fig. 5**.
- [0067] **Fig. 7** ist ein Diagramm der Eintritts- und Auslaßgrenzflächenstromlinie in dem Extraktionskanal, der die Flußgeschwindigkeiten bzw. Strömungsraten des Proben-, Extraktions-, Produkt- und Nebenproduktstroms zeigt.
- [0068] **Fig. 8** illustriert das "lab-on-a-chip" (Laboratorium auf einem Chip) Konzept dieser Erfindung zur Untersuchung von Bestandteilen, die in einem teilchenförmigen oder mit Zellen beladenen Probenstrom vorhanden sind.
- [0069] **Fig. 9** illustriert eine Optimierung einer Extraktionskanallänge, Kanaltiefe und Produktstromflußgeschwindigkeiten bzw. -raten für ein Diffusions-Extraktionssystem, das auf einem 4 mm breiten Siliziumchip miniaturisiert ist, um Albumin aus einem Trägerfluid, das die Viskosität von Wasser besitzt, zu extrahieren.
- [0070] **Fig. 10** illustriert eine Optimierung eines Druckdifferentials, Kanaltiefe und Produktstromflußraten für ein Diffusions-Extraktionssystem, das auf einem 4 mm breiten Siliziumchip für ein Extrahieren von Albumin aus einem Trägerfluid, das die Viskosität von Wasser besitzt, miniaturisiert ist.
- [0071] **Fig. 11** illustriert die Geschwindigkeitsprofile von zwei homogenen, unmischbaren Fluiden, die sich als Newton'sche Fluids verhalten, jedoch unterschiedliche Viskositäten besitzen. Die gepunktete Linie zeigt ein Fluid, das die Viskosität von Wasser besitzt. Die durchgezogene Linie zeigt ein Fluid, das die dreifache Viskosität von jener von Wasser besitzt.
- [0072] **Fig. 12** illustriert einen Vergleich zwischen einem Zwei-Viskositäts-Modell eines auf Diffusion basierenden Extraktionssystems dieser Erfindung unter Verwendung der Fluide von **Fig. 11** und einem Modell, das dieselben Grenzflächenorte annimmt, jedoch ohne Unterschiede in der Diffusionsfähigkeit oder Viskosität in den zwei Fluiden.

Detaillierte Beschreibung der bevorzugten Ausbildungen

- [0073] Eine Diffusion von kleinen Molekülen tritt schnell über typische miniaturisierte Abmessungen ein. Die Beziehung zwischen der Größe eines Teilchens r_a , dem Diffusionskoeffizienten D und der Temperatur T geht auf Einstein zurück und für den einfachsten Fall von kugelförmigen Teilchen kann dies ausgedrückt werden als:

$$D = \frac{k_b T}{6\pi\mu r_a} \quad (1)$$

- [0074] Der charakteristische Abstand l , welchen ein Teilchen mit dem Diffusionskoeffizienten D in der Zeit t diffundieren wird, ist

$$l = \sqrt{Dt} \quad (2)$$

- [0075] Tabelle 2 gibt einige typische Diffusionskoeffizienten und charakteristische Zeiten an.

Tabelle 2:

- [0076] Einige typische Werte für unterschiedlich große Teilchen und Moleküle. Die charakteristische Zeit, um 10 μm zu diffundieren, ist angegeben.

Teilchen	D (20 °C)	t
0,5 µm Kugel	$5 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$	200 s
Protein (Hämoglobin)	$7 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$	1 s
kleines Molekül (Fluoreszin)	$5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$	0,2 s

[0077] Wie dies in **Fig. 1** gezeigt ist, sind in Mikrokanälen mit ausreichend kleinen Abmessungen Inertial- bzw. Trägheitseffekte vernachlässigbar, so daß ein Probenstrom **2**, der in einen Probenstromeinlaß **1** eintritt, von einem Probenstromkanal **3** in einen Extraktionskanal **7** fließen kann, ohne sich mit einem Extraktionsstrom **4** zu vermischen, der in einen Extraktionsstromeinlaß **5** eintritt und von einem Extraktionsstromeinlaßkanal **6** in den Extraktionskanal **7** fließt. Die zwei Ströme in dem Extraktionskanal **7** bilden einen laminaren Probenstrom **8** und einen laminaren Extraktionsstrom **9**.

[0078] In **Fig. 2** zeigen die Pfeile oben links die Richtung eines Stroms bzw. Flusses in dem Probenstromkanal **3** des Probenstroms **2**, der in den Probenstromeinlaß **1** eintritt, und die Pfeile an der unteren linken Seite zeigen die Richtung des Flusses in dem Extraktionsstromeinlaßkanal **6** des Extraktionsstroms **4**, der in den Extraktionsstromeinlaß **5** eintritt. Der Probenstrom **2** enthält größere ("unerwünschte") Teilchen **17** und kleinere ("gewünschte") Teilchen **18** (die durch Schraffieren gezeigt sind). Der Probenstrom **2** und der Extraktionsstrom **4** gelangen zueinander in einem laminaren Strom in dem Extraktionskanal **7**, um einen laminaren Probenstrom **8** und einen laminaren Extraktionsstrom **9** auszubilden, und die kleineren, gewünschten Teilchen **18** beginnen, von dem laminaren Probenstrom **8** in den laminaren Extraktionsstrom **9** zu diffundieren, um einen laminaren Produktstrom **16** zu bilden, welcher diffundierte, kleinere, gewünschte Teilchen **18** enthält. Der laminare Probenstrom **8** fließt in den Nebenproduktauslaßkanal **10**, um einen Nebenproduktstrom **12** auszubilden, und verläßt den Kanal durch den Nebenproduktauslaß **15**. Der laminare Extraktionsstrom **9** erhält bzw. empfängt kleinere, gewünschte Teilchen **18**, die von dem laminaren Probenstrom **8** diffundiert sind, und wird ein Produktstrom **16**, welcher in dem Produktauslaßkanal **11** ein Nebenproduktstrom **12** wird und den Kanal durch den Produktauslaß **14** verläßt.

[0079] In **Fig. 3** zeigt die Richtung des Pfeils an der oberen linken Ecke die Richtung eines Flusses im Probenstromkanal **3** des Probenstroms **2**, der durch den Probenstromeinlaß **1** eintritt. Die Richtung des Pfeils an der unteren linken Seite zeigt die Richtung des Stroms in den Extraktionsstromeinlaßkanal **6** des Extraktionsstroms **4**, der durch den Extraktionsstromeinlaß **5** eintritt. Der Extraktionsstrom **4** ist durch Schraffieren angedeutet. Der obere Pfeil im Extraktionskanal **7** zeigt die Richtung des Stroms des laminaren Probenstroms **8** und der untere Pfeil in dem Extraktionskanal **7** zeigt die Richtung des Flusses des laminaren Extraktionsstroms **9**. Wenn das Volumen des Extraktionsstroms **4** größer als das Ausmaß bzw. die Menge ist, welche(s) durch den Produktauslaßkanal **11** und den Produktauslaß **14** austreten kann, tritt ein Teil des laminaren Extraktionsstroms **9** durch den Nebenproduktauslaßkanal **10** und den Nebenproduktauslaß **15** als ein Überschußextraktionsstrom **22** aus. Dieser Überschußextraktionsstrom **22** befindet sich in einem laminaren Strom im Extraktionskanal **7** und bildet eine Fluidbarriere **20**. Kleinere gewünschte Teilchen **18** (nicht in **Fig. 3** gezeigt; siehe **Fig. 2**) in dem Probenstrom **2** diffundieren von dem laminaren Probenstrom **8** durch die Fluidbarriere **20** in den laminaren Extraktionsstrom **9**, um den Produktstrom **16** auszubilden (nicht in **Fig. 3** gezeigt; siehe **Fig. 2**).

[0080] In **Fig. 9** ist eine weitere Ausbildung der Erfindung gezeigt. Ein Probenstrom **2**, enthaltend große Teilchen (schwarze Punkte), mittelgroße Teilchen (diagonale Linien von oben links nach unten rechts) und kleine Teilchen (diagonale Linien von unten links nach oben rechts), tritt in den Probenstromeinlaß **1** ein. Ein Extraktionsstrom **4** tritt in den Extraktionsstromeinlaß **5** ein und fließt, um den Probenstrom **2** in dem Extraktionskanal **7** zu treffen. Kleine Teilchen mit größeren Deformationskoeffizienten, welche besonders schnell diffundieren, treten zuerst aus dem Produktauslaß **23** in den ersten, austretenden Produktstrom **25**, der durch den ersten Produktauslaßkanal **24** austritt, welcher am nächsten zu dem Probenstromeinlaß **1** angeordnet ist. Mittelgroße Teilchen mit mittelgroßen Diffusionskoeffizienten treten gemeinsam mit kleinen Teilchen durch den zweiten Produktauslaß **26** in den zweiten austretenden Produktstrom **28** durch den zweiten Produktauslaßkanal **27** aus, der weiter von dem Probenstromeinlaß **1** weg angeordnet ist als der erste Produktauslaßkanal **24**, so daß mehr Zeit für die mittelgroßen Teilchen verbleibt, um in den Extraktionsstrom zu diffundieren. Große Teilchen, welche kleinere Diffusionskoeffizienten besitzen und welche langsamer diffundieren, treten durch den dritten Produktauslaß **29** in dem dritten, austretenden Produktstrom **31** durch den dritten Produktauslaßkanal **30** gemeinsam mit kleineren und mittelgroßen Teilchen aus. Der Nebenproduktstrom **12** im Zufuhraustrittskanal **10**, der durch den Produktauslaß **15** austritt, enthält ebenfalls Teilchen aller drei Größen.

[0081] **Fig. 5** zeigt eine perspektivische Ansicht und **Fig. 6** zeigt eine Draufsicht einer weiteren Ausbildung der Erfindung, einer "ebenen bzw. flachen Extraktionsvorrichtung", in welcher die Diffusionsrichtung im Extraktionskanal 7 um 90° von den in **Fig. 1–4** gezeigten Ausbildungen verschwenkt bzw. gedreht ist. Diese Ausbildung stellt den Vorteil zur Verfügung, daß das Volumen des Materials, welches verarbeitet werden kann, nicht länger durch die Breite des Extraktionskanals 7 beschränkt ist.

[0082] Die ebene Extraktionsvorrichtung von **Fig. 5** und 6 ist durch Ätzen eines Siliziumsubstrats 34 hergestellt, um eine Probenstromeinlaßnut bzw. -rinne 35, eine Extraktionsstromeinlaßnut 36, eine Produktstromaustrittsnut 37 und eine Nebenproduktaustrittsnut 38 ebenso wie einen Extraktionskanal 7 zur Verfügung zu stellen. Eine Glasabdeckung 33 dient dazu, um den Extraktionskanal 7 einzuschließen. In **Fig. 5** bezeichnen die Pfeile, die nach unten in den Probenstromeinlaß 1 weisend gezeigt sind, den Fluß des Probenstroms 1. In ähnlicher Weise bezeichnen die Pfeile, die nach unten in den Extraktionsstromeinlaß 5 weisen, den Fluß des Extraktionsstroms 4. Die Pfeile, die nach oben von dem Produktauslaß 14 weisen, zeigen den Strom des Produktstroms 16 an, und die Pfeile, die nach oben von dem Nebenproduktauslaß 15 weisen, zeigen den Fluß des Nebenproduktstroms 12 an. Die Länge des Extraktionskanals 7 ist als L gezeigt und die Breite der Kanäle ist mit dem dunklen Pfeil als w bezeichnet. Die Tiefe dieses Extraktionskanals 7 ist als d gezeigt. Ein Koppeln- oder Kopplungsverteiler 32, welcher in **Fig. 6** mit Öffnungen gezeigt ist, erstreckt sich zu der Tiefe der Probenstromeinlaßnut 35, um den Probenstromkanal 3 und einen Probenstromeinlaß 1 auszubilden, erstreckt sich zu der Tiefe der Extraktionsstromeinlaßnut 36, um den Extraktionsstromkanal 6 und den Extraktionsstromeinlaß 5 auszubilden, erstreckt sich zu der Tiefe der Produktstromaustrittsnut 37, um den Produktauslaßkanal 11 und den Produktauslaß 14 auszubilden, und erstreckt sich zu der Tiefe der Nebenprodukstromaustrittsnut 38, um den Nebenproduktaustrittskanal 10 und den Nebenproduktaustritt 15 auszubilden.

[0083] In der flachen Extraktionssystemausbildung, die in **Fig. 6** gezeigt ist, die durch Diffusion (Konzentrationsgradient) arbeitet, tritt ein Probenstrom 2, der durch den Pfeil oben links angedeutet ist, in den Probenstromeinlaß 1 ein und fließt in den Probenstromkanal 3. Der Extraktionsstrom 4 ist durch einen Pfeil angedeutet, der in den Extraktionsstromeinlaß 5 eintritt, und fließt in dem Extraktionsstromeinlaßkanal 6. Der Probenstrom 2 fließt als ein laminarer Probenstrom 8 in dem Extraktionskanal 7 unterhalb eines laminaren Extraktionsstroms 9. Der laminare Probenstrom 8 ist in Kontakt mit dem laminaren Extraktionsstrom 9 im Extraktionskanal 7 für eine Länge L. Kleine ("gewünschte") Teilchen von einem laminaren Probenstrom 8, der durch das Punktieren in dem laminaren Extraktionsstrom 9 angezeigt ist, fließen in den Produktauslaßkanal 11 als ein Produktstrom 13, welcher an einem Produktauslaß 14 austritt, wie dies durch den nach oben weisenden Pfeil dargestellt ist. Der Nebenproduktstrom 12 ist die Fortsetzung des laminaren Probenstroms 8 nach dem Produktstrom 16, welcher sowohl die größeren ("unerwünschten") Teilchen und einen Teil der kleineren ("gewünschten") Teilchen enthält, welche nicht in den Produktstrom 16 diffundiert sind. Der Nebenproduktstrom 12 fließt durch den Nebenproduktauslaßkanal 10 durch den Nebenproduktauslaß 15 aus.

