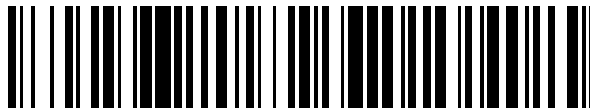


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 549**

51 Int. Cl.:

**B81B 7/00** (2006.01)

**B01F 13/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.02.2013 PCT/CA2013/000139**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.08.2013 WO13120190**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.02.2013 E 13749704 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017 EP 2814773**

54 Título: **Aparato y procedimiento de mezclado microfluídico centrífugo**

30 Prioridad:

**16.02.2012 US 201261599647 P**

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

**04.10.2017**

73 Titular/es:

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF CANADA  
(100.0%)  
1200 Montreal Road  
Ottawa, Ontario K1A 0R6, CA**

72 Inventor/es:

**CLIME, LIVIU y  
VERES, TEODOR**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

ES 2 635 549 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**

Aparato y procedimiento de mezclado microfluídico centrífugo.

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense USSN 611599.647 presentada el 16 de febrero de 2012.

**Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a dispositivos microfluídicos centrífugos, en particular a dispositivos microfluídicos centrífugos que presentan medios para mezclar fluidos y a procedimientos para mezclar fluidos en un dispositivo microfluídico centrífugo.

**Antecedentes de la invención**

15 Los dispositivos microfluídicos están teniendo un impacto cada vez mayor sobre el diagnóstico biomédico y el desarrollo de fármacos. En particular, los dispositivos microfluídicos centrípetos (o centrífugos) pueden tratar con volúmenes muy pequeños de líquido, habitualmente en el rango de microlitros. A una escala tan pequeña, la razón de superficie con respecto a volumen de líquidos que fluyen aumenta drásticamente, mientras que al mismo tiempo el número de Reynolds específico se vuelve muy pequeño (normalmente de menos de 1). En tales regímenes de número de Reynolds el flujo siempre es laminar, prohibiéndose completamente las turbulencias de cualquier clase. Esto es un grave inconveniente para mezclar dos o más líquidos ya que, en ausencia de cualquier turbulencia, el mezclado por difusión es el único mecanismo disponible. Esto es un procedimiento inherentemente muy lento. A la escala microfluídica, se necesitan longitudes de difusión de por lo menos cientos de micrómetros, y para constantes de difusión del orden de  $10^{-12}$  (por ejemplo para moléculas de ADN (Robertson 2006)) no pueden evitarse tiempos de difusión correspondientes de aproximadamente varias decenas de minutos. Por consiguiente, el objetivo de cualquier esquema de mezclado microfluídico es potenciar el rendimiento del procedimiento de mezclado y lograr un determinado rendimiento de mezclado dentro de un espacio ocupado y tiempo mínimos.

30 Hay algunos artículos de revisión recientes y buenos para el estado de la técnica en el mezclado microfluídico (Suh 2010; Capretto 2011; Lee 2011). Tal como indican estos artículos, aunque la microfluídica continua clásica ha sido el campo de varios avances e innovaciones en este aspecto, hay mucha investigación en curso y problemas sin resolver en el campo del mezclado microfluídico centrífugo. En su mayor parte, las aplicaciones de mezclado se diseñan transfiriendo directamente conocimiento del mezclado microfluídico tradicional a la microfluídica centrífuga. En un ejemplo reciente (Grumann 2005), se logró una plataforma microfluídica centrífuga agitando magnéticamente perlas en una cámara de mezclado o generando efectos de inercia mediante aceleraciones y deceleraciones repentinas de la plataforma. En otro ejemplo (Noroozi 2009), se utilizan fuerza de Coriolis y rotación alternativa con el mismo fin. En un enfoque relativamente diferente, puede lograrse el mezclado en los canales generando vórtices mediante haciendo serpentear de manera apropiada el flujo con diversas estructuras de crestas y espigas (Stroock 2002). Sin embargo, en principio, puede utilizarse cualquier otro procedimiento de mezclado utilizado en la microfluídica tradicional, ya sea activo (acústico, por ultrasonidos, dielectroforético, electrodinámico, electrocinético, etc.) o pasivo (laminación, zigzag, serpentines en 3D, etc.). El precio a pagar por esta sencilla transferencia de tecnología de la microfluídica tradicional a la centrífuga es la complejidad tanto del accionamiento como de la manipulación y el coste de fabricación final por dispositivo unitario. Generalmente, estos enfoques no son apropiados para dispositivos microfluídicos centrífugos y no aprovechan varias características que pueden ofrecer estas plataformas.

50 En un trabajo reciente (Coleman 2006), puede emplearse una inyección secuencial (activa) de líquidos en el mismo canal seguido por una cámara de expansión para potenciar el mezclado por difusión. De manera similar, puede emplearse la capacidad para generar gotitas de líquido muy pequeñas terminando sencillamente canales microfluídicos con un gran depósito (cámara) y supuestamente alternando capas de líquido (Burger 2009, que da a conocer un dispositivo según el preámbulo de la reivindicación 1). Sin embargo, este enfoque da como resultado un mezclado ineficiente. Como consecuencia, el tiempo de mezclado obtenido es demasiado largo.

55 Sigue existiendo una necesidad de mezclado eficiente de fluidos en un dispositivo microfluídico centrífugo.

**Sumario de la invención**

60 Ahora se ha encontrado que un dispositivo microfluídico centrífugo que presenta un elemento de mezclado microfluídico que comprende una cámara de mezclado microfluídica en la que por lo menos dos flujos finos de líquidos (tales como flujos que se producen necesariamente por canales microfluídicos con diámetros hidráulicos de 1mm o menos, más preferentemente 5-600 pm, más preferentemente 10-200 pm, con flujos de disoluciones acuosas típicas y coloides, y disolventes, en campos centrífugos típicos) emergen desde canales al interior de la cámara en lugares separados, se redirigen para llegar sustancialmente en un mismo lugar a una superficie de mezclado, proporciona un mezclado eficiente de los dos o más fluidos en la cámara. Los flujos de fluido pueden

ser gotitas, o corrientes lo suficientemente finas que con la vibración del sistema, yo tras el impacto sobre la superficie de mezclado, el flujo se comporta como si fueran gotitas individuales. Por tanto, en un aspecto de la invención, se proporciona un dispositivo microfluídico centrífugo según la reivindicación 1.

- 5 En otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento de mezclado de por lo menos dos flujos de fluido en un dispositivo microfluídico centrífugo según la reivindicación 13.

