

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **238792**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **409492**

(22) Data zgłoszenia: **16.09.2014**

(51) Int.Cl.  
**G01N 33/48 (2006.01)**  
**B01L 3/00 (2006.01)**  
**C12M 1/34 (2006.01)**  
**B81C 3/00 (2006.01)**  
**B81B 7/00 (2006.01)**

---

(54) **Układ mikroprzepływowy do sedymentacji, przeznaczony zwłaszcza do przygotowania próbki krwi do analizy**

---

(43) Zgłoszenie ogłoszono:  
**29.03.2016 BUP 07/16**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:  
**04.10.2021 WUP 27/21**

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT CHEMII FIZYCZNEJ POLSKIEJ  
AKADEMII NAUK, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**ADAM SAMBORSKI, Warszawa, PL**  
**PAWEŁ JANKOWSKI, Mińsk Mazowiecki, PL**  
**JACEK A. MICHALSKI, Warszawa, PL**  
**JUDYTA WĘGRZYN, Stalowa Wola, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Krystian Żygadło**

---

**PL 238792 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest układ mikroprzepływowy do sedymentacji zawierający komorę sedymentacyjną, przeznaczony zwłaszcza do przygotowania próbki krwi do analizy. Układ mikroprzepływowy według wynalazku może znaleźć zastosowanie w urządzeniach pozwalających na wykonywanie analiz przy łóżku pacjenta.

Systemy typu *point of care testing* [POCT] są definiowane jako urządzenia pozwalające na wykonywanie analiz przy łóżku pacjenta. Do głównych zalet POCT należy ich przenośny charakter, skrócony czas analizy oraz obniżone koszty użycia, związane głównie z małym zużyciem reagentów oraz prostotą urządzenia. Jak dotąd skonstruowano wiele urządzeń pozwalających na analizę próbek krwi lub moczu pod kątem zawartości różnych biomedycznych markerów (np. glukozy) lub obecności substancji chemicznych (m. in. psychoaktywnych) i patogenów.

Z uwagi na różnorodność elementów architektonicznych wchodzących w skład układów mikroprzepływowych (mikrokanaly, mikrokomory, różnego typu połączenia kanałów, etc.) oraz sposoby ich funkcjonowania (przepływ ciągły, generacja kropeł) urządzenia te mogą stanowić doskonałe narzędzia spełniające wymagania systemów typu POCT.

Należy zaznaczyć, iż wiele testów może zostać przeprowadzonych dopiero po uprzednim oddzieleniu osocza bądź surowicy od elementów morfotycznych krwi [Kersaudy-Kerhoas and Sollier, *Lab on Chip*, 13, 2013, 3323–3346],

Najprostszym i najczęściej stosowanym sposobem na oddzielenie osocza lub surowicy od elementów morfotycznych krwi jest wirowanie. Pozwala ono na separację znacznych ilości osocza lub surowicy w czasie 6–20 minut, w zależności od ustawionych warunków. Należy jednak zaznaczyć, iż wymaga ono zastosowania większych (zwykle mililitrowych objętości krwi) i odpowiedniego sprzętu – wirówki. Ponadto odwirowywanie, jako dodatkowy etap poprzedzający analizę, zwiększa prawdopodobieństwo zanieczyszczenia analizowanej próbki. Zmniejszenie liczby etapów analizy przyczynia się do obniżenia niniejszego ryzyka.

Korzystne jest zatem zintegrowanie wszystkich modułów koniecznych do przeprowadzenia danej analizy. Z uwagi na to mikrofiltracja oraz techniki sedymentacyjne stanowią lepsze rozwiązanie przy konstrukcji nowych urządzeń dedykowanych testom opartym o próbki krwi.

Mikrofiltracja obejmuje kilka metod: przepuszczanie próbki przez podłoża porowate [Homsy et al., *Biomicrofluidics*, 2012, 6, 012804], membrany [Thorslund et al., *Biomed. Microdevices*, 2006, 8, 73; Moorthy et al., *Lab Chip*, 2003, 3, 62] bądź mikrokanaly wypełnione ziarnistym złożem [Li et al., *Biomd. Microdevices*, 2012, 14, 565; Li et al., *Talanta*, 2012, 97, 376]. Niektóre z wymienionych metod wymagają rozcieńczenia próbek [Moorthy et al., *Lab Chip*, 2003, 3, 62], a dodatkowo ich użycie wymaga zastosowania wolnego przepływu przez membrany, w celu uniknięcia ich odkształcenia, które mogłoby przyczynić się do przepuszczania krwinek przez ich pory. Jednakże zwolnienie prędkości przepływu sprzyja zwiększonej adhezji białek na powierzchni bariery filtracyjnej (membrany bądź złoża), co prowadzi do jej zablokowania.

Wykorzystanie procesu sedymentacji pozwala na wyeliminowanie niniejszego problemu, z uwagi na to, że separacja osocza bądź surowicy zachodzi pod wpływem grawitacji lub w związku ze zjawiskami zachodzącymi w przepływie. Sedymentacja jest najstarszą techniką stosowaną w celu oddzielenia krwinek od płynnej części krwi. Prędkość sedymentacji czerwonych krwinek zależy od płci oraz stanu zdrowia pacjenta. Co więcej, jest jednym z markerów obecności stanu zapalnego w organizmie osoby badanej (Odczyn Biernackiego). Proces sedymentacji może być połączony z filtracją w przepływie [Yoon et al., *Water Resour. Res.*, 2006, 42, W06417] lub filtracją przez materiały porowate [Wu et al., *J. Med. Biol. Eng.*, 2012, 32, 163]. W każdym z wymienionych przypadków konieczne jest rozcieńczenie badanej próbki, w celu obniżenia prawdopodobieństwa zablokowania porów przez krwinki. Jednakże wprowadzanie rozcieńczeń może okazać się ograniczeniem przy prowadzeniu oznaczeń indywidualów o niskim stężeniu we krwi.