[0084] Durch ein Einstellen der Konfiguration der Kanäle in Übereinstimmung mit den hier diskutierten Prinzipien, um eine geeignete Kanallänge, Flußgeschwindigkeit und Kontaktzeit zwischen dem Probenstrom und dem Extraktionsstrom zur Verfügung zu stellen, kann die Größe der Teilchen, die in dem Probenstrom verbleiben und in den Produktstrom diffundieren, gesteuert bzw. geregelt werden. Die erforderliche Kontaktzeit kann als eine Funktion des Diffusionskoeffizienten des Teilchens D (welcher allgemein als die lineare Größe eines Teilchens variiert) und des Abstands d, über welchen das Teilchen diffundieren muß, durch $t = d^2/D$ berechnet werden. Teilchen oder Moleküle, welche Diffusionskoeffizienten größer als D besitzen, werden in dem austretenden Produktstrom sein, und Teilchen oder Moleküle, die einen Diffusionskoeffizienten im wesentlichen kleiner als D aufweisen, werden dies nicht sein. Wenn der Diffusionskoeffizient der größeren Teilchen, die abgetrennt werden, etwa zehn mal kleiner als D ist, sollte das Produkt im wesentlichen vollständig frei von großen Teilchen sein.

[0085] Eine einfache Berechnung zeigt, daß wenige Teilchen oder Moleküle mit Diffusionskoeffizienten kleiner als $D = w_{fb}^2 v/L$ in dem austretenden Produktstrom gefunden werden, worin w_{fb} die Breite der Fluidbarriere ist, v die mittlere Flußgeschwindigkeit des laminaren Probenstroms ist und L die Länge des Extraktionskanals ist. Teilchen bzw. Partikel oder Moleküle mit Diffusionskoeffizienten größer als $D = w^2 v/L$, worin w die Breite des Extraktionskanals ist, werden in dem austretenden Produktstrom bzw. Strom des austretenden Produkts in derselben Konzentration wie in dem Nebenproduktstrom sein.

[0086] Mittel zum Einspritzen von Zufuhrflüssigkeit in die Vorrichtung werden zur Verfügung gestellt, wenn die Vorrichtung dieser Erfindung als ein Teil eines analytischen Systems verwendet wird. Derartige Mittel umfassen Standardspritzen und Rohre. Mittel zum Entfernen von Fluid von dem Produktaustritt können ebenfalls zur Verfügung gestellt werden, umfassend Behälter für das Fluid, die einen Strom durch Kapillaranziehung induzieren, Druck, Schwerkraft und andere Mittel, die in der Technik bekannt sind, wie dies oben beschrieben ist. Derartige Behälter können ein Teil einer analytischen oder anderen Vorrichtung zum weiteren Verarbeiten des Produktstroms sein.

[0087] **Fig. 7** zeigt den Extraktionskanal 7 mit dem der laminaren Extraktionsstrom 9, der sich mit einer Geschwindigkeit V_{es} bewegt, und einem laminaren Probenstrom 8, der sich mit einer Geschwindigkeit von V_{ss} be-

wegt, und welcher eine Stromhöhe (Diffusionsrichtungsordinate) Z_s aufweist, die den Grenzflächenstromlinienort (gepunktete Linie) zwischen dem laminaren Probenstrom **8** und dem laminaren Extraktionsstrom **9** nahe dem Eintritt des Extraktionskanals **7** definiert. Die kombinierte Höhe von beiden Strömen und somit die Tiefe des Extraktionskanals **7** ist als d gezeigt. Die gekrümmte Linie zeigt bzw. deutet die Form des Geschwindigkeitsprofils an. Da bzw. wenn sich die Ströme entlang der Länge des Extraktionskanal **7** bewegen, wird der laminare Probenstrom **8** ein Nebenproduktstrom **12**, der sich mit einer Geschwindigkeit V_{bps} bewegt und der eine Stromhöhe (Diffusionsrichtungsordinate) Z_p aufweist, die den Grenzflächenstromlinienort (gepunktete Linie) zwischen dem Nebenproduktstrom **12** und dem Produktstrom **13** definiert. Der laminare Extraktionsstrom **9** wird der Produktstrom **16**, der sich mit einer Geschwindigkeit von V_{ps} bewegt.

[0088] Zahlreiche Stufen, die üblicherweise in dem chemischen Versuch einer Fluidmischung durchgeführt werden, sind: (1) präzise Mischungsverdünnung; (2) Extraktion eines bestimmten Bestandteils; (3) präzises Mischen von Indikatorreagenzien oder Testsensoren (z. B. Fluoreszenz, beschichtete Polymerkügelchen); und (4) nicht-invasive Detektion des Indikators oder Sensors (z. B. Extinktions- oder Fluoreszenzspektroskopie).

[0089] Die Extraktionsvorrichtungen dieser Erfindung können in gesamte analytische Systeme, wie das miniaturisierte "lab-on-a-chip" (Laboratorium auf einem Chip) integriert sein, das in **Fig. 8** gezeigt ist.

[0090] **Fig. 8** zeigt eine auf Diffusion basierende Extraktionsvorrichtung 100 gemäß dieser Erfindung, die auf einem einzigen Siliziumwafer hergestellt ist. Ein Probenstrom **2**, der eine Probenstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate V_{ss} aufweist, und eine Konzentration $C_{i,ss}$ des Probenstrombestandteils i aufweist, fließt in die auf Diffusion basierenden Extraktionsvorrichtung entlang eines Extraktionsstroms **4**, der eine Extraktionsstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate V_{es} aufweist. Der Nebenproduktsstrom **12**, der eine Nebenproduktflußgeschwindigkeit bzw. -rate V_{bps} und eine Konzentration $C_{i,bps}$ des Nebenproduktbestandteils i aufweist, wird aus dem System entfernt. Der Produktstrom **13**, der eine Produktstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate V_{ps} und eine Konzentration $C_{i,ps}$ des Produktstrombestandteils i aufweist, fließt zu einer auf Diffusion basierenden Mischvorrichtung **43**, die auf demselben Chip miniaturisiert bzw. mikrohergestellt ist. Ein Indikatorfarbstoffstrom **39**, der eine Indikatorfarbstoffstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate V_{ind} und eine Indikatorstromfarbstoffkonzentration $C_{dye,ind}$ aufweist, fließt auch in die auf Diffusion basierende Mischvorrichtung **43**. Ein Detektorstrom **40** tritt aus der auf Diffusion basierenden Mischvorrichtung **43** aus und fließt in eine Detektionskammer **44** und optische Detektionsmittel **41** werden betätigt, um ein Signal zu detektieren, vorzugsweise ein Fluoreszenzsignal **42**, während sich der Detektorstrom **40** in der Detektionskammer **44** befindet. Der Detektorstrom **40** tritt dann aus der Detektionskammer **44** bei einer Detektionsstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate V_{ds} einer Konzentration $C_{i,ds}$ des Detektorstrombestandteils i und einer Indikatorfarbstoffkonzentration $C_{dye,ind}$ aus.

[0091] Die in **Fig. 8** dargestellte Detektionsstrategie erfordert eine Bestandteilextraktion aus der mit Teilchen beladenen Probe, ein Mischen des fluoreszierenden Indikators mit dem verdünnten Analyten und eine fluoreszenzoptische Detektion. Kritisch für die präzise Betätigung der Inferenztechnik ist das präzise Regulieren von allen Stromflußgeschwindigkeiten bzw. -raten in dem System. Unter Verwendung einer Kalibrierung zwischen der Fluoreszenzintensität und der Bestandteilkonzentration und Information, die präzise die Bestandteilextraktion und die Indikatormisch-Verdünnungsverhältnisse definiert, wird die Konzentration des Bestandteils in dem ursprünglichen Probenstrom abgeschätzt. Das vollständige System umfaßt auch eine Datenreduktion, Druckregulierung und Abfallsammlung. Eine präzise Flußsteuerung in integrierten, gesamten, analytischen Systemen kann teilweise durch Mikropumpen auf einem Chip erreicht werden (Gravesen, P. et al (1993), "Microfluidics – a review," J. Micromechanics and Microengineering 3(4): 168–182; Elwenspoek, M. et al. (1994), "Towards integrated microliquid handling systems," J. Micromechanics and Microengineering 4(4) : 227–245; und Forster, F. K. et al. (1995), "Design, Fabrication and Testing of Fixed-Valve Micro-Pumps," ASME International Mechanical Engineering Congress & Exposition, San Francisco, ASME).

[0092] Sowohl in dem "H"-Design für das Extraktionssystem, z. B. **Fig. 2** wie dies in dem Beispiel beschrieben ist, als auch dem flachen Extraktionssystem von **Fig. 5** und **6** wandern die diffundierenden Bestandteile in den Extraktionsstrom **4** und tendieren zu einer ungefähren, gleichmäßigen Konzentration durch den Extraktionskanal **7**. Die Proben-, Extraktions- und Nebenproduktflußgeschwindigkeiten sind extern reguliert, wodurch die Produktstromflußgeschwindigkeit bzw. -rate fixiert wird. In der Ausbildung von **Fig. 2**, die, wie in dem Beispiel hier beschrieben, hergestellt ist, ist die Kanalabmessung in der Diffusionsrichtung (d) weniger als 100 μm in dem Beispiel, und das Längenverhältnis, das als die Kanalabmessung normal auf die Diffusions- und Flußrichtungen (w), dividiert durch die Kanaltiefe (d), definiert ist, ist kleiner als 1. In dem flachen Extraktionssystem von **Fig. 5** und **6** ist das Längenverhältnis w/d , worin d wieder kleiner als etwa 100 μm ist, größer als 1, jedoch noch viel kleiner als 50.

[0093] Der für den zu extrahierenden Bestandteil erforderliche Abstand, um eine Konzentration über den Mikrokanaquerschnitt zu erhalten, welcher innerhalb eines festgelegten Prozentsatzes der Gleichgewichtskonzentration liegt, ist als die Gleichgewichtslänge definiert. Die Bestandteilkonzentration innerhalb des Mikrokanals wird unter Verwendung eines 1-D analytischen Diffusionsmodells berechnet. Die Gleichgewichtslänge wird verwendet, um eine Familie von Bearbeitungsraumausbildungskurven zu konstruieren, die für den extrahierten Bestandteil spezifisch sind. Die gegenständliche Optimierungsfunktion ist spezifiziert, um das Design

zu identifizieren, welches die Volumsstromgeschwindigkeit bzw. -rate des Produktstroms innerhalb der Grenzen maximiert, die durch das auf einem Siliziumchip miniaturisierte System auferlegt sind.

[0094] Die Methodologie wird auf die Ausbildung einer optimalen Vorrichtung für die Extraktion von Albumin (ein Proteinbestand, der im menschlichen Blut vorhanden ist) aus einem Trägerprofenstrom mit einer Viskosität in der Größenordnung von jener von Wasser angewandt. Vollblut weist typischerweise einen Gehalt an roten Blutkörperchen (RBC) von 40–50 Vol.-% auf, wobei die RBCs eine ellipsenartige Form und 8 µm Hauptachsabmessung aufweisen, und die weißen Blutkörperchen Nominaldurchmesser von etwa 15–25 µm haben. In dieser Diskussion ist die Analyse vereinfacht, indem ein Verarbeitungsmodell einer einzigen Viskosität und einer einzigen Diffusionsfähigkeit angenommen bzw. betrachtet wird. Annahmen betreffend die Fälle mehrfacher Viskosität werden nachher dargestellt. Die präzisierte Vorrichtung ist für eine Gleichgewichtslänge von 1% (innerhalb 1% der Gleichgewichtskonzentration von Albumin für eine Vorrichtung infinitärer Länge) spezifiziert. Diese Prozeßempfindlichkeitsinformation stellt Designanforderungen für stromaufwärtige und stromabwärtige Fluidkomponenten zur Verfügung und ist für eine Integration der Vorrichtung in ein chemisches Analysensystem eines "Laboratoriums auf einem Chip" essentiell.

