



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 342 457**

51 Int. Cl.:
B01F 13/00 (2006.01)
B01J 19/00 (2006.01)
B01F 11/02 (2006.01)
H03H 3/08 (2006.01)
H03H 9/25 (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02716842 .6**
96 Fecha de presentación : **22.03.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1377364**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.01.2004**

54 Título: **Dispositivo de mezclado y procedimiento de mezclado para el mezclado de cantidades pequeñas de líquido.**

30 Prioridad: **09.04.2001 DE 101 17 772**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.07.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.07.2010

73 Titular/es: **BECKMAN COULTER, Inc.**
4300 North Harbor Boulevard Mail Code A-42-C
Fullerton, California 92834, US

72 Inventor/es: **Wixforth, Achim y**
Gauer, Christoph

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

ES 2 342 457 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dispositivo de mezclado y procedimiento de mezclado para el mezclado de cantidades pequeñas de líquido.

5 **Campo técnico de la invención**

La invención se refiere a un procedimiento de mezclado, a un dispositivo de mezclado para el mezclado de al menos una cantidad pequeña de líquido, al uso del dispositivo y a un procedimiento para el análisis de las fuerzas de unión a superficies.

10 El término líquido abarca, entre otras cosas, líquidos puros, mezclas, dispersiones y suspensiones, así como líquidos en los que se encuentran partículas sólidas, por ejemplo material biológico.

15 En la microanalítica se han de mezclar o entremezclar cantidades pequeñas de líquido. R.M. Moroney y col. describen en Appl. Phys. Letters 59, páginas 774 en adelante (1991), el mezclado de líquido en una cavidad de 250 μm de profundidad usando una onda ultrasónica de Lamb que se propaga en una membrana flexible delgada que delimita la cavidad por un lado.

20 Especialmente para la tecnología “laboratorio en un chip”, que se encuentra últimamente en el punto de mira, sería deseable disponer de procesos de mezclado para cantidades mínimas de líquido que se pudieran realizar en un chip (véase, por ejemplo, el documento US-A-5674742). El orden de magnitud de las cantidades de líquido se encuentra en el intervalo de pico-a mililitros. Las áreas relevantes en el chip están comprendidas en el intervalo de milímetros, micrómetros o submicrómetros.

25 El proceso de mezclado de cantidades pequeñas de líquido es impulsado esencialmente por difusión. Puesto que los tiempos de reacción típicos de muchos procesos químicos o biológicos son muy cortos, el tiempo necesario para que transcurra un proceso químico/biológico sobre el chip viene determinado esencialmente por el tiempo de mezclado de los reactantes.

30 Para acelerar el mezclado, James B. Knight y col. proponen en “Physical Review Letters” 1998, páginas 3863 en adelante, guiar sobre un chip una cantidad de líquido a alta velocidad por un canal de 10 μm de profundidad y a través de una estrechura hacia una solución tampón. Este fino chorro de líquido así generado acelera el mezclado.

35 Sin embargo, el mezclado sigue produciéndose por difusión también en la zona límite de este chorro de líquido laminar.

Además, resulta deseable que se puedan alcanzar rápidamente condiciones de reacción homogéneas, por ejemplo de concentración y temperatura, dentro de una cantidad de líquido. Esto también se puede lograr por mezclado.

40 El documento WO 01/994017 A1, publicado después de la fecha de prioridad del presente texto y que, por lo tanto, constituye el estado de la técnica según el artículo 54(3) del CPE, describe un procedimiento para mover una cantidad pequeña de líquido, en el que se aplica al menos una cantidad de líquido sobre una superficie de un sólido y se hace interactuar al menos una onda acústica superficial con la al menos una cantidad de líquido.

45 El objetivo de la presente invención es indicar un procedimiento y un dispositivo con los que se pueda realizar el mezclado de una o varias cantidades pequeñas de líquido de forma sencilla, económica y eficaz en un espacio reducido, por ejemplo sobre un chip.

50 Este objetivo se alcanza mediante un procedimiento con las características de la reivindicación 1 y un dispositivo con las características de la reivindicación 16. Las reivindicaciones secundarias correspondientes hacen referencia a configuraciones ventajosas. Un procedimiento de análisis para el estudio de la fuerza de unión a superficies, usando ventajosamente el procedimiento de acuerdo con la invención, y un uso ventajoso del dispositivo de acuerdo con la invención son objeto de las reivindicaciones 40 y 39, respectivamente.

55 En el procedimiento de mezclado de acuerdo con la invención se introducen una o varias cantidades pequeñas de líquido en una zona de interacción de la superficie de un sólido, por ejemplo de un chip. Allí interactúan con al menos una onda acústica superficial con el fin de mezclarse.

60 El tamaño de la zona de interacción se encuentra en el intervalo de milímetros, micrómetros o submicrómetros. La cantidad de líquido se adapta a este tamaño.

La cantidad de líquido y la trayectoria acústica se pueden superponer por completo para obtener una interacción máxima. Una superposición parcial permite generar turbulencias adicionales.

65 La onda acústica superficial transmite un impulso a la cantidad de líquido. Esta transmisión de impulsos se logra mediante la deformación mecánica de la superficie del sólido provocada por la onda acústica superficial y/o mediante los campos eléctricos que acompañan la deformación mecánica cuando se usan sustratos piezoeléctricos.

ES 2 342 457 T3

La transmisión de impulsos y la fuerza de retroceso mediada por la tensión superficial del líquido provocan en el líquido un flujo turbulento considerable que hace que las reacciones químicas transcurran con mucha mayor rapidez que en el caso de la difusión pura.

5 Las ventajas especiales de la transmisión de impulsos mediante ondas acústicas superficiales para la manipulación de cantidades pequeñas de materia son:

1. La intensidad de la acción dinámica ejercida sobre la cantidad pequeña de líquido se puede ajustar dentro de un amplio intervalo mediante la amplitud de la onda superficial.
- 10 2. Se pueden definir electrónicamente y de forma sencilla diferentes cursos temporales de la fuerza, por ejemplo pulsos de diferentes duraciones.
- 15 3. La sonorización de la superficie del sólido con la onda superficial provoca una limpieza automática de las zonas barridas.
4. Es posible realizar de forma sencilla una excitación a través de un software correspondiente.

20 La onda acústica superficial se puede generar con la ayuda de un dispositivo generador de ondas superficiales. El mezclado es especialmente eficaz porque el dispositivo generador de ondas superficiales se encuentra, al menos en parte, directamente en la zona en la que se aplica el líquido. Por la deformación correspondiente de la superficie o la acción dinámica de los campos eléctricos que acompañan la deformación se puede mezclar el líquido directa y eficazmente.

25 En una configuración del procedimiento de acuerdo con la invención, la cantidad de líquido o las cantidades de líquido se introducen en una cavidad de la superficie del sólido que es pequeña en relación con la longitud de onda de la onda superficial. Una cavidad de este tipo permite la localización exacta de la cantidad de líquido sobre la superficie del sólido.

30 En otra configuración del procedimiento de acuerdo con la invención, el líquido se aplica sobre una zona de la superficie cuyas propiedades de humectación difieren de las de su entorno lateral de manera que el líquido permanezca con preferencia en ella. En una configuración de este tipo no es necesario introducir el líquido en una cavidad. La cantidad de líquido es retenida en la zona de la superficie con propiedades de humectación distintas de las de su entorno lateral por su tensión superficial. En esta zona de permanencia preferente, el líquido se encuentra, por ejemplo, en forma de una gota. Una ventaja especial reside en que, pese a la zona de permanencia delimitada del líquido, que se obtiene por modulación de las propiedades de humectación, no se requiere ningún tipo de surcos, esquinas o cantos que pudieran influir, al menos localmente, en el proceso de mezclado. El hecho de que la superficie sea esencialmente plana simplifica considerablemente tanto la aplicación como también la eliminación del líquido antes y después del proceso, respectivamente. La superficie también es más fácil de limpiar que en el caso de una cavidad.

40 Por su tensión superficial, la cantidad de líquido no abandonará la cavidad o la zona de permanencia preferente sin la acción de una fuerza externa demasiado grande. El líquido sólo será desplazado de la zona si actúa una fuerza suficientemente grande. Así, en el procedimiento de acuerdo con la invención, primero se puede alcanzar un mezclado del líquido en la zona de permanencia preferente con una intensidad baja de la onda acústica superficial. Si el líquido debe abandonar luego esta zona, se puede aumentar la intensidad de la onda acústica superficial hasta que el líquido abandone la zona de permanencia preferente.

50 La onda acústica superficial se puede generar sobre sustratos piezoeléctricos o sobre sustratos con zonas piezoeléctricas, por ejemplo con recubrimientos piezoeléctricos. En este caso es suficiente que el sustrato o el recubrimiento correspondiente se localice únicamente en la zona en la que se encuentra el dispositivo generador de ondas superficiales.

55 La onda superficial se puede emitir de forma continua para fomentar el proceso de mezclado. No obstante, resulta especialmente eficaz emitir la onda acústica superficial de forma pulsada.

Si la frecuencia de pulso de la onda acústica superficial se elige adicionalmente de manera que sea igual a una frecuencia propia de una cantidad pequeña de líquido que se encuentra en la zona de permanencia preferente o en la cavidad, se produce una amplificación de resonancia que intensifica aún más el mezclado. La frecuencia de pulso adecuada para ello se rige por la cantidad de líquido o su volumen y por su tensión superficial, y asciende típicamente a entre unos Hz y unos kHz.

60 La onda acústica superficial se puede emitir, por ejemplo, de manera que la cantidad de líquido sea sonorizada uniformemente por ella. La superficie del sólido situada debajo de la cantidad de líquido se deforma por el paso de la onda acústica superficial, generando así una deformación mecánica. Esta deformación mecánica o los campos eléctricos que la acompañan actúan sobre la cantidad de líquido en la zona límite entre la cantidad de líquido y la superficie del sólido. La onda superficial que se propaga mueve también la parte inferior de la cantidad de líquido. Aún así, la cantidad de líquido no abandonará, por la tensión superficial, la zona de permanencia preferente o la

ES 2 342 457 T3

cavidad si la intensidad de la onda acústica superficial es suficientemente reducida. Para compensar el volumen en la cantidad de líquido se formará una corriente opuesta en la zona superior de la cantidad de líquido que está alejada de la superficie del sólido. De este modo se genera un movimiento en la cantidad de líquido y se logra un entremezclado.

5 En otra forma de realización, la onda acústica superficial se proyecta de forma descentrada sobre la cantidad de líquido. La cantidad de líquido sólo es alcanzada en una zona parcial y comienza, por ejemplo, a girar.

Se puede obtener un efecto similar cuando la onda acústica superficial es generada por un dispositivo generador de ondas superficiales que se encuentra en la zona de permanencia preferente o en la cavidad pero no simétricamente respecto a ella.

10 En otra configuración del procedimiento de acuerdo con la invención se proyectan sobre la cantidad de líquido al menos dos ondas acústicas superficiales que están desfasadas entre sí en la zona de la cantidad de líquido. Por ejemplo, se pueden proyectar sobre la cantidad de líquido dos ondas acústicas superficiales paralelas con un desplazamiento de fase de media longitud de onda. La transmisión de impulsos, que se transmite a la cantidad de líquido a través de las “crestas de onda” de la onda acústica superficial, también está desfasada, de manera que en la cantidad de líquido se forman vórtices que provocan un entremezclado muy eficaz.