Oprócz opisanych sposobów na pozyskanie osocza bądź surowicy można tego dokonać także stosując separację opartą o fale akustyczne [Jing et al., *J. Micromech. and Microeng.*, 2011, 21, 085019; Lenshof et al., *Anal. Chem.*, 2009, 81, 6030], pole elektryczne [Das et al., *Snal. Chem.*, 2005, 77, 2708], magnetyczne [Takayasu et al., *J. Chromatogr.*, 2000, 10, 927], jednak ze względu na ich złożoność oraz fakt, że wymagają one zastosowania wyrafinowanego sprzętu wydają się mniej praktyczne, ponieważ jednym z wymagań urządzeń typu POCT jest prostota działania.

W tajwańskim zgłoszeniu patentowym TW201332661 ujawniono układ mikrofluidyczny w kształcie dysku zawierający wlot próbki do wprowadzania próbek krwi lub próbek biologicznych, rowek rozdzielający połączony z wlotem próbki, przy czym rowek rozdzielający zawiera część w kształcie łuku oraz rowek zbierający połączony z rowkiem rozdzielającym.

W chińskim zgłoszeniu patentowym CN102978109 opisano układ mikroprzepływowy zawierający głównie zbiornik wlotowy komórek (1), zbiornik wlotowy kolagenu (2), komorę hodowli komórkowej (3) i zbiornik cieczy odpadowej (4). Górna część komory hodowli komórkowej (3) jest połączona ze zbiornikiem wlotowym komórek (1). Dolna komora hodowli komórkowej (3) jest połączona ze zbiornikiem cieczy odpadowej (4). Każdy zbiornik wlotowy kolagenu zawiera odpowiednio cztery komory obserwacyjne. Zbiorniki wlotu kolagenu są połączone z komorą hodowli komórkowej (3). Zgodnie z wynalazkiem konstrukcja i charakterystyka modelu bariery krew-mózg *in vitro* oraz ocena funkcji bariery są zintegrowane w chipie o powierzchni kilku centymetrów kwadratowych, a chip może być wykorzystany do symulacji *in vitro* i późniejszych zastosowań modelu bariery krew-mózg.

W związku z powyższym, spośród wszystkich znanych technik, największym potencjałem charakteryzują się te, których działanie opiera się o sedymentację. Choć nie jest ona pozbawiona ograniczeń – wymaga ona stosowania niskich wartości prędkości przepływu, gdyż zbyt szybki przepływ może stać się przyczyną niestabilności między zsedymetowanymi krwinkami, a odseparowanym osoczem/surowicą – to jednak pozwala na dokonanie rozdziału niewielkich objętości krwi (do kilku mikrolitrów) bez konieczności uprzedniego rozcieńczenia próbki.

Znane są układy mikroprzepływowe do sedymentacji zawierające cylindryczną komorę sedymentacyjną (ścianka boczna cylindra stanowi ściankę boczną komory), do której przez wylot uchodzi kanał doprowadzający i z której przez poszerzony wlot odchodzi kanał główny, przy czym wlot kanału głównego stopniowo zwęża się półkolistie w kierunku od komory do kanału głównego. W układach tych pojawiają się jednak szereg problemów związanych m.in. z niejednorodnym wypełnieniem komory (pęcherzykami powietrza w komorze) oraz zaciąganiem zsedymetowanych krwinek przy odciąganiu osocza.

Celem wynalazku jest opracowanie układu mikroprzepływowego z komorą sedymentacyjną, który będzie charakteryzował się prostotą i skutecznością zarówno w działaniu jak i budowie, a w szczególności będzie pozwalał na rozwiązanie problemów znanych w stanie techniki.

Nieoczekiwanie okazało się, że zastosowanie podłużnych komór sedymentacyjnych pozwoliło wyeliminować problem niejednorodnego wypełnienia komory.