[0095] Ein Prozeß- bzw. Verfahrensmodell wird durch seine Parameter, physikalischen Konstanten, unabhängigen Variablen, abhängigen Variablen und durch die Gleichungen definiert, die verwendet werden, um das Verfahren zu modellieren. Das in diesem Paper überprüfte bzw. untersuchte Extraktionsverfahren wird nachfolgend illustriert:

Modell- parameter

$$a_v, \frac{z_s}{d}, \frac{z_p}{d}$$

Modell- variablen

$$\dot{V}_{ps}, d$$



auf Diffusion
basierendes
Extraktionsmodell



Modell- antwort

$$L_{a\%}, \Delta p$$

Physikalische Konstante

$$D_i, \mu, \rho$$

[0096] Physikalische Konstanten können weder durch die Ausbildung noch durch das Design der Vorrichtung oder durch seine Steuerung bzw. Regelung verändert werden. Es gibt drei physikalische Konstanten, die oben identifiziert sind: binäre Bestandteilsdiffusionsfähigkeit, D_i ; Viskosität, μ ; und Dichte, ρ . Die konstanten Parameter sind der gewünschte Prozentsatz, um das Bestandteils-Gleichgewicht zu vervollständigen, $a_{\%}$, die normalisierte Proben-Extraktionsstromliniengrenzflächenposition z_s/d , und die normalisierte Nebenprodukt-Stromliniengrenzflächenposition z_p/d . Die variablen Modellparameter sind die Produktstromflußgeschwindigkeit \dot{V}_{ps} und die Diffusionsrichtungskanaltiefe d . Unter dieser Definition sind die Modellausgaben die Kanallänge, die erforderlich ist, um $a_{\%}$, $L_{a\%}$, zu erreichen, und das Druckdifferential über den Extraktionskanal in der Richtung des Flusses, Δp .

[0097] Ein 2-D-Fluß- und -Bestandteilstransportmodell des Extraktionsverfahrens wird präsentiert. Die Diskussion beginnt beim Feststellen des allgemeinen 3-D-Transportproblems. Vereinfachende Annahmen werden dann für die 2-D-Näherungen definiert und angewandt. Lösungen für die resultierende, beschreibende Modellgleichung und assoziierte Grenzflächenbedingungen bzw. Grenzzustände werden dann für den nicht viskosen Flußfall und für eine numerische Lösung im Fall eines viskosen Flusses präsentiert.

[0098] Allgemeine 3-D-Massentransport-Modellgleichung. Die allgemeine Gleichung, die den Transport eines Bestandteils sowohl durch diffusiven als auch konvektiven Transport beschreibt, ist gegeben als (Cussler, E.

L. (1984), Diffusion, Mass Transfer in Fluidsystems, Cambridge, Cambridge University Press)

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + v_x \frac{\partial c_i}{\partial x} + v_y \frac{\partial c_i}{\partial y} + v_z \frac{\partial c_i}{\partial z} = D_i \left[\frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c_i}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 c_i}{\partial z^2} \right] + r_i \quad (3)$$

worin: C_i die Konzentration des i-ten Bestandteils ist; D_i der binäre Diffusionskoeffizient für den i-ten Bestandteil ist; v_x , v_y und v_z die Geschwindigkeitsvektorkomponenten sind; und r_i die Produktionsgeschwindigkeit bzw. -rate des i-ten Bestandteils über chemische Reaktionen in der Mischung ist.

[0099] 2-D-Näherung einer stationären Strömung. Die mathematischen Beziehungen, die die Modellannahmen darstellen, die in dieser Diskussion verwendet werden, sind in Gleichung 4 dargestellt.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = 0 \quad 4(a)$$

$$v_y = v_z = 0 \quad 4(b)$$

$$\frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} = \frac{\partial^2 c_i}{\partial y^2} = 0 \quad 4(c)$$

$$r_i = 0 \quad 4(d)$$

[0100] Gleichung 4(a) stellt die Betriebsannahme der Vorrichtung in einem stabilen bzw. stationären Zustand dar. Die Extraktionsvorrichtung ist für einen dynamischen Betrieb gedacht, jedoch wird der Betrieb im stabilen Zustand verwendet, um auf eine Endkonfigurations-Designkonfiguration abzielen. Ein Fluß tritt in einer einzigen Koordinatenrichtung auf, wie dies in Gleichung 4(b) beschrieben ist. Gleichung 4(c) wird unter Verwendung von zwei Argumenten gerechtfertigt: (1) der räumliche Maßstab für eine Diffusion ist um eine Größenordnung kleiner in der Diffusionsextraktionsrichtung (z-Koordinate) als in der Kanalflußrichtung (x-Koordinate) (die Zeit, die für eine Diffusion über einen Abstand B erforderlich ist, ist proportional zu l^2/D); (2) die Diffusion in der Kanalbreitenrichtung (y-Koordinate) wird dazu tendieren, das Konzentrationsprofil in dem Fall eines viskosen Flusses abzuflachen, und bewirken, daß sich die Lösung näher einer Diffusion in dem Fall eines nicht viskosen Stroms mit identischen, mittleren Flußgeschwindigkeiten annähert. Gleichung 4(d) ist in dieser Diskussion gerechtfertigt, da hier keine chemischen Gleichgewichtskinetiken vorliegen, die die Änderung einer Spezies in dem Flußstrom für die hier betrachteten Versuch von Interesse reflektieren. Dies ist nicht immer der Fall. Eine Anwendung von Gleichung 4 auf Gleichung 3 ergibt die vereinfachte Beziehung

$$\frac{\partial c_i}{\partial x} = \frac{D_i}{v_x} \frac{\partial^2 c_i}{\partial z^2} \quad (5)$$

[0101] Nicht-dimensionale Form. Gleichung 5 kann in bezug auf die Probenstrombestandteils-Konzentration und die Diffusionskanaltiefe normalisiert werden, indem die folgende, nicht dimensionsabhängige Änderung von Variablen definiert wird

$$\tilde{c}_i = \frac{c_i}{c_{i,0}}, \quad \tilde{x} = \frac{x}{d}, \quad \tilde{z} = \frac{z}{d}, \quad (6)$$

worin: $c_{0,i}$ die Konzentration des Bestandteils i in dem Probenstrom ist und d die Kanaltiefe ist. Eine Substitution von Gleichung 6 in Gleichung 5 ergibt

$$\frac{\partial \tilde{c}_i}{\partial \tilde{x}} = \left[\frac{D_i}{v_x d} \right] \frac{\partial^2 \tilde{c}_i}{\partial \tilde{z}^2} \quad (7)$$

[0102] Der Term in Klammer in Gleichung 7 ist das Inverse der Peclet-Zahl. Die Peclet-Zahl stellt ein verwend-

bares Maß der relativen Signifikanz von konvektivem Massentransport zu Diffusionsmassentransport zur Verfügung und ist definiert als

$$Pe = \frac{v_x d}{D_i} \propto \frac{\text{konvektiver Transport}}{\text{Diffusionstransport}} \quad (8)$$

[0103] Die Konzentration ist daher eine Funktion der normalisierten Position und der Peclet-Zahl

$$\tilde{c}_i(\tilde{x}, \tilde{z}, Pe).$$

[0104] Eintrittsgrenzflächenbedingung der stationären Strömung. Die Position der Stromlinie, die den Proben- und Extraktionsstrom an dem Einlaß der Extraktionsvorrichtung trennt, ist z_s . Die Grenzflächenbedingung an dem Extraktionskanaleinlaß, $\tilde{x}=0$, ist Einheit. Die normalisierte Konzentration des Extraktionsstroms ist null,

$$\tilde{c}_i(0, \tilde{z}) = \begin{cases} 1,0 & < \tilde{z} < \frac{z_s}{h} \\ 0, & \frac{z_s}{h} < \tilde{z} < 1 \end{cases} \quad (9)$$

[0105] "Far field"-Grenzflächenbedingung eines Kanals unendlicher Länge. Die "far field"-Grenzflächenbedingung wird durch Postulieren eines unendlichen bzw. unendlich langen Extraktionskanals definiert. Für einen derartigen Kanal müssen alle diffundierenden Bestandteile über den Kanalquerschnitt im Gleichgewicht sein. Daher,

$$\tilde{c}_i(\infty, \tilde{z}) =: \xi \quad (10)$$

worin: ξ die normalisierte Gleichgewichtskonzentration ist. Die normalisierte Gleichgewichtskonzentration ist gegeben als

$$\xi = \frac{\dot{V}_{ss}}{\dot{V}_{ss} + \dot{V}_{es}} \quad (11)$$

[0106] Grenzflächenbedingungen einer undurchlässigen Kanalwand. Während eines stationären bzw. stabilen Zustands der Vorrichtung wird die Absorption von Bestandteilen an den Vorrichtungsoberflächen angenommen als im Gleichgewicht befindlich und daher ist der Massenfluß über eine Kontrolloberfläche, die durch die Vorrichtungsgrenzen definiert ist, null. Daher muß nach dem Fick'schen Gesetz der Konzentrationsgradient an der Grenzfläche null sein,

$$\frac{\partial \tilde{c}_i(\tilde{x}, 0)}{\partial \tilde{z}} = -\frac{\partial \tilde{c}_i(\tilde{x}, 1)}{\partial \tilde{z}} = 0. \quad (12)$$

[0107] Fluß einer nicht viskosen Flüssigkeit (Pfropfströmung). wenn der Fluß eines nicht viskosen Fluids angenommen wird, wird die Geschwindigkeit über den Kanal in der z-Richtung konstant sein. Mit dieser Modellnäherung ist der Ort der Stromliniengrenzfläche zwischen dem Proben- und Extraktionsstrom gegeben als

$$\frac{z_s}{d} = \xi. \quad (13)$$

[0108] Die Lösung für Gleichung 7 unter der Voraussetzung der Grenzflächenbedingungen, die in Gleichung 9, Gleichung 10 und Gleichung 12 gegeben sind, und der Stromliniengrenzflächenort (Gleichung 9) wurden abgeleitet und sind gegeben als

$$\begin{aligned} \tilde{c}_i(\tilde{x}, \tilde{z}) = & \xi + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2}{\pi(2n-1)} \sin[(2n-1)\pi\xi]x \\ & \exp\left[-(2n-1)^2\pi^2\left(\frac{D_i}{v_x d}\right)\tilde{x}\right] \cos[(2n-1)\pi\tilde{z}]. \end{aligned} \quad (14)$$

[0109] Gleichung 14 wurde unter Verwendung des Verfahrens einer Trennung von Variablen abgeleitet. Siehe

Folland, G. B. (1992) Fourier Analysis and its Applications, Pacific Grove, Wadsworth & Brooks/Cole Advanced Books and Software, für eine detaillierte Darstellung dieses Verfahrens und seiner Anwendungen auf physikalische Systeme.

[0110] Viskoser Fluß - Einzelviskositäts-Fluid. Der Ort der Stromlinie, die den Proben- und Extraktionsstrom trennt, für ein Geschwindigkeitsprofil eines viskosen Flusses wird unter Verwendung der Konservierung von Masse erreicht. Das Geschwindigkeitsprofil für einen Fluidstrom einer einzigen Viskosität ist gegeben als

$$v_x(z) = -\frac{d^2}{2\mu} \frac{dP}{dz} \left[\left(\frac{z}{d} \right) - \left(\frac{z}{d} \right)^2 \right]. \quad (15)$$

[0111] Der gesamte Volumsstrom in einem Kanal einer Tiefe d und der Breite w ist gleich der Summe der Proben- und Extraktionsstrom-Flußgeschwindigkeiten bzw. -raten. In bezug auf das Geschwindigkeitsprofil ist diese Netto-Kanalflußgeschwindigkeit gegeben als

$$\dot{V}_{ss} + \dot{V}_{es} = w \int_{z=0}^{z=d} v_x(z) dz = -\frac{d^3 b}{12\mu} \frac{dP}{dz} \quad (16)$$

[0112] Die Volumsstromgeschwindigkeit in dem Probenstromabschnitt des Extraktionskanals ist gegeben als

$$\dot{V}_{ss} = w \int_{z=0}^{z=z_s} v_x(z) dz \quad (17)$$

worin z_s der Ort der Gleichgewichtsstromlinie ist, die den Proben- und Extraktionsstrom trennt. Für ein viskoses Stromprofil des gesamten Stromvolumsflusses muß in dem Bereich $0 < z < z_s$ liegen. Gleichung 17 kann unter Verwendung von Gleichungen 16 und 15 gelöst werden, um die kubische Beziehung zu ergeben

$$2 \left(\frac{z_s}{d} \right)^3 - 3 \left(\frac{z_s}{d} \right)^2 + \xi = 0. \quad (18)$$

[0113] Jede geeignete Wurzelsuchtechnik kann angewandt werden, um die Position der Trennungsstromlinie, die den Proben- und Extraktionsstrom z_s trennt, zu suchen.

[0114] Um den Fehler zu untersuchen, der mit der Annahme eines nicht viskosen Flusses assoziiert ist, wurde ein numerisches 2-D-Modell geschrieben und verwendet, um das Strömungs- bzw. Flußprofil des "optimalen" Designs zu analysieren, das durch das Modell des nicht viskosen Flusses nahegelegt ist. In dem numerischen Simulationsmodell ist die gelöste Gleichung angegeben als

$$\frac{\partial^2 \tilde{c}_i}{\partial \tilde{z}^2} = \left[\frac{v_x(\tilde{z})d}{D_i} \right] \frac{\partial \tilde{c}_i}{\partial \tilde{x}}, \quad (19)$$

worin die Peclet-Zahl nun eine Funktion einer Position innerhalb des Flußkanals aufgrund des Geschwindigkeitsprofils des viskosen Flusses ist. Ein zentrierter finiter Unterschied in \tilde{z} und ein Stromaufwärts-Unterschied in \tilde{x} wurde verwendet, um die obige Gleichung numerisch zu lösen. Für $\tilde{z}_s = z_s/d = 0,5$ wurde eine 20%-ige Reduktion in der erforderlichen Extraktionskanallänge für identische Nettokanalflußgeschwindigkeiten bzw. -raten beobachtet. Daher sollte, wenn die nicht viskose Annahme verwendet wird, um Design-Kurven zu generieren bzw. zu erzeugen, eine konservative Berechnung der Größe der Vorrichtung gegeben werden, die für die Extraktion erforderlich ist.

