

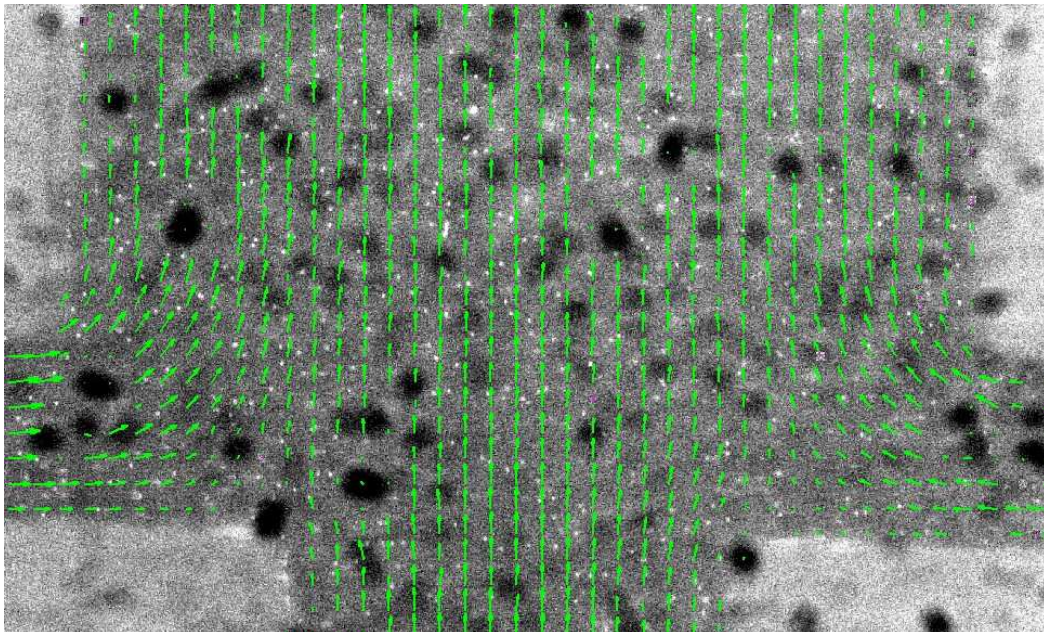


ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΡΕΥΣΤΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΜΕΛΕΤΗ ΡΟΗΣ ΠΑΘΗΤΙΚΟΥ ΜΙΚΡΟΑΝΑΜΕΙΚΤΗ
ΜΑΙΑΝΔΡΙΚΗΣ ΓΕΩΜΕΤΡΙΑΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ Micro-PIV**

**FLOW STUDY OF A MEANDER PATH PASSIVE
MICROMIXER WITH THE USE OF Micro-PIV**



ΚΑΡΩΝΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ

Επιβλέπων: Δ.Σ. ΜΑΘΙΟΥΛΑΚΗΣ

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Ιούλιος 2015

Πρόλογος

Οι απαιτήσεις στην φαρμακοβιομηχανία, την χημεία και την βιοχημεία για νέες και αποτελεσματικές τεχνολογίες ανάμιξης, οδήγησαν τα τελευταία χρόνια στην εντατική ανάπτυξη και εξέλιξη μιας μεγάλης ποικιλίας μικρορευστονικών συστημάτων. Ο παραπάνω όρος αναφέρεται σε συστήματα με χαρακτηριστικά μεγέθη στην κλίμακα των μικρομέτρων. Η μείωση της κλίμακας μεγέθους οδηγεί σε αυξημένη διάχυση και ανάμιξη, καθώς και σε υψηλούς λόγους επιφάνειας προς όγκο, γεγονός που συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη μεταφορά θερμότητας και μάζας. Εν γένει τα μικρορευστονικά συστήματα σε σύγκριση με τα μακρορευστονικά πλεονεκτούν ως προς το μέγεθος, τους μικρότερους χρόνους ανάλυσης, την μικρότερη κατανάλωση δείγματος και την αναλωσιμότητα.

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει σκοπό την μελέτη της ροής εντός ενός μικροαναμίκτη για ενζυματική πέψη του DNA, που σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε στο Ινστιτούτο μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. 'Δημόκριτος'. Το πειραματικό μέρος της εργασίας περιλαμβάνει δύο μέρη. Στο πρώτο γίνεται μελέτη του πεδίου ταχυτήτων εντός του αναμίκτη με χρήση της μεθόδου Micro-PIV και στο δεύτερο γίνεται μελέτη της διάχυσης σωματιδίων ανιχνευτών στον αναμίκτη.

Στο 1^ο Κεφάλαιο, γίνεται αρχικά μια κατηγοριοποίηση και περιγραφή των διαφόρων ειδών μικροαναμικτών που έχουν κατασκευαστεί. Στην συνέχεια αναλύονται οι κυριότερες μέθοδοι κατασκευής τους (Φωτολιθογραφία, Χημική εναπόθεση ατμού, Θερμική οξείδωση, Φυσική εναπόθεση ατμού, Ξηρά εγχάραξη, Υγρή εγχάραξη, Θερμομόρφωση, Μικροχύτευση με έγχυση, Μαλακή λιθογραφία, Εγχάραξη με Λείζερ) και τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα που εμφανίζουν. Τέλος παρουσιάζονται τα συνήθη πεδία όπου βρίσκουν εφαρμογές οι μικροαναμίκτες, κυρίως στην χημική βιομηχανία (κρυστάλλωση, οργανική σύνθεση, πολυμερισμός, εκχύλιση) και στην κλινική ιατρική (ταυτοποίηση βιοχημικών προϊόντων, διάγνωση, εύρεση φαρμάκων, διερεύνηση των συμπτωμάτων των ασθενειών) και τις βιολογικές μελέτες (ενζυμικές δοκιμές, λύση κυττάρων, αναδίπλωση πρωτεϊνών). Το κύριο πλεονέκτημα που παρουσιάζουν οι μικροαναμίκτες, είναι η ταχύτητα της ανάμιξης, η οποία οφείλεται στους μικρούς χρόνους διάχυσης και η ταχεία τους απόκριση σε μεταβολές της θερμοκρασίας, λόγω του μεγάλου λόγου επιφάνειας προς όγκο που τους χαρακτηρίζει.

Στο δεύτερο κεφάλαιο γίνεται αρχικά μια περιγραφή της μεθόδου PIV και παρουσίαση των κυρίων τεχνικών χαρακτηριστικών της και των ιδιοτήτων των σωματιδίων ανιχνευτών. Στην συνέχεια παρουσιάζεται μια τυπική πειραματική διάταξη PIV και αναλύεται η λειτουργία των διαφόρων μερών της. Εξετάζεται η αρχή λειτουργία των Laser, του μικροσκοπίου φθορισμού, και των αισθητήρων κάμερας CCD και CMOS. Τέλος παρουσιάζονται οι έννοιες της αυτοσυσχέτισης και της ετεροσυσχέτισης, τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία εικόνας (καθορισμός διανυσμάτων ταχυτήτων) που προκύπτει μέσω μ-PIV.

Στο τρίτο κεφάλαιο, γίνεται περιγραφή της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή των πειραμάτων και παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά της αντλίας, της κάμερας, του μικροσκοπίου, του Laser, των σωματιδίων ανιχνευτών και του αναμίκτη.

Στο πέμπτο κεφάλαιο, αρχικά αναλύονται τα θέματα που ανέκυψαν κατά την πειραματική διαδικασία και η αντιμετώπισή τους. Στην συνέχεια περιγράφεται το

πείραμα μέτρησης του πεδίου ταχυτήτων εντός του αναμίκτη, με χρήση micro-PIV, η μέθοδος επεξεργασίας των αποτελεσμάτων και τελικά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα και γίνεται σχολιασμός τους. Ακολουθεί τέλος περιγραφή του πειράματος μετρήσεως συγκεντρώσεων και παρουσίαση και σχολιασμός των αποτελεσμάτων. Στο κεφάλαιο αυτό παρατίθενται και οι δύο κώδικες σε Matlab που χρησιμοποιήθηκαν για την επεξεργασία των μετρήσεων των δύο πειραμάτων.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να αφιερώσω την παρούσα διπλωματική μου εργασία στους γονείς μου που με στήριζαν πάντα, με στηρίζουν ακόμα και με βοηθούν να επιτύχω τους στόχους μου.

Ευχαριστώ θερμά τον κύριο Μαθιουλάκη, που μου έδωσε αρχικά την ευκαιρία να ασχοληθώ με αυτό το τόσο ενδιαφέρον πειραματικό θέμα, καθώς και για την προθυμία του να με βοηθήσει και να προσφέρει τις επιστημονικές του γνώσεις πάνω στο αντικείμενο.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω το Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών ‘ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ’ – ‘Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής’, για την παροχή των μικροαναμικτών, και του υπολοίπου εξοπλισμού που χρειαστήκαμε στην πορεία αλλά και για την τεχνική τους υποστήριξη. Συγκεκριμένα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Γ.Κόκκορη, την Δρ. Α. Τσερέπη, την κυρία Γ. Κάπρου, MSc, υποψήφια διδάκτωρ, την κυρία Ι. Κεφαλά, MSc, καθώς και τον κύριο Β.Παπαδόπουλο, MSc.

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1 ^ο	6
1.1 Εισαγωγή	6
1.2 Ταξινόμηση μικροαναμικτών	7
1.2.1 Παθητικοί μικροαναμικτές.....	8
1.2.1.1 Τ και Υ μικροαναμεικτές.....	8
1.2.1.2 Μικροαναμικτές παράλληλης διαστρωμάτωσης	9
1.2.1.3 Μικροαναμικτές σειριακής /διαδοχικής διαστρωμάτωσης.....	10
1.2.1.4 Μικροαναμικτές υδροδυναμικής εστίασης	12
1.2.1.5 Μικροαναμικτές χαστικής συναγωγής.....	15
1.2.1.6 Μικροαναμεικτές σταγονιδίων	20
1.2.2 Ενεργητικοί μικροαναμεικτές	23
1.2.2.1 Μαγνητο-υδροδυναμικοί μικροαναμικτές.....	24
1.2.2.2 Μικροαναμικτές υπερήχων	25
1.2.2.3 Μικροαναμικτές πεδίου πίεσης	25
1.2.2.4 Μικροαναμικτές ηλεκτροδιαβροχής.....	26
1.2.2.5 Διηλεκτροφορητικοί μικροαναμικτές	26
1.2.2.6 Μικροαναμικτές ηλεκτροκινητικής διαταραχής.....	27
1.3 Τεχνολογίες κατασκευής μικροαναμικτών.....	27
1.3.1 Φωτολιθογραφία	28
1.3.2 Χημική εναπόθεση ατμού – Chemical Vapor Deposition	30
1.3.3 Θερμική οξείδωση – Thermal Oxidation	30
1.3.4 Φυσική εναπόθεση ατμού – Physical Vapor Deposition	30
1.3.5 Ξηρά εγχάραξη – Dry etching.....	31
1.3.6 Υγρή εγχάραξη – Wet etching	31
1.3.7 Θερμομόρφωση – Hot embossing	31
1.3.8 Μικροχύτευση με έγχυση – Injection molding.....	32
1.3.9 Μαλακή λιθογραφία – Soft lithography	32
1.3.10 Εγχάραξη με Λείζερ – Laser Machining.....	33
1.4 Σφράγιση Μικρορευστονικών Διατάξεων.....	34
1.5 Εφαρμογές της τεχνολογίας μικροαναμικτών	35
1.5.1 Χημική Βιομηχανία	35
1.5.1.1 Μικροαναμικτές ως μικροαντιδραστήρες	35
1.5.1.2 Εφαρμογές κρυστάλλωσης	36
1.5.1.3 Εφαρμογές εκχύλισης	36

1.5.1.4 Εφαρμογές πολυμερισμού	37
1.5.2 Βιολογικές εφαρμογές	38
1.5.2.1 Εφαρμογές σε ενζυμικές δοκιμές	38
1.5.2.2 Εφαρμογές βιολογικού διαχωρισμού	39
1.5.2.3 Εφαρμογές σε βιοαναλυτικές διεργασίες	40
1.5.2.4 Αναδίπλωση πρωτεϊνών	42
Βιβλιογραφία 1 ^{ου} Κεφαλαίου	43
Κεφάλαιο 2 ^ο	46
2.1 Εισαγωγή	46
2.2 Συνοπτική περιγραφή της μεθόδου Particle Image Velocimetry (PIV) , σύγκριση με μ-PIV	47
2.3 Τυπική διάταξη συστήματος micro - PIV	49
2.3.1 Σωματίδια ανιχνευτές	49
2.3.1.1 Ρευστομηχανικές ιδιότητες	49
2.3.1.2 Συμπεριφορά κατά την σκέδαση φωτός	51
2.3.2 Laser	52
2.3.2.1 Πληθυσμιακή αναστροφή	53
2.3.3 Κάμερα	58
2.3.3.1 Camera CCD και CMOS	58
2.3.3.2 Χαρακτηριστικά μεγέθη φακών	60
2.3.4 Μικροσκόπιο φθορισμού	61
2.3.4.1 Φθορισμός	61
2.4 Επεξεργασία εικόνας, Αυτοσυσχέτιση - ετεροσυσχέτιση	64
Βιβλιογραφία 2 ^{ου} Κεφαλαίου	67
Κεφάλαιο 3 ^ο	69
3.1 Αντλία	69
3.2 Κάμερα	69
3.3 Μικροσκόπιο	70
3.4 Λείζερ Εικόνα 3.4	71
3.5 Σωματίδια	71
3.6 Μικροαναμίκτης	71
Βιβλιογραφία 3 ^{ου} Κεφαλαίου	74
Κεφάλαιο 4 ^ο	75
4.1 Προετοιμασία, δοκιμές και αντιμετώπιση θεμάτων που ανέκυψαν	75
4.1.1 Φυσαλίδες αέρα	75
4.1.2 Προσκόλληση σωματιδίων στο κανάλι	76
4.1.3 Αποκόλληση του Lamination	76

4.2 Μέτρηση πεδίου ταχυτήτων με micro-PIV	76
4.2.1 Τοποθέτηση μικροαναμείκτη	77
4.2.2 Λήψη και επεξεργασία των μετρήσεων με το Insight 4G	78
4.2.3 Παρουσίαση πειραματικών αποτελεσμάτων	80
4.3 Μέτρηση συγκεντρώσεων	124
4.3.1 Στόχος και περιγραφή πειράματος	124
4.3.2 Επεξεργασία εικόνας στην Matlab	124
4.3.3 Παρουσίαση αποτελεσμάτων.....	126
Βιβλιογραφία 4^{ου} Κεφαλαίου	141
Συμπεράσματα	142
Παράρτημα 1	143
Παράρτημα 2	149

Κεφάλαιο 1°

Μικροαναμίκτες

1.1 Εισαγωγή

Οι αυξημένες απαιτήσεις στην φαρμακοβιομηχανία, την χημεία και την βιοχημεία για νέες και αποτελεσματικές τεχνολογίες ανάμιξης, οδήγησαν τα τελευταία χρόνια στην εντατική ανάπτυξη και εξέλιξη μιας μεγάλης ποικιλίας μικρορευστονικών συστημάτων. Ο παραπάνω όρος αναφέρεται σε συστήματα με χαρακτηριστικά μεγέθη στην κλίμακα των μικρομέτρων. Η μείωση αυτή των διαστάσεων έχει ως αποτέλεσμα η συμπεριφορά του ρευστού να καθορίζεται περισσότερο από τις δυνάμεις συνεκτικότητας παρά από αδρανειακές δυνάμεις, καθώς ο αριθμός Reynolds μειώνεται με την μείωση της διατομής του καναλιού. Από την άλλη, η μείωση της κλίμακας μεγέθους οδηγεί σε υψηλούς λόγους επιφάνειας προς όγκο, γεγονός που συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη μεταφορά θερμότητας. Εν γένει τα μικρορευστονικά συστήματα σε σύγκριση με τα μακρορευστονικά πλεονεκτούν ως προς το μέγεθος, τους μικρότερους χρόνους ανάλυσης, την μικρότερη κατανάλωση ποσότητας ρευστού δείγματος και την αναλωσιμότητα. Η ανάμιξη συμβαίνει εν γένει σε δύο στάδια στους μικροαναμίκτες: Ετερογενής ανάμιξη μέσω συναγωγής και ομογενής σε μοριακό επίπεδο, μέσω διάχυσης.

Η ραγδαία ανάμιξη είναι απαραίτητη σε πολλά από τα μικρορευστονικά συστήματα που χρησιμοποιούνται στην βιοχημική ανάλυση, την χορήγηση φαρμάκων και στον καθορισμό της αλληλουχίας, ή την σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων. Βιολογικές διεργασίες, όπως οι ενζυμικές αντιδράσεις και η αναδίπλωση πρωτεϊνών, συχνά περιλαμβάνουν αντιδράσεις που απαιτούν ανάμιξη των αντιδρώντων για την έναρξή τους. Η ανάμιξη είναι επίσης απαραίτητη σε lab-on-a-chip (LOC) συσκευές, όπου επιτελούνται πολύπλοκες χημικές αντιδράσεις. Οι μικροαναμίκτες μπορούν να ενταχθούν σε ένα μικρορευστονικό σύστημα ή να δουλεύουν ως μεμονωμένες συσκευές. Επιπλέον, η μελέτη των μικροαναμικτών είναι θεμελιώδης για την κατανόηση των φαινομένων μεταφοράς στην μικροκλίμακα.

1.2 Ταξινόμηση μικροαναμικτών

Οι μικροαναμίκτες είναι το πιο σημαντικό τμήμα ενός μικρορευστονικού συστήματος και μπορούν να χωριστούν σε δύο κύριες κατηγορίες, σε ενεργητικούς και παθητικούς. Στους ενεργητικούς μικροαναμίκτες η διαδικασία της ανάμιξης επιταχύνεται μέσω της άσκησης εξωτερικών δυνάμεων, οι οποίες εισάγουν χρονικά μεταβαλλόμενα πεδία διαταραχών. Τα πεδία αυτά διαταράσσουν την ροή του ρευστού, επιταχύνοντας την ανάμιξη. Αντίθετα στους παθητικούς μικροαναμίκτες, τα ρευστά κινούνται με την βοήθεια αντλίας και αναμιγνύονται μέσω της γεωμετρίας της διαδρομής που διανύουν.

Οι μικροαναμίκτες χαρακτηρίζονται από τρεις κυρίως αδιάστατους αριθμούς: τον Reynolds, τον Peclet και τον Strouhal.

Όπως αναφέρθηκε πριν τα μικρά μεγέθη, οδηγούν σε μικρές τιμές του αριθμού Reynolds, όπου:

$$Re = \frac{\rho u L}{\mu} = \frac{\text{αδρανειακές δυνάμεις}}{\text{δυνάμεις συνεκτικότητας}}$$

και επομένως σε στρωτή ροή στις μικρορευστομηχανικές διατάξεις. Σε μια ροή με χαμηλό αριθμό Reynolds κυριαρχούν οι δυνάμεις συνεκτικότητας έναντι των αδρανειακών.

Ο αριθμός Peclet ορίζεται ως:

$$Pe = \frac{uW}{D} = \frac{\text{Μεταφορά μέσω συναγωγής}}{\text{Μεταφορά μέσω διάχυσης}} = Re \cdot Sc$$

όπου W είναι το πλάτος του καναλιού, D είναι ο συντελεστής διάχυσης $D[m^2/s]$ και ο αριθμός Schmidt δίνεται από τον τύπο: $Sc = \frac{\nu}{D}$. Κατά την ανάμιξη στην μικροκλίμακα, έχουμε μικρό αριθμό Peclet. Υπό αυτές τις συνθήκες, η μοριακή διάχυση είναι ο κύριος μηχανισμός μεταφοράς κατά την διαδικασία της ανάμιξης.

Ο αριθμός Strouhal δίνεται από την εξίσωση:

$$St = \frac{f \cdot D_h}{u}$$

Στον παραπάνω τύπο f είναι η συχνότητα έκλυσης δινών, D_h είναι η υδραυλική διάμετρος του καναλιού και u η μέση ταχύτητα της ροής. Ο αριθμός αυτός έχει σημασία στους ενεργητικούς μικροαναμίκτες και αντιπροσωπεύει τον λόγο του χρόνου παραμονής μίας ουσίας και της χρονικής περιόδου της εφαρμοζόμενης διαταραχής.

1.2.1 Παθητικοί μικροαναμίχτες

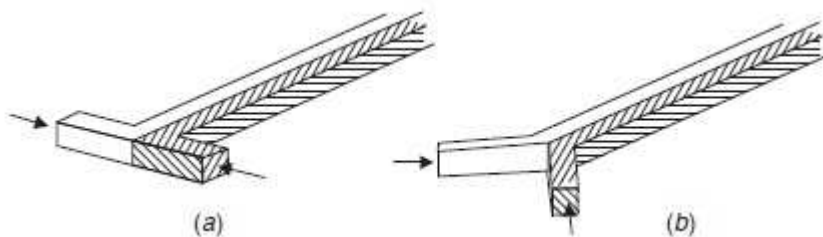
Οι παθητικές συσκευές ανάμιξης είναι οι πρώτες συσκευές ανάμειξης που εμφανίστηκαν και βασίζονται ολοκληρωτικά στην ενέργεια της άντλησης και στην γεωμετρία των μικροκαναλιών για την ανάμειξη. Η γεωμετρία τους είναι τέτοια ώστε να μειώνεται το μήκος διάχυσης και να αυξάνεται η επιφάνεια επαφής. Οι παθητικοί μικροαναμίχτες έχουν μειωμένο κόστος και η ευκολότερη κατασκευή τους επιτρέπει την εύκολη ενσωμάτωσή τους σε Lab-On-A-Chip (LOC) συσκευές. Η μείωση του χρόνου ανάμιξης συνήθως ε-επιτυγχάνεται μέσω διαχωρισμού του ρεύματος του ρευστού με παράλληλη ή σειριακή στρωμάτωση (parallel or sequential lamination), υδροδυναμικής εστίασης των ρευμάτων, εισαγωγή φυσαλίδων αερίου (slug) ή υγρών σταγονιδίων (droplets) στην ροή, και με ενίσχυση της χαοτικής συναγωγής με χρήση, παραδείγματος χάριν, εσοχών ή προεξοχών στα τοιχώματα. Οι χαοτικές γραμμές ροής διασπείρουν τις ουσίες πολύ αποτελεσματικά, ακόμα και σε στρωτές ροές.

Οι παθητικοί μικροαναμίχτες μπορούν επομένως να κατηγοριοποιηθούν σε:

1. **T και Y μικροαναμίχτες** (T and Y-shaped micromixers)
2. **Μικροαναμίχτες παράλληλης διαστρωμάτωσης** (Parallel lamination micromixers)
3. **Μικροαναμίχτες σειριακής διαστρωμάτωσης** (Sequential/Serial lamination micromixers)
4. **Μικροαναμίχτες υδροδυναμικής εστίασης** (Focusing enhanced micromixers/ Hydrodynamic focusing/Injection)
5. **Μικροαναμίχτες χαοτικής συναγωγής** (Chaotic advection micromixers)
6. **Μικροαναμίχτες σταγονιδίων** (Droplet micromixers)

1.2.1.1 T και Y μικροαναμίχτες

Εικόνα 1.1



Όπως φαίνεται από τα παραπάνω σχήματα, τα προς ανάμειξη ρευστά εισέρχονται από δύο διαφορετικές εισόδους και στην συνέχεια συνενώνονται σε έναν κοινό αγωγό όπου και επιτελείται η ανάμειξη. Λόγω της απλής γεωμετρίας, η ανάμειξη σε αυτά τα κανάλια εξαρτάται αποκλειστικά από την διάχυση των ουσιών στην διεπιφάνεια μεταξύ των δύο ρευστών. Η διαδικασία της ανάμιξης είναι επομένως αρκετά αργή και το μήκος που απαιτείται ώστε να είναι αποτελεσματική είναι αρκετά μεγάλο. Υπάρχουν διάφορες προτάσεις για τροποποίηση της γεωμετρίας ώστε η αποτελεσματικότητα της ανάμειξης να αυξηθεί, όπως η προσθήκη εμποδίων στην ροή, η αύξηση της τραχύτητας

των τοιχωμάτων, η αύξηση του αριθμού Re (εμφάνιση χαοτικών φαινομένων) καθώς και η στένωση του καναλιού, που συνεπάγεται μείωση του μήκους διάχυσης.

1.2.1.2 Μικροαναμίκτες παράλληλης διαστρωμάτωσης

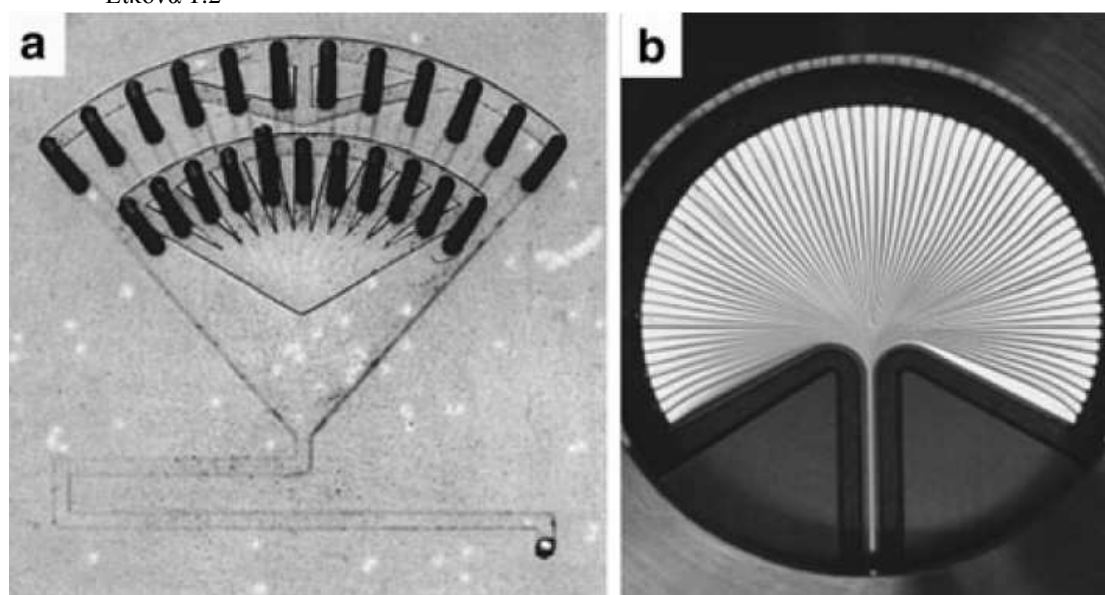
Ένας πιο αποτελεσματικός σχεδιασμός μικροαναμίκτη περιλαμβάνει τον διαχωρισμό του ρεύματος εισόδου σε 'n' ρεύματα και την ακόλουθη συνένωσή τους και τον σχηματισμό ενός διαστρωματωμένου ρεύματος. Αυτή η μέθοδος ανάμειξης αυξάνει την επιφάνεια επαφής μεταξύ των ρευστών και μειώνει το μήκος διάχυσης. Σύμφωνα με τον Erbacher η διαίρεση κάθε ρεύματος σε 'n' ρεύματα οδηγεί σε ανάμειξη ταχύτερη κατά τον παράγοντα n^2 . Ο τύπος που εκφράζει την παραπάνω συσχέτιση είναι ο ακόλουθος:

$$t = \frac{x^2}{2n^2D}$$

Η διαστρωμάτωση των προς ανάμειξη ρευστών μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση δυο διαφορετικών τύπων τροφοδοσίας: α) τροφοδοσία διακλάδωσης (bifurcation – type feed και β) τροφοδοσία παράλληλου διαψηφιακού τύπου (parallel interdigital – type feed). Η τροφοδοσία διακλάδωσης χαρακτηρίζεται από μια εναλλασσόμενη διάταξη τροφοδοσιών, οι οποίες εν συνεχεία ενώνονται περνώντας μέσα από μια αντιστρόφως διακλαδιζόμενη διάταξη καναλιών ακολουθούμενη από ένα κανάλι ανάμειξης. Εκμεταλλευόμενος αυτήν την διάταξη ο Bessoth (1999) έδειξε ότι η ανάμειξη με έναν μικροαναμίκτη τύπου διακλάδωσης ολοκληρώνεται σε λιγότερο από 100ms, ενώ το 95% της ανάμειξης λαμβάνει χώρα σε 40 ms.

Η τροφοδοσία παράλληλου διαψηφιακού τύπου είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος τύπος τροφοδοσίας. Σε αντίθεση με τους μικροαναμίκτες τύπου διακλάδωσης, η διαστρωμάτωση της ροής επιτυγχάνεται με δημιουργία απώλειας πίεσης. Κατά κανόνα, μετά την συνένωση των υπορρευμάτων, η ροή εστιάζεται μέσω γεωμετρικού περιορισμού (στένωσης του καναλιού), ώστε να μειωθεί το μήκος διάχυσης και να ενισχυθεί η ανάμειξη.

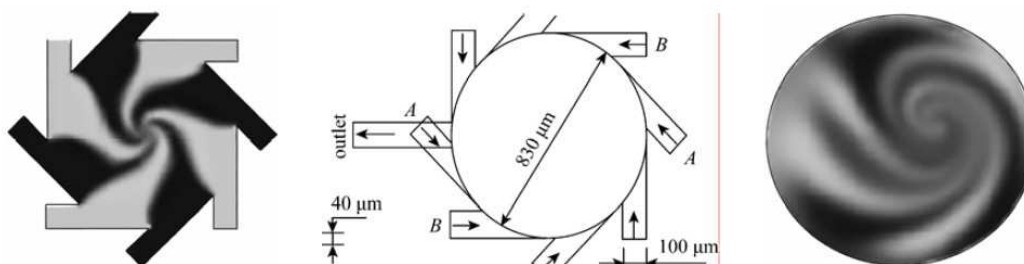
Εικόνα 1.2



Στην παραπάνω εικόνα (1.2) παρουσιάζεται ένας τύπος διαψηφιακού αναμίκτη που ανέπτυξε ο Drese (2004) , ονομαζόμενος super focus mixer στον οποίον τα διάφορα στρώματα έχουν διαφορετική γωνία σε σχέση με το κανάλι ανάμιξης και το 95% της ανάμιξης επιτυγχάνεται σε 4 ms.

Μια περαιτέρω ενδιαφέρουσα σύλληψη για δημιουργία διαστρωματωμένης ροής, εφαρμόστηκε στους κυκλικούς μικροαναμίκτης. Οι αναμίκτης αυτοί βασίζονται στον σχηματισμό μιας δίνης που προκαλείται από την αυτοπεριστροφή του ρευστού, το οποίο εισέρχεται εφαπτομενικά στον κυκλικό θάλαμο ανάμιξης. Η απόδοση αυτού του μικροαναμίκτη βρέθηκε εξαιρετική τόσο σε υψηλούς ($Re=150$), όσο και σε χαμηλούς Reynolds ($Re=0.4$).

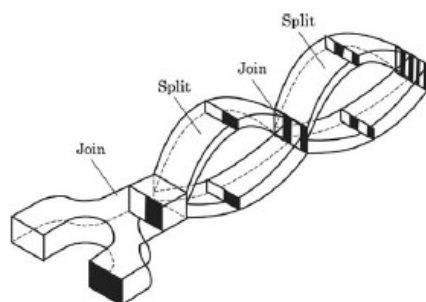
Εικόνα 1.3



1.2.1.3 Μικροαναμίκτης σειριακής /διαδοχικής διαστρωμάτωσης

Η διαφορά μεταξύ των μικροαναμιχτών παράλληλης και διαδοχικής διαστρωμάτωσης, είναι η χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την επίτευξη της στρωμάτωσης του προς ανάμιξη ρευστού. Στους διαδοχικής διαστρωμάτωσης αναμίκτης, που είναι γνωστοί και ως SAR (split and recombine) έχουμε διαχωρισμό της ροής σε κανάλια, τα οποία επανενώνονται στην συνέχεια και αυτή η διαδικασία του χωρισμού και της επανένωσης επαναλαμβάνεται διαδοχικά. Οι αναμίκτης αυτοί βασίζονται στην εκθετική αύξηση της επιφάνειας επαφής και μείωση του μήκους ανάμιξης, για να επιτύχουν μειωμένο χρόνο ανάμιξης. Μετά από m στάδια διαχωρισμού και συνένωσης έχουμε 2^m στρώματα. Ο χρόνος ανάμιξης μειώνεται κατά έναν παράγοντα 4^{m-1} . Για να επιτευχθεί εκθετική διαδοχική στρωμάτωση, απαιτούνται τυπικά τρία βήματα: Διαχωρισμός της ροής, επανένωση των ρευμάτων και αναδιάταξη της ροής. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι SAR μικροαναμίκτης εργάζονται γενικά σε μικρούς Reynolds, είναι όμως δυνατόν να παραχθούν δευτερεύουσες ροές ανακυκλοφορίας, όπως έχει διαπιστωθεί.

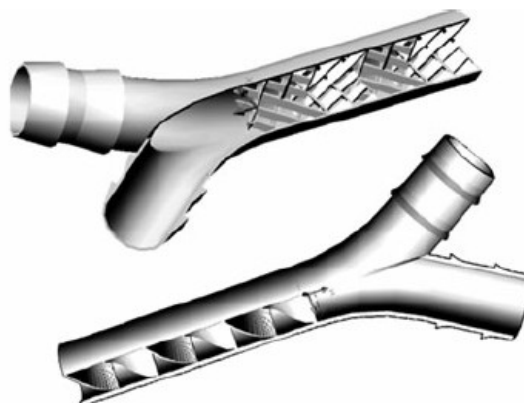
Εικόνα 1.4



‘Ιδέα’ ενός SAR μικροαναμίκτη

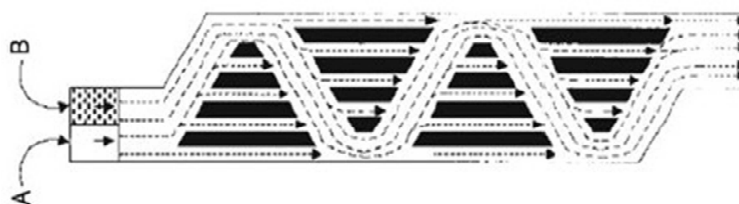
Ο Bertsch (2001) παρουσίασε δύο μικροαναμίκτης παρόμοιους σε σύλληψη με τους SAR μικροαναμίκτης, με εσωτερικές δομές που ομοιάζουν με αυτές των συμβατικών, μεγάλης κλίμακας στατικών αναμικτών. Ο πρώτος μικροαναμίκτης χαρακτηριζόταν από την εσωτερική δομή που εισήγαγε, η οποία περιελάμβανε διασταυρούμενα κανάλια. Τα κανάλια αυτά, χώριζαν και επανένωναν τα ρεύματα των προς ανάμιξη ρευστών, με τρόπο παρόμοιο με τους αναμίκτης διαδοχικής στρωμάτωσης. Ο δεύτερος μικροαναμίκτης περιελάμβανε μια σειρά ελικοειδών στοιχείων. Προσομοίωση CFD έδειξε ως πιο αποτελεσματικό τον πρώτο μικροαναμίκτη έναντι του ελικοειδούς, όσον αφορά την ανάμειξη.

Εικόνα 1.5



Το κύριο μειονέκτημα των SAR μικροαναμικτών είναι η πολύπλοκη διαδικασία που απαιτείται για την κατασκευή τρισδιάστατων δομών. Μια διάταξη όμως *racked bed*, μπορεί να έχει πάνω στην ροή την ίδια επίδραση που έχει και ένας SAR αναμίκτης. Ο Melin (2004) κατασκεύασε και εκτέλεσε δοκιμές σε πολλαπλά τεμνόμενα μικροκανάλια (διάταξη γνωστή ως *racked bed micromixer*) που προκαλούν μια διαρκώς μεταβαλλόμενη ροή, καθώς το ρευστό περνάει μέσα από τους θαλάμους ανάμειξης. Σε αυτόν τον αναμίκτη επετεύχθη ανάμειξη εντός 0.4 sec

Εικόνα 1.6



Packed Bed micromixer

1.2.1.4 Μικροαναμίκτες υδροδυναμικής εστίασης

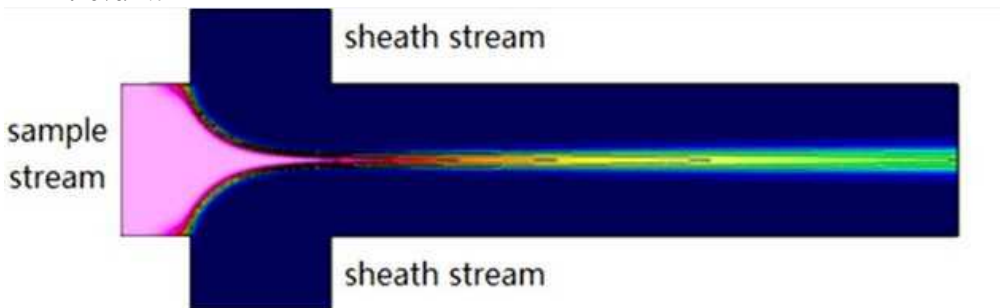
Ένας άλλος τρόπος μείωσης του μήκους διάχυσης είναι η υδροδυναμική εστίαση. Ο βασικός σχεδιασμός ενός τέτοιου μικροαναμίκτη περιλαμβάνει ένα μακρύ μικροκανάλι με τρεις εισόδους. Στην μεσαία από τις τρεις εισόδους διοχετεύεται ένα κεντρικό ρεύμα, το οποίο ρέει ανάμεσα στα δυο εξωτερικά ρευστά, τα οποία διοχετεύονται από τις πλευρικές εισόδους. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται το πλάτος του κεντρικού ρεύματος. Η μείωση αυτή εξαρτάται από τον λόγο ογκομετρικής παροχής των πλαϊνών ρευμάτων προς την παροχή του κεντρικού ρεύματος. Όσο αυξάνεται αυτός ο λόγος, τόσο περισσότερο μειώνεται το πλάτος του κεντρικού ρεύματος. Η μείωση του πλάτους του ρεύματος οδηγεί σε μικρότερο χρόνο ανάμιξης, όπως αναλύεται παρακάτω.

Η διάχυση είναι μια μη γραμμική διαδικασία, κατά την οποία, ο χρόνος t που απαιτείται ώστε μια ουσία να διαχυθεί, μεταβάλλεται με το τετράγωνο της απόστασης που καλύπτεται. Μια απλή μονοδιάστατη περίπτωση διάχυσης μπορεί να μοντελοποιηθεί μέσω της εξίσωσης

$$x^2 = 2Dt$$

όπου t είναι ο μέσος χρόνος διάχυσης των σωματιδίων κατά μια απόσταση x . Σε ένα μικροκανάλι το x αντιπροσωπεύει το πλάτος του προς ανάμιξη ρεύματος, το οποίο μπορεί να είναι εξαιρετικά μικρό, ειδικά εάν το ρεύμα είναι υδροδυναμικά εστιασμένο. Επειδή ο χρόνος είναι ανάλογος του τετραγώνου της απόστασης, μια μείωση στην απόσταση μειώνει δραματικά τον χρόνο που απαιτείται για πλήρη ανάμιξη.

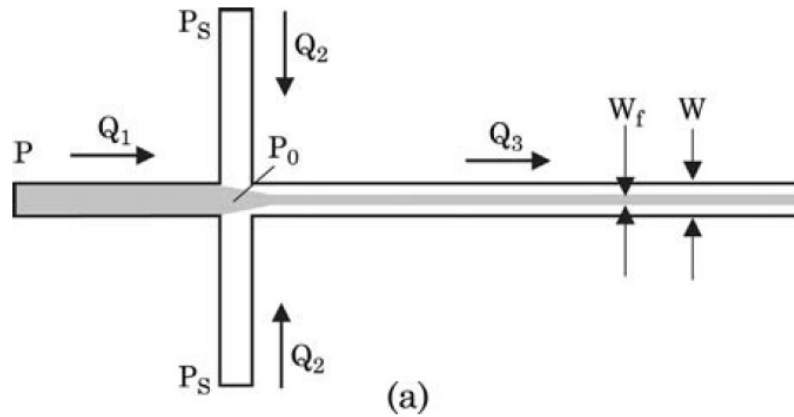
Εικόνα 1.7



Μικροαναμίκτης υδροδυναμικής εστίασης

Η θέση της εστιασμένης δέσμης είναι επίσης συνάρτηση του λόγου παροχών μεταξύ των τριών εισόδων. Ως εκ τούτου, μεταβάλλοντας τον σχετικό λόγο παροχών μεταξύ των δύο πλευρικών εισόδων είναι δυνατόν να κατευθύνουμε το εστιασμένο ρεύμα σε συγκεκριμένη θέση. Η σχετική ροή των τριών ρευμάτων γενικά ελέγχεται με την χρήση πολλαπλών εξωτερικών πηγών πίεσης / αντλιών (π.χ. syringe pumps).

Εικόνα 1.8



Για εφαρμογές μικρορρευστονικής που περιλαμβάνουν επιτόπου ανίχνευση και διάγνωση, η ελαχιστοποίηση του επιπλέον εξοπλισμού (αντλίες κλπ.) είναι ιδιαίτερα σημαντική για την λειτουργικότητα της συσκευής. Εφαρμογές με υψηλά κόστη δείγματος, όπως η ανίχνευση φαρμάκων και η κρυστάλλωση πρωτεϊνών, εκμεταλλεύονται τις μικρές απαιτήσεις σε όγκο δείγματος που έχουν τα μικρορρευστονικά συστήματα. Ο Stiles (2005) παρουσίασε μια τεχνική υδροδυναμικής εστίασης που ελαχιστοποιεί τόσο τον απαιτούμενο εξοπλισμό, με την χρήση μιας μόνο αντλίας αναρρόφησης, όσο και την απαιτούμενη ποσότητα δείγματος.

Μεταβάλλοντας τις αντιστάσεις των καναλιών εισόδου σε μικρορρευστονικά δίκτυα με αντλίες κενού, ένα υδροδυναμικά εστιασμένο ρεύμα μπορεί να δημιουργηθεί και να ελεγχθεί. Η απαιτούμενη πτώση πίεσης μπορεί να παραχθεί είτε συμβατικά μέσω αντλίας, είτε απλά με άντληση μέσω του τριχοειδούς φαινομένου, το οποίο εκμεταλλεύεται την σημασία των τάσεων διεπιφάνειας στην μικροκλίμακα. Για την ανάλυση και πρόβλεψη του πλάτους του εστιασμένου ρεύματος γίνεται χρήση ενός απλού μοντέλου βασιζόμενου σε αρχές διατήρησης μάζας. Το πλάτος αυτό υπολογίζεται υπό την παραδοχή μόνιμης και στρωτής ροής, και νευτώνιων ρευστών. Επίσης γίνεται η υπόθεση ότι τα ρευστά έχουν την ίδια πυκνότητα και στα τέσσερα κανάλια (τρία κανάλια εισόδου και ένα εξόδου) καθώς και ότι τα κανάλια είναι ορθογωνικά και έχουν το ίδιο ύψος.

Σύμφωνα με την αρχή διατήρησης της μάζας, ο όγκος ενός δείγματος υγρού που περνάει μέσα από το κανάλι εισόδου (Q_2), πρέπει να ισούται με τον όγκο του εστιασμένου ρεύματος, δηλαδή:

$$Q_2 = v_2 \cdot w_2 \cdot h = v_f \cdot w_f \cdot h = Q_f \Rightarrow w_f = \frac{Q_2}{v_f \cdot h}$$

όπου w_f και w_2 , το πλάτος του εστιασμένου ρεύματος και του κεντρικού καναλιού εισόδου αντιστοίχως. Με h συμβολίζουμε το ύψος των καναλιών και v_f και v_2 είναι η μέση ταχύτητα ροής στο εστιασμένο ρεύματος και στο κεντρικό κανάλι εισόδου αντιστοίχως. Η ποσότητα του ρευστού που περνάει μέσα από το κανάλι εξόδου θα ισούται με την συνολική ποσότητα του ρευστού που παρέχεται από τα τρία κανάλια εισόδου:

$$Q_o = v_o \cdot w_o \cdot h = Q_1 + Q_2 + Q_3 \Rightarrow w_o = \frac{Q_1 + Q_2 + Q_3}{v_o \cdot h}$$

όπου Q_1 και Q_3 είναι οι ογκομετρικές παροχές για τα δύο πλευρικά κανάλια και v_o και w_o είναι η μέση ταχύτητα της ροής και το πλάτος του καναλιού ανάμειξης αντίστοιχα. Υποθέτοντας ότι η ταχύτητες v_o και v_f έχουν ίδιες τιμές, μπορούμε συνδυάζοντας τις δύο παραπάνω εξισώσεις να πάρουμε την:

$$\frac{w_f}{w_o} = \frac{Q_2}{Q_1 + Q_2 + Q_3}$$

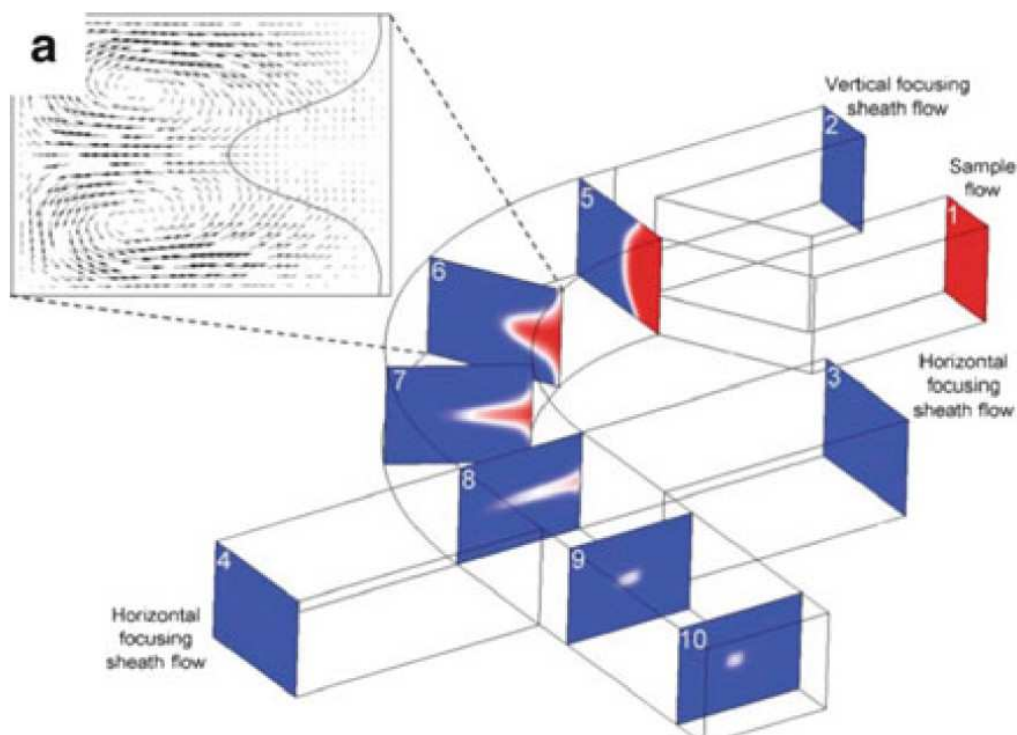
Αυτή η εξίσωση παρέχει έναν απλό τρόπο πρόβλεψης του πλάτους της εστιασμένης δέσμης. Παρόλα αυτά η εξίσωση δεν αντανακλά την επίδραση άλλων παραγόντων όπως η δομή της συσκευής, η επιφάνεια των καναλιών και οι ιδιότητες των ρευστών (π.χ. πυκνότητα, ιξώδες), οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν την διαδικασία της εστίασης. Την επίδραση της πυκνότητας και του ιξώδους των ρευστών μελέτησαν ο Lee (2001) και οι Wu και Nguyen (2005) αντιστοίχως.

Οι Nguyen και Huang (2005) δημιούργησαν έναν μικροαναμίκτη που βασιζόταν σε έναν συνδυασμό υδροδυναμικής εστίασης και διαδοχικής κατάτμησης για την μείωση του μήκους και του χρόνου ανάμειξης. Η διαδοχική κατάτμηση (sequential segmentation) χωρίζει τον διαλύτη και την προς διάλυση ουσία σε τμήματα που συνήθως καταλαμβάνουν όλο το πλάτος του καναλιού. Λόγω της κατάτμησης, η διάχυση επιτελείται και κατά την κατεύθυνση της ροής, οδηγώντας σε αυξημένη αποδοτικότητα ανάμειξης.

Τυπικά, οι μικροαναμίκτες ενισχυμένης εστίασης, εστιάζουν το κεντρικό ρεύμα, μόνο κατά την οριζόντια διάσταση. Διάφοροι συγγραφείς έχουν προτείνει μικρορευστονικές συσκευές, ικανές να εστιάσουν το δείγμα οριζοντίως και κατακορύφως. Αυτές είναι γνωστές ως 3D συσκευές υδροδυναμικής εστίασης και προσθέτουν μια επιπλέον διάσταση εστίασης. Η κατασκευή τέτοιων διατάξεων απαιτεί την χρήση πολύπλοκων μεθόδων όπως λιθογραφία πολλών βημάτων (multistep photolithography) και για αυτό τον λόγο παρουσιάζει αυξημένο κόστος.

Πρόσφατα εφαρμόστηκε μια καινοτομική μέθοδος χειρισμού του ρευστού, ονομαζόμενη 'microfluidic drifting', για την επίτευξη τρισδιάστατης υδροδυναμικής εστίασης σε έναν απλό στην κατασκευή, επίπεδο μικροαναμίκτη. Η διαδικασία της τρισδιάστατης εστίασης στην συσκευή, μπορεί να χωριστεί σε δύο βήματα. Πρώτον το κεντρικό ρεύμα εστιάζεται κατά την κατακόρυφη κατεύθυνση με την χρήση μικρορευστομηχανικής παράσυρσης (microfluidic drifting). Η πλευρική παράσυρση του κεντρικού ρεύματος προκαλείται από τον σχηματισμό δινών Dean (Dean vortices), οι οποίες επάγονται από την φυγόκεντρο που εμφανίζεται στην καμπύλωση του καναλιού. Λόγω της φυγοκέντρου το ρευστό μεταφέρεται στην απέναντι πλευρά του καναλιού. Δεύτερον, η κλασική εστίαση κατά την οριζόντια διεύθυνση επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης δυο οριζοντίων πλευρικών ρευμάτων. Το αποτέλεσμα αυτών των δύο βημάτων είναι ένα ρεύμα εστιασμένο, τόσο κατά την κατακόρυφη όσο και κατά την οριζόντια διεύθυνση.

Εικόνα 1.9



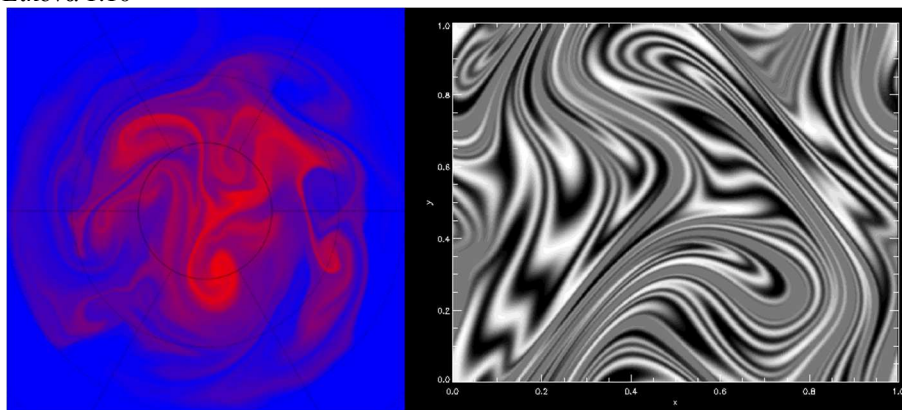
1.2.1.5 Μικροαναμίκτες χαοτικής συναγωγής

Ο όρος χαοτική συναγωγή αναφέρεται στο φαινόμενο όπου ένα απλό Euler πεδίο ταχυτήτων οδηγεί σε χαοτική απόκριση στην κατανομή σωματιδίων Lagrange. Ως συναγωγή ορίζεται η μεταφορά μιας ουσίας εντός ενός κινούμενου ρευστού. Ένα πεδίο ροής μπορεί να είναι χαοτικό ακόμα και σε συνθήκες στρωτής ροής. Σε ένα χαοτικό πεδίο ροής η τροχιά και η τελική θέση ενός σωματιδίου τοποθετούμενου εντός του πεδίου ροής, είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στην αρχική του θέση. Σε μια χαοτική ροή, σωματίδια τα οποία αρχικά βρίσκονται κοντά, μπορεί να καταλήξουν σε τελείως διαφορετικές θέσεις.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η χαοτική συναγωγή δεν είναι τύρβη. Για ένα σύστημα ροής χωρίς διαταραχές, οι συνιστώσες της ταχύτητας χαοτικής συναγωγής σε ένα σημείο στον χώρο δεν μεταβάλλονται με τον χρόνο, σε αντίθεση με τις συνιστώσες της τύρβης, οι οποίες είναι τυχαίες.

Οι τροχιές των σωματιδίων σε στρωτές ροές χαοτικής συναγωγής διασταυρώνονται μεταξύ τους με αποτέλεσμα τα σωματίδια να αλλάζουν την διαδρομή τους. Υπό αυτές τις συνθήκες τα σωματίδια παρεκκλίνουν εκθετικά ενισχύοντας την ανάμειξη μεταξύ διαλύτη και ουσίας.

Εικόνα 1.10



Στους μικροαναμίκτης που εξετάστηκαν προηγουμένως, η συναγωγή πραγματοποιείται εν γένει κατά την κατεύθυνση ροής του ρευστού, επομένως δεν έχει επίδραση στην μεταφορά της ουσίας κατά την εγκάρσια στην ροή του ρευστού κατεύθυνση. Η χαοτική συναγωγή γίνεται προς όλες τις κατευθύνσεις. Μπορεί επομένως να δημιουργήσει μια, κάθετη προς την κατεύθυνση ροής, συνιστώσα της ταχύτητας με αποτέλεσμα την αύξηση της διεπιφάνειας των αναμιγνυόμενων ρευστών και την καλύτερη ανάμιξη.

Ροές χαοτικής συναγωγής μπορεί να επαχθούν με την χρήση γεωμετρίας καναλιών που εκτείνει, αναδιπλώνει, σπάει και χωρίζει την στρωτή ροή κατά μήκος της διατομής του καναλιού. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση δισδιάστατων ή τρισδιάστατων π.χ. ελικοειδών καναλιών, με την τοποθέτηση εμποδίων στην ροή ή την δημιουργία αναγλύφων δομών στα τοιχώματα. Πρέπει να σημειωθεί ότι αυτού του είδους η χαοτική ροή μπορεί επίσης να επιτευχθεί μέσω κάποιας τεχνικής ενεργητικής ανάμειξης, όπως η δημιουργία ηλεκτροκινητικής αστάθειας.

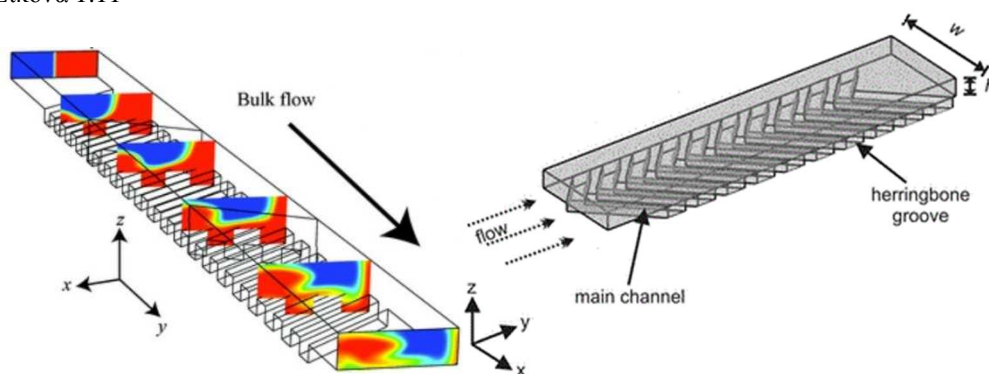
Ο πιο απλός τρόπος δημιουργίας εγκάρσιας ροής είναι η εισαγωγή ενός εμποδίου στο κανάλι. Τα εμπόδια μεταβάλλουν την κατεύθυνση της ροής και τις γραμμές ροής, προκαλώντας συστροφή και ανακυκλοφορία του ρευστού και συνεπώς συνιστώσα ταχύτητας στο εγκάρσιο στην κατεύθυνση της ροής επίπεδο. Γενικώς όμως η τοποθέτηση εμποδίων δεν έχει μεγάλη αποτελεσματικότητα στην δημιουργία εγκάρσιας ροής, εκτός αν χρησιμοποιηθούν σχετικά υψηλοί Reynolds (τυπικά μεγαλύτεροι του 100).

Το πρώτο σχέδιο χαοτικού μικροαναμίκτη προτάθηκε από τον Evans (1997), ο οποίος ανέπτυξε έναν επίπεδο ενεργητικό μικροαναμίκτη, βασιζόμενο σε χαοτική συναγωγή προκαλούμενη από σύστημα πηγής / καταβόθρας (source / sink system). Στο σύστημα αυτό, μη αναμεμειγμένο ρευστό εισάγεται σε έναν θάλαμο ανάμειξης και στην συνέχεια δύο συστήματα πηγής / καταβόθρας δουλεύουν εναλλάξ.