20 El desplazamiento de fase se puede lograr excitando dos dispositivos generadores de ondas superficiales dispuestos en paralelo con una frecuencia correspondientemente desfasada. Igualmente, los dispositivos generadores de ondas superficiales pueden encontrarse a distancias diferentes de la zona de interacción, siendo éstas distintas de un múltiplo entero de una longitud de onda.

25 En otro procedimiento ventajoso de acuerdo con la invención, el líquido se aplica en una zona de la superficie en la que se encuentra un resonador para una onda acústica superficial que se genera, por ejemplo, con un dispositivo generador de ondas superficiales. Un resonador de este tipo se puede generar, por ejemplo, mediante una estructura grabada periódicamente o mediante recubrimientos aplicados periódicamente, preferentemente de metal. Una onda acústica superficial que penetra en esta zona es amplificada localmente por el resonador para fomentar así el proceso de mezclado en el líquido.

30 Para la generación eficaz de turbulencias pueden estar incorporados en la zona de permanencia preferente o en la cavidad en la que se encuentra el líquido durante la realización del procedimiento de acuerdo con la invención elementos perturbadores que fomentan la formación de turbulencias.

35 En una configuración ventajosa se usa para la generación de la onda superficial un transductor interdigital conocido en sí. Un transductor interdigital de este tipo presenta, por ejemplo, dos electrodos que se enlazan entre sí a modo de dedos a una distancia de, por ejemplo, unos μm . Por aplicación de un campo alterno de alta frecuencia, por ejemplo del orden de unos MHz a varios cientos de MHz, es excitada una onda acústica superficial en el sustrato piezoeléctrico o en una zona piezoeléctrica del sustrato, siempre que se cumpla, al menos casi en su totalidad, la condición de resonancia según la cual la frecuencia es igual al cociente entre la velocidad acústica superficial y la distancia entre los dedos de un electrodo. La dirección de propagación es perpendicular a las estructuras digitales del electrodo enlazadas entre sí. Naturalmente también se pueden usar otras geometrías del transductor interdigital, como las que se conocen en la tecnología de los filtros de ondas superficiales. Con la ayuda de un transductor interdigital se puede generar de manera muy sencilla una onda acústica superficial bien definida. La fabricación de un transductor interdigital es económica y sencilla con procedimientos litográficos y tecnologías de recubrimiento conocidos. Además, los transductores interdigitales se pueden excitar de forma inalámbrica, por ejemplo por aplicación de un campo alterno electromagnético a un dispositivo de antena conectado con el transductor interdigital.

50 El procedimiento de acuerdo con la invención es adecuado para el entremezclado de una cantidad de líquido para, por ejemplo, fomentar en ella una reacción y/o establecer condiciones homogéneas. El término “mezclado” debe comprender también un entremezclado en el sentido de un proceso de agitación. El procedimiento de acuerdo con la invención se puede usar igualmente para mezclar entre sí dos o más líquidos. Tampoco en este caso la velocidad del mezclado o de la reacción está limitada por la difusión.

55 El procedimiento de acuerdo con la invención también se puede usar ventajosamente para disolver sólidos, por ejemplo un material en polvo, en un líquido. El polvo se aplica primero sobre la zona de interacción de la superficie de un sólido. A continuación se aplica un líquido y, con la ayuda de la onda acústica superficial, se genera un movimiento turbulento. De este modo se acelera la disolución del material en polvo y el entremezclado se produce con mucha rapidez.

60 Otra configuración ventajosa del procedimiento prevé un calentamiento adicional, al menos local, durante el proceso de entremezclado para intensificar aún más el proceso de mezclado y la generación del flujo turbulento.

65 El dispositivo de mezclado de acuerdo con la invención para la realización del procedimiento de acuerdo con la invención comprende al menos una zona de interacción sobre la superficie de un sólido y al menos un dispositivo generador de ondas superficiales dispuesto, respecto a la zona de interacción, de manera que se transmita la energía de una onda acústica superficial generada con él a una cantidad de líquido que se encuentra en la zona de interacción.

ES 2 342 457 T3

En el marco del objeto de acuerdo con la invención, la expresión superficie de un sólido se refiere bien directamente a la superficie de un sólido, por ejemplo de un chip, como el que se conoce en la tecnología de semiconductores, o bien a un recubrimiento sobre la superficie de un sólido, por ejemplo un recubrimiento metálico o un recubrimiento aislante. Asimismo debe entenderse por superficie de un sólido, por ejemplo, una capa de cuarzo sobre un sólido. La invención comprende igualmente formas de realización en las que una parte de la superficie de un sólido, por ejemplo de un cristal piezoeléctrico de niobato de litio, está provista de un recubrimiento, por ejemplo de cuarzo.

En una configuración del dispositivo de acuerdo con la invención está prevista una cavidad en la superficie del sólido. Un dispositivo generador de ondas superficiales está dispuesto sobre la superficie del sólido de tal manera que pueda generar una onda acústica superficial que pueda interactuar con un líquido presente en la cavidad. La extensión lateral de la cavidad se determina en función de las cantidades que se han de manipular. Las medidas típicas oscilan en este caso entre unos micrómetros y milímetros.

Si el dispositivo generador de ondas superficiales está dispuesto fuera de la cavidad, la cavidad debería ser poco profunda en relación con la longitud de onda que se puede generar con el dispositivo generador de ondas superficiales. Típicamente se trata de unos micrómetros. Si la cavidad fuera más profunda, una onda superficial generada por un dispositivo generador de ondas superficiales en el exterior de la cavidad no podría superar el nivel para entrar en la cavidad.

En otra configuración de acuerdo con la invención, el dispositivo generador de ondas superficiales está previsto en la zona de la cavidad misma, de manera que no es necesario limitar la profundidad del dispositivo generador de ondas superficiales. Una disposición de este tipo permite también realizar un entremezclado eficaz de un líquido dentro de la cavidad, pues la onda superficial puede interactuar directamente con la cantidad de líquido.

Dado el caso, el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales se provee de un recubrimiento en el caso de que el material del dispositivo generador de ondas superficiales pudiera ser perjudicial para el líquido que se ha de analizar o para el material contenido en él. Este recubrimiento se elige de manera que aún así la onda acústica superficial pueda actuar sobre el líquido. Para ello, el grosor del recubrimiento en la zona de interacción debe ser menor que la longitud de onda acústica superficial.

En otra configuración del dispositivo de acuerdo con la invención, el estado superficial de la superficie del sólido en la zona del dispositivo generador de ondas superficiales se elige de manera que las propiedades de humectación de esta zona difieran de las del entorno lateral de tal manera que la cantidad de líquido permanezca con preferencia en ella. También en esta configuración de acuerdo con la invención el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales puede estar dispuesto en la región de la zona de permanencia preferente, para hacer lo más eficaz posible la interacción entre la onda acústica superficial y la cantidad de líquido en la zona de permanencia preferente. Dependiendo de los materiales del dispositivo generador de ondas acústicas superficiales y de un posible recubrimiento para la zona de permanencia preferente, puede estar previsto de nuevo una capa protectora adicional suficientemente fina entre estos elementos o sobre estos elementos para separar el líquido de estos elementos.

Para la modulación de las propiedades de humectación se pueden usar, por ejemplo, zonas hidrófilas o hidrófobas. Si se pretende manipular soluciones acuosas, la zona de permanencia preferente se elige, por ejemplo, de manera que sea más hidrófila que la superficie circundante del sólido. Esto se puede lograr bien mediante un recubrimiento hidrófilo de la zona de permanencia preferente o bien mediante un entorno hidrófobo. Por ejemplo, en una configuración preferida de la invención, se puede realizar un entorno hidrófobo por silanización de la superficie.

Dependiendo de la aplicación, la superficie del sólido que rodea la zona de permanencia preferente también puede ser hidrófila, lipófila o lipófila en comparación con la superficie de la zona de permanencia. Para la manipulación de soluciones no acuosas puede resultar ventajoso, por ejemplo, que la zona de permanencia preferente sea lipófila en comparación con el entorno.

La modulación de las propiedades de humectación se puede lograr, por ejemplo, mediante un recubrimiento correspondiente.

La definición de la zona de permanencia preferente, en la que el líquido se humecta mejor que en su entorno, también se puede efectuar o reforzar mediante un ligero grabado de la superficie en esta zona, siendo la profundidad de grabado pequeña en relación con la extensión lateral de la zona de permanencia preferente, por ejemplo una décima parte de su extensión lateral. Así, por ejemplo, en el caso de una solución acuosa, la zona de permanencia preferente se puede definir mediante un recubrimiento hidrófobo de la superficie que rodea la zona de permanencia preferente y un grabado de unos nanómetros a unos micrómetros en la superficie de la zona de permanencia preferente misma. De este modo se aumenta el contraste respecto al ángulo de humectación. Aún así, la superficie es esencialmente plana macroscópicamente. Además, desde el punto de vista de la técnica de producción, un grabado tan ligero se puede realizar de forma muy sencilla y definida sin que surjan los problemas conocidos de un grabado profundo. Las propiedades de humectación se pueden modular asimismo por microestructuración, que es el caso del denominado efecto loto, que se basa en la diferente rugosidad de la superficie. Ésta se puede obtener, por ejemplo, por microestructuración de las zonas superficiales correspondientes, por ejemplo por tratamiento químico o irradiación iónica. Así pues, la preparación de zonas con propiedades de humectación diferentes se puede realizar de forma sencilla y económica con la ayuda de procedimientos litográficos y tecnologías de recubrimiento conocidos.

ES 2 342 457 T3

El dispositivo generador de ondas superficiales puede encontrarse en la zona con propiedades de humectación moduladas o en la superficie de la cavidad. Resulta especialmente ventajoso prever sobre el dispositivo generador de ondas superficiales un recubrimiento que sea, por ejemplo, biocompatible. Con la ayuda de un recubrimiento de este tipo se puede evitar que el material del dispositivo generador de ondas superficiales influya en el líquido o que el líquido dañe el dispositivo generador de ondas superficiales cuando se trata, por ejemplo, de líquidos corrosivos.

Si se elige un recubrimiento biocompatible, se pueden analizar, por ejemplo, materiales biológicos en una solución tampón sin correr el riesgo de deteriorar o dañar el material o influir negativamente en las condiciones de reacción. Un material posible para un recubrimiento biocompatible es, por ejemplo, dióxido de silicio.

También se puede prever un recubrimiento biocompatible, por ejemplo de dióxido de silicio, sobre la superficie del sólido en la que se ha grabado una cavidad que debe alojar el líquido. El dispositivo generador de ondas acústicas superficiales puede estar dispuesto en una zona de la superficie que no presenta dióxido de silicio. La onda acústica superficial se propaga por la superficie del sólido desde el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales hasta la zona en la que se encuentra la capa de dióxido de silicio. Esta capa de dióxido de silicio es muy fácil de grabar para generar una cavidad definida. Para que la onda acústica superficial pueda interactuar con la cantidad de líquido presente en la cavidad, el grosor del recubrimiento biocompatible en la zona de la cavidad debería ser pequeño en relación con la longitud de onda de la onda acústica superficial.

Resulta especialmente sencillo elegir el recubrimiento de manera que presente también propiedades de humectación que difieren de las del entorno lateral de tal manera que el líquido permanezca con preferencia sobre él.

En una variante ventajosa del dispositivo de mezclado de acuerdo con la invención están previstos elementos perturbadores en la zona de interacción. En una configuración con una zona de permanencia preferente estos elementos perturbadores pueden consistir, por ejemplo, en una delimitación irregular de esta zona de permanencia. Un líquido que se mueve en la zona de permanencia como consecuencia de la acción de una onda acústica superficial es sometido a turbulencias por la interacción con el borde irregular. Un efecto similar se puede generar mediante una cavidad irregular.