[0115] Optimierungs-Gegenstandsfunktion. Das Ziel dieses Designoptimierungsproblems war es, die Volumsstromgeschwindigkeit bzw. -rate des Produktstroms pro Einheitsfilterkanalbreite w zu maximieren. Die Funktion, die diesen Designgegenstand bzw. dieses Designziel beschreibt, ist gegeben als

$$\max F(d, L_{a\%}) = \dot{V}_{ps}(d, L_{a\%}). \quad (20)$$

worin: d die Kanaltiefe ist und $L_{a\%}$ die $a\%$ Gleichgewichtslänge ist. Gleichung 20 beschreibt den Designgegenstand und stellt einen maximalen Vorrichtungsdurchsatz sicher. In anderen Anwendungen können auch konkurrierende Designgegenstände bzw. -ziele unter Verwendung einer Mehrfachzielsdesign-Zielfunktion in Betracht gezogen werden, wo die konkurrierenden Designgegenstände unter Verwendung von subjektiven Gewichtungen angefordert werden, um die zusammengesetzte Mehrfachgegenstandsfunktion auszubilden. In

dem Mikromaßstab würde es in spezifischen Anwendungen vorteilhaft sein, das Verhältnis der Volumsstromgeschwindigkeit zu dem Einheitsvorrichtungsvolumen zu maximieren, während gleichzeitig der Oberflächenbereich zu dem Einheitsvorrichtungsvolumen (oder in gleicher Weise die Volumsstromgeschwindigkeit mit dem Einheitsoberflächenbereich maximiert wird) der Mikrofluidvorrichtung minimiert wird. Diese Verhältnisse sind in erster Linie eine Funktion der Diffusionsrichtungstiefe, welche direkt in jedes Vorrichtungsdesign koppeln würde. Zusätzlich kann es auch erforderlich sein, daß der Siliziumwert, der erforderlich ist, um die Vorrichtung auszubilden bzw. zu realisieren, in gleicher Weise minimiert wird. Für jeden Designgegenstand, der simultan optimiert werden muß, ist eine zusätzliche, subjektive Gewichtung erforderlich. Eine Auswahl der geeigneten Gewichtungen wird von einer Designkonfiguration zur nächsten variieren.

[0116] Designzwänge bzw. -beschränkungen. Da die Siliziumwafer, die verwendet werden, um die Mikrofluidvorrichtungen herzustellen, von einer begrenzten Größe sind, gibt es ein praktisches L_a mit für die maximal zulässige Filterlänge $a_{\%}$. Die Gleichgewichtslänge L_a muß kleiner als die maximale, praktische Filterlänge L_{\max} sein, oder

$$L_{a=1\%} < L_{\max} \quad (21)$$

[0117] In gleicher Weise muß der Kanal ausreichend tief sein, so daß jegliches Teilchen, das in der Probe vorhanden ist, und Extraktionsströme nicht den Extraktionsstrom einfach aufgrund einer geometrischen Beschränkung in dem Kanal beeinflussen, $d > d_{\min}$. Weiters darf der Kanal nicht so tief sein, daß die Festigkeit des Siliziumwafers übermäßig beeinträchtigt wird, $d < d_{\max}$. Ein Kombinieren dieser zwei Beschränkungen ergibt die einzige Beschränkungsgleichung

$$d_{\min} < d < d_{\max} \quad (22)$$

[0118] Schließlich wird die maximale Zeit, die für ein Vervollständigen eines Satzes einer Extraktion und von nachfolgenden Analysenoperationen bzw. -vorgängen zulässig ist, eine minimale, akzeptable Produktstromgeschwindigkeit für die Vorrichtung bestimmen. Dies heißt, $V_{ps} > V_{ps, \min}$ (23)

[0119] **Fig. 9** und **10** zeigen den Prozeßraum für eine Familie von Diffusionsextraktionsvorrichtungen, die für $a_{\%} = 1\%$ ausgebildet sind.

[0120] **Fig. 9** zeigt den Konstruktions- bzw. Ausbildungsraum für eine 4 mit breite Parallelstrom-Diffusionsextraktionsvorrichtung, um Albumin aus Vollblut zu extrahieren, um eine 1 % Gleichgewichtslänge zu erhalten, die basierend auf der Annahme einer Flußgeschwindigkeit bzw. Strömungsrate von 1 : 1 für den Proben- und Extraktionsstrom, und einer Fluidviskosität von 10^{-3} [Pa·s] und einer Fluidichte von 10^3 (kg/m³) berechnet ist. Der Diffusionskoeffizient für Albumin in der in dieser Studie verwendeten Kochsalzlösung ist $D_{\text{albumin}} = 7 \cdot 10^{-11}$ [m²/s].

[0121] Die physikalischen Konstanten sind $D_i = 7 \cdot 10^{-11}$ m²/s (Albumin), $\mu = 10^{-3}$ Pa·s (Wasser) und $\rho = 10^3$ kg/m³ (Wasser). Diese Eigenschaften sind für eine verdünnte, wäßrige Lösung von Albumin nicht variabel. Die Konstanten würden sich nur verändern, wenn man einen anderen chemischen Versuch berücksichtigen müßte. Die für diese Ausbildungsoptimierung gewählten, festgelegten Parameter sind: $a = 1\%$; $z_s/d = 0,5$; und $w = 4$ mm. Diese Werte wurden als repräsentativ für diese Anmeldung gewählt und könnten variiert werden, um spezifische Gegenstände bzw. Ziele zu erreichen. Beispielsweise könnte die Kanalbreite erhöht werden, um den gesamten Flußdurchsatz zu erhöhen.

[0122] In **Fig. 9** zeigt Bereich A die beschränkten Parameter für das Verfahren mit dem großen, schwarzen Punkt oben rechts dieses Bereichs bei einer Kanallänge von 40 mm, einer Kanaltiefe von 50 µm und einer Produktstromflußgeschwindigkeit (V_{ps}) von etwa 0,23 µl/s, was das optimalste Design darstellt. Fläche bzw. Bereich B, welche (r) Kanallängen von mehr als 40 mm erfordert, ist außerhalb des optimalen Designs, da diese Kanallängen die 40 mm Weite des Siliziumchips ($L > L_{\max}$) übersteigen. Bereich C, wo die erforderliche Kanaltiefe größer als 100 µm ist, ist außerhalb des optimalen Designbereichs, da die Kanaltiefe die für eine effiziente Diffusion ($d > d_{\max}$) erlaubte übersteigt. Fläche D mit einer Kanaltiefe von weniger als 50 µm ist außerhalb des optimalen Designbereichs, da der Kanal zu seicht ist, um gemeinsame zelluläre Bestandteile ($d < d_{\min}$) durchzulassen. Fläche E, wo die Produktstromflußgeschwindigkeit 0 bis etwa 0,10 µl/s ist, ist außerhalb des optimalen Designbereichs, da die Produktstromgeschwindigkeit zu klein ist ($Q_{\text{product}} < Q_{\text{product, min}}$)

[0123] **Fig. 10** zeigt die optimalen Designparameter für Bedingungen, wie sie in **Fig. 9** spezifiziert sind, unter Bezug auf das Druckdifferential über den Extraktionskanal in der Richtung des Flusses. Bereich A, wie er in Bezug auf die Flußgeschwindigkeit und die Kanaltiefe definiert ist, wie dies in **Fig. 9** beschrieben ist, ist der optimale Designbereich. Der schwarze, große Punkt an der oberen, rechten Seite dieses Bereichs illustriert neuerlich das optimalste Design bei einem Druckdifferential von 0,5 kPa.

[0124] Für die Gleichgewichtslänge ($L_{a=1\%}$) ist gezeigt, daß sie eine lineare Funktion von \dot{V}_{ps} bei einer gege-

benen Kanal tiefe (d) ist. Gleichung 14 zeigt den exponentiellen Abfall der Konzentration mit x . Da die Diffusivität bzw. Diffusionsfähigkeit eine Konstante für den gegebenen Bestandteil von Interesse v_x ist, und d die Geschwindigkeit des exponentiellen Abfalls steuert bzw. regelt. Der Faktor $1/Pe = D_i/v_x d$ wirkt ähnlich einer Zeitkonstante. Wenn d reduziert wird und v_x erhöht wird, um zu kompensieren, wobei dasselbe $1/Pe$ resultiert, dann wird $\dot{V}_{-a=1\%}$ unverändert bleiben.

[0125] Da $\dot{V}_{-a=1\%}$ linear bei einem gegebenen d ansteigt, steigt v_x proportional an und $L_{a=1\%}$ steigt linear aufgrund der linearen Reduktion in $1/Pe$ an. Die Konvektion wird bedeutenderrelativ zu der Diffusion und eine längere Kanallänge ist erforderlich, um ein Gleichgewicht zu erreichen.

[0126] Um die Flußgeschwindigkeit bei einer gegebenen Gleichgewichtslänge zu maximieren, würde man zu der oberen, rechten Ecke des eingeschränkten Verfahrensraums getrieben und bei einer kleinen Kanaltiefe (**Fig. 9**) und einem hohen Druckdifferential (**Fig. 10**) arbeiten. Um Flächenerfordernisse zu minimieren arbeitet das Design im unteren linken Teil von

[0127] **Fig. 10** bei bedeutend niedrigeren Druckdifferentialen. Man sollte d reduzieren, soweit dies möglich ist, solange Oberflächeneffekte vermieden werden können.

[0128] In der folgenden Diskussion wird angenommen, daß die zwei betrachteten Fluide unterschiedliche Viskositäten aufweisen und homogene, unmischbare Fluide sind, die sich als Newton'sche Fluide verhalten. Um den Fall von zwei Viskositäten zu modellieren und Designparameter und Ergebnisse zu erhalten, sind drei gesonderte Stufen bzw. Schritte erforderlich. Im Folgenden wird der Probenstrom als Bereich 2 identifiziert und der Extraktionsstrom wird als Bereich 1 identifiziert. Das Verhältnis einer absoluten Viskosität im Bereich 1 zu jenem in Bereich 2 ist m und der Ort der Fluidgrenzfläche von der Mitte des Kanals in der Richtung des Bereichs 1 als ein Bruchteil der Breite des halben Kanals ist α . Hier wird die Höhe des Extraktionskanals als 2ω angenommen. Der erste Schritt ist es, das Geschwindigkeitsprofil über beide Ströme in bezug auf m und α zu berechnen. Die zweite Stufe ist es, die Geschwindigkeitsprofile zu verwenden, um die numerischen Werte von α und das Verhältnis der mittleren Geschwindigkeit von jedem Strom zu bestimmen, der als ein Volumsstromverhältnis

$$\dot{V}_{es} / \dot{V}_{ss} \equiv F$$

gegeben ist. Der dritte Schritt ist es, daß die Diffusionsgleichungen basierend auf dem Ort der Grenzfläche, der mittleren Geschwindigkeiten in jedem Strom und des Diffusionskoeffizienten der Teilchen von Interesse in jedem Strom zu lösen.

[0129] Um den ersten Schritt durchzuführen, werden die Navier-Stokes-Gleichungen für einen eindimensionalen, zweiphasigen, vollständig entwickelten, stationären Fluß eines Newton'schen Fluids in einer rechteckigen Leitung gelöst, um das axiale Geschwindigkeitsprofil $u(z)$ zu bestimmen. Die Gleichungen reduzieren sich in diesem Fall auf (White, F. M. (1994) Fluid Mechanics)

$$\nabla p + \mu \nabla^2 u = 0. \quad (24)$$

[0130] Das resultierende Geschwindigkeitsprofil, das durch $\omega^2 \Delta p / \mu L$ dimensionsunabhängig gemacht ist, und mit $z = z/\omega$, gemessen von dem mittleren Kanal bzw. der Kanalmitte in Bereich 1 ist gegeben durch

$$\tilde{u}_1(\tilde{z}) = \frac{1}{2} (-\tilde{z}^2 + \frac{\tilde{z}(\alpha^2 m - \alpha^2 + 1 - m) - \alpha^2 m + 2m + \alpha^2 - \alpha + m\alpha}{m + m\alpha - \alpha + 1}) \alpha < \tilde{z} < 1 \quad (25)$$

und

$$\tilde{u}_2(\tilde{z}) = \frac{1}{2} (-m\tilde{z}^2 + \frac{m\tilde{z}(\alpha^2 m - \alpha^2 + 1 - m) + m(\alpha^2 m - \alpha^2 - \alpha + m\alpha + 2)}{m + m\alpha - \alpha + 1}) - 1 < \tilde{z} < \alpha \quad (26)$$

[0131] Die zweite Stufe ist es, den numerischen Wert von α für einen speziellen Wert von F zu berechnen, indem α in der Gleichung

$$F = \frac{\int_{\alpha}^1 \bar{u}_1 d\bar{z}}{\int_{-1}^{\alpha} \bar{u}_2 d\bar{z}} \quad (27)$$

gelöst wird, und dann mit diesem Wert von α das Verhältnis von mittleren Flüssen in jedem Bereich aus

$$\frac{\bar{U}_1(1 - \alpha)}{\bar{U}_2(1 + \alpha)} = F \quad (28)$$

zu berechnen.