Μια αποτελεσματική λύση για την επαγωγή εγκάρσιας ροής και χαοτικής συναγωγής σε χαμηλούς Reynolds ($Re \approx 1$), είναι η δημιουργία εγκοπών (grooves) στα τοιχώματα του καναλιού. Οι Slanted-groove micromixer (SGM) και Staggered – herringbone micromixers (SHM) υποβάλλουν την ροή σε μια επαναλαμβανόμενη ακολουθία τοπικής περιστροφικής και εφελκυστικής ροής, που έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία χαοτικής ροής. Οι εσωτερικές δομές σε έναν SHM μικροαναμίκτη

αυξάνουν κατά πολύ την απόδοση ανάμειξης και σε σύγκριση με έναν απλό T- μικροαναμείκτη, χωρίς τέτοιες δομές.

Εικόνα 1.11



SGM (αριστερά) και SHM (δεξιά) μικροαναμείκτες

Συγκεκριμένα ένας κλασικός T- μικροαναμείκτης απαιτεί ένα μήκος ανάμειξης (1-10 m), το οποίο είναι δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερο από ότι στους SHM μικροαναμείκτες (1-1.5 cm) σε αριθμό Re ανάμεσα σε 10^{-4} και 10^{-5} .

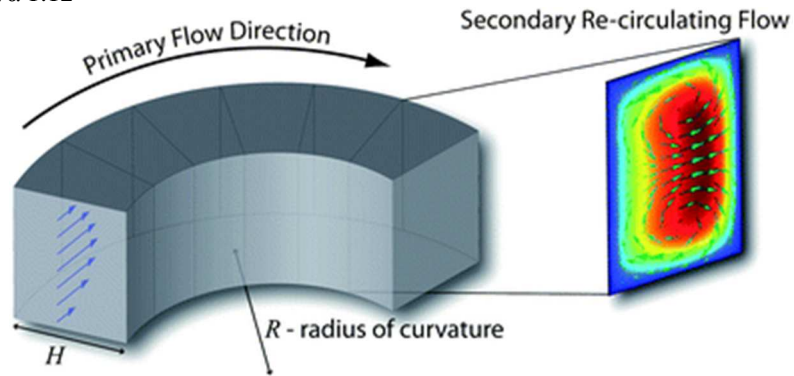
Διάφοροι συγγραφείς έχουν προτείνει οι αυλακώσεις και οι zig-zag γεωμετρίες να μην εφαρμόζονται μόνο στον πυθμένα του καναλιού αλλά και στα πλάγια ή και την κορυφή, προς ενίσχυση της ανάμειξης. Αυτοί οι μικροαναμείκτες ονομάζονται Connected groove micromixer (CGM) και circulation disturbance micromixer (CDM) αντίστοιχα. Η προσθήκη αυτών των στοιχείων στα πλαϊνά τοιχώματα και στην κορυφή, προωθεί την συναγωγή και υποβοηθά την ανάμειξη. Συγκεκριμένα, οι CGM μικροαναμείκτες παρουσίασαν απόδοση πάνω από 50% καλύτερη από εκείνη των κλασικών SGM για Re από 1 ως 100, ως αποτέλεσμα της έντονα επαγόμενης εγκάρσιας ροής.

Χαοτική συναγωγή μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση δισδιάστατου καναλιού με εναλλασσόμενη καμπυλότητα (οφιοειδές – serpentine) ή με κανάλι σχήματος zig-zag. Στην πρώτη περίπτωση η χαοτική συναγωγή προκαλείται από αλληπάλληλη παραγωγή δινών Dean (Dean vortices). Τυπικά ένας τέτοιος μικροαναμείκτης πραγματοποιεί καλή ανάμειξη σε υψηλούς αριθμούς Re (Μερικές εκατοντάδες) Αυτοί οι μικροαναμείκτες γενικά περιγράφονται με την χρήση ενός άλλου αδιάστατου αριθμού, του αριθμού Dean :

$$De = Re \sqrt{\frac{D_h}{R}}$$

όπου η R αντιπροσωπεύει την ακτίνα καμπυλότητας του καναλιού. Ο Jiang (2004) έδειξε ότι για να έχουμε ικανοποιητική ανάμειξη, ο αριθμός Dean πρέπει να είναι μεγαλύτερος από 140.

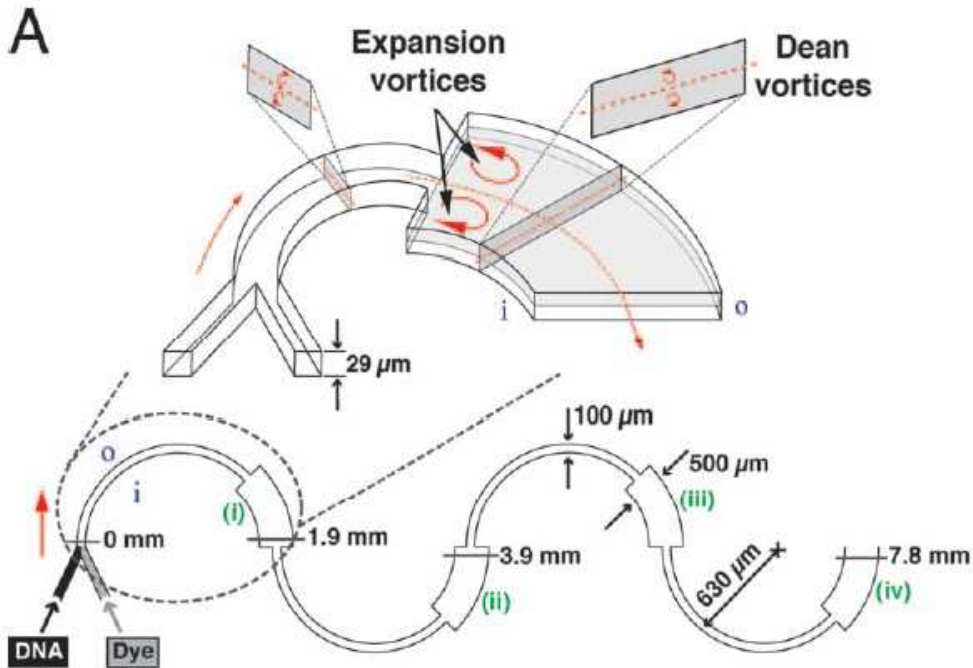
Εικόνα 1.12



Δίνες Dean εντός καμπύλου καναλιού

Παρόλα αυτά, έχουν προταθεί και κάποιοι μικροαναμίκτης αυτού του είδους που επιτυγχάνουν καλή ανάμειξη σε χαμηλούς Re . Δύο 2D οφιοειδείς αναμίκτης, ο επίπεδος σπειροειδής (planar spiral micromixer) και ο ασύμμετρος οφιοειδής (asymmetric serpentine micromixer) προτάθηκαν από τον Sundarsan κ.α. το 2006.

Εικόνα 1.13

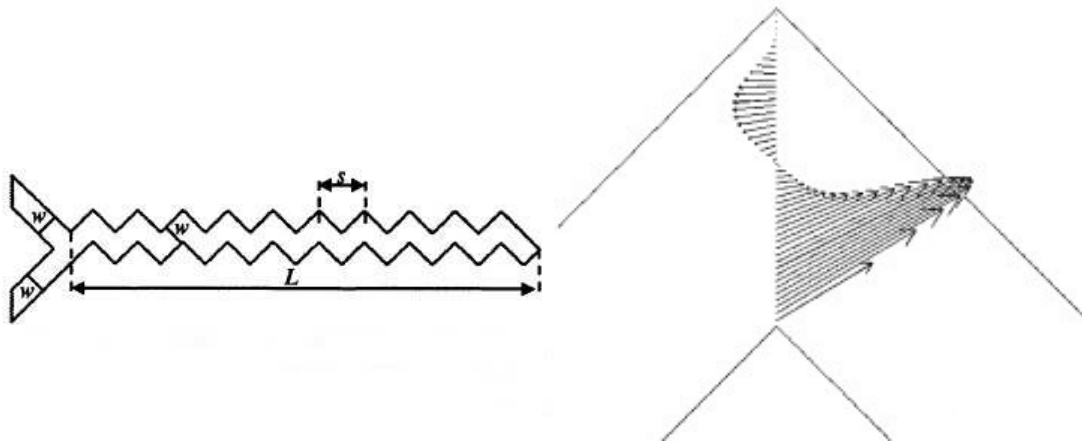


Asymmetric serpentine micromixer (ASM)

Η ανάμειξη σε αυτούς τους μικροαναμίκτης οφείλεται στην συνδυαστική επίδραση των δινών Dean καθώς και των δινών που παράγονται λόγω της απότομης διεύρυνσης της διατομής του καναλιού σε συγκεκριμένα σημεία.

Σε έναν zig-zag μικροαναμίκτη, η ανάμειξη επιτυγχάνεται μέσω στρωτής ανακυκλοφορίας, η οποία προκαλεί την δημιουργία εγκάρσιων συνιστωσών ταχύτητας, τοπικά, σε κάθε γωνία του καναλιού. Ο υπό μελέτη μικροαναμείκτης μελετήθηκε σε κρίσιμο αριθμό Re ($Re=80$). Για χαμηλότερους Re , η ανάμειξη γίνεται μόνο λόγω μοριακής διάχυσης.

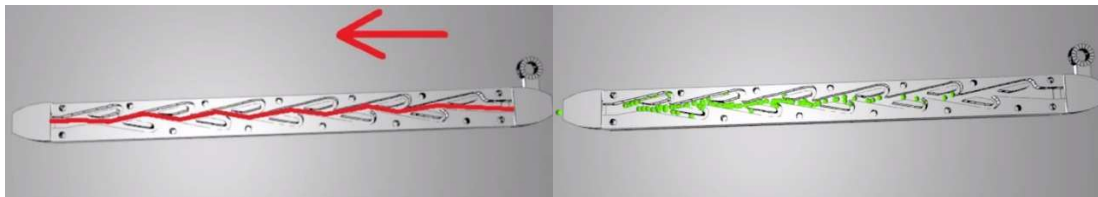
Εικόνα 1.14



Δημιουργία δινών Dean σε zig-zag μικροαναμίκτη

Άλλη μια ενδιαφέρουσα επίπεδη δομή ικανή να επάγει χαοτική συναγωγή αναφέρθηκε από τον Hong (2004). Ο αναμεικτης αυτός είχε μορφή παρόμοια με αυτήν μιας βαλβίδας Tesla και εκμεταλλευόταν το φαινόμενο Coanda για την ανακατεύθυνση της ροής και την επίτευξη καλύτερης ανάμειξης μέχρι και σε σχετικά χαμηλούς αριθμούς Reynolds ($Re < 10$).

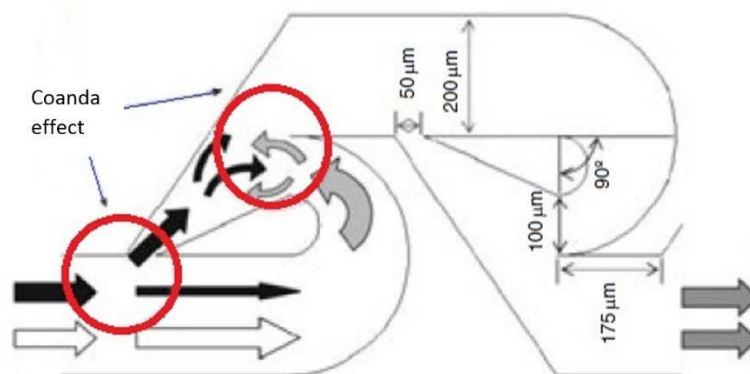
Εικόνα 1.15



Βαλβίδα Tesla

Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα, το ρευστό δεν συναντά ιδιαίτερη αντίσταση στην ροή κατά τα αριστερά. Κατά την ροή προς τα δεξιά όμως, μεγάλο μέρος του, δεν περνάει πέρα από κάποιο σημείο, λόγω της γεωμετρίας του καναλιού, η οποία παρεμβάλλει εμπόδια στην διαδρομή, και προκαλεί τοπικά την αναστροφή της ροής.

Εικόνα 1.16

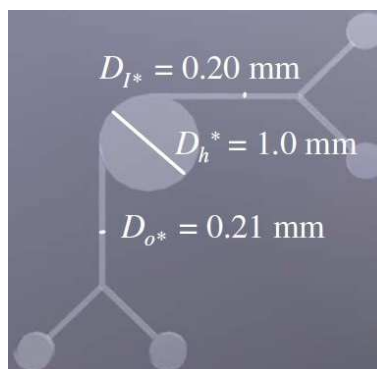


Ο Vijayendran (2003) κατασκεύασε μια τρισδιάστατη δομή αποτελούμενη από μια αλληλουχία τμημάτων σε σχήμα 'L' ευθυγραμμισμένα κατά ένα κατακόρυφο

επίπεδο. Αντίστοιχη δομή αλλά με τμήματα σε σχήμα 'C' κατασκευάστηκε από τον Liu (2000) και η ανάμειξη που επετεύχθη ήταν καλή για σχετικά υψηλούς Re ($Re > 25$) και η αποδοτικότητά της αυξανόταν με την αύξηση του Re.

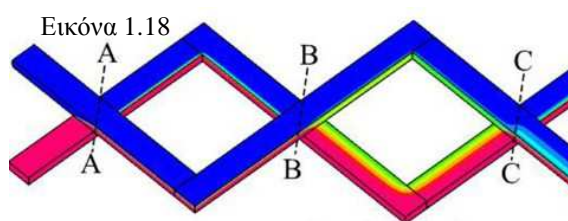
Εικόνα 1.17

Άλλη μια ενδιαφέρουσα περίπτωση χρήσης μιας τρισδιάστατης δομής αναπτύχθηκε πρόσφατα από τον Long (2009). Χρησιμοποιήθηκε μια εύκολη στην κατασκευή 3D δομή, αποτελούμενη από έναν κυκλικό θάλαμο εντός του οποίου τα κανάλια εισόδου και εξόδου συνδέονται εφαπτομενικά. Όταν τα προς ανάμειξη ρευστά ρέουν εντός του θαλάμου, δημιουργείται δίνη, η οποία προκαλεί παραμορφώσεις και επιμηκύνσεις στην διεπιφάνεια των ρευστών και υψηλή αποδοτικότητα ανάμειξης σε σχετικά χαμηλούς Re ($Re > 21$).



Επίσης έχουν γίνει συνδυασμοί τρισδιάστατης γεωμετρίας με τεχνική SAR

(split and recombine). Ο Wang (2006) παρουσίασε έναν μικροαναμείκτη που συνδυάζει τις αυλακώσεις στα τοιχώματα με τον χωρισμό και επανένωση της ροής. Αυτός ο μικροαναμείκτης καλείται Staggered

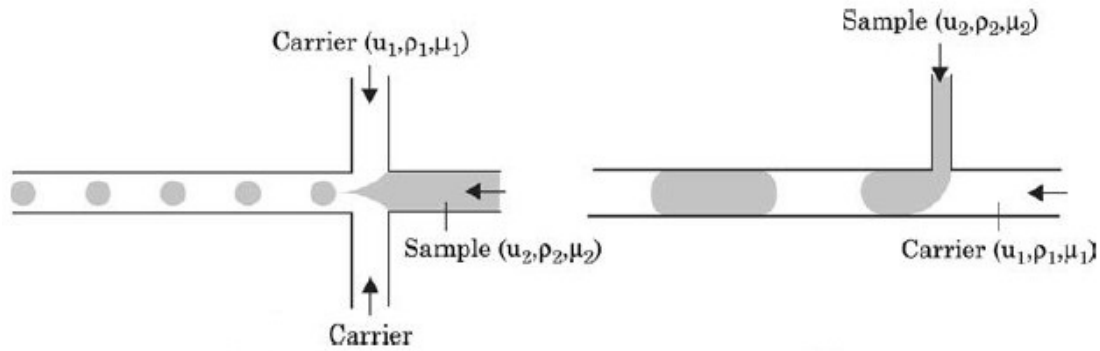


overlapping criss-cross micromixer (SOC μ-mixer) και αποτελείται από μια σταυροειδή είσοδο και κανάλια με herringbone ραβδώσεις. Η ανάμειξη βρέθηκε 46% καλύτερη από σε σχέση με τον SHM μικροαναμείκτη. Οι συγγραφείς ισχυρίστηκαν ότι η καλύτερη ανάμειξη οφειλόταν στην επαγωγή καθέτου πτώσης κοντά στην τομή των δυο διασταυρούμενων καναλιών.

1.2.1.6 Μικροαναμείκτες σταγονιδίων

Μια άλλη λύση όσον αφορά την μείωση του μήκους ανάμειξης είναι η δημιουργία σταγονιδίων των προς ανάμειξη ρευστών. Η κίνηση της σταγόνας προκαλεί εσωτερικό πεδίο ροής και καθιστά δυνατή την ανάμειξη εντός αυτής. Εν γένει, τα σταγονίδια μπορεί να δημιουργηθούν και να μεταφερθούν με την χρήση σύρριγγας, βελόνας, με την χρήση πίεσης, ηλεκτρικών πεδίων ή τριχοειδών φαινομένων. Επιπλέον, τα σταγονίδια μπορεί να δημιουργηθούν λόγω της μεγάλης διαφοράς επιφανειακών τάσεων σε ένα μικρό κανάλι με πολλαπλές μη αναμειζιμες φάσεις όπως λάδι, νερό ή αέριο. Αυτός είναι και ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος μηχανισμός δημιουργίας σταγονιδίων.

Εικόνα 1.19



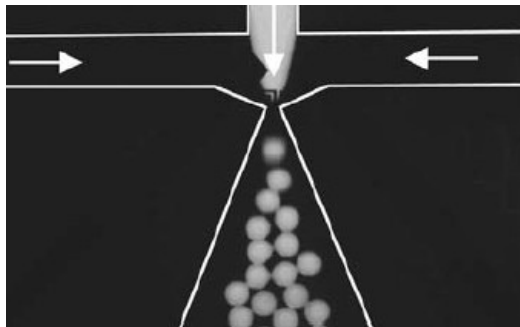
Στις μικρορευστονικές συσκευές, οι πολυφασικές ροές δημιουργούνται όταν δύο ή περισσότερα μη αναμίξιμα υγρά έρχονται σε επαφή. Ανάλογα με την αλληλεπίδραση μεταξύ των δυνάμεων ιξώδους και διεπιφάνειας, η δημιουργούμενη πολυφασική ροή μπορεί να έχει διάφορες μορφές, όπως αιωρούμενων σταγονιδίων, σφαιριδίων που καταλαμβάνουν όλη την διατομή του καναλιού, ή ενδέχεται να είναι παραλλήλως στρωματωμένη ροή. Η γεωμετρία του καναλιού και οι φυσικές ιδιότητες του, έχουν επίσης επίδραση στην μορφή της ροής.

Ο αριθμός Capillary (Ca), αντιπροσωπεύει την σχετική επίδραση των δυνάμεων ιξώδους και της επιφανειακής τάσης μεταξύ ενός υγρού και ενός αερίου ή μεταξύ δύο μη αναμίξιμων υγρών. Για παράδειγμα μια φυσαλίδα μέσα σε μια υγρή ροή τείνει να παραμορφωθεί λόγω της τριβής που προκαλείται από τα φαινόμενα ιξώδους, αλλά ταυτόχρονα η επιφανειακή τάση τείνει να ελαχιστοποιήσει την επιφάνεια της φυσαλίδας. Ο αριθμός Capillary ορίζεται ως:

$$Ca = \frac{\mu V}{\gamma}$$

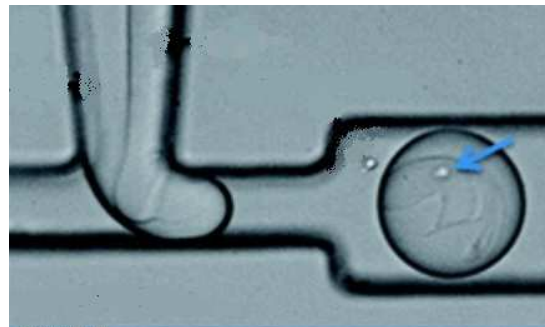
όπου μ η δυναμική συνεκτικότητα του υγρού, V η χαρακτηριστική ταχύτητα και γ η διεπιφανειακή τάση μεταξύ των δύο φάσεων του ρευστού. Οι δυνάμεις ιξώδους δρουν κυρίως εφαπτομενικά στην διεπιφάνεια προκαλώντας επιμήκυνση, ενώ οι δυνάμεις διεπιφάνειας δρουν κυρίως καθέτως και οδηγούν στον σχηματισμό σταγόνων. Εν γένει όταν οι δυνάμεις ιξώδους κυριαρχούν, προκύπτει στρωματωμένη ροή, ενώ όταν κυριαρχούν οι δυνάμεις συνεκτικότητας, προκύπτει τμηματική ροή. Οι βασικές διατάξεις που χρησιμοποιούνται για την δημιουργία πολυφασικών ροών είναι η T-σύνδεση (T-junction) και η διάταξη υδροδυναμικής εστίασης.

Εικόνα 1.20



Αριστερά: Διάταξη υδροδυναμικής εστίασης.

Εικόνα 1.21



Δεξιά: T- junction.

Στην διάταξη υδροδυναμικής εστίασης της ροής, η διασπειρόμενη φάση ρέει στο κεντρικό κανάλι, ενώ η ροή συνεχούς φάσης ρέει σε δύο πλευρικά κανάλια. Οι δύο

φάσεις αναγκάζονται να διέλθουν μέσα από μια στένωση (orifice) κατάντι του σημείου συνένωσης των τριών καναλιών. Στο στόμιο αυτό, η πίεση και οι διατμητικές δυνάμεις οδηγούν στον σχηματισμό ενός λεπτού λαιμού στο κεντρικό ρεύμα, ο οποίος τελικά καταρρέει, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενός σταγονιδίου. Η ογκομετρική παροχή και το ιξώδες των φάσεων διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην διαμόρφωση των σταγονιδίων.

Στην διάταξη T, τα κανάλια διασταυρώνονται κάθετα και στην ένωσή τους έχουμε τον σχηματισμό σταγονιδίων. Λόγω των δυνάμεων ιξώδους που προκαλούνται από την ροή συνεχούς φάσης και την αύξηση της πίεσης ανάντι της T-σύνδεσης, προκαλούν την στένωση λαιμού στην διασταύρωση των δύο καναλιών και την δημιουργία, αποκοπή και συγχώνευση του **σωματιδίου** εντός της συνεχούς ροής. Μέσω μεταβολής του ιξώδους των δύο φάσεων, των σχετικών ογκομετρικών παροχών και των διαστάσεων των καναλιών, είναι δυνατόν να ρυθμίσουμε τις διαστάσεις των παραγομένων σταγονιδίων.

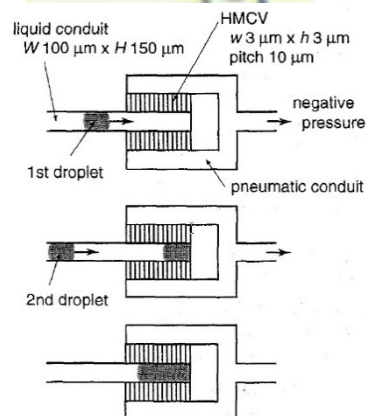
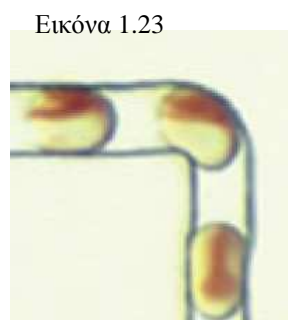
Εν γένει, η ανάμιξη εντός των σταγονιδίων ενισχύεται λόγω της μείωσης του μήκους διάχυσης και λόγω του χωρικού περιορισμού εντός της σταγόνας. Επιπλέον, η επαφή του σταγονιδίου με τα τοιχώματα του καναλιού προκαλεί την δημιουργία ανακυκλοφορίας εντός της σταγόνας. Αν η ροή πραγματοποιείται εντός ευθείου καναλιού, αυτές οι αντιθέτου φοράς δίνες ανακυκλοφορίας καταλαμβάνουν από μισή διατομή του καναλιού. Αυτή η ροή, προκαλεί την ανάμειξη εντός των δυο τμημάτων της σταγόνας, αλλά τα δύο τμήματα δεν αναμιγνύονται μεταξύ τους. Για να επιτευχθεί η ανάμιξη των δύο τμημάτων της σταγόνας, πρέπει να προκληθεί χαοτική συναγωγή, μέσω της εναλλαγής της γεωμετρίας του καναλιού.

Ένας κλασικός παθητικός τρόπος για την επίτευξη χαοτικής συναγωγής, βασίζεται στην χρήση καναλιών με στροφές και καμπύλες. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται άνιση ανακυκλοφορία μεταξύ των δύο ημίσεων της σταγόνας. Αυτού του είδους οι μικροαναμίκτες καλούνται επίπεδοι οφιοειδείς μικροαναμίκτες (planar serpentine micromixers / PSM). Η επίδραση ενός τέτοιου καναλιού στην ροή εντός ενός σταγονιδίου έχει ως εξής: Όταν ένα σταγονίδιο βρίσκεται σε μια στροφή, το εξωτερικό του τμήμα έρχεται σε επαφή με μεγαλύτερο τμήμα τοιχώματος από ότι το εσωτερικό του τμήμα, με αποτέλεσμα η ροή ανακυκλοφορίας που επάγεται στο εσωτερικό τμήμα να είναι μικρότερη. Αυτή η ασύμμετρη κατανομή των ροών ανακυκλοφορίας, η οποία εναλλάσσεται με την εναλλασσόμενη γεωμετρία, προκαλεί χάος και διασταύρωση των γραμμών ροής.

Εικόνα 1.22



Επιπλέον οι στροφές στο κανάλι περιστρέφουν το σταγονίδιο λόγω της άνισης διατμητικής δύναμη που ασκείται στην εσωτερική πλευρά της σταγόνας με αυτήν που ασκείται στην εξωτερική. Επειδή όπως προαναφέρθη και όπως φαίνεται στην ακόλουθη εικόνα, η εξωτερική πλευρά του σταγονιδίου έρχεται σε επαφή με μεγαλύτερη επιφάνεια τοιχώματος, το σωματίδιο αλλάζει προσανατολισμό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εκθετική αύξηση των στρωμάτων εντός του σταγονιδίου. Η αποτελεσματικότητα της ανάμειξης μπορεί να ελεγχθεί με τον έλεγχο του αριθμού των στροφών του μικροκαναλιού.



Ο Hosokawa (1999) παρουσίασε τον πρώτο μικροαναμεικτή σταγονιδίων (εικόνα δεξιά), κατασκευασμένο σε PDMS (Polydimethylsiloxane) και καλυμμένο με στρώμα PMMA (Poly(methyl methacrylate)). Ο αναμεικτής χρησιμοποιούσε υδροφοβικούς τριχοειδείς αγωγούς (HMCV – hydrophobic microcapillary vent), οι οποίοι μέσω τριχοειδούς φαινομένου επέτρεπαν εύκολα την διόδo αερίου αλλά όχι τόσο την διόδo υγρού. Ο αναμεικτής αυτός μέσω του HMCV, αφαιρούσε τον αέρα ανάμεσα σε δύο σταγονίδια ενώνοντάς τα, κάνοντας χρήση του αντιστρόφου τριχοειδούς φαινομένου.

Άλλες γεωμετρίες που επάγουν χαοτική συναγωγή έχουν επίσης αναπτυχθεί. Ο Liao (2005) πρότεινε την εισαγωγή εξογκωμάτων στην μία πλευρά του καναλιού, τα οποία προκαλούν την παραμόρφωση των σταγονιδίων. Ο ίδιος συγγραφέας αργότερα παρουσίασε μια παρόμοια προσέγγιση όπου όμως εξογκώματα υπάρχουν και στα δύο πλευρικά τοιχώματα του καναλιού. Παρομοίως ο Tung (2009) πρότεινε την εισαγωγή μιας μεταβαλλόμενης διατομής του καναλιού, ώστε να προκαλείται παραμόρφωση των σωματιδίων και να ενισχύεται η ανάμειξη.

1.2.2 Ενεργητικοί μικροαναμεικτές

Τα μέχρι τώρα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι ένας καλά μελετημένος σχεδιασμός καναλιού, μπορεί να οδηγήσει σε αποτελεσματική ανάμειξη και σε μικρό μήκος ανάμειξης. Φυσικά ένα από τα μειονεκτήματα αυτών των παθητικών αναμεικτών είναι ότι είναι βελτιστοποιημένα για συγκεκριμένους Reynolds, ή καθορισμένες ιδιότητες ρευστών. Αν γίνουν αλλαγές είτε στην ταχύτητα εισόδου ή στα υλικά, μπορεί να χρειαστεί νέο βελτιστοποιημένο σχέδιο, πράγμα εφικτό αλλά μη συμφέρον. Μια πιο ενεργητική προσέγγιση στην ανάμειξη θα μπορούσε να είναι πιο αποτελεσματική.

Το είδος της εξωτερικής διαταραχής που εφαρμόζεται στους ενεργητικούς μικροαναμεικτές, μπορεί να είναι πεδίο πίεσης, ακουστικό πεδίο (υπέρηχοι), θερμοκρασιακό πεδίο ή μαγνητική-υδροδυναμική διαταραχή. Εν γένει οι ενεργητικοί μικροαναμεικτές επιτελούν πιο αποτελεσματική ανάμειξη σε σχέση με τους παθητικούς. Είναι όμως πιο πολύπλοκοι στην κατασκευή και πιο ακριβοί, απαιτώντας την ενσωμάτωση στο σύστημα περιφερειακών συσκευών, όπως επενεργητές για τον έλεγχο και την εξωτερική τροφοδοσία της μικροσυσκευής. Επιπλέον, ορισμένοι από τους μηχανισμούς ενεργητικής ανάμειξης, όπως οι υπέρηχοι και οι υψηλές κλίσεις θερμοκρασίας μπορεί να προκαλέσουν ζημιά στα βιολογικά δείγματα προς ανάλυση.

Οι παραπάνω λόγοι συνετέλεσαν στον αποκλεισμό της χρήσης των ενεργητικών μικροαναμεικτών σε πρακτικές εφαρμογές, ειδικά χημείας και βιολογίας.

Οι παθητικοί μικροαναμεικτές μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε:

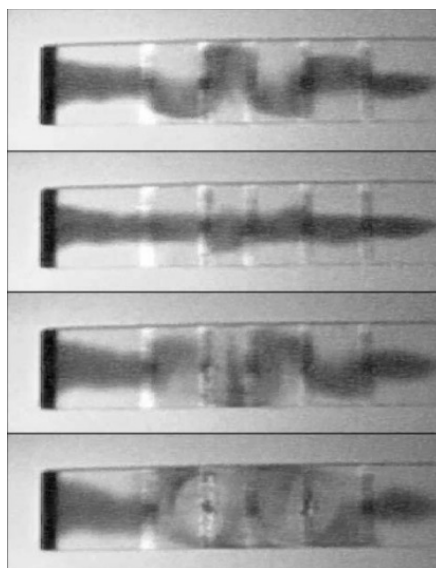
1. **Μαγνητο-υδροδυναμικοί μικροαναμεικτές** (Magneto-hydrodynamic)
2. **Μικροαναμεικτές υπερήχων** (ultrasound micromixers)
3. **Μικροαναμεικτές πεδίου πίεσης** (Pressure field)
4. **Μικροαναμεικτές ηλεκτροδιαβροχής** (Electrowetting)
5. **Διηλεκτροφορητικοί μικροαναμεικτές** (Dielectrophoretic)
6. **Ηλεκτροκινητικοί μικροαναμεικτές** (Electrokinetic)

1.2.2.1 Μαγνητο-υδροδυναμικοί μικροαναμεικτές

Η μαγνητουδροδυναμική διαταραχή (MHD) βασίζεται στην επαγωγή δυνάμεων Lorentz σε ένα διάλυμα ηλεκτρολύτη. Οι MHD συσκευές ανάμειξης χρησιμοποιούν μια σειρά ηλεκτροδίων τοποθετημένα στα τοιχώματα του καναλιού για την δημιουργία ρεύματος που κυκλοφορεί εντός των προς ανάμιξη ρευστών. Το ρεύμα αυτό δημιουργείται μέσω της εφαρμογής εναλλασσόμενης τάσης στο ζεύγος ηλεκτροδίων. Παρουσία μαγνητικού πεδίου ταυτόχρονα με το ρεύμα, μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση δύναμης Lorentz. Το πεδίο ροής που προκύπτει είναι πολύπλοκο και προκαλεί παραμορφώσεις, τέντωμα της ροής καθώς και αύξηση της διεπιφάνειας, ενισχύοντας την ανάμιξη.

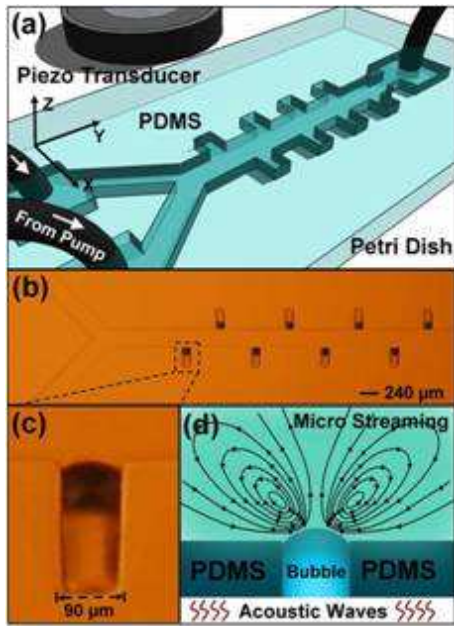
Εικόνα 1.24

Ο Bau(2001) παρουσίασε έναν απλό MHD μικροαναμεικτή από LTCC (Low Temperature Co-fired ceramic). Παρά την αρνητική επίδραση της μικρής κλίμακας της συσκευής στην μαγνητική δύναμη (οι μαγνητικές δυνάμεις είναι ανάλογες του όγκου του ρευστού), η μαγνητική δύναμη ευνοεί αρκετά την ανάμιξη στις μικροσυσκευές. Ο Bau τοποθέτησε ηλεκτρόδια κάθετα στην ροή του ρευστού, με αποτέλεσμα το ρευστό να αναγκάζεται να κινηθεί και κατά την εγκάρσια κατεύθυνση. Η εναλλασσόμενη τάση και κατεύθυνση του ηλεκτρικού πεδίου, προκαλεί εν τέλει τον σχηματισμό δινών που διευκολύνουν την ανάμιξη. Η οπτικοποίηση του πεδίου ροής, έγινε με την χρήση βαφής εγχυόμενης εντός του αναμεικτή.



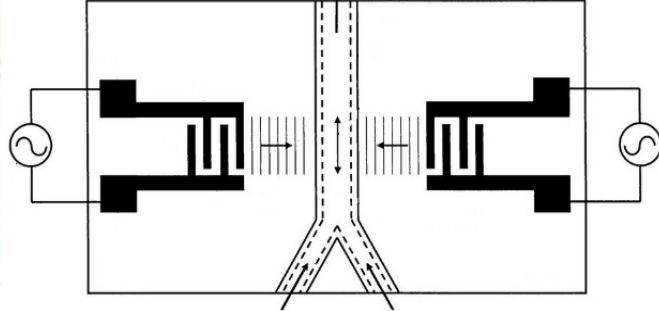
1.2.2.2 Μικροαναμίκτες υπερήχων

Εικόνα 1.25



Οι ακουστικές διαταραχές που προκαλούνται από υπερηχητικές δονήσεις, μπορούν επίσης να ενισχύσουν την ανάμειξη. Η ακουστική ανάδευση επιτυγχάνεται με την χρήση πιεζοηλεκτρικών μετατροπέων. Η υπερηχητική δράση προκαλεί μια διαταραχή κάθετα στην κατεύθυνση διάδοσης της ροής. Για την ενίσχυση της διαδικασίας της ανάμειξης, μπορούν να εισαχθούν στον αναμικτή φυσαλίδες αέρος.

Εικόνα 1.26



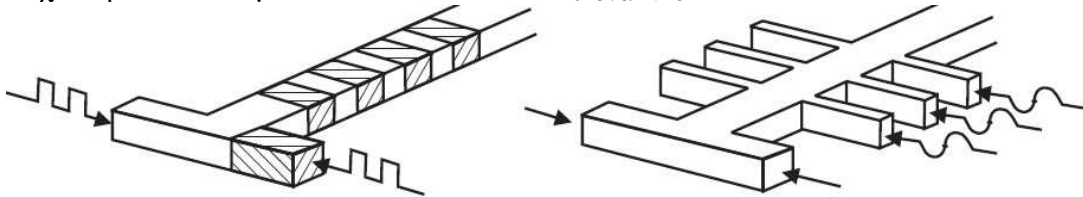
Η επιφάνεια μιας φυσαλίδας αερίου εντός ενός υγρού, εκτεθειμένη σε ένα ηχητικό πεδίο, μπορεί να δράσει ως δονούμενη μεμβράνη. Ως αποτέλεσμα της δόνησης έχουμε μαζική κίνηση του ρευστού στην διεπιφάνειά του με την φυσαλίδα. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται Cavitation microstreaming και εφαρμόζεται σε μικροαναμίκτες είτε με την χρήση μιας μεμονωμένης, είτε πολλών φυσαλίδων.

1.2.2.3 Μικροαναμίκτες πεδίου πίεσης

Η εισαγωγή διαταραχής μέσω πεδίου πίεσης χρησιμοποιήθηκε σε έναν από τους πρώτους ενεργητικούς μικροαναμίκτες. Ο Deshmukh (2000) ανέφερε έναν T-μικροαναμικτή με διαταραχή πεδίου πίεσης. Μια ενσωματωμένη μικροαντλία ωθούσε και σταματούσε διαδοχικά την ροή στο κανάλι ανάμειξης, ώστε να χωρίσει τα αναμειγνύομενα ρευστά σε διαδοχικά ξεχωριστά τμήματα, όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα.

Μια άλλη, εναλλακτική μέθοδος για την εισαγωγή διαταραχής πίεσης είναι η δημιουργία παλλόμενης ταχύτητας, όπως προτάθηκε από τους Glasgow και Aubry(2003). Ο μικροαναμικτής αυτός ήταν T-σχήματος με παλλόμενη πλευρική ροή σε Reynolds 0,3 έως 2,55. Η αποτελεσματικότητα της ανάμειξης σχετίζεται με την συχνότητα των παλμών.

Εικόνα 1.28

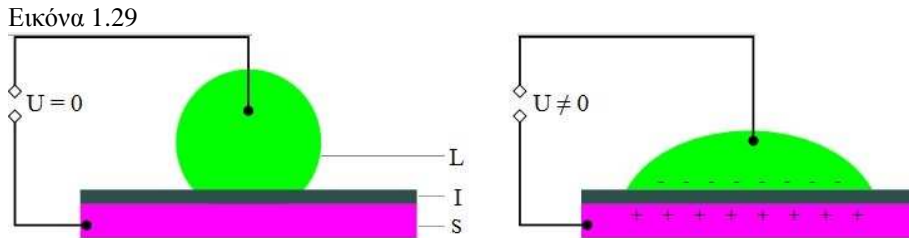


Διακοπτόμενη ροή (αριστερά)

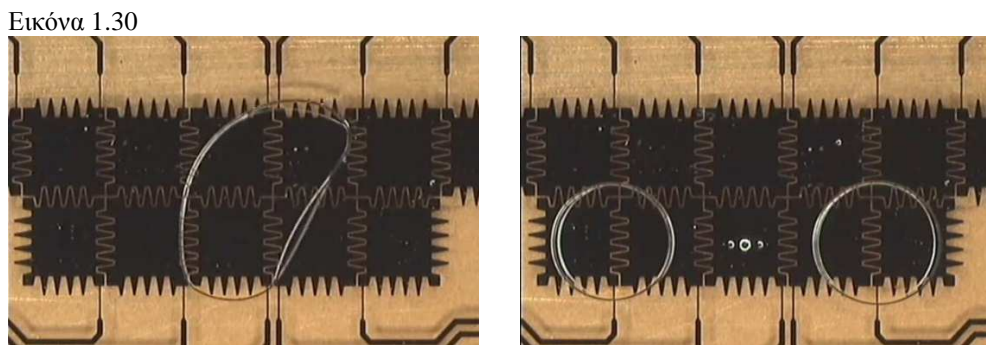
Παλλόμενη ταχύτητα (δεξιά)

1.2.2.4 Μικροαναμίκτες ηλεκτροδιαβροχής

Η ηλεκτροδιαβροχή είναι η τροποποίηση των ιδιοτήτων διαβροχής μιας επιφάνειας (τυπικά υδρόφοβης), μέσω της εφαρμογής ηλεκτρικού πεδίου. Το φαινόμενο της ηλεκτροδιαβροχής ορίζεται ως η τροποποίηση της γωνίας επαφής στερεού – ηλεκτρολύτη, λόγω μιας εφαρμοζόμενης διαφοράς δυναμικού μεταξύ των δύο.



Στους αναμίκτες αυτούς, γίνεται ανάμειξη σταγονιδίων, τα οποία περιέχουν διαφορετικές ουσίες. Μέσω της χρήσης ηλεκτρικού πεδίου, έχουμε δημιουργία, μεταφορά, διαίρεση και συγχώνευση των σταγονιδίων. Η μέθοδος βασίζεται στον έλεγχο των επιφανειακών τάσεων των σωματιδίων μέσω του πεδίου. Μετά την συνένωση δύο σωματιδίων ξεκινά εντός της σταγόνας η διάχυση και η ανάμειξη των δύο ρευστών. Το σταγονίδιο επομένως δρα ως θάλαμος ανάμειξης. Για επιτάχυνση της διαδικασίας της ανάμειξης οι σταγόνες μπορούν να ταλαντώνονται και να μετακινούνται κατά μήκος ενός αριθμού ηλεκτροδίων σε διάφορες συχνότητες (EWOD – Electrowetting on dielectrics). Η αύξηση του αριθμού των ηλεκτροδίων και της ταχύτητας των σταγονιδίων επιδρούν θετικά στην ανάμειξη.



Ανάμειξη δυο σταγονιδίων μέσω EWOD.

1.2.2.5 Διηλεκτροφορητικοί μικροαναμίκτες

Κατά την διαδικασία της διηλεκτροφόρησης εφαρμόζεται ένα ηλεκτρικό πεδίο στο ρευστό, με σκοπό την επίτευξη χαοτικής συναγωγής. Το πεδίο αυτό είναι μη ομοιόμορφο και προκαλεί την πόλωση των σωματιδίων, τα οποία ανταποκρίνονται κινούμενα προς τα ηλεκτρόδια ή μακριά από τα ηλεκτρόδια. Με κατάλληλο συνδυασμό της γεωμετρίας του καναλιού και του ηλεκτρικού πεδίου, δημιουργείται εντός του καναλιού χαοτική συναγωγή με αποτέλεσμα να ενισχύεται η ανάμειξη.

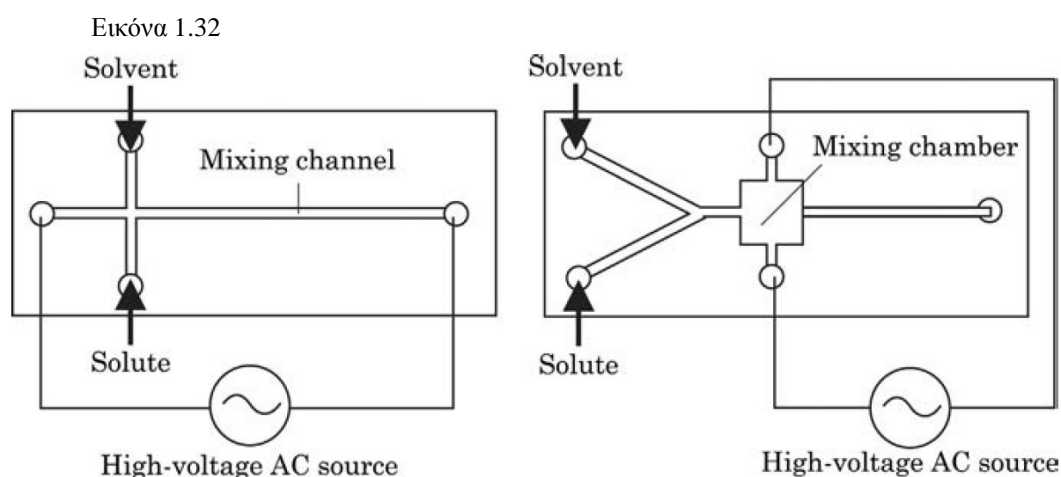
Εικόνα 1.31

Δεξιά φαίνεται ένα μικροκανάλι, εντός του οποίου τα σωματίδια ταλαντώνονται, ενωόμενα και διαιρούμενα διαδοχικά. Πρόκειται για μικροσωματίδια πολυστυρενίου εντός απιονισμένου νερού, τα οποία ταλαντώνονται υπό την επίδραση του αρμονικώς εναλλασσόμενου ηλεκτρικού πεδίου που προκαλείται μέσω μιας σειράς μικροηλεκτροδίων στον πυθμένα του καναλιού.



1.2.2.6 Μικροαναμίκτες ηλεκτροκινητικής διαταραχής

Όπως και τα δυο προηγούμενα είδη μικροαναμικτών που εξετάσαμε, έτσι και οι μικροαναμίκτες ηλεκτροκινητικής διαταραχής χρησιμοποιούν ένα εξωτερικά επιβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο για την επίτευξη ανάμιξης. Αυτό μπορεί να γίνει κατά μήκος ενός καναλιού ή εντός ενός θαλάμου ανάμιξης. Η ροή του ρευστού σε τέτοιες συσκευές είναι συχνά σταθερή και ισχυρά αποσβενόμενη μέσω των δυνάμεων ιξώδους. Οι αριθμοί Reynolds κυμαίνονται στο 1 ή λιγότερο. Το εφαρμοζόμενο πεδίο προκαλεί 'τέντωμα' και αναδιπλώσεις της ροής, με αποτέλεσμα την ενίσχυση της ανάμιξης. Παρακάτω φαίνεται ένας μικροαναμικτής ηλεκτροκινητικής διαταραχής:



Οι κύριες παράμετροι που επηρεάζουν την ηλεκτροκινητική ροή είναι οι ιδιότητες του ρευστού, όπως η αγωγιμότητα και η διηλεκτρική σταθερά του, το ηλεκτρικό πεδίο, καθώς και το δυναμικό των τοιχωμάτων του καναλιού. Διαταραχές αυτών των παραμέτρων, οδηγούν σε αστάθεια σε μια ηλεκτροκινητική ροή.

1.3 Τεχνολογίες κατασκευής μικροαναμικτών

Οι μικροαναμίκτες μπορούν να κατασκευαστούν με την χρήση ήδη υπάρχουσών τεχνολογιών, οι οποίες είχαν αναπτυχθεί νωρίτερα για κατασκευή μικροηλεκτρομηχανικών συστημάτων (MEMS). Οι μικροσυσκευές έχουν μεγέθη χαρακτηριστικών που κυμαίνονται από 1μm έως 1mm. Στις πλείστες των περιπτώσεων αυτές οι συσκευές κατασκευάζονται με ασυνεχή διαδικασία, με τεχνικές όπως φωτολιθογραφία (photolithography) ή εγχάραξη (imprinting). Η μείωση των μεγεθών

στην μικροκλίμακα αυξάνει σημαντικά την λειτουργικότητα και μειώνει το κόστος κατασκευής. Αυξημένη λειτουργικότητα των μικροαναμικτών μπορεί να επιτευχθεί με μέσω της ενσωμάτωσης ηλεκτρονικών, μηχανικών, οπτικών, ρευστονικών και άλλων τεχνολογιών σε μία μόνο συσκευή. Αυτές οι διατάξεις βρίσκουν πολλές νέες εφαρμογές, ειδικά στις βιολογικές επιστήμες. Πολλές μικροσυσκευές στο παρελθόν κατασκευάζονταν είτε σε μονοκρυσταλλική ή πολυκρυσταλλική σιλικόνη. Η σιλικόνη έχει το πλεονέκτημα ότι είναι μια καθιερωμένη τεχνολογία λόγω της μακράς χρήσης της στην μικροηλεκτρονική. Παρόλα αυτά η σιλικόνη δεν έχει καλές μηχανικές και τριβολογικές ιδιότητες, δεν μπορεί να αντέξει την λειτουργία σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες και σε μερικές περιπτώσεις δεν είναι βιο- ή χημικά συμβατή. Η ανάγκη για άλλα υλικά με ιδιότητες κατάλληλες για εφαρμογή στην χημική βιομηχανία ή τις βιολογικές επιστήμες οδηγούν στην ανάπτυξη μικροτεχνολογιών βασιζόμενων σε υλικά, όπως καρβίδια, πολυμερή και μέταλλα.

1.3.1 Φωτολιθογραφία

Η κατασκευή των περισσότερων μικροσυσκευών βασίζεται στην φωτολιθογραφία, μια τεχνολογία που χρησιμοποιείται πρώτα στην μικροηλεκτρονική. Οι διάφορες τεχνικές λιθογραφίας είναι η φωτολιθογραφία, η λιθογραφία ηλεκτρονιακής δέσμης, δέσμης ακτίνων X και η λιθογραφία ιόντων. Ανάμεσά τους η λιθογραφία ακτίνων $-X$ για LIGA (Lithography, Electroplating, and Molding) και η φωτολιθογραφία είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές για την κατασκευή μικροαναμικτών. Εφόσον η φωτολιθογραφία απαιτεί μια μάσκα για την μεταφορά του σχεδίου (pattern) του μικροκαναλιού πάνω σε ένα υπόστρωμα, αυτή η τεχνική και σχεδόν όλες οι άλλες μικροτεχνικές, περιορίζονται στην κατασκευή δισδιάστατων δομών. Υπάρχει μικρός έλεγχος όσον αφορά την τρίτη διάσταση. Το σχέδιο των μικροδομών μεταφέρεται μέσω μιας μάσκας πάνω σε ένα φωτοευαίσθητο στρώμα, την φωτοαντίσταση (photoresist). Η μάσκα είναι ένας διαφανής δίσκος. Οι δομές πάνω στην μάσκα είναι φτιαγμένες από κάποιο μεταλλικό στρώμα, όπως χρώμιο, ώστε να μην επιτρέπουν την διέλευση του φωτός. Μια μάσκα τυπωμένη πάνω σε πλαστικό διαφανές φιλμ, μέσω υψηλής ανάλυσης laser εκτυπωτή είναι μια οικονομική και δημοφιλή λύση στην κατασκευή μικροαναμικτών.

Η φωτολιθογραφία περιλαμβάνει τρία βασικά βήματα: τοποθέτηση (positioning), έκθεση (exposure) και εμφάνιση (development). Στο πρώτο βήμα η μάσκα τοποθετείται σε συγκεκριμένη απόσταση πάνω από το υπόστρωμα. Το υπόστρωμα είναι επενδεδυμένο με μια φωτοαντίσταση, πάνω στην οποία θα αποτυπωθεί το σχέδιο του καναλιού, μετά το επακόλουθο βήμα της έκθεσης. Ενέργεια από την πηγή έκθεσης, όπως υπεριώδες φως (UV) ή ακτίνες X, αλλάζουν τις ιδιότητες της εκτιθέμενης φωτοαντίστασης. Κατά το βήμα της εμφάνισης υπάρχουν δύο ενδεχόμενα αναλόγως του είδους της φωτοαντίστασης που χρησιμοποιούμε. Αν χρησιμοποιείται αρνητική φωτοαντίσταση, τότε κατά την εμφάνιση διαλύεται το τμήμα της φωτοαντίστασης που δεν έχει εκτεθεί σε ακτινοβολία. Αντίθετα, όταν μια θετική φωτοαντίσταση τοποθετείται σε ένα διάλυμα εμφάνισης, το τμήμα της που αφαιρείται είναι αυτό που έχει εκτεθεί.

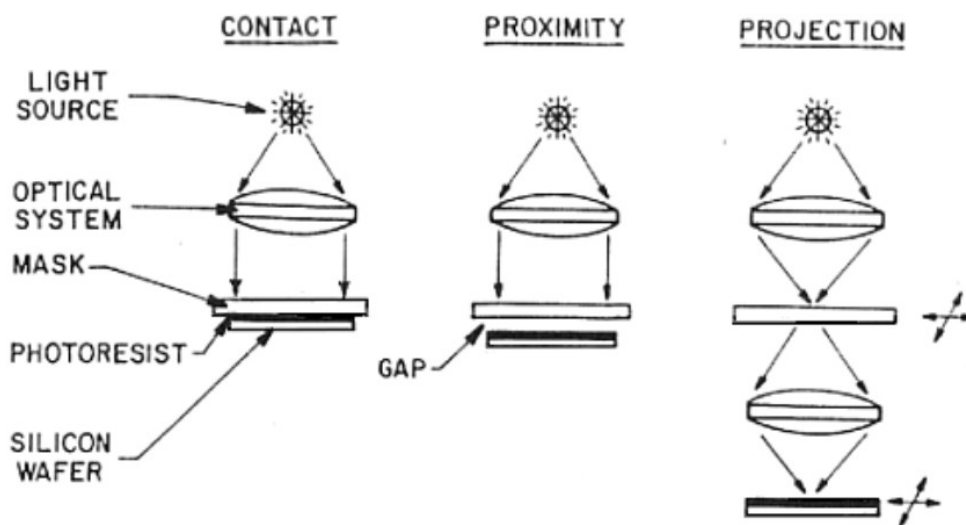
Ανάλογα με την απόσταση στην οποία τοποθετείται η μάσκα σε σχέση με το υπόστρωμα, η φωτολιθογραφία μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως contact printing, proximity printing και projection printing.

Στο contact printing μάσκα και υπόστρωμα βρίσκονται σε επαφή. Το υπόστρωμα βρίσκεται σε βάση στήριξης σε κενό και ανυψώνεται μέχρι να συναντήσει την μάσκα. Η φωτοαντίσταση εκτίθεται σε ακτινοβολία ενώ υπόστρωμα και μάσκα βρίσκονται σε επαφή. Λόγω της επαφής, αυτή η μέθοδος επιτρέπει την επίτευξη υψηλών αναλύσεων. Το πρόβλημα του contact printing είναι ότι αν κάτι εγκλωβιστεί ανάμεσα στο υπόστρωμα και την μάσκα μπορεί να τραυματίσει την μάσκα και να προκαλέσει ελαττώματα στο σχέδιο της. Με το contact και το projection printing, μπορεί να επιτευχθεί χωρική ανάλυση της τάξεως του 1μm.

Η ανάλυση 'b' του proximity printing καθορίζεται από το μήκος κύματος λ και την απόσταση μάσκα- υποστρώματος και δίνεται από την εξίσωση: $b = 1.5\sqrt{\lambda s}$. Λόγω της αποστάσεως s, το proximity printing έχει μια μικρότερη χωρική ανάλυση, της τάξεως των αρκετών μm. Το κενό ανάμεσα στην μάσκα και το υπόστρωμα στο proximity printing ελαχιστοποιεί (αλλά δεν εξαλείφει) τον κίνδυνο ζημιάς στην μάσκα.

Με το projection printing έχουμε σίγουρα αποφυγή τραυματισμού της μάσκας, η οποία βρίσκεται σε αρκετά εκατοστά απόσταση από το υπόστρωμα.. Για την επίτευξη υψηλής ανάλυσης, απεικονίζεται κάθε φορά μικρό μέρος της μάσκας και γίνεται σταδιακή σάρωση όλης της επιφάνειας του υποστρώματος και αποτύπωση των επιθυμητών χαρακτηριστικών. Όπως αναφέρθηκε η ανάλυση που επιτυγχάνεται, μπορεί να φθάσει και το 1μm.

Εικόνα 1.33



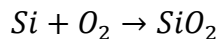
Στην περίπτωση που το φωτοευαίσθητο φιλμ που χρησιμοποιούμε κατά την φωτολιθογραφία είναι υγρό, η επίστρωσή του γίνεται μέσω μέσων φυγοκέντρισης (Spin Coating). Σε αυτήν την μέθοδο το υλικό που θέλουμε να επιστρωθεί, απλώνεται επί του υποστρώματος, ως υγρό διάλυμα του υλικού επίστρωσης εντός ενός διαλύτη. Στην συνέχεια, ο δίσκος (wafer) περιστρέφεται σε υψηλές ταχύτητες, με αποτέλεσμα η πλεονάζουσα ποσότητα επίστρωσης να απομακρύνεται. Η ποσότητα η οποία απομακρύνεται και επομένως το τελικό πάχος της επίστρωσης εξαρτάται από το ιξώδες, την ταχύτητα περιστροφής και τις επιφανειακές τάσεις.