10 Fluidos en dispositivos microfluídicos se almacenan en depósitos y se mueven por el dispositivo a través de canales bajo la influencia de un campo centrífugo generado mediante rotación del dispositivo alrededor de un eje de rotación de una plataforma microfluídica y/o mediante microbombas. El depósito puede contener: un líquido, un líquido en el que se suspende un gas o sólido, un líquido que contiene posiblemente una célula, un líquido que contiene posiblemente un virus, un líquido que contiene posiblemente una bacteria, un líquido que contiene posiblemente material particulado, un líquido que contiene posiblemente material particulado que está activado en la superficie, o un líquido que contiene posiblemente una partícula magnética. Los fluidos tienden a alejarse radialmente desde el eje de rotación en el plano de rotación del dispositivo en la dirección del campo centrífugo. En muchas aplicaciones microfluídicas, es necesario mezclar dos o más fluidos. Bajo la influencia del campo centrífugo, fluidos almacenados en depósitos pueden moverse como flujos de fluido a través de canales al interior de una única cámara de mezclado para mezclar. Se conocen dispositivos de control de fluido y dispositivos de medición. Los fluidos emergen al interior de la cámara a través de entradas separadas. Las entradas están generalmente separadas por lo menos una distancia del mismo orden de magnitud que el diámetro de los canales. La separación de entradas debe ser lo suficientemente pequeña como para que el elemento de desviación abarque las entradas de modo que el elemento de desviación permanezca situado en las trayectorias de los flujos, compensando cualquier desalineación del dispositivo con respecto al campo centrífugo. Aunque una separación más grande entre las entradas todavía puede ser funcional, esto puede requerir uno o más elementos de desviación más grandes y una cámara de mezclado más grande.

15 En la presente invención, por lo menos dos flujos de fluido, por ejemplo 2, 3, 4, 5 o más flujos, que entran en la cámara de mezclado, se redirigen mediante un elemento de desviación para entrar en contacto con la superficie de mezclado sustancialmente en un mismo lugar. La distancia de separación entre cantidades microscópicas de los fluidos que constituyen estar en el "mismo lugar" según esta invención, es preferentemente inferior a un diámetro de flujos individuales, o menos del diámetro hidráulico del canal que define el flujo. Se apreciará que las cantidades microscópicas impactarán sobre la superficie de mezclado en puntos ligeramente diferentes dependiendo del ruido y las vibraciones de la centrífuga, y vibraciones en la cámara de mezclado. Por tanto, se esperará que los puntos de llegada se distribuyan, por ejemplo en una distribución gaussiana centrada en un punto de llegada medio en o cerca del punto de intersección entre la superficie de mezclado y un radio que pasa a través del último punto de desprendimiento de elemento de desviación. Si el trayecto desde el elemento de desviación hasta la superficie de mezclado no es demasiado grande, la desviación estándar de la distribución puede no ser mayor que los diámetros de los flujos individuales.

20 Inicialmente, la superficie de mezclado es una superficie de fondo de la cámara de mezclado, contra la que impactan los flujos. A medida que el volumen de la mezcla de fluido a granel aumenta en la cámara, la superficie de mezclado pasa a ser la superficie de la mezcla de fluido a granel. Preferentemente, la superficie de mezclado es sustancialmente ortogonal al campo centrífugo, para maximizar la deformación de las cantidades microscópicas de fluido. Cantidades microscópicas que llegan sobre la superficie de mezclado se expanden en capas delgadas (laminillas). El grosor de las laminillas depende del diámetro de la cámara de mezclado, el gradiente del campo centrífugo, la velocidad de flujo de fluido y las propiedades de humectación de los fluidos con respecto al material sólido del que está fabricado el dispositivo, y la distancia entre el punto de desprendimiento en el deflector, y la superficie de mezclado. El grosor de las laminillas puede ser un orden de magnitud menor que el diámetro del flujo, o más delgado. El fluido procedente de los dos flujos tiende a llegar en alternación sobre la superficie de mezclado, por tanto, se forman laminillas sucesivas de los diferentes fluidos.

25 Con el fin de lograr un mezclado deseado, el trayecto desde el elemento de desviación y la superficie de mezclado debe ser lo suficientemente grande como para que las cantidades microscópicas de fluido presenten un momento suficiente al impactar sobre la superficie de mezclado (o el fluido depositado previamente), para deformarse sustancialmente. Se apreciará que no se espera que el impacto sobre la cantidad microscópica de fluido sea el mismo si se impacta sobre la superficie de mezclado relativamente dura, o se impacta sobre una capa relativamente delgada del fluido mezclado, o se impacta sobre una capa relativamente profunda del fluido mezclado. Se espera que una superficie inicial dura conduzca a la mayor deformación de la cantidad microscópica de fluido, conduciendo a una mayor razón de área de superficie/volumen para las primeras cantidades microscópicas, permitiendo así la mayor difusión para el fluido inicialmente mezclado. Mientras tanto las cantidades microscópicas añadidas posteriormente pueden no deformarse tan altamente como las cantidades microscópicas añadidas inicialmente, pero las adiciones posteriores se encuentran con una mezcla más homogénea, y salpicaduras alternantes de los dos fluidos evitarán la agrupación de grandes volúmenes de los mismos fluidos sin mezclar. La difusión alrededor de las cantidades microscópicas de diferentes composiciones es un procedimiento continuo alrededor de las áreas de superficie totales que limitan los fluidos sin mezclar. Cuando las cantidades microscópicas son lo suficientemente pequeñas, y la inercia conferida a las partículas es

suficiente, el mezclado es prácticamente instantáneo para fluidos que presentan tasas de difusión típicas.

Para lograr el momento deseado, es preferible mantener una separación de por lo menos 1 mm entre el punto de desprendimiento en el deflector y la superficie de mezclado, aunque separaciones ligeramente menores pueden funcionar para algunos fluidos en algunos campos centrífugos. Preferentemente, la separación es de desde 1-5 mm, más preferentemente 1-3 mm.

Para redirigir flujos de fluido que entran en la cámara de mezclado, es preferible utilizar uno o más elementos de desviación. El elemento de desviación comprende preferentemente una característica sólida desarrollada en la cámara situada en las trayectorias de los flujos. El elemento de desviación puede presentar cualquier diseño adecuado para guiar los fluidos desde sus trayectos separados al mismo punto de llegada. Por ejemplo, el elemento de desviación puede comprender configuraciones de alas individuales o múltiples (por ejemplo 2, 3, 4, 5, etc.) en las que las alas son de cualquier tamaño y/o forma adecuados (por ejemplo recta, curvada o una combinación de las mismas). Las configuraciones de múltiples alas comprenden preferentemente una serie de alas escalonadas en las que la orientación de por lo menos un ala está en un sentido negativo con respecto a las otras alas, en las que se toma la dirección del campo centrífugo como la normal. El elemento de desviación puede diseñarse generalmente como cualquier conjunto de características geométricas que recogen flujos de múltiples canales y los desvían hacia un punto de llegada común en la cámara de mezclado.

Puede producirse algo de mezclado inicial de fluidos en el elemento de desviación, pero no se espera que esto sea extenso. El mezclado en el elemento de desviación está en proporción al área de superficie a lo largo de la cual están en contacto los dos fluidos, y la duración. En la práctica, los dos flujos abandonan generalmente los canales en flujos de gotitas o sucesiones individualizadas (con unas tasas de volumen variables) con algo de aleatoriedad. Por tanto, el papel del elemento de desviación es guiar los diferentes flujos al mismo punto de llegada sobre la superficie de mezclado en la cámara de mezclado para generar una estructura de múltiples capas que favorece el mezclado por difusión.