[0132] Der letzte Schritt ist es, die Diffusionsgleichung (7) in jedem Bereich, der den Grenzflächenbedingungen unterworfen ist, die durch Gleichungen (9), (10) und (12) gegeben sind, mit zwei zusätzlichen Grenzflächenbedingungen zu lösen, welche eine Kontinuität der Konzentration und der Aufrechterhaltung der Masse der diffundierten Spezies an der Grenzfläche fordern. Indem nun \bar{z} genommen wird, um von der Grenzfläche in Bereich 1 gemessen zu werden, sind diese Bedingungen

$$\tilde{c}_{i1}(\bar{x}, 0+) = \tilde{c}_{i2}(\bar{x}, 0-) \quad (29)$$

und

$$D_1 \frac{\partial \tilde{c}_{i1}(\bar{x}, 0+)}{\partial \bar{z}} = D_2 \frac{\partial \tilde{c}_{i2}(\bar{x}, 0+)}{\partial \bar{z}} \quad (30)$$

[0133] Die resultierende Gleichung für die Massenkonzentration durch bzw. über den Kanal ist gegeben durch

$$\tilde{c}_1(\bar{x}, \bar{z}) = \xi + \sum_{n=1}^{\infty} K_n f_n(\bar{z}) \exp(-\lambda_n^2 \bar{x} / Pe_1) \quad (31)$$

worin

$$\bar{x} =: x / \omega$$

die Eigenfunktionen $f_n(\bar{z})$ gegeben sind durch

$$f_n(\bar{z}) = \begin{cases} \cos k\lambda_n \beta_2 \cos \lambda_n(\bar{z} - \beta_1) & 0 < \bar{z} < \beta_1 \\ \cos \lambda_n \beta_1 \cos k\lambda_n(\bar{z} + \beta_2) & -\beta_2 < \bar{z} < 0 \end{cases} \quad (32)$$

[0134] die Eigenwerte λ_n Lösungen sind der charakteristischen Gleichung

$$\tan \lambda_n(\beta_1) + \sigma \tan k\lambda_n(\beta_2) = 0 \quad (33)$$

die Konstanten K_n gegeben sind durch

$$K_n = 4 \frac{-\xi \cos k\lambda_n \beta_2 \sin \lambda_n \beta_1 + (1 - \xi)\sigma \cos \lambda_n \beta_1 \sin k\lambda_n \beta_2}{\cos^2 k\lambda_n \beta_2 (\sin 2\lambda_n \beta_1 + 2\lambda_n \beta_1) + \sigma \cos^2 \lambda_n \beta_1 (\sin 2k\lambda_n \beta_2 + 2k\lambda_n \beta_2)} \quad (34)$$

mit $\beta_1 = 1 - \alpha$, $\beta_2 = 1 + \alpha$,

$$k = \sqrt{Pe_2 / Pe_1}$$

und $\sigma = k(D_2/D_1)$.

[0135] Als ein Beispiel der Verwendung der oben beschriebenen Technik für Ströme von unterschiedlicher Viskosität, soll berücksichtigt bzw. angenommen werden, daß der Extraktionsstrom (1) Wasser ist und der Probenstrom (2) ein Fluid ist, das die dreifache Viskosität von Wasser ist. Auch soll angenommen werden, daß

das Verhältnis der Volumsflußgeschwindigkeiten gleich ist $F = 1$. Es ist auch anzunehmen, $m = 1/3$, und $D_2/D_1 = 1/2$. Aus den obigen Gleichungen ist $\alpha = 0,0960$, $U_1/U_2 = 1,21$, und das Geschwindigkeitsprofil über den Kanal ist in **Fig. 11** gezeigt. In **Fig. 12** ist ein Vergleich zwischen dem Modell mit zwei Viskositäten dieser Fluide und einem gezeigt, das denselben Grenzflächenort annimmt, jedoch ohne Unterschied in der Viskosität oder Diffusionsfähigkeit in jedem Strom. Die Vergleiche in der Konzentration über die Höhe des Kanals werden nahe dem stromaufwärtigen Ende des Extraktionskanals ($x/w/Pe_1 = 0,01$) und auch relativ weit stromabwärts ($x/w/Pe_1 = 1,0$) durchgeführt. Die Berechnungen für zwei Viskositäten sind als durchgezogene Linien gezeigt und die einfacheren Berechnungen für eine Viskosität sind als gepunktete Linien gezeigt. Es ist insbesondere festzuhalten, daß an dem stromabwärtigen Ort ein signifikanter Unterschied zwischen den Kurven besteht. Diese Ergebnisse demonstrieren die Bedeutung der Technik, wie dies oben beschrieben ist, für die Ausbildung und die quantitative Verwendung der Differenzialextraktionsvorrichtung, wenn sie mit Fluiden unterschiedlicher Viskosität in jedem Strom verwendet wird.

Beispiel

[0136] In einem bevorzugten Verfahren zum Herstellen einer Vorrichtung dieser Erfindung wird ein $1\ \mu\text{m}$ dickes, feuchtes, thermisches Oxid in einem 3" Siliziumwafer anwachsen gelassen. Dieses Oxid wird photolithographisch mit den Flußkanälen gemustert und bis zu einer Tiefe von 60 nm geätzt. Der Wafer wird neu mit einem Photoresist beschichtet und mit den Durchgangslochverbindungen gemustert. Das Oxid wird vollständig von diesem Muster entfernt. Ein EDP-Ätzen wird durchgeführt, um vollständig durch den Wafer zu ätzen (etwa 400 μm). Eine Oxidätzung wird durchgeführt, um gleichmäßig 400 nm Oxid von dem Wafer zu entfernen. Die Flußkanäle werden in das Silizium etwa 10 μm tief hineingeätzt. Schließlich wird der Wafer anodisch an eine 3" Scheibe aus Pyrexglas gebunden.

[0137] Das folgende Beispiel demonstriert die Verwendung von auf Diffusion basierender Extraktion, um diffundierende Bestandteile aus einem mit Teilchen beladenen Probenstrom unter Verwendung von extrem klein dimensionierten Vorrichtung zu trennen, die in Silizium miniaturisiert sind. Siehe **Fig. 2**. Fluoreszeinfarbstoff wurde aus einem Probenstrom, enthaltend 0,5 μm fluoreszierende Polystyrolkugeln und Fluoreszeinfarbstoff, extrahiert. Die Operation wurde mit keiner Verunreinigung des Extraktionsstroms durch fluoreszierende Kugeln gezeigt. Die Vorrichtung hatte ein gesamtes Extraktionskanal-Fluidvolumen von etwa 1 Femtoliter. Das Beispiel demonstriert, daß eine Trennung in dem Femtolitermaßstab möglich ist, wenn eine geeignete Aufmerksamkeit der präzisen Flußstromregulierung gegeben wird. Weiters demonstriert es, daß eine effiziente Trennung in Extraktionskanälen mit Längenverhältnissen von bedeutend kleiner 50 und in Kanälen mit einer Diffusionsrichtungsabmessung von bedeutend kleiner als 100 μm möglich ist. Die Extraktionsvorrichtung mit $w/d \ll 50$, $d < 100\ \mu\text{m}$ zeigte die Effizienz eines Mikrofluidsystems, das unter Verwendung einer Siliziumminiaturisierungstechnologie und der wesentlichen Beiträge einer Strömung bzw. eines Flusses einer ultra-niedrigen Reynolds-Zahl hergestellt ist.

[0138] Ein Prozeß mit Niveaus mit zwei Masken war notwendig, um die Vorrichtung herzustellen. Das erste Niveau definierte Verbindungsöffnungen bzw. -anschlüsse, welche vollständig durch den Wafer zu der Rückseite des Silizium geätzt waren. Das zweite Niveau definierte die Fluidtransportkanäle.

[0139] Vier-Zoll Chrommasken wurden entsprechend unseren Spezifikationen von Photo Sciences, Inc. (Torrance, CA) wurden hergestellt, und 3" Wafer ({100}, n-Type) mit 500 nm SiO_2 auf diesen aufgewachsen.

[0140] Die Wafer wurden in einem Piranhabad (H_2SO_4 und H_2O_2) (2 : 1) vor einem Verarbeiten gereinigt. Ein Primer (HMDS, beschichtet bei 3000 U/min) wurde verwendet, um eine Photoresistanhaftung zu erhöhen. Etwa 1 μm von AZ-1370-SF (Hoechst) Photoresist wurde durch Spin- bzw. Schleuderbeschichten (3000 U/min) aufgebracht und dies war durch ein weiches Härten (30 min bei 90°C) gefolgt.

[0141] Eine Kontaktausrichtungseinheit wurde verwendet, um die Wafer auszurichten und zu belichten. Die Belichtungszeit wurde variiert, um die besten Ergebnisse zu erhalten. Keine Nachbelichtungshärtung wurde durchgeführt. Wafers wurden in AZ-351 (verdünnt 4 : 1) (Hoechst) für eine Minute entwickelt und in deionisiertem Wasser gespült. Ein blaues Klebeband (Semiconductor Equipment Corporation, Moorpark, CA) wurde auf den Rückseiten der Wafer aufgebracht, um das Oxid gegen die Oxidätzung zu schützen.

[0142] Die Wafers wurden in eine gepufferte Oxidätzlösung (BOE, 10 : 1 HF (49%) und NH_4F (10%)) für elf Minuten eingetaucht, und vollständig das nicht geschützte Oxid zu ätzen. Das blaue Klebeband wurde durch die Hand entfernt und der Photoresist wurde in einer Acetonspülung entfernt.

[0143] Ein Siliziumätzen wurde in einer Mischung von Ethylendiamin, Pyrocatechol und Wasser (EPW F-etch) durchgeführt, die in einer unter Rückfluß kochenden Flasche angesetzt wurde. Diese Ätzlösung attackiert die {100} Ebenen von Silizium mit einer Geschwindigkeit bzw. Rate von etwa 100 μm pro Stunde. Fluidfestlegungsöffnungen wurden in dem ersten Schritt geätzt. Flußkanäle zwischen den Fluidöffnungen bzw. -anschlüssen und dem Filterbereich wurden in dem zweiten Schritt geätzt. Die Barriere wurde in dem Endschnitt geätzt.

[0144] Nach einer endgültigen Bearbeitung der Wafer wurden diese neuerlich in einem Piranhabad gereinigt und in deionisiertem Wasser gespült. Sie wurden dann in die individuellen Vorrichtungen unterteilt bzw. ge-

schnitten.

[0145] Es wurde ein anodisches Bonden (Wallis, G. and Pomerantz, D. I. (1960 , J. Appl. Physics 40: 3946–3949) verwendet, um Pyrexglas an den Siliziumvorrichtungen festzulegen. Es wurden 1" große quadratische Stücke von Pyrexglas (100 µm Dicke) von Esco Products Inc. (Oak Ridge, NJ) erhalten. Zuerst wurden das Silizium und Pyrexglas in eine Lösung von H₂O, NH₄OH und H₂O (1 : 4 : 6) , erhitzt auf 50°C, eingetaucht. Dieses Verfahren entfernt jegliches organische Material auf den Oberflächen und macht auch die Oberfläche hydrophil. Nach 20 Minuten in dieser Lösung wurden das Silizium und das Pyrex mit deionisiertem Wasser gespült und getrocknet. Ein anodisches Bonden wurde bei 400°C durchgeführt, wobei 400 V zwischen dem Glas und dem Silizium angelegt waren.

[0146] Fluidverbindungen wurden zu den Öffnungen auf der Rückseite des Wafers ausgebildet. Ein Glasrohr (1/8" Innendurchmesser, etwa 3 cm lang) wurde rund um die Fluidöffnungen epoxiert. Der Fluß wurde durch eine Druckdifferenz zwischen den Eintrittsöffnungen und der Austrittsöffnung betrieben. Diese Druckdifferenz, weniger als 3 cm H₂O, ist ausreichend, um eine Flußgeschwindigkeit von mehr als 100 µm pro Sekunde zu induzieren.

[0147] Es wurden Beobachtungen auf einem Zeiss ICM-405 umgekehrten Mikroskop durchgeführt und mit einer Dage-Siliziumintensivierten Zielkamera aufgezeichnet. Zuerst wurde die Vorrichtung mit Isopropylalkohol befeuchtet und jegliche eingefangenen Luftblasen wurden durch Anlegen von etwa 70 kPa Druck entfernt. Dann wurde eine Mischung aus Wasser, Carboxyfluoreszein (Molecular Probes) und fluoreszierenden Kügelchen (Duke Scientific) mit 0,5 µm Durchmesser in eine der Fluideintrittsöffnungen eingebracht. Reines Wasser wurde an der anderen Eintrittsöffnung eingebracht. Alle 0,5 µm großen Kugeln strömten zu dem Austrittskanal für den Probenstrom. Der Farbstoff diffundierte durch den Extraktionskanal und einiges floß mit dem Produktstrom aus.