1.3.2 Χημική εναπόθεση ατμού – Chemical Vapor Deposition

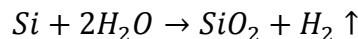
Τα σχέδια που μεταφέρονται από την μάσκα στην φωτοαντίσταση συχνά αποτυπώνονται περαιτέρω και σε ένα λειτουργικό στρώμα μέσω εγχάραξης. Το στρώμα αυτό εναποτίθεται πριν την εφαρμογή του φωτοευαίσθητου στρώματος (φωτοαντίσταση). Η CVD είναι μια από τις πολλές τεχνικές για την δημιουργία στρωμάτων υλικού πάνω σε ένα υπόστρωμα. Η CVD χρησιμοποιεί χημική αντίδραση μεταξύ αερίων αντιδρώντων, για την δημιουργία ενός στερεού προϊόντος. Το στερεό προϊόν σχηματίζεται ως λεπτό φιλμ σε μια θερμαινόμενη επιφάνεια υποστρώματος. Τα άλλα προϊόντα της αντίδρασης πρέπει να είναι σε αέρια μορφή ώστε να μπορούν να φύγουν από τον θάλαμο της αντίδρασης. Αφού το επιθυμητό σχέδιο αποτυπωθεί στο φωτοευαίσθητο υλικό, στην συνέχεια επιτελείται χάραξη (etching) του οξειδίου του πυριτίου και διάλυση της εναπομείνουσας φωτοαντίστασης. Έτσι το τελικό κανάλι χαράσσεται πάνω στο στρώμα υλικού που εναποτέθηκε στο υπόστρωμα και όχι στην φωτοαντίσταση.

1.3.3 Θερμική οξείδωση – Thermal Oxidation

Διοξείδιο του πυριτίου (SiO_2), μπορεί να εναποτεθεί μέσω CVD, αν το υπόστρωμα είναι κάποιο άλλο υλικό πέραν της σιλικόνης. Σε περίπτωση που το υπόστρωμα είναι σιλικόνη, η θερμική οξείδωση είναι η απλούστερη τεχνική για την δημιουργία στρώματος διοξειδίου του πυριτίου. Ανάλογα με τον τύπο του οξειδωτικού, μπορούμε να έχουμε ξηρή ή υγρή οξείδωση. Η ξηρή οξείδωση χρησιμοποιεί καθαρό οξυγόνο για τον σχηματισμό διοξειδίου του πυριτίου σε υψηλές θερμοκρασίες από 800° ,έως $1200^\circ C$:



Στην υγρή οξείδωση το οξειδωτικό είναι υδρατμός:



Εφόσον το πάχος του στρώματος SiO_2 μπορεί να ελεγχθεί σε μια διεργασία οξείδωσης, η θερμική οξείδωση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ακριβή ρύθμιση των κενών σε μικρορευστονικές συσκευές με ακρίβεια καλύτερη του $1\mu m$.

1.3.4 Φυσική εναπόθεση ατμού – Physical Vapor Deposition

Σε αντίθεση με την CVD και την θερμική οξείδωση, η φυσική εναπόθεση ατμού (PVD) χρησιμοποιεί μια στερεά πηγή δημιουργίας ατμών, οι οποίοι εν συνεχεία εναποτίθενται πάνω στο υπόστρωμα σιλικόνης. Η απόσπαση υλικού από την πηγή μπορεί να γίνει είτε με εξάτμιση είτε με επιφανειακή εκρίζωση (sputtering). Στην πρώτη περίπτωση, η στερεά πηγή είτε εξαχνώνεται, καθώς θερμαίνεται εντός κενού. Κατά την επιφανειακή εκρίζωση, χρησιμοποιείται ένα αδρανές αέριο, το οποίο ιονίζεται με χρήση μαγνητικού πεδίου ώστε να γίνει πλάσμα. Τα ιονισμένα άτομα του αδρανούς αερίου, επιταχύνονται εν συνεχεία μέσω ηλεκτρικού πεδίου και προσπίπτοντας στην στερεά πηγή, αποσπών άτομα από αυτήν, τα οποία εν συνεχεία εναποτίθενται στο υπόστρωμα. Η επιφανειακή εκρίζωση προτιμάται για την εναπόθεση κραμάτων (σταθερή διαδικασία και με υψηλό ρυθμό απόθεσης).

1.3.5 Ξηρά εγχάραξη – Dry etching

Η ξηρά εγχάραξη χρησιμοποιείται για την αφαίρεση υλικού από ένα υπόστρωμα. Μπορεί να είναι φυσική, χημική ή φυσικοχημική και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για υλικά και ημιαγωγούς που είναι χημικά ανθεκτικοί, όπως το καρβίδιο του πυριτίου (SiC) και το νιτρίδιο του γαλλίου (GaN).

Κατά την φυσική εγχάραξη, γίνεται χρήση σωματιδίων (ιόντων, ηλεκτρονίων ή φωτονίων), με τα οποία βομβαρδίζεται η επιφάνεια – στόχος, ώστε να αφαιρεθεί υλικό από αυτήν. Αυτή η τεχνική έχει το πλεονέκτημα ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την χάραξη σχεδόν οποιουδήποτε υλικού, εφόσον δεν απαιτείται κάποια χημική αντίδραση, μειονεκτεί όμως λόγω χαμηλού ρυθμού απόξεσης. Επίσης είναι δυνατόν σωματίδια να προσπέσουν στην επιφάνεια και να ανακλαστούν, χωρίς να καταφέρουν να απομακρύνουν υλικό, προκαλώντας όμως ανεπιθύμητες χαρακώσεις στο υλικό του στόχου.

Στην χημική ξηρά εγχάραξη, χρησιμοποιούνται αέρια τα οποία αντιδρούν με το προς χάραξη υλικό αφαιρώντας με αυτόν τον τρόπο μόρια από την επιφάνεια. Τα προϊόντα μιας τέτοιας αντίδρασης δεν πρέπει να είναι στερεά ώστε να μην επικάθονται στον στόχο, αλλά πρέπει να διαφεύγουν ως αέρια.

Η φυσικοχημική εγχάραξη χωρίζεται σε διάφορες υποκατηγορίες, εκ των οποίων πιο σημαντική είναι η αντιδραστική ιοντική εγχάραξη (reactive ion etching – RIE). Κατά την RIE, αντιδρώντα αέρια ιονίζονται. Στην συνέχεια, υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου, τα ιόντα επιταχύνονται και κατευθύνονται ώστε να χτυπήσουν σχεδόν κάθετα τον στόχο.

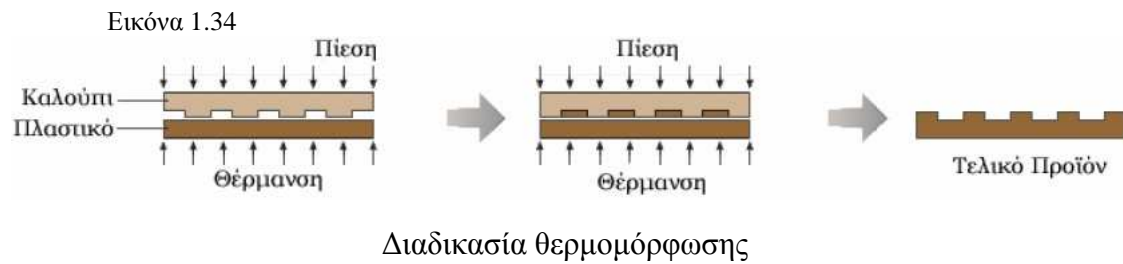
1.3.6 Υγρή εγχάραξη – Wet etching

Στην υγρή εγχάραξη χρησιμοποιούνται υγρές χαρακτηριστικές ουσίες, για την αφαίρεση υλικού από ένα υπόστρωμα. Μια συχνά χρησιμοποιούμενη ουσία είναι το BHF (Buffered hydrofluoric acid). Χρησιμοποιείται κυρίως για την χάραξη λεπτών φιλμ διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2) ή νιτρίδιου του πυριτίου (Si_3N_4) και είναι ένα μείγμα ενός ρυθμιστικού παράγοντα, όπως φθοριούχου αμμωνίου (NH_4F), και υδροφθορικού οξέος (HF). Ένα υδατικό διάλυμα HF περιεκτικότητας 49% κ.ο., χαράσσει το SiO_2 υπερβολικά γρήγορα και επίσης αφαιρεί την φωτοαντίσταση που χρησιμοποιείται στην λιθογραφία. Για να έχουμε ελεγχόμενη χάραξη χρησιμοποιείται ρυθμιστικός παράγοντας. Αναλόγως του υλικού που πρέπει να χαραχθεί χρησιμοποιείται και κατάλληλο υγρό χαρακτηριστικό.

1.3.7 Θερμομόρφωση – Hot embossing

Η θερμομόρφωση βρίσκει εφαρμογή στην διαμόρφωση θερμοπλαστικών πολυμερών (π.χ. PS, PMMA, PVC). Πρόκειται για μια τεχνική μαζικής παραγωγής και χαμηλού κόστους. Το πλαστικό θερμαίνεται στην θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης και στην συνέχεια με την χρήση μιας πρέσας γίνεται η μορφοποίησή του, υπό συνθήκες κενού, ώστε να αποφευχθεί ο σχηματισμός φυσαλίδων αλλά και η οξείδωση του εκμαγείου (master). Σε περίπτωση που η πίεση είναι αυξημένη, η κατεργασία μπορεί να γίνει και σε θερμοκρασία ατμοσφαιρικής. Η σφραγίδα που χρησιμοποιείται για την αποτύπωση, μπορεί να είναι από πυρίτιο (Si) ή μεταλλική. Η πίεση που εφαρμόζεται

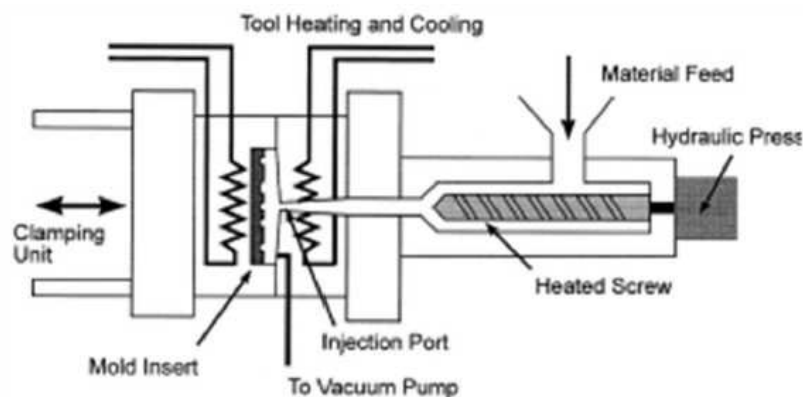
κυμαίνεται από 0.5 έως 2 kN/cm^2 και η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης από 50° C ως 150° C. Πριν την απομάκρυνση του διαμορφωμένου πλαστικού από το καλούπι, ψύχονται και τα δύο για ένα χρονικό διάστημα. Η όλη διαδικασία διαρκεί μερικά λεπτά.



1.3.8 Μικροχύτευση με έγχυση – Injection molding

Η μικροχύτευση με έγχυση είναι, όπως και το hot embossing, τεχνολογία σχηματοποίησης πλαστικών. Κοινό χαρακτηριστικό των δύο μεθόδων είναι η χρήση εκμαγείου/μήτρας. Η θέρμανση του υλικού γίνεται σε θερμοκρασίες άνω της υαλώδους μετάπτωσης των άμορφων θερμοπλαστικών (π.χ. PMMA, PC, PSU), καθώς απαιτείται μικρό ιξώδες, ώστε να γίνει σωστή αναπαραγωγή των χαρακτηριστικών του εκμαγείου. Η μέθοδος αυτή δίνει την δυνατότητα παραγωγής τρισδιάστατων δομών. Οι δομές στους μικροαναμίκτες μπορεί να έχουν υψηλό AR (Aspect ratio = λόγος του ύψους προς το πλάτος του καναλιού) και πολύ λεπτά κανάλια. Αυτό σε συνδυασμό με το υψηλό ιξώδες του πλαστικού, αυξάνει την απαιτούμενη πίεση εγχύσεως.

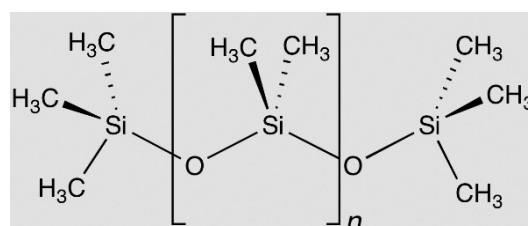
Εικόνα 1.35



1.3.9 Μαλακή λιθογραφία – Soft lithography

Η τεχνική αυτή ονομάζεται ‘μαλακή’ διότι χρησιμοποιεί ελαστομερή υλικά, κυρίως PDMS (Polydimethylsiloxane) και η μορφοποίηση γίνεται μέσω απλής επαφής. Το PDMS έχει υψηλή οπτική διαφάνεια για μήκη κύματος πάνω από 230nm και χαμηλό αυτοφθορισμό. Το υλικό αυτό έχει επίσης χαμηλή ελεύθερη ενέργεια επιφανείας, γεγονός που εμποδίζει τα μόρια των περισσότερων άλλων πολυμερών από το να αντιδράσουν με την επιφάνειά του. Η ελεύθερη ενέργεια επιφανείας του μπορεί να ρυθμιστεί και μέσω επεξεργασίας με

Εικόνα 1.36

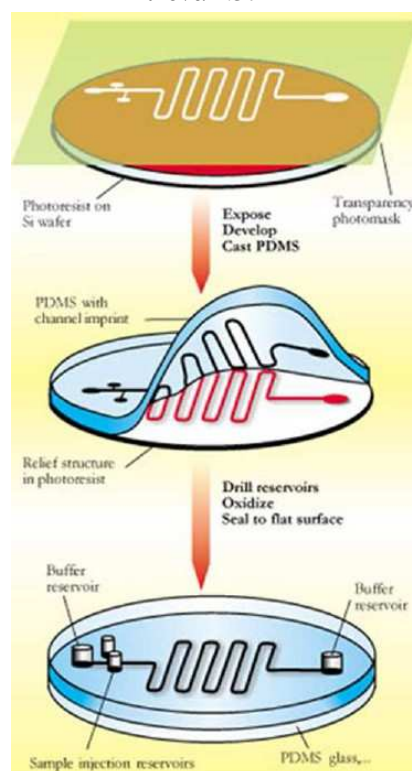


πλάσμα (plasma treatment). Η σκλήρυνσή του μπορεί να γίνει μέσω θέρμανσης ή υπεριώδους ακτινοβολίας. Έχει καλή μηχανική αντοχή, ανθεκτικότητα στην θερμοκρασία και την υγρασία και επειδή είναι ελαστομερές μπορεί να προσκολληθεί σε μη επίπεδες επιφάνειες.

Το PDMS παρουσιάζει και κάποια μειονεκτήματα, όπως διόγκωση, συρρίκνωση και ελαστική παραμόρφωση. Η συρρίκνωση κατά την σκλήρυνση είναι απαραίτητο να λαμβάνεται υπόψιν κατά τον σχεδιασμό ενός τεμαχίου PDMS. Επιπλέον υπερβολικά μεγάλο AR (aspect ratio) μπορεί να οδηγήσει σε προσκόλληση μεταξύ τους, δύο παραλλήλων επιφανειών. Πολύ χαμηλά AR οδηγούν σε 'βούλιαγμα' (sagging) των περιοχών που δεν εφάπτονται, καθιστώντας τα περεταίρω βήματα της μαλακής λιθογραφίας αδύνατα. Τα προτεινόμενα AR για μαλακή λιθογραφία κυμαίνονται, όπως αναφέρεται από τους Xia και μεταξύ 0.2 και 2.

Εικόνα 1.37

Όσον αφορά την μεταφορά του σχεδίου του καναλιού επί του ελαστομερούς, η διαδικασία ξεκινάει με την κατασκευή μιας σφραγίδας με χρήση τεχνολογιών όπως η φωτολιθογραφία σε ένα παχύ στρώμα φωτοαντίστασης, όπως SU-8 ή το Deep Reactive Ion Etching σε σιλικόνη. Για την δημιουργία του PDMS αναμιγνύονται δύο προπολυμερή. Ο λόγος του βάρους της βάσης και του παράγοντα σκλήρυνσης είναι μπορεί να είναι 10:1 ή 5:1. Στην συνέχεια το μίγμα του PDMS εγχύεται πάνω στην σφραγίδα καλούπι, όπου και παραμένει για αρκετές ώρες, σε θερμοκρασία 60°C με 80°C, μέχρι να σκληρυνθεί. Αφού αποκολληθεί από το καλούπι, και υποστεί επιφανειακή κατεργασία με χαμηλής θερμοκρασίας πλάσμα οξυγόνου, μπορεί πλέον να σφραγιστεί. Η σφράγιση μπορεί να γίνει με καθαρό γυαλί, σιλικόνη, ή και PDMS που έχει υποστεί και αυτό επιφανειακή ενεργοποίηση. Αυτού του είδους η σφράγιση παραμένει στεγανή για πιέσεις έως και 5bar. Τρισδιάστατες δομές μπορούν να σχηματιστούν με την με επίστρωση πολλών διαδοχικών φύλλων PDMS. Η τοποθέτηση μεθανόλης ανάμεσα σε δύο φύλλα PDMS μετά την κατεργασία με πλάσμα, εμποδίζει την σύνδεση των στρωμάτων, μέχρι να εξατμιστεί. Το κόστος της μεθόδου αυτής είναι χαμηλό, οι σφραγίδες είναι δυνατόν να επαναχρησιμοποιηθούν και ο χρόνος κατασκευής του τελικού προϊόντος σχετικά μικρός.



1.3.10 Εγχάραξη με Λείζερ – Laser Machining

Η εγχάραξη με laser είναι μια κατεργασία εστιασμένη και δεν περιλαμβάνει επαφή. Οι κατεργασίες που μπορούν να γίνουν με το Laser περιλαμβάνουν: διάτρηση, κοπή, εγχάραξη, αποτύπωση σημαδιών (marking) και δημιουργία υφής (texturing). Το μειονέκτημα της κατεργασίας με Laser είναι η επαναπόθεση του αφαιρούμενου υλικού, πράγμα που αλλοιώνει την ποιότητα επιφανείας. Για την δημιουργία μικροδομών σε

πολυμερή, χρησιμοποιούνται λέιζερ υπέρυθρης ακτινοβολίας (UV Lasers), των οποίων όμως το κόστος είναι πολύ μεγαλύτερο από εκείνο ενός λέιζερ CO₂. Χαρακτηριστικό μήκος κύματος των λέιζερ διοξειδίου του άνθρακα είναι 10,6μm. Οι παράγοντες που καθορίζουν την γεωμετρική μορφή της διατομής ενός καναλιού που ανοίγεται με την χρήση laser, είναι η ισχύς του λέιζερ, η κατανομή ενέργειας της δέσμης του λέιζερ (Gaussian), η ταχύτητα της δέσμης και ο συντελεστής θερμικής διάχυσης του κατεργαζόμενου υλικού. Λόγω της κατανομής Gauss της ενέργειας της δέσμης του laser, το διανοιγόμενο κανάλι έχει και αυτό σχήμα κατανομής Gauss. Οι δύο κυριότερες παράμετροι της μικροκατεργασίας με laser είναι το μήκος κύματος και η ισχύς της δέσμης. Τρία είδη laser χρησιμοποιούνται κυρίως για μικροκατεργασίες με λέιζερ: Λέιζερ διηγερωμένου διατομικού μορίου (Excimer Lasers), με υπεριώδη μήκη κύματος, Λέιζερ Nd:YAG (**Nd:Y₃Al₅O₁₂**) με μήκη κύματος κοντά στο υπέρυθρο, στο ορατό αλλά και στο υπεριώδες και Λέιζερ διοξειδίου του άνθρακα, με βαθύ υπέρυθρο μήκος κύματος.

Η επιλογή του μήκους κύματος του Laser γίνεται λαμβάνοντας υπόψιν την ελάχιστη διάσταση που θα δημιουργηθεί και τα οπτικά χαρακτηριστικά του κατεργαζόμενου υλικού (απορρόφηση, ανάκλαση φωτός). Σύμφωνα με την θεωρία, η μικρότερη διάσταση που μπορεί να δημιουργήσει ένα Laser με μήκος κύματος λ, είναι περίπου διπλάσια του μήκους κύματος. Η επιλογή της ισχύος του laser, γίνεται με κριτήριο το επιθυμητό μέγεθος της δομής που θέλουμε να δημιουργήσουμε και τον ρυθμό κατεργασίας. Γενικά είναι επιθυμητό ένα Laser να εκτέμπει σύντομους παλμούς, γεγονός που εμποδίζει την εξάπλωση της θερμότητας σε γειτονικά τμήματα του υλικού και το στρώμα υλικού που αφαιρείται με κάθε παλμό, να είναι επίσης μικρό, ώστε η διαδικασία να είναι ελεγχόμενη και το κανάλι να μπορεί να χαραχθεί με ακρίβεια, με την χρήση συγκεκριμένου αριθμού παλμών. Η κατεργασία με Laser, μπορεί να γίνει είτε με χρήση μάσκας (ελάχιστο μήκος δομής, ίσο με το διπλάσιο του μήκους κύματος της δέσμης), είτε με σάρωση της δέσμης μέσω καθρεπτών. Στην τελευταία περίπτωση η μικρότερη δομή που μπορεί να επιτευχθεί εξαρτάται από την ακρίβεια του συστήματος σάρωσης και είναι της τάξεως των 25 με 50 μm.

1.4 Σφράγιση Μικρορευστονικών Διατάξεων

Οι ανωτέρω αναφερθείσες μέθοδοι κατασκευής μικροκαναλιών, δημιουργούν ένα ανοικτό σύνολο καναλιών. Για να είναι στεγανός ο αναμίκτης, πρέπει να γίνει με κάποιον τρόπο σφράγιση της διάταξης. Στην περίπτωση που το υλικό του αναμίκτη είναι PDMS, η σφράγιση μπορεί να γίνει με υλικά όπως γυαλί, σιλικόνη και PDMS που έχει υποστεί κατεργασία πλάσματος. Η σφράγιση αυτού του είδους αντέχει πιέσεις 30-50 psi και είναι μη αντιστρέψιμη. Στεγανοποίηση ενός PDMS κυκλώματος μπορεί να γίνει και με εκμετάλλευση των δυνάμεων Van der Waals. Σε αυτήν την περίπτωση, η σφράγιση είναι αναστρέψιμη και μπορεί να αντέξει πίεση μέχρι και 5 psi. Οι μέθοδοι συγκόλλησης πολυμερούς – πολυμερούς περιλαμβάνουν :

- Χρήση προσκολλητικής ύλης – Adhesives
- Κόλληση βασισμένη σε διαλύτη - Solvent-assisted glueing
- Θερμική συγκόλληση - Thermal bonding : Κατά την μέθοδο αυτή, γίνεται θέρμανση των προς συγκόλληση τεμαχίων, τα οποία είναι φτιαγμένα από το ίδιο υλικό, σε θερμοκρασία κοντά ή πάνω από την θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης T_g. Έτσι σχηματίζονται δεσμοί μεταξύ των δύο επιφανειών που βρίσκονται σε επαφή, με αποτέλεσμα να συγκολλώνται μόνιμα.

- Συγκόλληση με Laser (Laser Welding)
- Σφράγιση με λεπτό πολυμερικό φιλμ (Lamination Sealing)
- Σφράγιση με υπερήχους, μικροκύματα : Η τεχνική χρησιμοποιείται για περιοχές μικρού εμβαδού (1x1cm).

1.5 Εφαρμογές της τεχνολογίας μικροαναμικτών

1.5.1 Χημική Βιομηχανία

1.5.1.1 Μικροαναμικτές ως μικροαντιδραστήρες

Οι μικροαναμικτές διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην χημική βιομηχανία, όπου χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές όπως η κρυστάλλωση (crystallization), η οργανική σύνθεση (organic synthesis), ο πολυμερισμός (polymerization) και η εκχύλιση (extraction). Το κύριο πλεονέκτημα που παρουσιάζουν οι μικροαναμικτές, είναι η ταχύτητα της ανάμιξης, η οποία οφείλεται στους μικρούς χρόνους διάχυσης.

Συγκεκριμένα, η διάχυση σε μία διάσταση μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση:

$$x^2 = 2 \cdot D \cdot t \quad ,$$

όπου t είναι ο απαιτούμενος χρόνος για τη διάχυση των σωματιδίων σε μια απόσταση x . Στην περίπτωση ενός μικροαναμικτή, το x είναι το πλάτος του καναλιού. Σύμφωνα με αυτήν την εξίσωση, μια μείωση του x κατά δύο τάξεις μεγέθους, οδηγεί σε μείωση του χρόνου διάχυσης κατά τέσσερις τάξεις μεγέθους. Η διάχυση είναι επομένως ένας αποδοτικός και γρήγορος μηχανισμός ανάμιξης στην μικροκλίμακα.

Όσον αφορά τις χημικές αντιδράσεις, ο ρυθμός αντίδρασης r , δίνεται από την εξίσωση :

$$r = \frac{dc_C}{dt} = -k \cdot c_A^a \cdot c_B^b \quad ,$$

Όπου c_A , c_B και c_C , είναι οι συγκεντρώσεις των A, B και C ουσιών αντιστοίχως. Τα a και b είναι οι τάξεις αντίδρασης των A και B. Η σταθερά αντίδρασης k αντιπροσωπεύει τον αριθμό των συγκρούσεων μεταξύ των A και B και είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας T :

$$k(T) = k_0 \cdot \exp\left(\frac{-E_0}{k_B T}\right) \quad ,$$

όπου k_0 είναι μια σταθερά, E_0 είναι η ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης και k_B η σταθερά του Boltzmann. Από την παραπάνω εξίσωση παρατηρούμε ότι η σταθερά αντίδρασης k αυξάνεται, αυξανόμενης της θερμοκρασίας, ή μειούμενης της ενέργειας ενεργοποίησης E_0 .

Για αντιδράσεις με πολύ γρήγορη κινητική, ο ρυθμός με τον οποίον θα γίνει η αντίδραση, καθορίζεται από την διάχυση. Όσο μεγαλύτερος ο συντελεστής διάχυσης, τόσο πιο υψηλή σταθερά αντίδρασης k έχουμε. Ο σχεδιασμός ενός μικροαναμικτή επομένως και η αποτελεσματικότητα της διάχυσης εντός αυτού, είναι καθοριστικός παράγοντας για τον ρυθμό αντίδρασης r .

1.5.1.2 Εφαρμογές κρυστάλλωσης

Η κρυστάλλωση είναι η φυσική ή τεχνητή διαδικασία του σχηματισμού στερεών κρυστάλλων μέσω καθιζήσεως εντός ενός διαλύματος, ή πιο σπάνια μέσω αποθέσεως από ένα αέριο. Η κρυστάλλωση είναι επίσης μια τεχνική διαχωρισμού στερεού – υγρού κατά την οποία γίνεται μεταφορά μάζας μιας διαλυμένης ουσίας, από ένα υγρό διάλυμα σε μια καθαρή στερεά φάση. Πρόκειται για μια πολύ σημαντική διαδικασία στην φαρμακευτική βιομηχανία. Τα δυο βασικά βήματα στην διαδικασία της κρυστάλλωσης είναι η πυρηνοποίηση (nucleation) και η ανάπτυξη των κρυστάλλων.

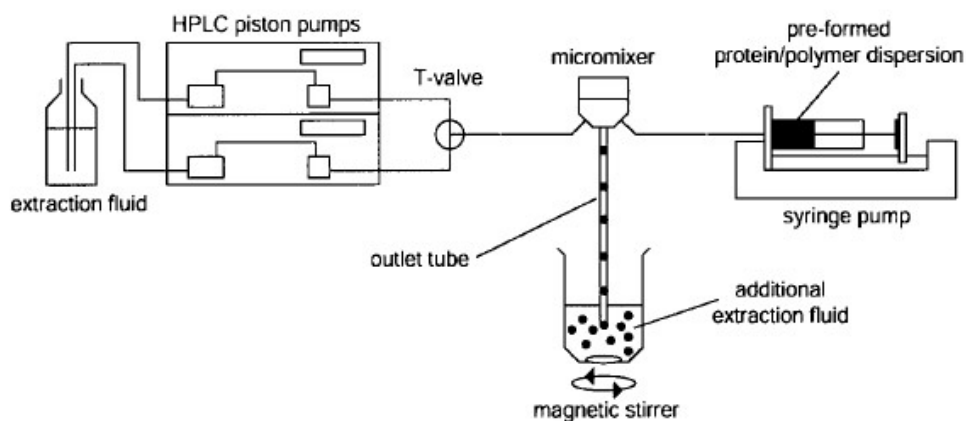
Η πυρηνοποίηση είναι η έναρξη μιας αλλαγής φάσης σε μια μικρή περιοχή, όπως ο σχηματισμός ενός στερεού κρυστάλλου σε ένα υγρό διάλυμα. Στην φάση της πυρηνοποίησης, ο υπερκορεσμός του διαλύματος είναι πολύ σημαντικός ενισχυτικός παράγοντας και εξαρτάται από τον τοπικό ρυθμό ανάμιξης. Οι περισσότερες έρευνες πάνω στην διαδικασία της κρυστάλλωσης κατά την μικροανάμιξη έχουν γίνει σε T- ή Y-αναμίκτες και σε τυρβώδεις ροές ($Re > 2300$), παράγοντας μεγάλες ποσότητες κρυσταλοποιημένων προϊόντων. Ενδεικτικά προϊόντα κρυστάλλωσης είναι το βενζοϊκό οξύ (benzoic acid – χρήση κυρίως στην παραγωγή φαινόλης και την επακόλουθη παραγωγή νάιλον), το θειϊκό βάριο (barium sulfate - χρήση στην εξόρυξη πετρελαίου), το οξαλικό ασβέστιο (calcium oxalate – παραγωγή κεραμικού σμάλτου).

1.5.1.3 Εφαρμογές εκχύλισης

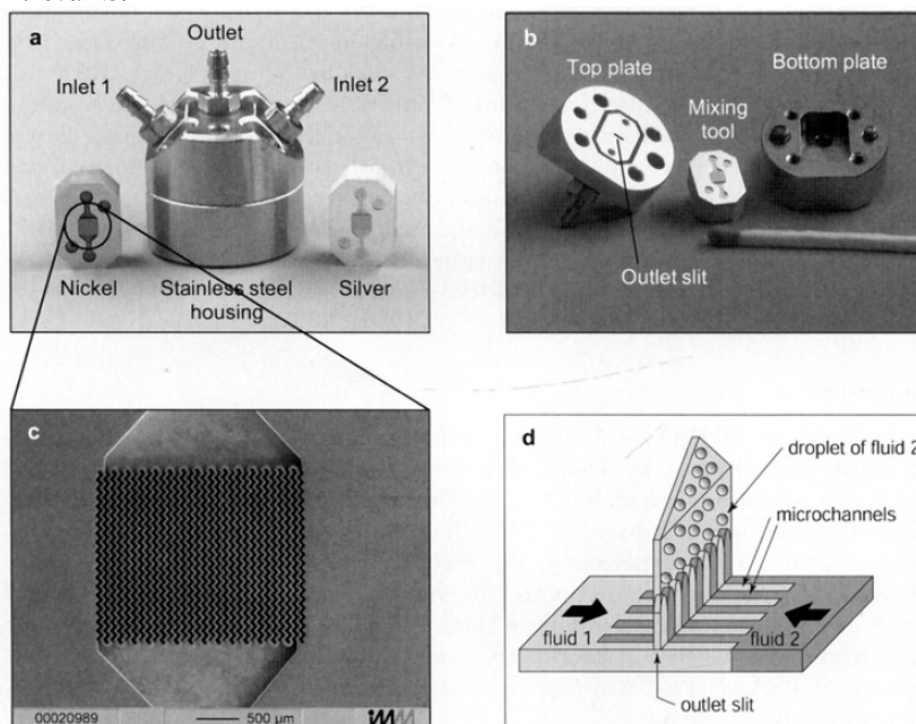
Στην χημεία, η εκχύλιση είναι μια διαδικασία διαχωρισμού μιας ουσίας από ένα μίγμα ουσιών. Στην εκχύλιση υγρού – υγρού (liquid – liquid extraction) χρησιμοποιούνται δύο μη αναμίξιμα υγρά. Το ένα εκ των δύο περιέχει μια διαλυμένη ουσία, η οποία πρέπει να μεταφερθεί στο άλλο ρεύμα. Το ρεύμα που παραλαμβάνει το εκχύλισμα πρέπει να έχει χαμηλό σημείο βρασμού, ώστε στην συνέχεια να αφαιρείται από το προϊόν. Τυπικές διαδικασίες εκχύλισης περιλαμβάνουν την εκχύλιση οργανικών ενώσεων, από ένα υδατικό διάλυμα σε ένα οργανικό διάλυμα. Η διαδικασία της εκχύλισης βασίζεται στην αρχή ότι τα όμοια διαλύουν όμοια. Αυτό σημαίνει ότι αν τα μόρια μιας ένωσης είναι πολικά, τότε η ένωση μπορεί να διαλυθεί μόνο σε έναν πολικό διαλύτη. Αντίστοιχα, μη πολικές ενώσεις διαλύονται σε μη πολικούς διαλύτες. Κατά την εκχύλιση έχουμε δύο φάσεις, η μια εκ των οποίων είναι πολική (π.χ. νερό) και η άλλη μη πολική (π.χ. οργανική φάση). Οι δυο φάσεις είναι μη αναμίξιμες μεταξύ τους υπάρχει μια διεπιφάνεια. Μέσω αυτής της διεπιφάνειας, τα πολικά μόρια ουσιών που βρίσκονται αρχικά στο διάλυμα, θα κινηθούν προς την πολική φάση και τα μη πολικά, προς την μη πολική φάση. Επομένως η κύρια παράμετρος που χαρακτηρίζει την διαδικασία της εκχύλισης είναι η μεταφορά μάζας δια μέσου της διεπιφάνειας των δύο φάσεων, γεγονός που υποδεικνύει ότι η χρήση μικροαναμικτών θα διευκόλυνε τις εφαρμογές εκχύλισης. Ο υψηλός λόγος επιφάνειας προς όγκο των μικροαναμικτών και το μικρό μήκος ανάμιξης αποτελούν σημαντικό πλεονέκτημα για την διαδικασία.

Οι Freitas et al. (2002), χρησιμοποίησαν έναν στατικό διαψηφιακού τύπου μικροαναμικτών για την παραγωγή πολυμερικών μικροσφαιρών ‘φορτωμένων’ με πρωτεΐνες. Οι συγγραφείς αναφέρουν την δυνατότητα μαζικής παραγωγής μέσω παράλληλης εγκατάστασης επαρκούς αριθμού τέτοιων μικροαναμικτών. Ο αναμίκτης που χρησιμοποιήθηκε και η όλη διάταξη, φαίνονται σχηματικά παρακάτω:

Εικόνα 1.38



Εικόνα 1.39



1.5.1.4 Εφαρμογές πολυμερισμού

Ο πολυμερισμός είναι μια χημική διαδικασία μέσω της οποίας μονομερή ενώνονται για τον σχηματισμό μιας αλυσίδας πολυμερούς. Σε μια αντίδραση πολυμερισμού είναι συχνά επιθυμητός ο έλεγχος του μοριακού βάρους. Μια ποικιλία παραγόντων έχουν αναγνωριστεί ως κρίσιμοι για τον έλεγχο του μοριακού βάρους, μεταξύ των οποίων η θερμοκρασία, το είδος και η συγκέντρωση του όξινου αρχικού παράγοντα (acidic initiator), καθώς και τα χαρακτηριστικά του μικροαναμίκτη. Δύο παράγοντες που συντελούν στην διαφοροποίηση των μοριακών βαρών των σχηματιζόμενων πολυμερών είναι η έλλειψη ομοιογένειας του διαλύματος και οι απώλειες θερμότητας της διάταξης. Το κύριο πλεονέκτημα της ανάμιξης στις πολυμερικές αντιδράσεις είναι ο υψηλός λόγος επιφάνειας προς όγκο, που επιτρέπει καλύτερο θερμικό έλεγχο των εξώθερμων καθώς και άλλων αντιδράσεων. Η πρόσδοση ή αφαίρεση θερμότητας μέσω των τοιχωμάτων μπορεί να γίνει ραγδαία και η μεταβολή θα μεταδοθεί πολύ γρήγορα σε όλον τον όγκο του ρευστού. Η ομογενοποίηση του διαλύματος συντελείται επίσης πολύ γρήγορα, λόγω της μικρής κλίμακας της ανάμιξης,

η οποία επιτρέπει την ραγδαία – σε σχέση με την χρονική κλίμακα της αντιδράσεως πολυμερισμού – μεταφορά μάζας μέσω διάχυσης.

1.5.2 Βιολογικές εφαρμογές

Στην κλινική ιατρική και τις βιολογικές μελέτες, τα μικρορευστονικά συστήματα χρησιμοποιούνται ευρέως για την ταυτοποίηση βιοχημικών προϊόντων, την διάγνωση, την εύρεση φαρμάκων και την διερεύνηση των συμπτωμάτων των ασθενειών. Οι βιολογικές εφαρμογές επίσης περιλαμβάνουν ενζυμικές δοκιμές (enzyme assays), λύση κυττάρων (cell lysis) και αναδίπλωση πρωτεϊνών (protein folding).

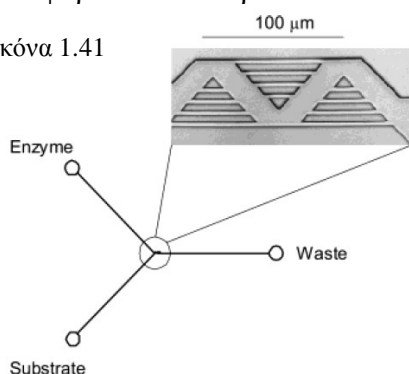
1.5.2.1 Εφαρμογές σε ενζυμικές δοκιμές

Οι ενζυμικές δοκιμές είναι εργαστηριακές μέθοδοι για την μέτρηση της ενζυμικής δραστηριότητας. Είναι δοκιμές πολύ σημαντικές για την μελέτη της κινηματικής των ενζύμων και της αναστολής ενζύμων (enzyme inhibition). Η χρήση μικρορευστονικών διατάξεων στις ενζυμικές δοκιμές ενσωματώνει πολλά πλεονεκτήματα, όπως μειωμένη κατανάλωση δείγματος, μειωμένο κόστος και ταχεία ανάμιξη καταλυτών και ενζύμων.

Ο Hadd et al. (1997) χρησιμοποίησαν έναν ενεργητικό T-μικροαναμίκτη, όπου ροή των ρευστών ήταν ηλεκτροκινητικά επαγόμενη. Ο έλεγχος της ροής έγινε με εφαρμογή τάσης στις δεξαμενές συστατικών (1, 2, 3, 4, 5). Στον αναμίκτη εισάγονται τα ένζυμα, η ουσία πάνω στην οποία δρουν τα ένζυμα (substrate), ένα ρυθμιστικό διάλυμα (buffer solution) για την διατήρηση του pH, καθώς και ο αναστολέας ενζύμου. Τα αποτελέσματα που εξήγαγαν οι ερευνητές σχετικά με την κινητική και τον μηχανισμό αναστολής των ενζύμων, ήταν συνεπή με αυτά που προέρχονταν από συμβατικές προσεγγίσεις, ενώ η μείωση του χρόνου και της κατανάλωσης δείγματος ήταν πολύ σημαντική.

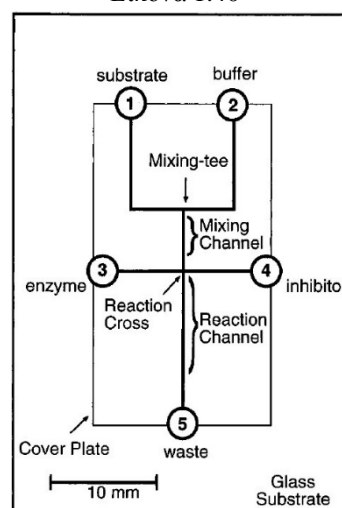
Οι Burke και Regnier (2003), ήταν οι πρώτοι που ανέπτυξαν ένα μοντέλο μικροαναμίκτη αναχαιτιζόμενης ροής (stopped flow micromixer), για ενζυμικές δοκιμές. Η μεταφορά των αντιδρώντων στο σύστημα έγινε μέσω ηλεκτροοσμωτικής

Εικόνα 1.41



μακροσκοπικά συστήματα.

Εικόνα 1.40

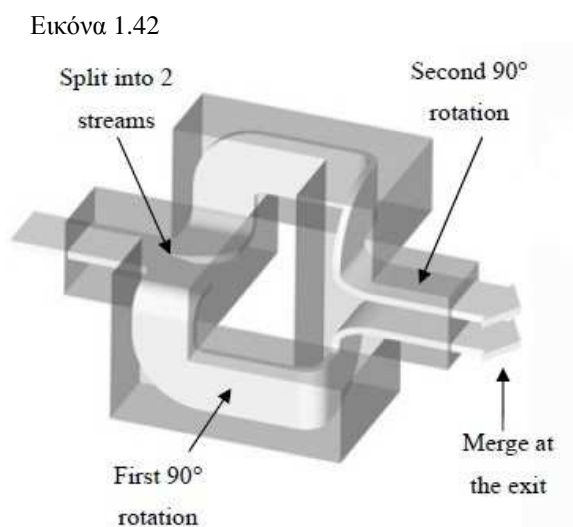


ροής. Ο μικροαναμίκτης χρησιμοποιούσε πολύ μικρούς όγκους ρευστού (100 pL) και λειτουργούσε σε πολύ χαμηλό Reynolds ($Re=0.0025$). Η διέλευση και η ανάμιξη των συστατικών μέσω του αναμίκτη, ολοκληρωνόταν σε χρόνο λιγότερο από 1 sec. Ο καθορισμός των κινητικών στεθερών της β-γαλακτοσιδάσης μέσω της χρήσης αυτής της διάταξης, έγινε εντός ενός λεπτού, με μια απόκλιση της τάξεως $\pm 10\%$ σε σχέση με τα

1.5.2.2 Εφαρμογές βιολογικού διαχωρισμού

Για την εύρεση ενός συγκεκριμένου βιολογικού μορίου μέσα σε ένα δείγμα, είναι απαραίτητο η διάταξη να επιτρέπει την εξέταση δειγμάτων μικρού όγκου. Οι μικροαναμίκτες επομένως μπορούν να αποδειχθούν πολύ χρήσιμοι για αυτήν την διαδικασία.

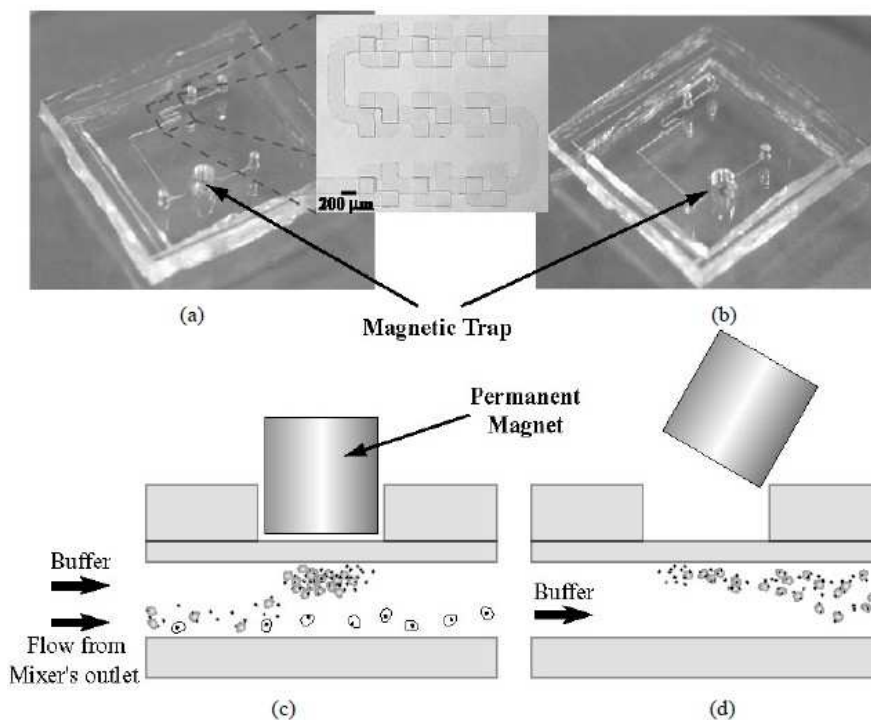
Ο Tan et al. (2005) σχεδίασαν, κατασκεύασαν και πραγματοποίησαν δοκιμές σε μικροαναμίκτη, μέρος μιας διάταξης μαγνητικού διαχωρισμού κυττάρων. Για την αποφυγή της απώλειας κυττάρων και μαγνητικών σφαιριδίων λόγω κατακάθισης αλλά και την καλύτερη ανάμιξη, τα κανάλια του αναμίκτη είναι σχεδιασμένα ώστε τα στρώματα της ροής να περιστρέφονται κατά 180°, όπως φαίνεται στο ακόλουθο σχήμα.



Γεωμετρία μονάδας του καναλιού

Τα κύτταρα και τα μαγνητικά σφαιρίδια εισάγονται ξεχωριστά στην συσκευή. Τα σφαιρίδια είναι επενδεδυμένα με αντισώματα, τα οποία προσδένονται σε συγκεκριμένα σημεία της επιφάνειας των κυττάρων-στόχων. Τα σχηματιζόμενα συμπλέγματα σφαιριδίων-κυττάρων διαχωρίζονται από το υπόλοιπο ρευστό με την χρήση ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου.

Εικόνα 1.43

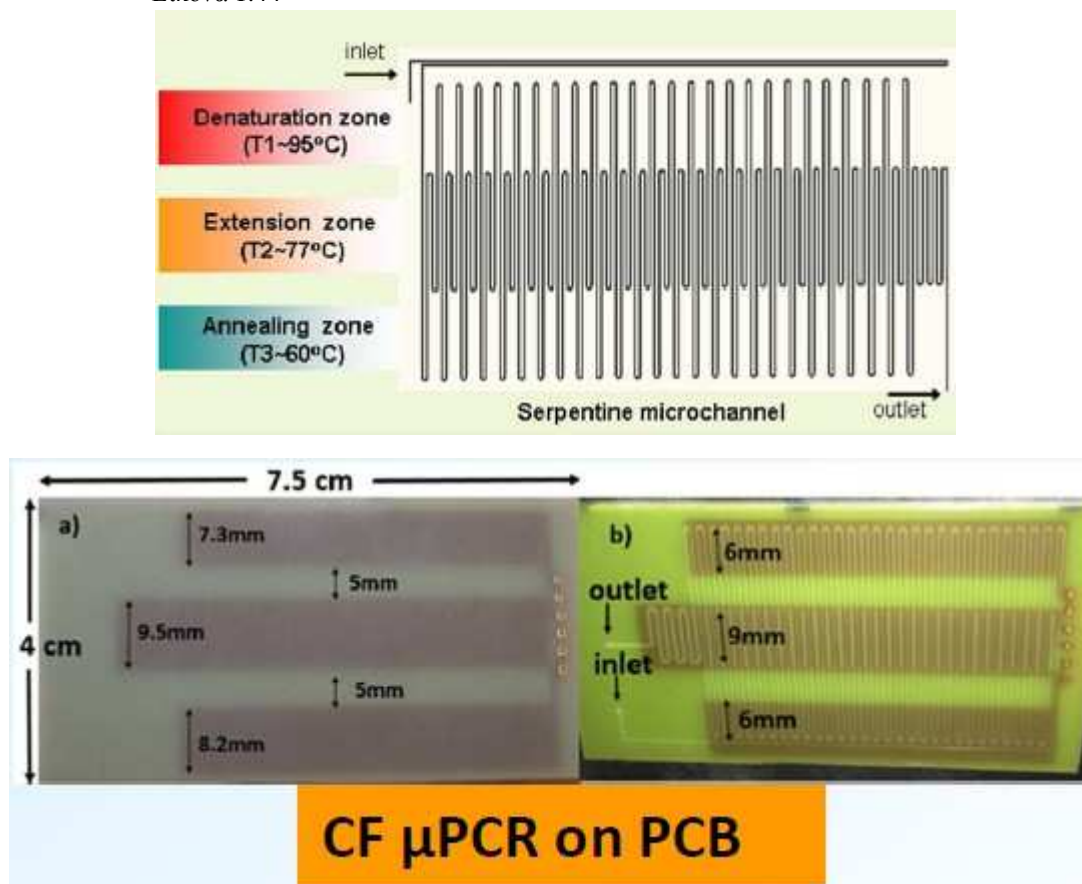


Ο μικροαναμίκτης των Tan et al. (2005), (a) Μικροαναμίκτης με τρισδιάστατη δομή, που στρέφει το ρευστό κατά 180°. (b) Μικροαναμίκτης με ευθύγραμμο κανάλι (c) Μόνιμος μαγνήτης για τον διαχωρισμό των συσσωματωμάτων κυττάρων – σφαιριδίων (d) Αφαίρεση μόνιμου μαγνήτη και παράσυρση των κυττάρων στόχων από την ροή.

1.5.2.3 Εφαρμογές σε βιοαναλυτικές διεργασίες

Οι μικροαναμίκτες χρησιμοποιούνται σε αρκετές βιοαναλυτικές εφαρμογές, ως μέρος μιας βιοαναλυτικής πλατφόρμας LOC. Μια από αυτές είναι και η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Η PCR χρησιμοποιείται για την ενίσχυση ενός ή λίγων αλυσίδων DNA, παράγοντας χιλιάδες έως εκατομμύρια αντίγραφα της συγκεκριμένης αλληλουχίας DNA. Η μέθοδος βασίζεται σε επαναλαμβανόμενους κύκλους θέρμανσης και ψύξης της αντίδρασης. Το σχέδιο και η φωτογραφία ενός τέτοιου μικροαναμίκτη που κατασκευάστηκε στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών 'Δημόκριτος' για την πραγματοποίηση PCR αντιδράσεων παρουσιάζεται παρακάτω. Τα σκουρόχρωμα τμήματα που φαίνονται στην πλακέτα του αναμίκτη κάτω δεξιά είναι αντιστάσεις για την ρύθμιση της θερμοκρασίας σε κάθε ζώνη.

Εικόνα 1.44



Τυπικά μια αντίδραση PCR αποτελείται από μια σειρά 20 έως 40 θερμικών κύκλων. Ο κάθε κύκλος περιλαμβάνει συνήθως επώαση του δείγματος σε τρεις διακριτές θερμοκρασίες. Η επιλογή των θερμοκρασιών και ο χρόνος παραμονής σε κάθε θερμοκρασία εξαρτώνται από διάφορες παραμέτρους, μεταξύ των οποίων είναι τα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για την σύνθεση του DNA.

Βήμα μετουσίωσης του DNA (Denaturation Step): Είναι το πρώτο βήμα του κύκλου και περιλαμβάνει την θέρμανση της αντίδρασης στους 94-98°C. Η θέρμανση προκαλεί αποδιάταξη του δίκλωνου DNA, μέσω διάσπασης των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών βάσεων.

Βήμα προσαρμογής των εκκινητών στο DNA εκμαγείο (Annealing Step): Η θερμοκρασία στο στάδιο αυτό μειώνεται στους 50-65°C. Σε αυτήν την θερμοκρασία οι εκκινητές (primers) προσδένονται στο συμπληρωματικό κομμάτι DNA που αντιστοιχεί στην δική τους ακολουθία νουκλεοτιδίων. Οι εκκινητές είναι απαραίτητοι, καθώς τα ένζυμα που επιτελούν την αντιγραφή του DNA, οι πολυμεράσες, δεν μπορούν να τοποθετήσουν ένα νέο νουκλεοτίδιο στην δημιουργούμενη αλληλουχία DNA, αν δεν 'ελέγξουν' πρώτα ότι το προηγούμενο νουκλεοτίδιο είναι σωστά τοποθετημένο. Επομένως οι εκκινητές δίνουν την δυνατότητα στις πολυμεράσες, να ξεκινήσουν την αντιγραφή του προς ενίσχυση τμήματος του DNA.

Βήμα επώασης (Extension / Elongation Step): Η θερμοκρασία σε αυτό το βήμα εξαρτάται από το είδος της πολυμεράσης που χρησιμοποιείται. Συνήθεις θερμοκρασίες κυμαίνονται μεταξύ 75°C και 80°C. Σε αυτό το βήμα, οι πολυμεράσες συνθέτουν νέο κλώνο DNA συμπληρωματικό του αρχικού.

1.5.2.4 Αναδίπλωση πρωτεϊνών

Η αναδίπλωση μιας πρωτεΐνης είναι η διαδικασία μέσω της οποίας αποκτά την τελική της, τρισδιάστατη λειτουργική μορφή. Κάθε πρωτεΐνη, μετά την σύνθεσή της από το mRNA είναι μια γραμμική αλυσίδα αμινοξέων (πολυπεπτίδιο). Αυτό το πολυπεπτίδιο δεν έχει ακόμα μια σταθερή τρισδιάστατη μορφή. Τα αμινοξέα του πολυπεπτιδίου αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με αποτέλεσμα την παραγωγή μιας σταθερής τρισδιάστατης δομής, της αναδιπλωμένης πρωτεΐνης. Η αναδίπλωση πρωτεϊνών είναι σημαντική καθώς σχετίζεται με μια ποικιλία γενετικών ασθενειών. Η αναδίπλωση συμβαίνει σε χρονική κλίμακα των nano ή milliseconds και οι μικροαναμίκτες που προορίζονται για αυτήν την διεργασία, επιτυγχάνουν ραγδαία ανάμιξη εντός milliseconds.

Βιβλιογραφία 1^ο Κεφαλαίου

Nam-Trung Nguyen, 'Micromixers-Fundamentals, Design and Fabrication', School of Mechanical and Aerospace Engineering, Nanyang Technological University, Singapore, William Andrew Inc. 2008

Ioanna N. Kefala, Vasileios E. Papadopoulos, Georgia Karpou, George Kokkoris, and Angeliki Tserepi, 'A Passive Micromixer for Bioanalytical Applications', 4th Micro and Nano Flows Conference UCL, London, UK, 7-10 September 2014

V.E. Papadopoulos, I.N. Kefala, G. Kaprou, G. Kokkoris, D. Moschou, G. Papadakis, E. Gizeli, A. Tserepi, 'A passive micromixer for enzymatic digestion of DNA', Microelectronic Engineering 124 (2014) 42–46

Lorenzo Capretto, Wei Cheng, Martyn Hill, and Xunli Zhang, 'Micromixing Within Microfluidic Devices', Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011.