Istotą wynalazku jest układ mikroprzepływowy do sedymentacji, przeznaczony zwłaszcza do przygotowania próbki krwi do analizy, zawierający pompy strzykawkowe do generowania zmian ciśnienia w układzie, celkę pomiarową i mikroprocesor, i zawierający komorę wstępną (9) połączoną płynowo przez wylot kanału doprowadzającego (4) z komorą sedymentacyjną (1), połączoną płynowo poprzez złącze typu T z kanałem głównym (5) poprzez poszerzony wlot kanału głównego (2) i wlot kanału głównego (3), przy czym do złącza typu T przyłączony jest moduł odcinający (6), i kanał główny (5) jest połączony na wylocie z zestawem mieszalników (7), przy czym zestaw mieszalników (7) zawiera układ szeregowo połączonych komór mieszalników (8), przy czym szerokość komory sedymentacyjnej (1) jest większa niż szerokość każdego ze wspomnianych kanałów, głębokość komory sedymentacyjnej (1) jest większa niż głębokość każdego ze wspomnianych kanałów, zaś obszar poszerzonego (2) wlotu kanału głównego (5) stopniowo zwęża się w kierunku od komory (1) do kanału głównego (5), i łączy się poprzez wlot kanału głównego (3) z kanałem głównym (5), umożliwiając przepływ cieczy z kanału doprowadzającego (4) przez komorę sedymentacyjną (1) do kanału głównego (5) (główny kierunek przepływu cieczy), gdzie wymiary elementu wspomnianego układu określone są w pozycji roboczej układu i głębokością jest wymiar mierzony w kierunku działania siły grawitacji, długością wymiar mierzony w głównym kierunku przepływu cieczy, a szerokością wymiar mierzony w kierunku prostopadłym do głównego kierunku przepływu cieczy (długości) i prostopadłym do kierunku działania siły grawitacji (głębokości), charakteryzujący się tym, że stosunek maksymalnej długości  $L_1$  komory sedymentacyjnej (1) do jej maksymalnej szerokości  $w_1$  jest większy niż 1, korzystnie większy niż 3, przy czym komora sedymentacyjna (1) stopniowo zwęża się w kierunku wylotu kanału doprowadzającego (4),

przy czym stosunek maksymalnej głębokości komory sedymentacyjnej  $h_1$  do głębokości kanału głównego  $h_2$  wynosi co najmniej 5, korzystnie co najmniej 10,

przy czym głębokość komory  $h_1$  wynosi co najmniej 0,5 mm,

przy czym maksymalna długość  $L_2$  obszaru poszerzonego wlotu kanału głównego (2) wynosi od 5% do 30%, korzystnie 20% maksymalnej długości komory sedymentacyjnej  $L_1$ .

W pozycji roboczej, czyli w pozycji, w której przewiduje się użytkowanie układu zgodnie z przeznaczeniem, układ zorientowany jest w taki sposób, że kierunek przepływu cieczy przez układ jest zasadniczo kierunkiem poziomym. Ciecz przepływa zasadniczo od wylotu kanału doprowadzającego do wlotu kanału głównego (główny kierunek przepływu), przy czym nie wyklucza się obszarów przepływu turbulentnego. Komora sedymentacyjna zorientowana jest tak, że w kierunku pionowym (w kierunku działania siły grawitacji) ma głębokość większą niż głębokość kanałów.

Korzystnie układ mikroprzepływowy zawiera dodatkowo moduł odcinający do oddzielania określonej objętości osocza od reszty strumienia.

Korzystnie układ mikroprzepływowy zawiera co najmniej jeden mieszalnik obejmujący komorę mieszalnika, do której przez wylot uchodzi kanał główny i z której przez wlot odchodzi kanał główny, przy czym komora mieszalnika stanowi poszerzenie kanału głównego.

Korzystnie komora mieszalnika ma kształt ściętego ostrosłupa, do którego postawy doprowadzony jest wylot kanału głównego.

Korzystnie wylot kanału głównego doprowadzony jest do rzeczonyj podstawy w jej środkowej części.

Korzystnie objętość komory mieszalnika jest zasadniczo równa objętości segmentu obejmującego dwa następujące po sobie segmenty substancji, które mają być wymieszane w komorze, korzystnie segmentu osocza i segmentu analitu.

Korzystnie układ mikroprzepływowy zawiera zestaw mieszalników obejmujący od 2 do 4, korzystnie 2 komory mieszalnika.

Korzystnie układ mikroprzepływowy wykonany jest z poliwęglanu.

Zastosowanie w układzie mikroprzepływowym podłużnych komór sedymentacyjnych pozwoliło na wyeliminowanie problemu niejednorodnego wypełnienia komory (pęcherzyków powietrza) występującego w przypadku znanych komór cylindrycznych.

Kształt obszaru poszerzenia wlotu kanału głównego według wynalazku pozwolił na zmniejszenie mobilności elementów morfotycznych i ograniczenie problemu zaciągania uprzednio zsedymetowanych krwinek podczas odciągania osocza, który występował przy innych kształtach wlotu, np. przy wlotach o wyoblonych obszarach zwężenia.

Układ z komorą sedymentacyjną według wynalazku pozwala na oddzielenie osocza od elementów morfotycznych krwi w ciągu zaledwie kilku minut.

Układ mikroprzepływowy według wynalazku charakteryzuje się skutecznością i prostotą zarówno w działaniu, jak i w budowie. Po zakończeniu procesu sedymentacji pozyskane osocze/surowica może być poddane dalszym analizom.

W korzystnych przykładach wykonania, tzn. jeśli układ zawiera moduł odcinający, urządzenie pozwala dodatkowo na dzielenie uzyskanej objętości osocza na mniejsze porcje, które następnie mogą być mieszane z odczynnikami stosowanymi w standardowych oznaczeniach analitycznych (enzymy, substraty do reakcji enzymatycznych, etc.). Dodatkowo, każda porcja może zostać użyta do odrębnej reakcji.

Zastosowanie mieszalników według wynalazku pozwala na wymieszanie segmentów badanego płynu (np. segmentów osocza z segmentami analitu), zwłaszcza gdy segmenty te płyną jeden za drugim.

Dodatkowo zastosowanie odpowiedniej geometrii komory mieszalnika (komora w kształcie ostrosłupa) pozwoliło uniknąć problemów związanych z pienieniem się mieszaniny surowica – analit, które występują przy innych kształtach mieszalników i stanowią poważny problem podczas analiz.