La presente invención puede realizarse con un dispositivo centrífugo pasivo sencillo que proporciona una cámara de mezclado microfluídica con mezclado por difusión potenciado mediante discretización de flujo, aplanamiento y apilamiento alternado de los dos fluidos que van a mezclarse. De manera notable, se ha observado un mezclado casi instantáneo ("a medida que fluyen") de dos o más fluidos. Puede no requerirse una etapa de mezclado separada ya que el mezclado se produce a medida que el fluido fluye a través del dispositivo. La cámara de mezclado puede optimizarse para el control preciso de la discretización de flujo y el mezclado por difusión sin ningún aumento en la complejidad del dispositivo. A diferencia de otros enfoques de mezclado disponibles en la técnica, la presente invención permite el mezclado exhaustivo de fluidos a medida que fluyen al interior de una cámara, siendo el único factor limitante la velocidad de flujo de fluido, que puede multiplicarse aumentando el número de canales desde los depósitos hasta la cámara de mezclado, y deflectores acompañantes. Además, el mezclado es independiente de los materiales utilizados de modo que el dispositivo puede fabricarse de cualquier material que soporta circuitos microfluídicos.

La fabricación de dispositivos microfluídicos que contienen un elemento de mezclado microfluídico de la presente invención puede lograrse mediante cualquier técnica de microfabricación adecuada, por ejemplo mecanizado, estampado en caliente, impresión en 3D, moldeo por inyección y fotolitografía.

La presente invención puede aplicarse como una herramienta habilitadora (o que potencia el rendimiento) para la fabricación de dispositivos para cualquier clase de aplicación microfluídica incluyendo reactores miniaturizados, sistemas fluidicos, plataformas de cultivo celular, biodetección, análisis de sangre, preparación de muestras para bacterias, captura de células poco frecuentes o captura de moléculas.

Características adicionales de la invención se describirán o resultarán evidentes a lo largo de la siguiente descripción detallada.

### Breve descripción de los dibujos

Con el fin de que la invención pueda entenderse más claramente, ahora se describirán en detalle realizaciones de la misma a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1A es una ilustración esquemática de una mezcladora microfluídica de la técnica anterior (Burger 2009) que comprende dos depósitos de fluido conectados a una cámara a través de dos canales microfluídicos, en la que trayectorias paralelas, separadas, de flujos de fluido conducen a un mezclado ineficiente o a una ausencia de mezclado.

La figura 1B es una ilustración esquemática de una mezcladora microfluídica de la presente invención que comprende dos depósitos de fluido conectados a una cámara de mezclado a través de dos canales microfluídicos en la que se redirigen trayectorias de flujos de fluido mediante un único elemento de desviación situado en la cámara de mezclado.

La figura 1C es una ilustración esquemática de una mezcladora microfluídica de la presente invención que comprende dos depósitos de fluido conectados a una cámara de mezclado a través de dos canales microfluídicos, en la que se redirigen trayectorias de flujos de fluido mediante un diseño de elementos de desviación de múltiples alas situados en la cámara de mezclado.

La figura 2 representa resultados experimentales cuando se utiliza la mezcladora microfluídica de la técnica anterior representada en la figura 1A en un intento de mezclar dos flujos de fluido.

La figura 2A representa una configuración de líquidos cuando acaba de comenzar el flujo.

La figura 2B representa una configuración de líquidos al final del flujo.

La figura 2C representa una configuración de líquidos 5 minutos tras el final del flujo.

La figura 3 representa resultados experimentales cuando se utiliza realmente la mezcladora microfluídica de la presente invención representada en la figura 1C en un intento de mezclar dos flujos de fluido.

La figura 3A representa una configuración de líquidos cuando acaba de comenzar el flujo.

La figura 3B representa una configuración de líquidos al final del flujo.

La figura 3C representa una configuración de líquidos cinco minutos tras el final del flujo.

La figura 4 representa diseños esquemáticos para elementos de mezclado microfluídicos para tres flujos de líquido procedentes de tres canales utilizando uno (figura 4A), dos (figura 4B) o tres (figura 4C) elementos de desviación rectangulares.

La figura 5 representa ilustraciones en 3D de estructuras estampadas (o mecanizadas mediante CNC) para el diseño de elemento de mezclado microfluídico de la figura 4A, en la que la figura 5A representa un nivel de estampado y la figura 5B representa dos niveles de estampado en los que canales de llegada son menos profundos que la cámara de mezclado y el elemento de desviación.

La figura 6 representa una realización de la presente invención que presenta dos etapas, que también muestra la posibilidad de recirculación, y el mezclado en múltiples etapas.

#### Descripción de realizaciones preferidas

La presente invención comprende una mezcladora microfluídica en un dispositivo centrífugo microfluídico en el que dos o más flujos de líquido se mezclan eficientemente entre sí en una cámara de mezclado.

Haciendo referencia a la figura 1A, en una aplicación microfluídica de la técnica anterior (por ejemplo Burger 2009) en la que corrientes de líquido 12 y 13 fluyen simultáneamente desde los depósitos 2 y 3, respectivamente, hasta la cámara 1, los flujos llegan a las entradas 32 y 33 desde canales microfluídicos 22 y 23, respectivamente, y el flujo se fracciona en flujos (corrientes de pequeñas gotitas 42 y 43 mostradas), respectivamente. El tamaño de estas gotitas viene dictado por la fuerza del campo centrífugo, las fuerzas capilares en la entrada y la geometría de la entrada. A medida que se liberan las gotitas en dos puntos diferentes (es decir, las entradas 32 y 33) se acelerarán en la dirección radial (es decir, en la dirección del campo centrífugo) para llegar a dos puntos diferentes 52 y 53, respectivamente. Dado que estos dos puntos están relativamente lejos uno de otro, los dos líquidos tenderán a acumularse en cada mitad de la cámara para formar combinaciones separadas de cada líquido, con una superficie de contacto de mezclado determinada en gran medida por la sección transversal radial de la cámara. Dado que esta superficie de contacto presenta un área de superficie relativa muy pequeña, el mezclado por difusión será muy escaso. Por este motivo, la mayoría de las aplicaciones microfluídicas requieren una etapa de mezclado adicional en esta etapa para acelerar el mezclado entre los dos líquidos.

Haciendo referencia a la figura 1B, en una realización de la presente invención, los depósitos 102 y 103 proporcionan dos líquidos 112 y 113 que fluyen a través de canales microfluídicos 122 y 123 bajo la influencia de un campo centrífugo para emerger como flujos individuales 142 y 143 (mostrados como gotitas) en la cámara de mezclado 101 en las entradas 132 y 133. Un único elemento de desviación rectangular, recto, 105 está situado en la trayectoria de ambos flujos 142 y 143, que desvía los dos flujos para formar un flujo conjunto 145 (ilustrado esquemáticamente), forzando que ambos flujos lleguen en el mismo punto nominal 155 en la cámara de mezclado 101. En vez de seguir trayectorias en línea recta desde las entradas 132 y 133 como en la figura 1A, los flujos impactan sobre el elemento de desviación después de una pequeña caída (aunque en este caso no se requiere ninguna caída), y discurren a lo largo del deflector hasta un punto de desprendimiento común 165. El flujo conjunto abandona el elemento de desviación en el punto de desprendimiento 165 para seguir una trayectoria radial, ya que no hay ninguna obstrucción para la trayectoria entre el punto de desprendimiento y un

punto sobre la superficie de mezclado 155. Dado que el flujo impacta en el mismo punto 155, los líquidos, en lugar de tender a desarrollar combinaciones separadas, se apilarán uno encima de otro formando laminillas delgadas con un volumen muy pequeño (prácticamente el volumen de una única gotita, o una cantidad microscópica del fluido que se separa en el paso como flujo conjunto, o en el impacto) pero con un área de superficie de contacto muy grande proporcionada por las laminillas en la dirección de apilamiento. Dado que la razón de superficie con respecto a volumen aumenta enormemente, se espera que el mezclado por difusión se produzca rápidamente y, en algunos casos, de manera prácticamente instantánea.