También se pueden prever elementos perturbadores generadores de turbulencias dentro de la zona de interacción. En una forma de realización con una cavidad, estos elementos perturbadores se pueden generar, por ejemplo, mediante elementos prominentes que no han sido eliminados en el proceso de grabado para la formación de la cavidad. En una forma de realización con una zona de permanencia preferente definida por propiedades de humectación diferentes, tales elementos perturbadores se pueden definir mediante zonas dispuestas dentro de la zona de permanencia preferente y que poseen propiedades de humectación seleccionadas de manera que el líquido humedezca menos la superficie de los elementos perturbadores que la zona de permanencia preferente circundante.

Una forma de realización sencilla del dispositivo de acuerdo con la invención comprende uno o varios transductores interdigitales para la generación de las ondas acústicas superficiales.

Para que se pueda efectuar un calentamiento adicional de los líquidos que se han de mezclar, se puede prever en la zona de la cavidad o en la zona de permanencia preferente definida por la modulación de las propiedades de humectación un dispositivo de calefacción, por ejemplo una calefacción por resistencia.

Se puede lograr una amplificación de resonancia si dentro de la cavidad o de la zona de permanencia preferente se encuentra un resonador que está ajustado de manera que resuene una onda acústica superficial generada con el dispositivo generador de ondas superficiales del dispositivo de acuerdo con la invención. En una forma de realización con un transductor interdigital como dispositivo generador de ondas acústicas superficiales, tal resonador puede componerse, por ejemplo, de tiras metálicas periódicas cuya distancia es comparable a la disposición de dedos del transductor interdigital para la generación de las ondas superficiales. En otra forma de realización, tal resonador puede presentar, por ejemplo, tiras grabadas u otros recubrimientos con la geometría correspondiente.

En el caso especial del uso de cantidades de líquido conductor resulta ventajoso recubrir los resonadores y/o los dispositivos generadores de ondas superficiales. Si un medio conductor se encuentra a una distancia del dispositivo generador de ondas superficiales inferior o igual a la longitud de onda de las ondas acústicas superficiales, los electrodos del dispositivo generador de ondas superficiales se acoplan de forma capacitiva, lo que reduce la eficacia con la que el dispositivo generador de ondas superficiales convierte energía eléctrica en energía acústica y, por lo tanto, también la eficacia del mezclado. Si el dispositivo generador de ondas superficiales y/o los resonadores se proveen de una capa aislante, se puede incrementar la eficacia del mezclado puesto que los campos eléctricos evanescentes disminuyen de forma exponencial. Resulta especialmente ventajoso un recubrimiento con una constante dieléctrica elevada, puesto que entonces el campo eléctrico disminuye con especial rapidez. En una configuración especial se elige una capa tan delgada que su grosor es inferior o aproximadamente igual a la longitud de onda de las ondas acústicas superficiales generadas con el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales. Un recubrimiento más grueso amortiguaría mecánicamente la onda acústica superficial y reduciría de nuevo la eficacia del mezclado. El recubrimiento puede ser orgánico, por ejemplo de laca fotosensible, o inorgánico, por ejemplo de dióxido de silicio o nitruro de silicio. El recubrimiento se puede aplicar, por ejemplo, con procedimientos conocidos, tales como desprendimiento de átomos por bombardeo iónico o recubrimiento por rotación. Para aplicaciones biológicas las capas son de nuevo preferentemente biocompatibles. Los recubrimientos también se pueden estructurar lateralmente.

ES 2 342 457 T3

El dispositivo de acuerdo con la invención puede formar parte de un sistema global. Por ejemplo, se pueden prever varias “cámaras de mezclado” de este tipo sobre un único chip sólido para poder realizar varios procesos simultáneamente. Igualmente, un dispositivo de mezclado de acuerdo con la invención puede formar parte de un sistema complejo junto con varios dispositivos de análisis y/o de síntesis que permiten realizar otros pasos de análisis y/o de síntesis. De este modo se puede realizar fácilmente un “laboratorio en un chip”, en el que se pueden realizar varios procesos diferentes. Para la generación de las ondas acústicas superficiales para un dispositivo de mezclado pueden estar previstos simultáneamente uno o varios dispositivos generadores de ondas superficiales que, por ejemplo, se pueden hacer funcionar con intensidades diferentes.

El llenado del dispositivo de mezclado de acuerdo con la invención para la realización del procedimiento de acuerdo con la invención se puede efectuar, por ejemplo, con la ayuda de un robot de pipeteado. Asimismo pueden estar previstos canales o conductos de alimentación que presentan, de forma similar a la zona de permanencia preferente, propiedades de humectación que difieren de las de su entorno lateral de tal manera que el líquido permanezca con preferencia en ellos. Una cantidad de líquido se puede desplazar a lo largo de un conducto de alimentación de este tipo mediante, por ejemplo, transmisión de impulsos de una onda acústica superficial.

La invención no está limitada a superficies de sólidos libres y aisladas. La invención se puede realizar igualmente en disposiciones en las que están enfrentadas dos superficies de sólidos, entre las cuales se encuentra una cantidad de líquido. En una configuración de este tipo, la cavidad que define la zona de interacción, o la zona de permanencia preferente que define la zona de interacción, puede encontrarse sobre una superficie, y el dispositivo generador de ondas superficiales, en la superficie opuesta. Con tal disposición se pueden alcanzar igualmente los efectos ventajosos de acuerdo con la invención cuando la cantidad pequeña de líquido está en contacto con ambas superficies. En una disposición de este tipo, los pasos de preparación para la fabricación del dispositivo generador de ondas superficiales y de la zona de permanencia preferente o la cavidad se pueden realizar independientemente antes de colocar las superficies una frente a otra.

El objeto de la reivindicación 40 es un procedimiento de análisis de acuerdo con la invención para el estudio de la fuerza de unión de objetos. El procedimiento de mezclado antes descrito de acuerdo con la invención para el mezclado de cantidades pequeñas de líquido se usa con una solución que contiene objetos de tamaño microscópico. Durante o después de la interacción de esta solución con la onda acústica superficial se analiza o cuenta la cantidad o el número de objetos adheridos a la superficie en función del flujo generado por la onda acústica superficial. El procedimiento de mezclado de acuerdo con la invención se usa, pues, para generar, por ejemplo, un flujo turbulento.

Una vez colocada la gota de solución en la superficie, donde permanece confinada por su tensión superficial, los objetos de tamaño microscópico descienden a la superficie. Allí pueden adherirse mediante una unión o adhesión específica o inespecífica. La gota de solución se pone en movimiento con la onda acústica superficial conforme al procedimiento de mezclado de acuerdo con la invención. Dependiendo de la velocidad de flujo o de la intensidad de la onda acústica superficial, los objetos de tamaño microscópico situados en la superficie son arrastrados y eliminados. Si se determina la cantidad de objetos adheridos a la superficie en función de la velocidad o intensidad de flujo, se puede obtener información acerca de la fuerza de unión. Una ventaja especial del uso de ondas acústicas superficiales reside en que la amplitud o la velocidad de flujo se pueden ajustar dentro de amplios intervalos, especialmente cuando se usan transductores interdigitales para la generación de las ondas acústicas superficiales.

Este procedimiento se puede usar de forma especialmente ventajosa cuando se usa una solución de cultivo como cantidad de líquido y se analizan objetos biológicos, en particular células o bacterias. Dado el caso, la superficie se puede funcionalizar totalmente o en zonas parciales para analizar la fuerza de unión a superficies con diferentes funcionalidades.

La funcionalización puede comprender, por ejemplo, monocapas de células o un recubrimiento con moléculas de adhesión. El recubrimiento celular se puede componer, por ejemplo, de células endoteliales. Las moléculas de adhesión se pueden aislar, por ejemplo, de células endoteliales o pueden ser proteínas de la matriz extracelular, tales como fibronectina.

Si en una superficie se prevén diferentes funcionalidades en diferentes zonas, se pueden analizar en paralelo diferentes uniones en una misma superficie. Asimismo se pueden realizar diferentes patrones de flujo locales, por ejemplo mediante diferentes transductores en un chip, para, por ejemplo, excitar selectivamente zonas con diferentes funcionalidades.

Una aplicación especialmente ventajosa del dispositivo de mezclado la constituye un ensayo de adhesión celular que sirve para analizar la unión de células a superficies dado el caso funcionalizadas. Puesto que las células en una solución de cultivo sedimentan y se adhieren de forma inespecífica a la superficie del sustrato, es importante poder distinguir las uniones específicas de las inespecíficas. Con el dispositivo de mezclado de acuerdo con la invención, las células se pueden someter a una onda acústica superficial y se puede volver a analizar el desprendimiento de células aisladas en función de la velocidad de flujo. De este modo se puede analizar la fuerza de unión en función de la velocidad de flujo, tal como se ha descrito.

Las células con unos diámetros de, por ejemplo, 10 a 100 μm ofrecen, por ejemplo en el caso de una unión inespecífica a la superficie, una resistencia suficiente al flujo inducido por la onda acústica superficial como para que el flujo pueda romper la unión entre la superficie y el objeto.

ES 2 342 457 T3

La invención se explica en detalle mediante las figuras adjuntas. Las figuras representan dibujos esquemáticos que no necesariamente están hechos a escala. Muestran:

5 La Figura 1a: una vista en planta de un detalle de un dispositivo para la realización de un procedimiento de mezclado, no de acuerdo con la invención,

la Figura 1b: una vista lateral en corte del dispositivo de la Figura 1a,

10 la Figura 2a: una vista en planta de un detalle de una forma de realización de un dispositivo de acuerdo con la invención para la realización de un procedimiento de acuerdo con la invención,

la Figura 2b: una vista lateral en corte de la forma de realización de la Figura 2a,

15 la Figura 3a: una vista en planta de un detalle de una segunda forma de realización del dispositivo de acuerdo con la invención para la realización de un procedimiento de acuerdo con la invención,

la Figura 3b: una vista lateral en corte de la forma de realización de la Figura 3a,

20 la Figura 4: una vista en planta de un detalle de otro dispositivo para la realización de un procedimiento de mezclado, no de acuerdo con la invención,

la Figura 5a: una vista en planta de un detalle de otro dispositivo más para la realización de un procedimiento de mezclado, no de acuerdo con la invención,

25 la Figura 5b: una modificación del procedimiento representado en la Figura 5a,

la Figura 6: una vista en planta de un detalle de una tercera forma de realización del dispositivo de acuerdo con la invención para la realización del procedimiento de acuerdo con la invención,

30 la Figura 7a: una vista en planta de un detalle de otro dispositivo adicional para la realización de un procedimiento de mezclado, no de acuerdo con la invención,

la Figura 7b: una vista en planta de un detalle de una cuarta forma de realización del dispositivo de acuerdo con la invención para la realización del procedimiento de acuerdo con la invención, y

35 la Figura 8: una vista en corte de un dispositivo adicional para la realización de un procedimiento de mezclado, no de acuerdo con la invención.

40 La Figura 1 muestra una vista en planta (Figura 1a) y una vista en corte esquemática (Figura 1b) de un dispositivo de mezclado. El detalle mostrado de la superficie de un chip presenta un tamaño del orden de unos milímetros. En la superficie de un sólido, cuyo detalle se aprecia en la Figura 1a, está prevista una cavidad 3 con una profundidad de unos micrómetros. En proximidad a ella está dispuesto sobre el sólido 1 un transductor interdigital 5. El transductor interdigital 5 comprende, de forma conocida en sí, los electrodos 9 y 7, que comprenden prolongaciones digitiformes 11 que se enlazan entre sí a una distancia de unos micrómetros. El sólido 1 es un cristal piezoeléctrico, por ejemplo niobato de litio. De forma alternativa puede estar previsto un sólido no piezoeléctrico con un recubrimiento piezoeléctrico, por ejemplo de óxido de cinc.