Elmabruk A. Mansur, YE Mingxing, WANG Yundong* and DAI Youyuan, 'A State-of-the-Art Review of Mixing in Microfluidic Mixers', The State Key Laboratory of Chemical Engineering, Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, China, Chinese Journal of Chemical Engineering, 16(4) 503—516 (2008)

Nam-Trung Nguyen and Zhigang Wu, 'Micromixers—a review', J. Micromech. Microeng. 15 (2005) R1–R16

Nam-Trung Nguyen, Steven T. Wereley, 'Fundamentals and Applications of Microfluidics' 2002 Artech House, inc. Boston • London

H.M. Xia, C. Shu, Y.T. Chew, Z.P. Wang, 'Approximate mapping method for prediction of chaotic mixing in spatial-periodic microchannel', chemical engineering research and design 88 (2010) 1419–1426

Marko Hoffmann, Michael Schlueter, Norbert Raebiger, 'Experimental investigation of liquid liquid mixing in T-shaped micro-mixers using μ -LIF and μ -PIV', chemical engineering science 61 (2006) 2968-2976

Zhigang Wu Z Nam-Trung Nguyen, 'Convective–diffusive transport in parallel lamination micromixers', Microfluid Nanofluid (2005) 1: 208–217 DOI 10.1007/s10404-004-0011-x

Peter B. Howell, Jr, David R. Mott, Joel P. Golden, Frances S. Ligler, 'Design and evaluation of a Dean vortex-based micromixer', (2004)

James B. Knight, Ashvin Vishwanath, James P. Brody, and Robert H. Austin, 'Hydrodynamic Focusing on a Silicon Chip: Mixing Nanoliters in Microseconds' Department of Physics, Princeton University, Volume 80, number 17 Physical review letters 1998

Maureen Long,¹ Michael A. Sprague,² Anthony A. Grimes,¹ Brent D. Rich,¹ and Michelle Khine¹, 'A simple three-dimensional vortex micromixer', *School of Natural Sciences, University of California, Merced, Merced, California 95344, APPLIED PHYSICS LETTERS* 94, 133501 _2009_

T. Stiles Z R. Fallon Z T. Vestad Z J. Oakey, D. W. M. Marr Z J. Squier Z R. Jimenez, 'Hydrodynamic focusing for vacuum-pumped microfluidics', *Microfluid Nanofluid* (2005) 1: 280–283 DOI 10.1007/s10404-005-0033-z ,Springer-Verlag 2005

Bryant, P. W.¹, † , Neumann, R. F.¹, † , Moura, M. J. B.¹, † , Steiner, M.¹, Carvalho, M. S.², and Feger, C.¹, 'Quantitative μ PIV Measurements of Velocity Profiles', *IBM Research – Brazil*, *2Dept. Mech. Eng., PUC–Rio, Rio de Janeiro, Brazil*, †Equal contribution, arXiv:1407.5034v2 [cond-mat.mes-hall] 29 Jul 2014

John Evans, Dorian Liepmann, Albert P. Pisano, 'Planar Laminar Mixer', *Berkeley Sensor & Actuator Center, Department of Mechanical Engineering, UniVolker Hessel*, Holger Löwe, Friedhelm Schönfeld*University of California, Berkeley, 1997

Volker Hessel*, Holger Löwe, Friedhelm Schönfeld, 'Micromixers—a review on passive and active mixing principles', *Institut für Mikrotechnik Mainz*, 2004

Kazuo Hikosawa, Teruo Fujii and Isao Endo, 'Droplet based nano/picoliter mixer using hydrophobic microcapillary vent', *Biochemical Systems Lab ,RIKEN, Japan*, 1999

Eric Lam, Tri Ngo, 'Manufacturing a PDMS microfluidic device via a Silicon Wafer Master', *Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology*, 2007

Virginie Ménégaud, Jacques Josserand, and Hubert H. Girault, 'Mixing Processes in a Zigzag Microchannel: Finite Element Simulations and Optical Study', *Laboratoire d'Electrochimie Physique et Analytique, Ecole Polytechnique Fe´de´rale de Lausanne, Anal. Chem.* 2002, 74, 4279-4286

Hye Yoon Park, Xiangyun Qiu, Elizabeth Rhoades, Jonas Korlach, Lisa W. Kwok, Warren R. Zipfel, Watt W. Webb, and Lois Pollack, 'Achieving Uniform Mixing in a Microfluidic Device: Hydrodynamic Focusing Prior to Mixing', *School of Applied and Engineering Physics, Cornell University*, 2006

Lilin Wang and Jing-Tang Yang, 'An overlapping crisscross micromixer using chaotic mixing principles,' *Department of Power Mechanical Engineering, National Tsing Hua University, Institute of Physics, Publishing Journal of micromechanics and dmicroengineering, Micromech. Microeng.* 16 (2006) 2684–2691 doi:10.1088/0960-1317/16/12/022

Gi Seok Jeong,^a Seok Chung,^b Chang-Beom Kima and Sang-Hoon Lee, 'Applications of micromixing technology' *The Royal Society of Chemistry -Analyst*, 2010, 135, 460–473

Kurt Benz, Klaus-Peter Jäckel, Klaus-Jürgen Regenauer, Jörg Schiewe, Klaus Drese, Wolfgang Ehrfeld, Volker Hessel, and Holger Löwe, 'Utilization of Micromixers for

Extraction Processes', Chem. Eng. Technol. 24 (2001) 1, Ó WILEY-VCH Verlag GmbH, D-69469 Weinheim, 2001 0930-7516/01/0101-0011 \$ 17.50+.50/0

Brian J. Burke and Fred E. Regnier*, 'Stopped-Flow Enzyme Assays on a Chip Using a Microfabricated Mixer', Anal. Chem. 2003, 75, 1786-1791 Department of Chemistry, Purdue University, West Lafayette, Indiana

S. Freitas, A. Vaiz, H. P. MERKLE and B. GANDER, 'Solvent extraction employing a static micromixer: a simple, robust and versatile technology for the microencapsulation of proteins', Institute of Pharmaceutical Sciences, ETH Zurich, 2002

Andrew G. Hadd,† Daniel E. Raymond,† John W. Halliwell,‡ Stephen C. Jacobson,† and J. Michael Ramsey*,†, 'Microchip Device for Performing Enzyme Assays', Oak Ridge National Laboratory, P.O. Box 2008, Building 4500S, MS 614,2, Oak Ridge, Tennessee, Anal. Chem. 1997, 69, 3407-3412

Eric Lam, Tri Ngo, ' Manufacturing a PDMS microfluidic device via a Silicon Wafer Master' Harvard-MIT Division of Health Sciences and Technology HST.410J: Projects in Microscale Engineering for the Life Sciences, Spring 2007

Aiichiro Nagaki,[a] Takeshi Iwasaki,[a] Kohsuke Kawamura,[a] Daisuke Yamada,[a] Seiji Suga,[a] Tuyoshi Ando,[b] Mitsuo Sawamoto,[b] and Jun-ichi Yoshida*[a] 'Microflow System Controlled Carbocationic Polymerization of Vinyl Ethers', 2008 Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim Chem. Asian J. 2008, 3, 1558 – 1567

T. Sprogies *, J.M. Köhler, G.A. Groß, 'Evaluation of static micromixers for flow-through extraction by emulsification' Technische Universität Ilmenau, Institute of Physics, Department of Physical Chemistry and Microreaction Technology, Ilmenau, Germany, Chemical Engineering Journal 135S (2008) S199–S202

Internet

<https://www.youtube.com/watch?v=6D1h0fca8OI>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Crystallization#Nucleation>

https://en.wikipedia.org/wiki/Separatory_funnel

https://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction#Procedure

https://en.wikipedia.org/wiki/Protein_folding

Κεφάλαιο 2^ο

Micro-PIV

2.1 Εισαγωγή

Υπάρχουν αρκετές περιοχές της επιστήμης και της τεχνολογίας, όπου είναι σημαντικός ο καθορισμός του πεδίου ροής στην μικροκλίμακα. Βιομηχανικές εφαρμογές μικρορευστομηχανικών συσκευών συναντώνται στις βιομηχανίες της αεροδιαστημικής, των υπολογιστών, της βιοϊατρικής καθώς και στην αυτοκινητοβιομηχανία. Στην αεροδιαστημική παραδείγματος χάριν, σχεδιάζονται για την JPL/NASA, υπερηχητικά ακροφύσια στην μικροκλίμακα, τα οποία χρησιμοποιούνται ως μικροπροωθητήρες σε μικροδορυφόρους. Όσον αφορά τον τομέα των υπολογιστών, οι inkjet εκτυπωτές αποτελούνται από σειρά ακροφυσίων με στόμια εξόδου, διαστάσεων δεκάδων μm . Η βιοϊατρική βιομηχανία αναπτύσσει και χρησιμοποιεί μικρορευστομηχανικές συσκευές, με εφαρμογές στην διαγνωστική, την παρακολούθηση ασθενών και την χορήγηση φαρμάκων. Άλλα παραδείγματα μικρορευστομηχανικών διατάξεων για την βιοϊατρική έρευνα περιλαμβάνουν κυτταρόμετρα ροής για την ανίχνευση καρκινικών κυττάρων, και θαλάμους όπου λαμβάνει χώρα αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) για ενίσχυση DNA. Οι λεπτομέρειες της κίνησης του ρευστού μέσω αυτών των μικρών καναλιών, σε συνδυασμό με τις μη γραμμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ μακρομορίων, κυττάρων, και η φυσική της ροής που διέπεται από φαινόμενα επιφάνειας, δημιουργούν πολύ περίπλοκα φαινόμενα, τα οποία μπορεί να είναι δύσκολο να προσομοιωθούν αριθμητικά.

2.2 Συνοπτική περιγραφή της μεθόδου Particle Image Velocimetry (PIV) , σύγκριση με μ-PIV

Η μέθοδος PIV είναι μια μέθοδος οπτικοποίησης της ροής, η οποία χρησιμοποιείται για την μέτρηση του στιγμιαίου πεδίου ταχυτήτων ενός ρευστού. Το ρευστό αναμιγνύεται με σωματίδια, τα οποία είναι τέτοιου μεγέθους ώστε να ακολουθούν την ροή πιστά. Τα σωματίδια πρέπει να φωτιστούν σε ένα επίπεδο της ροής, τουλάχιστον δυο φορές μέσα σε ένα σύντομο χρονικό διάστημα, μέσω ενός laser. Το φως το οποίο σκεδάζεται από τα σωματίδια, καταγράφεται είτε σε ένα, είτε σε μια αλληλουχία καρέ. Η μετατόπιση των σωματιδίων ανάμεσα στους δύο παλμούς, όπως αυτή καταγράφεται από την κάμερα, μας επιτρέπει τον καθορισμό του πεδίου ταχυτήτων του ρευστού. Για υψηλής ποιότητας μετρήσεις PIV και για την επίτευξη βέλτιστης αξιολόγησης, είναι επιθυμητό τα σωματίδια αυτά να είναι ομογενώς κατανεμημένα εντός του ρευστού. Η επεξεργασία των δεδομένων που συλλέγονται κατά την χρήση της τεχνικής PIV, γίνεται μέσω καταλλήλου λογισμικού. Για την επεξεργασία, η εικόνα χωρίζεται σε μικρότερες υποπεριοχές, τις ονομαζόμενες 'περιοχές επεξεργασίας' (interrogation areas). Το διάνυσμα μετατόπισης ανάμεσα στους δύο παλμούς, για κάθε περιοχή, καθορίζεται με στατιστικές μεθόδους (αυτοσυσχέτιση / ετεροσυσχέτιση). Όλα τα σωματίδια εντός μιας περιοχής επεξεργασίας, θεωρούνται ότι κινήθηκαν ομογενώς μεταξύ των δυο παλμών και η ταχύτητα υπολογίζεται λαμβάνοντας υπόψιν, πέραν της μετατόπισης των σωματιδίων, την χρονική καθυστέρηση ανάμεσα στους παλμούς και την μεγέθυνση κατά την απεικόνιση. Παρακάτω παρουσιάζονται τα κύρια χαρακτηριστικά της μεθόδου:

Η μέθοδος PIV είναι **μη επεμβατική** σε αντίθεση με τεχνικές όπως η ανεμομετρία θερμού νήματος, ή η χρήση σωλήνων pitot κ.λ.π. Αυτό επιτρέπει την χρήση της σε ροές υψηλής ταχύτητας με κύματα κρούσης ή σε οριακά στρώματα κοντά σε τοιχώματα, όπου η ροή θα διαταρασσόταν από την παρουσία μετρητικών οργάνων εντός της.

Επίσης η μέθοδος επιτρέπει την μέτρηση ταχυτήτων σε **μεγάλα τμήματα του πεδίου ροής**. Με εξαίρεση τις τεχνικές Doppler Global Velocimetry και Molecular Tagging Velocimetry, οι υπόλοιπες τεχνικές μέτρησης ταχυτήτων, επιτρέπουν την μέτρηση της ταχύτητας της ροής σε ένα μεμονωμένο σημείο, με υψηλή όμως χρονική ανάλυση. Η χωρική ανάλυση της PIV είναι υψηλή, όμως η χρονική είναι μικρότερη, λόγω τεχνολογικών περιορισμών.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό της PIV που πρέπει να ληφθεί υπόψιν είναι η **υστέρηση των σωματιδίων ανιχνευτών**. Για να πάρουμε αξιόπιστες μετρήσεις, τα σωματίδια πρέπει να ακολουθούν πιστά την πορεία του ρευστού. Τα μικρά σωματίδια ακολουθούν την ροή καλύτερα. Αντίθετα, τα μεγάλα σωματίδια δεν ακολουθούν το ίδιο πιστά, αλλά σκεδάζουν αποδοτικότερα το φως σε σχέση με τα μικρά.

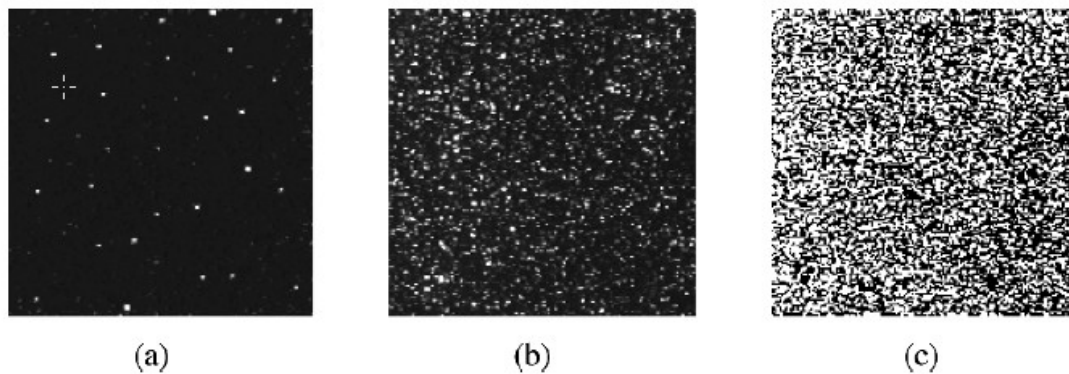
Σε περιπτώσεις ροής αερίων, όπου η χρήση πολύ μικρών σωματιδίων είναι απαραίτητη, απαιτείται η χρήση μιας υψηλής ισχύος **πηγής φωτός**, ώστε να έχουμε μια καλή έκθεση του φιλμ. Στις περισσότερες πάντως εφαρμογές, πρέπει να βρεθεί μια μέση λύση, που θα συνδυάζει ικανοποιητική σκέδαση φωτός αλλά και μικρή υστέρηση των σωματιδίων. Στις ροές υγρών, συνήθως είναι αποδεκτή η χρήση μεγαλύτερων σωματιδίων, οπότε η πηγή φωτός που χρησιμοποιείται είναι αρκετά μειωμένης ισχύος.

Όσον αφορά την **διάρκεια του παλμού φωτισμού**, πρέπει να είναι αρκετή ώστε να 'παγώνει' την κίνηση των σωματιδίων κατά την διάρκεια της έκθεσης και να αποφεύγεται το θόλωμα της εικόνας. Η **χρονική υστέρηση ανάμεσα στους παλμούς φωτός**, πρέπει να είναι αρκετή ώστε να μπορεί να καθορισθεί η μετατόπιση των σωματιδίων ανιχνευτών μεταξύ των εικόνων και αρκετά μικρή ώστε να αποφευχθεί η έξοδος από το επίπεδο φωτισμού, σωματιδίων με συνιστώσα ταχύτητας κάθετη στο επίπεδο αυτό.

Ανάλογα με την **πυκνότητα των σωματιδίων ανιχνευτών**, μπορούμε ποιοτικά να διακρίνουμε τρεις περιπτώσεις πυκνότητας εικόνας:

- (a) Χαμηλή πυκνότητα εικόνας, όπου μεμονωμένα σωματίδια μπορούν να εντοπιστούν και ίχνη που αντιστοιχούν στο ίδιο σωματίδιο, μπορούν να ταυτοποιηθούν σε διαφορετικές εικόνες. Η κατάσταση αυτή αναφέρεται ως 'Particle Tracking Velocimetry' (PTV)
- (b) Μέση πυκνότητα εικόνας, όπου οι εικόνες μεμονωμένων σωματιδίων μπορούν και πάλι να εντοπισθούν, δεν είναι όμως δυνατή η αντιστοίχιση δια του οφθαλμού ίχνών που ανήκουν στο ίδιο σωματίδιο σε διαφορετικές εικόνες. Η μέθοδος αυτή αποτελεί την τεχνική Particle Image Velocimetry (PIV).
- (c) Υψηλή πυκνότητα εικόνας. Πλέον δεν είναι δυνατόν να εντοπισθούν μεμονωμένα σωματίδια, καθώς οι εικόνες πολλών σωματιδίων αλληλοεπικαλύπτονται. Η μέθοδος καλείται Laser Speckle Velocimetry (LSV).

Εικόνα 2.1

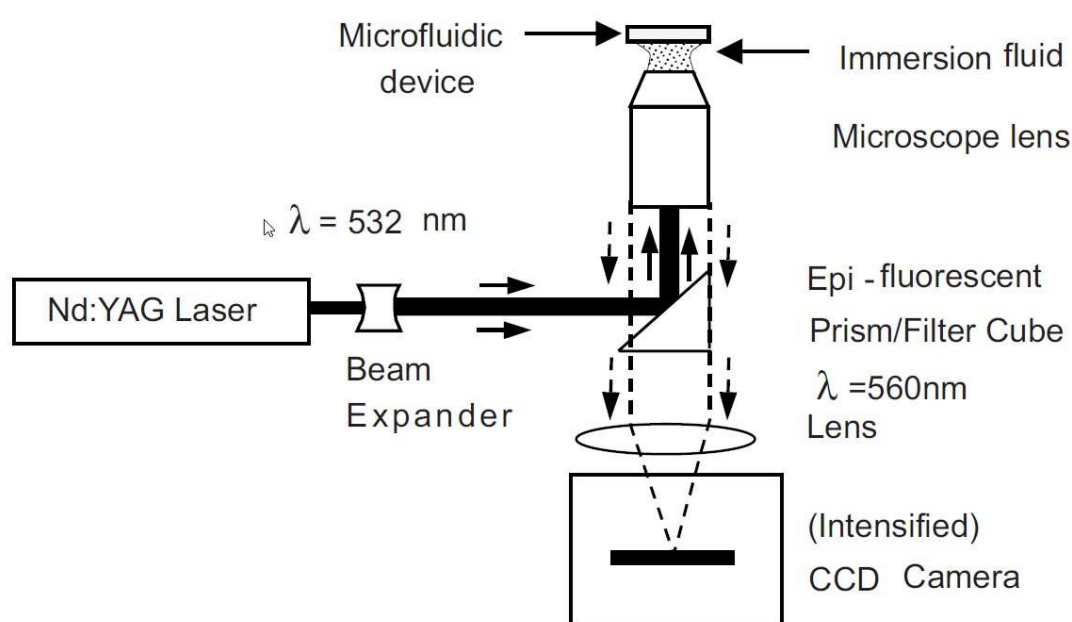


Η μέθοδος PIV είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την μέτρηση πεδίου ταχυτήτων σε μακροσκοπικές ροές. Όταν όμως απαιτούνται χωρικές αναλύσεις της τάξεως μm , η μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η micro-PIV. Τα σωματίδια ανιχνευτές τα οποία χρησιμοποιούνται στην $\mu\text{-PIV}$ έχουν διάμετρο τάξεως μεγέθους δεκάδων ή εκατοντάδων nm .

2.3 Τυπική διάταξη συστήματος micro - PIV

Μια τυπική διάταξη ενός micro - PIV συστήματος παρουσιάζεται παρακάτω. Ο παλμός του laser χρησιμοποιείται για να φωτίσει την ροή, και η κάμερα συγχρονίζεται μαζί του, μέσω ηλεκτρονικού εξοπλισμού, για να την καταγράψει. Η μετατόπιση των σωματιδίων, καθορίζεται με χρήση αλγορίθμου ετεροσυσχέτισης μεταξύ ενός ζεύγους εικόνων, οι οποίες έχουν ληφθεί με μικρή χρονική διαφορά μεταξύ τους. Μέσω βαθμονόμησης, οι συντεταγμένες των σωματιδίων σε pixel, μετατρέπονται σε χωρικές συντεταγμένες. Τέλος για το κάθε σωματίδιο, η ευρεθείσα μετατόπιση, διαιρείται με το χρονικό διάστημα Δt , το οποίο μεσολάβησε ανάμεσα στους δύο παλμούς του Laser και τις δύο λήψεις εικόνας. Με αυτόν τον τρόπο, προκύπτει το πεδίο ταχυτήτων, ως ταχύτητα=μετατόπιση/ Δt .

Εικόνα 2.2



2.3.1 Σωματίδια ανιχνευτές

Μια εικόνα PIV δημιουργείται από τα σωματίδια ανιχνευτές που τοποθετούμε εντός της ροής. Κάποιες βασικές προδιαγραφές για την επιλογή σωματιδίων είναι η μη τοξικότητα, η μη διαβρωτικότητα και η χημική αδράνεια. Θα πρέπει επίσης να είναι αρκετά μικρά, ώστε να ακολουθούν πιστά την ροή, αλλά και αρκετά μεγάλα, ώστε να σκεδάζουν επαρκώς το φως και να είναι δυνατή η καλή απεικόνισή τους.

2.3.1.1 Ρευστομηχανικές ιδιότητες

Μια κύρια πηγή σφάλματος είναι η δράση των βαρυτικών δυνάμεων, αν η πυκνότητα του ρευστού ρ και η πυκνότητα των σωματιδίων ρ_p , δεν ταιριάζουν. Αν και μπορεί να αμεληθεί στις περισσότερες πρακτικές καταστάσεις, παρακάτω παρουσιάζεται η εξίσωση της συνιστώσας της ταχύτητας που προκαλείται από την

βαρύτητα. Θεωρώντας σφαιρικά σωματίδια εντός συνεκτικού ρευστού σε πολύ χαμηλό αριθμό Reynolds προκύπτει ότι:

$$U_g = d_p^2 \cdot \frac{(\rho_p - \rho)}{18 \mu} g$$

όπου g η επιτάχυνση της βαρύτητας, μ η δυναμική συνεκτικότητα του ρευστού και d_p η διάμετρος του σωματιδίου. Σε αναλογία με την παραπάνω εξίσωση μπορούμε να πάρουμε μια εκτίμηση για την υστέρηση της ταχύτητας ενός σωματιδίου σε σχέση με αυτήν του ρευστού. Έτσι έχουμε:

$$U_S = U_P - U = d_p^2 \cdot \frac{(\rho_p - \rho)}{18 \mu} a$$

όπου U_P είναι η ταχύτητα του σωματιδίου και U η μέση ταχύτητα του ρευστού. Η ταχύτητα U_P τυπικά ακολουθεί εκθετικό νόμο αν η πυκνότητα του σωματιδίου είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτήν του ρευστού:

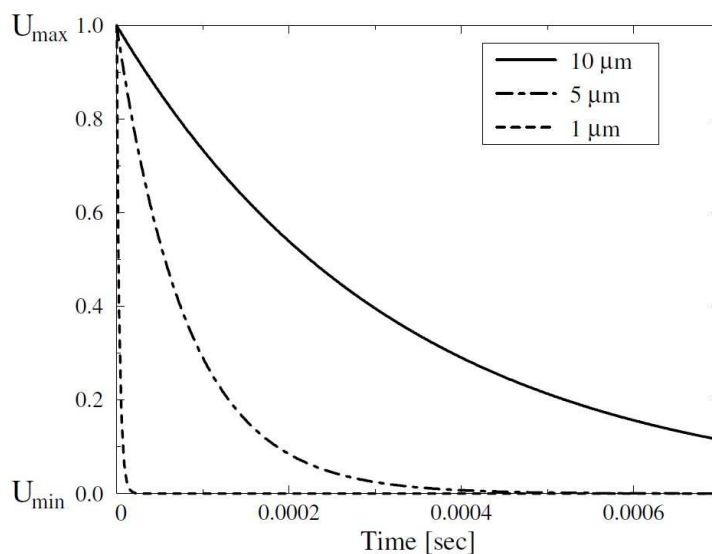
$$U_P(t) = U \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau_s}\right) \right]$$

όπου ο χρόνος χαλάρωσης τ_s δίνεται από την σχέση:

$$\tau_s = d_p^2 \cdot \frac{\rho_p}{18 \mu}$$

Ο χρόνος τ_s αποτελεί ένα βολικό μέτρο της τάσης των σωματιδίων να έρθουν σε ισορροπία ταχύτητας με το ρευστό. Προφανώς όσο μεγαλύτερη η διάμετρος των σωματιδίων, τόσο μεγαλύτερος ο χρόνος που απαιτείται ώστε αυτά να έρθουν σε ισορροπία με το ρευστό. Αυτή η διαπίστωση απεικονίζεται στο ακόλουθο διάγραμμα (M. Raffel, Particle Image Velocimetry, A Practical Guide), όπου παρουσιάζεται η ταχύτητα των σωματιδίων λαδιού εντός επιβραδυνόμενης ροής αέρα, συναρτήσει του χρόνου για διαμέτρους σωματιδίων $1 \mu\text{m}$, $5 \mu\text{m}$ και $10 \mu\text{m}$.

Εικόνα 2.3



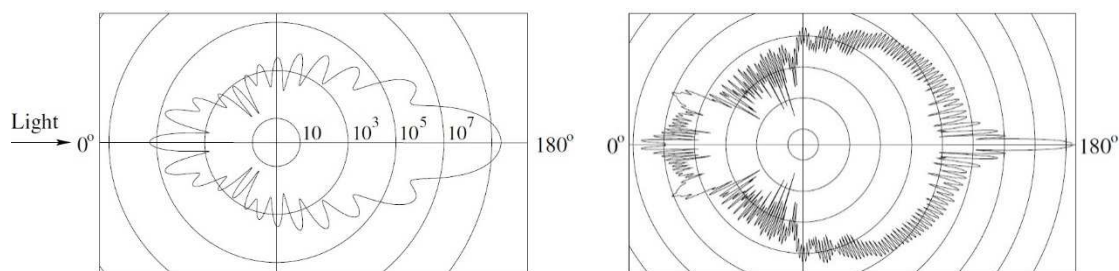
2.3.1.2 Συμπεριφορά κατά την σκέδαση φωτός

Εφόσον η ένταση της εικόνας των σωματιδίων που λαμβάνουμε και επομένως και η αντίθεση της λήψης είναι ευθέως ανάλογα της ισχύος του εκπεμπόμενου φωτός, είναι συχνά πιο αποτελεσματικό και οικονομικό να αυξήσουμε την ένταση της εικόνας επιλέγοντας κατάλληλα τα σωματίδια, παρά αυξάνοντας την ισχύ του laser. Εν γένει μπορούμε να πούμε ότι το φως που σκεδάζεται από μικρά σωματίδια είναι συνάρτηση του μεγέθους, του σχήματος και του προσανατολισμού των σωματιδίων καθώς και του πηλίκου του δείκτη διάθλασης των σωματιδίων προς εκείνον του περιβάλλοντος μέσου. Επιπλέον η σκέδαση εξαρτάται και από την γωνία πόλωσης και παρατήρησης. Για σφαιρικά σωματίδια με διάμετρο d_p μεγαλύτερη από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, μπορεί να εφαρμοστεί η θεωρία σκέδασης του Mie. Παράδειγμα πολικής κατανομής της έντασης του εκπεμπόμενου φωτός μήκους κύματος 532nm για σωματίδια λαδιού διαμέτρου 1μm εντός αέρα. Η σκέδαση Mie μπορεί να χαρακτηριστεί από την κανονικοποιημένη διάμετρο q , οριζόμενη ως:

$$q = \frac{\pi \cdot d_p}{\lambda}$$

Αν η ποσότητα q είναι μεγαλύτερη της μονάδας, τότε περίπου 'q' στον αριθμό τοπικά μέγιστα εμφανίζονται στην γωνιακή κατανομή σκεδαζόμενης ακτινοβολίας στο διάστημα από 0° έως 180°. Αυξανόμενου του 'q', δηλαδή όσο η διάμετρος των σωματιδίων αυξάνεται σε σχέση με το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, το πηλίκο της έντασης της προς τα εμπρός ακτινοβολίας (180°) προς την προς τα πίσω ακτινοβολία, αυξάνεται ραγδαία. Εποπτικά τα παραπάνω φαίνονται στα ακόλουθα δύο σχήματα (Raffel), όπου παρουσιάζεται η κατανομή της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από σωματίδια λαδιού διαμέτρου 1μm και 10μm αντιστοίχως, σε αέρα:

Εικόνα 2.4



Σκέδαση από σωματίδια λαδιού 1μm Σκέδαση από σωματίδια λαδιού 10μm

Όπως προαναφέρθη, όσο η διάμετρος d_p των σωματιδίων αυξάνεται, τόσο αυξάνεται και το φως που σκεδάζεται από τα σωματίδια. Σύμφωνα όμως με τον ανωτέρω τύπο της κανονικοποιημένης διαμέτρου, το q αυξάνεται επίσης, αυξανόμενης της διαμέτρου d_p . Επομένως αυξάνονται και τα τοπικά μέγιστα στο φάσμα της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Για μια συγκεκριμένη γωνία παρατήρησης, η μεταβολή της έντασης του εκπεμπόμενου φωτός, συναρτήσει της διαμέτρου σωματιδίου, παρουσιάζει έντονες ταλαντώσεις.

2.3.2 Laser

Το laser είναι μια πηγή φωτός που παράγει μια δέσμη σχεδόν μονοχρωματικού φωτός με υψηλό βαθμό συμφωνίας (coherence), ως αποτέλεσμα συντονισμένης εκπομπής από πολλά άτομα. Όταν ένα άτομο έχει μια διεγερμένη κατάσταση με ενεργειακή στάθμη E πάνω από την θεμελιώδη κατάσταση, το άτομο στην θεμελιώδη κατάσταση μπορεί να απορροφήσει ένα φωτόνιο με συχνότητα f , τέτοια ώστε $E = hf$. Στην συνέχεια, κάποια στιγμή το διεγερμένο άτομο θα εκπέμψει ένα φωτόνιο συχνότητας ίδιας με αυτήν που απορρόφησε και θα επανέλθει στην θεμελιώδη κατάσταση. Η διεργασία αυτή ονομάζεται αυθόρμητη εκπομπή. Η διεύθυνση και η φάση του εκπεμπομένου φωτονίου είναι τυχαία. Κατά την εξαναγκασμένη εκπομπή, ένα φωτόνιο προσπίπτει σε ένα ήδη διεγερμένο άτομο. Με κάποια διαδικασία συντονισμού, το φωτόνιο αυτό αναγκάζει το άτομο να εκπέμψει ένα άλλο φωτόνιο με την ίδια συχνότητα, την ίδια κατεύθυνση, την ίδια φάση και την ίδια πόλωση με αυτά του προσπίπτοντος φωτονίου. Τα δυο φωτόνια έχουν έτσι μια καθορισμένη σχέση φάσεων και αναδύονται μαζί ως σύμφωνη ακτινοβολία (coherent radiation). Η απορρόφηση ενός φωτονίου, οδηγεί στην εκπομπή δύο, για αυτό και χρησιμοποιείται ο όρος ενίσχυση φωτός. Το laser κάνει χρήση της εξαναγκασμένης εκπομπής και παράγει μια δέσμη που αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό σύμφωνων τέτοιων φωτονίων.

Ορισμένοι κρύσταλλοι, όπως και κάποια μεγάλα οργανικά μόρια, όταν διεγερθούν παραμένουν στην διεγερμένη κατάσταση, για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα να υπάρχει χρονική καθυστέρηση μεταξύ διέγερσης και αποδιέγερσης, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στα φθορίζοντα υλικά. Ένα τέτοιο παράδειγμα υλικού είναι ο φώσφορος. Τα άτομα ή τα μόρια των υλικών αυτών διεγείρονται με την πρόσπτωση ορατού φωτός. Αντί όμως να αποδιεγερθούν αμέσως όπως γίνεται με τα φθορίζοντα υλικά, πολλά άτομα παραμένουν σε μια μετασταθή κατάσταση – μια παρατεταμένη κατάσταση διέγερσης, που μερικές φορές διαρκεί αρκετές ώρες, αν και τα περισσότερα άτομα αποδιεγείρονται μάλλον γρήγορα.

Τα φαινόμενα της διέγερσης, του φθορισμού και του φωσφορισμού αποτελούν την βάση λειτουργίας ενός Laser. Το φως που εκπέμπει ένας κοινός λαμπτήρας είναι ασύμφωνο, δηλαδή τα φωτόνια που εκπέμπονται έχουν διαφορετικές συχνότητες και βρίσκονται σε διαφορετικές φάσεις της ταλάντωσής τους. Μια δέσμη ασύμφωνου φωτός, μετά από κάποια μικρή απόσταση διασκορπίζεται. Όσο αυξάνεται η απόσταση από την πηγή, τόσο η δέσμη διευρύνεται και η έντασή της μειώνεται. Ακόμα και αν η δέσμη φιλτραριστεί, ώστε να αποτελείται από κύματα μίας μόνο συχνότητας (μονοχρωματική δέσμη), εξακολουθεί να είναι ασύμφωνη, διότι τα κύματα είναι εκτός φάσης μεταξύ τους.

Μια σύμφωνη δέσμη, όπου τα κύματα έχουν την ίδια συχνότητα και φάση, δεν διασκορπίζεται ούτε εξασθενεί. Το κάθε λέιζερ έχει μια πηγή ατόμων που ονομάζεται 'ενεργό μέσον'. Το ενεργό μέσο μπορεί να είναι αέριο, υγρό ή ένα στερεό (στο πρώτο λέιζερ είχε χρησιμοποιηθεί ένας κρύσταλλος ρουμπινιού). Τα άτομα αυτού του μέσου διεγείρονται σε μετασταθείς καταστάσεις μέσω μιας εξωτερικής πηγής ενέργειας. Όταν τα περισσότερα άτομα είναι διεγερμένα, ένα μοναδικό φωτόνιο που θα εκπέμψει από ένα άτομο που υφίσταται αποδιέγερση, μπορεί να πυροδοτήσει μια 'αλυσιδωτή αντίδραση'. Το φωτόνιο αυτό προσπίπτει σε ένα άλλο άτομο, προκαλώντας εξαναγκασμένη εκπομπή κ.ο.κ. με αποτέλεσμα την δημιουργία σύμφωνου φωτός. Το

μεγαλύτερο μέρος του φωτός αυτού διαδίδεται αρχικά σε τυχαίες διευθύνσεις. Το φως που διαδίδεται, όμως κατά μήκος του άξονα του λέιζερ, ανακλάται σε δυο παράλληλα κάτοπτρα με κατάλληλη επίστρωση ώστε να ανακλούν επιλεκτικά το φως ενός συγκεκριμένου μήκους κύματος. Το ένα κάτοπτρο είναι πλήρως ανακλαστικό, ενώ το άλλο μερικώς. Τα ανακλώμενα κύματα ενισχύονται ύστερα από κάθε κύκλο ανακλάσεων ανάμεσα στα δύο κάτοπτρα, δημιουργώντας με τον τρόπο αυτόν συνθήκες συντονισμού, υπό τις οποίες η ένταση του φωτός αυξάνεται σε σημαντικό βαθμό. Το φως που διαφεύγει από το ένα άκρο με το ημιπερατό κάτοπτρο, αποτελεί την δέσμη του λέιζερ.

Τα πρώτα λέιζερ που αναπτύχθηκαν ήταν τα λέιζερ κρυστάλλων και αερίου και ακολούθησαν τα λέιζερ γυαλιού, υγρού, ημιαγωγών, καθώς και τα χημικά λέιζερ. Τα σύγχρονα μοντέλα παράγουν δέσμες που εκτείνονται από το υπέρυθρο έως το υπεριώδες. Μερικά μοντέλα μπορούν να ρυθμιστούν ώστε να δίνουν διάφορες περιοχές συχνοτήτων.

2.3.2.1 Πληθυσμιακή αναστροφή

Για να επιτευχθεί αξιόλογος ρυθμός εξαναγκασμένης εκπομπής απαιτείται η δημιουργία μιας κατάστασης ‘μη ισορροπίας’, κατά την οποία ο αριθμός των ατόμων που βρίσκονται σε διεγερμένη κατάσταση να υπερβαίνει τον αριθμό ατόμων που βρίσκονται στην θεμελιώδη κατάσταση. Όταν αυτό συμβεί, λέμε ότι έχει επιτευχθεί ‘πληθυσμιακή αναστροφή’.

Για να εξετάσουμε την εξαναγκασμένη εκπομπή και την πληθυσμιακή αναστροφή, χρειάζεται να γνωρίζουμε πόσα άτομα βρίσκονται σε κάθε μια από τις ενεργειακές καταστάσεις. Σε ένα αέριο αυτό καθορίζεται από την συνάρτηση κατανομής Maxwell-Boltzmann. Σύμφωνα με αυτήν, όταν ένα άτομο βρίσκεται σε θερμική ισορροπία σε απόλυτη θερμοκρασία T , ο αριθμός N των ατόμων σε μία ενεργειακή κατάσταση E , είναι ανάλογος του $e^{-E/(kT)}$, όπου k είναι η σταθερά του Boltzmann. Λόγω του αρνητικού εκθέτη, λιγότερα άτομα βρίσκονται σε καταστάσεις μεγάλων ενεργειών όπως θα αναμέναμε. Αν E_0 η ενέργεια της θεμελιώδους κατάστασης και E_1 η ενέργεια μιας διεγερμένης κατάστασης, ο λόγος των αριθμών των ατόμων στις δύο καταστάσεις είναι $\frac{N_1}{N_0} = e^{-(E_1 - E_0)/kT}$. Για μια ενεργειακή διαφορά $E_1 - E_0 = 2,0 \text{ eV}$, τυπική τιμή ενέργειας για φωτόνια ορατού φωτός, και για θερμοκρασία $T = 3000\text{K}$, προκύπτει $\frac{N_1}{N_0} = e^{-7.73} = 0,00044$. Το ποσοστό αυτό είναι εξαιρετικά μικρό ακόμα και σε αυτήν την υψηλή θερμοκρασία. Το νόημα του συλλογισμού είναι ότι σε οποιαδήποτε λογική τιμή της θερμοκρασίας δεν υπάρχουν αρκετά άτομα σε διεγερμένες καταστάσεις ώστε να επιτευχθεί αξιόλογος ρυθμός εξαναγκασμένης εκπομπής από αυτές τις στάθμες.

Θα μπορούσαμε να προσπαθήσουμε να αυξήσουμε τον αριθμό των ατόμων σε διεγερμένες καταστάσεις περνώντας μέσα από το δοχείο μια δέσμη ακτινοβολίας με συχνότητα: $f = \frac{E_1 - E_0}{h}$, οπότε ορισμένα άτομα, απορροφώντας ενέργεια $E = E_1 - E_0$, θα μετέβαιναν σε μια διεγερμένη κατάσταση, αυξάνοντας τον λόγο των πληθυσμών $\frac{N_1}{N_0}$. Επειδή όμως το πλήθος N_0 είναι αρχικά πολύ μεγαλύτερο του N_1 , θα χρειαζόταν μια εξαιρετικά έντονη δέσμη φωτός για να αυξήσει το N_1 σε μια τιμή συγκρίσιμη με το N_0 . Ο ρυθμός με τον οποίον απορροφάται η ενέργεια της δέσμης από τα άτομα N_0 στην θεμελιώδη κατάσταση υπερτερεί κατά πολύ του ρυθμού με τον οποίον προστίθεται

ενέργεια στην δέσμη λόγω εξαναγκασμένης εκπομπής, από τα σχετικά σπάνια N_1 διεγερμένα άτομα.

Όταν το N_1 γίνει αρκετά μεγάλο σε σχέση με το N_0 , ο ρυθμός με τον οποίο ακτινοβολείται ενέργεια λόγω εξαναγκασμένης εκπομπής υπερβαίνει τον ρυθμό απορρόφησης. Το σύστημα δρα τότε ως πηγή ακτινοβολίας, με ενέργεια φωτονίων ίση με E . Επιπλέον, επειδή τα φωτόνια είναι αποτέλεσμα εξαναγκασμένης εκπομπής, έχουν όλα την ίδια συχνότητα, φάση, πόλωση και κατεύθυνση. Από την εξίσωση $\frac{N_1}{N_0} = e^{-(E_1-E_0)/kT}$ παρατηρούμε ότι όσο κι αν αυξηθεί θεωρητικά η θερμοκρασία, το πλήθος των ατόμων σε διεγερμένη στάθμη N_1 , τείνει ασυμπτωτικά προς το N_0 , χωρίς ποτέ να γίνονται ίσα. Σε ένα σύστημα επομένως σε θερμική ισορροπία δεν μπορεί να επιτευχθεί αναστροφή πληθυσμών. Για να συμβεί αυτό, πρέπει να ωθήσουμε το σύστημα σε μια κατάσταση εκτός ισορροπίας.

Αλληλεπιδράσεις φωτός και ύλης

Παρακάτω περιγράφονται οι σημαντικότερες αλληλεπιδράσεις φωτός και ύλης που λαμβάνουν χώρα εντός ενός Laser.

Απορρόφηση: Όταν φως συχνότητας ν_{12} περνάει μέσα από ένα σύνολο ατόμων, υπάρχει πιθανότητα το φως να απορροφηθεί από άτομα τα οποία βρίσκονται στην θεμελιώδη κατάσταση, με αποτέλεσμα αυτά να μεταβούν σε μια διεγερμένη ενεργειακή στάθμη. Ο ρυθμός απορρόφησης είναι ανάλογος με την ένταση της ακτινοβολίας καθώς και του αριθμού των ατόμων στην θεμελιώδη κατάσταση N_0 .

Αυθόρμητη εκπομπή: Έστω ότι έχουμε δυο καταστάσεις, ενός ατόμου: την θεμελιώδη N_0 και μια διεγερμένη N_1 . Αν μια ομάδα ατόμων βρίσκεται σε διεγερμένη κατάσταση, N_1 τότε ο ρυθμός εκπομπής φωτονίων που οδηγούν σε μετάβαση στην θεμελιώδη κατάσταση, είναι ανάλογος του αριθμού των διεγερμένων ατόμων N_1 . Η εκπομπή των φωτονίων είναι στοχαστική και δεν υπάρχει συγκεκριμένη σχέση μεταξύ των φάσεων των φωτονίων που εκπέμπονται από ένα σύνολο διεγερμένων ατόμων. Με άλλα λόγια η αυθόρμητη εκπομπή είναι ασύμφωνη. Απουσία άλλων διεργασιών, ο αριθμός ατόμων σε διεγερμένη κατάσταση N_1 την χρονική στιγμή t , δίνεται από την εξίσωση:

$$N_1(t) = N_1(0) \exp \frac{-t}{\tau_{10}}$$

όπου $N_1(0)$ είναι ο αριθμός των διεγερμένων ατόμων την στιγμή $t = 0$, και τ_{10} είναι ο χαρακτηριστικός χρόνος αποδιέγερσης.

Εξαναγκασμένη εκπομπή: Αν ένα άτομο είναι ήδη σε μια διεγερμένη κατάσταση μπορεί να διαταραχθεί από το πέρασμα ενός φωτονίου με συχνότητα ν_{21} που αντιστοιχεί σε ενεργειακή διαφορά ΔE μεταξύ της θεμελιώδους και της διεγερμένης κατάστασης. Σε αυτήν την περίπτωση, το διεγερμένο άτομο μεταβαίνει στην θεμελιώδη κατάσταση, μέσω 'εξαναγκασμένης' εκπομπής ενός δευτέρου φωτονίου συχνότητας ν_{21} . Το αρχικό φωτόνιο δεν απορροφάται από το άτομο και το αποτέλεσμα είναι δύο φωτόνια της ίδιας συχνότητας. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως εξαναγκασμένη εκπομπή.

Πιο συγκεκριμένα, ένα διεγερμένο άτομο, δρα ως ένα μικρό ηλεκτρικό δίπολο, το οποίο ταλαντώνεται με ένα εξωτερικά εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο. Ως συνέπεια αυτής της ταλάντωσης, τα ηλεκτρόνια ωθούνται προς την μετάπτωση στην θεμελιώδη κατάσταση. Όταν συμβεί αυτό λόγω της παρουσίας του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου

ενός φωτονίου, ένα φωτόνιο απελευθερώνεται στην ίδια φάση και κατεύθυνση με το διεγείρον φωτόνιο και η διαδικασία καλείται 'εξαναγκασμένη εκπομπή'.

Ο ρυθμός εξαναγκασμένης εκπομπής είναι ανάλογος του αριθμού ατόμων N_1 στην διεγερμένη κατάσταση και της πυκνότητας της ακτινοβολίας. Η πιθανότητα να προκαλέσει ένα φωτόνιο εξαναγκασμένη εκπομπή σε ένα διεγερμένο άτομο, αποδείχθηκε από τον Albert Einstein ότι είναι ακριβώς ίση με την πιθανότητα απορρόφησης του φωτονίου από ένα άτομο στην θεμελιώδη κατάσταση. Επομένως όταν ο αριθμός των ατόμων στην θεμελιώδη και την διεγερμένη κατάσταση είναι ίσος, ο ρυθμός εξαναγκασμένης εκπομπής ισούται με τον ρυθμό απορρόφησης για μια δεδομένη πυκνότητα ακτινοβολίας.

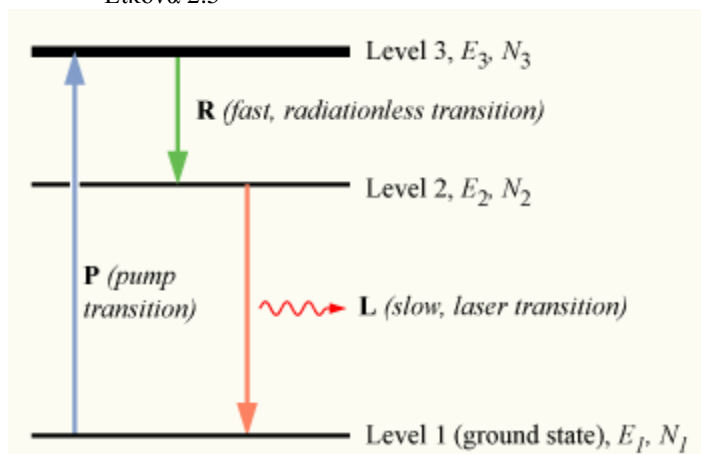
Και οι τρεις προαναφερθείσες αλληλεπιδράσεις ακτινοβολίας – ύλης συμβαίνουν κατά την λειτουργία ενός laser. Στην αρχή τα άτομα διεγείρονται από την θεμελιώδη σε μια υψηλότερη ενεργειακή στάθμη, μέσω μιας διαδικασίας, γνωστής ως άντληση (pumping). Τα άτομα αυτά όταν αποδιεγερθούν εκπέμπουν φωτόνια, μερικά εκ των οποίων είναι ασύμφωνα και κατευθύνονται ώστε να επανεισέλθουν στο μέσον του Laser. Στην συνέχεια τα φωτόνια αυτά μπορεί να απορροφηθούν από άλλα άτομα του μέσου και πιθανόν να χαθούν στην πορεία. Μερικά όμως από αυτά τα φωτόνια μπορεί να προκαλέσουν εξαναγκασμένη εκπομπή σε ήδη διεγερμένα άτομα, με αποτέλεσμα την εκπομπή ενός ακόμα φωτονίου ίδιας ενέργειας και φάσης με το διεγείρον. Σε αυτήν την περίπτωση έχουμε οπτική ενίσχυση. Αν ο αριθμός συμφώνων φωτονίων που εκπέμπονται ανά μονάδα χρόνου είναι μεγαλύτερος από τον αριθμό των φωτονίων που απορροφώνται, τότε το αποτέλεσμα είναι να έχουμε έναν συνεχώς αυξανόμενο αριθμό φωτονίων. Το μέσον του Laser, λέμε τότε ότι έχει κέρδος μεγαλύτερο από την μονάδα.

Όπως προαναφέρθη, ο ρυθμός απορρόφησης και εξαναγκασμένης εκπομπής είναι ανάλογοι του αριθμού ατόμων στην θεμελιώδη και την διεγερμένη κατάσταση αντιστοίχως. Αν η θεμελιώδης κατάσταση έχει μεγαλύτερο πληθυσμό ατόμων από ότι η διεγερμένη κατάσταση ($N_1 > N_2$), η διεργασία της απορρόφησης κυριαρχεί και υπάρχει συνολική εξασθένηση των φωτονίων. Αν οι πληθυσμοί των δύο καταστάσεων είναι ίδιοι ($N_1 = N_2$), ο ρυθμός απορρόφησης του φωτός, ισούται με τον ρυθμό εκπομπής. Αν η υψηλότερη ενεργειακή στάθμη έχει μεγαλύτερο πληθυσμό από ότι η χαμηλότερη ($N_1 < N_2$), τότε η διεργασία της εκπομπής κυριαρχεί και η ένταση του φωτός στο σύστημα αυξάνεται. Από τα ανωτέρω, είναι εμφανές ότι για να έχουμε υψηλότερο ρυθμό εξαναγκασμένης εκπομπής από ότι απορρόφησης, απαιτείται το πηλίκιο των πληθυσμών της διεγερμένης προς την θεμελιώδη κατάσταση να είναι τέτοιο ώστε $N_2/N_1 > 1$, δηλαδή για την λειτουργία ενός Laser είναι απαραίτητο να υπάρξει πληθυσμιακή αναστροφή.

Δημιουργία πληθυσμιακής αναστροφής

Όπως περιεγράφη παραπάνω, η απαιτούμενη πληθυσμιακή αναστροφή για την λειτουργία του laser, δεν μπορεί να επιτευχθεί στην θεωρητική ομάδα ατόμων, δύο ενεργειακών καταστάσεων, τα οποία βρίσκονται σε θερμική ισορροπία. Γενικά οποιαδήποτε μέθοδος βασίζεται στην συνεχή διέγερση από την θεμελιώδη στην διεγερμένη κατάσταση (όπως η οπτική απορρόφηση), φθάνει τελικά σε μια ισορροπία με αποδιέγερση μέσω αυθόρμητης και εξαναγκασμένης εκπομπής. Στην καλύτερη των περιπτώσεων θα έχουμε ισότητα των δύο πληθυσμών, $N_1 = N_2 = N/2$.

Εικόνα 2.5



Ενεργειακό διάγραμμα Laser τριών ενεργειακών σταθμών

Για την επίτευξη συνθηκών μη ισορροπίας, απαιτείται μια έμμεση μέθοδος μετάβασης στην διεγερμένη κατάσταση. Για την κατανόηση της μεθόδου, χρησιμοποιούμε ένα πιο ρεαλιστικό μοντέλο laser με τρεις ενεργειακές καταστάσεις. Έχουμε επομένως ένα σύνολο N ατόμων, κάθε ένα εκ των οποίων μπορεί να υπάρξει σε τρεις ενεργειακές καταστάσεις 1, 2 and 3, με ενέργειες E_1 , E_2 , and E_3 , και πληθυσμούς ατόμων στην κάθε κατάσταση N_1 , N_2 , and N_3 , αντίστοιχα. Υποθέτουμε ότι $E_1 < E_2 < E_3$.

Αρχικά το σύστημα θεωρούμε ότι είναι στην θεμελιώδη κατάσταση: $N_1 \approx N$, $N_2 \approx N_3 \approx 0$. Αν εκθέσουμε τα άτομα σε φως συχνότητας $\nu_{13} = \frac{1}{h}(E_3 - E_1)$, θα έχουμε μετάβαση των ατόμων από το θεμελιώδες στο ενεργειακό επίπεδο 3. Η διαδικασία αυτή γνωστή ως 'άντληση' ('pumping'), δεν περιλαμβάνει πάντοτε απαραίτητα την απορρόφηση φωτός, αλλά μπορεί να γίνει και με άλλες μεθόδους όπως ηλεκτρική εκκένωση, ή χημικές αντιδράσεις.

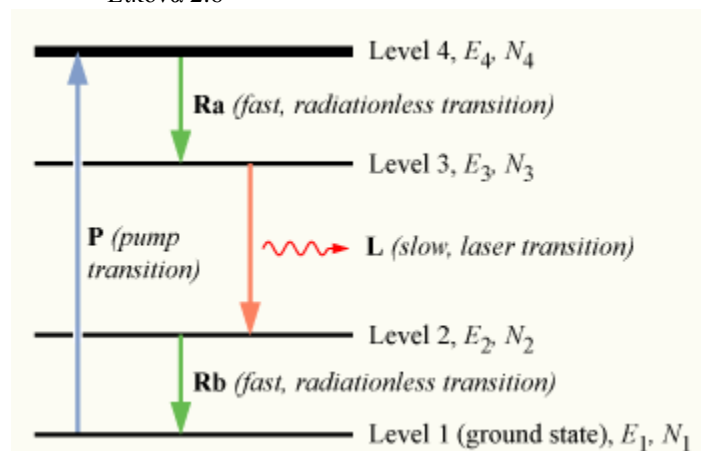
Η συνεχής άντληση των ατόμων θα έχει ως αποτέλεσμα την διέγερση ενός υπολογίσιμου αριθμού ατόμων στο τρίτο επίπεδο έτσι ώστε $N_3 > 0$. Ένα μέσον κατάλληλο για την λειτουργία ενός Laser, είναι απαραίτητο αυτά τα διεγερμένα άτομα να μεταβαίνουν γρήγορα στο δεύτερο επίπεδο. Η ενέργεια που απελευθερώνεται κατά την μετάβαση από το τρίτο στο δεύτερο επίπεδο μπορεί να εκπεμφθεί ως φωτόνιο (αυθόρμητη εκπομπή), αλλά είναι σύνηθες στην πράξη η μετάβαση αυτή να γίνεται χωρίς την εκπομπή ακτινοβολίας, με την ενέργεια αποδιέγερσης να μεταδίδεται ως θερμότητα στα γειτονικά άτομα.

Ένα άτομο στο επίπεδο 2 μπορεί να αποδιεγερθεί και να μεταβεί στην θεμελιώδη κατάσταση, μέσω αυθόρμητης εκπομπής, απελευθερώνοντας ένα φωτόνιο συχνότητας $\nu_{12} = (E_2 - E_1)/h$, η οποία καλείται μετάβαση του Laser. Αν ο χρόνος τ_{21} αυτής της μετάβασης είναι πολύ μεγαλύτερος του χρόνου τ_{32} της μετάβασης $3 \rightarrow 2$, δηλαδή αν $\tau_{21} \gg \tau_{32}$, ο πληθυσμός ατόμων ενέργειας E_3 θα είναι ουσιαστικά μηδέν ($N_3 \approx 0$) και θα συσσωρευθούν διεγερμένα άτομα στο δεύτερο επίπεδο ($N_2 > 0$). Αν περισσότερα από τα μισά άτομα μπορούν να συσσωρευθούν σε αυτήν την κατάσταση, ο πληθυσμός των διεγερμένων ατόμων θα υπερβεί τον αριθμό των ατόμων που βρίσκονται στην θεμελιώδη κατάσταση. Θα έχει επιτευχθεί έτσι πληθυσμιακή αναστροφή ανάμεσα στα επίπεδα 1 και 2 ($N_2 > N_1$) και μπορεί να επιτευχθεί οπτική ενίσχυση σε συχνότητα ν_{21} .

Λόγω του ότι απαιτείται διέγερση τουλάχιστον του μισού πληθυσμού των ατόμων από την θεμελιώδη κατάσταση ώστε να επιτύχουμε πληθυσμιακή αναστροφή, πρέπει να γίνει πολύ ισχυρή άντληση (pumping) στο μέσον του Laser. Αυτό καθιστά τα Laser τριών ενεργειακών σταθμών μη αποδοτικά. Παρόλα αυτά το πρώτο Laser που

σχεδιάστηκε, χρησιμοποιούσε το ρουμπίνι ως μέσον του Laser και είχε τρεις ενεργειακές στάθμες. Στην πράξη πλέον τα περισσότερα Laser χρησιμοποιούν μέσον με τέσσερις ενεργειακές στάθμες όπως περιγράφεται παρακάτω.

Εικόνα 2.6



Διάγραμμα Laser τεσσάρων ενεργειακών σταθμών

Σε αυτήν την περίπτωση έχουμε τέσσερις ενεργειακές στάθμες, E_1, E_2, E_3, E_4 , τέτοιες ώστε $E_1 < E_2 < E_3 < E_4$ και πληθυσμούς N_1, N_2, N_3, N_4 , αντιστοίχως. Στο σύστημα αυτό, έχουμε άντληση του μέσου από το επίπεδο 1 στο επίπεδο 4. Από το επίπεδο 4 τα άτομα αποδιεγείρονται στο επίπεδο 3 μέσω γρήγορης μετάβασης χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Καθώς ο χαρακτηριστικός χρόνος της μετάβασης $3 \rightarrow 2$ είναι μεγάλος σε σύγκριση με αυτόν της $4 \rightarrow 3$, δηλαδή $\tau_{32} \gg \tau_{43}$, έχουμε συσσώρευση ατόμων διεγερμένων στην ενεργειακή στάθμη 3, τα οποία στην συνέχεια μπορούν να μεταβούν στο επίπεδο 2 μέσω εξαναγκασμένης ή αυθόρμητης εκπομπής. Η μετάβαση αν συνεχίσει από το επίπεδο 2 στην θεμελιώδη κατάσταση είναι γρήγορη και δεν συνοδεύεται από εκπομπή ακτινοβολίας.

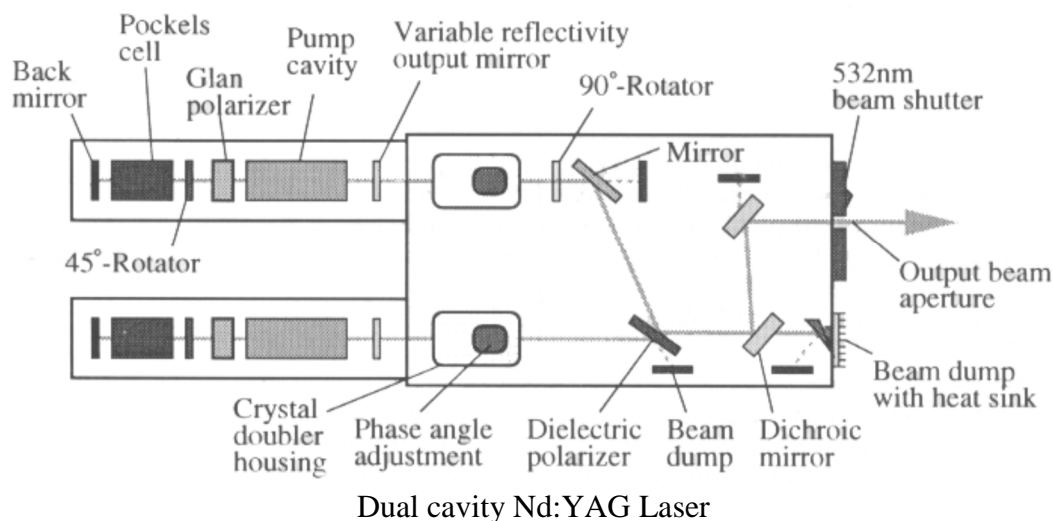
Όπως πριν, η γρήγορη αποδιέγερση χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας από το επίπεδο 4, έχει ως αποτέλεσμα τα άτομα που βρίσκονται στο επίπεδο 4 να είναι ελάχιστα ($N_4 \approx 0$). Το ίδιο ισχύει και για την στάθμη 2, ($N_2 \approx 0$). Αυτό είναι σημαντικό διότι έτσι επιτυγχάνεται πληθυσμιακή αναστροφή ανάμεσα στα επίπεδα 2 και 3. Έτσι μπορούμε να έχουμε οπτική ενίσχυση και λειτουργία του Laser σε συχνότητα $\nu_{32} = (E_3 - E_2)/h$.