[0148] Die Erfindung wurde mit spezifischen Ausbildungen illustriert; jedoch können, wie dies durch den Fachmann in der Technik geschätzt wird, zahlreiche Substitutionen für die spezifischen Elemente und Verfahrensschritte gemacht werden, die hier geoffenbart sind. Die Erfindung ist nur durch den Rahmen der beiliegenden Ansprüche beschränkt.

Patentansprüche

1. Mikrogefertigte bzw. miniaturisierte Extraktionsvorrichtung zum Extrahieren von gewünschten Teilchen aus einem Probenstrom (2), enthaltend die gewünschten Teilchen, umfassend:

- a. einen Probenstromeinlaß (1);
- b. einen Extraktionsstromeinlaß (5);
- c. einen Extraktionskanal (7), der ein Längenverhältnis (d. h. Kanalbreite zu Tiefe) von weniger als 50 aufweist, in Fluidverbindung bzw. -wechselwirkung mit dem Probenstromeinlaß (1) und dem Extraktionsstromeinlaß (5) zum Erhalten eines Probenstroms (2) von dem Probenstromeinlaß (1) und eines Extraktionsstroms (4) von dem Extraktionsstromeinlaß (5), und zum Ausbilden eines parallelen, laminaren Stroms damit;
- d. einen Nebenproduktstromauslaß (15) in Fluidverbindung bzw. -wechselwirkung mit dem Extraktionskanal (7), um einen Neben- bzw. Beiproduktstrom (12) zu erhalten, der wenigstens einen Teil des Probenstroms (2) enthält, von welchem gewünschte Teilchen extrahiert wurden; und
- e. einen Produktstromauslaß (14) in Fluidwechselwirkung mit dem Extraktionskanal (7), um einen Produktstrom (13) zu erhalten, umfassend wenigstens einen Teil des Extraktionsstroms (4) und umfassend gewünschte Teilchen, die von dem Probenstrom (2) extrahiert wurden; worin der parallele, laminare Strom durch den Extraktionskanal (7) aufrecht erhalten ist.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, worin der Extraktionskanal ein Längenverhältnis von weniger als etwa 25 aufweist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, worin der Extraktionskanal ein Längenverhältnis von weniger als etwa 1 aufweist.

4. Mikrogefertigte bzw. miniaturisierte Extraktionsvorrichtung zum Extrahieren von gewünschten Teilchen aus einem Probenstrom (2), enthaltend die gewünschten Teilchen, umfassend:

- a. einen Probenstromeinlaß (1);
- b. einen Extraktionsstromeinlaß (5);
- c. einen Extraktionskanal (7), der eine Tiefe von weniger als etwa 100 µm aufweist, in Fluidverbindung bzw. -wechselwirkung mit dem Probenstromeinlaß (1) und dem Extraktionsstromeinlaß (5) zum Erhalten eines Probenstroms (2) von dem Probenstromeinlaß (1) und eines Extraktionsstroms (4) von dem Extraktionsstromeinlaß (5), und zum Ausbilden eines parallelen, laminaren Stroms damit;
- d. einen Nebenproduktstromauslaß (15) in Fluidverbindung bzw. -wechselwirkung mit dem Extraktionskanal

(7), um einen Nebenproduktstrom (12) zu erhalten, umfassend wenigstens einen Teil des Probenstroms (2), von welchem gewünschte Teilchen extrahiert wurden; und
e. einen Produktstromauslaß (14) in Fluidverbindung bzw. -wechselwirkung mit dem Extraktionskanal (7), um einen Produktstrom (13) zu erhalten, umfassend wenigstens einen Teil des Extraktionsstroms (4) und umfassend gewünschte Teilchen, die von dem Probenstrom (2) extrahiert wurden, zu erhalten; worin der parallele, laminare Strom durch den Extraktionskanal (7) aufrecht erhalten ist.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, die aus Materialien, umfassend einen Siliziumwafer, hergestellt ist.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, auch umfassend Mittel zum Durchführen eines differentiellen Transports der gewünschten Teilchen von dem Probenstrom in den Extraktionsstrom.

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, worin die Mittel zum Ausführen bzw. Bewirken des unterschiedlichen bzw. differentiellen Transports Mittel zum Produzieren von Feldern sind, die aus der Gruppe, bestehend aus magnetischer, elektrischer, dielektrischer, Sedimentations-, Scher-, Zentrifugalkraft, Temperatur, Druck und Konzentrationsgradienten, gewählt sind.

8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 bis 7, worin die Mittel zum Ausführen eines Konzentrationsgradientenfelds ein effektiv nicht-diffundierendes Absorbens- oder Adsorbensmaterial umfassen, das für die gewünschten Teilchen in dem Extraktionsstrom selektiv ist.

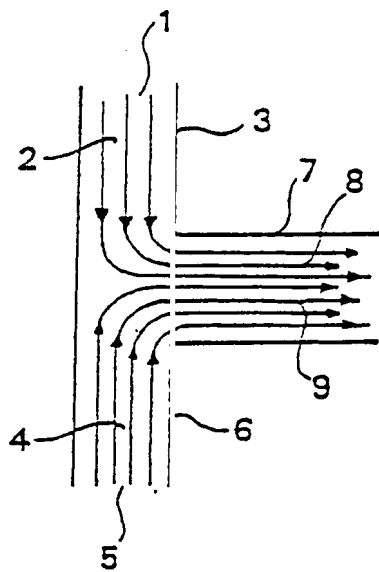
9. Miniaturisiertes bzw. mikrogefertigtes, analytisches System, umfassend eine Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 in Kombination mit Mitteln zum Detektieren der gewünschten Teilchen in dem Produktstrom.

10. Verfahren zum Extrahieren von wenigstens einem Teil von gewünschten Teilchen aus einem Probenstrom, umfassend die gewünschten Teilchen und auch enthaltend nicht gewünschte Teilchen, umfassend:

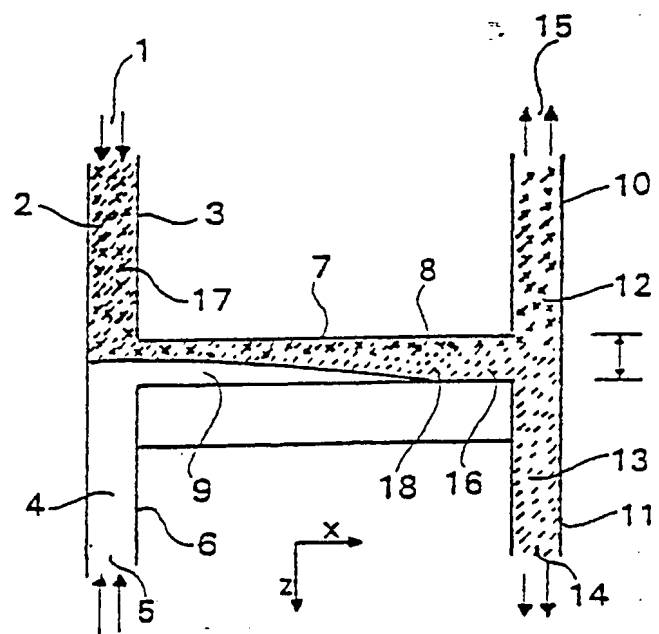
- a. Einbringen des Probenstroms in den Probenstromeinlaß einer miniaturisierten Extraktionsvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9;
- b. Einbringen eines Extraktionsstroms in den Extraktionskanal der Extraktionsvorrichtung;
- c. Abziehen eines Produktstroms, umfassend gewünschte Teilchen, von dem Produktstromauslaß der Vorrichtung.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