55 El transductor interdigital 5 de la forma de realización mostrada se compone de los electrodos 7 y 9 con estructuras de electrodo 11 que se enlazan entre sí a modo de dedos. Las estructuras de electrodo digitiformes y los electrodos 7 y 9 pueden estar definidos, por ejemplo, litográficamente y metalizados por evaporación a modo de recubrimiento metálico. El grosor de capa es, por ejemplo, de unos cientos de nanómetros a unos micrómetros. Los grosores mostrados en la Figura 1b y en las figuras siguientes no están representados a escala. Las estructuras de electrodo enlazadas entre sí a modo de dedos sólo se muestran esquemáticamente en la figura. En realidad, un transductor comprende, dado el caso, un número mucho mayor de electrodos digitiformes enlazados.

60 Cuando se aplica una tensión alterna a los electrodos del transductor interdigital 5, se genera una onda acústica superficial cuya frecuencia resulta del cociente entre la velocidad acústica superficial y la distancia interdigital. La longitud de onda equivale, como es conocido, a la distancia interdigital entre dos dedos adyacentes de un electrodo. La dirección de propagación de la onda acústica superficial es perpendicular a la línea de conexión entre los electrodos 7 y 9. La propagación que interesa en el presente caso se designa con 10. El campo eléctrico alterno se puede aplicar a los electrodos 7 y 9 mediante alambres de alimentación, no mostrados, o se puede transmitir de forma inalámbrica con la ayuda de un dispositivo de antena conectado a los electrodos.

65 Este dispositivo se puede usar de la siguiente manera.

El líquido que se ha de mezclar o los líquidos que se han de mezclar se introducen en la cavidad 3 mediante, por ejemplo, un robot de pipeteado. Con la ayuda del transductor interdigital 5 se genera una onda acústica superficial con la dirección de propagación 10. Esta onda acústica superficial incide sobre la cantidad de líquido presente en la

ES 2 342 457 T3

cavidad 3 y genera allí, mediante la deformación de la superficie del sólido, un movimiento turbulento que da lugar al entremezclado. En el caso de existir materia cargada o polarizable en el líquido, se genera adicionalmente una transmisión de impulsos de la onda superficial por medio de los campos eléctricos que acompañan la deformación mecánica de la superficie en el cristal piezoeléctrico.

5

La Figura 2 muestra una forma de realización de acuerdo con la invención. De nuevo, la Figura 2a muestra una vista en planta y la Figura 2b, una vista en corte esquemática.

10 En la superficie de la cavidad 23 se encuentra un transductor interdigital 25 con los electrodos 29 y 27 que presentan prolongaciones digitiformes 31. Las prolongaciones digitiformes se extienden por la cavidad 23, mientras que, en la forma de realización mostrada, los electrodos 27 y 29 están dispuestos en el exterior de la cavidad. En la figura se designa de nuevo con 21 el sustrato piezoeléctrico.

15 Sobre el transductor interdigital 31 está previsto, al menos en su zona, un recubrimiento 33, por ejemplo de dióxido de silicio, que constituye, por ejemplo, una capa protectora biocompatible.

20 En la forma de realización de acuerdo con la invención mostrada en la Figura 2, el líquido que se ha de mezclar también se introduce en la cavidad 23. La capa protectora biocompatible 33 evita que el líquido entre en contacto directo con la estructura de electrodo metálica del transductor interdigital 25. Si en el caso del líquido se trata de un líquido con material biológico, el dióxido de silicio evita el daño del material biológico.

25 De forma similar a la primera forma de realización antes descrita, se aplica a continuación al transductor interdigital 25 un campo eléctrico alterno de unos MHz a unos cientos de MHz para generar la onda acústica superficial para la deformación de la superficie. En la zona del transductor interdigital 25 la intensidad de la onda acústica superficial es muy alta y conduce así de nuevo a un entremezclado eficaz por medio de la deformación del sólido o la acción dinámica eléctrica ejercida sobre la materia cargada o polarizable.

30 Otra forma de realización de acuerdo con la invención es objeto de la Figura 3, en la que de nuevo la Figura 3a muestra una vista en planta esquemática y la Figura 3b, una vista en corte transversal. Esta forma de realización no presenta cavidad. Sobre el sólido 41 está previsto el transductor interdigital 45 con los electrodos 47 y 49, que de nuevo presentan prolongaciones de electrodo 51 enlazadas entre sí a modo de dedos. En la forma de realización mostrada se encuentra sobre el transductor interdigital un recubrimiento 43 seleccionado de manera que el líquido que se ha de manipular o los líquidos que se han de manipular permanezcan con preferencia sobre él. El recubrimiento 43 se elige, pues, de manera que se humedezca con el líquido más que su entorno lateral.

35

40 De forma alternativa, puede estar previsto que el entorno de una zona en la que se encuentra el transductor interdigital 45 presente unas propiedades de humectación tales que la cantidad pequeña de líquido permanezca con menor preferencia en él que en la zona en la que está previsto el transductor interdigital 51. Para la manipulación de líquidos acuosos, la zona circundante es hidrófoba en relación con la zona en la que se encuentra el transductor interdigital 45. Las propiedades de humectación hidrófobas se consiguen, por ejemplo, por silanización de la superficie.

45 En una configuración de este tipo, con un entorno silanizado, también puede estar previsto adicionalmente un recubrimiento 43, por ejemplo de dióxido de silicio, para proteger el transductor interdigital o asegurar la biocompatibilidad.

45

En la zona con el transductor interdigital 45 se aplican, por ejemplo, líquidos acuosos. Al igual que en el forma de realización de la Figura 2, la aplicación de un campo eléctrico alterno provoca la transmisión de impulsos de una onda acústica superficial a la cantidad de líquido 53. También en esta forma de realización se fomenta eficazmente el entremezclado.

50

55 En la Figura 4 se muestra un dispositivo de mezclado con una zona de permanencia preferente 63 que se genera, por ejemplo, modulando las propiedades de humectación tal como se ha descrito. En la superficie del sólido está dispuesto un transductor 65, que equivale, por ejemplo, al transductor 5 antes descrito, de tal manera que la trayectoria acústica 70 de una onda acústica superficial generada con él incida de forma descentrada sobre la zona de permanencia preferente. En la zona de permanencia preferente 63 se encuentra una cantidad de líquido, no mostrada en la figura. Si se genera una onda superficial con el transductor 65, ésta se propaga en la dirección 70 e incide de forma descentrada en la cantidad de líquido. Si la intensidad de la onda acústica superficial es suficientemente baja, la cantidad de líquido no es desplazada de la zona de permanencia preferente 63 por el impulso de la onda acústica superficial. Sin embargo, la transmisión de impulsos genera en la cantidad de líquido un movimiento que provoca una turbulencia conforme al perfil de flujo 72. De este modo se consigue un entremezclado eficaz.

60

65 En el dispositivo de mezclado de la Figura 5a están previstos dos transductores 65 y 66 que presentan, respectivamente, una trayectoria acústica 70 y 74 que incide de forma descentrada en la zona de permanencia preferente 63.

65

Con 62 y 64 se insinúan a modo de ejemplo las "crestas de onda" de las ondas acústicas superficiales correspondientes generadas con los transductores 65 y 66, respectivamente, cuando se les aplica una tensión alterna desfasada de igual frecuencia. El desplazamiento de fase entre las ondas acústicas superficiales se designa con $\Delta \Phi$. Con 73 se

ES 2 342 457 T3

designa a modo de ejemplo una cantidad de líquido. Las ondas superficiales inciden lateralmente en la cantidad de líquido 73. Por el desplazamiento de fase se generan vórtices, señalados a modo de ejemplo con 76 y 78.

5 En la Figura 5a están previstos opcionalmente otros transductores 67 y 68 adicionales con los que se puede generar respectivamente una onda acústica superficial opuesta a las ondas superficiales de los dispositivos generadores de ondas superficiales 65 y 66. De este modo se obtiene una mayor flexibilidad en la aplicación. Mediante la elección adecuada de la fase entre los transductores opuestos 65 y 67 también se puede excitar una onda superficial estacionaria, que en la zona situada entre sus nodos puede provocar un fuerte entremezclado.

10 Un efecto similar se puede lograr disponiendo los transductores interdigitales en la superficie del chip a diferentes distancias de la zona de permanencia preferente. Por los diferentes tiempos de recorrido de la onda acústica superficial se puede alcanzar también de este modo un desplazamiento de fase entre las ondas superficiales generadas con los transductores interdigitales.

15 La Figura 5b muestra una modificación en la que se usan igualmente dos transductores para generar remolinos. Las ondas acústicas superficiales generadas con los transductores 65 y 66, con la dirección de la trayectoria acústica 70 y 74 respectivamente, inciden de forma descentrada en la zona de permanencia preferente 63 en la que se encuentra una cantidad de líquido, no mostrada por motivos de claridad. Si los transductores 65 y 66 se excitan respectivamente con un campo alterno cuya relación de fase es tal que en el punto de la zona de permanencia 63 las ondas acústicas superficiales generadas con los transductores 65 y 66 son equifásicas, se forman en una cantidad de líquido situada en la zona de permanencia 63 de la Figura 5b los vórtices indicados con 77 y 79. También en este caso se consigue un entremezclado eficaz de una cantidad de líquido presente en la zona de permanencia preferente 63.

25 En la Figura 6 se muestra una forma de realización de acuerdo con la invención con un resonador. Con 85 se designa de nuevo un transductor interdigital correspondiente al transductor de la forma de realización de la Figura 1. Con 83 se designa una zona de permanencia preferente, generada, por ejemplo, por modulación de las propiedades de humectación en relación con la superficie circundante del sólido. En la zona de permanencia preferente está dispuesto un resonador. Este constituye, por ejemplo, un recubrimiento metálico digitiforme con una distancia interdigital equivalente a la mitad de la longitud de onda que presenta una onda acústica superficial que puede ser emitida por el transductor interdigital 85 en dirección 90 cuando se le aplica un campo alterno. A modo de ejemplo se designa con 86 una tira de este recubrimiento metálico. De forma alternativa puede estar previsto, por ejemplo, un grabado periódico de ranuras.

35 Las tiras de resonador están dispuestas preferentemente a una distancia de media longitud de onda y forman discontinuidades en la impedancia acústica de la superficie libre. En un sustrato piezoeléctrico se añade como efecto positivo, además de la discontinuidad de la capa de masa de las tiras, una discontinuidad de las condiciones eléctricas marginales. Un metal dispuesto como resonador sobre una superficie de un piezoeléctrico reduce adicionalmente la velocidad acústica debajo del metal debido al cortocircuito de los campos piezoeléctricos.

40 Un resonador de este tipo aumenta la amplitud de la onda acústica superficial en el punto de mezclado de la zona de permanencia preferente. Al incidir una onda acústica superficial, se forma en este resonador un campo de ondas estacionarias localmente amplificado que se genera por reflexiones en concordancia de fase en las discontinuidades individuales dispuestas periódicamente.