Δεδομένου ότι λίγα μόνο άτομα απαιτείται να διεγερθούν σε ανώτερο ενεργειακό επίπεδο, ώστε να έχουμε δημιουργία πληθυσμιακής αναστροφής, ένα laser τεσσάρων επιπέδων είναι πολύ πιο αποδοτικό από ότι ένα τριών επιπέδων και τα περισσότερα Lasers είναι τεσσάρων επιπέδων. Στην πραγματικότητα, μπορεί να εμπλέκονται πολύ περισσότερα από τέσσερα ενεργειακά επίπεδα στην διεργασία της ενίσχυσης φωτός μέσω εξαναγκασμένης εκπομπής, και να περιλαμβάνονται περίπλοκες διεργασίες διέγερσης και εκπομπής μεταξύ των επιπέδων. Τόσο στα Lasers τριών όσο και στα τεσσάρων επιπέδων, η ενέργεια και η συχνότητα του φωτός άντλησης είναι μεγαλύτερες από αυτές του εκπεμπόμενου φωτός.

Για τις μετρήσεις PIV, η ιδιότητα της 'σύμφωνης' ακτινοβολίας δεν είναι απαιτούμενο για τις μετρήσεις. Επομένως τα Lasers χρησιμοποιούνται σε αυτήν την περίπτωση ως πηγές έντονης ακτινοβολίας. Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο Laser στα μοντέρνα συστήματα PIV είναι το Laser Nd:YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet; $\text{Nd:Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$). Τα Nd:YAG lasers για εφαρμογές PIV εκπέμπουν ακτινοβολία πράσινου ορατού φωτός στα 532nm. Η διάρκεια του παλμού των Nd:YAG

Lasers είναι συνήθως 5-10 ns και η ενέργεια ανά παλμό 12 έως 1000 mJ. Η συχνότητα κυμαίνεται από 1 έως 1000 Hz και είναι αντιστρόφως ανάλογη της ισχύος παλμού. Οι συχνότητες που χρησιμοποιούνται συνήθως, κυμαίνονται στα 15-30 Hz, ώστε να υπάρχει συγχρονισμός laser – κάμερας. Για να μπορεί επιτευχθεί ένα μεγαλύτερο εύρος χρονικής καθυστέρησης μεταξύ των παλμών του Laser, χρησιμοποιούνται δύο ξεχωριστές κοιλότητες Laser, και ο συγχρονισμός των παλμών γίνεται με την χρήση κατάλληλου ηλεκτρονικού εξοπλισμού. Για την μετάδοση των ακτινών του laser χρησιμοποιούνται συχνά οπτικές ίνες.

Εικόνα 2.7



2.3.3 Κάμερα

2.3.3.1 Camera CCD και CMOS

Αντί για φιλμ, μια ψηφιακή κάμερα έχει έναν αισθητήρα ο οποίος μετατρέπει το φως σε ηλεκτρικό φορτίο. Ο αισθητήρας που χρησιμοποιείται από τις περισσότερες ψηφιακές μηχανές είναι μια CCD (charged-coupled device) συσκευή. Μερικές κάμερες αντ' αυτού χρησιμοποιούν CMOS (complementary metal oxide semiconductor).

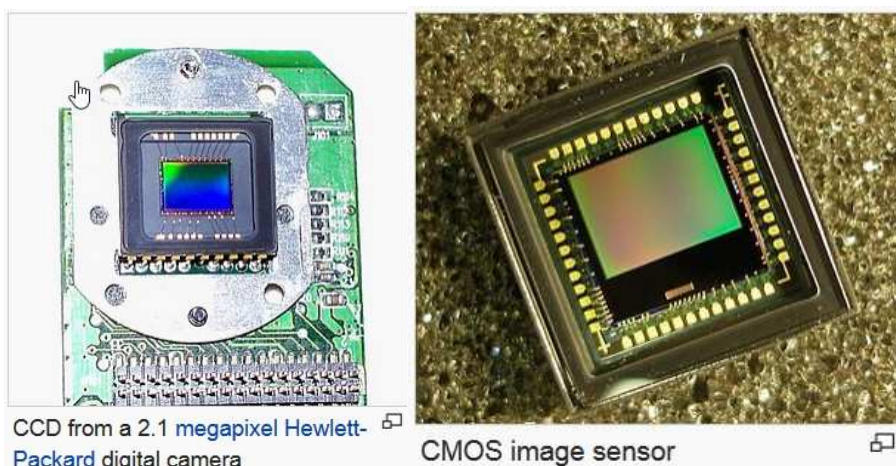
Μια συσκευή CCD (charged-coupled device) είναι ένας ηλεκτρονικός αισθητήρας που εξυπηρετεί την κίνηση ηλεκτρικού φορτίου, από το εσωτερικό της συσκευής σε μια περιοχή όπου το φορτίο μπορεί να μετατραπεί σε μία ψηφιακή τιμή. Το CCD είναι πολύ σημαντική τεχνολογία για την ψηφιακή απεικόνιση και χρησιμοποιείται για την μετατροπή του φωτός που προσπίπτει πάνω του, σε ηλεκτρικό φορτίο και την μεταφορά του στην μνήμη της κάμερας.

Σε έναν αισθητήρα CCD που χρησιμοποιείται για απεικόνιση, υπάρχει μια φωτοευαίσθητη περιοχή (μια επίστρωση σιλικόνης) και μια περιοχή μετάδοσης αποτελούμενη από έναν καταχωρητή ολίσθησης (shift register). Το φως που προσπίπτει στην φωτοευαίσθητη περιοχή προκαλεί την συσσώρευση ηλεκτρικού φορτίου σε κάθε pixel, ανάλογη με την ένταση του φωτός στο σημείο αυτό. Το φορτίο αυτό μεταφέρεται μέσω ενός κυκλώματος ελέγχου από σειρά σε σειρά pixel, χωρίς να απαιτείται η χρήση αγωγών καλωδίων για την μεταφορά του φορτίου στην μνήμη της κάμερας. Το φορτίο, από την τελευταία σειρά pixel εναποτίθεται σε έναν ενισχυτή φορτίου, ο οποίος το μετατρέπει σε τάση. Με επανάληψη αυτής της διαδικασίας, το περιεχόμενο φορτίου του ημιαγωγού μετατρέπεται σε μια αλληλουχία τάσεων. Ο CCD επομένως μεταφέρει το φορτίο κατά μήκος του chip και 'διαβάζει' την τιμή του

φορτίου κάθε κελιού (pixel) σε μια άκρη της διάταξης. Εν συνεχεία ένας αναλογοψηφιακός μετατροπέας μετατρέπει το φορτίο του κάθε pixel σε ψηφιακή τιμή.

Αντίστοιχη λειτουργία σε μια κάμερα επιτελεί και ένας αισθητήρας CMOS. Σε αντίθεση με τον CCD, ένας CMOS αισθητήρας χρησιμοποιεί αρκετά τρανζίστορ σε κάθε pixel για να ενισχύσει και να μετακινήσει το φορτίο με την χρήση παραδοσιακών αγωγών καλωδίων. Για τον λόγο αυτόν, η ευαισθησία ενός CMOS αισθητήρα είναι μειωμένη, καθώς πολλά φωτόνια προσπίπτουν στα τρανζίστορ αντί στην φωτοδίοδο. Οι αισθητήρες CMOS είναι επίσης πιο επιρρεπείς στον θόρυβο, ενώ οι CCD παράγουν υψηλής ποιότητας και χαμηλού θορύβου εικόνες. Γενικά η τεχνολογία των CCD αισθητήρων προηγήθηκε των CMOS, και οι πρώτοι τείνουν να έχουν υψηλότερη ποιότητα. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα ενός CMOS sensor έναντι ενός CCD είναι ότι, κατά κανόνα, είναι φθηνότερος. Επίσης, μια κάμερα CCD είναι περισσότερο επιρρεπής στο θάμπωμα, σε περίπτωση που μια πηγή φωτός υπερβεί την ευαισθησία του αισθητήρα με αποτέλεσμα το επιπλέον φορτίο να μεταβεί και σε γειτονικά pixels. Τέλος, τα δυο είδη αισθητήρων παρουσιάζουν διαφορά και ως προς την κατανάλωση. Ένας CCD αισθητήρας μπορεί να καταναλώνει έως και 100 φορές περισσότερη ισχύ από ότι ο αντίστοιχος CMOS.

Εικόνα 2.8

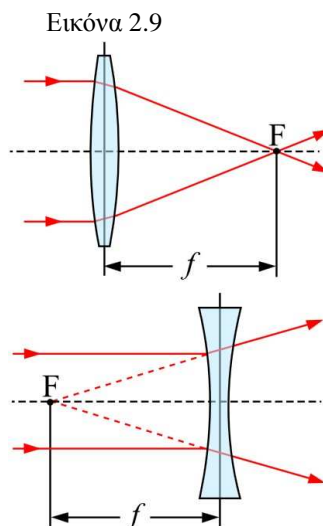


Οι κάμερες ετεροσυσχέτισης (cross-correlation) είναι η πλέον προτιμώμενη μέθοδος για την λήψη εικόνων. Οι κάμερες ετεροσυσχέτισης, χρησιμοποιούν υψηλής απόδοσης CCD αισθητήρες. Οι αισθητήρες αυτοί περιέχουν $m \times n$ φωτοευαίσθητα pixels και ίσον αριθμό κελιών αποθήκευσης. Με τον πρώτο παλμό του Laser, γίνεται έκθεση της πρώτης λήψης (first frame), η οποία μεταφέρεται αμέσως στα κελιά αποθήκευσης. Μετά την έκθεση της δεύτερης λήψης, τα κελιά αποθήκευσης περιέχουν ακόμα τα δεδομένα της πρώτης λήψης σχετικά με τις αρχικές θέσεις των σωματιδίων ανιχνευτών. Τα φωτοευαίσθητα pixel περιέχουν την δεύτερη λήψη, δηλαδή τις πληροφορίες για τις τελικές θέσεις των σωματιδίων. Με χρήση ενός Framegrabber, αυτές οι δύο εικόνες μεταφέρονται σειριακά από την κάμερα, στην Ram ή τον σκληρό δίσκο του υπολογιστή.

Οι CCD κάμερες ετεροσυσχέτισης, είναι διαθέσιμες σε αναλύσεις έως 2672×4008 pixels και συχνότητες λήψης (frame rate) από 4,85 Hz έως 1 kHz. Η συχνότητα λήψης είναι αντιστρόφως ανάλογη της ανάλυσης της εικόνας.

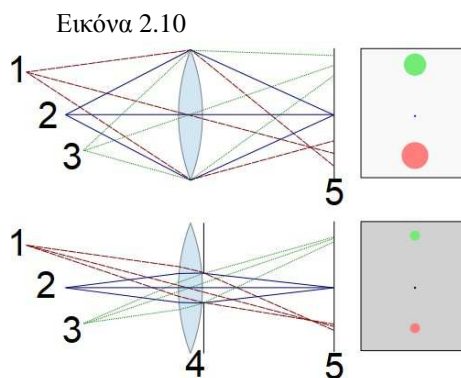
2.3.3.2 Χαρακτηριστικά μεγέθη φακών

Η **εστιακή απόσταση** (focal length) ενός φακού είναι ένα μέτρο του πόσο ισχυρά ο φακός οδηγεί στην σύγκλιση ή την απόκλιση του φωτός. Για ένα οπτικό σύστημα στον αέρα είναι η απόσταση που πρέπει να διανύσει μετά την διέλευσή της από τον φακό, μια αρχικά παράλληλη δέσμη ακτινών, μέχρι να έρθει σε εστίαση. Ένα σύστημα με μικρή εστιακή απόσταση. Στις περισσότερες φωτογραφικές και τηλεσκοπικές εφαρμογές, όπου το αντικείμενο είναι μακριά, μία μεγαλύτερη εστιακή απόσταση οδηγεί σε υψηλότερη μεγέθυνση και σε μικρότερη γωνία θέασης (angle of view). Αντιστρόφως, μικρότερη εστιακή απόσταση σχετίζεται με πιο ευρείες γωνίες λήψης. Από την άλλη, σε εφαρμογές όπως η μικροσκοπία κατά την οποία η μεγέθυνση επιτυγχάνεται φέρνοντας το υπό παρατήρηση αντικείμενο κοντά στον φακό, ένα μικρότερο μήκος εστίασης οδηγεί σε υψηλότερη μεγέθυνση, καθώς το αντικείμενο μπορεί να έρθει πιο κοντά στο κέντρο προβολής.



Ο **αριθμός εστίασης** (f-number / focal ratio / f-stop / relative aperture) ενός οπτικού συστήματος είναι το πηλίκο της εστιακής απόστασης του φακού, προς το άνοιγμα διαφράγματος του φακού. Πρόκειται για έναν αδιάστατο αριθμό, ο οποίος αποτελεί ποσοτικό μέτρο της ταχύτητας του φακού. Παραδείγματος χάριν, για έναν φακό, ο συμβολισμός $f/2$, σημαίνει πως ο αριθμός εστίασης είναι ίσος με 2, δηλαδή, η εστιακή απόσταση είναι διπλάσια της διαμέτρου του ανοίγματος του φακού.

Στην οπτική, το **βάθος πεδίου** (Depth of field), είναι η απόσταση μεταξύ των μακρινότερων και των κοντινότερων αντικειμένων σε ένα πλάνο, που φαίνονται με αποδεκτή ευκρίνεια. Αν και ένας φακός μπορεί να εστιάσει ακριβώς σε μόνο μία συγκεκριμένη απόσταση κάθε φορά, υπάρχει ένα εύρος πριν και πέρα από το σημείο εστίασης, εντός του οποίου τα αντικείμενα φαίνονται καθαρά. Το βάθος πεδίου καθορίζεται από την μεγέθυνση του αντικειμένου στον αισθητήρα και τον αριθμό εστίασης. Για έναν δοθέντα αριθμό εστίασης, η αύξηση της μεγέθυνσης, είτε με την μετακίνηση του αντικειμένου πιο κοντά στον φακό, ή με την χρήση φακού μεγαλύτερης εστιακής απόστασης, μειώνει το βάθος πεδίου. Η μείωση της μεγέθυνσης αντίθετως αυξάνει το βάθος πεδίου. Για συγκεκριμένη μεγέθυνση, η αύξηση του αριθμού εστίασης (μέσω μείωσης της διαμέτρου του διαφράγματος) αυξάνει το βάθος πεδίου.



2.3.4 Μικροσκόπιο φθορισμού

Πολλές από τις σημερινές εφαρμογές μικροσκοπίας χρησιμοποιούν μικροσκοπία φθορισμού. Ένα μικροσκόπιο φθορισμού είναι ένα οπτικό μικροσκόπιο, γίνεται δηλαδή χρήση ορατού φωτός και συστήματος φακών για την απεικόνιση. Σε αντίθεση με ένα απλό οπτικό μικροσκόπιο, το οποίο εκμεταλλεύεται την ανάκλαση και την απορρόφηση φωτός από το δείγμα, ένα μικροσκόπιο φθορισμού, εκμεταλλεύεται το φαινόμενο του φθορισμού και του φωσφορισμού για την δημιουργία εικόνας.

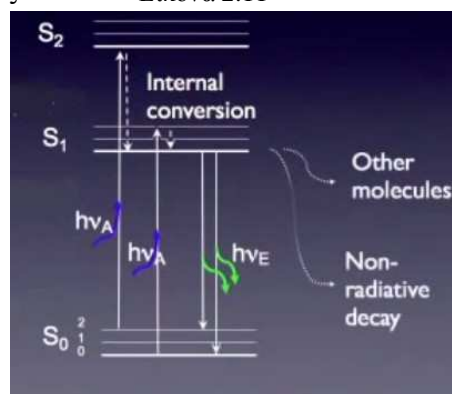
Κατά την χρήση μικροσκοπίου υπάρχουν δύο σημαντικές παράμετροι που καθορίζουν την ποιότητα της τελικής εικόνας. Η μια παράμετρος είναι η ανάλυση (resolution) και η δεύτερη είναι η αντίθεση. Η χρήση φθορισμού αυξάνει την αντίθεση κατά την απεικόνιση.

2.3.4.1 Φθορισμός

Το φαινόμενο του φθορισμού μπορεί να εξηγηθεί μέσω των διαγραμμάτων Jablonski. Ένα τυπικό διάγραμμα Jablonski παρουσιάζεται παρακάτω. Στο διάγραμμα παρουσιάζονται οι ενεργειακές στάθμες ενός

Εικόνα 2.11

ατόμου. Όπως βλέπουμε, το άτομο αρχικά απορροφά ένα φωτόνιο ενέργειας $E = h \cdot \nu_A$, με αποτέλεσμα ένα ηλεκτρόνιο του να ανέβει σε υψηλότερης ενέργειας τροχιά, π.χ. στην S_1 ή S_2 . Η μετάβαση γίνεται εντός κάποιων femtosecond ($1fs = 10^{-15}s$). Το πιο πιθανόν στην συνέχεια, είναι μέρος αυτής της ενέργειας να μεταφερθεί στα γειτονικά άτομα, μέσω κρούσης, αυξάνοντας την θερμική ενέργειά τους, με αποτέλεσμα την μετάβαση του ατόμου στο



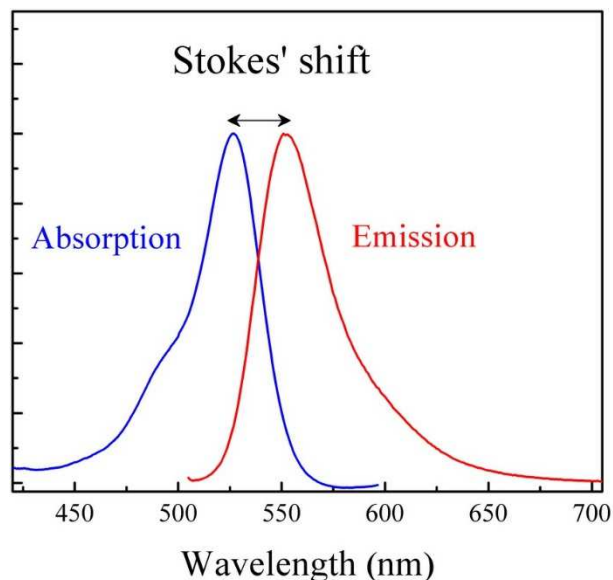
χαμηλότερο επίπεδο ενέργειας δόνησης της διεγερμένης κατάστασης. Σε αυτήν την περίπτωση δεν έχουμε εκπομπή ακτινοβολίας. Αυτή η μετάπτωση σε κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας, της ίδιας όμως τροχιάς, ονομάζεται Εσωτερική Μετατροπή (Internal Conversion) και συντελείται σε χρονικό διάστημα της τάξεως των picosecond $1ps = 10^{-12}s$. Το άτομο παραμένει στο χαμηλότερο ενεργειακό επίπεδο της διεγερμένης κατάστασης για ένα χρονικό διάστημα της τάξεως των nanosecond. Όταν στην συνέχεια αποδιεγερθεί και επανέλθει στην θεμελιώδη κατάσταση, θα εκπέμψει ένα φωτόνιο ενέργειας χαμηλότερης από εκείνην του φωτονίου που προκάλεσε την διέγερση. Αυτή είναι και η αιτία ύπαρξης της μετατόπισης Stokes.

Η επιστροφή στην θεμελιώδη κατάσταση δεν είναι απαραίτητο να γίνει μέσω εκπομπής ακτινοβολίας, αλλά μπορεί να γίνει διάχυση της ενέργειας ως θερμότητα (ταλαντώσεις), στα γύρω άτομα. Το πηλίκο του αριθμού των φωτονίων που εκπέμπονται, προς αυτά που απορροφώνται, ονομάζεται Quantum efficiency (QE) της φθορίζουσας ουσίας. Ο συνδυασμός του ποσοστού απορρόφησης των φωτονίων διέγερσης και της κβαντικής απόδοσης της ουσίας, καθορίζουν την ένταση του εκπεμπόμενου φωτός.

2.3.4.1 Μετατόπιση Stokes (Stokes Shift)

Συνήθως κατά το φαινόμενο του φθορισμού, η φθορίζουσα ουσία απορροφά φως ενός μήκους κύματος και εκπέμπει φως μεγαλύτερου μήκους κύματος και μικρότερης ενέργειας ($E = \frac{h}{\lambda}$), από ότι το φως διεγέρσεως. Κάθε φθορίζουσα ουσία χαρακτηρίζεται από ένα φάσμα διεγέρσεως (excitation spectrum) και ένα φάσμα εκπομπής (emission spectrum). Η διαφορά μήκους κύματος ανάμεσα στο μέγιστο του φάσματος διεγέρσεως και στο μέγιστο του φάσματος εκπομπής ονομάζεται Stokes shift.

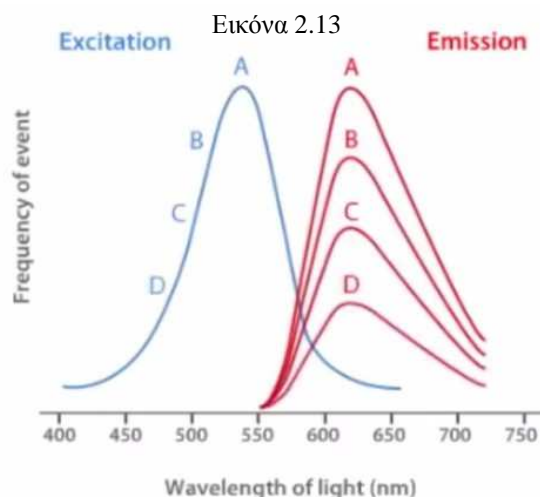
Εικόνα 2.12



Για την ροδαμίνη 6G, μια ουσία ευρέως χρησιμοποιούμενη σε εφαρμογές μικροσκοπίας φθορισμού, το Stokes shift είναι 25nm. Το διάγραμμα απορρόφησης και εκπομπής της ουσίας είναι αυτό που φαίνεται δεξιά. Στον κατακόρυφο άξονα του διπλανού διαγράμματος έχουμε την σχετική ένταση φθορισμού, και στον οριζόντιο το μήκος κύματος του φωτός. Όπως παρατηρούμε τα φάσματα απορρόφησης και εκπομπής για την Ροδαμίνη 6G αλληλοεπικαλύπτονται. Αυτή η αλληλοεπικάλυψη πρέπει να

εξουδετερωθεί κατά την μικροσκοπία φθορισμού, μέσω καταλλήλου φίλτρου διεγέρσεως (excitation filter), διχρωματικού διαχωριστή δέσμης (dichromatic beamsplitter) και φίλτρου εκπομπής. Σε αντίθετη περίπτωση, το αρκετά πιο έντονο

φως διέγερσης, επικαλύπτει το πιο ασθενές φως που εκπέμπεται λόγω φθορισμού, με αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της αντίθεσης του δείγματος.



Εικόνα 2.13

Υπάρχουν φθορίζουσες βαφές με υψηλή μετατόπιση Stokes και άλλες με χαμηλή. Όσο μεγαλύτερη η μετατόπιση Stokes, τόσο πιο εύκολος είναι ο διαχωρισμός του φωτός διέγερσης και εκπομπής. Για τις εφαρμογές micro – PIV, η διαφορά είναι επιθυμητό να είναι αρκετή ώστε τυχόν σκεδάσεις του φωτός του Laser σε άλλα αντικείμενα πέραν των σωματιδίων, να μπορούν να απομακρυνθούν μέσω φίλτρων, χωρίς να αποκόπτεται και το φως φθορισμού των σωματιδίων.

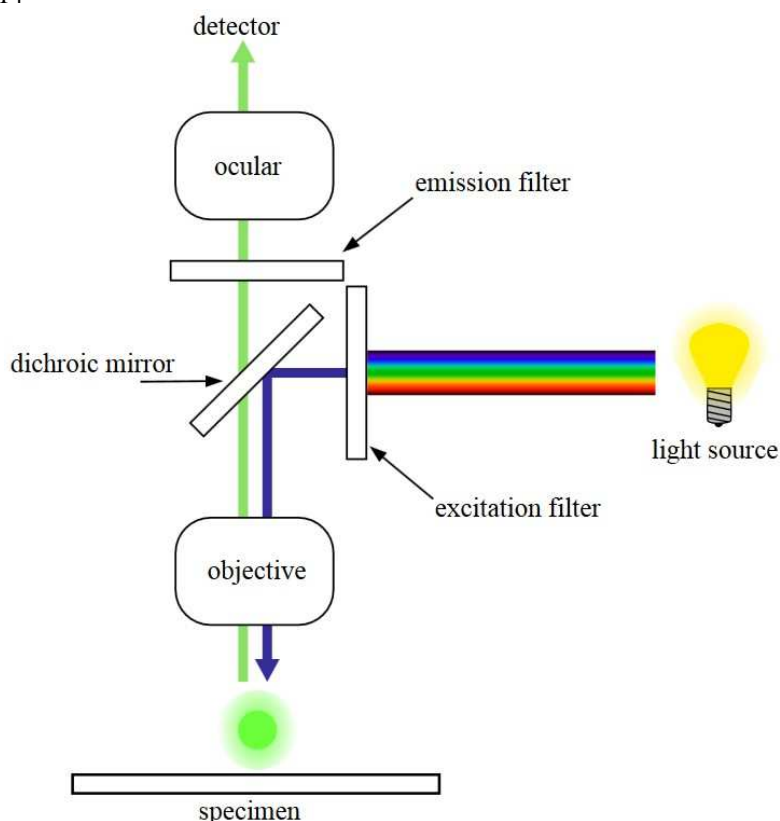
2.3.4.1.2 Anti-Stokes Shift

Κατά την διέγερση ενός ατόμου με ακτινοβολία μιας ενέργειας, παρατηρείται κάποιες φορές το φαινόμενο της εκπομπής ακτινοβολίας με ενέργεια υψηλότερη από την ενέργεια εκπομπής. Το φαινόμενο μπορεί να παρατηρηθεί όταν ένα ηλεκτρόνιο διεγείρεται όχι από την θεμελιώδη ενεργειακή στάθμη όπου δεν έχουμε ταλαντώσεις ($S_0(0)$) στο ακόλουθο σχήμα, αλλά από μια ενεργειακή στάθμη όπου έχουμε ενέργεια λόγω ταλάντωσης, π.χ. ($S_0(1)$). Αν στην συνέχεια το ηλεκτρόνιο επιστρέψει στην θεμελιώδη κατάσταση όπου δεν έχουμε ταλαντώσεις ($S_0(0)$) (non-vibrational ground state), η ενέργεια του φωτονίου που θα εκπεμφθεί θα είναι υψηλότερη της ενέργειας του φωτονίου διέγερσης. Μια άλλη σπάνια περίπτωση είναι η απορρόφηση δυο φωτονίων ενέργειας E_1 ταυτόχρονα από ένα ηλεκτρόνιο, με αποτέλεσμα το εκπεμπόμενο κατά την αποδιέγερση φωτόνιο να έχει ενέργεια πολύ υψηλότερη από αυτήν του κάθε φωτονίου. Το μήκος κύματος επομένως του εκπεμπόμενου φωτονίου, θα είναι υψηλότερο από αυτό του διεγείροντος φωτονίου.

2.3.4.2 Κύρια μέρη ενός μικροσκοπίου φθορισμού

Τα κύρια εξαρτήματα από τα οποία αποτελείται ένα άνεστραμμένο μικροσκόπιο φθορισμού, φαίνονται στο παρακάτω σχήμα (Wikipedia):

Εικόνα 2.14



Ένα τυπικό σύστημα μικροσκοπίου φθορισμού, περιλαμβάνει τρία βασικά φίλτρα. Ένα φίλτρο διεγέρσεως (excitation filter), έναν διχρωϊκό καθρέπτη (dichroic mirror) και ένα φίλτρο εκπομπής (emission filter). Σκοπός της ύπαρξης των

φίλτρων είναι η παραγωγή εικόνας χαμηλού θορύβου και υψηλής αντίθεσης. Το δείγμα φωτίζεται με φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, και εκπέμπει, όπως προαναφέρθη φως διαφορετικού μήκους κύματος. Κοινές πηγές φωτός είναι λάμπες υδραργύρου και πιο προηγμένες, τα LED και τα Laser υψηλής ισχύος.

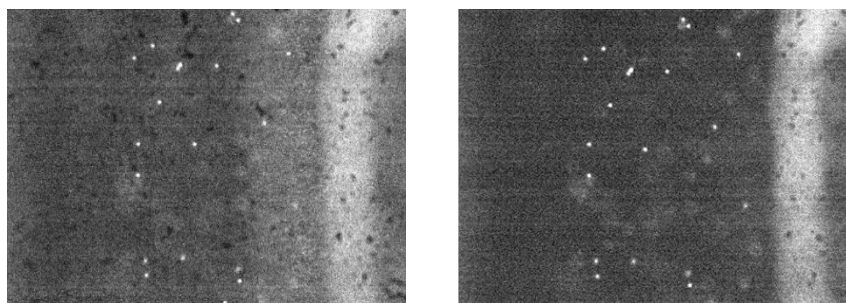
Το φως που προέρχεται από την πηγή φιλτράρεται (excitation filter), ώστε να αποτελείται από ένα μικρό εύρος μηκών κύματος γύρω από το μήκος κύματος όπου παρατηρείται το μέγιστο στην καμπύλη απορρόφησης. Έτσι επιτρέπουμε μόνο την διέλευση του φωτός που πρόκειται να διεγείρει το δείγμα μας.

Στην συνέχεια το φως αυτό ανακλάται πάνω στον διχρωϊκό καθρέπτη, περνάει μέσα από τον αντικειμενικό φακό και οδεύει προς το δείγμα. Το φως φθορισμού που παράγεται, περνάει μέσα από τον αντικειμενικό φακό και στην συνέχεια μέσα από τον διχρωϊκό καθρέπτη. Μετά τον διχρωϊκό, υπάρχει ένα φίλτρο εκπομπής (emission filter), το οποίο αποκόπτει την οποιαδήποτε ακτινοβολία διέγερσης που έχει σκεδαστεί, αφήνοντας μόνο το φως φθορισμού να διέλθει. Ένας διχρωϊκός καθρέπτης ανακλά ένα μικρό εύρος μηκών κυμάτων, ενώ επιτρέπει την διέλευση σε όλα τα άλλα.

2.4 Επεξεργασία εικόνας, Αυτοσυσχέτιση - ετεροσυσχέτιση

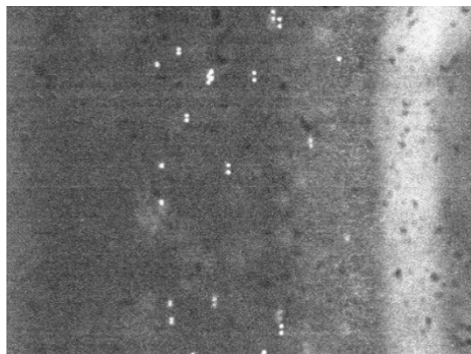
Έστω ότι έχουμε τις παρακάτω εικόνες, οι οποίες έχουν ληφθεί στο εργαστήριο σε μικροκανάλι, με φακό 20x και σωματίδια διαμέτρου 1μm.

Εικόνα 2.15



Οι δύο αυτές εικόνες ελήφθησαν διαδοχικά η μια μετά την άλλη, και επιθυμούμε να βρούμε μετατόπιση των σωματιδίων μεταξύ των δύο λήψεων. Αν τις υπερθέσουμε μπορούμε εύκολα να εντοπίσουμε την κατακόρυφη κίνηση των σωματιδίων:

Εικόνα 2.16

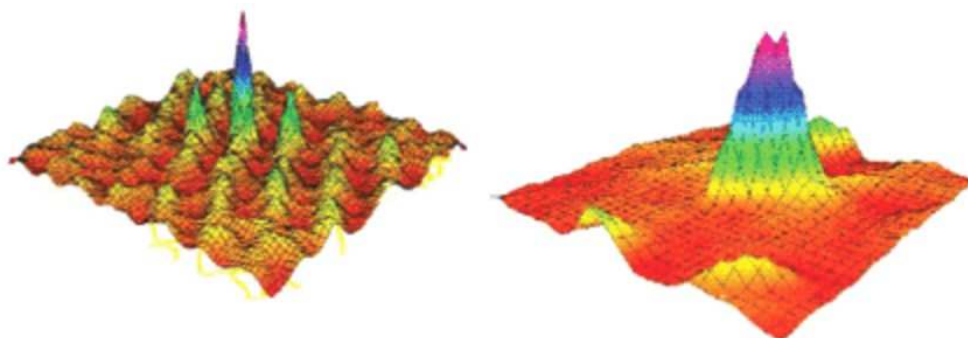


Για να πάρουμε μια ποσοτική διδιάστατη εικόνα του διανυσματικού πεδίου από τέτοιες εικόνες, γίνεται χωρισμός της κάθε εικόνας σε περιοχές επεξεργασίας

(Interrogation regions), οι διαστάσεις των οποίων καθορίζουν την χωρική ανάλυση της μέτρησης.

Δυο μέθοδοι PIV έχουν αναπτυχθεί για την εύρεση του πεδίου ταχυτήτων. Η πρώτη που εξελίχθηκε είναι η μέθοδος αυτοσυσχέτισης (autocorrelation method) και ακολούθησε η μέθοδος της ετεροσυσχέτισης (crosscorrelation method). Η μέθοδος της αυτοσυσχέτισης απαιτεί οι εικόνες να είναι διπλής έκθεσης (doubly exposed images), ενώ η ετεροσυσχέτιση γίνεται μεταξύ δυο εικόνων μονής έκθεσης (singly exposed images). Και οι δύο αυτές μέθοδοι αναζητούν το μέγιστο (peak) της συνάρτησης συσχέτισης, για να καθορίσουν την μετατόπιση. Η μέθοδος της αυτοσυσχέτισης έχει το μειονέκτημα, ότι αν και η καθορίζεται η μετατόπιση υπάρχει αβεβαιότητα όσον αφορά την κατεύθυνση της ροής, λόγω του ότι και οι δυο χρονικές στιγμές αποτυπώνονται στο ίδιο φιλμ. Επίσης η συνάρτηση αυτοσυσχέτισης μιας εικόνας διπλής έκθεσης έχει μια κυρίως κορυφή και δύο συμμετρικές πλευρικές κορυφές, όπως φαίνεται και στην παρακάτω εικόνα. Αυτό έχει ως συνέπεια, για πολύ μικρές μετατοπίσεις, οι πλευρικές κορυφές να αλληλοεπικαλύπτονται με την κεντρική κορυφή, περιορίζοντας το εύρος ταχυτήτων που μπορεί να μετρηθεί με την μέθοδο.

Εικόνα 2.17



Συνάρτηση αυτόσυσχέτισης (αριστερά) έναντι ετεροσυσχέτισης (δεξιά)
(K.D. Jensen 2004)

Για να ξεπεραστεί το πρόβλημα της αβεβαιότητας όσον αφορά την φορά της κίνησης έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές μετατόπισης εικόνας με την χρήση περιστρεφόμενων καθρεπτών και ηλεκτρο-οπτικές τεχνικές. Για να μείνει αρκετός χώρος για την μετατόπιση της εικόνας κατά την αυτοσυσχέτιση, χρησιμοποιούνται μεγαλύτερες περιοχές επεξεργασίας. Μετατοπίζοντας την δεύτερη εικόνα τουλάχιστον όσο η μεγαλύτερη αρνητική μετατόπιση, αίρεται η αβεβαιότητα ως προς την κατεύθυνση της κίνησης.

Λόγω των παραπάνω και του γεγονότος ότι τα laser διπλής κοιλότητας (dual-cavity) μπορούν να εκπέμπουν παλμούς με πολύ μικρή χρονική καθυστέρηση μεταξύ τους, η προτιμώμενη μέθοδος στην PIV τεχνική είναι η μονή έκθεση των εικόνων και η εφαρμογή ετεροσυσχέτισης. Έτσι χωρίζονται δύο διαδοχικές εικόνες σε τμήματα (interrogation windows). Στην συνέχεια λαμβάνουμε ένα δείγμα από κάθε εικόνα, τα οποία αντιστοιχούν στην ίδια τοποθεσία εντός του πλαισίου της εικόνας και πάνω σε αυτά εφαρμόζεται η διαδικασία ετεροσυσχέτισης. Η κορυφή της συνάρτησης ετεροσυσχέτισης εντός της περιοχής επεξεργασίας, δίνει την μέση μετατόπιση των σωματιδίων στην περιοχή αυτή. Διαιρώντας την μετατόπιση με τον χρόνο, προκύπτει το μέσο διάνυσμα ταχύτητας για την περιοχή.

Όπως όλες οι πειραματικές μέθοδοι, έτσι και η PIV παρουσιάζει σφάλματα. Η ακρίβεια των PIV μετρήσεων επηρεάζεται από αρκετές παραμέτρους όπως: από την πυκνότητα των σωματιδίων στην εικόνα, το μέγεθος της περιοχής επεξεργασίας, τον θόρυβο υποβάθρου, την κάθετη στο επίπεδο που εξετάζουμε συνιστώσα της ταχύτητας, την κλίση της ταχύτητας, την κατανομή της εκπεμπόμενης από τα σωματίδια ακτινοβολίας, καθώς και την ψηφιοποίηση.

Η έννοια της ετεροσυσχέτισης σχετίζεται στενά με αυτήν της συνέλιξης. Ο ορισμός της συνέλιξης δύο συναρτήσεων f και h είναι ο ακόλουθος:

$$g(i, j) = f \otimes h = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) \cdot h(i - x, j - y) dx dy$$

Ένας ευκολότερος τρόπος υπολογισμού της συνέλιξης δύο συναρτήσεων δίνεται μέσω του θεωρήματος συνέλιξης (Convolution Theorem):

$$\mathcal{F}\{g\} = \mathcal{F}\{f\} \cdot \mathcal{F}\{h\} \Rightarrow g = \mathcal{F}^{-1}[\mathcal{F}\{f\} \cdot \mathcal{F}\{h\}]$$

Επομένως, για την εύρεση της συνέλιξης g μπορεί, αντί του αρχικού ολοκληρώματος, να υπολογιστεί ο μετασχηματισμός Fourier των συναρτήσεων f και g και εν συνεχεία ο αντίστροφος Fourier μετασχηματισμός του γινομένου των Fourier των f και g . Αυτός είναι υπολογιστικά ο γρηγορότερος τρόπος εύρεσης της συνέλιξης δύο συναρτήσεων.

Όπως αναφέρθηκε υπάρχει στενή συσχέτιση ανάμεσα στην έννοια της ετεροσυσχέτισης και με αυτήν της συνέλιξης. Η συνάρτηση ετεροσυσχέτισης χρησιμοποιείται για να μας δείξει πόσο ‘όμοιες’ είναι δύο διαφορετικές συναρτήσεις/εικόνες. Η ετεροσυσχέτιση μεταξύ της εικόνας $f(x, y)$ (test image) και της $h(x, y)$ (kernel image) ορίζεται ως:

$$c(i, j) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(x, y) \cdot h(i + x, j + y) dx dy$$

Σε διακριτή μορφή, ο παραπάνω ορισμός γράφεται ως:

$$c(i, j) = \sum_{i=0}^{W-1} \sum_{j=0}^{H-1} f(i, j) \cdot h(x + i, y + j)$$

όπου W και H είναι το πλάτος και το ύψος της εικόνας f . Αν $f = h$ τότε έχουμε αυτοσυσχέτιση. Ο ευκολότερος τρόπος υπολογισμού του χάρτη ετεροσυσχέτισης, είναι κάνοντας χρήση του θεωρήματος συνέλιξης:

$$c = \mathcal{F}^{-1}[\mathcal{F}\{f\} \cdot \mathcal{F}\{h\}]$$

Βιβλιογραφία 2^ο Κεφαλαίου

Markus Raffel , Christian E. Willert, Steve T. Wereley , Jürgen Kompenhans, 'Particle Image Velocimetry', Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1998, 2007

K. D. Jensen, 'Flow Measurements', Dantec Dynamics Inc., Ramsey, NJ USA, 2004

Richard Keane & Ronald J. Adrian, 'Theory of cross correlation analysis of PIV images', University of Illinois at Urbana – Champaign USA, 1992

A.K. Prasad, R.J. Adrian, C.C. Llandreth, P.W. Ofutt, 'Effect of resolution on the speed and accuracy of particle image velocimetry interrogation', University of Illinois at Urbana, USA 1992

M. Hein, B. Wieneke and R. Seemann, 'Calculation of the weighting function and determination of the depth of correlation in micro-PIV from experimental particle images', Gottingen, Germany, 2014 IOP Publishing Ltd

Leow Wee Kheng, 'Image Processing - CS4243 Computer Vision and Pattern Recognition' National University of Singapore

Massimiliano Rossi, Christian Cierpka, Rodrigo Segura, Christian J. Kähler, 'On the effect of particle image intensity and image preprocessing on depth of correlation in micro-PIV', Universität der Bundeswehr München, Neubiberg, Germany, 2010

C D Meinhart†, S T Wereley‡ and M H B Gray†, 'Volume illumination for two-dimensional particle image velocimetry', University of California, Santa Barbara, 2000

Dana Dabiri, 'Cross-Correlation Digital Particle Image Velocimetry – A Review', University of Washington- Department of Aeronautics & Astronautics

Christopher J. Bourdon-Sandia National Laboratories, Michael G. Olsen-Iowa State University, Allen D. Gorby-Sandia National Laboratories, 'The Depth of Correlation in Micro-PIV for High Numerical Aperture and Immersion Objectives', 2006

Alison McDonald,* John Harris, Debbi MacMillan, John Dempster, and Gail McConnell 'Light-induced Ca²⁺ transients observed in widefield epi-fluorescence microscopy of excitable cells', Biomed Opt Express. 2012 Jun 1; 3(6): 1266–1273, Published online 2012 May 4. doi: 10.1364/BOE.3.001266

Raymond A. Serway – Clement J. Moses – Curt A. Moyer, 'Σύγχρονη Φυσική', Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2011

Paul G. Hewitt, 'Οι έννοιες της φυσικής', Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2005

Hugh D. Young, 'Πανεπιστημιακή Φυσική, Τόμος Β' – Ηλεκτρομαγνητισμός, Οπτική, Σύγχρονη Φυσική', Εκδόσεις Παπαζήση

Internet

<http://www.olympusmicro.com/primer/lightandcolor/fluoroexcitation.html>

http://www.researchgate.net/post/What_causes_an_anti-stokes_shift

https://en.wikipedia.org/wiki/Stokes_shift

<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/java/jablonski/jabintro/>

<http://www.semrock.com/introduction-to-fluorescence-filters.aspx>

<https://www.youtube.com/watch?v=iE6Pnga8AIY>

<http://electronics.howstuffworks.com/cameras-photography/digital/question362.htm>

http://en.wikipedia.org/wiki/Active_pixel_sensor

<https://www.youtube.com/watch?v=wsdmt0De8Hw>

<http://electronics.howstuffworks.com/cameras-photography/digital/digital-camera2.htm>

Κεφάλαιο 3^ο

Πειραματική διάταξη

3.1 Αντλία

Η μικροαντλίες που χρησιμοποιούνται στην διάταξη είναι τύπου Fusion Touch 200 της εταιρείας Chemyx. Η αντλία μπορεί να παρέχει ογκομετρική παροχή από 0.0001μl/min έως 65ml/min. Η διάταξη μπορεί να επιτελέσει και έγχυση και αναρρόφηση (Infusion/Withdrawal system). Η μέγιστη χωρητικότητα σύριγγας που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι 60mL.

Εικόνα 3.1



Τεχνικά χαρακτηριστικά:

Ύψος : 11.4cm
Μήκος : 24.1cm
Πλάτος : 16.5cm
Βάρος : 3kg
Οθόνη : 4.3 inches

Προδιαγραφές ατμοσφαιρικών συνθηκών

Θερμοκρασία λειτουργίας: 4 °C έως 40 °C
Θερμοκρασία αποθήκευσης: -10 °C ως 70 °C
Σχετική υγρασία: 20% ως 80%

3.2 Κάμερα

Η κάμερα που χρησιμοποιήθηκε είναι μια Powerview CCD 1.4MP TSI. Τα κύρια τεχνικά χαρακτηριστικά της παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα:

Εικόνα 3.2

Model	Pixel resolution	Output resolution (Bits)	Frame Rate (FPS)	Quantum efficiency (max.)
PowerView 1.4 MP	1376 x 1040	12 bits	10	62%



Το 12-bit δυναμικό εύρος για κάθε Pixel διασφαλίζει την πιστή απεικόνιση τόσο μικρών όσο και μεγάλων σωματιδίων στην ροή, με αποτέλεσμα την μεγαλύτερη ακρίβεια στον υπολογισμό των διανυσμάτων της ταχύτητας. Ο ψυχόμενος αισθητήρας CCD βοηθάει στην ελαχιστοποίηση του θορύβου της κάμερας. Ο χειρισμός και η απόκτηση των δεδομένων της κάμερας γίνεται με το λογισμικό INSIGHT 3G .

3.3 Μικροσκόπιο

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε κατά τα πειράματα είναι το ανεστραμμένο μικροσκόπιο φθορισμού IX71 Olympus. Ανεστραμμένο ονομάζεται το μικροσκόπιο του οποίου η πηγή φωτός και ο φακός συγκέντρωσης (condenser) βρίσκονται πάνω από την τράπεζα δείχνοντας προς τα κάτω, ενώ οι αντικειμενικοί φακοί βρίσκονται κάτω από την τράπεζα.

Οι αντικειμενικοί φακοί που διαθέτει το μικροσκόπιο είναι ένας επίπεδος 10X και ένας 20X. Και οι δύο φακοί είναι ‘ξηροί’ (dry objectives), και δεν επιτρέπεται η εμβάπτισή τους σε κανένα υγρό εμβάπτισεως. Τα κύρια τεχνικά χαρακτηριστικά τους παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Εικόνα 3.3



Μεγέθυνση (Magnification)	10X	20X
Αριθμητικό άνοιγμα (Numerical aperture)	0,3	0,5
f-number	26,5	26,5
Working distance [mm]	10	2,1
Resolution [μm]	1,08	0,65
Depth of correlation [μm]	29,57	13,57

3.4 Λείζερ

Εικόνα 3.4

Στα πειράματά, το λείζερ που χρησιμοποιήθηκε είναι ένα New Wave laser Solo Nd:YAG (neodymium-doped-yttrium aluminium garnet; $\text{Nd:Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$). Η ακτίνα του laser μεταφέρεται στο μικροσκόπιο μέσω οπτικής ίνας. Το laser εκπέμπει φως σε μήκος κύματος 532nm (πράσινο φως) και είναι σχεδιασμένο για χρήση σε PIV πειράματα. Η συχνότητα των παλμών (repetition rate) είναι 15 Hz, όμως το εύρος συχνοτήτων του laser που χρησιμοποιούμε περιορίζεται από την μέγιστη συχνότητα της κάμερας, η οποία είναι στα 4,83



Hz. Ο χειρισμός του Laser μπορεί να γίνει χειροκίνητα από τον χρήστη είτε μπορεί ο έλεγχος να γίνεται μέσω υπολογιστή. Η ενέργεια του παλμού είναι στα 15 mJ και το πλάτος παλμού κυμαίνεται από 3 έως 5ns.

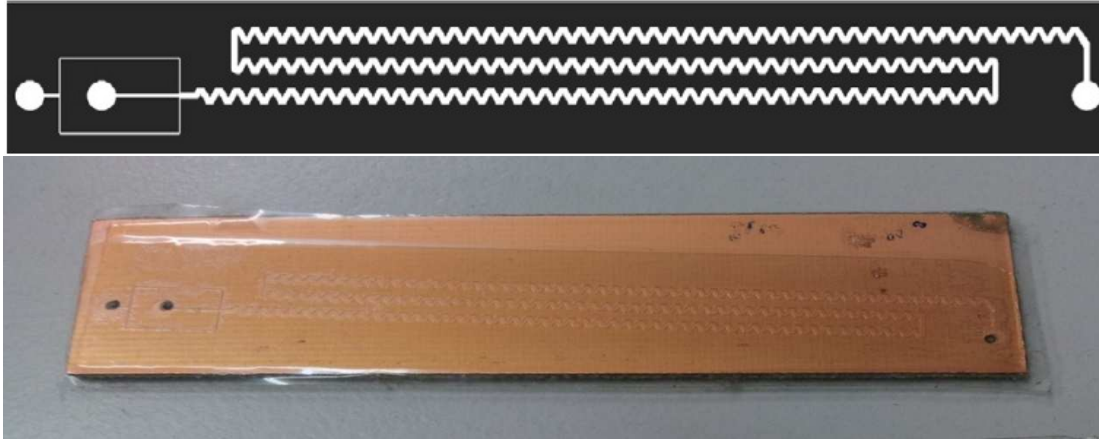
3.5 Σωματίδια

Για την οπτικοποίηση της ροής χρησιμοποιήσαμε φθορίζοντα σωματίδια διαμέτρου 1 μm από πολυστυρένιο (Fluoro-Max: Red fluo polymer microspheres) με περιεκτικότητα του φιαλιδίου σε σωματίδια 1% Solids. Τα σωματίδια παρουσιάζουν μέγιστη απορρόφηση για φως μήκους κύματος 540nm και εκπέμπουν στα 560nm.

3.6 Μικροαναμίκτης

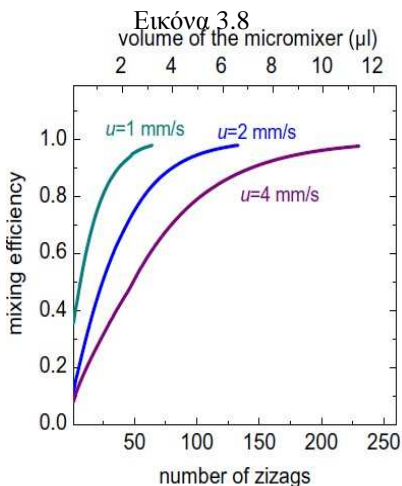
Ο μικροαναμίκτης πάνω στον οποίον έγιναν οι μετρήσεις είναι ένας μαιανδρικός αναμίκτης με zig-zag κανάλι που κατασκευάστηκε στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας Φυσικών Επιστημών Δημόκριτος. Πρόκειται για έναν επίπεδο παθητικό μικροαναμίκτη παράλληλης διαστρωμάτωσης, κατασκευασμένο με την μέθοδο της ξηρής φωτολιθογραφίας. Παρακάτω παρουσιάζεται το κανάλι του μικροαναμίκτη σχηματικά και ολόκληρος ο μικροαναμίκτης σε φωτογραφία:

Εικόνα 3.5



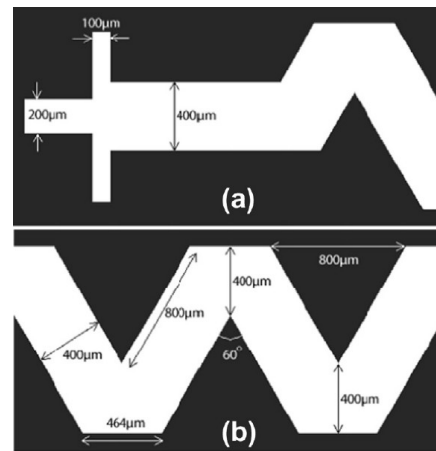
Οι βασικές διαστάσεις του μικροαναμείκτη αναγράφονται στα ακόλουθα σχήματα. Όπως φαίνεται ο αναμείκτης έχει τρεις εισόδους. Εκ της κεντρικής (200μm) εισάγεται το ένα από τα προς ανάμειξη ρευστά και το άλλο από τις δύο πλευρικές (πλάτους 100μm). Το κυρίως κανάλι έχει πλάτος 400μm. Το βάθος του καναλιού είναι παντού 60μm, ίσο με το πάχος του ξηρού φωτογραφικού φιλμ πολυιμιδίου πάνω στο οποίο κατασκευάζεται το μικροκανάλι.

Το γεγονός ότι ο μικροαναμείκτης έχει τρεις εισόδους αυξάνει την απόδοση ανάμειξης του μικροαναμείκτη. Περεταίρω αύξηση του αριθμού εισόδων θα αύξανε πιθανόν κι άλλο την απόδοση, θα έκανε όμως την λειτουργία του μικροαναμείκτη πιο περίπλοκη. Το ελάχιστο πλάτος καναλιού είναι 100μm και είναι αρκετά μεγάλο για αξιόπιστη αποτύπωση με φωτολιθογραφία. Στα πειράματά τους με DNA και ένζυμα, οι ερευνητές στον 'Δημόκριτο', δοκίμασαν αριθμούς Reynolds στο κεντρικό κανάλι μεταξύ 0,104 και 0,416 για ογκομετρικές παροχές από 1,5 έως 6 mL/min.

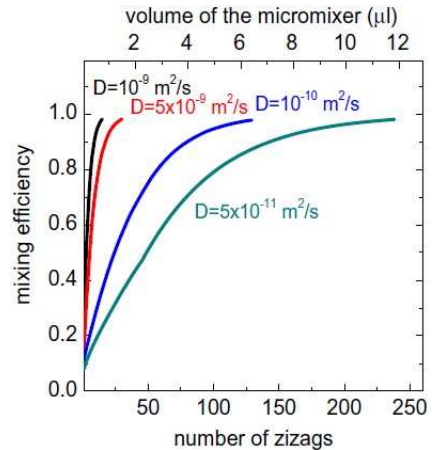


Ο συνολικός όγκος του μικροαναμείκτη είναι 7,5μL. Ο αριθμός των zig-zag διαμορφώσεων που απαιτούνται για την επίτευξη ενός συγκεκριμένου βαθμού ανάμειξης αυξάνονται όσο μειώνεται ο συντελεστής διάχυσης των ενζύμων. Επίσης για συγκεκριμένο αριθμό zig-zag τμημάτων, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι όσο η ταχύτητα εισόδου αυξάνεται, τόσο μειώνεται η αποδοτικότητα της ανάμειξης στον μικροαναμείκτη. Αντίστοιχα, όσο πιο μικρή η ταχύτητα εισόδου, τόσο μικρότερος ο αριθμός των

Εικόνα 3.6



Εικόνα 3.7



Ο συνολικός όγκος του μικροαναμείκτη είναι 7,5μL. Ο αριθμός των zig-zag διαμορφώσεων που απαιτούνται για την επίτευξη ενός συγκεκριμένου βαθμού ανάμειξης αυξάνονται όσο μειώνεται ο συντελεστής διάχυσης των ενζύμων. Επίσης για συγκεκριμένο αριθμό zig-zag τμημάτων, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι όσο η ταχύτητα εισόδου αυξάνεται, τόσο μειώνεται η αποδοτικότητα της ανάμειξης στον μικροαναμείκτη. Αντίστοιχα, όσο πιο μικρή η ταχύτητα εισόδου, τόσο μικρότερος ο αριθμός των

zig-zag τμημάτων που απαιτούνται για να επιτευχθεί συγκεκριμένος βαθμός ανάμειξης.

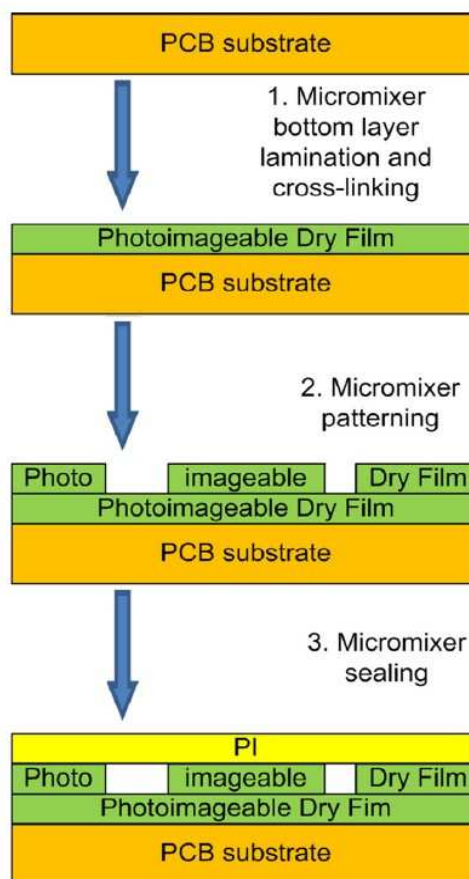
Τα δομικά υλικά για την κατασκευή του μικροαναμείκτη είναι ένα PCB (printed circuit board) το οποίο χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα και ένα ξηρό φωτογραφικό φιλμ πολυιμιδίου (Dupont PYRALUX_ PC1025) πάχους 60μm, πάνω στο οποίο σχηματίζονται τα κανάλια του μικροαναμείκτη. Τα υλικά αυτά επιλέγονται για τα εξαιρετικά τους λειτουργικά χαρακτηριστικά, την συμβατότητά τους με την μαζική παραγωγή και την δυνατότητα χρήσης τους σε ολοκληρωμένες συσκευές.

Το φιλμ πολυιμιδίου δρα ως αρνητική φωτοαντίσταση (negative photoresist) για τον σχηματισμό του καναλιού του μικροαναμείκτη.