Se apreciará que las formas y relación de aspecto de los depósitos, canales y cámara de mezclado son sustancialmente irrelevantes para la presente invención, siempre que el campo centrífugo permita el movimiento de fluido deseado. El volumen de la cámara de mezclado en función de la altura del fluido mezclado es una característica que puede tener un impacto sobre la calidad del mezclado, ya que afecta a la distancia entre el punto de desprendimiento y la superficie de mezclado.

Haciendo referencia a la figura 1C, en otra realización de la presente invención, los depósitos 202 y 203 proporcionan dos líquidos 212 y 213 que fluyen a través de canales microfluídicos 222 y 223 bajo la influencia de un campo centrífugo para emerger como flujos individuales 242 y 243 en la cámara de mezclado 201 en entradas 232 y 233. Un elemento de desviación de cuatro alas 205a-d que comprende cuatro fragmentos rectangulares rectos está situado en las trayectorias de ambos flujos 242 y 243, que desviará los flujos para formar un flujo conjunto 245 y forzará que el flujo conjunto llegue a un punto común 255 en la cámara de mezclado 201. En lugar de seguir trayectorias radiales desde las entradas 232 y 233 como en la figura 1A, los flujos impactan sobre los elementos de desviación y el flujo conjunto abandona el elemento de desviación en el mismo punto 265 para seguir una trayectoria radial. Dado que los flujos llegan al mismo punto 255, los líquidos, en lugar de tender a desarrollar combinaciones separadas, se apilan uno encima de otro formando laminillas delgadas con un volumen muy pequeño (prácticamente el volumen de una única gotita, o cantidad microscópica) pero con áreas de superficie de contacto muy grandes proporcionadas por la multitud de laminillas en la dirección de apilamiento. Dado que la razón de superficie con respecto a volumen se aumenta enormemente, el mezclado por difusión se produce más rápidamente, y en algunas aplicaciones puede ser prácticamente instantáneo.

Con referencia a la figura 2 y la figura 3, puede observarse la diferencia entre los comportamientos de dos líquidos que llegan a lugares separados (figura 2) en contraposición a llegar al mismo lugar (figura 3) en una superficie de mezclado. La figura 2 muestra resultados experimentales para la disposición de la técnica anterior sin elemento de desviación (por ejemplo Burger 2009) mientras que la figura 3 muestra resultados experimentales para la presente invención que utiliza un elemento de desviación de cuatro alas.

Haciendo referencia a la figura 2, se formaron dispositivos microfluídicos por PDMS estampado en caliente (que presentaba patrones para definir las características microfluídicas) sobre un sustrato de Zeonor plano. La cámara de mezclado tenía un volumen de 40  $\mu$ l, cada depósito tenía un volumen de 20  $\mu$ l, y los canales microfluídicos y las aberturas entre los depósitos y la cámara de mezclado tenían un diámetro hidráulico de aproximadamente 500  $\mu$ m. Se situaron dos líquidos de color diferente en los depósitos que se conectaron a través de canales radiales rectos con la cámara de mezclado, tal como se muestra en la figura 1a. Ambos líquidos eran agua destilada desionizada con colorante alimenticio disponible comercialmente. Se montó el dispositivo microfluídico en una centrífuga de fabricación interna y se hizo funcionar a una velocidad de 700 +/- 10 rpm. No se utilizó ningún elemento de desviación y los dos flujos llegan a lugares separados en la cámara. La progresión del flujo de líquido y el mezclado se ilustran mediante la progresión de la figura 2A a la figura 2C, en las que: la figura 2A representa una configuración de líquidos cuando acaba de comenzar el flujo; la figura 2B representa una configuración de líquidos al final del flujo; y la figura 2C representa una configuración de líquidos 5 minutos tras el final del flujo. Los diagramas esquemáticos debajo de cada experimento son perfiles dibujados a mano que muestran más claramente los límites entre los líquidos. Tal como puede observarse, durante el flujo los dos líquidos se acumulan en diferentes regiones de la cámara reduciendo por tanto su superficie de contacto mutua y reduciendo el mezclado por difusión relacionado. Al final del flujo (figura 2B), los líquidos todavía están significativamente separados uno de otro y permanecen separados en gran medida incluso después de 5 min (figura 2C). Las regiones con sombreado negro en los diagramas esquemáticos representan regiones en las que se ha producido mezclado.

Se repitió el experimento con los mismos materiales y equipos, excepto por la inclusión de los deflectores de la figura 1c en la cámara de mezclado. Se utilizó un elemento de desviación de cuatro alas y los dos flujos llegan al mismo lugar en la cámara de mezclado. La progresión del flujo de líquido y el mezclado se ilustra mediante la progresión de la figura 3A a la figura 3C, en las que la figura 3A representa una configuración de líquidos cuando acaba de comenzar el flujo, la figura 3B representa una configuración de líquidos al final del flujo, y la figura 3C representa una configuración de líquidos 5 minutos tras el final del flujo. Los diagramas esquemáticos debajo de cada experimento son perfiles dibujados a mano que muestran más claramente los límites, o ausencia de los mismos, entre los líquidos. Tal como puede observarse, cuando está presente el elemento de desviación, los líquidos se mezclan sustancialmente cuando se ven con volúmenes pequeños de fluidos parcialmente sin mezclar a ambos lados opuestos, lo cual concuerda con la deposición como capas sucesivas. Al final del flujo están altamente mezclados (figura 3B y figura 3C). Las regiones con sombreado negro en los diagramas

esquemáticos representan regiones en las que se ha producido mezclado. Al discretizar, deformar e intercalar los flujos, se reducen drásticamente las longitudes de difusión necesarias y los tiempos de difusión relacionados ( $t \propto l^2$ ).

5 Haciendo referencia a la figura 4, la invención puede generalizarse fácilmente para más de dos fluidos (por ejemplo 3, 4, 5 o más fluidos) utilizando o bien un elemento de desviación de ala individual (figura 4A) o bien elementos de desviación de múltiples alas (figura 4B y figura 4C) en la cámara de mezclado. La geometría del elemento de desviación puede variarse (por ejemplo recta o curvada) y pueden emplearse combinaciones de elementos de desviación curvados y rectos. La figura 4B muestra un elemento de desviación de dos alas y la figura 4C muestra un elemento de desviación de tres alas. En la figura 4A, la figura 4B y la figura 4C, se muestran tres canales para flujo de fluido que entran en la cámara de mezclado.