45 Las tiras de resonador pueden estar aisladas de la zona de permanencia preferente mediante una capa intermedia. Asimismo se puede prever sobre el resonador un recubrimiento que sirve para proteger la cantidad de líquido dispuesto sobre él. Por motivos de claridad no se representan tales formas de realización en la Figura 6.

50 En las Figuras 7a y 7b se muestran a modo de ejemplo dos dispositivos de mezclado en los que están previstos elementos perturbadores que sirven para incrementar la turbulencia. En la Figura 7a se designa de nuevo con 95 un transductor que puede emitir, al menos también en la dirección 100, una onda superficial tal como se ha descrito. Con 93 se indica una zona de permanencia preferente, que puede haberse formado de nuevo, por ejemplo, por modulación de las propiedades de humectación. Con 101 se designan las estructuras arremolinadoras, cuyas propiedades de humectación equivalen a las propiedades de humectación de la superficie del sólido en el exterior de la zona de permanencia preferente. Estos elementos perturbadores 101 impiden el movimiento laminar de un líquido que se encuentra en la zona de permanencia preferente 93. Se generan turbulencias provocadas por las propiedades de humectación desfavorables de los elementos perturbadores.

60 En la forma de realización de acuerdo con la invención mostrada en la Figura 7b, la zona de permanencia preferente 103 se encuentra en la zona de los dedos del transductor 105, de manera similar a la forma de realización de la Figura 3. En la forma de realización de la Figura 7b, sin embargo, la zona de permanencia preferente no está provista de un borde liso sino de dientes 104. Un movimiento generado con la ayuda de la transmisión de impulsos por el transductor interdigital en una cantidad de líquido presente en la zona de permanencia preferente 103 es perturbado por los dientes 104, de manera que se generan turbulencias que fomentan el entremezclado.

65 Los elementos perturbadores mostrados en la Figura 7 deben entenderse únicamente como ejemplo. Naturalmente también se pueden concebir otras geometrías de los elementos perturbadores para la generación de turbulencias en la zona de permanencia preferente o en la cavidad. Las estructura arremolinadoras se producen, por ejemplo, por grabado.

ES 2 342 457 T3

La Figura 8 muestra un corte esquemático a través de otro dispositivo de mezclado. En este caso se designa con 200 un cristal de niobato de litio como sustrato sólido piezoeléctrico. En una parte del cristal 200 está previsto un recubrimiento 202 de dióxido de silicio que presenta una zona grabada 204. Con 206 se designa un transductor interdigital como el que se ha descrito anteriormente. Se aprecia la dirección 208 de una onda acústica superficial que puede ser emitida por el transductor interdigital 206 cuando se le aplica un campo alterno correspondiente. En el cristal piezoeléctrico la onda acústica superficial también se propaga por el recubrimiento de dióxido de silicio. En la zona grabada 204, el grosor de la capa de dióxido de silicio se elige tan pequeño que resulte muy pequeño en relación con la longitud de onda de una onda superficial que se puede generar con el transductor interdigital 206. Es decir, el grosor del recubrimiento 202 en la zona grabada 204 es muy pequeño en relación con la distancia interdigital del transductor interdigital 206. Una onda acústica superficial que discurre en la zona límite entre el cristal piezoeléctrico 200 y la capa de dióxido de silicio 202 podrá interactuar en la zona grabada 204, con una capa de dióxido de silicio tan fina, con una cantidad de líquido que se encuentra en la zona grabada 204. Esta forma de realización presenta la ventaja de que el dióxido de silicio es muy fácil de grabar, de modo que se puede crear un alojamiento definido para la cantidad de líquido. Aún así, la estructura metálica del transductor interdigital 206 se puede aplicar con mucha facilidad sobre el cristal piezoeléctrico mediante procedimientos de recubrimiento litográficos conocidos.

Adicionalmente puede estar previsto en todas las formas de realización un dispositivo de calefacción, por ejemplo una calefacción por resistencia, que genera un entremezclado adicional o una convección térmica. Por motivos de claridad, ninguna de las figuras muestra una forma de realización de este tipo.

El líquido se puede introducir en las zonas activas mediante, por ejemplo, un robot de pipeteado. Igualmente puede estar previsto un conducto de alimentación, no representado. Este puede ser un canal a través del que se hace pasar el líquido, o también, por ejemplo en una forma de realización de acuerdo con una de las Figuras 3 a 7, una línea fina en la superficie del sólido que posee las mismas propiedades de humectación que la zona activa 43. A través de un conducto de alimentación de este tipo el líquido también se puede introducir en la zona activa del transductor interdigital 45 mediante, por ejemplo, transmisión de impulsos de una onda acústica superficial.

Por motivos de claridad se muestran en las figuras formas de realización en las que sólo está previsto un transductor interdigital. No obstante, se pueden prever varios transductores interdigitales, por ejemplo con diferentes distancias interdigitales. Los transductores pueden estar dispuestos, dado el caso, alrededor de la zona de interacción. El transductor interdigital tampoco tiene que presentar necesariamente una distancia interdigital constante. Con un transductor interdigital con una distancia interdigital no constante, la trayectoria acústica también está limitada en dirección lateral, puesto que la condición de resonancia sólo puede cumplirse en una zona pequeña del transductor.

Los recubrimientos sobre los resonadores y/o transductores interdigitales descritos para algunas de las formas de realización se eligen ventajosamente con un grosor inferior o aproximadamente igual a la longitud de onda emitida por los transductores interdigitales. Un recubrimiento de este tipo no produce un amortiguamiento mecánico demasiado fuerte de la onda acústica superficial, pero evita el acoplamiento capacitivo de los electrodos, que conduciría a una disminución de la eficacia con la que los transductores interdigitales convierten energía eléctrica en energía acústica. Este recubrimiento preferentemente es aislante, con una alta constante dieléctrica, compuesta, por ejemplo, de lacas fotosensibles, dióxido de silicio o nitruro de silicio. Tales recubrimientos también pueden estar previstos en aquellas formas de realización para las cuales no se ha mencionado o mostrado antes explícitamente un recubrimiento.

Las formas de realización descritas de acuerdo con la invención deben entenderse únicamente como ejemplos de dispositivos de acuerdo con la invención. Naturalmente también se pueden prever otras combinaciones de las características de acuerdo con la invención. Por ejemplo, una estructura de resonador, como la descrita en relación con la Figura 6, también puede estar prevista en una forma de realización que presenta una cavidad en lugar de la zona de permanencia preferente 83. Del mismo modo, también pueden estar previstos elementos perturbadores, como los mostrados en relación con la Figura 7, en formas de realización en las que la zona de permanencia preferente 93 ó 103 está sustituida por cavidades, que es el caso de, por ejemplo, la forma de realización de la Figura 2. También las formas de realización en las que la onda acústica superficial no incide de forma centrada en la cantidad de líquido pueden presentar cavidades en lugar de las zonas de permanencia preferente, como las que se describen en la Figura 4 y la Figura 5.

La invención no está limitada a la realización sobre una superficie de chip libre. Igualmente se pueden prever dos superficies de sólidos opuestas entre las que se encuentra el líquido. En esta disposición, el dispositivo generador de ondas superficiales, por ejemplo, se puede encontrar en una superficie y la estructura que limita el movimiento de la cantidad de líquido, es decir, por ejemplo, la cavidad o la zona de permanencia preferente, en la otra superficie del sólido. Si una cantidad pequeña de líquido está en contacto con ambas superficies, los efectos descritos también se pueden obtener con esta configuración de la invención.

Todas las formas de realización mostradas y descritas pueden formar parte de un sistema más grande en el que están dispuestos varios dispositivos de mezclado en la superficie de un sólido. En la superficie del chip también se pueden encontrar otros dispositivos de análisis y/o de síntesis.

El dispositivo de acuerdo con la invención o el procedimiento de acuerdo con la invención son adecuados para el entremezclado eficaz de cantidades mínimas de líquido para fomentar en ellas, por ejemplo, una reacción. El dispositivo de acuerdo con la invención y el procedimiento de acuerdo con la invención apoyan eficazmente la generación de

ES 2 342 457 T3

condiciones termodinámicas homogéneas en la cantidad de líquido. Igualmente se pueden mezclar entre sí de forma rápida y eficaz diferentes cantidades de líquido sin limitación por la difusión. En otra aplicación del procedimiento de acuerdo con la invención se coloca un sólido, por ejemplo un polvo, en la zona de interacción. A continuación se introduce un líquido en la zona activa. Con la ayuda de la transmisión de impulsos de la onda acústica superficial se puede acelerar significativamente la disolución del polvo. Finalmente, el dispositivo de acuerdo con la invención y el procedimiento de acuerdo con la invención también se pueden usar eficazmente para la distribución de materia, por ejemplo de material biológico, en el líquido.

El procedimiento de acuerdo con la invención se puede usar de forma especialmente ventajosa para estudiar la fuerza de unión de objetos de tamaño microscópico, por ejemplo de células o bacterias, a superficies funcionalizadas, usándose un dispositivo de mezclado de acuerdo con la invención como ensayo de adhesión celular.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de mezclado para el mezclado de al menos una cantidad pequeña de líquido, en el que se aplica al menos una cantidad de líquido (53) sobre una zona de interacción (23, 43, 83, 103) de una superficie de un sólido, preferentemente de un chip, y se hace interactuar al menos una onda acústica superficial con la al menos una cantidad de líquido (53,73) para mezclarla, y en el que la al menos una cantidad de líquido (53) se aplica sobre una parte (23, 43, 103) de la superficie en la que se encuentra un dispositivo generador (25, 45, 105) para la al menos una onda acústica superficial y/o la cantidad de líquido se aplica sobre una zona en la que se encuentra un resonador (86) para una onda acústica superficial que es emitida por un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (85) distanciado de la zona del resonador.
2. Procedimiento de mezclado según la reivindicación 1, en el que la al menos una cantidad de líquido se introduce en una cavidad (23) dispuesta en la superficie del sólido.
3. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que la al menos una cantidad de líquido (53, 73) se aplica sobre una parte (43, 83, 103) de la superficie que presenta propiedades de humectación que difieren de las de su entorno lateral de tal manera que el líquido permanezca con preferencia sobre ella.
4. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la onda acústica superficial se pulsada.
5. Procedimiento de mezclado según la reivindicación 4, en el que la frecuencia de pulso de la onda acústica superficial se selecciona de manera que esté en resonancia con una frecuencia propia de la cantidad pequeña de líquido (53) presente en la zona de interacción (23, 43, 83, 103).
6. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la al menos una onda acústica superficial se emite de forma descentrada a la cantidad de líquido.
7. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que se emiten a la cantidad de líquido al menos dos ondas acústicas superficiales cuyo desplazamiento de fase ($\Delta\Phi$) es distinto de un múltiplo de su longitud de onda (λ), preferentemente igual a media longitud de onda.
8. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la al menos una onda acústica superficial se genera con un transductor interdigital (25, 45, 85, 105).
9. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la al menos una onda acústica superficial se genera con un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales con un recubrimiento preferentemente biocompatible.
10. Procedimiento de mezclado según la reivindicación 9, en el que se usa un recubrimiento aislante para el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales.
11. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 9 ó 10, en el que en el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales se usa un recubrimiento con una constante dieléctrica elevada.
12. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la cantidad de líquido se encuentra en una zona en la que se encuentran elementos perturbadores para la generación de remolinos en la cantidad de líquido.
13. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 12, en el que se aplican varias cantidades de líquido en la zona de interacción (23, 43, 83, 103) para el mezclado.
14. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 12, en el que un material que se ha de disolver se aplica en la zona de interacción (23, 43, 83, 103), se pone en contacto con un líquido y se disuelve en el líquido por acción de una onda acústica superficial.
15. Procedimiento de mezclado según una de las reivindicaciones 1 a 14, en el que la al menos una cantidad de líquido (53) se calienta adicionalmente.
16. Dispositivo de mezclado para el mezclado de al menos una cantidad pequeña de líquido para la realización de un procedimiento según la reivindicación 1, con al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (25, 45, 85, 105) dispuesto sobre la superficie de un sólido y una zona de interacción (23, 43, 83, 103) dispuesta respecto al al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales de manera que durante el funcionamiento del al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales se deforme por la onda acústica superficial generada, en el que la zona de interacción y el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales se superponen, al menos parcialmente, y/o en la zona de interacción (83) está previsto un resonador (86) configurado de manera

ES 2 342 457 T3

que resuena una onda acústica superficial generada con el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (85).