Η διαδικασία κατασκευής φαίνεται στο σχήμα δεξιά. Η κατασκευή του μικροαναμείκτη ξεκινά με την επίστρωση του φιλμ πολυιμιδίου στο PCB υπόστρωμα, με χρήση κυλινδρικού επιστρωτήρα (roll laminator) που λειτουργεί σε ατμοσφαιρική πίεση και στους 85°C. Το πρώτο αυτό φιλμ θα αποτελέσει το κάτω μέρος του καναλιού. Εν συνεχεία, ένα δεύτερο στρώμα φωτοευαίσθητου PC1025 επιστρώνεται πάνω στο ήδη υπάρχον. Σε αυτό το στρώμα θα χαραχθούν τα μικροκανάλια. Μετά την επίστρωση του δεύτερου στρώματος, το φιλμ αυτό εκτίθεται σε υπεριώδη ακτινοβολία και με την χρήση μιας μάσκας, αποτυπώνεται επάνω του το σχέδιο του μικροκαναλιού. Η μάσκα μια πλακέτα με σχεδιασμένο πάνω της το αρνητικό του σχήματος του καναλιού που θέλουμε να αποτυπωθεί στο φιλμ. Μετά την αποτύπωση της γεωμετρίας του καναλιού πάνω στο φιλμ, εκτελείται εμφάνιση (development) σε υδατικό διάλυμα 1% κ.β. ανθρακικού νατρίου Na_2CO_3 . Στην συνέχεια γίνεται θέρμανση (hard bake) στους 160 °C. Στην συνέχεια το κανάλι σφραγίζεται με μια εμπορική Kapton ® ταινία πολυιμιδίου πάχους 70μm, με χρήση σιλικόνης ως κολλητικού μέσου. Η σφράγιση γίνεται σε κυλινδρικό επιστρωτήρα που λειτουργεί στους 50 °C.

Ο μικροαναμείκτης αυτός κατασκευάστηκε από το Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. 'Δημόκριτος' για την διεξαγωγή ενζυματικής πέψης του DNA. Στον αναμείκτη επιτελείται ταυτόχρονα ανάμειξη του DNA με τα ένζυμα και πέψη και είναι η πρώτη φορά που κάτι τέτοιο παρουσιάζεται στην βιβλιογραφία, καθώς προηγούμενες μελέτες χρησιμοποιούσαν ξεχωριστά μικροκανάλια για την πέψη του DNA μετά την ανάμειξη. Τα αποτελέσματα των ερευνητών στον Δημόκριτο δείχνουν ότι ο μικροαναμείκτης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως τμήμα μιας LoC (Lab on a Chip) διαγνωστικής συσκευής, όπου η πέψη ενισχυμένου DNA θα οδηγήσει στον εντοπισμό μεταλλάξεων σε γονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο του μαστού.

Εικόνα 3.9



Βιβλιογραφία 3^ο Κεφαλαίου

IX71 / IX81 Olympus, inverted microscope user's manual:

<http://data.manualslib.com/pdf3/67/6628/662746-olympus/ix71.pdf?3c06dc5a7b39b7d2963dc63231de14cb&take=binary>

Solo PIV, New Wave laser Systems, Nd:YAG laser, user's manual

https://websrv.mece.ualberta.ca/intranet/public.php/research_inventory/display_research_inventory_file/id/47

Powerview CCD 1.4MP TSI Camera Specifications

<http://www.tsi.com/POWERVIEW-1-4MP-Camera/>

Chemyx Fusion Touch 200 Syringe Pump technical specifications

http://www.chemyx.com/products/fusion_syringe_pump_specs.html

V.E. Papadopoulos, I.N. Kefala, G. Kaprou, G. Kokkoris, D. Moschou, G. Papadakis, E. Gizeli, A. Tserepi, 'A passive micromixer for enzymatic digestion of DNA', *Microelectronic Engineering* 124 (2014) 42–46, 2014

Κεφάλαιο 4^ο

Εκτέλεση πειραμάτων, επεξεργασία μετρήσεων και αποτελέσματα.

4.1 Προετοιμασία, δοκιμές και αντιμετώπιση θεμάτων που ανέκυψαν

4.1.1 Φυσαλίδες αέρα

Ένα από τα προβλήματα που παρουσιάστηκαν κατά την διάρκεια όλων των μετρήσεων, ήταν η ύπαρξη φυσαλίδων αέρα εντός των καναλιών του αναμείκτη. Για την αποφυγή των φυσαλίδων, υπάρχουν αρκετές ενέργειες που μπορούν να βοηθήσουν. Αρχικά, συνιστάται να βρέχουμε το κανάλι, πριν την στεγάνωση του, μέσω lamination. Αφήνουμε τον αναμείκτη να στεγνώσει, ώστε να μπορεί στην συνέχεια να κολλήσει το Lamination. Εντός των καναλιών κάποια υγρασία παραμένει. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, όταν ο αναμείκτης τροφοδοτηθεί τελικά με νερό, τα τοιχώματα να παρουσιάζουν πιο υδρόφιλη συμπεριφορά και οι φυσαλίδες αέρα να μην προσκολλώνται τόσο εύκολα πάνω τους.

Μια άλλη λύση που δείχνει να βοηθάει ιδιαίτερα στην εξάλειψη των φυσαλίδων αέρα είναι η σύνδεση μιας τρίτης σύριγγας στην έξοδο του αναμείκτη. Έτσι εάν καθώς η αντλία στέλνει ρευστό στον αναμείκτη, ταυτόχρονα τραβάμε και από την έξοδο, παρατηρήσαμε πως πολλές φυσαλίδες αποκολλώνται από τα τοιχώματα και οδεύουν προς την έξοδο. Ταυτόχρονα όμως, λόγω της δημιουργούμενης από την σύριγγα υποπίεσης, υπάρχει το ενδεχόμενο εισόδου αέρα στο κανάλι είτε από τα σημεία ένωσής του με τις σύριγγες, είτε από κάποια ατέλεια στο Lamination. Η υποπίεση ταυτόχρονα βοηθάει, προκαλώντας την διόγκωση των φυσαλίδων αέρα και διευκολύνοντας έτσι την απομάκρυνσή τους από το κανάλι.

Επίσης, μια σχετικά υψηλή αρχική παροχή, διευκολύνει την εκδίωξη του αέρα που βρίσκεται εντός του καναλιού. Τέλος, όπως προαναφέρθη, όσο πιο υδρόφιλα είναι τα τοιχώματα ενός καναλιού, τόσο πιο δύσκολα προσκολλώνται πάνω τους φυσαλίδες. Οι ερευνητές στον Δημόκριτο χρησιμοποιούν μια ένωση, την πολυαιθυλανογλυκόλη (Polyethylene glycol (PEG)), η οποία αναμειγνύομενη με το νερό που τοποθετούμε στις σύριγγες τροφοδοσίας, εισέρχεται στην συνέχεια στον αναμείκτη καθιστώντας τα τοιχώματά του υδρόφιλα.

4.1.2 Προσκόλληση σωματιδίων στο κανάλι

Ένα άλλο πρόβλημα που πιθανόν να παρουσιαστεί όταν ο αναμείκτης έχει πλέον χρησιμοποιηθεί αρκετές φορές, είναι η προσκόλληση των σωματιδίων στα τοιχώματά του. Μετά το τέλος κάθε πειράματος είναι απαραίτητος ο καθαρισμός των καναλιών με την χρήση νερού, όμως αυτό δεν εξαλείφει την πιθανότητα κάποια στιγμή το κανάλι να φράξει. Για την απομάκρυνση των σωματιδίων πολυστυρενίου από τα κανάλια, χρησιμοποιούνται τρεις ουσίες: καθαρή ακετόνη, προπανόλη και νερό με την παραπάνω σειρά. Έτσι αφαιρώντας το lamination, ρίχνουμε ακετόνη, μετά προπανόλη και τέλος ξεπλένουμε με νερό και αφήνουμε να στεγνώσει ο αναμείκτης πριν κολλήσουμε ξανά το Lamination. Για να επιταχυνθεί το στέγνωμα, μπορούμε είτε να ακουμπήσουμε απαλά στον αναμείκτη ειδικό χαρτί που δεν αφήνει ίνες, χωρίς όμως να το πιέσουμε πάνω στα κανάλια, ή εάν υπάρχει διαθέσιμη φιάλη πεπιεσμένου αζώτου να ρίξουμε με αυτήν άζωτο πάνω στον αναμείκτη.

4.1.3 Αποκόλληση του Lamination

Η στεγανοποίηση του αναμείκτη όπως αναφέρθηκε, γίνεται μέσω μιας ταινίας Karton[®] πολυμιδίου πάχους 70μm, με κολλητικό μέσον την σιλικόνη. Η τοποθέτησή της ταινίας μπορεί να γίνει είτε με κυλινδρικό επιστρωτήρα στους 50°C, είτε με το χέρι. Και στις δύο περιπτώσεις υπάρχει ένα όριο στην πίεση που μπορεί να αντέξει η ταινία πριν αποκολληθεί. Αυτό περιορίζει την μέγιστη παροχή που μπορούμε να επιβάλλουμε και επομένως δυσκολεύει την εκδίωξη των φυσαλίδων, η οποία διευκολύνεται σε μεγάλες παροχές. Εφόσον συμβεί αποκόλληση, το Lamination, πρέπει να αφαιρεθεί και αφού καθαριστεί ο μικροαναμείκτης, να αντικατασταθεί. Κατά τα πειράματά μας, εμφανίστηκε μερικές φορές διόγκωση και αποκόλληση του Lamination. Αυτό γίνεται αντιληπτό στο μικροσκόπιο είτε εστιάζοντας κοντά στο Lamination και παρατηρώντας την εξάπλωση σταγόνων πέραν των τοιχωμάτων του καναλιού, είτε εστιάζοντας στον πυθμένα και στο Lamination διαδοχικά και παρατηρώντας ότι η διαφορά βάρους τους είναι μεγαλύτερη από την αναμενόμενη. Σε μια περίπτωση είχαμε τοποθετήσει φθορίζοντα σωματίδια μόνο στην μια είσοδο του αναμείκτη (εκείνη που οδηγεί αρχικά σε κανάλι πλάτους 200μm) και επομένως έπρεπε κοντά στην είσοδο να έχουμε τρία στρώματα ρευστού - ένα με σωματίδια και δύο με νερό. Παρόλα αυτά παρατηρήσαμε πως στην εικόνα που παίρναμε από την είσοδο, είχαμε σωματίδια σε όλο το εύρος του καναλιού. Αυτό συνέβη λόγω αποκόλλησης του Lamination.

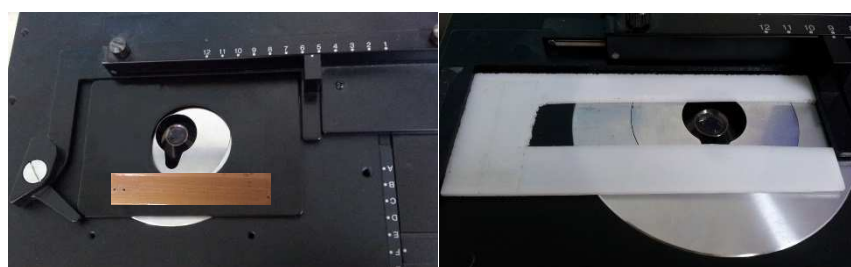
4.2 Μέτρηση πεδίου ταχυτήτων με micro-PIV

Κατά το πρώτο αυτό πείραμα διοχετεύουμε και στις δύο εισόδους του αναμείκτη διάλυμα σωματιδίων σε νερό. Επιλέξαμε δύο ίδιες σύριγγες και τις τοποθετούμε στην αντλία. Και οι δύο σύριγγες περιέχουν απιονισμένο νερό στο οποίο προσθέτουμε φθορίζοντα σωματίδια. Η αναλογία διαλύματος διαλύματος σωματιδίων - νερού στην σύριγγα ρυθμίστηκε 1%, δηλαδή 100μL διαλύματος σωματιδίων προς 10mL νερού. Η κάθε σύριγγα συνδέεται με μια από τις δύο εισόδους του μικροαναμείκτη με την χρήση λεπτών σωλήνων εσωτερικής διαμέτρου 150μm. Το βάθος του καναλιού είναι 60 μm αλλά όταν περιέχει νερό, το φαινόμενο βάθος του καναλιού στο μικροσκόπιο είναι το πραγματικό, διαιρεμένο με τον δείκτη διάθλασης του νερού.

4.2.1 Τοποθέτηση μικροαναμείκτη

Λόγω του μεγάλου μήκους του αναμείκτη παρουσιάστηκαν κάποια προβλήματα κατά την τοποθέτηση του στο μικροσκόπιο. Αρχικά, η κυκλική οπή της τράπεζας του μικροσκοπίου, δεν επιτρέπει την παρατήρηση ολόκληρου του μήκους του αναμείκτη. Όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (αριστερά), η διάμετρος της οπής της πλάκας είναι μικρότερη από το μήκος του, με αποτέλεσμα να μην μπορούμε να πάρουμε μετρήσεις σε όλες τις θέσεις στον αναμείκτη χωρίς να αλλάξουμε το σημείο πρόσδεσής του. Έτσι κατασκευάσαμε την βάση που φαίνεται δεξιά χρησιμοποιώντας ένα τμήμα πλεξιγκλάς, το οποίο κόψαμε στην συνέχεια με μια κορδέλα στο μηχανουργείο. Το πάχος του πλεξιγκλάς είναι ελαφρώς μικρότερο από αυτό της μεταλλικής βάσης. Αν ήταν μεγαλύτερο θα είχαμε πρόβλημα διότι ο φακός δεν θα μπορούσε να ανέβει αρκετά ψηλά (κοντά στον αναμείκτη) ώστε να εστιάσει.

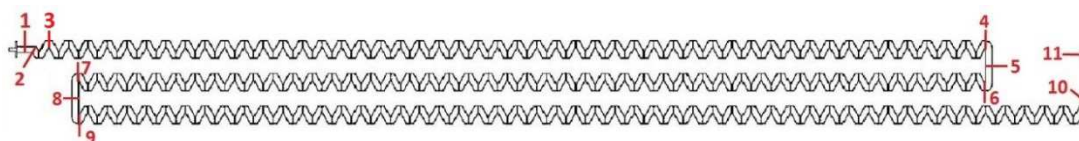
Εικόνα 4.1



Ο αναμείκτης, λόγω του μεγάλου του μήκους, έχει την τάση να λειτουργεί ως πρόβολος φορέας και να μετακινείται ελαφρώς κατά την διάρκεια των μετρήσεων. Για να διατηρηθεί οριζόντιος και σταθερός, από την πλευρά των εισόδων συγκρατείται από το chip holder και από την άλλη πλευρά τοποθετήσαμε πλακέτα ίσου πάχους για στήριξη.

Στο ακόλουθο σχήμα φαίνονται οι θέσεις μέσα στον αναμείκτη στις οποίες πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του πεδίου ταχυτήτων. Για κάθε θέση του αναμείκτη, πήραμε τρεις σειρές μετρήσεων, για τρία διαφορετικά βάθη εντός του καναλιού. Η μια μέτρηση είναι στην μέση του ύψους του καναλιού και οι άλλες δυο στα $\pm 1/4$ του βάθους εκατέρωθεν του μέσου. Πήραμε δηλαδή μετρήσεις στα 15, 30 και 45 μm .

Εικόνα 4.2



Η παροχή της κάθε σύριγγας ρυθμίστηκε ίση με $3\mu\text{L}/\text{min}$, συνολικά επομένως στον αναμείκτη, η παροχή είναι ίση με $6\mu\text{L}/\text{min}$. Αυτή η παροχή αντιστοιχεί σε $Re \approx 0,487$ και ταχύτητα $4,17\text{mm}/\text{s}$. Για κάθε θέση εντός του αναμείκτη πήραμε 500 ζεύγη εικόνων, και συνεπώς κατά την επεξεργασία των εικόνων λάβαμε 500 αρχεία ταχυτήτων. Η χρονική καθυστέρηση μεταξύ δύο διαδοχικών παλμών του Laser ορίστηκε $dt = 400\mu\text{s}$.

4.2.2 Λήψη και επεξεργασία των μετρήσεων με το Insight 4G

Η λήψη των μετρήσεων έγινε σε τρία βάθη για κάθε θέση. Επιλέγοντας την ρύθμιση free , continuous στο λογισμικό, εντοπίζουμε την θέση όπου επιθυμούμε να λάβουμε την μέτρηση. Στην συνέχεια αλλάζουμε την ρύθμιση σε synchronize, continuous, laser on, capture, ώστε να βλέπουμε την ροή μέσα στον αναμίκτη, χωρίς να αποθηκεύουμε εικόνες. Βελτιώνουμε την οπτικοποίηση της ροής αυξάνοντας το contrast και εισάγοντας ψευδοχρώματα στην εικόνα, και στην συνέχεια εντοπίζουμε τον πυθμένα και το lamination του καναλιού. Στρέφοντας αριστερόστροφα τον βερνιέρο του μικροσκοπίου μετακινούμαστε προς τον πυθμένα και θεωρούμε πως βρισκόμαστε εκεί όταν σχεδόν πάψουμε να βλέπουμε την κίνηση των σωματιδίων. Με τον ίδιο τρόπο εντοπίζουμε το Lamination. Έτσι μπορούμε πλέον να εστιάσουμε σε όποιο βάθος εντός του καναλιού επιθυμούμε. Τέλος επιλέγουμε στο λογισμικό την ρύθμιση Synchronized, Sequence, Laser on, Capture.

Για την επεξεργασία στο Insight ακολουθούμε τα ακόλουθα βήματα:

1. Πηγαίνουμε στον φάκελο όπου θέλουμε να κάνουμε ανάλυση δεδομένων και με δεξί κλικ επιλέγουμε Set folder as Current
2. Ελέγχουμε αν στον φάκελο Analysis υπάρχουν δεδομένα από προηγούμενες δοκιμές, τα οποία πρέπει να σβηστούν.
3. Στο tab Processing, ελέγχουμε ότι οι παράμετροι είναι αυτές που επιθυμούμε π.χ. Μέγεθος του Interrogation Window, signal to noise ratio κλπ.
4. Στην συνέχεια επιλέγουμε Start στο tab Compute
5. Όταν ολοκληρωθεί αυτό το βήμα έχουμε τα αρχεία των αποτελεσμάτων στον φάκελο Analysis

Τα αρχεία (.vec) που προκύπτουν από το λογισμικό, περιέχουν στην πρώτη και δεύτερη στήλη τις συντεταγμένες X και Y σε pixel των σημείων της εικόνας και στην 3^η και 4^η στήλη τις μετατοπίσεις σε pixel των σωματιδίων. Για να μετατρέψουμε την 3^η και 4^η στήλη σε ταχύτητες, διαιρούμε με τον χρόνο και με την αντιστοιχία pixel-σωματιδίων. Για τον φακό που χρησιμοποιήσαμε 1μm αντιστοιχεί στην εικόνα σε 3,125 pixels. Η περιοχή επεξεργασίας που επιλέξαμε έχει μέγεθος 64x64 pixels. Στο **Παράρτημα 1**, παρατίθεται ο κώδικας σε Matlab που διαβάζει τα αρχεία τα οποία προέκυψαν από την ανάλυση, απορρίπτει τις ταχύτητες που δεν είναι έγκυρες, υπολογίζει τις τυπικές αποκλίσεις και κάνει γραφική παράσταση του διανυσματικού πεδίου των ταχυτήτων για κάθε θέση μετρήσεων στον αναμίκτη.

Αφού γίνει η επεξεργασία των αρχείων ταχυτήτων του Insight στην Matlab, παίρνουμε το τελικό αρχείο με τον μέσο όρο των ταχυτήτων για κάθε σημείο και το εισάγουμε στο Tecplot. Το Tecplot δεν δέχεται αρχεία .vec οπότε αποθηκεύουμε τα τελικά αποτελέσματα σε ένα αρχείο .txt, το οποίο έχει όπως και τα αρχικά αρχεία , πέντε στήλες (X, Y, U, V, CON). Επειδή οι στήλες αυτές, με αντιγραφή - επικόλληση από την matlab σε .txt αρχείο δεν χωρίζονται με κόμμα, η πρώτη γραμμή του αρχείου, όπως προκύπτει από το Insight, όπου δηλώνονται τα ονόματα των μεταβλητών και οι λοιπές παράμετροι των μετρήσεων, δεν πρέπει να περιλαμβάνει κόμμα μεταξύ των μεταβλητών. Προσοχή χρειάζεται, όταν στο αρχείο .txt κάνουμε αντικατάσταση με τελείες και τα κόμμα που χωρίζουν το ακέραιο από το δεκαδικό των αριθμών του

αρχείου να μην αντικαθιστούμε κατά λάθος με τελείες και όλα τα κόμμα που περιέχονται στην πρώτη γραμμή.

Μερικά στοιχεία για την σχεδίαση του πεδίου ταχυτήτων στο Tecplot:

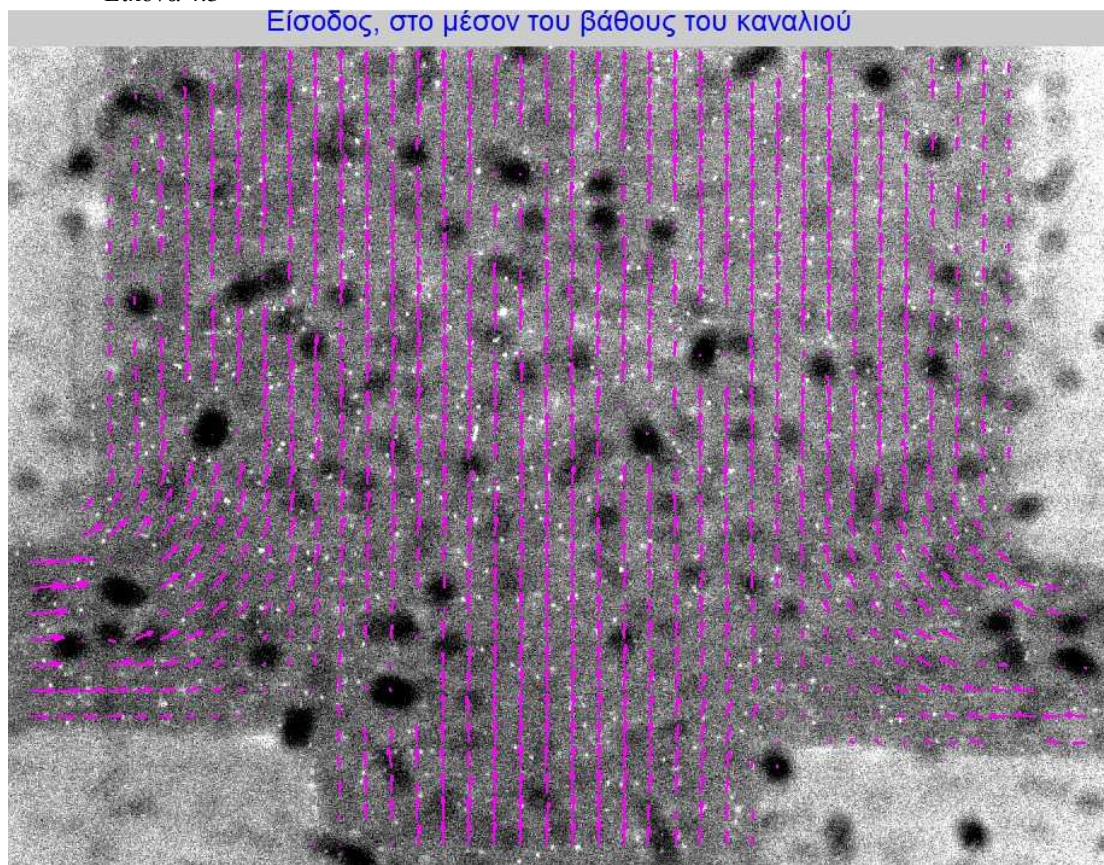
- Μετονομασία των μεταβλητών μπορούμε να κάνουμε στο Data → Data Set info
- Μόλις εισάγουμε το αρχείο με τις ταχύτητες στο Tecplot, εμφανίζονται τα διανύσματα ή της U ή της V ταχύτητας ανάλογα με το ποιά μεταβλητή επιλέγουμε για την γραφική, αλλά το μέτρο της ταχύτητας, το οποίο εμείς θέλουμε να παραστήσουμε γραφικά δεν υπολογίζεται αυτόματα.
- Για να υπολογίσουμε το μέτρο της ταχύτητας (Velocity Magnitude) πηγαίνουμε στο Analysis → field variables → Στο πεδίο Convective Variables ορίζουμε ότι έχουμε μεταβλητές ταχύτητας.
- Στην συνέχεια, στο Analysis → Calculate Variables → Κάνουμε uncheck την επιλογή Calculate on demand και στο πεδίο Name επιλέγουμε τον υπολογισμό της μεταβλητής Velocity magnitude.
- Στις λεπτομέρειες (Details) του Contour, μπορούμε στην συνέχεια να επιλέξουμε για ποια εκ των μεταβλητών επιθυμούμε να σχεδιάσουμε ισούψεις καμπύλες (contour).

4.2.3 Παρουσίαση πειραματικών αποτελεσμάτων

4.2.3.1 Θέση 1 – Είσοδος

Η πρώτη σειρά μετρήσεων έγινε στην είσοδο του καναλιού.

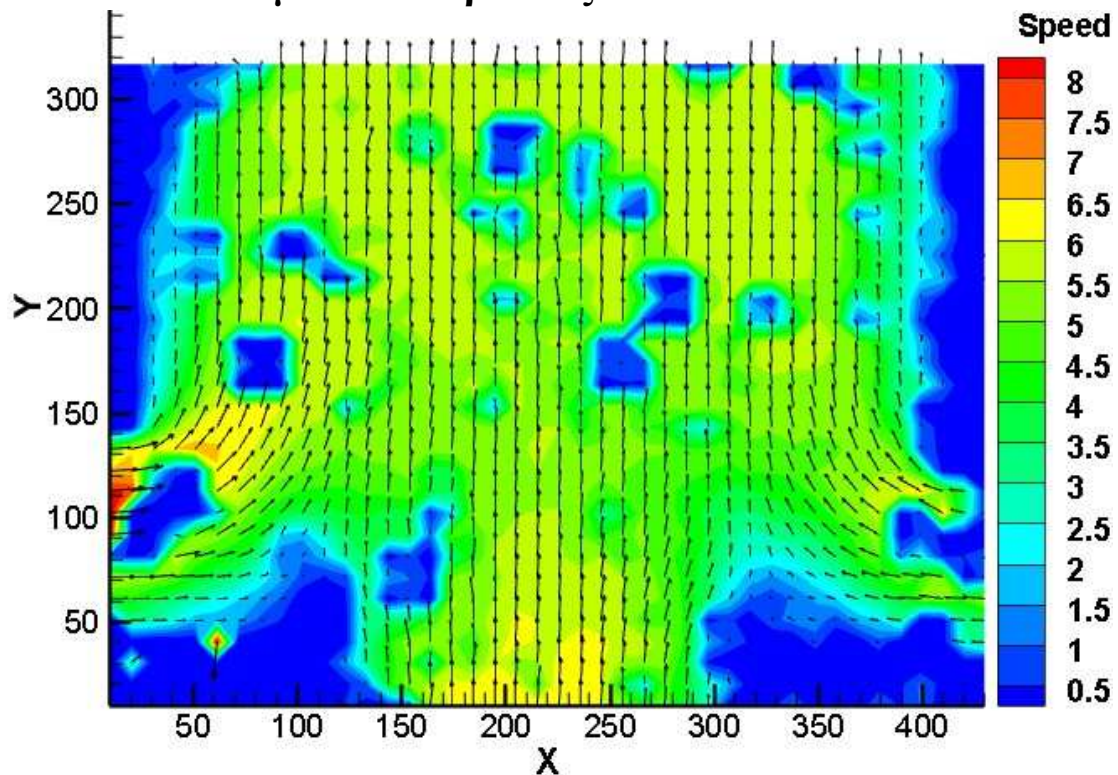
Εικόνα 4.3



Στα ακόλουθα σχήματα γίνεται ποσοτική αναπαράσταση του πεδίου ταχυτήτων. Με βάση την ογκομετρική παροχή που βάλαμε στο κανάλι και την διατομή του καναλιού, η αναμενόμενη μέση ταχύτητα είναι $4,17 \text{ mm/s}$. Αυτή είναι και η ταχύτητα που κυριαρχεί στο ακόλουθο διάγραμμα.

Θεωρώντας για το νερό : $\mu=0,000891 \text{ kg}/(\text{m} \cdot \text{s})$, $\rho=997 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$, με παροχή $Q=6\mu\text{L}/\text{min}$ και διατομή $A=24000\mu\text{m}^2$, προκύπτει $v=4,17 \text{ mm/s}$ και Reynolds ίσος με $Re = \frac{\rho v D_h}{\mu}=0,487$. Η ροή εντός του καναλιού, μπορεί να προσεγγισθεί ως ροή μεταξύ δύο παραλλήλων πλακών (πυθμένα και Lamination), επειδή το ύψος των πλακών είναι πολύ μικρό σε σχέση με το πλάτος του καναλιού. Υπό αυτές τις συνθήκες. Λόγω του μεγάλου πλάτους και του χαμηλού Reynolds, το προφίλ ταχύτητας που παρατηρούμε είναι ομοιόμορφο, με εξαίρεση την ροή πολύ κοντά στα πλαϊνά τοιχώματα του καναλιού.

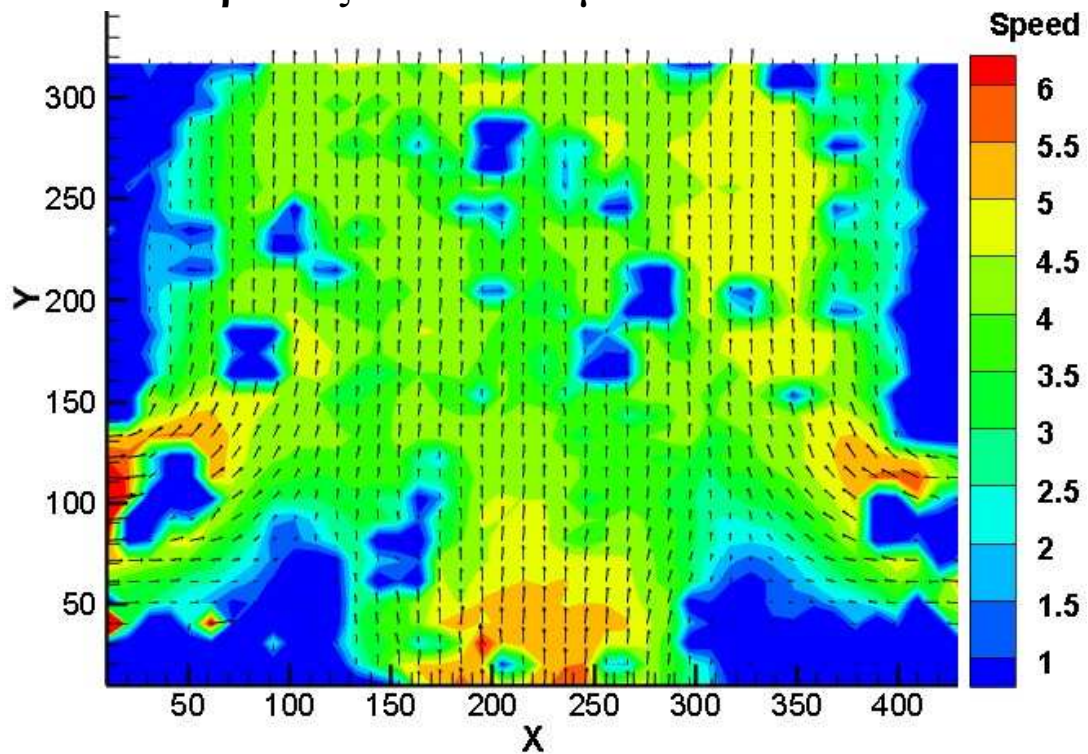
Διάγραμμα 1 :Είσοδος, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



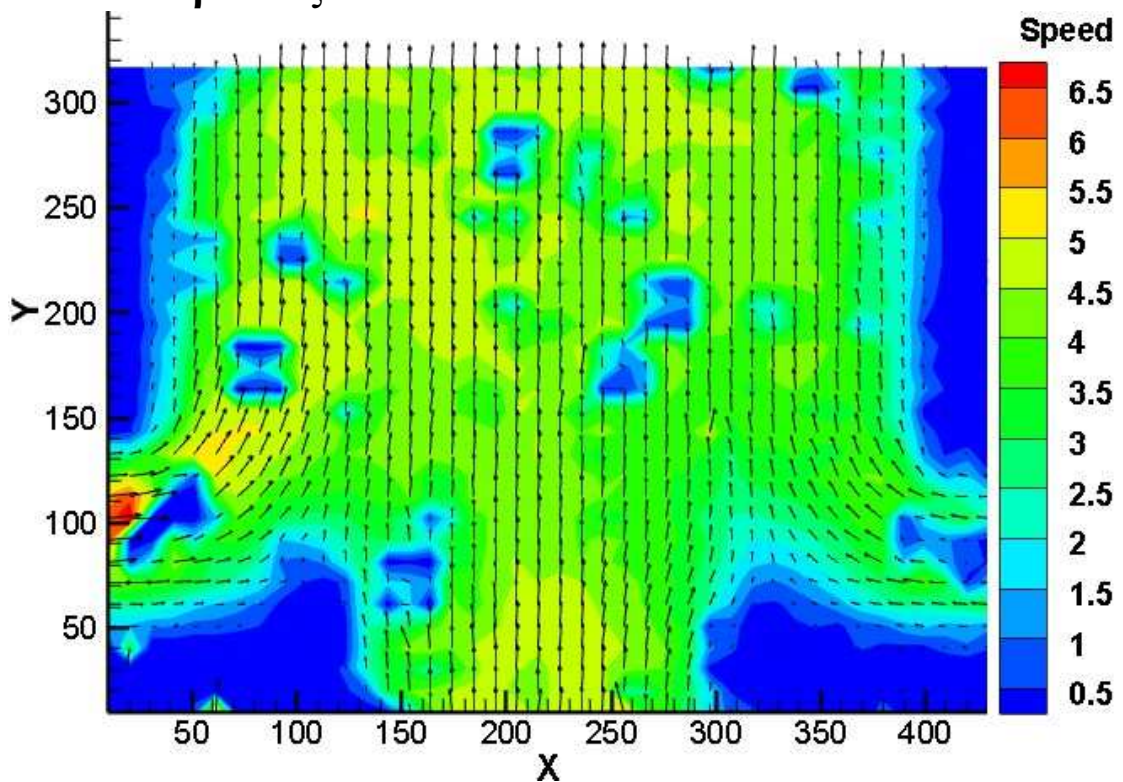
Στο 1/4 και στα 3/4 του βάθους του καναλιού αντίστοιχα το πεδίο ροής είναι ελαφρώς μειωμένο σε σχέση με αυτό στο μέσον του βάθους, γεγονός αναμενόμενο αφού όσο πλησιάζουμε προς τον πυθμένα και το Lamination αντίστοιχα, οι τριβές με τα τοιχώματα αυξάνονται και η ροή επιβραδύνεται. Τα διαγράμματα του μέτρου της ταχύτητας για τις δύο αυτές θέσεις παρουσιάζονται παρακάτω.

Και στις τρεις θέσεις εισόδου παρατηρούμε μια αρχική πτώση ταχύτητας στο κεντρικό ρεύμα, καθώς αυτό συγχωνεύεται με τα δύο άλλα πλευρικά ρεύματα. Ταυτόχρονα βλέπουμε ότι το κεντρικό ρεύμα έχει την τάση να αυξήσει το πλάτος του, για αυτό έχουμε και την μικρή αυτή πτώση ταχύτητας. Η ταχύτητα της αριστερής πλευρικής εισόδου είναι ελαφρώς μεγαλύτερη από εκείνη στην δεξιά είσοδο, γεγονός που πιθανώς οφείλεται σε κάποια μικρή τοπική στένωση της διατομής.

Διάγραμμα 2 :Είσοδος, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα ου καναλιού

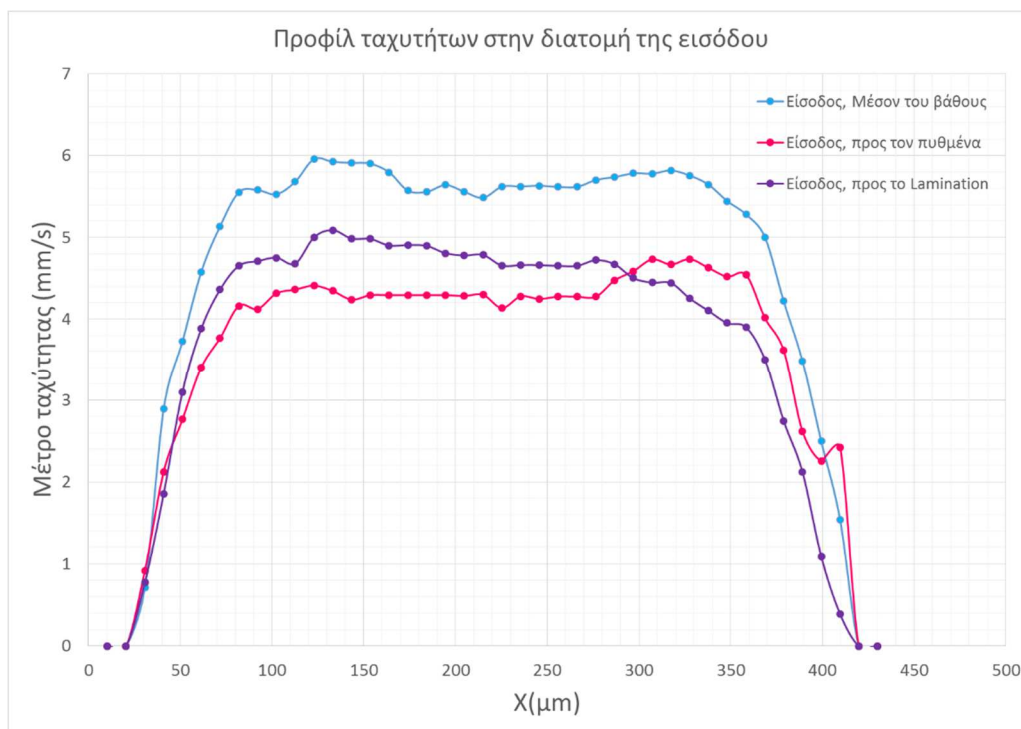


Διάγραμμα 3 :Είσοδος, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination του καναλιού



Στα σημεία όπου λόγω των ατελειών του οπτικού συστήματος εμφανίζονται στις φωτογραφίες μαύρες κηλίδες, με αποτέλεσμα να μην λαμβάνονται δεδομένα γι' αυτές τις περιοχές (και οι αντίστοιχες ταχύτητες να προκύπτουν συνήθως πολύ μικρές ή μηδενικές), για λόγους πιστότητας των αντιστοιχών διαγραμμάτων εδόθησαν αυθαίρετα τιμές κοντά στην μέση τιμή των μετρήσεων των ομόρων περιοχών, ώστε να αποφευχθεί η εμφάνιση απότομων βυθίσεων στα διαγράμματα, οι οποίες δεν αντιπροσώπευαν το πραγματικό πεδίο.

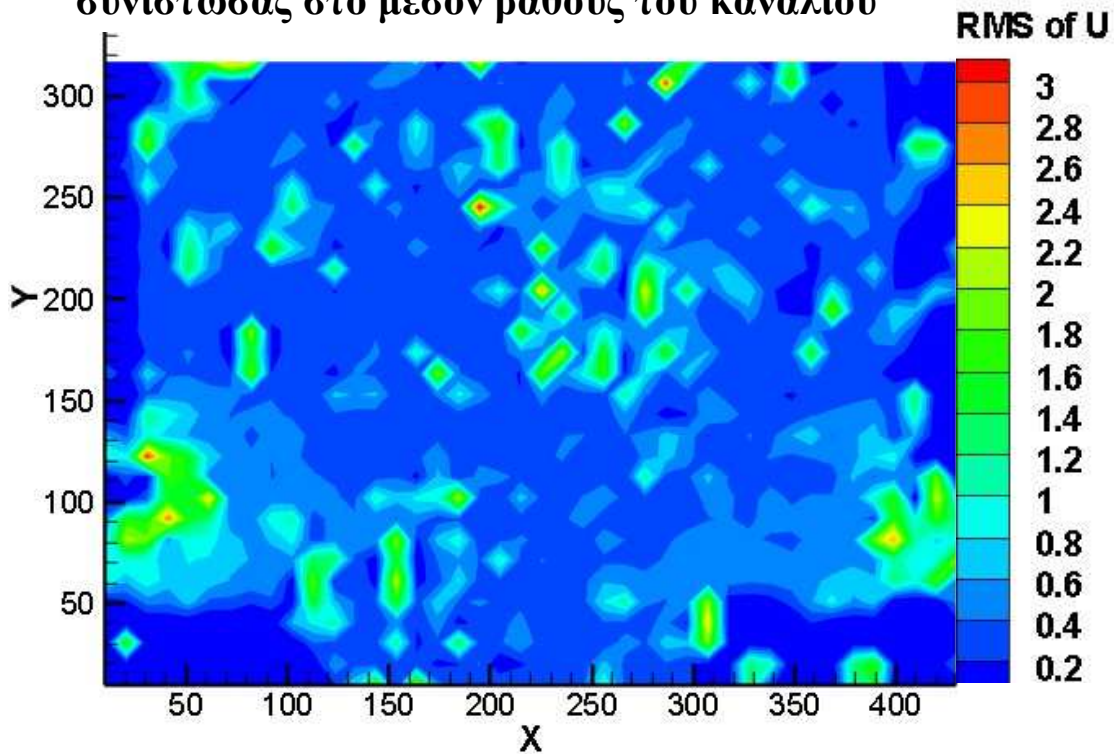
Διάγραμμα 4



Το παραπάνω διάγραμμα συγκρίνει τα προφίλ ταχυτήτων για τα τρία διαφορετικά βάθη σε μια διατομή της εισόδου. Όπως φαίνεται τα προφίλ είναι ομοιόμορφα και οι τιμές για το μέσον του βάθους αυξημένες σε σχέση με αυτές που παρουσιάζονται για τα άλλα δύο βάθη.

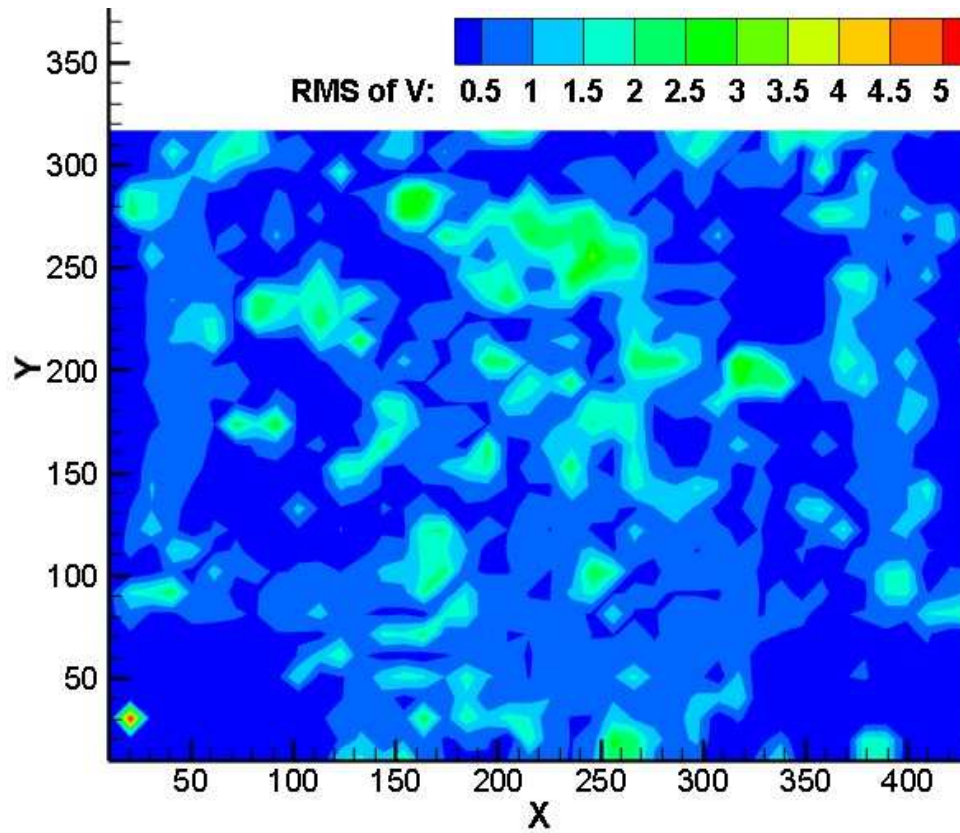
Στην συνέχεια παρουσιάζονται τα διαγράμματα της τυπικής απόκλισης των δύο συνιστωσών της ταχύτητας (U, V), για την μέτρηση που έγινε στο μέσον του βάθους του καναλιού.

Διάγραμμα 5: Είσοδος, Τυπική απόκλιση (mm/s) της U συνιστώσας στο μέσον βάθους του καναλιού



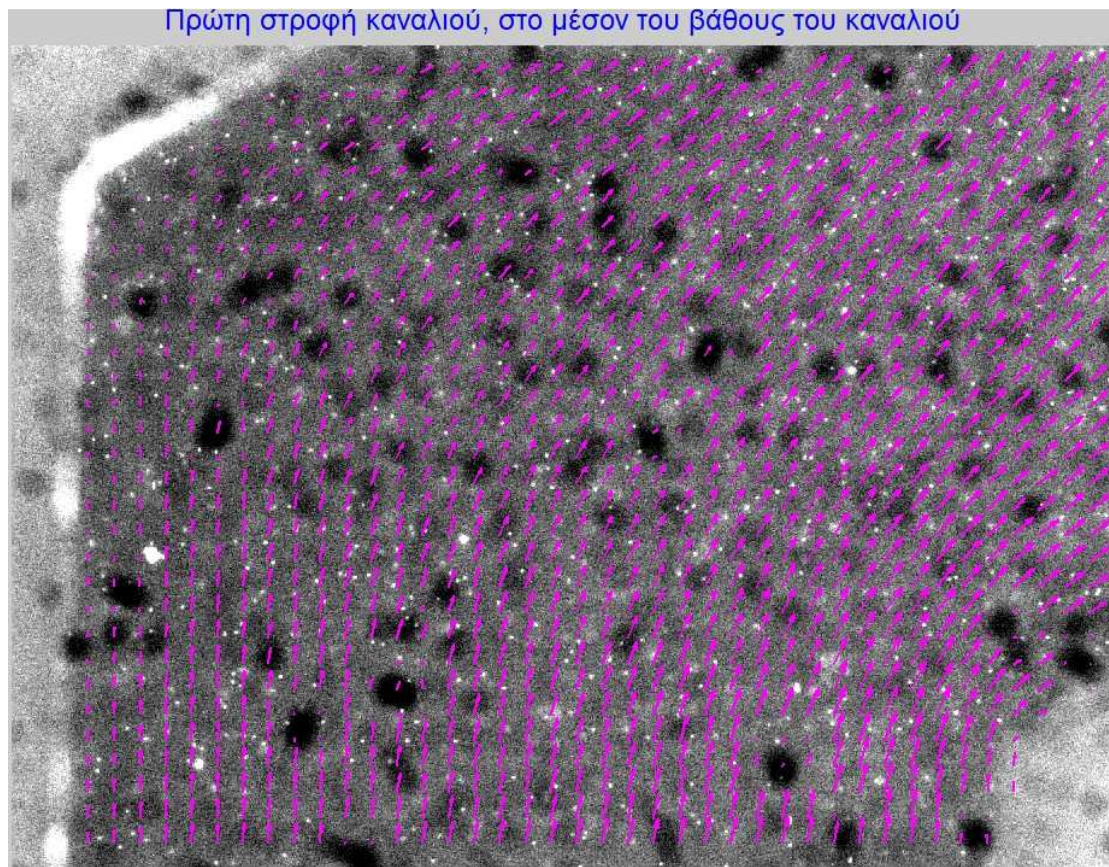
Η τυπική απόκλιση είναι όπως φαίνεται κατά μέσον όρο στο 10% της μέσης ταχύτητας (δηλ. 0.5mm/s για μέσες ταχύτητες περίπου 4 με 5 mm/s). Ένας παράγοντας που αυξάνει τις τυπικές αποκλίσεις των μετρήσεών μας είναι ο βηματικός κινητήρας της αντλίας, που καθιστά την ροή εντός του καναλιού, όχι απολύτως συνεχή. Όσο μεγαλύτερες είναι οι διαστάσεις του καναλιού, τόσο μεγαλύτερη η αδράνεια που παρουσιάζει στις μικρομεταβολές αυτές της παροχής οι οποίες γίνονται λιγότερο αισθητές. Η τυπική απόκλιση που παρουσιάζεται στο παρόν καθώς και σε όλα τα ακόλουθα διαγράμματα δείχνει για κάθε σημείο του χώρου των μετρήσεων, πόσο χρονικά σταθερή ήταν η ταχύτητα σε αυτό το σημείο. Έτσι αυξημένη τυπική απόκλιση σε ένα σημείο δείχνει ότι οι τιμές ταχύτητας που λάβαμε για το σημείο αυτό μεταβάλλονταν αρκετά σε σχέση με μια μέση χρονικά τιμή των ταχυτήτων για το σημείο αυτό.

Διάγραμμα 6: Είσοδος, Τυπική απόκλιση (mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους του καναλιού



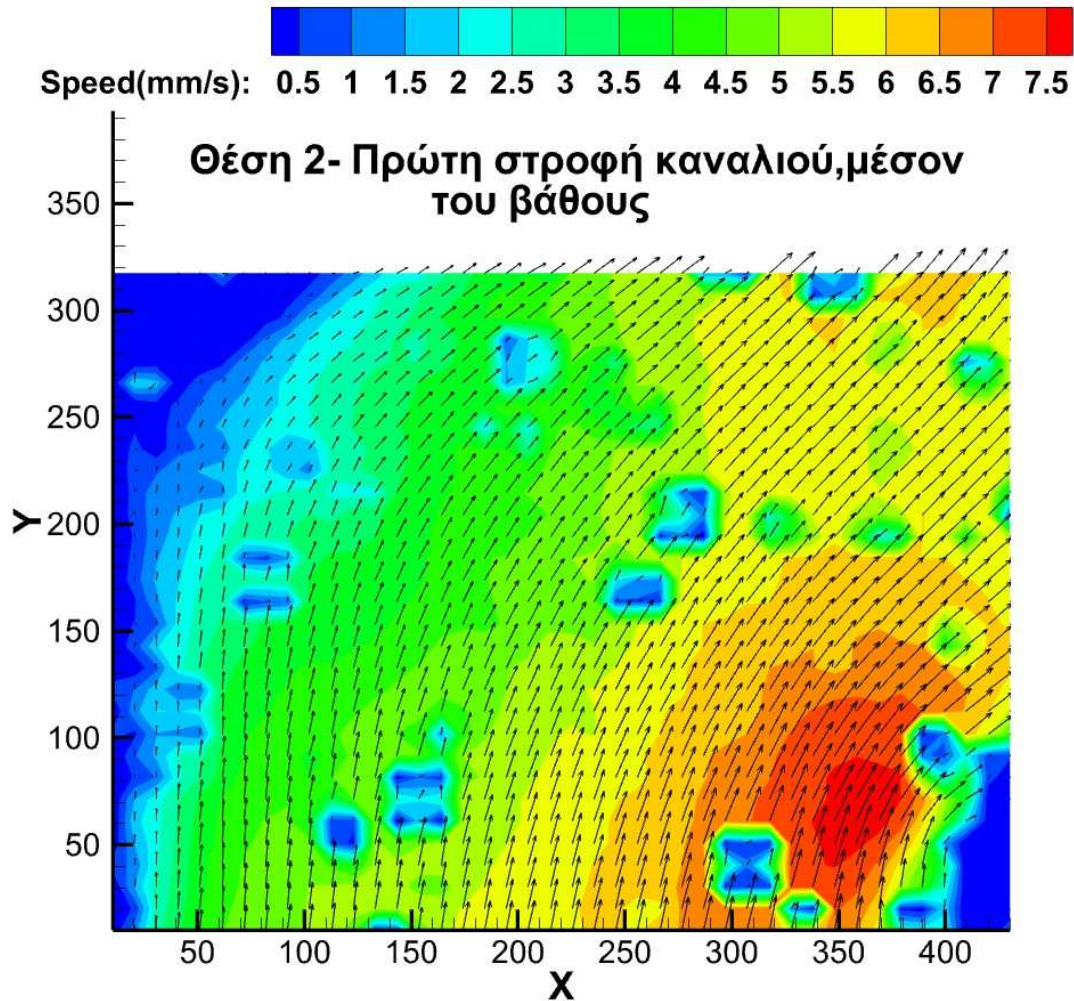
4.2.3.2 Θέση 2 – Πρώτη στροφή του καναλιού, στο μέσον του βάθους του αναμίκτη

Εικόνα 4.4



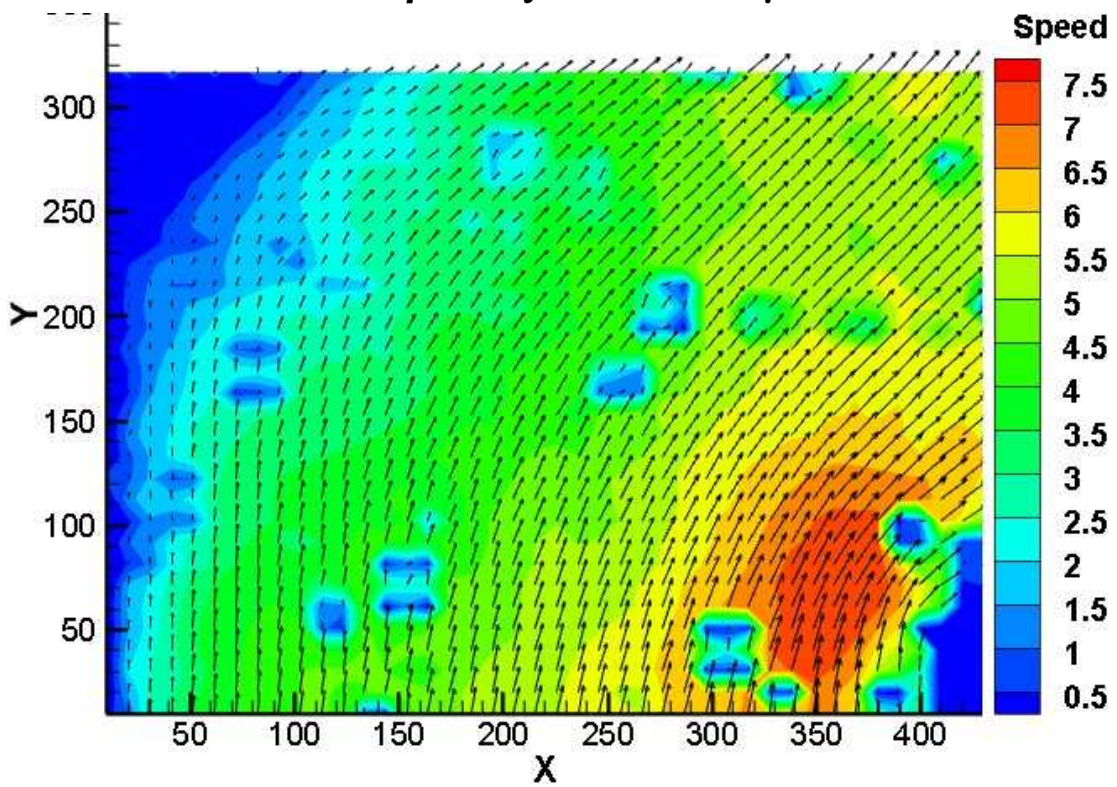
Όπως παρατηρούμε σε αυτήν την θέση, οι ταχύτητες στο εξωτερικό της στροφής είναι μειωμένες και στο εσωτερικό αυξημένες. Η ανισοκατανομή αυτή της ταχύτητας οφείλεται στη στροφή του καναλιού. Λόγω της έρπουσας ροής το μέγιστο της ταχύτητας εμφανίζεται στην εσωτερική πλευρά της στροφής. Το αντίθετο συμβαίνει σε μεγάλους Re όπου λόγω της δευτερεύουσας ροής (δηλ λόγω των δινών Dean) το μέγιστο της ταχύτητας εμφανίζεται στην εξωτερική πλευρά της στροφής..