15 Haciendo referencia a la figura 5, pueden fabricarse dispositivos o bien mediante estampado o moldeo por inyección de un material de plástico o bien mediante mecanizado por CNC de prácticamente cualquier material compatible. Los canales microfluídicos y la cámara de mezclado pueden grabarse o bien al mismo nivel (figura 5A) o bien a profundidades diferentes (figura 5B) mediante estampado (mecanizado, moldeo por inyección) de la cámara más profunda que los canales.

20 Aunque las realizaciones anteriores no mostraron ningún canal de salida para la cámara de mezclado, se apreciará que muchas aplicaciones de la presente invención pueden utilizar un canal de este tipo con o sin dispositivos de control de flujo. Puede haber una variedad de estructuras o cámaras conectadas con la cámara de mezclado, según cualquier propósito adicional o función realizada en o por la cámara de mezclado. Por ejemplo, la cámara de mezclado puede servir como incubador, o proporcionar tratamiento térmico, químico o radiológico, y puede presentar conductos para limpiar o preparar la cámara antes o después del mezclado.

25 La figura 6 ilustra esquemáticamente otra realización de la presente invención que permite el mezclado en múltiples etapas. Específicamente, se equipa una cámara de mezclado de la forma mostrada en la figura 1B, de un canal de salida. El canal de salida conduce a una segunda cámara de mezclado que se muestra que es idéntica a la primera. Esta disposición permite el mezclado de flujos de fluido primero y segundo, expulsados en el canal de salida, con un tercer flujo de fluido, en la segunda cámara de mezclado.

30 La realización de la figura 6 no requiere un tercer flujo de fluido. En algunas realizaciones puede preferirse repetir la discretización, deformación y apilamiento de la salida, para mejorar adicionalmente el mezclado. Si la segunda cámara de mezclado es únicamente para este fin, el deflector en la segunda cámara puede eliminarse.

35 Además, en la técnica se conoce hacer recircular fluidos mediante un procedimiento de mezclado de manera iterativa durante una duración establecida, con vistas a homogeneizar una mezcla de fluidos. En la técnica se conoce utilizar bombas, tales como bombas de desplazamiento positivo, para recircular flujo desde una salida de cámara de mezclado de vuelta a su entrada. Al producir un ciclo de un primer fluido de esta manera, y añadir gradualmente el segundo fluido, puede proporcionarse el mezclado de una manera que puede preferirse para algunas aplicaciones.

### Bibliografía

45 Bhagat AAS, Peterson ETK, Papautsky I. (2007) A passive planar micromixer with obstructions for mixing at low Reynolds numbers. *J. Micromech. Microeng.* 17, 101 7-1024.

Bivin DB. (2008) Fluid Flow Control Device. Patente estadounidense US 7.316.245 expedida el 8 de enero de 2008.

50 Boden H, Rentz B, Ersfeld H, Nadolski K. (1992) Apparatus for the Continuous Preparation of a Liquid Reaction Mixture from Two Fluid Reactants. Patente estadounidense US 5.093.084 expedida el 3 de marzo de 1992.

Burger R, Reis N, *et al.* (2009) Droplet Mixer based on Siphon-Induced Flow Discretization and Phase Shifting. 2009 IEEE 22nd International Conference on Micro Electro Mechanical Systems. 443-446.

55 Capretto L, Cheng W, Hill M, Zhang X. (2011) Micromixing Within Microfluidic Devices. *Top Curr Chem.* 304, 27-68.

60 Chen J-J, Wu J-W. (2008) Fluid Flow Conducting Module. Patente estadounidense US 7.314.060 expedida el 1 de enero de 2008.

Coleman JT, McKechnie J, *et al.* (2006) High-efficiency electrokinetic micromixing through symmetric sequential injection and expansion. *Lab on a chip.* 6(8), 1033-1039.

65 David PR. (2006) Microfluidic Device for Parallel Delivery and Mixing of Fluids. Patente estadounidense US

6.994.749 expedida el 7 de febrero de 2006.

Fowler JE, Hsei PK. (1998) Apparatus for Mixing Laminar and Turbulent Flow Streams. Patente estadounidense US 5.826.981 expedida el 27 de octubre de 1998.

5 Gillis PA, Braun H, Schmidt J, Verwijs JW, Velten H, Piatkowski K. (2011) Tubular Reactor, Process for Conducting Liquid/Liquid Multiphase Reactions in a Tubular Reactor, and a Process for Ring-Nitrating Aromatic Compounds in a Tubular Reactor. Publicación de patente estadounidense US 2011/0043894 publicada el 22 de noviembre de 2011.

10 Grumann M, Geipel A, *et al.* (2005) Batch-mode mixing on centrifugal microfluidic platforms. *Lab on a chip*. 5(5), 560-565.

15 Larsen UD. (2001) Micro Mixer Having a Mixing Chamber for Mixing Two Liquids Through the Use of Laminar Flow. Patente estadounidense US 6.241.379 expedida el 5 de junio de 2001.

Lee C.-Y, Chang C-L, *et al.* (2011) Microfluidic mixing: a review. *International journal of molecular sciences*. 12(5), 3263-3287.

20 Link DR. (2009) Microfluidic device and method. Publicación de patente europea EP 2047910 publicada el 15 de abril de 2009.

Link D, Hutchinson B, Weiner M, Samuels M. (2010) Droplet Libraries. Publicación de patente internacional WO 2010/009365 publicada el 21 de enero de 2010.

25 Miller RT. (2009) Micro-Channels, Micro-Mixers, and Micro-Reactors. Publicación de patente estadounidense US 2009/0092526 publicada el 9 de abril de 2009.

30 Noroozi Z, Kido H, *et al.* (2009) Reciprocating flowbased centrifugal microfluidics mixer. *The Review of scientific instruments*. 80(7), 075102-075102.

Pugia MJ, Schulman LS, Kuo HH, Blankenstein G. (2008) Mixing in Microfluidic Devices. Patente estadounidense US 7.347.617 expedida el 25 de marzo de 2008.

35 Robertson RM, Laib S, *et al.* (2006) Diffusion of isolated DNA molecules: dependence on length and topology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(19), 7310-7314.

Stroock AD, Dertinger SKW, *et al.* (2002) Chaotic mixer for microchannels. *Science*. 295(5555), 647-651.

40 Suh YK, Kang S. (2010) A Review on Mixing in Microfluidics. *Micromachines*. 1(3), 82-111.

Teh S-Y, Lin R, Hung L-H, Lee AP. (2008) Droplet microfluidics. *Lab on a Chip*. 8, 198-220.