Obsługa układu mikroprzepływowego wymaga zastosowania jedynie urządzenia do generowania podciśnienia wymuszającego przepływ w układzie, np. pompy strzykawkowej, układu mikroprocesorowego służącego do sterowania zaworami oraz detektora.

Wynalazek zostanie teraz bliżej przedstawiony w korzystnych przykładach wykonania, z odniesieniem do załączonych figur rysunku, na których:

- na fig. 1 przedstawiono układ mikroprzepływowy z komorą sedymentacyjną w widoku z góry,
- na fig. 2 przedstawiono układ mikroprzepływowy w innym przykładzie realizacji komory sedymentacyjnej w widoku z góry,
- na fig. 3 przedstawiono pionowy przekrój przez układ mikroprzepływowy z komorą sedymentacyjną w płaszczyźnie zawierającej kanały,

- na fig. 4 przedstawiono schemat układu mikroprzepływowego zawierającego komorę separacyjną, moduł odcinający i układ trzech mieszalników,
- na fig. 5 przedstawiono wykres zależności objętości uzyskanego osocza względem czasu sedymentacji,
- na fig. 6 przedstawiono wykres zależności objętości uzyskanego osocza względem prędkości zaciągania.

#### Przykład I – geometria komór sedymentacyjnych

Przykłady korzystnych geometrii komór sedymentacyjnych według wynalazku przedstawiono na fig. 1, fig. 2 i fig 3.

Komora sedymentacyjna (1) o głębokości  $h_1$  zawiera wylot kanału doprowadzającego (4), wlot kanału głównego (3) oraz obszar poszerzonego wlotu kanału głównego (2). Obszar poszerzonego wlotu kanału głównego (2) ma głębokość  $h_2$  równą głębokości kanału głównego (5). Szerokość obszaru poszerzonego wlotu kanału głównego (2) jest równa szerokości komory sedymentacyjnej (1) w jej pobliżu, a następnie wlot stopniowo zwęża się w kierunku od komory (1) do kanału głównego (3) w taki sposób, że w przekroju w płaszczyźnie prostopadłej do kierunku działania siły grawitacji ścianki boczne obszaru zwężenia poszerzonego wlotu (2) kanału głównego (3) są odcinkami prostymi przebiegającymi skośnie do siebie.

#### Przykład II – układ mikroprzepływowy zawierający komorę sedymentacyjną

Układ zbudowano z kilku modułów zintegrowanych na jednej poliwęglanowej płytce: komory sedymentacyjnej, modułu odcinającego, mieszalników oraz celki pomiarowej. Na cały zestaw eksperymentalny, oprócz układu mikroprzepływowego, składał się zestaw pomp strzykawkowych, z których jedna pracowała w systemie zaciągania płynu, druga natomiast miała za zadanie generować nadciśnienie konieczne do odcięcia żądanej objętości osocza/surowicy, oraz układ mikroprocesorowy pozwalający na sterowanie zaworami i analizę sygnału ze spektrofotometru. Proces separacji był monitorowany dzięki zastosowaniu stereoskopu oraz kamery LCD.

Układ mikroprzepływowy wykonano z poliwęglanu (Macrolon, Bayer). W pierwszym etapie sieć kanałów oraz komora sedymentacyjna zostały odwzorowane na powierzchni 5-milimetrowych płytek poliwęglanowych z zastosowaniem frezarki (MSG4025, ErgWind, Poland). Następnie powierzchnia płytek została oczyszczona, wypolerowana w parach chlorku metylenu, umieszczona w izopropanolu w łaźni ultradźwiękowej, a następnie poddana łączeniu pod wpływem ciśnienia (15 MPa) i temperatury (130°C, a zatem niższej od temperatury przejść szklistego) na 30 minut.

Najistotniejszą częścią układu jest komora sedymentacyjna (1), w której dochodzi do oddzielenia elementów morfotycznych krwi od jej płynnej części. Proces sedymentacji jest poprzedzony przez zdeponowanie za pomocą pipety próbki krwi o objętości 25  $\mu$ L wewnątrz komory sedymentacyjnej. Po wypełnieniu komory układ zostaje pozostawiony na czas potrzebny do umożliwienia krwinkom sedymentacji. Po tym czasie osocze/surowica już zaczyna zwilżać ścianki układu i powoli wpływać do światła kanału głównego. Uruchomienie pompy pozwala na odciągnięcie osocza/surowicy, które może być następnie poddane dalszym zabiegom.

Funkcją modułu odcinającego (6) jest odcięcie określonej objętości surowicy krwi, przepływającej kanałem głównym, przy pomocy zdefiniowanej objętości analitu, dostarczanego kanałem prostopadłym do głównego. Przepływ w układzie wymuszany jest przez generowane przy pomocy pompy strzykawkowej podciśnienie, a sam proces odcinania jest wynikiem wypchnięcia segmentu analitu do kanału głównego pod wpływem otwarcia zaworu i uprzednio wygenerowanego przez pompę strzykawkową nadciśnienia.