Διάγραμμα 7

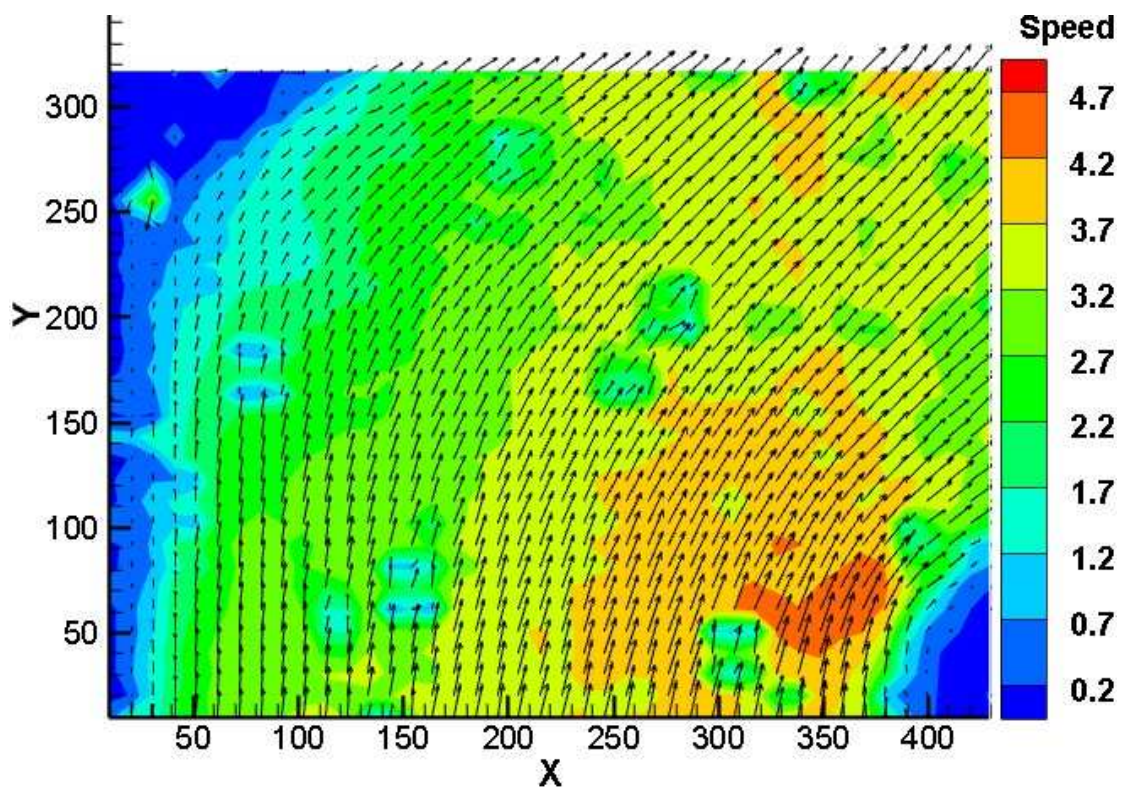


Στην συνέχεια παρουσιάζεται το πεδίο ταχυτήτων στο 1/4 και στα 3/4 του βάθους του καναλιού. Οι τιμές της ταχύτητας στα ακόλουθα διαγράμματα είναι ελαφρώς μειωμένες, λόγω της προσέγγισης στα στερεά τοιχώματα του πυθμένα και του Lamination αντιστοίχως. Συγκεκριμένα η ταχύτητα κοντά στο Lamination είναι αρκετά μειωμένη (Μέγιστη ταχύτητα 4,2mm/s) σε σχέση με την ταχύτητα στα άλλα δύο βάθη. Πιθανόν, λόγω ελαφράς διόγκωσης του Lamination του καναλιού, το φαινόμενο βάθος του καναλιού στο μικροσκόπιο να αυξήθηκε με αποτέλεσμα να γίνει εστίαση αρκετά πλησιέστερα στο πάνω όριο του καναλιού, όπου οι ταχύτητες είναι μειωμένες.

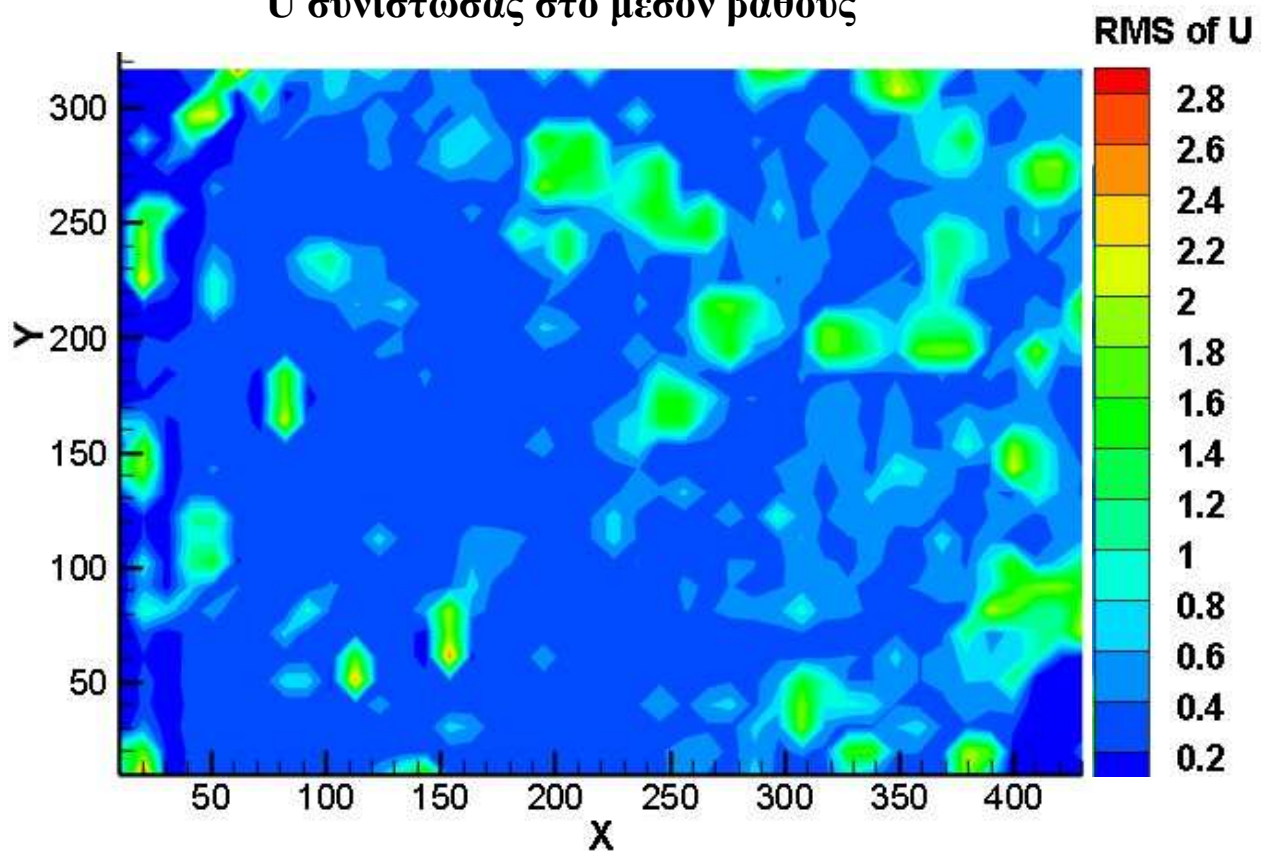
Διάγραμμα 8: Πρώτη στροφή, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



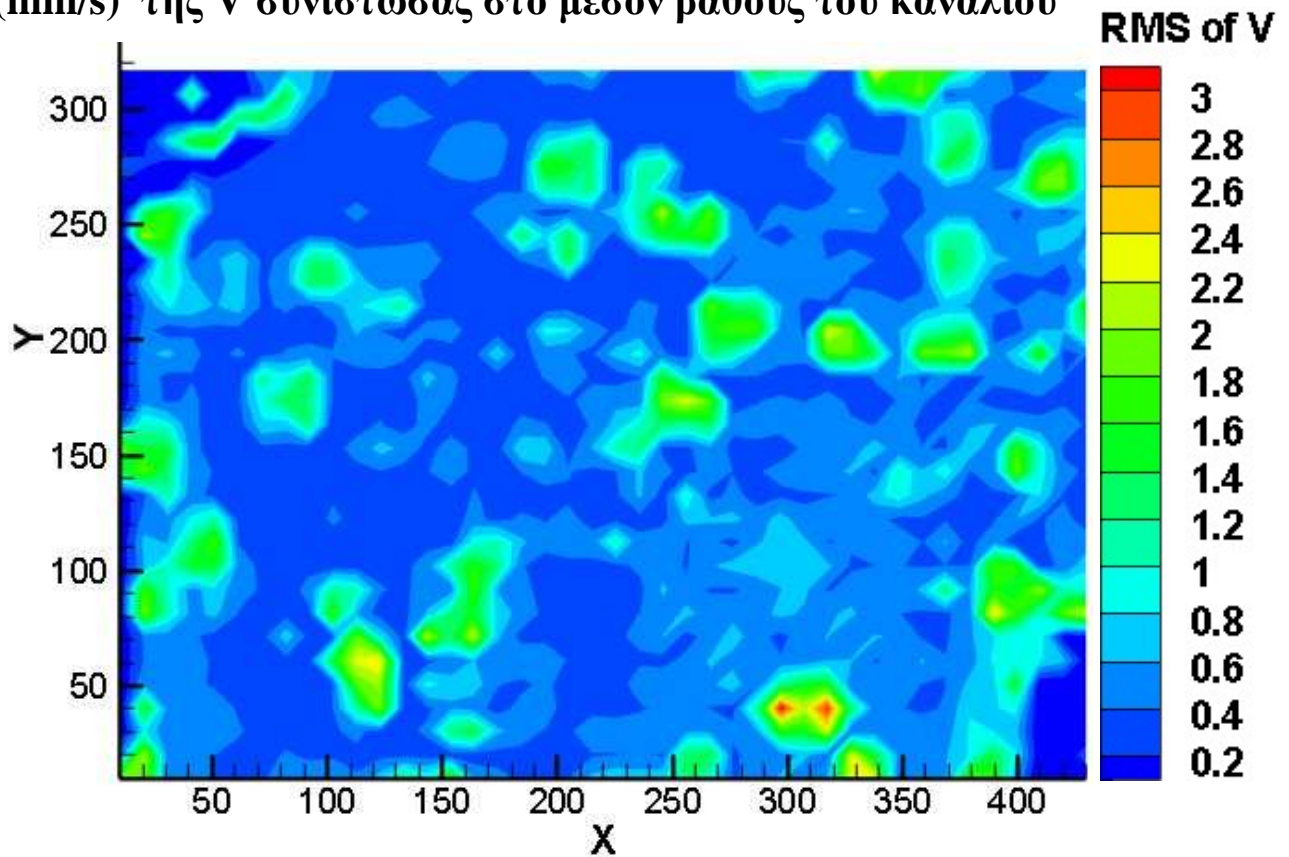
Διάγραμμα 9: Πρώτη στροφή, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



Διάγραμμα 10: Πρώτη στροφή καναλιού, RMS (mm/s) της U συνιστώσας στο μέσον βάθους



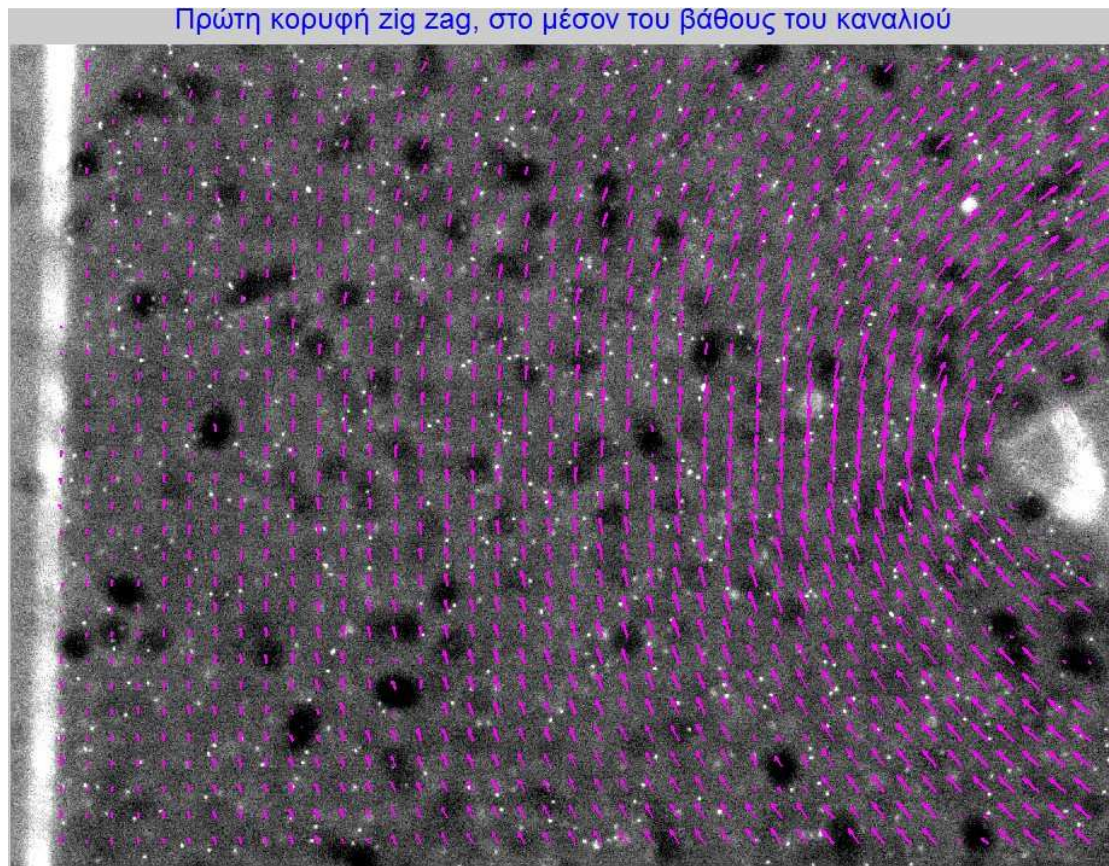
Διάγραμμα 11: Πρώτη στροφή καναλιού, Τυπική απόκλιση (mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον βάθους του καναλιού



Στα παραπάνω διαγράμματα τυπικών αποκλίσεων παρατηρούμε ότι εν γένει η απόκλιση των ταχυτήτων είναι χαμηλή και αυξημένες τυπικές αποκλίσεις παρατηρούνται κυρίως στα σημεία όπου η ποιότητα των μετρήσεων είναι χαμηλότερη λόγω πιθανών ατελειών του οπτικού συστήματος (μαύρες κηλίδες στις εικόνες).

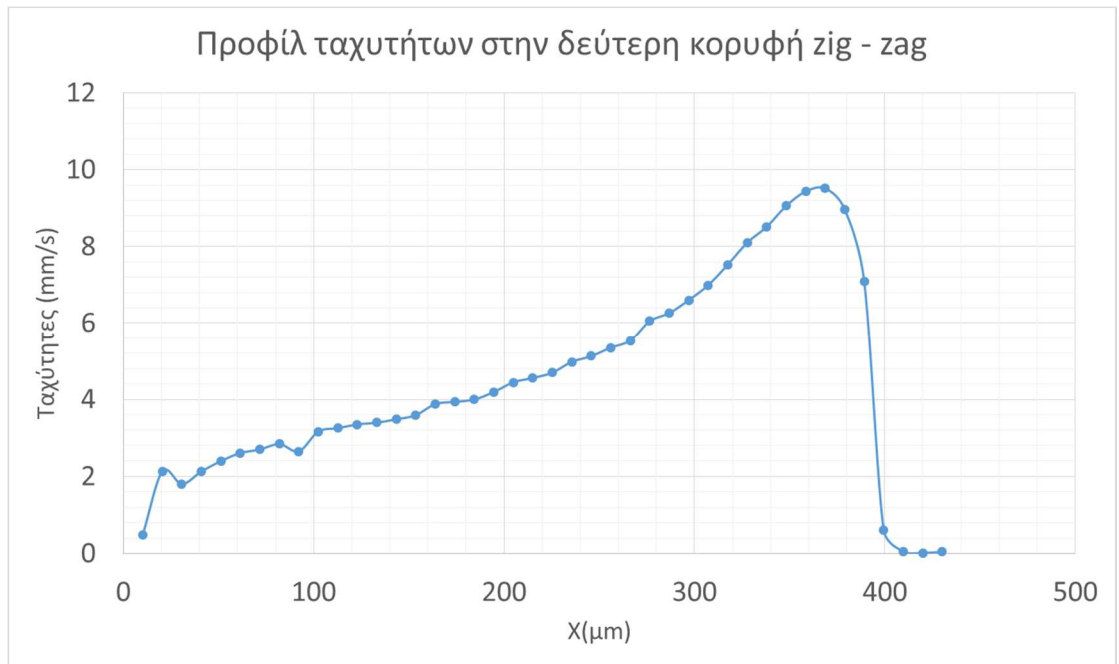
4.2.3.3 Θέση 3 – Δεύτερη κορυφή zig –zag

Εικόνα 4.5

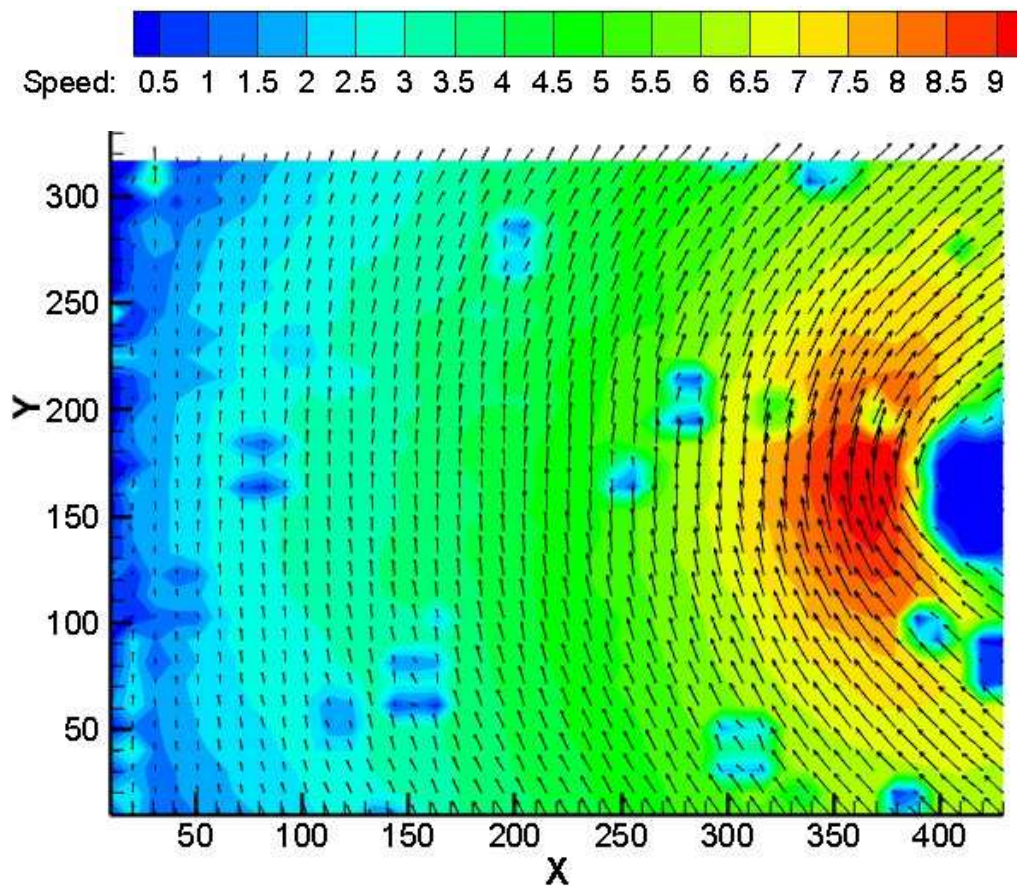


Παρατηρείται και σε αυτήν την θέση, αύξηση των ταχυτήτων στο εσωτερικό της στροφής και μείωση στο εξωτερικό, για τον ίδιο λόγο που αναφέρθηκε και παραπάνω (χαμηλός Reynolds, έρπουσα ροή). Αυτό φαίνεται και στο αμέσως επόμενο διάγραμμα. Η μέγιστη ταχύτητα για το μέσον του βάθους σε αυτήν την διατομή είναι κοντά στα 9 mm/s , για το $1/4$ του βάθους από τον πυθμένα είναι 8.5 mm/s , ενώ στο $1/4$ του βάθους από το Lamination, εμφανίζεται μέγιστη ταχύτητα κοντά στα 6 mm/s . Όπως εξηγήθηκε παραπάνω, οι χαμηλότερες ταχύτητες κοντά στο Lamination οφείλονται σε διόγκωση του στεγανωτικού φιλμ.

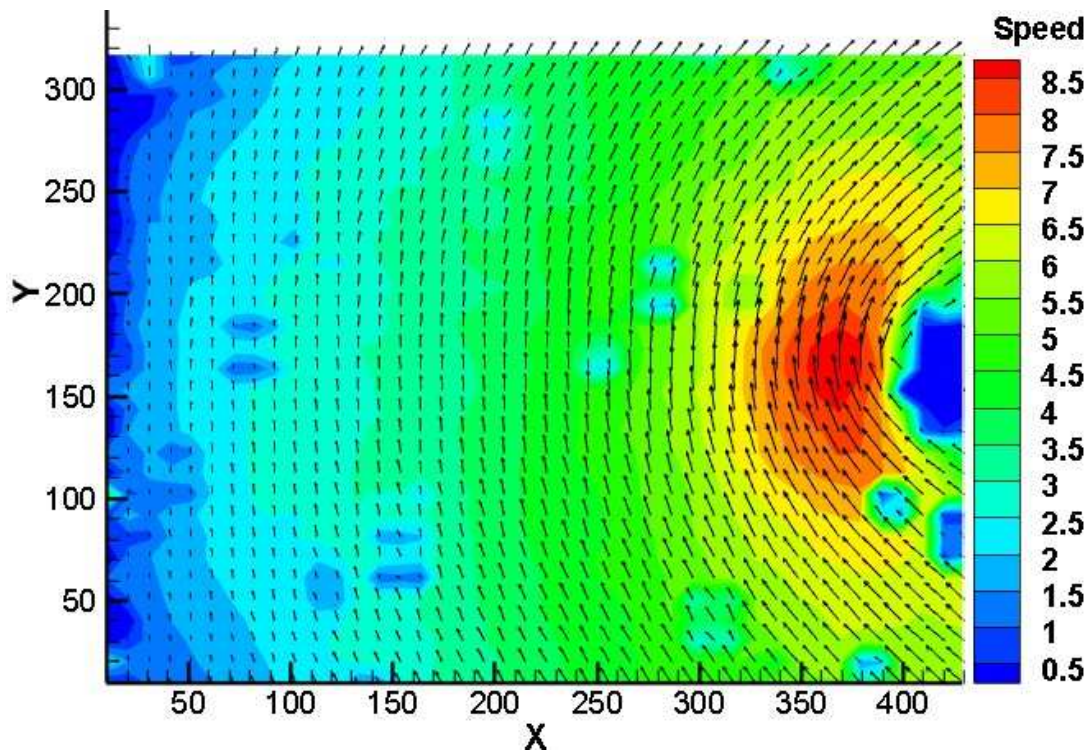
Διάγραμμα 12



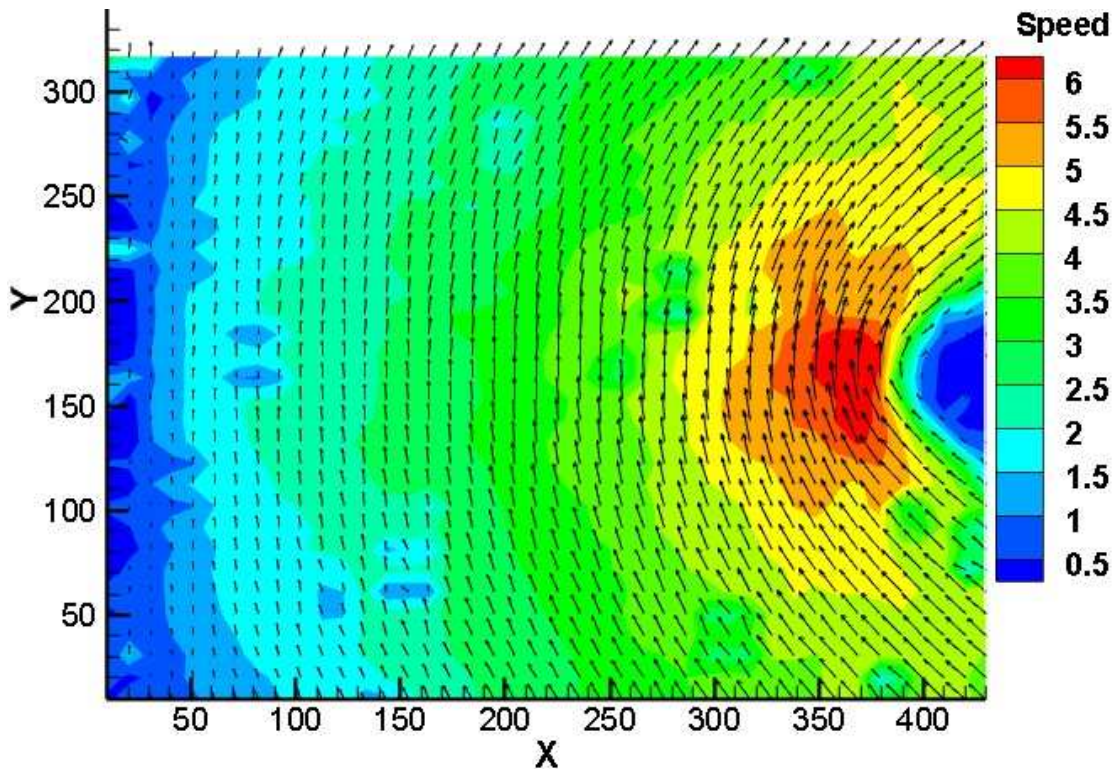
Διάγραμμα 13: Δεύτερη κορυφή, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



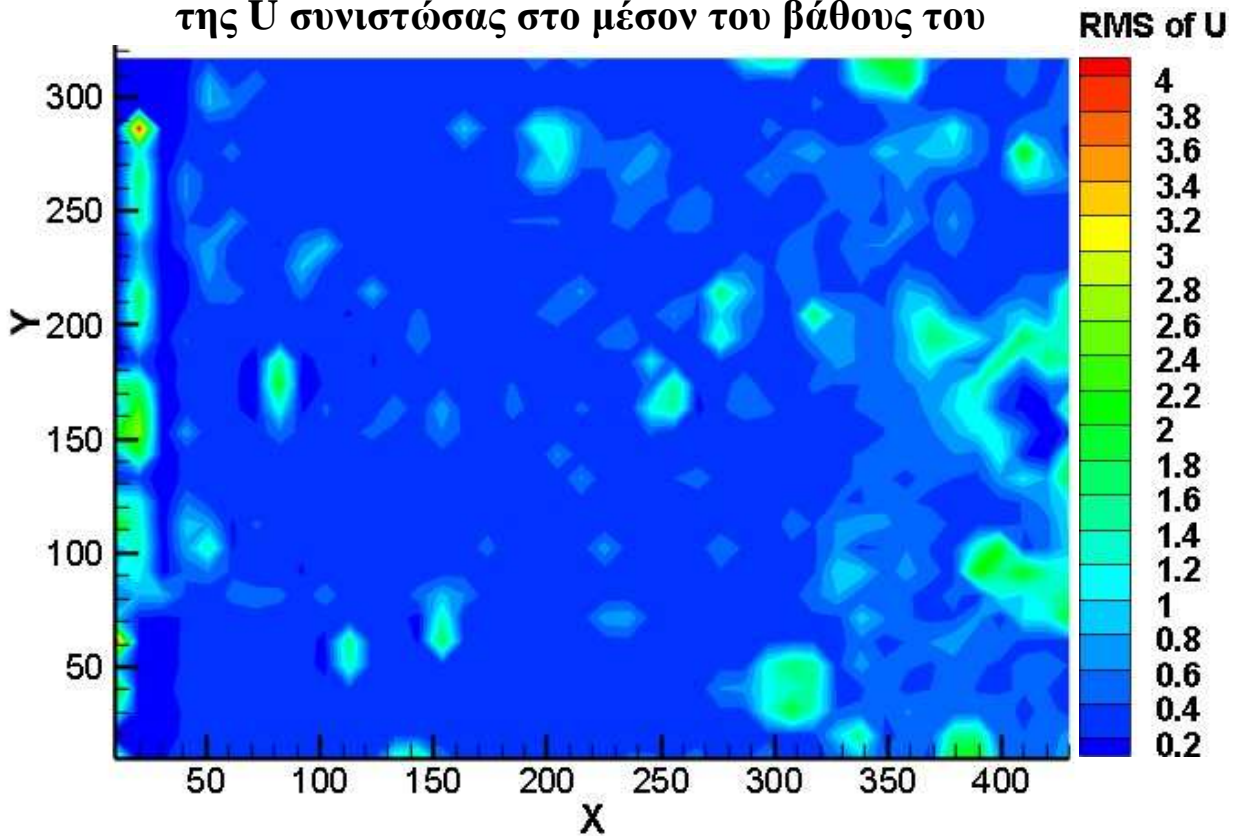
**Διάγραμμα 14: Δεύτερη κορυφή, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s)
στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα του καναλιού**



**Διάγραμμα 15: Δεύτερη κορυφή, Πεδίο ταχυτήτων (mm/s)
στο 1/4 του βάθους από το Lamination του καναλιού**

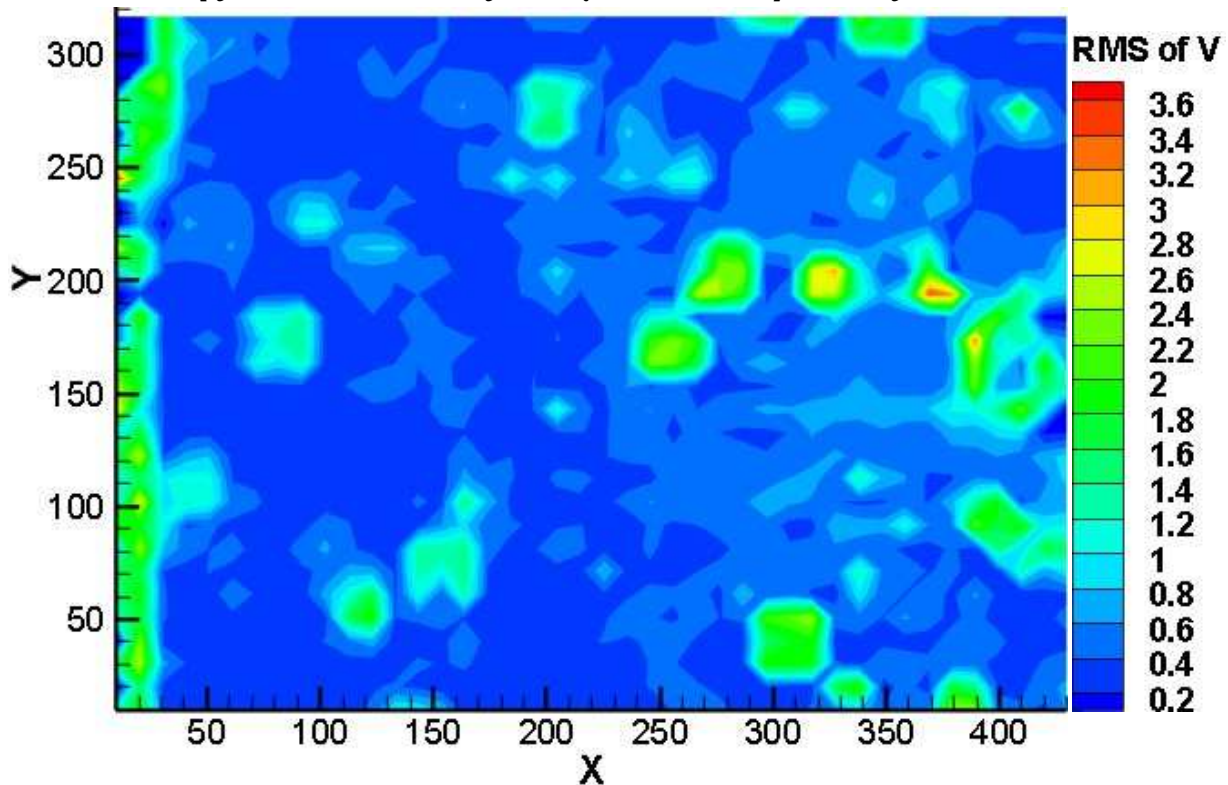


**Διάγραμμα 16: Δεύτερη κορυφή, Τυπική απόκλιση (mm/s)
της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους του**



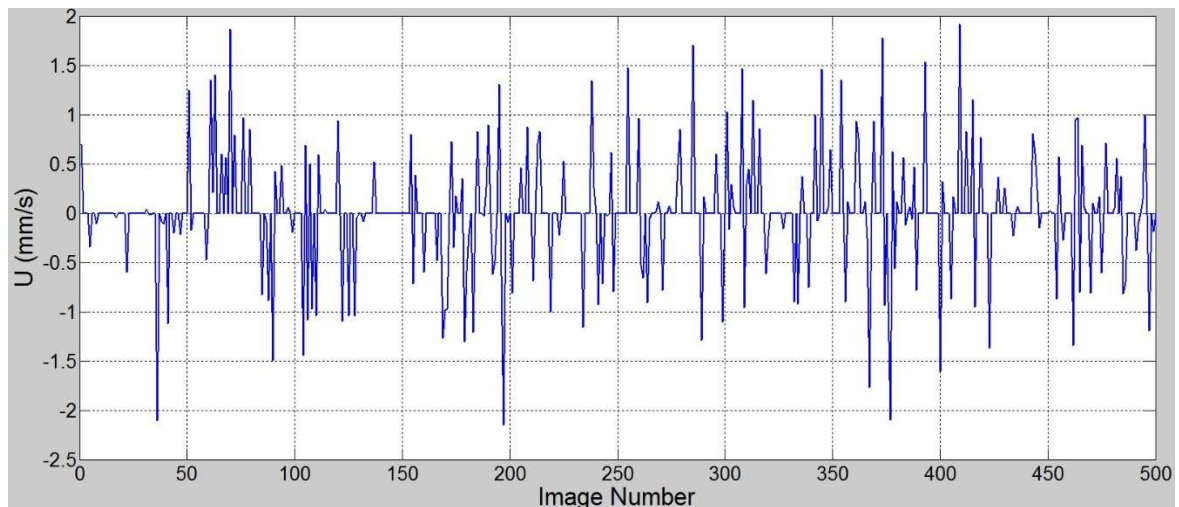
καναλιού

**Διάγραμμα 17: Δεύτερη κορυφή, Τυπική απόκλιση (mm/s)
της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους του καναλιού**

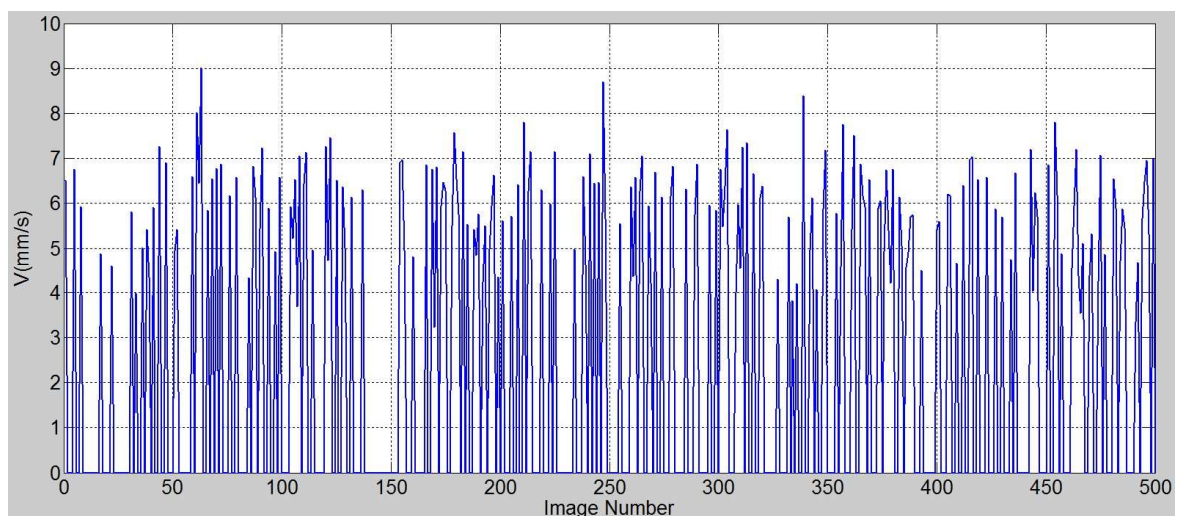


Παρακάτω παρουσιάζεται η μεταβολή στον χρόνο των ταχυτήτων U και V , για ένα σημείο κοντά στην κορυφή της στροφής.

Διάγραμμα 18: Δεύτερη κορυφή, χρονοσειρά της U συνιστώσας της ταχύτητας



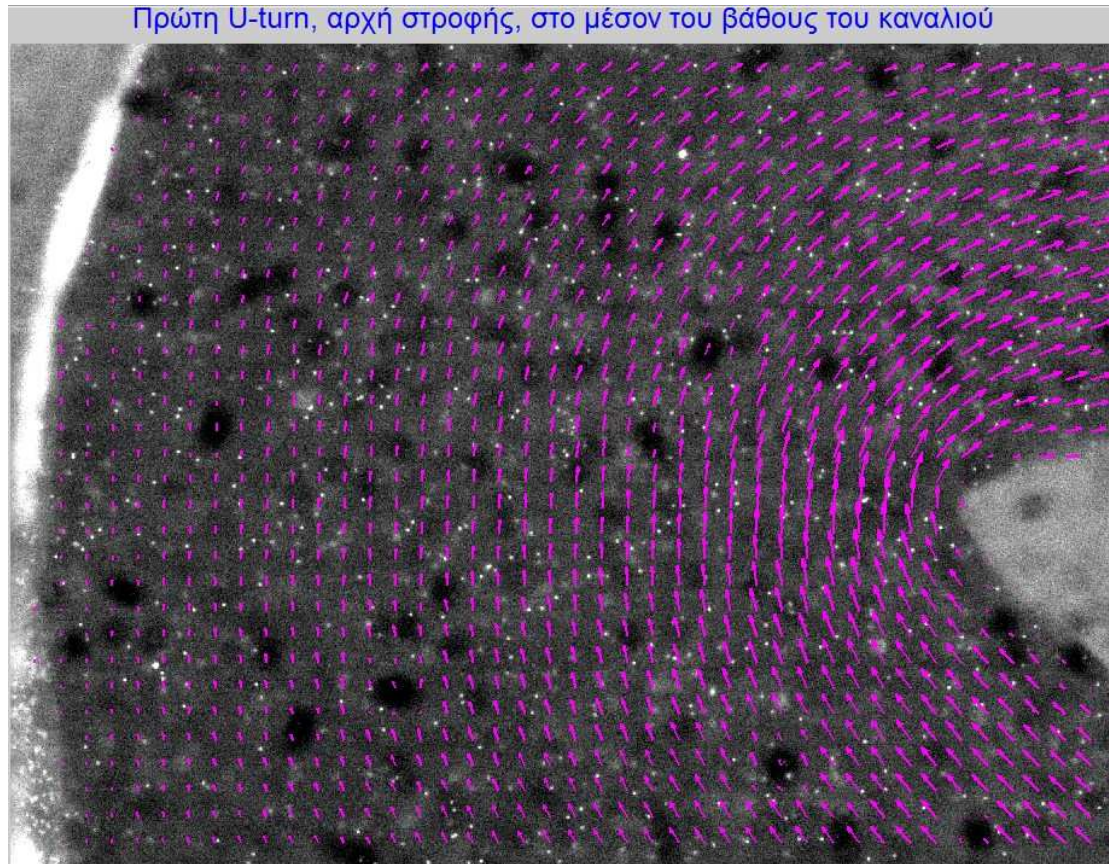
Διάγραμμα 19: Δεύτερη κορυφή, χρονοσειρά της V συνιστώσας της ταχύτητας



Όπως είναι λογικό, επί της στροφής, η U (οριζόντια συνιστώσα) μπορεί να αλλάξει φορά, ενώ η V (κατακόρυφη συνιστώσα) όχι.

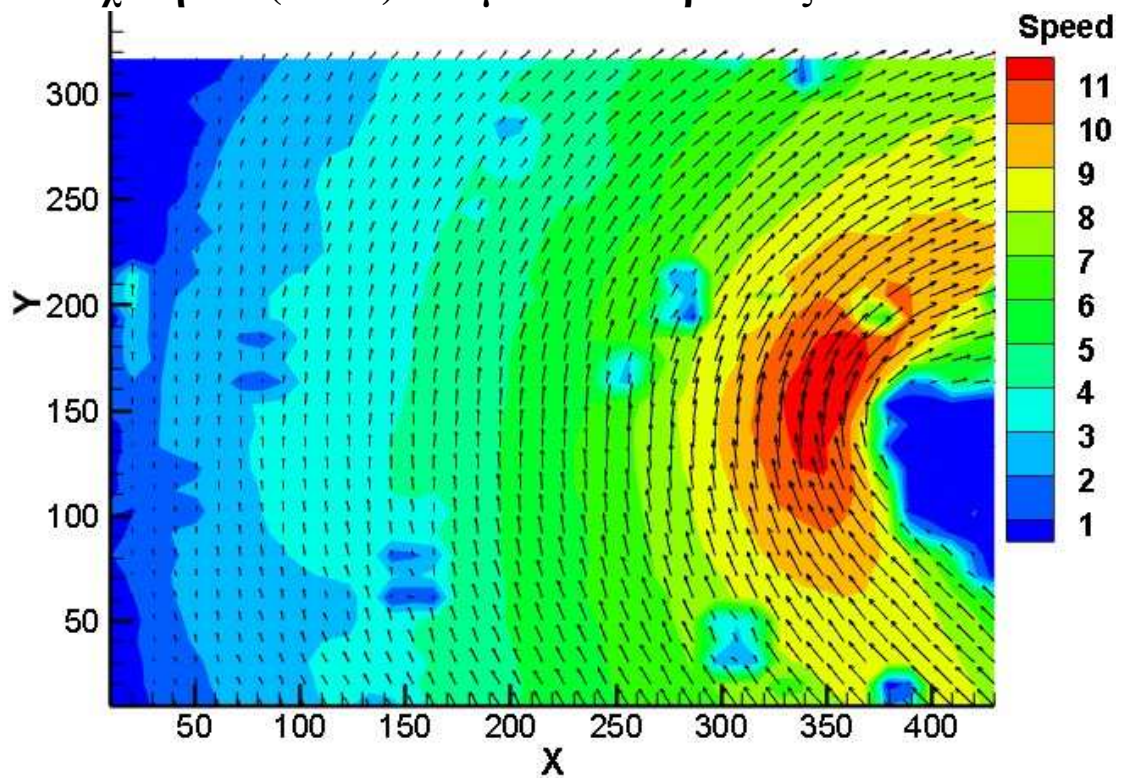
4.2.3.4 Θέση 4 – Πρώτη U-turn ,αρχή στροφής

Εικόνα 4.6

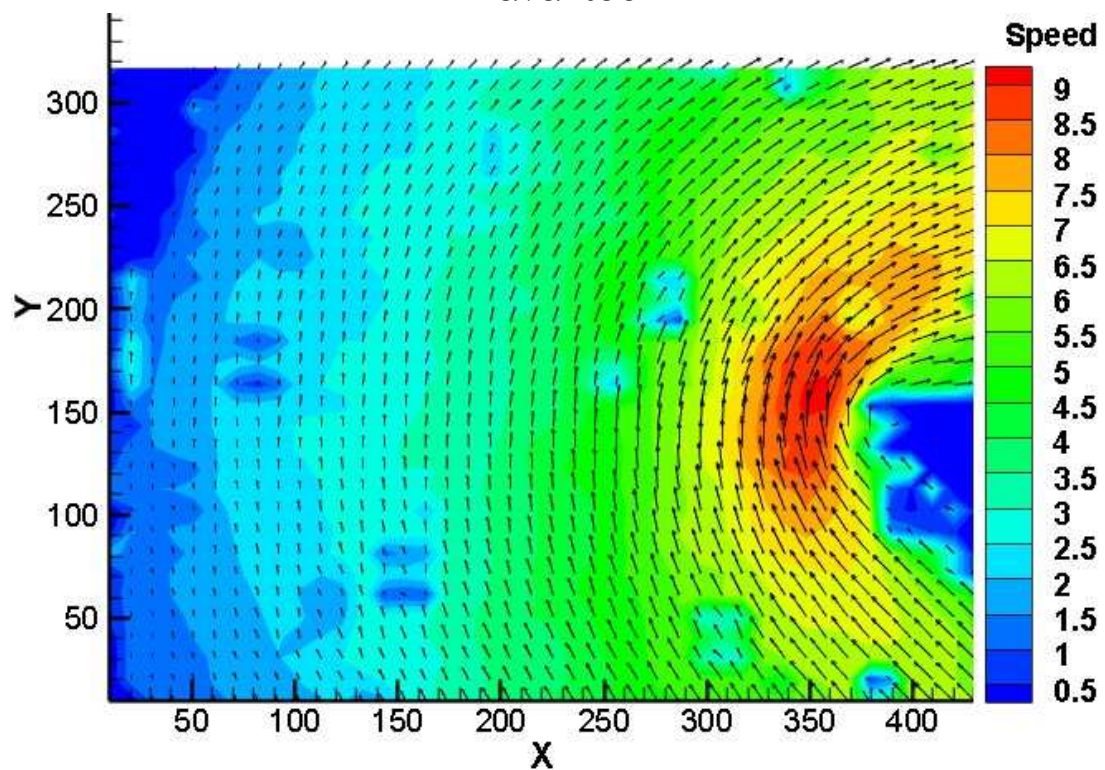


Παρατηρούνται και εδώ αυξημένες ταχύτητες στο εσωτερικό της στροφής σε σχέση με το εξωτερικό, για τους ίδιους που προαναφέρθηκαν. Και εδώ το ρευστό φαίνεται ότι ακολουθεί την γεωμετρία του αναμίκτη και δεν έχουμε αποκόλληση στην στροφή.

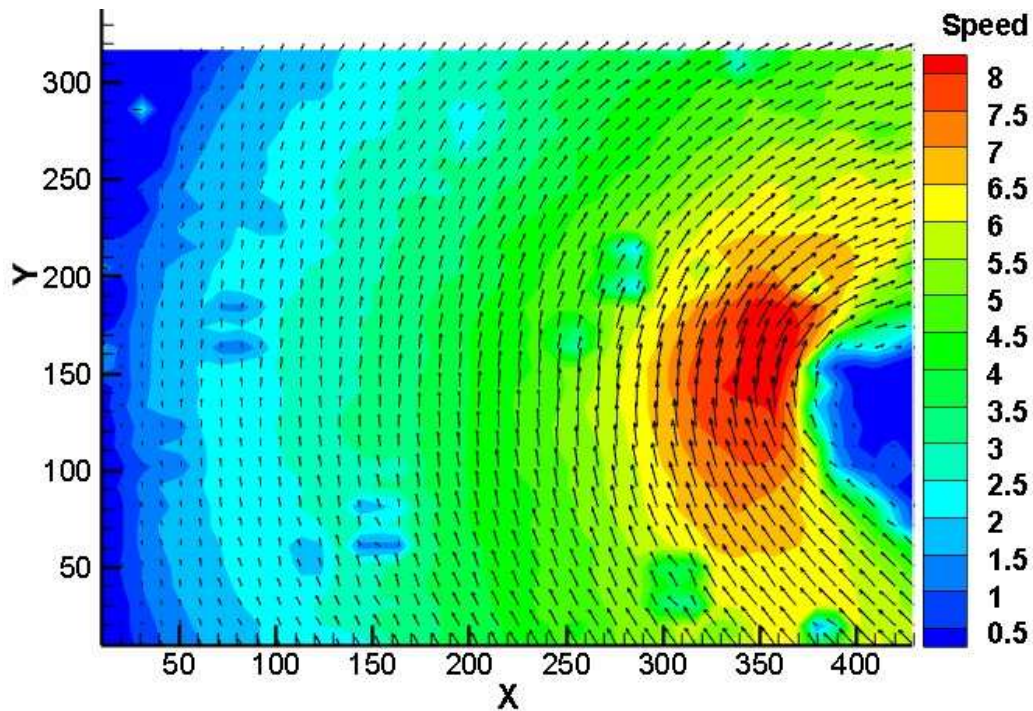
Διάγραμμα 20: Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



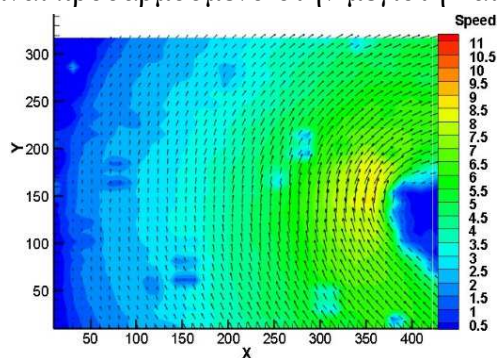
Διάγραμμα 21: Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα του καναλιού



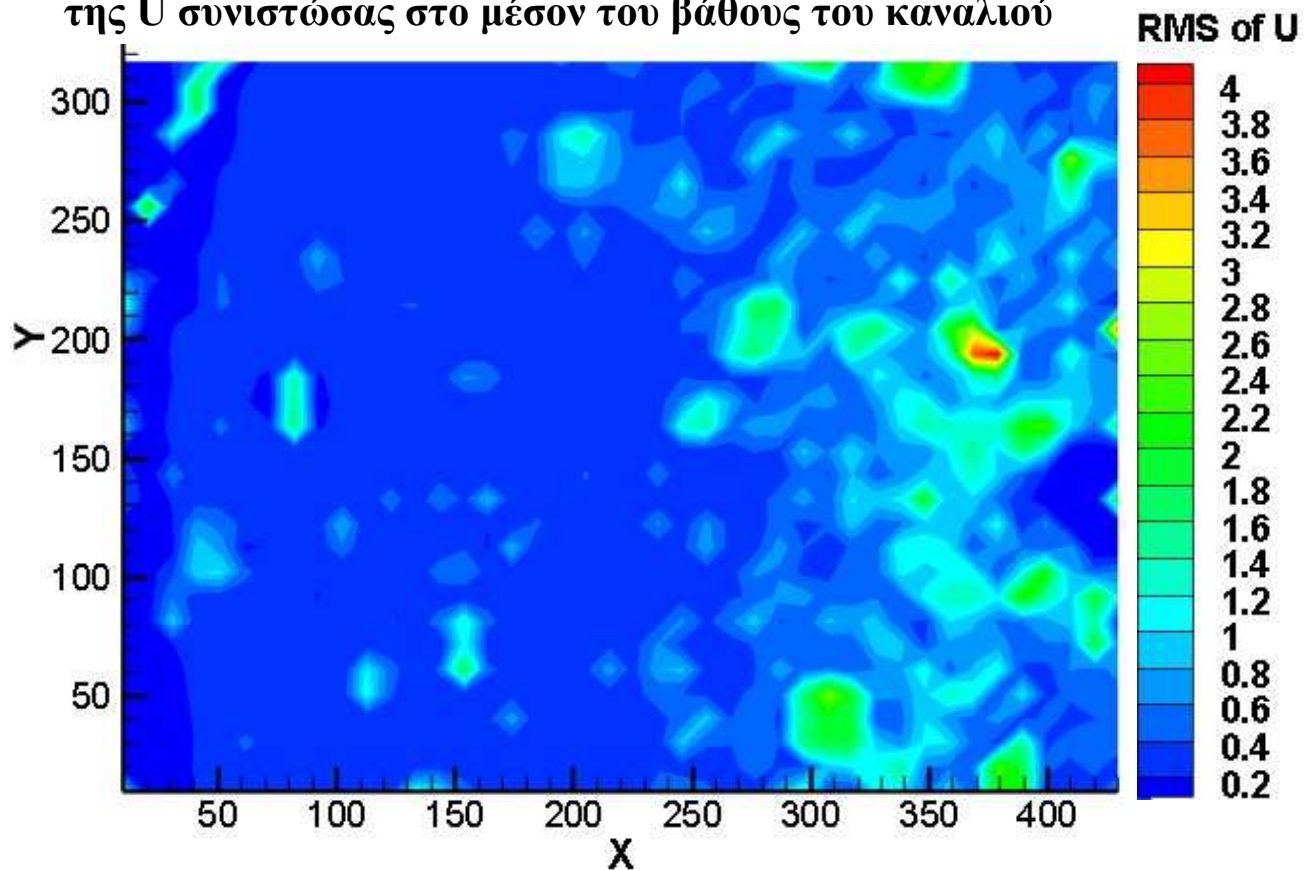
Διάγραμμα 22: Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination του καναλιού



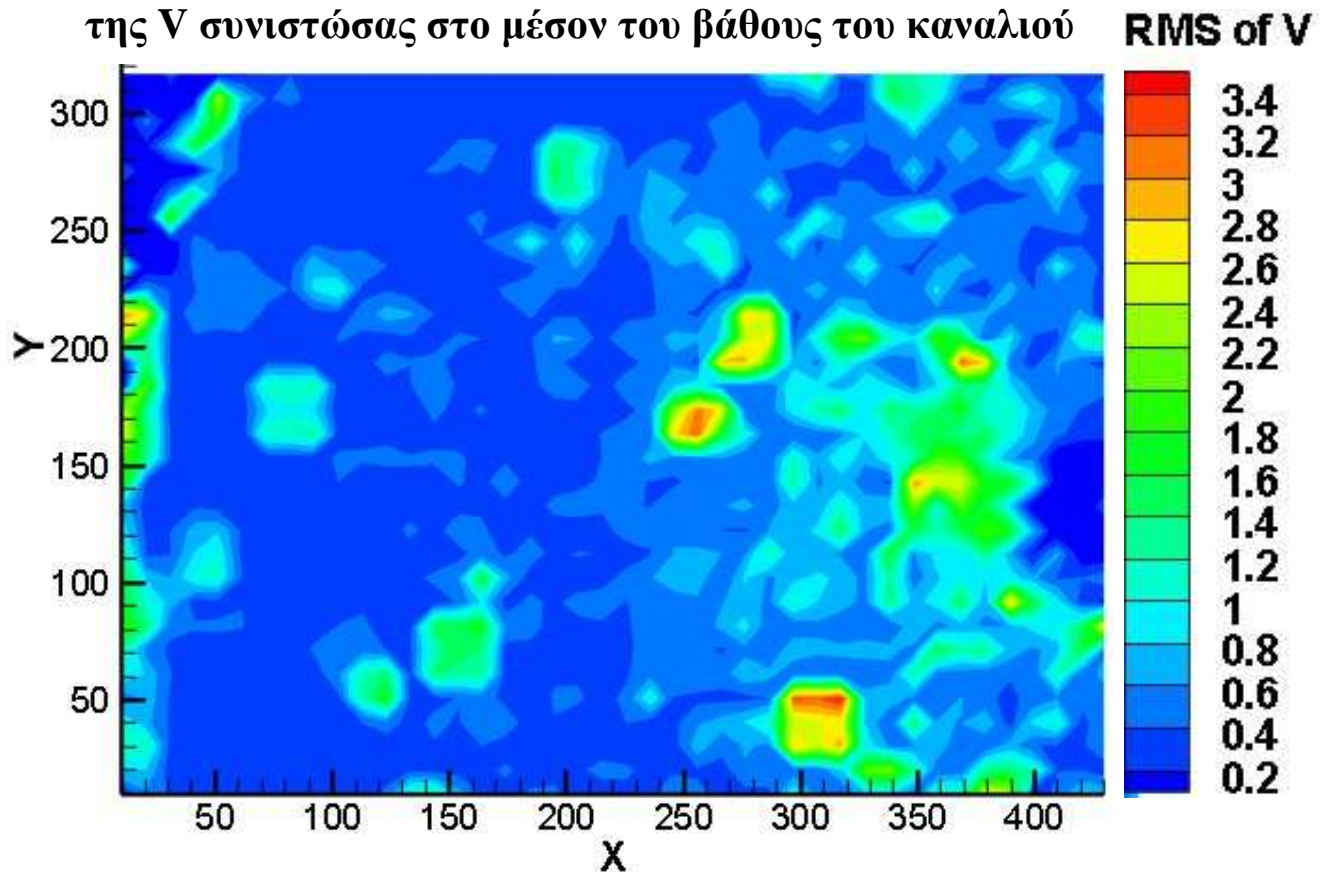
Σχετικά με την οπτικοποίηση των διαφορών του πεδίου ταχυτήτων μεταξύ των τριών βαθών, έγινε απόπειρα να χρησιμοποιηθεί κοινό υπόμνημα χρωμάτων και για τα τρία βάθη. Το υπόμνημα αυτό θα είχε ως μέγιστη τιμή την μέγιστη ταχύτητα από τα τρία βάθη και ως ελάχιστη την ελάχιστη των τριών βαθών. Αυτή η μέθοδος παρουσιάζει σημαντικό μειονέκτημα, ιδιαίτερα σε θέσεις όπου η μέγιστη ταχύτητα του μέσου του βάθους είναι πολύ μεγαλύτερη από την μέγιστη που εμφανίζεται στα άλλα δύο βάθη. Αντιστοιχίζοντας, το 'κόκκινο' χρώμα σε μια μεγάλη τιμή ταχύτητας, που όμως δεν εμφανίζεται και στα τρία βάθη, αλλά συνήθως μόνο στο μεσαίο βάθος, μειώνεται αυτομάτως το εύρος χρωμάτων που διατίθεται για την οπτικοποίηση των διαφορών του πεδίου ταχυτήτων στα βάθη όπου το εύρος ταχυτήτων είναι μικρότερο. Χρησιμοποιώντας δηλαδή κοινό υπόμνημα, γίνεται ευκολότερη σύγκριση μεταξύ των πεδίων ταχυτήτων στα τρία βάθη. Ταυτόχρονα όμως, οι διαφορές των ταχυτήτων δεν είναι εποπτικά ευδιάκριτες στα βάθη όπου το εύρος ταχυτήτων είναι μικρότερο. Επελέγη για αυτόν τον λόγο το υπόμνημα να είναι προσαρμοσμένο στην μέγιστη και την ελάχιστη τιμή ταχυτήτων του κάθε γραφήματος. Τα δύο γραφήματα της σελίδας αντιστοιχούν στην ίδια θέση. Στο γράφημα δεξιά, έχει χρησιμοποιηθεί για το υπόμνημα χρωμάτων μεγαλύτερο εύρος ταχυτήτων από αυτό που εμφανίζεται στην πραγματικότητα, με αποτέλεσμα να είναι δυσδιάκριτες οι μεταβολές των ταχυτήτων.