5 17. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 16, en el que la zona de interacción está configurada en forma de cavidad (23) y la profundidad de esta cavidad es pequeña en relación con la longitud de onda de una onda acústica superficial que se puede generar con el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (5, 206).

10 18. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 17, en el que la zona de interacción (23) está configurada en forma de cavidad y el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (25) está dispuesto, al menos parcialmente, en la cavidad.

19. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 17 ó 18, en el que la cavidad comprende una cavidad en el recubrimiento de un sólido.

15 20. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 19, en el que el recubrimiento comprende dióxido de silicio.

20 21. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 16, en el que la zona de interacción comprende una zona de permanencia preferente (43, 83, 103) sobre la superficie del sólido cuyas propiedades de humectación difieren de las de su entorno lateral de tal manera que la cantidad de líquido permanezca con preferencia en ella.

22. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 21, en el que el entorno de la zona de permanencia preferente (43, 83, 103) está silanizado.

25 23. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 22, en el que la zona de interacción y el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales están dispuestos de tal manera que una onda acústica superficial generada con el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales actúe de forma descentrada sobre la zona de interacción.

30 24. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 23, con al menos dos dispositivos generadores de ondas acústicas superficiales para la generación de ondas acústicas superficiales desfasadas entre sí en la zona de interacción (63).

35 25. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 24, con elementos perturbadores (104) dispuestos en la zona de interacción (103).

26. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 25, en el que los elementos perturbadores comprenden zonas grabadas en un entorno menos o no grabado, o zonas menos o no grabadas en un entorno grabado.

40 27. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 25, en el que los elementos perturbadores comprenden zonas que están recubiertas de manera distinta que su entorno.

28. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 25, en el que los elementos perturbadores se forman mediante una delimitación irregular (104) de la zona de interacción (103).

45 29. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 28, con un recubrimiento (33, 43) preferentemente biocompatible dispuesto sobre el dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (25, 45).

50 30. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 29, en el que el recubrimiento (33, 43) presenta unas propiedades de humectación que difieren de las de su entorno de tal manera que el líquido permanezca con preferencia sobre él.

31. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 30, en el que el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales (25, 45, 85, 105) comprende un transductor interdígital.

55 32. Dispositivo de mezclado según la reivindicación 31, con un resonador (86) que comprende recubrimientos metálicos dispuestos periódicamente cuya distancia equivale a la distancia interdígital del transductor interdígital (85).

33. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 32, con un resonador que presenta un recubrimiento.

60 34. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 33, con un recubrimiento dispuesto sobre el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales.

35. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 33 y 34, en el que el recubrimiento es aislante.

65 36. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 33 a 35, en el que el recubrimiento presenta una constante dieléctrica elevada.

ES 2 342 457 T3

37. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 33 a 36, en el que el recubrimiento presenta un grosor inferior o esencialmente igual a la longitud de onda de una onda acústica superficial generada por el al menos un dispositivo generador de ondas acústicas superficiales.

5 38. Dispositivo de mezclado según una de las reivindicaciones 16 a 37, con un dispositivo de calefacción dispuesto en la región de la zona de interacción (23, 43, 83, 103).

39. Uso de un dispositivo según una de las reivindicaciones 16 a 38 como ensayo de adhesión celular.

10 40. Procedimiento de análisis para el análisis de la fuerza de unión de objetos a superficies mediante el uso de un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 15, en el que como cantidad de líquido se usa una solución con objetos de tamaño microscópico y en el que durante o después de la interacción de la onda acústica superficial con la cantidad de líquido se analiza la cantidad de objetos adheridos a la superficie en función del flujo generado por la onda acústica superficial en la cantidad de líquido.

15 41. Procedimiento de análisis según la reivindicación 40, en el que como solución se usa una solución de cultivo y los objetos son objetos biológicos, en particular células o bacterias.

20 42. Procedimiento de análisis según una de las reivindicaciones 40 ó 41, en el que la superficie está funcionalizada al menos en una zona parcial.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