Funkcją mieszalników (7) jest zapewnienie dokładnego wymieszania segmentu surowica – analit otrzymanego w module odcinającym; moduł mieszający złożony jest z zestawu mieszalników (od 2 do 4, korzystnie 2), które stanowią rozszerzenia kanału głównego. Kształt mieszalników (ścięty ostrosłup), uwidoczniony na fig. 4 został tak dobrany, aby umożliwić całkowite wymieszanie segmentu osocza i reagenta płynących początkowo jeden za drugim.

Schemat układu mikroprzepływowego zawierającego komorę separacyjną, moduł odcinający i układ trzech mieszalników zilustrowano na fig. 4. Do komory sedymentacyjnej (1) doprowadzony jest wylot kanału doprowadzającego (4) oraz poszerzony wlot kanału głównego (2). Głębokość kanałów oraz obszaru poszerzonego wlotu kanału głównego  $h_2 = 0,1$  mm jest mniejsza od głębokości komory  $h_1 = 1$  mm pozostałego obszaru komory (fig. 3). Długość komory wynosi  $L_1 = 9,35$  mm, a długość obszaru spłynienia wynosi  $L_2 = 2$  mm, natomiast szerokość komory w najszerszym miejscu wynosi  $w_1 = 2$  mm. Promień zakrzywienia obszaru przy wlocie kanału doprowadzającego wynosi  $R_1 = 0,5w_1$ .

Kąt pomiędzy ściankami bocznymi obszaru zwężenia poszerzonego wlotu kanału głównego (2) przy wlocie kanału głównego (3) wynosi  $\alpha_1 = 90^\circ$ .

Układ zawiera także moduł odcinający (6) zawierający złącze T z kanałem prostopadłym do kanału głównego (5), detektor umieszczony przy kanale głównym za złączem T, zawór umieszczony w kanale prostopadłym do kanału głównego (5) oraz pompę strzykawkową do generowania nadciśnienia sprężającego powietrze lub roztwór analitu przed wtłoczeniem do kanału głównego. Za modułem odcinającym umieszczony jest zestaw mieszalników (7). Wymiary komory mieszalnika (8) wynoszą odpowiednio  $L_8 = 7,39$  mm,  $w_8 = 1,5$  mm oraz  $\alpha_8 = 9^\circ$ . Komora wstępna (9) umieszczona przed komorą sedymentacyjną (1) o wymiarach  $L_9 = 5$  mm i  $w_9 = 1$  mm zabezpiecza komorę sedymentacyjną (1) przed pojawieniem się pęcherzyków powietrza w czasie wyciągania osocza.

#### Przykład III – optymalizacja czasu sedymentacji i prędkości przepływu

Układ mikroprzepływowy zawierający komorę sedymentacyjną wykorzystano do optymalizacji czasu sedymentacji i prędkości przepływu.

Optymalizacja procesu rozdzielania osocza od elementów morfotycznych krwi wymaga nie tylko określenia kształtu i wielkości komory sedymentacyjnej, ale także czasu sedymentacji oraz prędkości przepływu zastosowanej do pozyskiwania osocza po sedymentacji.

Podczas badań korzystano z krwi pochodzącej od dawców, udostępnionej przez Regionalne Centrum Krwiodawstwa. Badana krew była poddawana wcześniejszej analizie pod kątem morfologicznym. Do badań enzymatycznych użyto analitu (EC 3.3.1.1; glukanohydrolaza 1,4- $\alpha$ ,D-glukanomam, Cormay) do wyznaczania aktywności amylazy zawartej we krwi, co ma szczególne znaczenie w chorobach trzustki.

Podczas badań nad wyznaczaniem optymalnego czasu potrzebnego na rozdzielenie elementów morfotycznych od osocza zastosowano układ mikroprzepływowy z komorą sedymentacyjną zamieszczoną na fig. 1. Na fig. 5 przedstawiono zależność uzyskiwanej ilości osocza od czasu sedymentacji. Czas sedymentacji zdefiniowano jako czas liczony od momentu napełnienia komory sedymentacyjnej próbką krwi do chwili ponownego uruchomienia pompy w celu odciągnięcia osocza. Wyniki przedstawione na wykresie sugerują, iż czas niezbędny do uzyskania 3–6  $\mu$ L osocza z 25  $\mu$ L pełnej krwi wynosi co najmniej 6 minut, zaś maksymalna wartość to 14 minut. Z przeprowadzonych eksperymentów wynika, że wydłużanie czasu sedymentacji nie wpływa na jakość rozdziła.

Czystość oraz objętość osocza otrzymywanego w komorze sedymentacyjnej była zależna od przyłożonej prędkości przepływu. Zbyt niska wartość prędkości przepływu okazała się niewystarczająca do wymuszenia przepływu oddzielonego od krwinek osocza, podczas gdy zbyt wysoka wartość przyczyniała się do wymywania wraz z osoczem uprzednio zsedymetowanych elementów morfotycznych. Na fig. 6 przedstawiono objętość uzyskiwanego osocza w funkcji wartości prędkości przepływu. Dodatkowo przedstawione na wykresie krzywe odnoszą się do różnych czasów sedymentacji (4 min lub 8 min), a badane próbki krwi pochodzą od różnych dawców. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że wypompowywanie osocza z komory sedymentacyjnej powinno zachodzić dostatecznie wolno, by nie spowodować ruchu krwinek, czyli w niniejszym przypadku z prędkością ok. 0,1 mL/h.