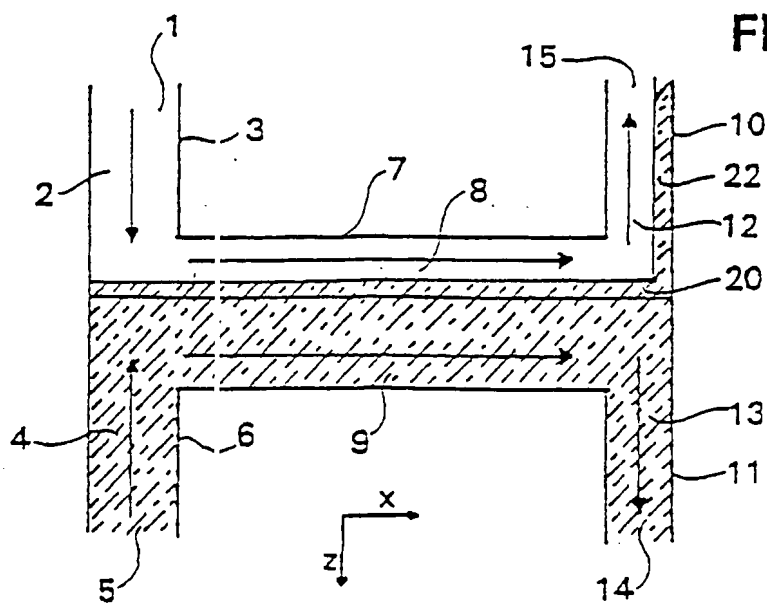
Anhängende Zeichnungen



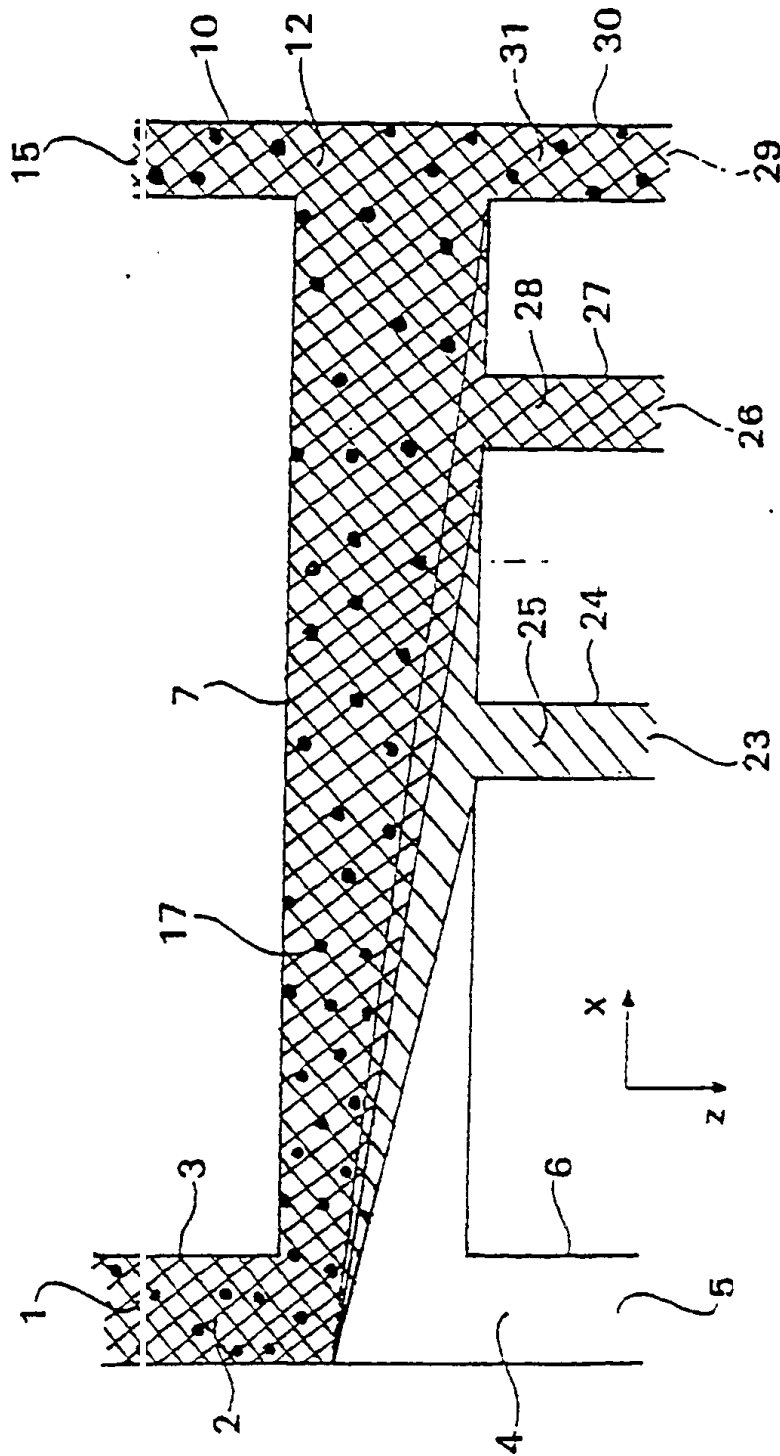
FIGUR 1



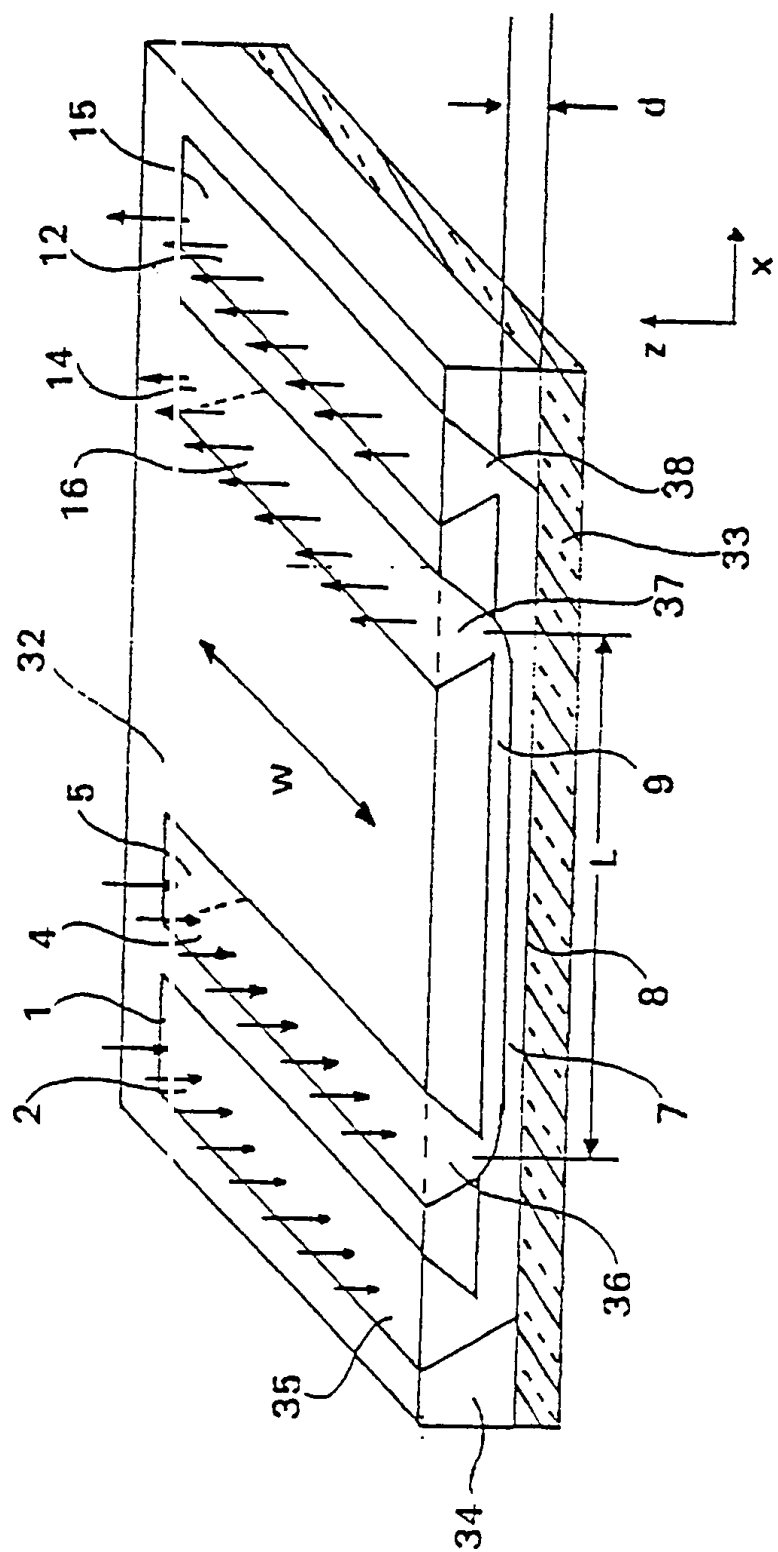
FIGUR 2



FIGUR 3



FIGUR 4



FIGUR 5

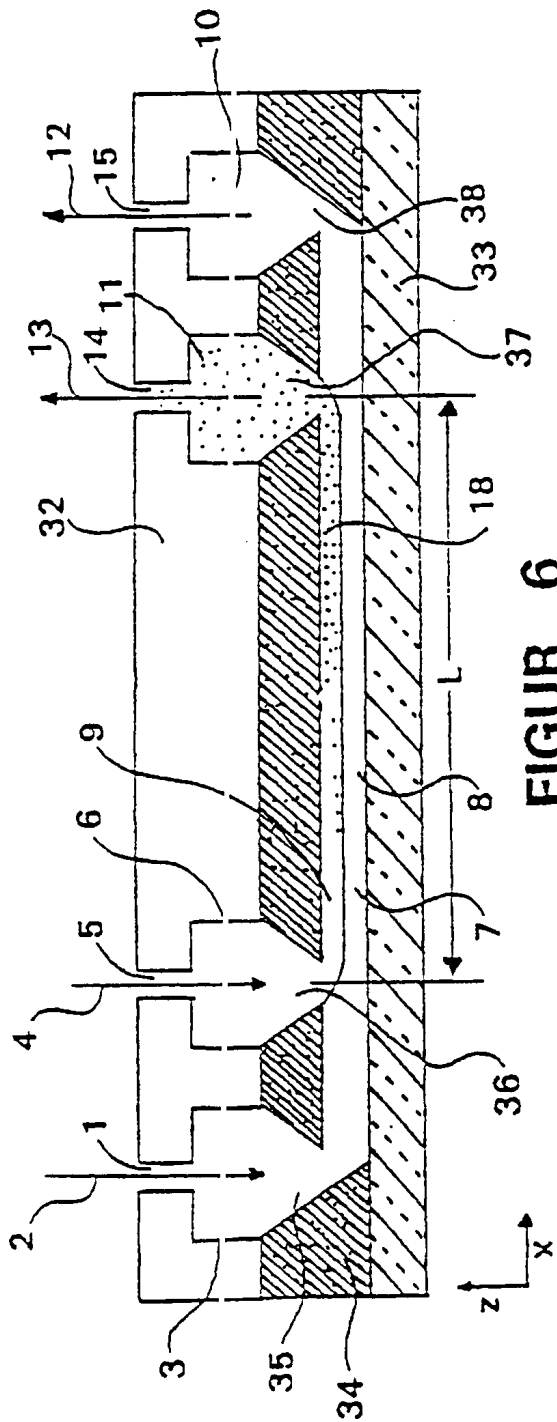


FIGURE 6

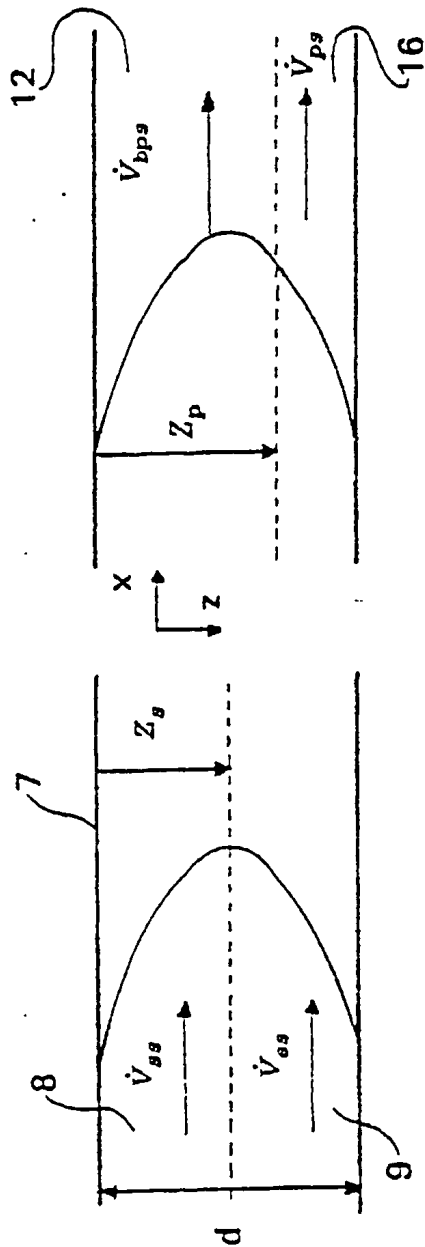
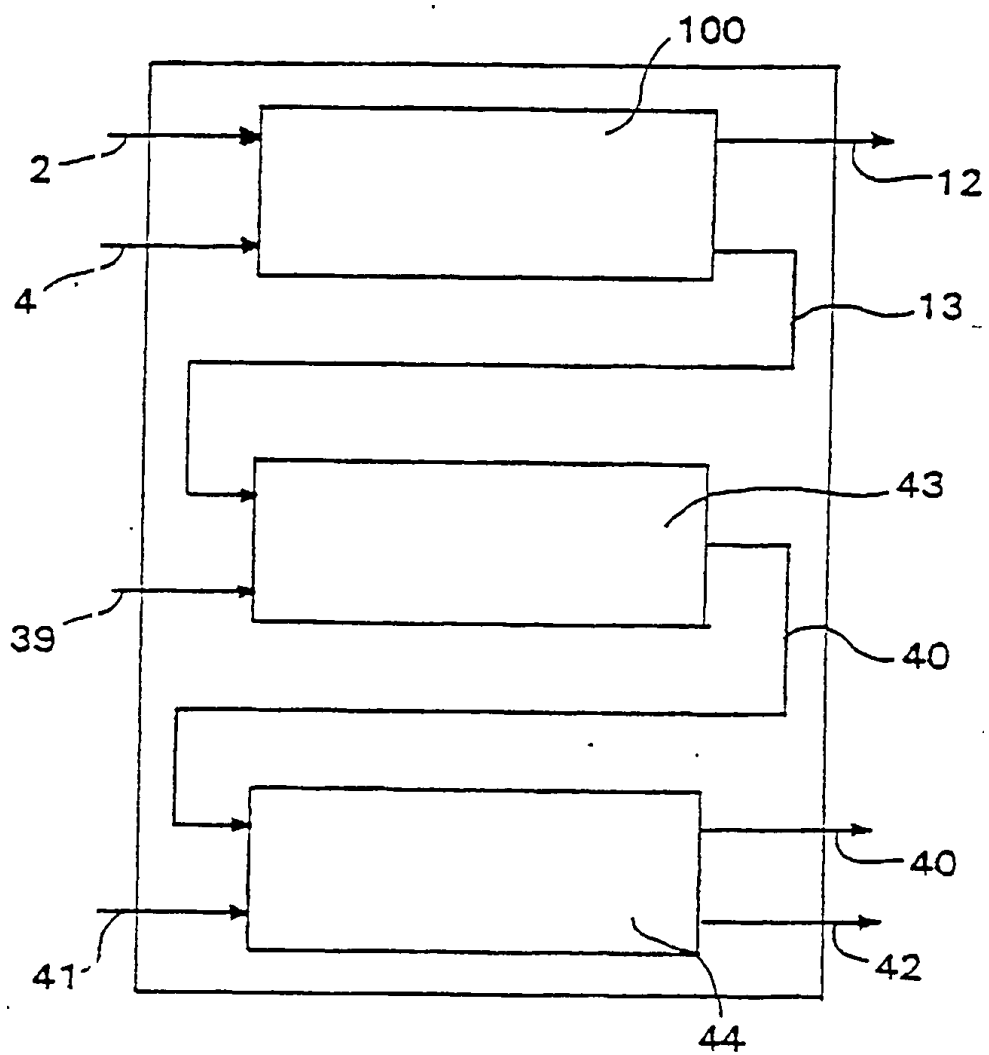
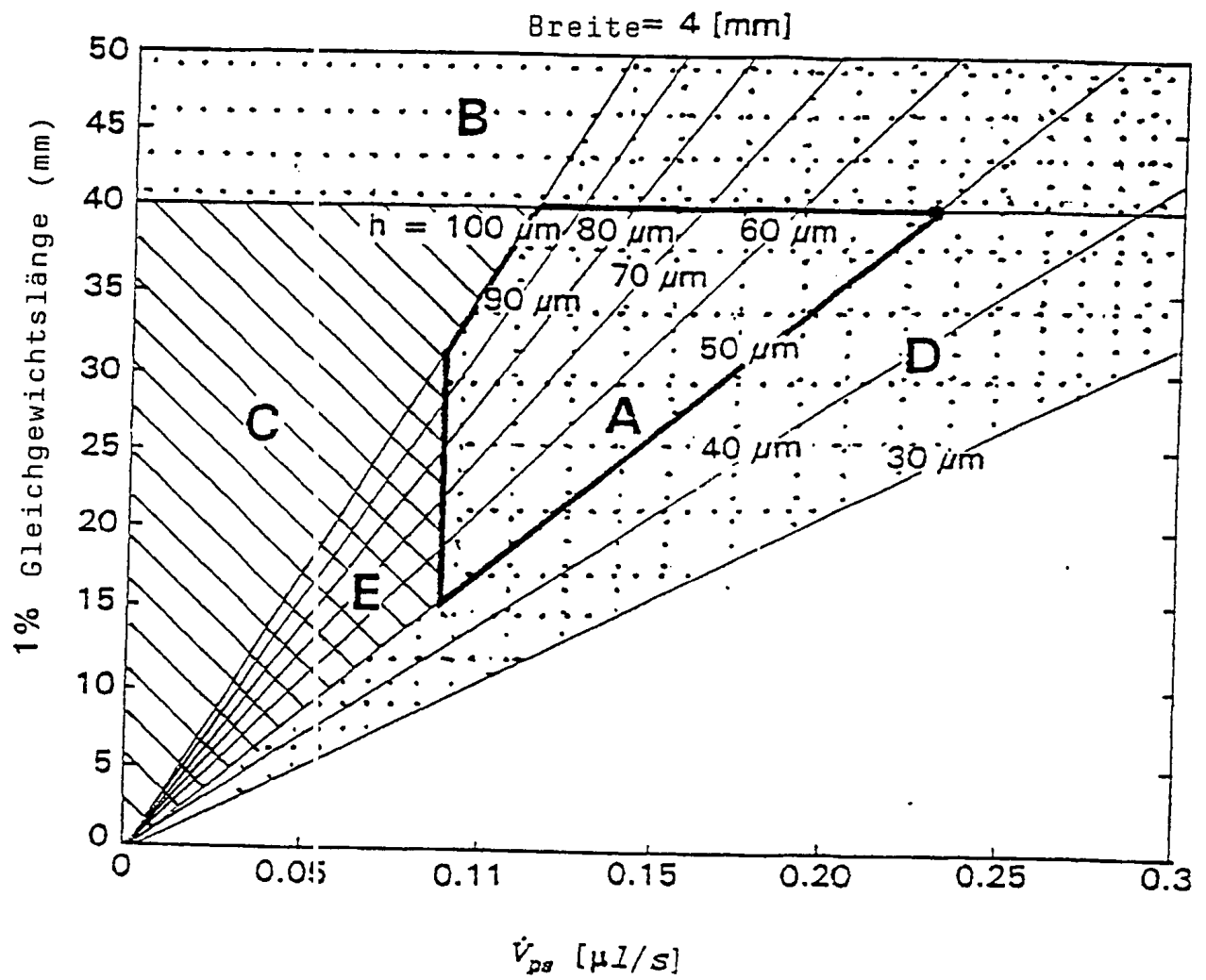