45 Otras ventajas que son inherentes a la estructura resultan evidentes para un experto en la materia. Las realizaciones se describen en la presente memoria de manera ilustrativa y no se pretende que limiten el alcance de la invención tal como se reivindica. Variaciones de las realizaciones anteriores resultarán evidentes para un experto habitual en la materia y el inventor pretende que queden abarcadas por las siguientes reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo microfluídico centrífugo, que comprende una cámara de mezclado microfluídica (101; 201) con por lo menos dos entradas (132, 133; 232, 233) a unos respectivos canales microfluídicos (122, 123; 222, 223) con diámetros hidráulicos inferiores a 1 mm, para permitir que unos flujos de fluido (142, 143; 242, 243) entren en la cámara (101; 201) desde cada canal (122, 123; 222, 223) bajo la influencia de un campo centrífugo, estando las entradas (132, 133) separadas de modo que unas trayectorias en línea recta del fluido no intersequen una superficie de mezclado en la cámara (101; 201) sustancialmente en un mismo lugar (155; 255) sobre la superficie, caracterizado por que la cámara (101; 201) presenta por lo menos un elemento de desviación (105; 205a-d) situado en las trayectorias, estando dicho por lo menos un elemento de desviación (105; 205a-d) orientado para desviar el flujo de modo que los flujos desviados entren en contacto con la superficie de mezclado sustancialmente en un mismo lugar (155; 255) sobre la superficie, presentando una trayectoria desde el elemento de desviación (105; 205a-d) hasta la superficie de mezclado una distancia de por lo menos 1 mm, de modo que cantidades microscópicas de los flujos de fluido (142, 143; 242, 243) impacten en la superficie, o el fluido depositado previamente, esparciéndose para formar una pila de capas delgadas alternantes de los respectivos fluidos, proporcionando una gran área de superficie para difusión.
2. Dispositivo según la reivindicación 1, en el que el elemento de desviación (105; 205a-d) comprende una característica sólida desarrollada en la cámara de mezclado (101; 201).
3. Dispositivo según la reivindicación 2, en el que la característica sólida comprende un ala individual.
4. Dispositivo según la reivindicación 2, en el que la característica sólida comprende múltiples alas.
5. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que las entradas (132, 133; 232, 233) están separadas una distancia por lo menos tan grande como el diámetro de los canales (122, 123; 222, 223).
6. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que sustancialmente el mismo lugar (155; 255) comprende una separación no superior al diámetro de los canales microfluídicos (122, 123; 222, 223).
7. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el elemento de desviación (105; 205a-d) presenta una geometría recta, una geometría curvada o una combinación de geometrías recta y curvada.
8. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que los canales microfluídicos (122, 123; 222, 223) están conectados cada uno a un respectivo depósito (102, 103; 202, 203), siendo los volúmenes de cada depósito inferiores a 1 ml.
9. Dispositivo según la reivindicación 8, en el que el depósito (102, 103; 202, 203) contiene: un líquido, un líquido que contiene una célula, un líquido que contiene un virus, un líquido que contiene una bacteria, un líquido que contiene material particulado, un líquido que contiene material particulado que está activado en la superficie, o un líquido que contiene una partícula magnética.
10. Dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la cámara (101; 201) presenta una salida, presentando la salida una posición proyectada sobre las trayectorias de por lo menos 1 mm por debajo del elemento de desviación (105; 205a-d).
11. Dispositivo según la reivindicación 10, en el que la salida está en comunicación fluídica con una cámara de mezclado secundaria a través de un tercer canal microfluídico con un diámetro hidráulico inferior a 1 mm, proporcionando la cámara de mezclado secundaria una trayectoria sin obstrucciones que presenta una distancia de por lo menos 1 mm antes de entrar en contacto con una superficie de mezclado.
12. Dispositivo según la reivindicación 11, en el que la cámara de mezclado secundaria presenta una segunda entrada, y uno o más deflectores respectivos para mezclar el fluido procedente de la cámara de mezclado microfluídica con otro fluido.
13. Procedimiento de mezclado de por lo menos dos flujos de fluido en un dispositivo microfluídico centrífugo, comprendiendo el procedimiento:
- proporcionar por lo menos dos entradas microfluídicas en una cámara de mezclado (101; 201) del dispositivo con diámetros hidráulicos inferiores a 1 mm, y
  - crear un flujo de fluido (142, 143; 242, 243) a través de cada entrada (132, 133; 232, 233) bajo la influencia de un campo centrífugo, estando las entradas (132, 133; 232, 233) separadas en la cámara (101; 201) de modo que unas trayectorias en línea recta de los flujos (142, 143; 242, 243) intersequen una superficie de mezclado en la cámara (101; 201) en lugares sustancialmente diferentes sobre la superficie;

caracterizado por

- 5 c. desviar, mediante un elemento de desviación (105; 205ad), los flujos de fluido (142, 143; 242, 243) antes de que los flujos (142, 143; 242, 243) entren en contacto con la superficie de mezclado de modo que los flujos (142, 143; 242, 243) entren en contacto con la superficie de mezclado sustancialmente en el mismo lugar (155; 255); y
- 10 d. proporcionar una trayectoria sin obstrucciones entre el elemento de desviación (105; 205a-d), y la superficie de mezclado que presenta una distancia de por lo menos 1 mm de modo que cantidades microscópicas de los flujos de fluido (142, 143; 242, 243) impacten en la superficie, o el fluido depositado previamente, esparciéndose para formar una pila de capas delgadas alternantes de los respectivos fluidos, proporcionando una gran área de superficie para difusión.
- 15 14. Procedimiento según la reivindicación 13, en el que la desviación se logra proporcionando un elemento de desviación sólido desarrollado en la cámara de mezclado (101; 201) en las trayectorias de la entrada, presentando el elemento de desviación una superficie de desviación dispuesta en un ángulo oblicuo con respecto al campo centrífugo.