#### **Oznaczenia użyte na figurach**

- 1 – komora sedymentacyjna
- $L_1$  – długość komory sedymentacyjnej
- $w_1$  – szerokość komory sedymentacyjnej
- $h_1$  – głębokość komory sedymentacyjnej
- $R_1$  – promień krzywizny początkowej części komory sedymentacyjnej
- 2 – obszar poszerzonego wlotu kanału głównego
- $h_2$  – głębokość obszaru poszerzonego wlotu kanału głównego
- $L_2$  – długość obszaru poszerzonego wlotu kanału głównego
- $\alpha_2$  – kąt pomiędzy ściankami bocznymi obszaru zwężenia poszerzonego wlotu kanału głównego
- 3 – wlot kanału głównego
- 4 – wylot kanału doprowadzającego
- 5 – kanał główny
- 6 – moduł odcinający
- 7 – zestaw mieszalników
- 8 – komora mieszalnika
- $L_8$  – długość komory mieszalnika

- $\alpha_8$  – kąt rozwarcia pomiędzy ściankami bocznymi komory mieszalnika
- $w_8$  – szerokość podstawy komory mieszalnika
- 9 – komora wstępna
- $L_9$  – długość komory wstępnej
- $w_9$  – szerokość komory wstępnej

## Zastrzeżenia patentowe

1. Układ mikroprzepływowy do sedymentacji, przeznaczony zwłaszcza do przygotowania próbki krwi do analizy, zawierający pompy strzykawkowe do generowania zmian ciśnienia w układzie, celkę pomiarową i mikroprocesor, i zawiera komorę wstępną połączoną (9) płynowo przez wylot kanału doprowadzającego (4) z komorą sedymentacyjną (1), połączoną płynowo poprzez złącze typu T z kanałem głównym (5) poprzez poszerzony wlot kanału głównego (2) i wlot kanału głównego (3), przy czym do złącza typu T przyłączony jest moduł odcinający (6), i kanał główny (5) jest połączony na wylocie z zestawem mieszalników (7), przy czym zestaw mieszalników (7) zawiera układ szeregowo połączonych komór mieszalników (8), przy czym szerokość komory sedymentacyjnej (1) jest większa niż szerokość każdego ze wspomnianych kanałów, głębokość komory (1) jest większa niż głębokość każdego ze wspomnianych kanałów, zaś obszar poszerzonego (2) wlotu kanału głównego (5) stopniowo zwęża się w kierunku od komory (1) do kanału głównego (5), i łączy się poprzez wlot kanału głównego (3) z kanałem głównym (5), umożliwiając przepływ cieczy z kanału doprowadzającego (4) przez komorę (1) do kanału głównego (5) (główny kierunek przepływu cieczy),  
gdzie wymiary elementów wspomnianego układu określane są w pozycji roboczej układu i głębokością jest wymiar mierzony w kierunku działania siły grawitacji, długością wymiar mierzony w głównym kierunku przepływu cieczy, a szerokością wymiar mierzony w kierunku prostopadłym do głównego kierunku przepływu cieczy (długości) i prostopadłym do kierunku działania siły grawitacji (głębokości)  
**znamienny tym, że**  
stosunek maksymalnej długości  $L_1$  komory sedymentacyjnej (1) do jej maksymalnej szerokości  $w_1$  jest większy niż 1, korzystnie większy niż 3, przy czym komora sedymentacyjna (1) stopniowo zwęża się w kierunku wylotu kanału doprowadzającego (4),  
przy czym stosunek maksymalnej głębokości komory sedymentacyjnej  $h_1$  do głębokości kanału głównego  $h_2$  wynosi co najmniej 5, korzystnie co najmniej 10,  
przy czym głębokość komory  $h_1$  wynosi co najmniej 0,5 mm,  
przy czym maksymalna długość  $L_2$  obszaru poszerzonego wlotu kanału głównego (2) wynosi od 5 do 30%, korzystnie 20% maksymalnej długości komory sedymentacyjnej U.
2. Układ mikroprzepływowy według zastrz. 1, **znamienny tym**, że w pozycji roboczej układu, w przekroju w płaszczyźnie prostopadłej do kierunku działania siły grawitacji ścianki boczne obszaru (2) zwężenia poszerzonego wlotu kanału głównego (3) są odcinkami prostymi przebiegającymi skośnie do siebie, korzystnie pod kątem  $90^\circ$ .
3. Układ mikroprzepływowy według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że zawiera dodatkowo moduł odcinający (6) do oddzielania określonej objętości osocza od reszty strumienia.
4. Układ mikroprzepływowy według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że zawiera co najmniej jeden mieszalnik obejmujący komorę mieszalnika (8), do której przez wylot uchodzi kanał główny i z której przez wlot odchodzi kanał główny, przy czym komora mieszalnika (8) stanowi poszerzenie kanału głównego (5).
5. Układ mikroprzepływowy według zastrz. 4, **znamienny tym**, że komora mieszalnika (8) ma kształt ściętego ostrosłupa, do którego postawy doprowadzony jest wylot kanału głównego (5).
6. Układ mikroprzepływowy według zastrz. 5, **znamienny tym**, że wylot kanału głównego (5) doprowadzony jest do rzeczonyj podstawy w jej środkowej części.