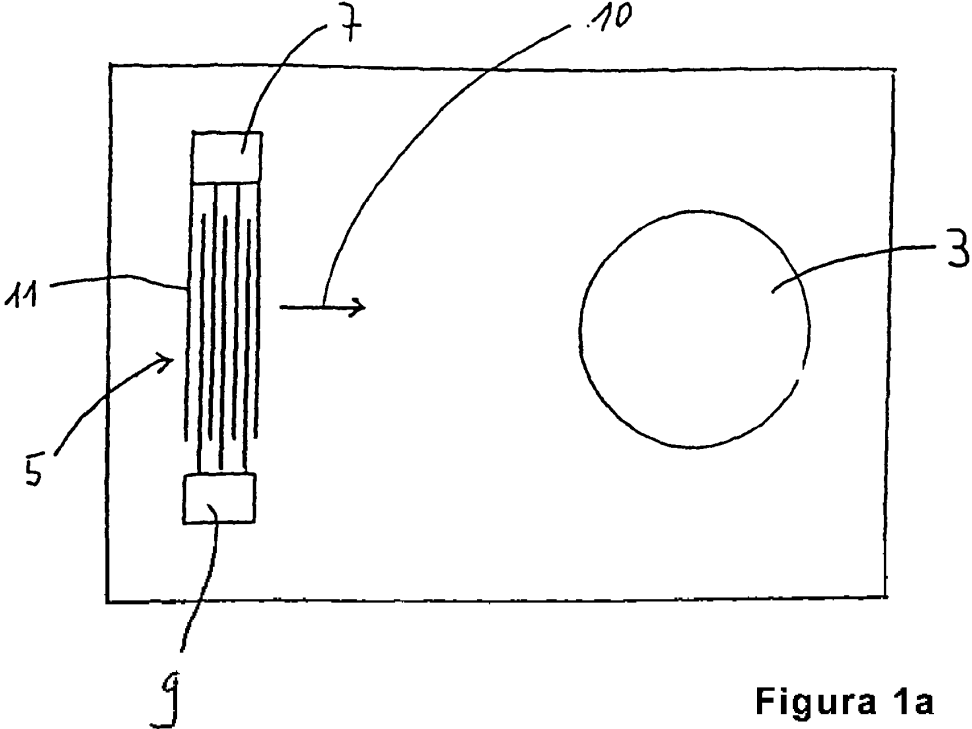


Figura 1a

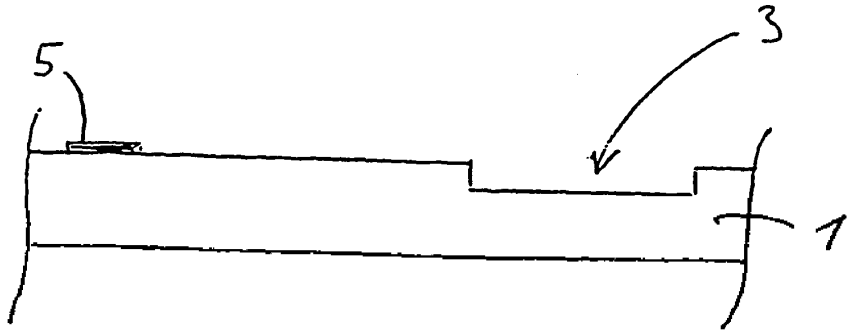


Figura 1b

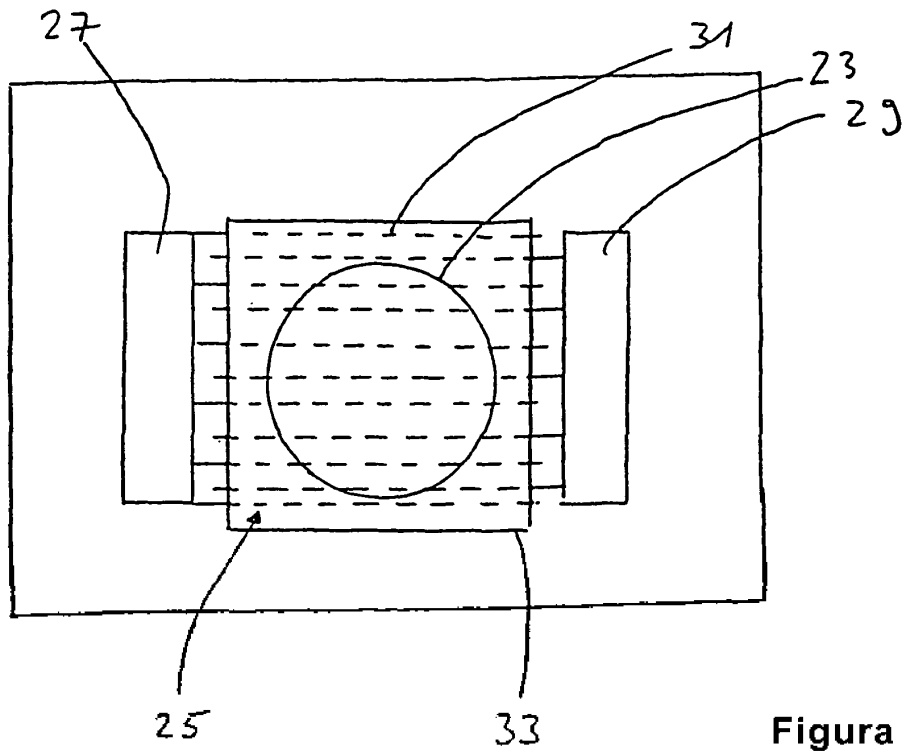


Figura 2a

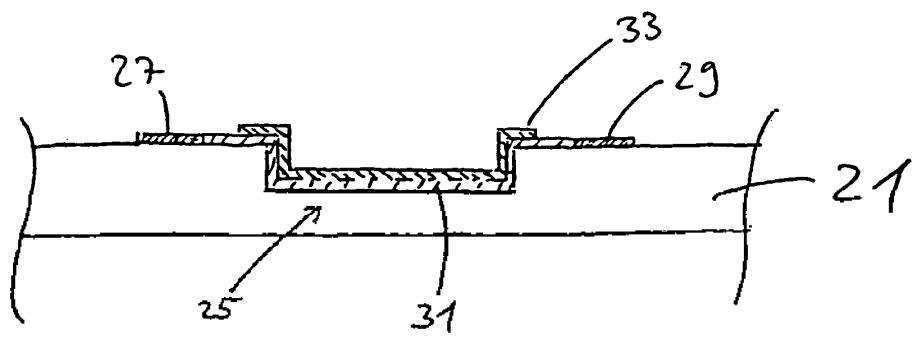


Figura 2b

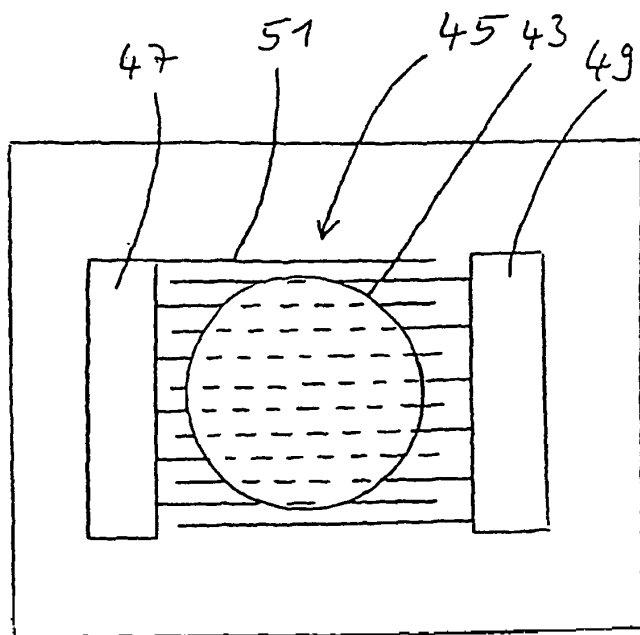


Figura 3a

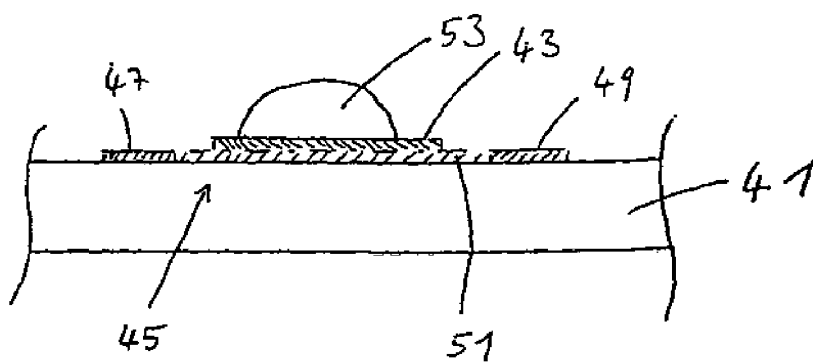


Figura 3b

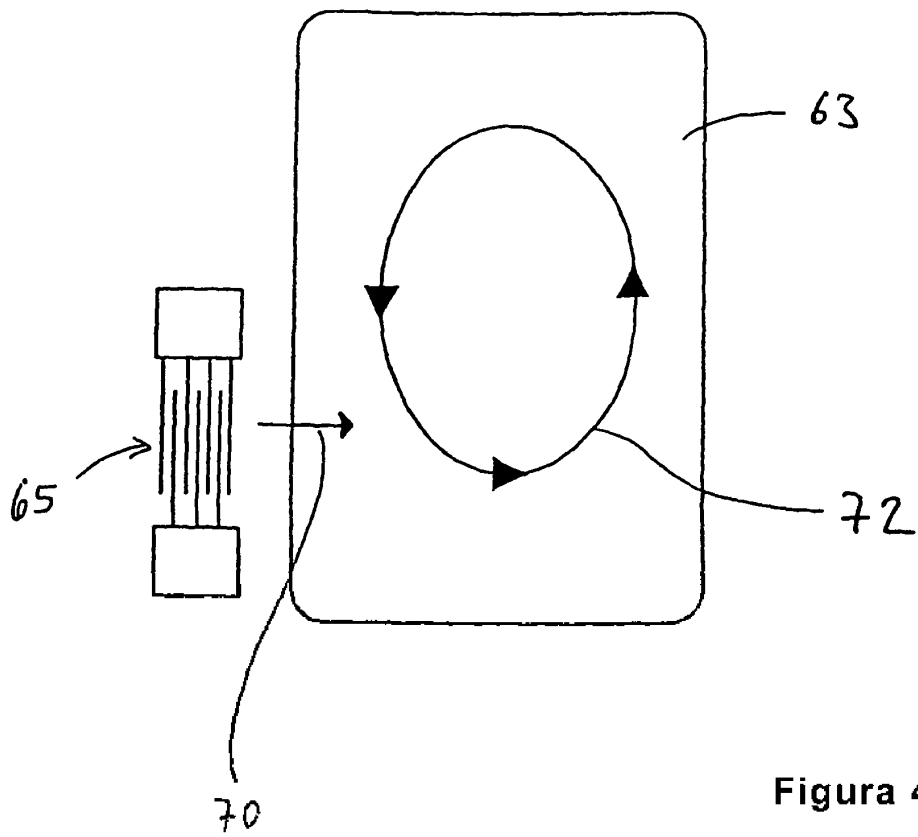