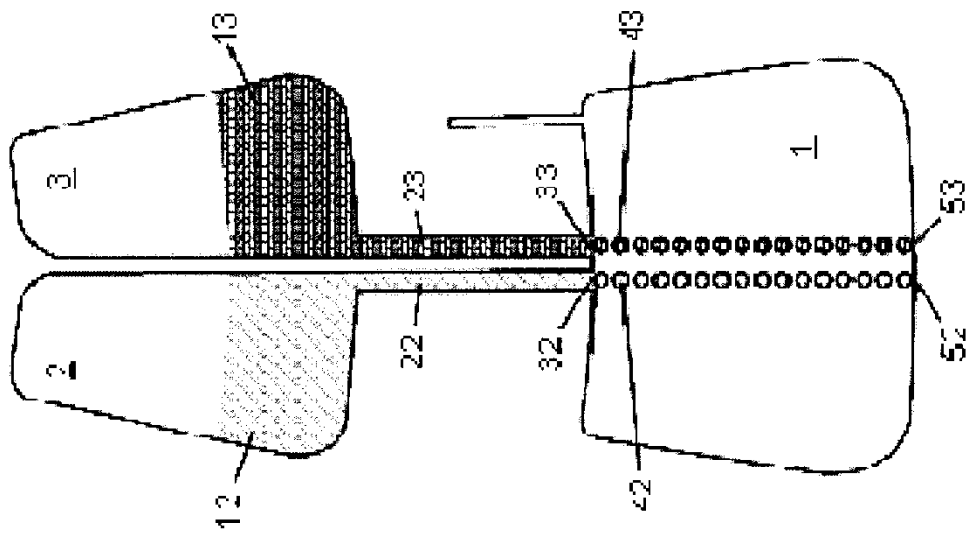


Fig. 1A  
Técnica anterior

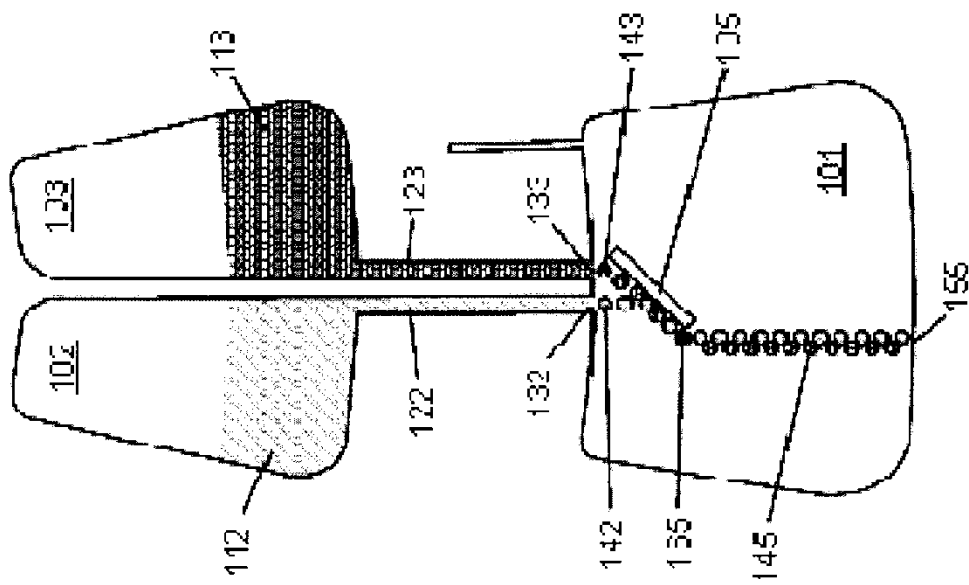


Fig. 1B

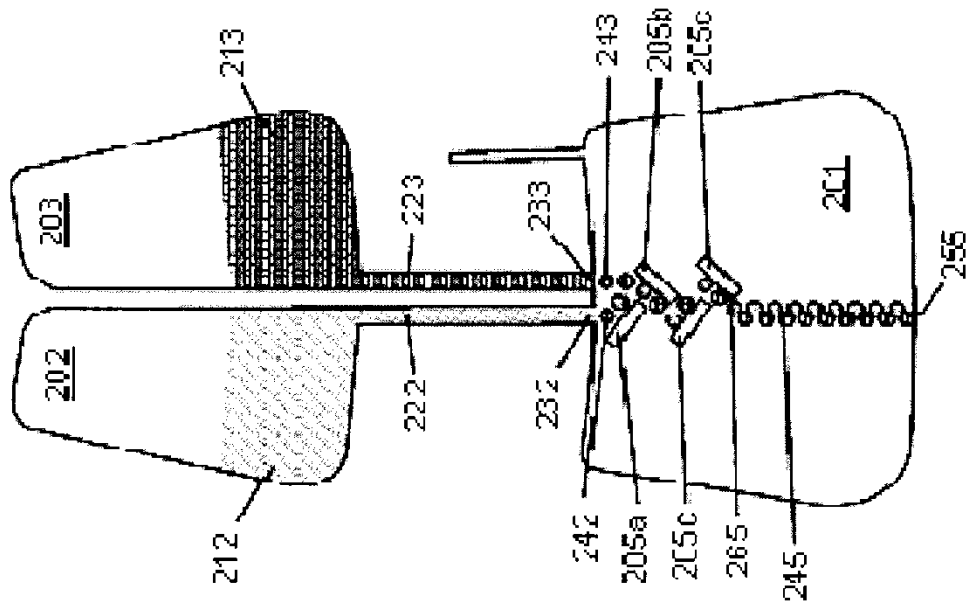


Fig. 1C

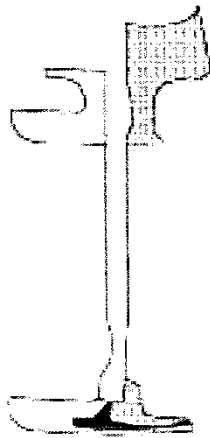
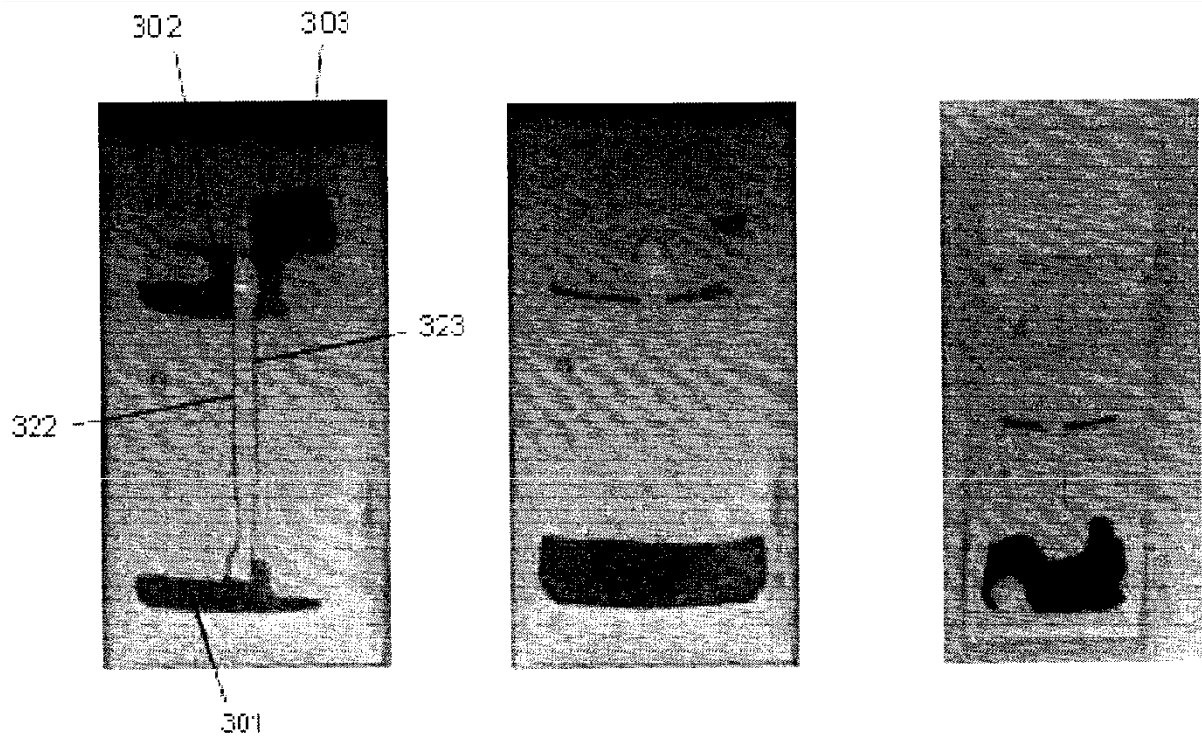