7. Układ mikroprzepływowy według dowolnego z zastrzeżeń od 4 do 5, **znamienny tym**, że objętość komory mieszalnika (8) jest zasadniczo równa objętości segmentu obejmującego dwa następujące po sobie segmenty substancji, które mają być wymieszane w komorze (8), korzystnie segmentu osocza i segmentu analitu.
8. Układ mikroprzepływowy według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że zawiera zestaw mieszalników (7) zawierający od 2 do 4, korzystnie 2, komory mieszalnika (8).
9. Układ mikroprzepływowy według dowolnego z dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że wykonany jest z poliwęglanu.

Rysunki

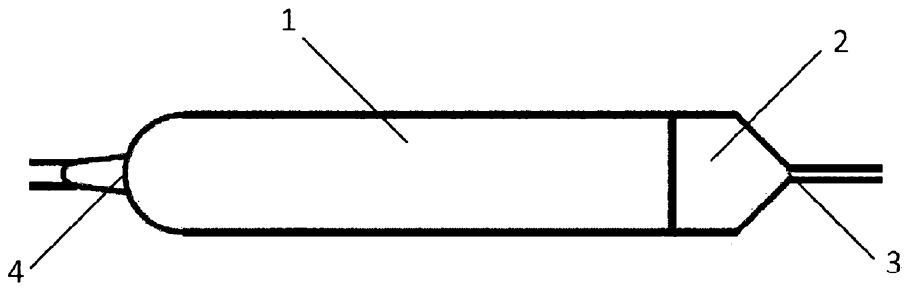


Fig. 1

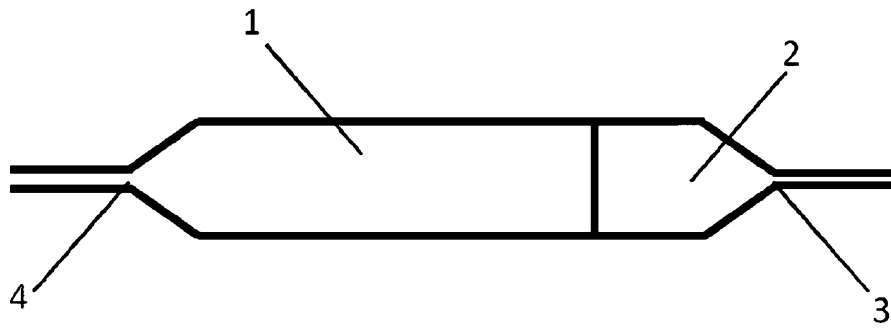


Fig. 2

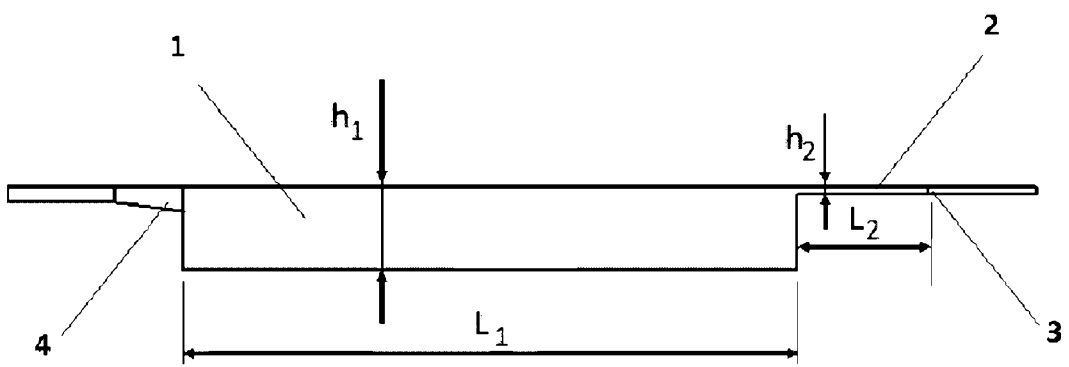


Fig. 3

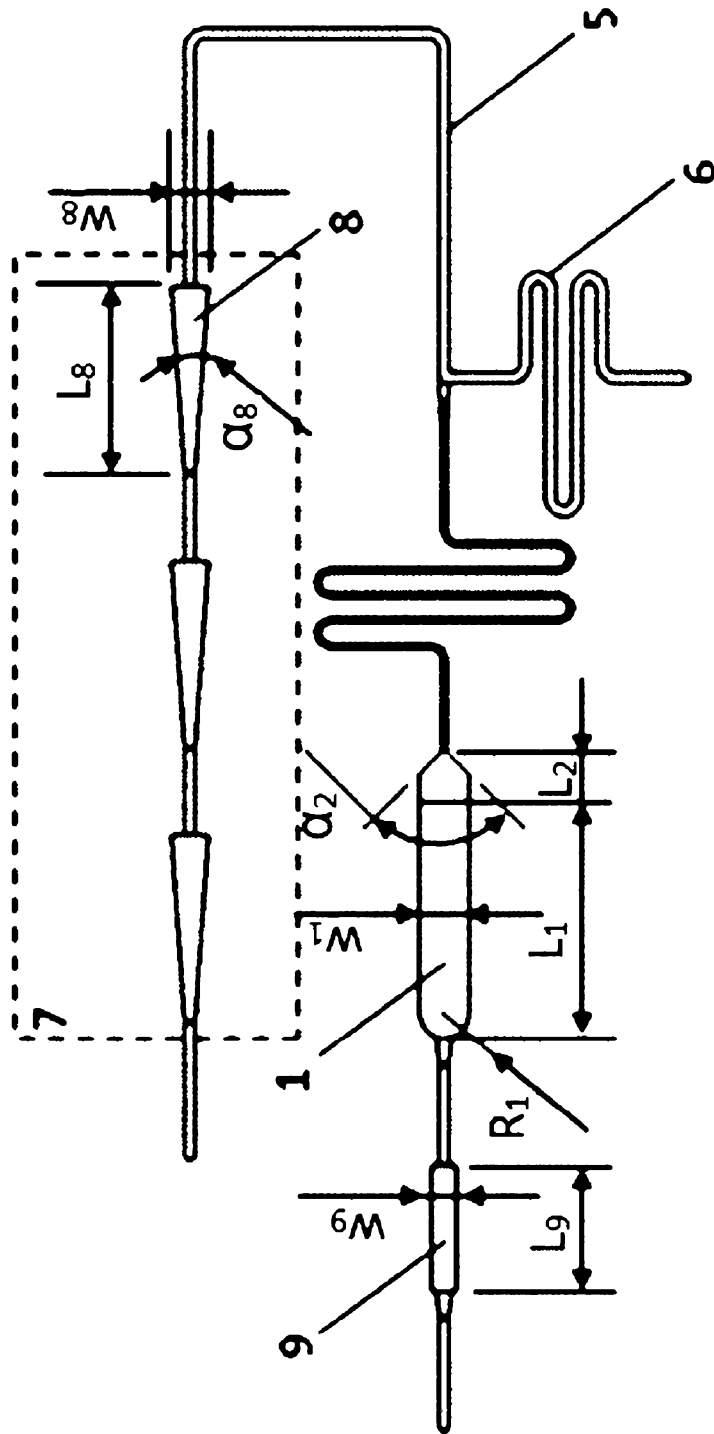


Fig. 4

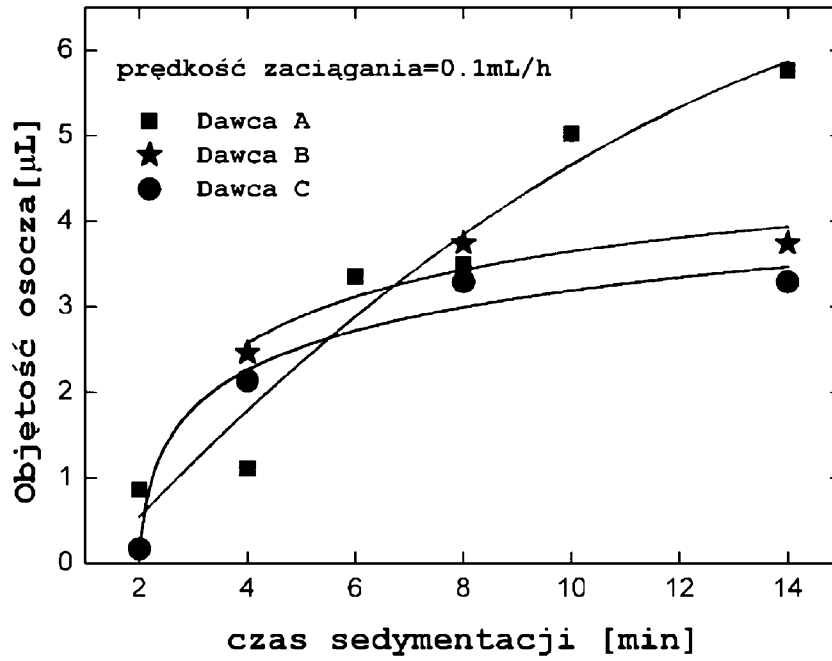


Fig. 5

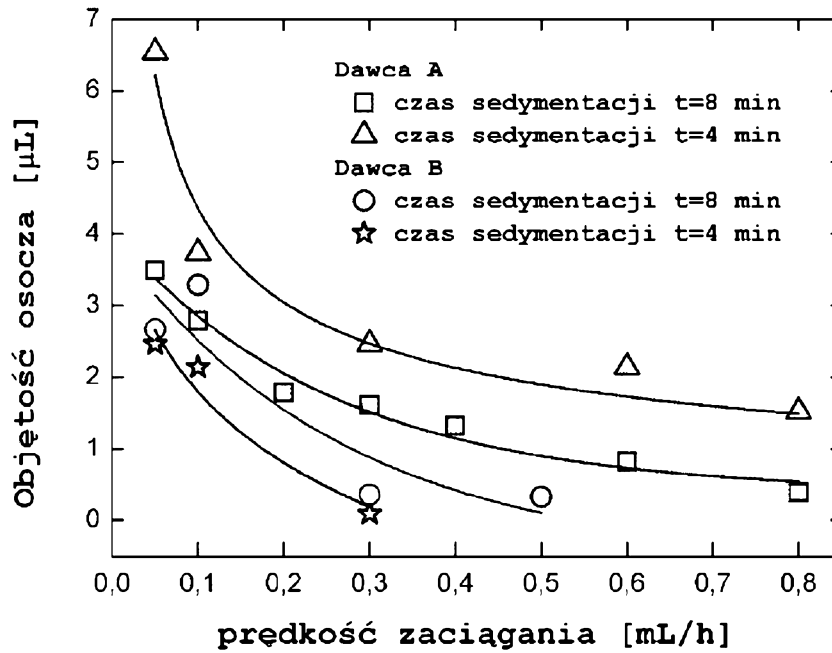


Fig. 6