Figura 4

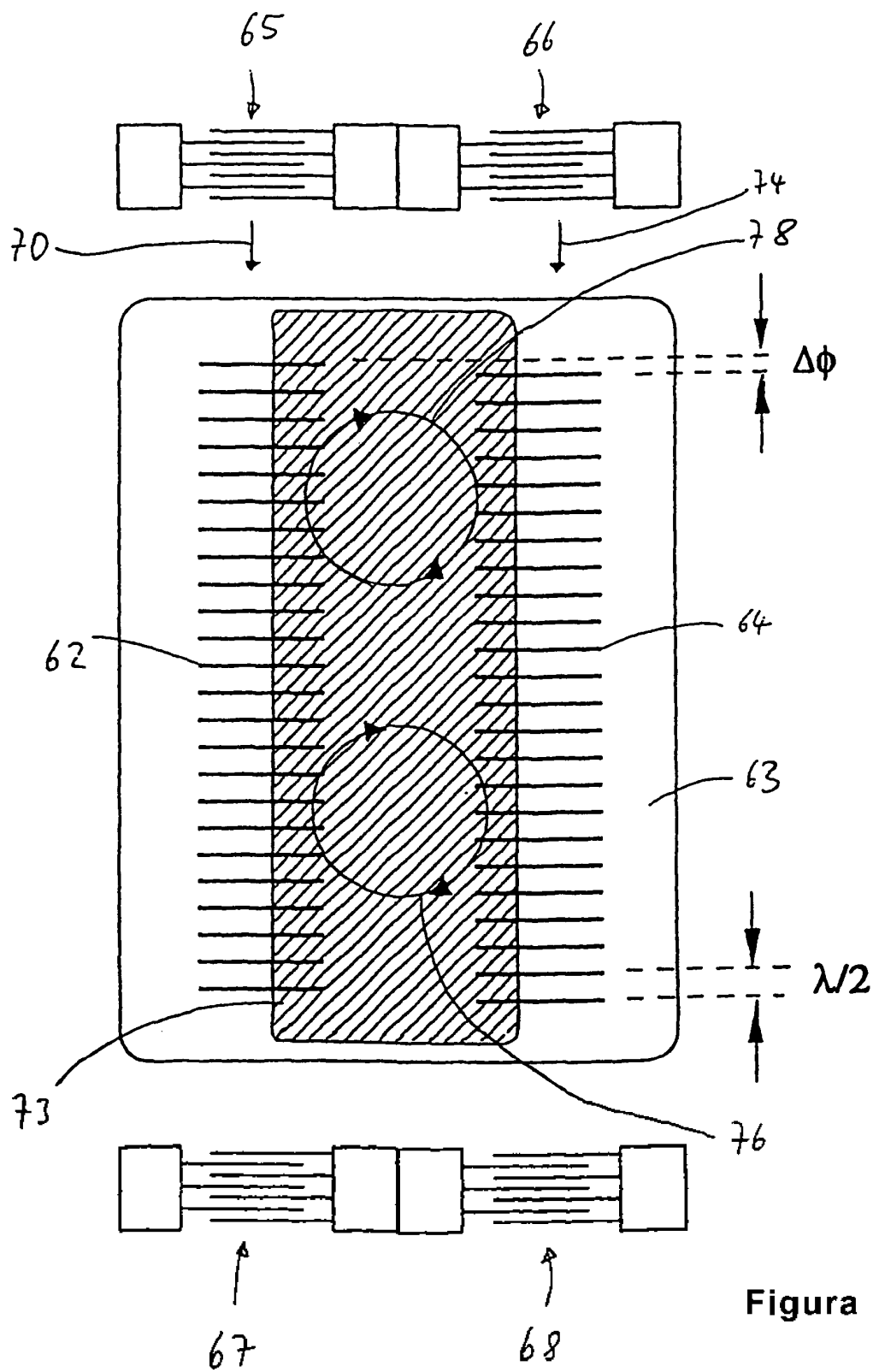


Figura 5a

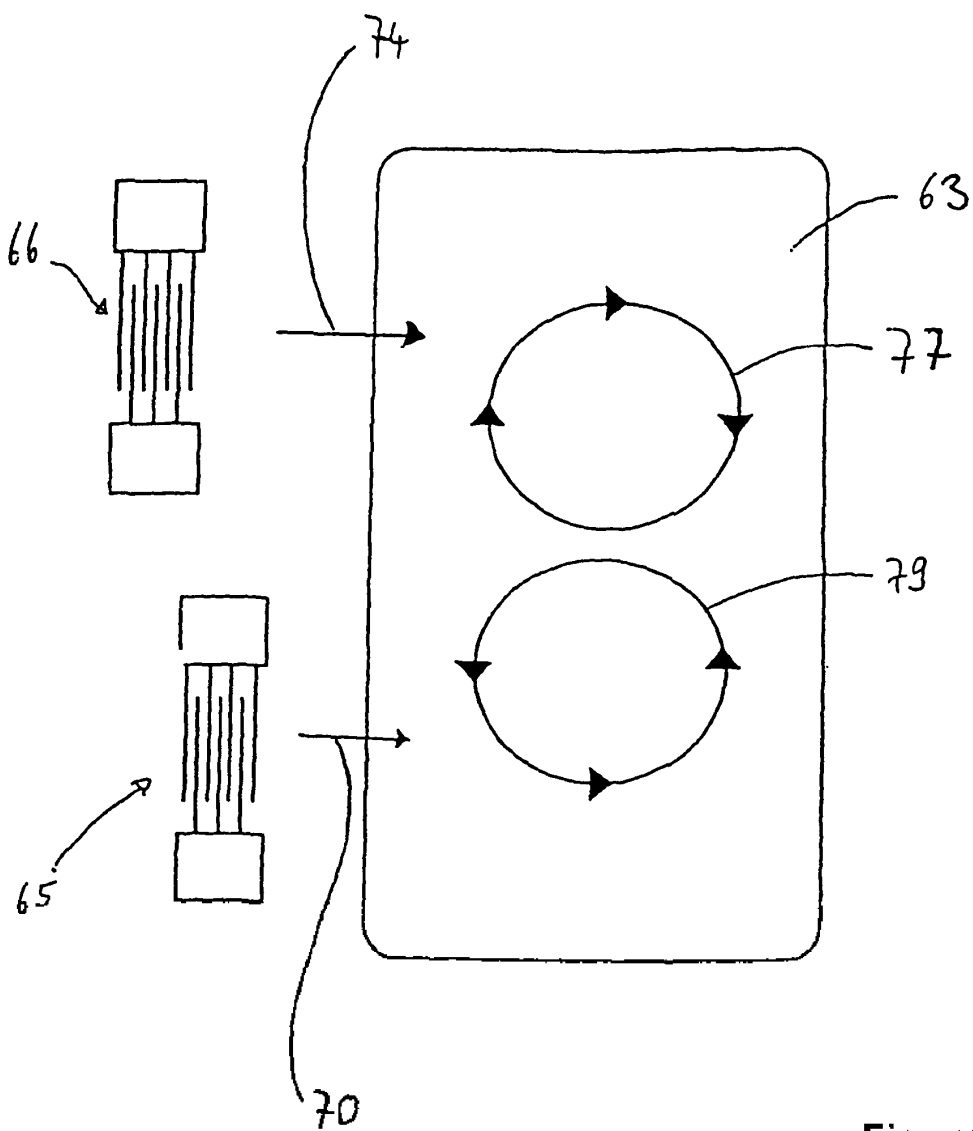


Figura 5b

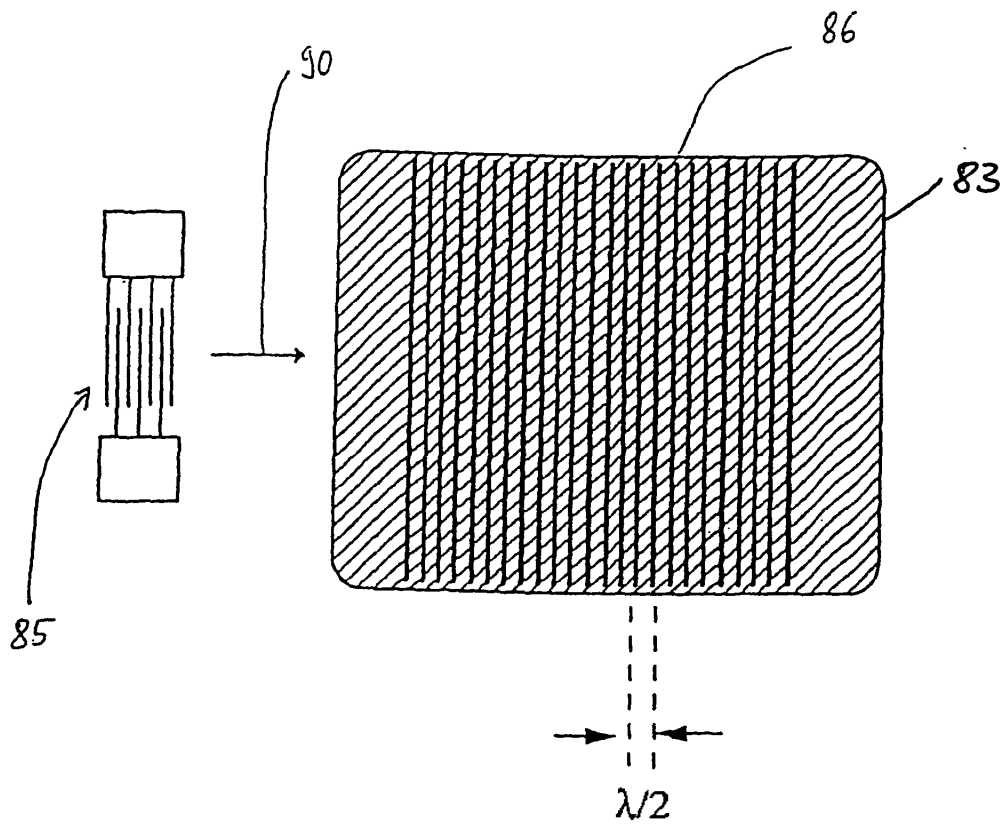


Figura 6

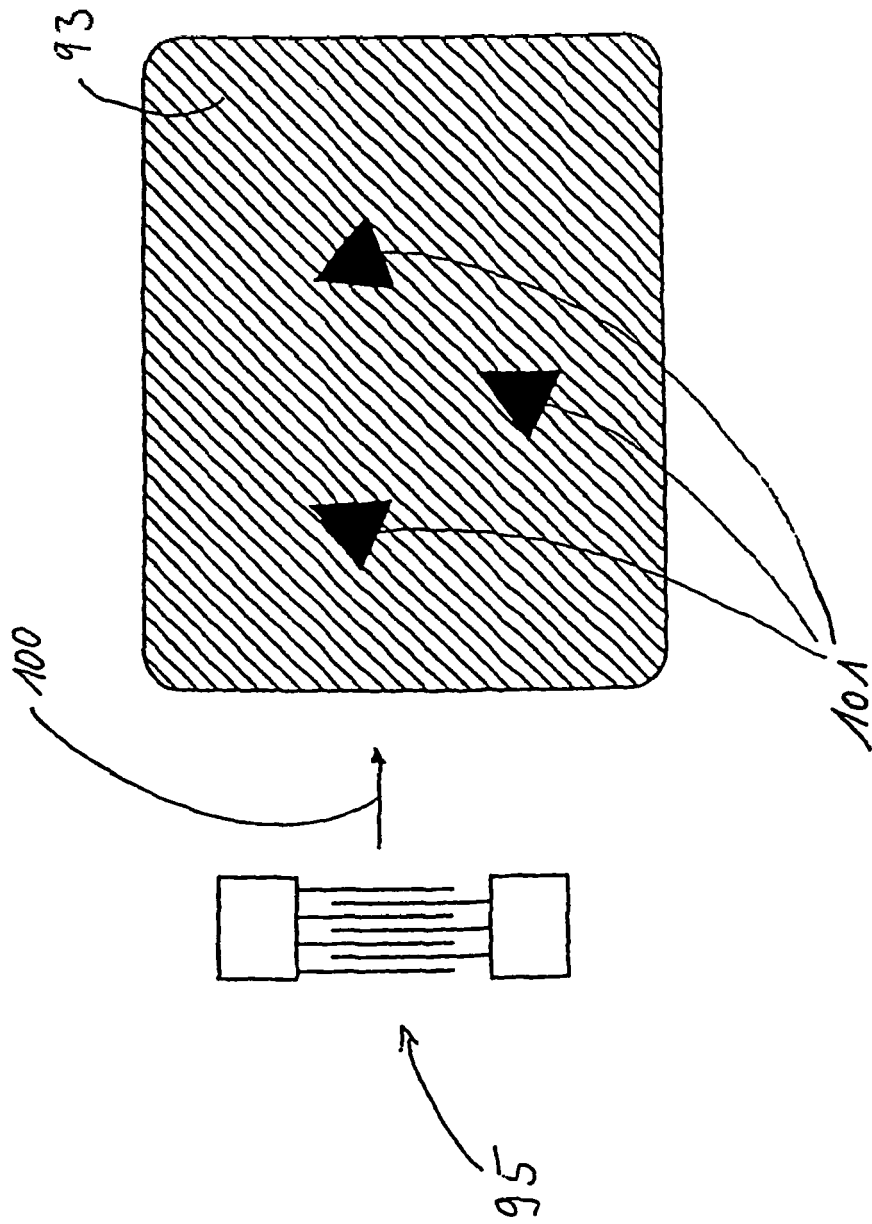


Figura 7a

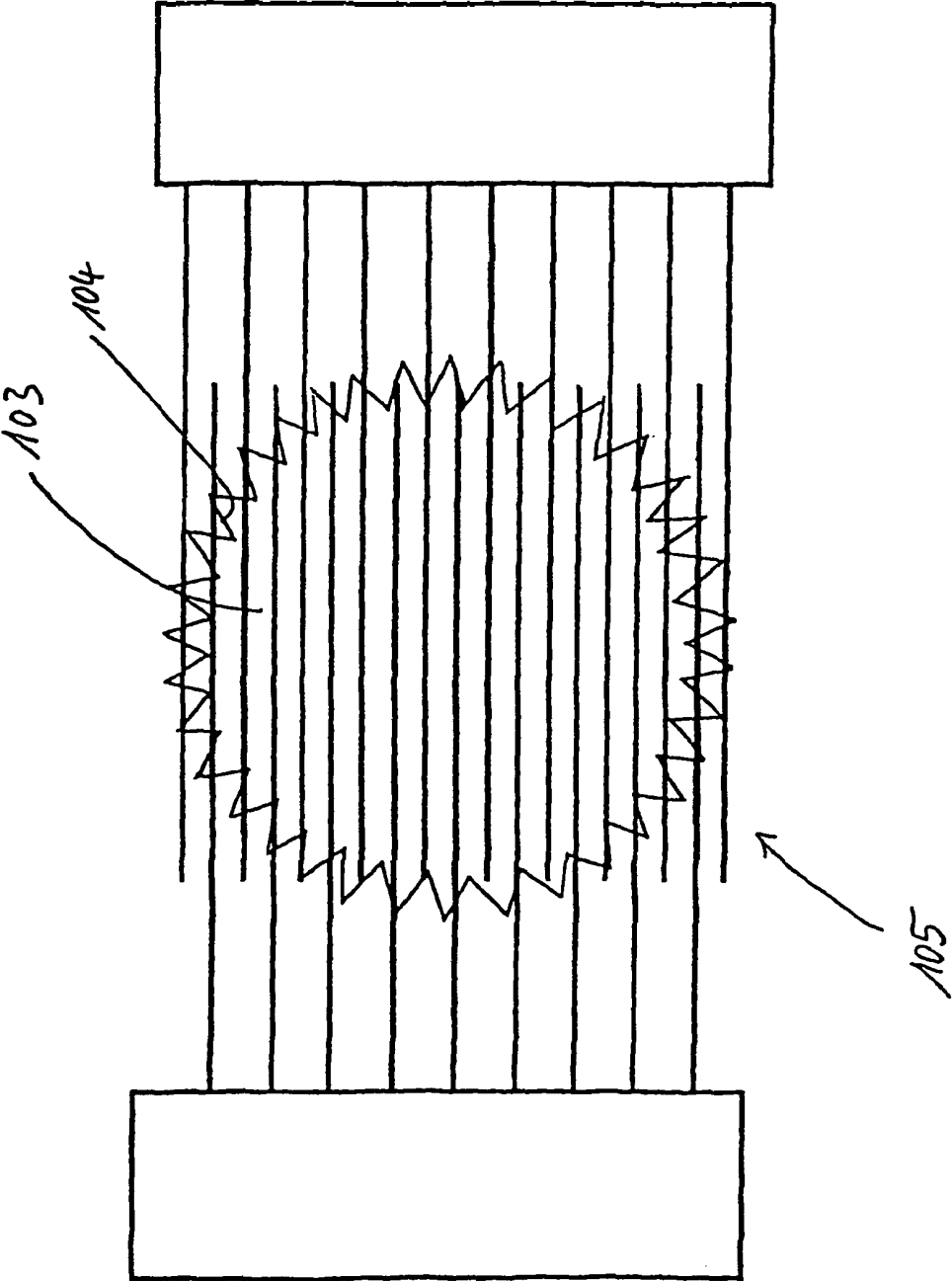


Figura 7b

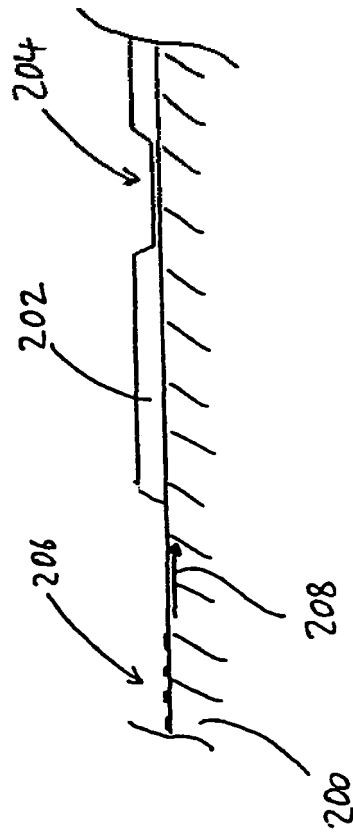


Figura 8