Fig. 2A  
Técnica anterior

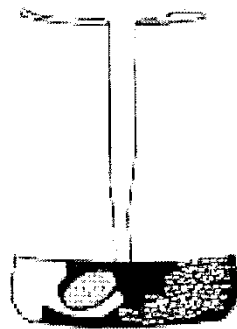


Fig. 2B  
Técnica anterior

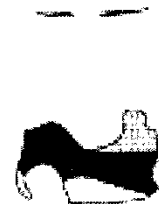


Fig. 2C  
Técnica anterior

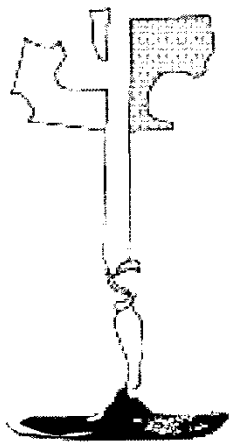
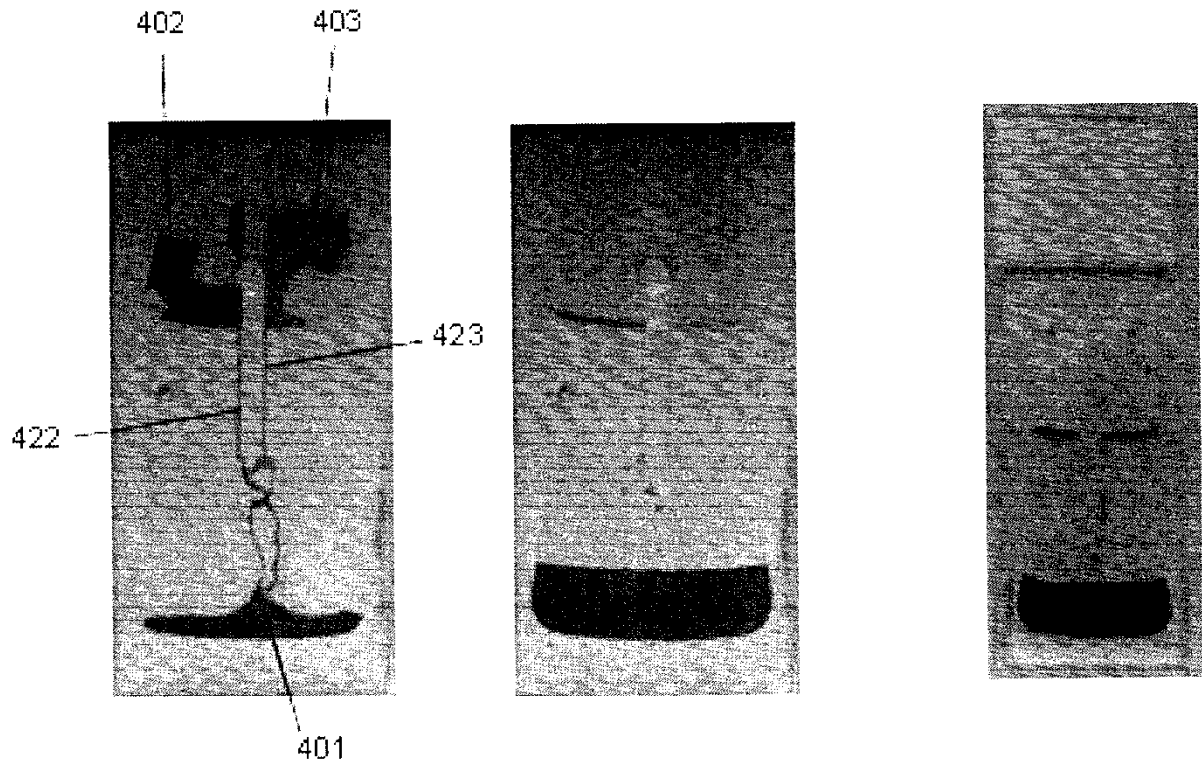


Fig. 3A

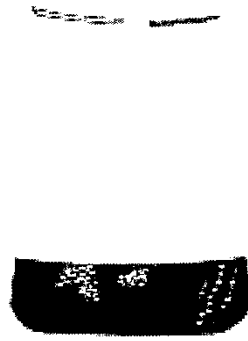


Fig. 3B



Fig. 3C

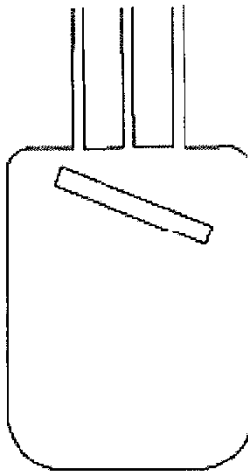


Fig. 4A

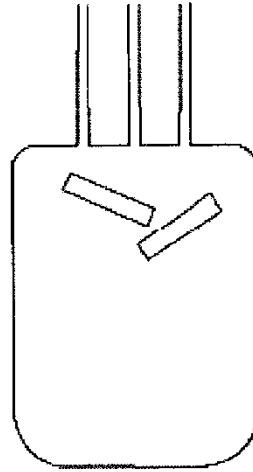


Fig. 4E

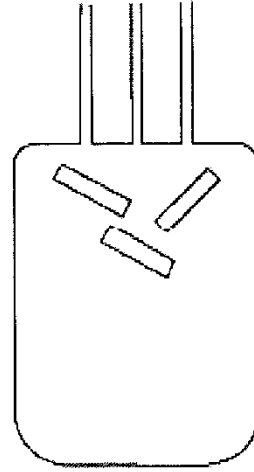


Fig. 4C

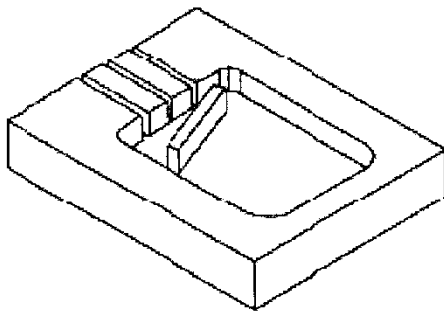


Fig. 5A

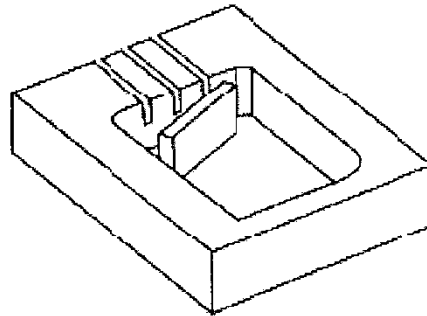


Fig. 5B

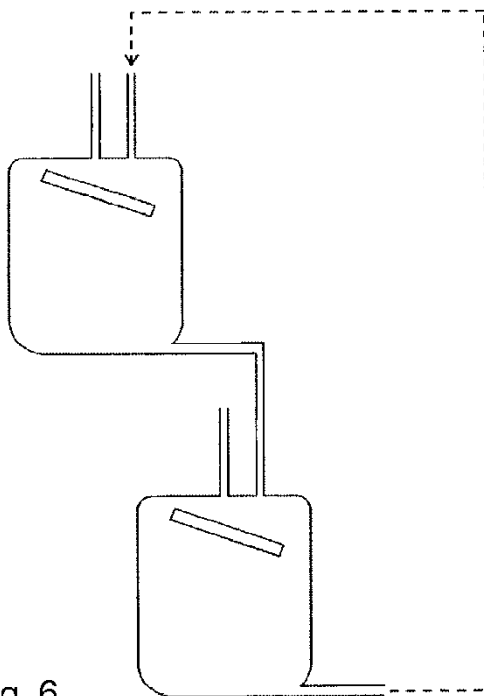


Fig. 6