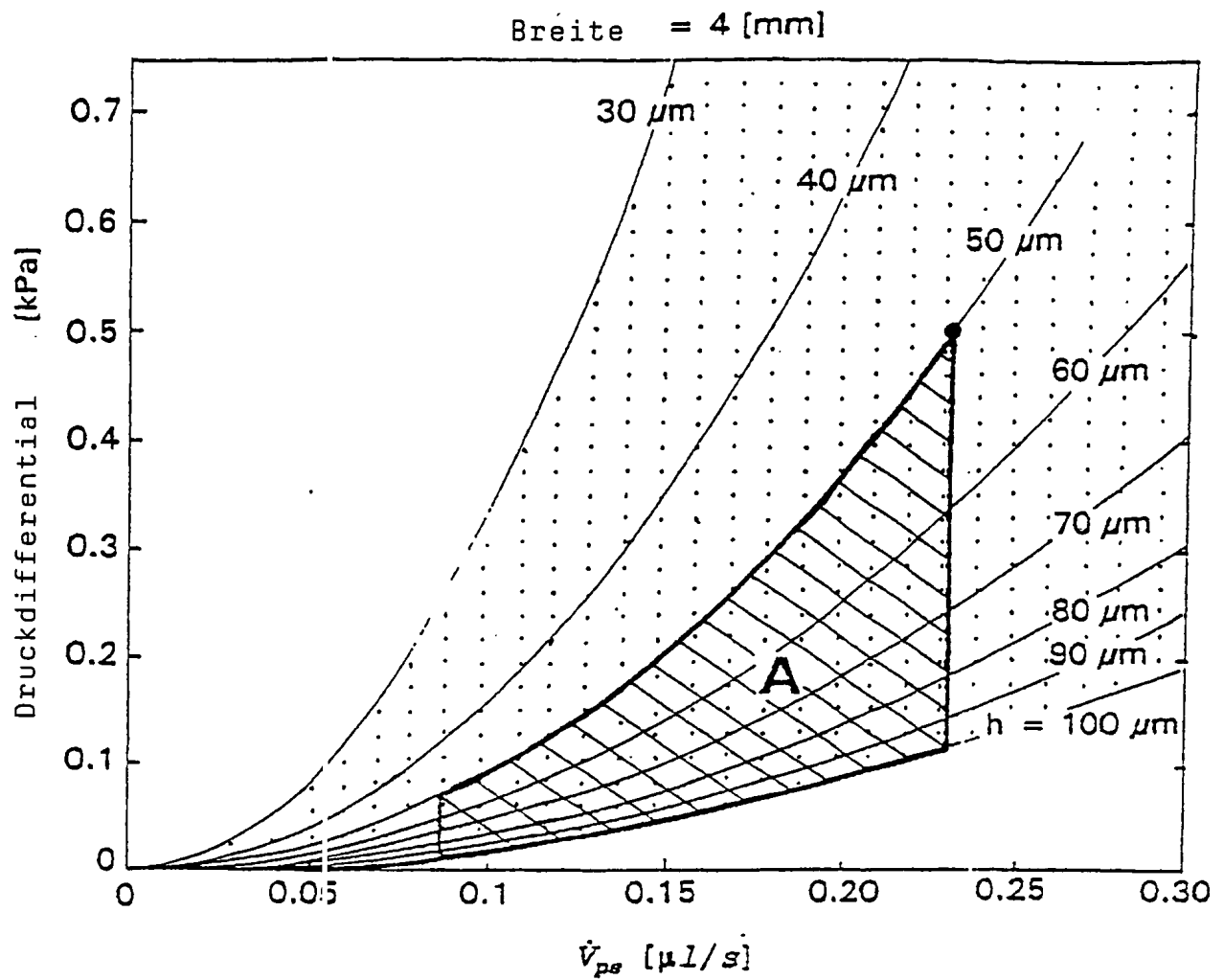
FIGURE 7



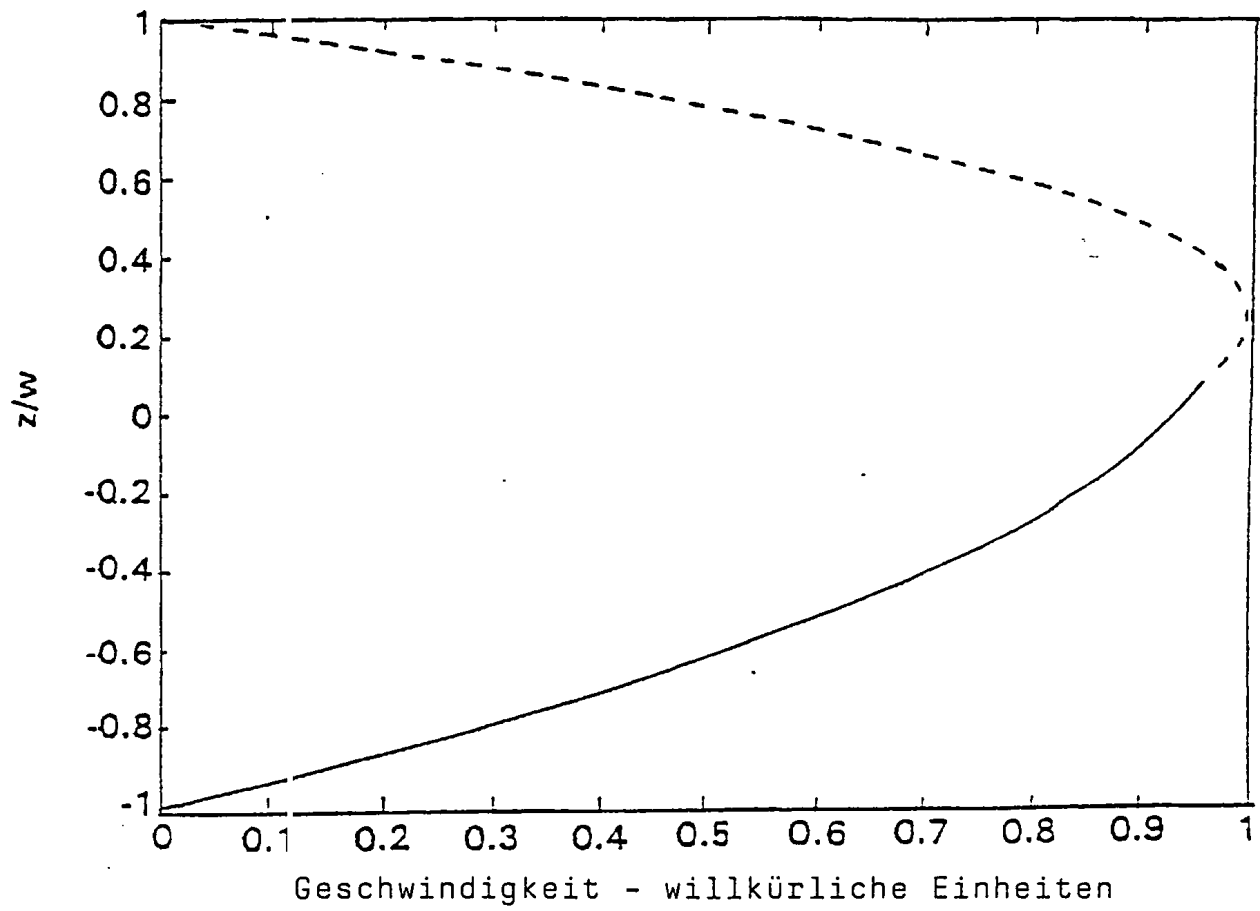
FIGUR 8



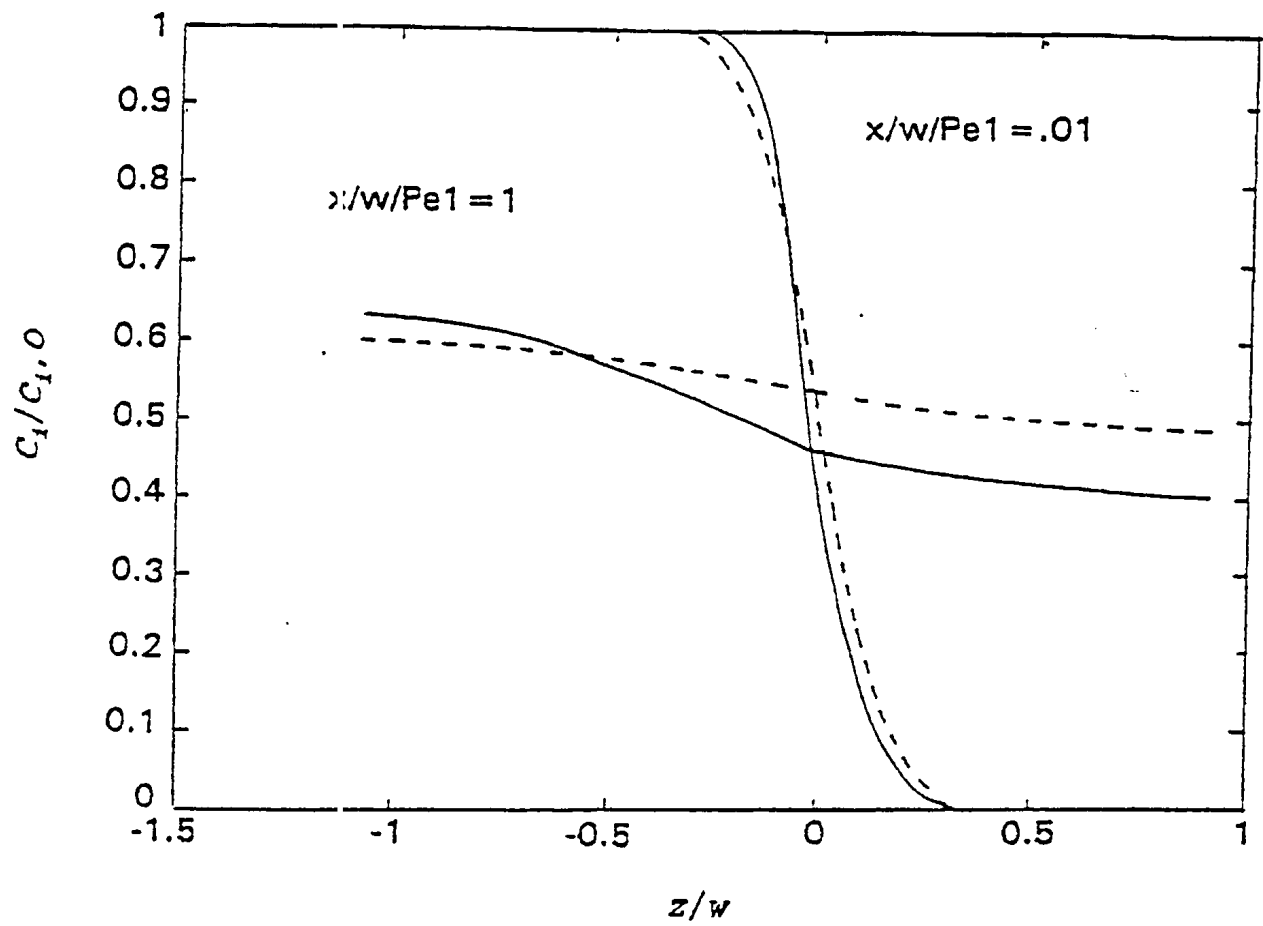
FIGUR 9



FIGUR 10



FIGUR 11



FIGUR 12