**Διάγραμμα 23: Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, RMS (mm/s)
της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους του καναλιού**

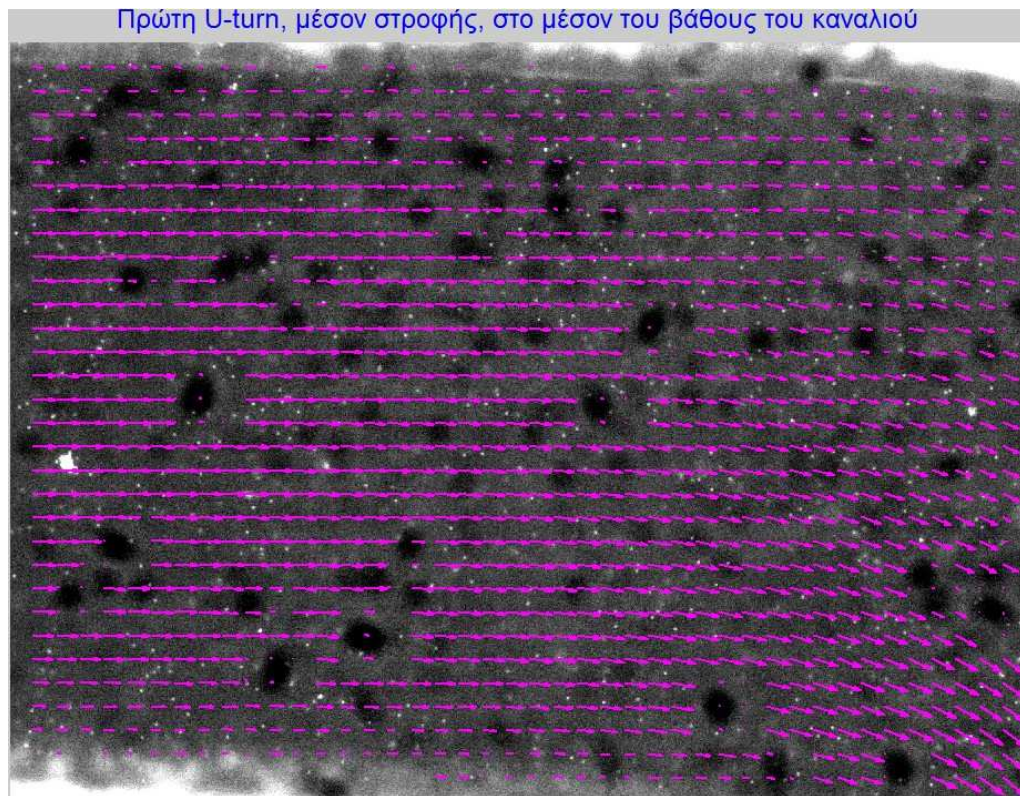


**Διάγραμμα 24: Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, RMS (mm/s)
της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους του καναλιού**

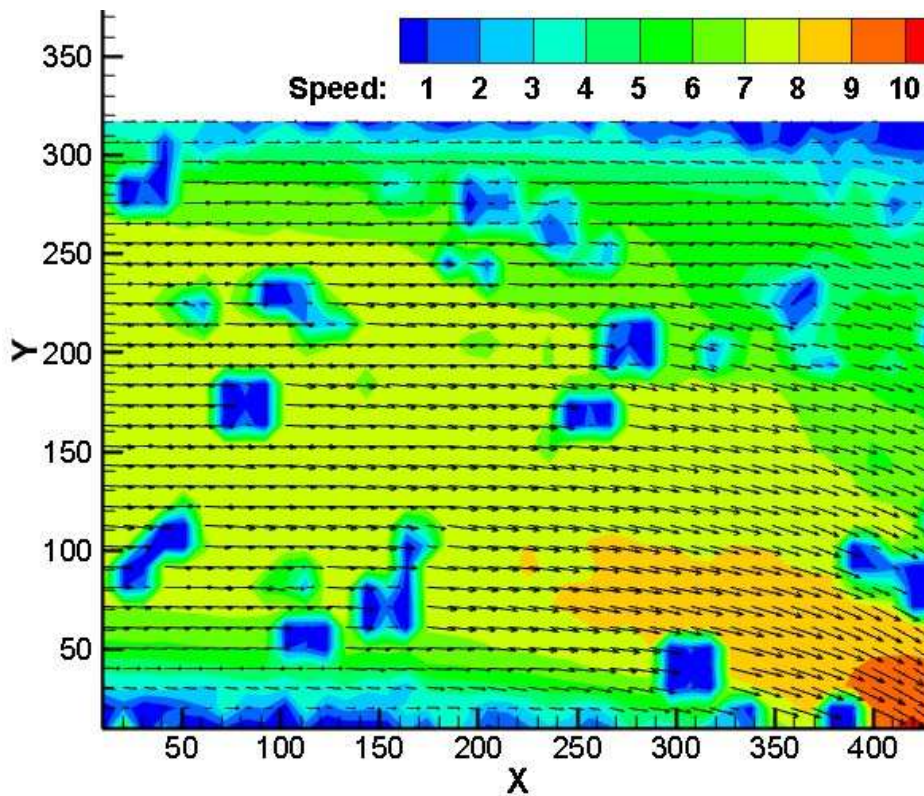


4.2.3.5 Θέση 5– Πρώτη U-turn, στο μέσον της στροφής

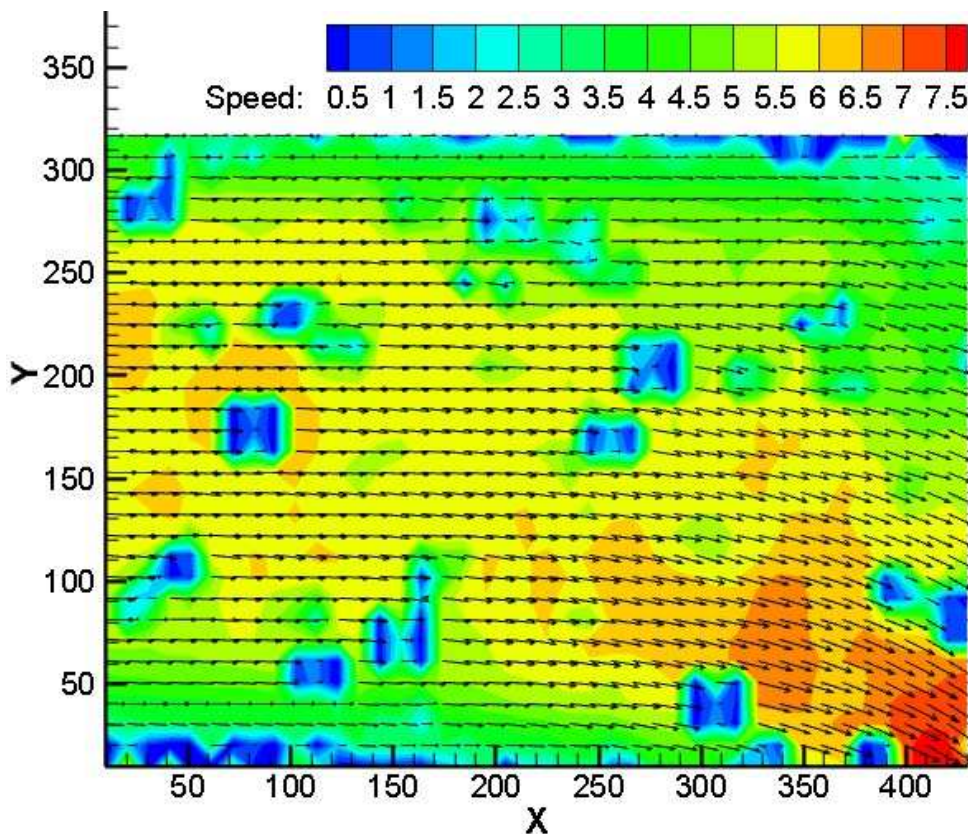
Εικόνα 4.7



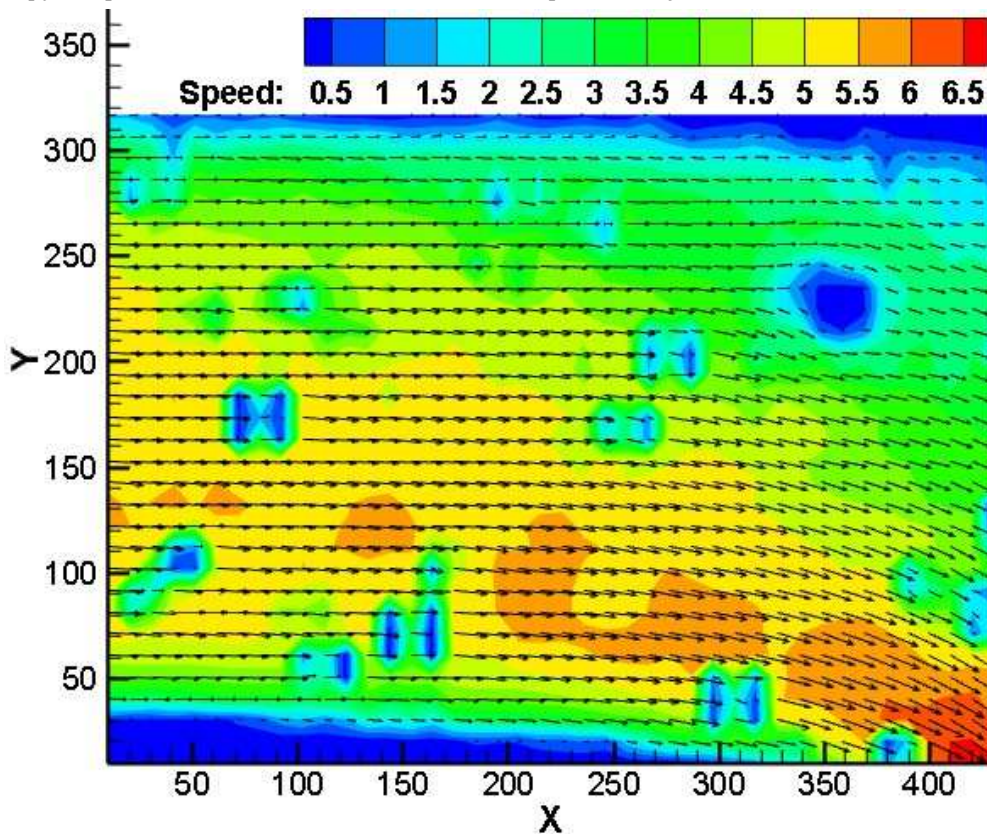
Διάγραμμα 25: Πρώτη U-turn, μέσον της στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



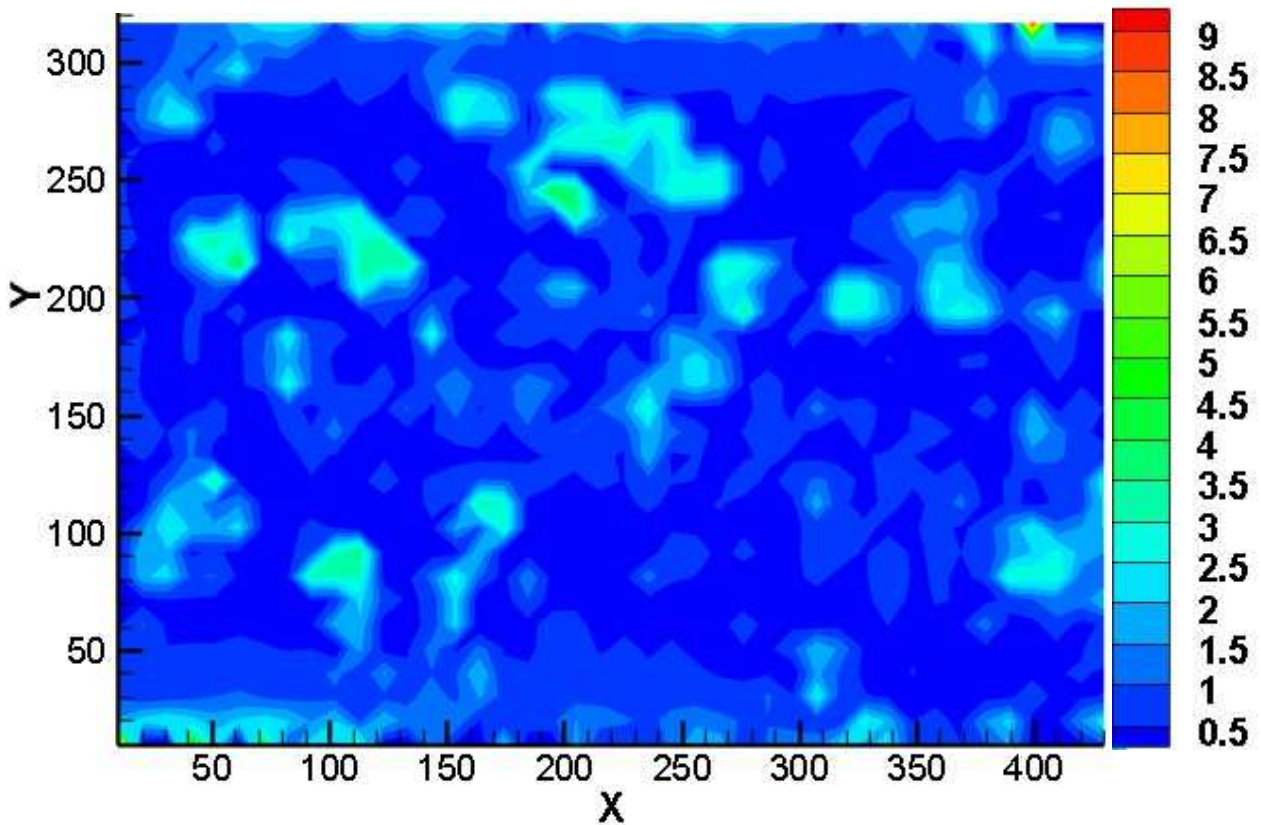
Διάγραμμα 26: Πρώτη U-turn, μέσον στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



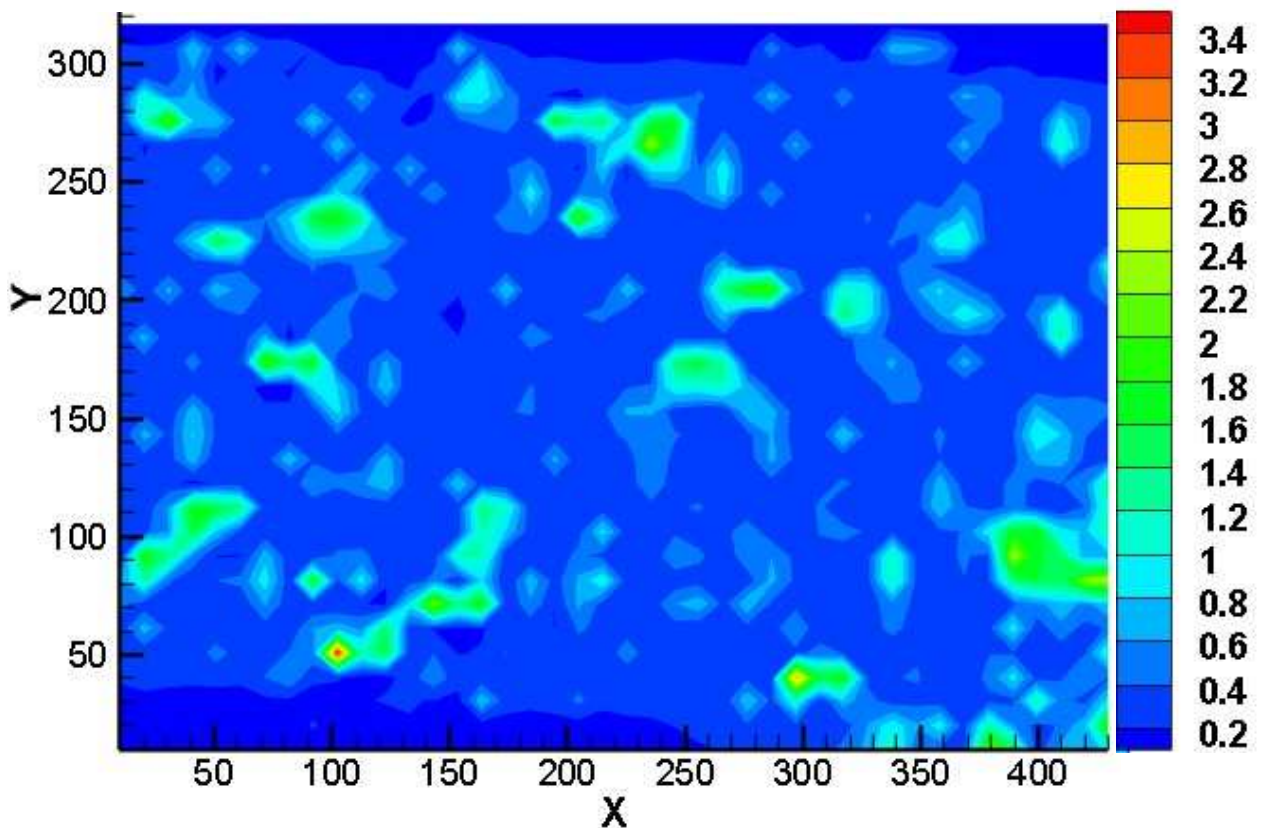
Διάγραμμα 27: Πρώτη U-turn, μέσον της στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



**Διάγραμμα 28: Πρώτη U-turn, μέσον στροφής, RMS (mm/s)
της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους του καναλιού **RMS of U****

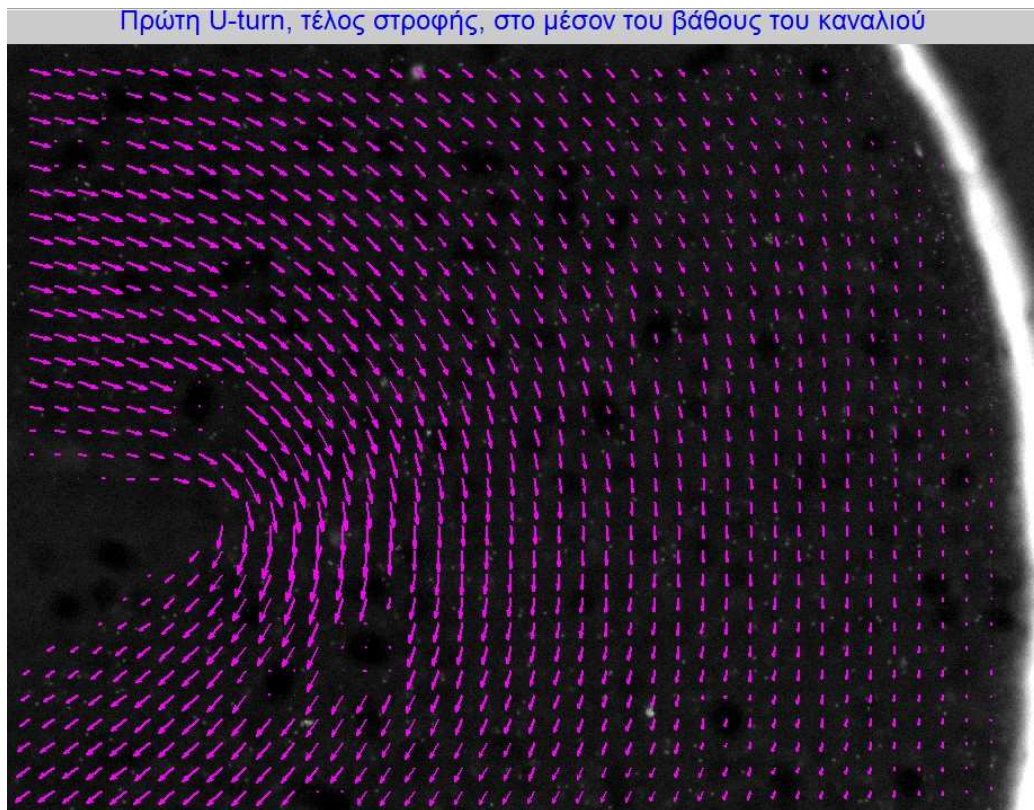


**Διάγραμμα 29: Πρώτη U-turn, μέσον στροφής, RMS (mm/s)
της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους του καναλιού **RMS of V****

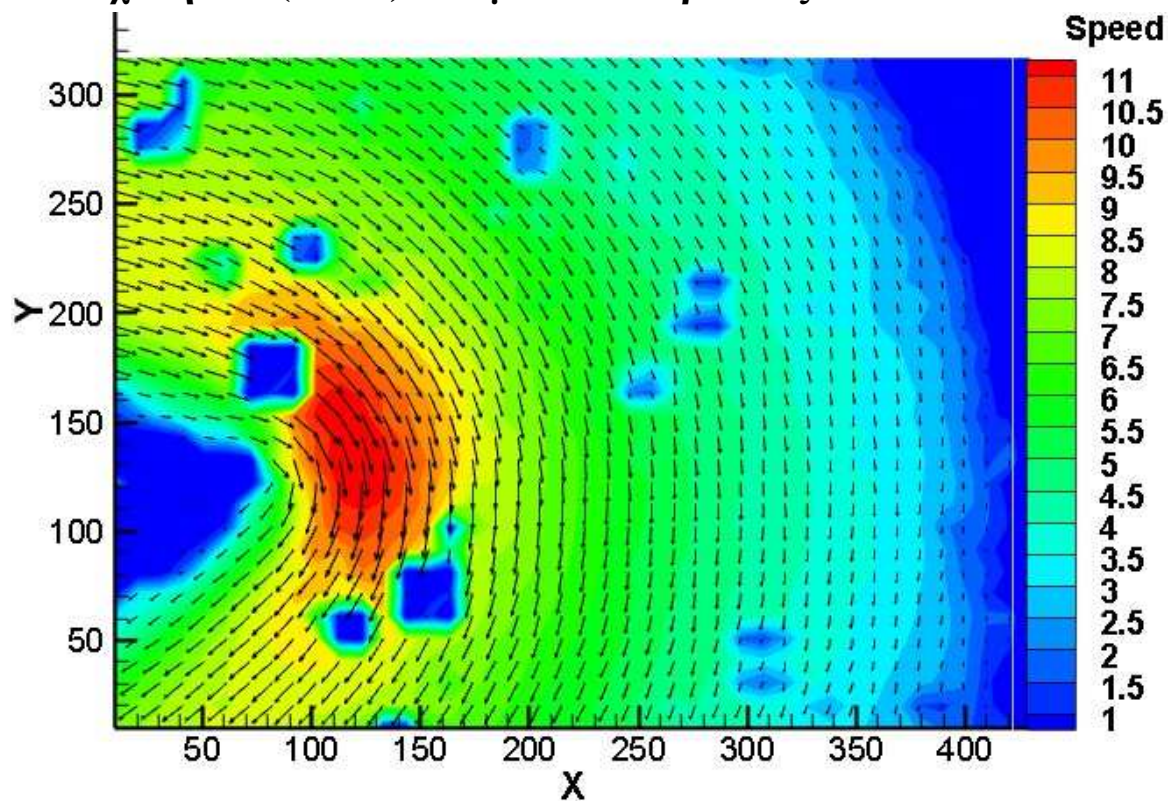


4.2.3.6 Θέση 6 – Πρώτη U-turn ,τέλος στροφής

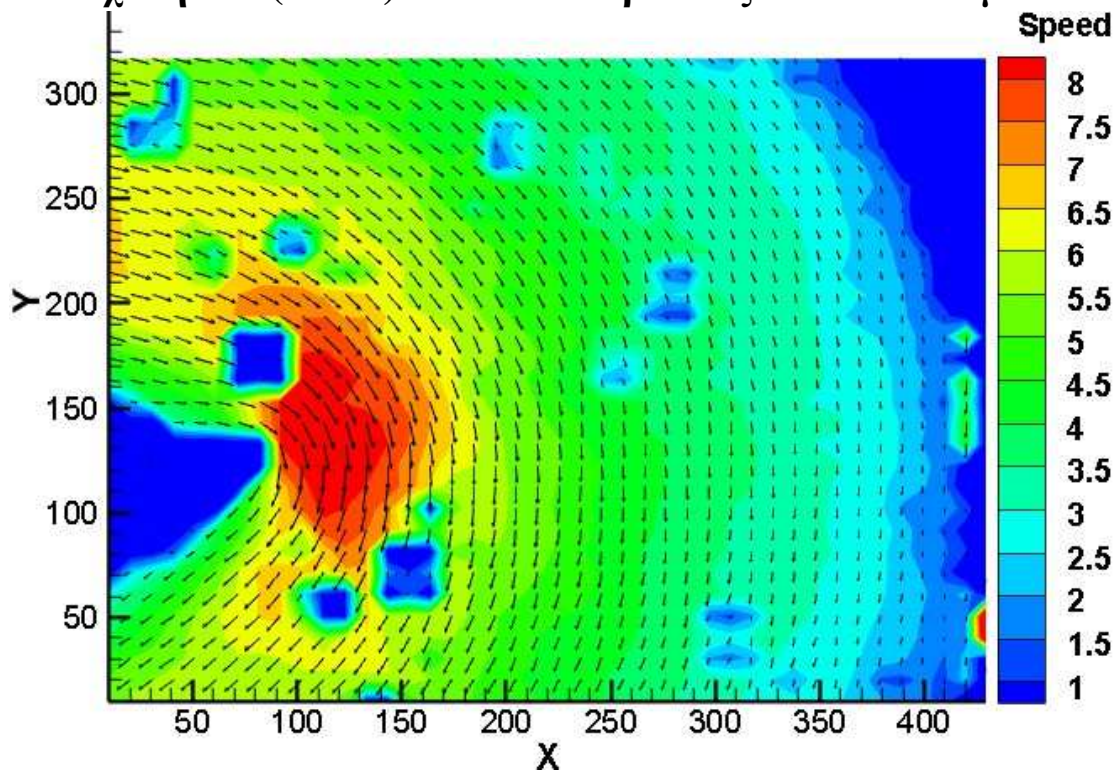
Εικόνα 4.8



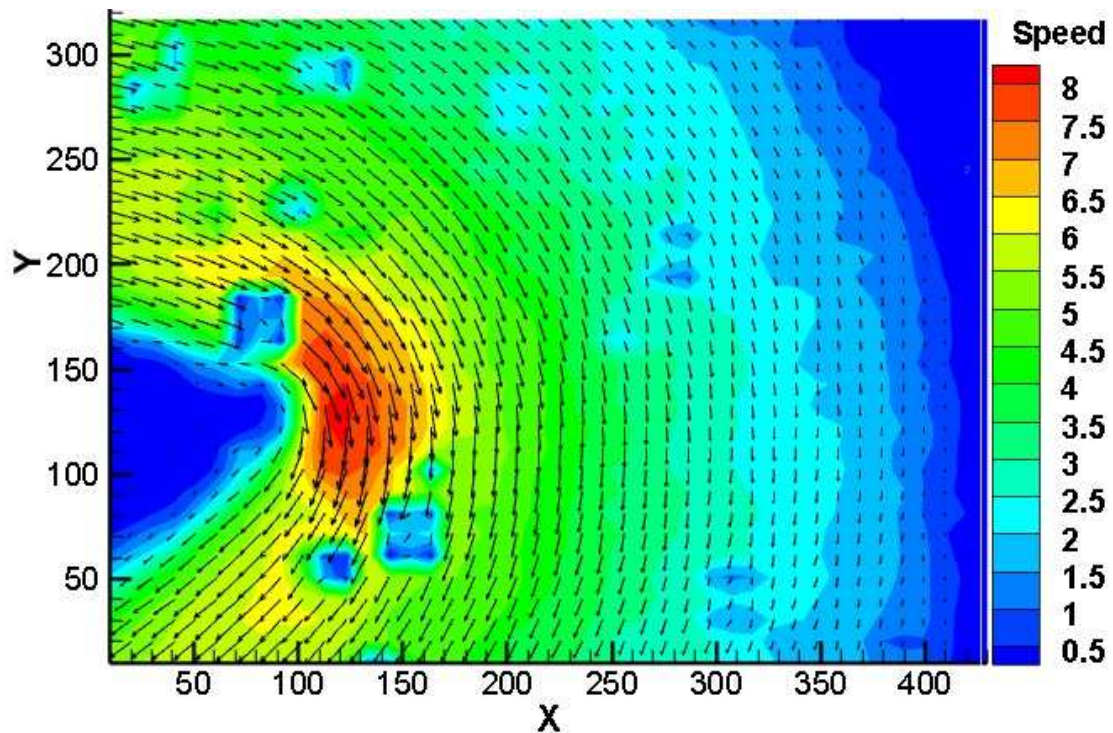
Διάγραμμα 30: Πρώτη U-turn ,τέλος στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



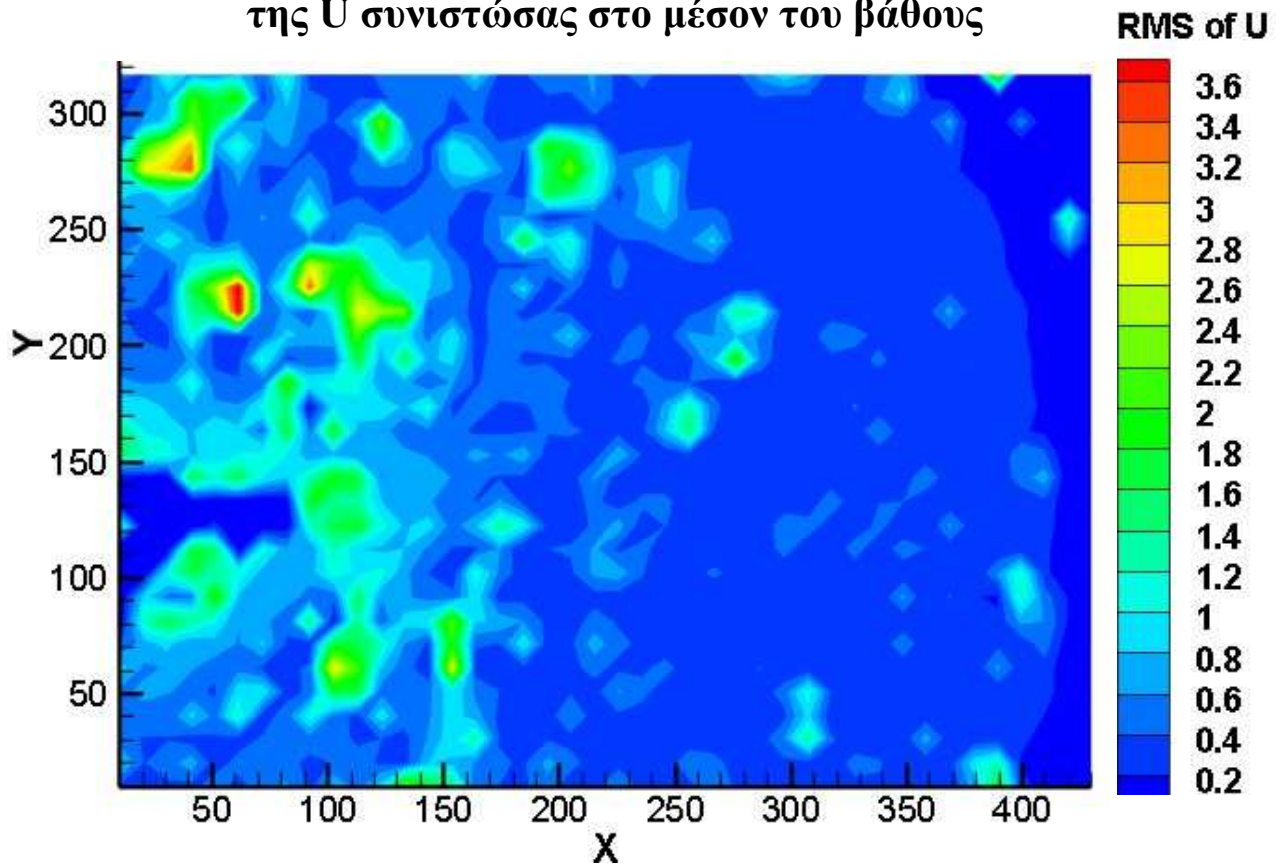
Διάγραμμα 31: Πρώτη U-turn ,τέλος στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



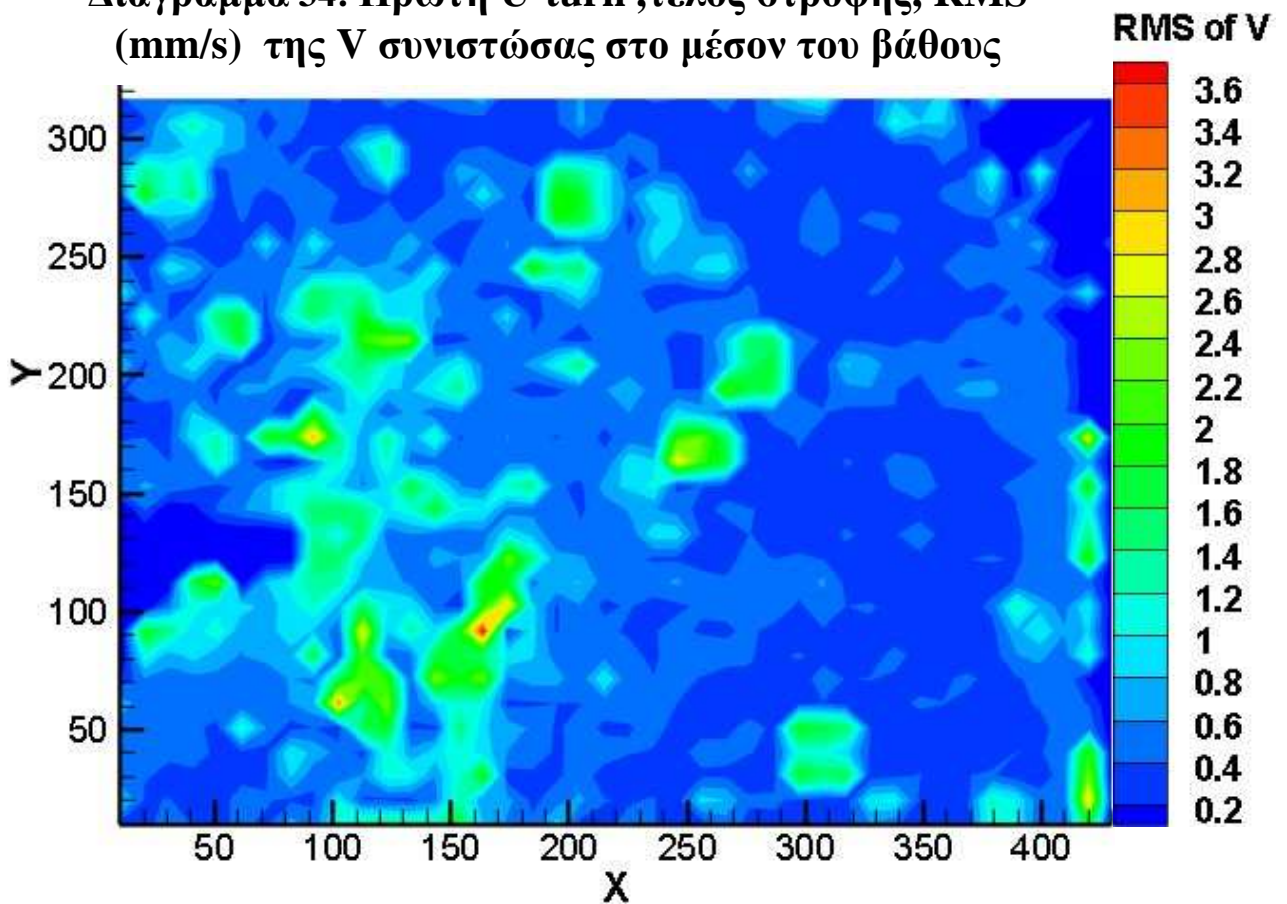
Διάγραμμα 32: Πρώτη U-turn ,τέλος στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



**Διάγραμμα 33: Πρώτη U-turn ,τέλος στροφής, RMS (mm/s)
της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους**

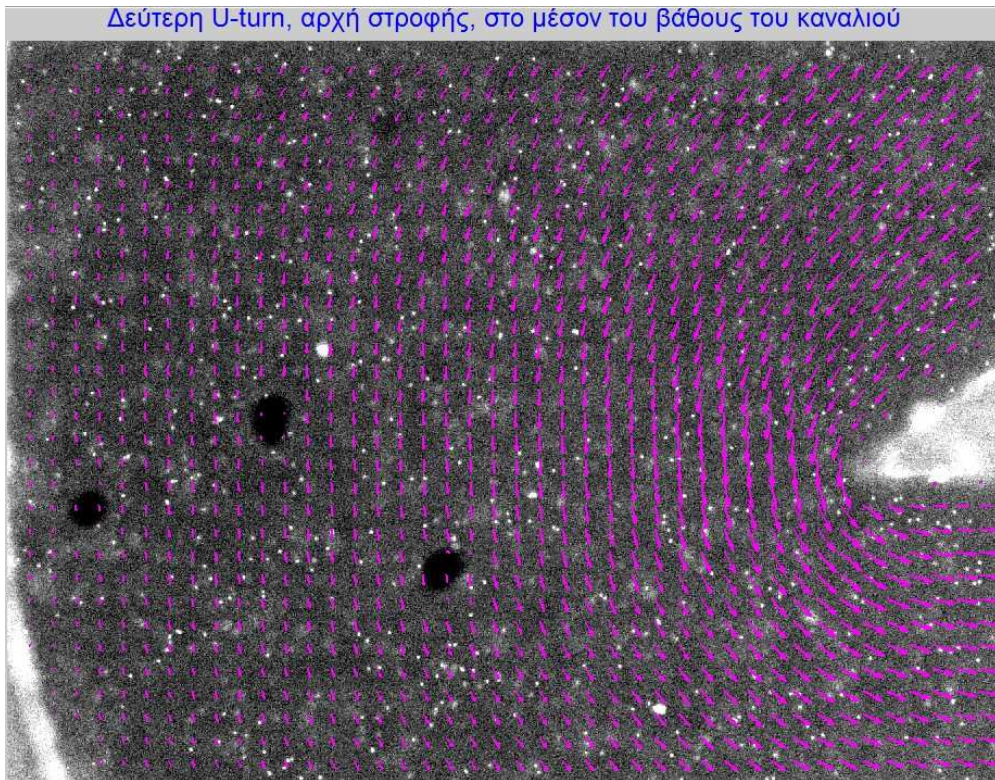


**Διάγραμμα 34: Πρώτη U-turn ,τέλος στροφής, RMS
(mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους**

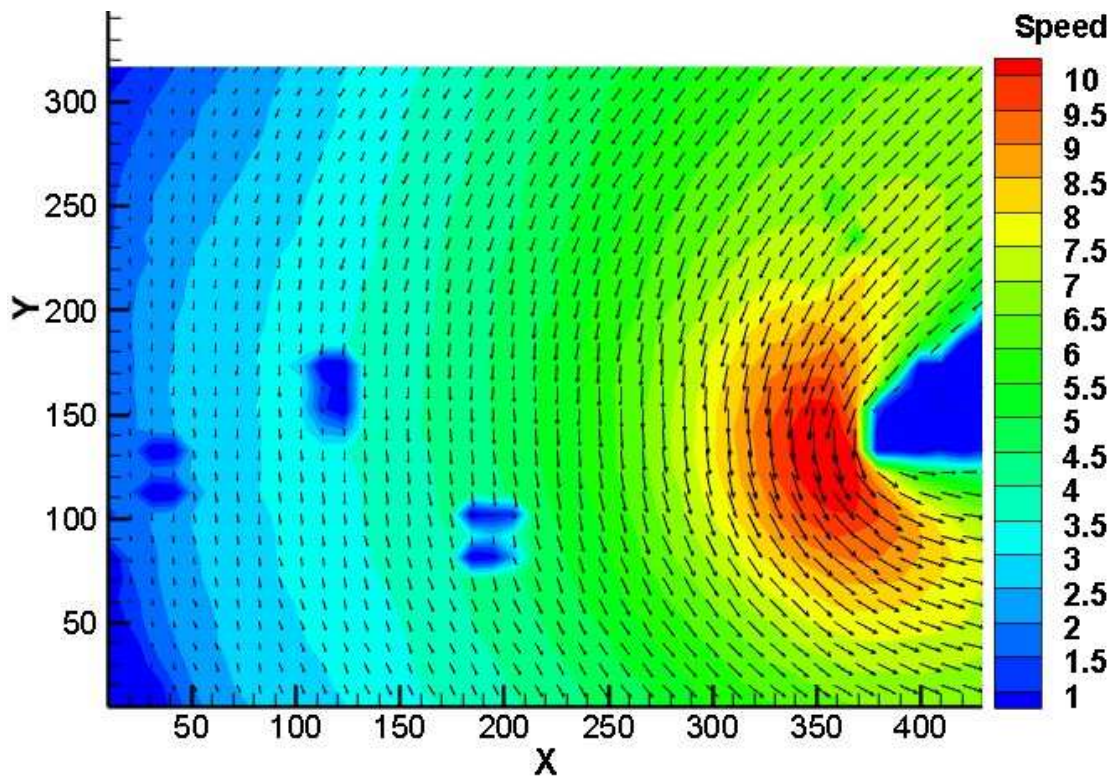


4.2.3.7 Θέση 7 – Δεύτερη U-turn ,αρχή στροφής

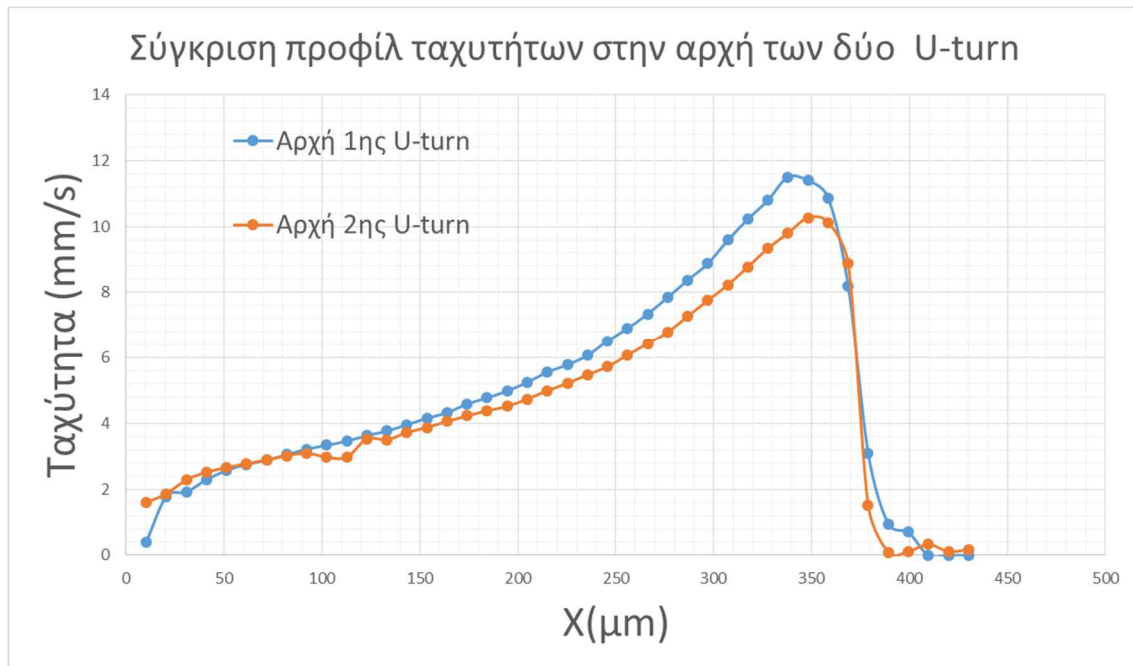
Εικόνα 4.9



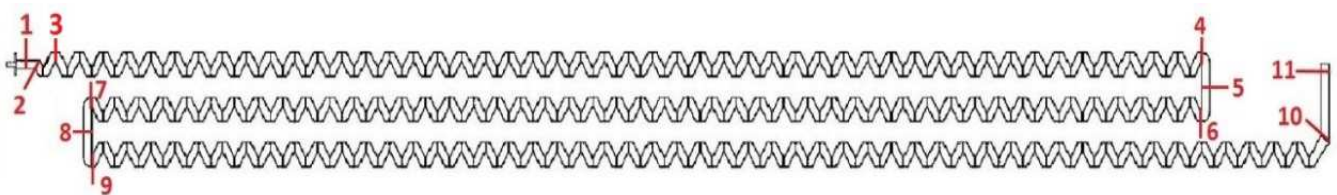
Διάγραμμα 35: Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



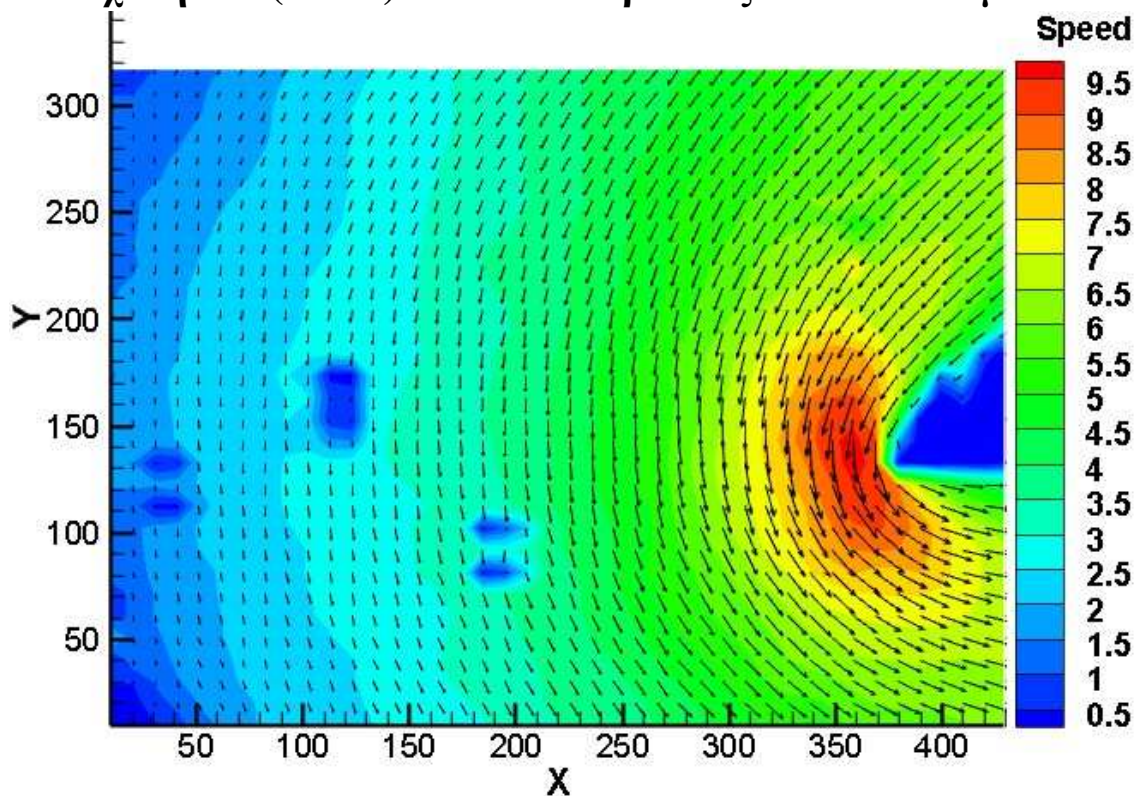
Διάγραμμα 36



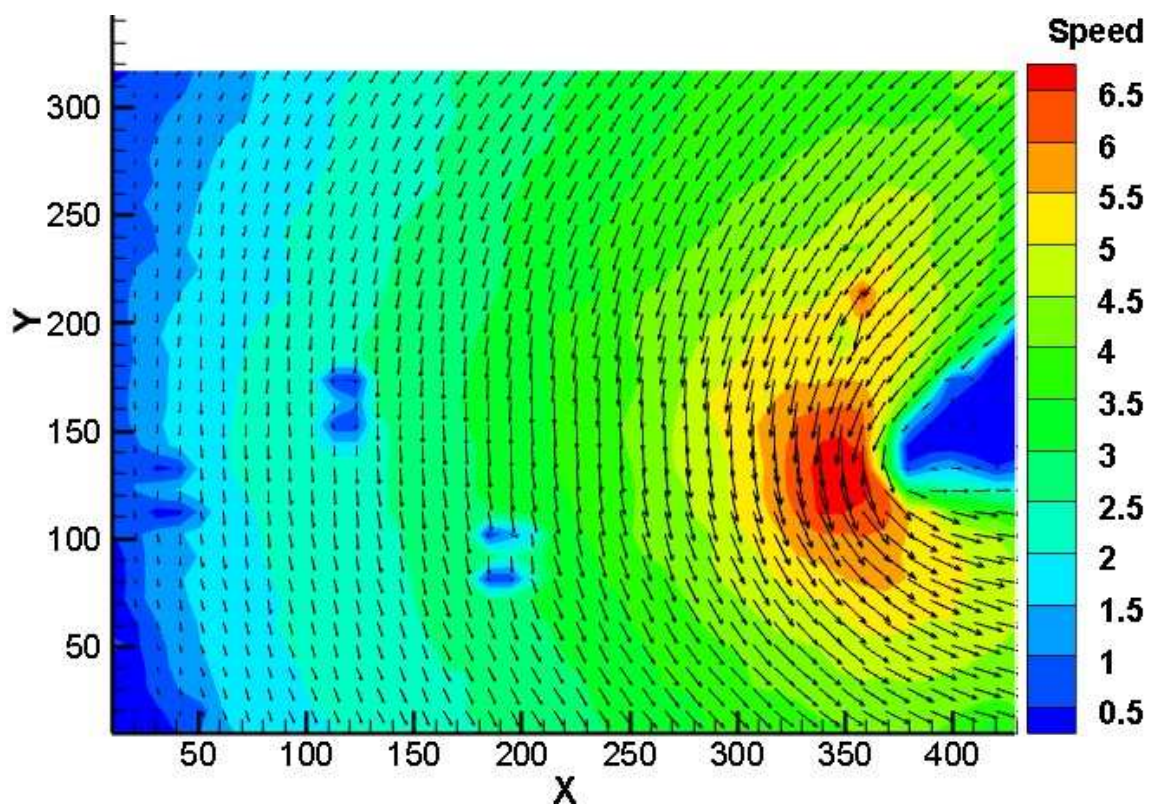
Για να δούμε κατά πόσο μεταβάλλεται η ροή κατά μήκος του αναμίκτη, έγινε το παραπάνω διάγραμμα σε δύο ‘αντίστοιχες’ θέσεις, δηλαδή στην αρχή της πρώτης U-turn (Θέση 4 στο ακόλουθο σχήμα) και στην αρχή της δεύτερης (Θέση 7 στο παρακάτω σχήμα). Φαίνεται ότι δεν υπάρχει ιδιαίτερη μεταβολή της ροής μεταξύ των δύο θέσεων.



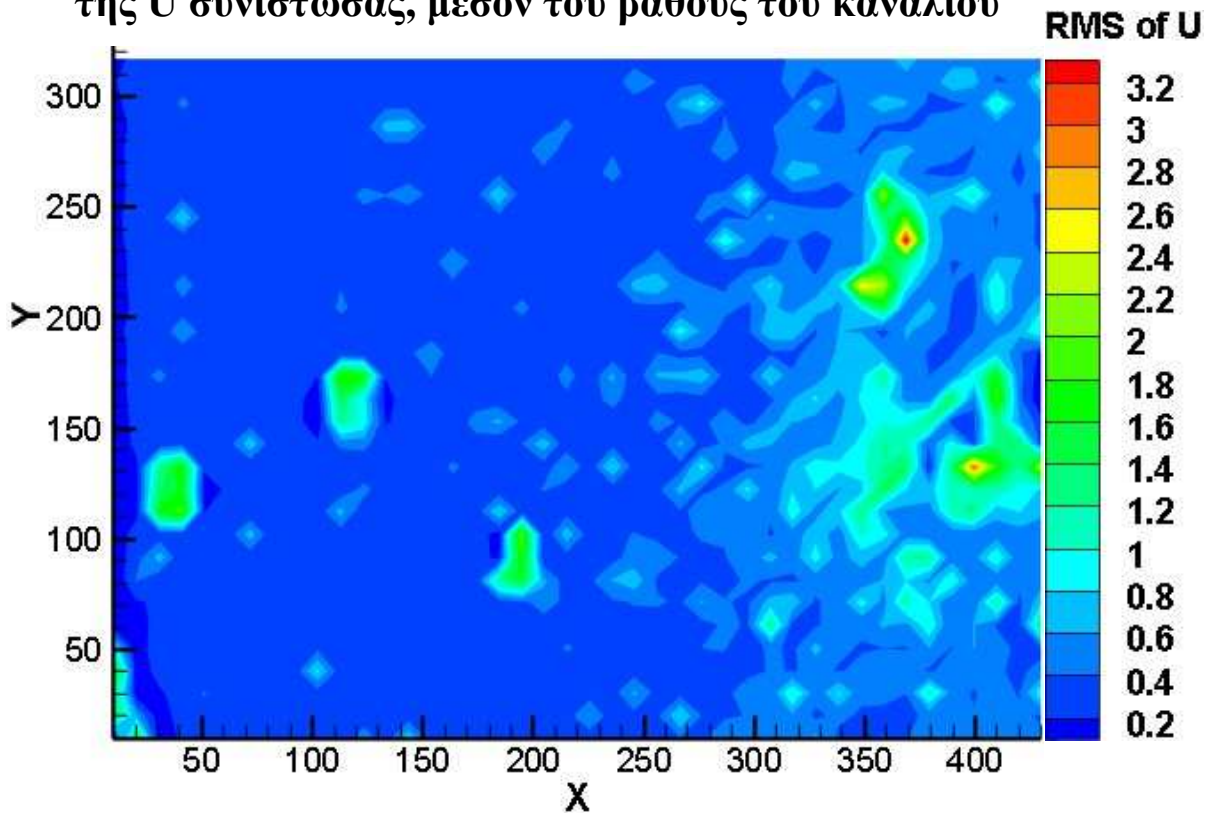
Διάγραμμα 37: Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



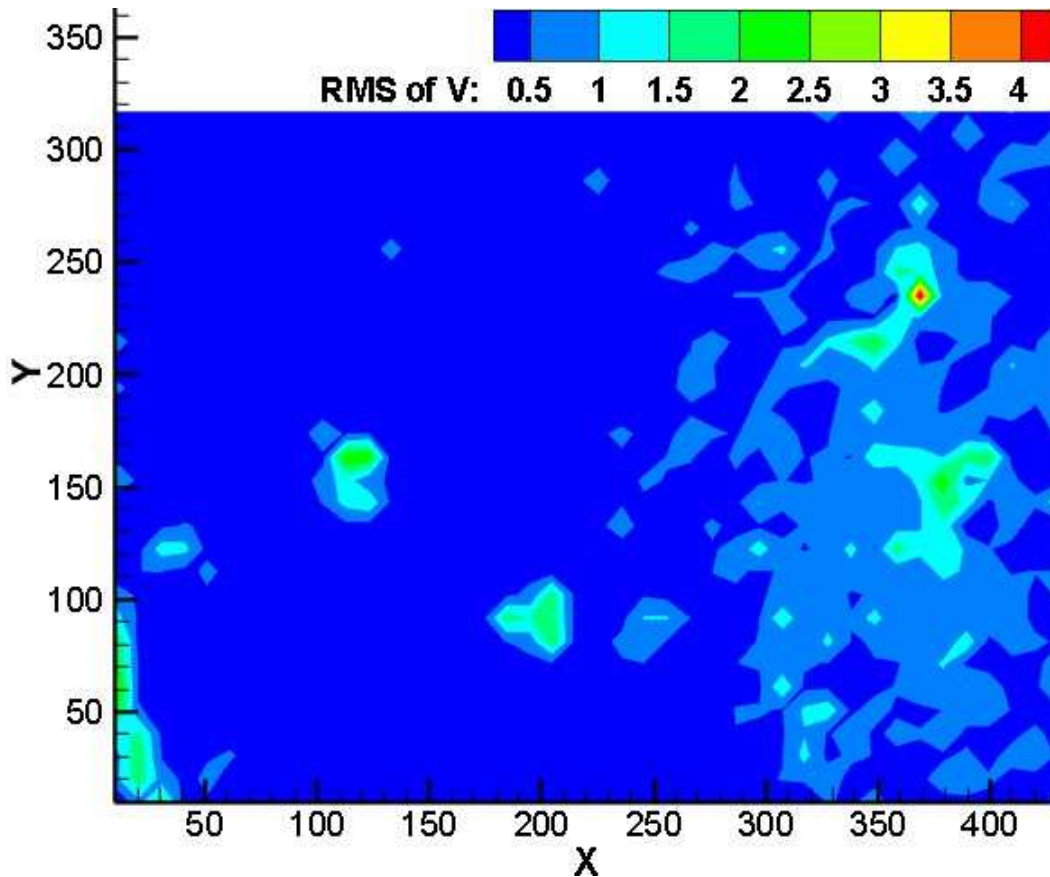
Διάγραμμα 38: Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



Διάγραμμα 39: Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, RMS (mm/s) της U συνιστώσας, μέσον του βάθους του καναλιού

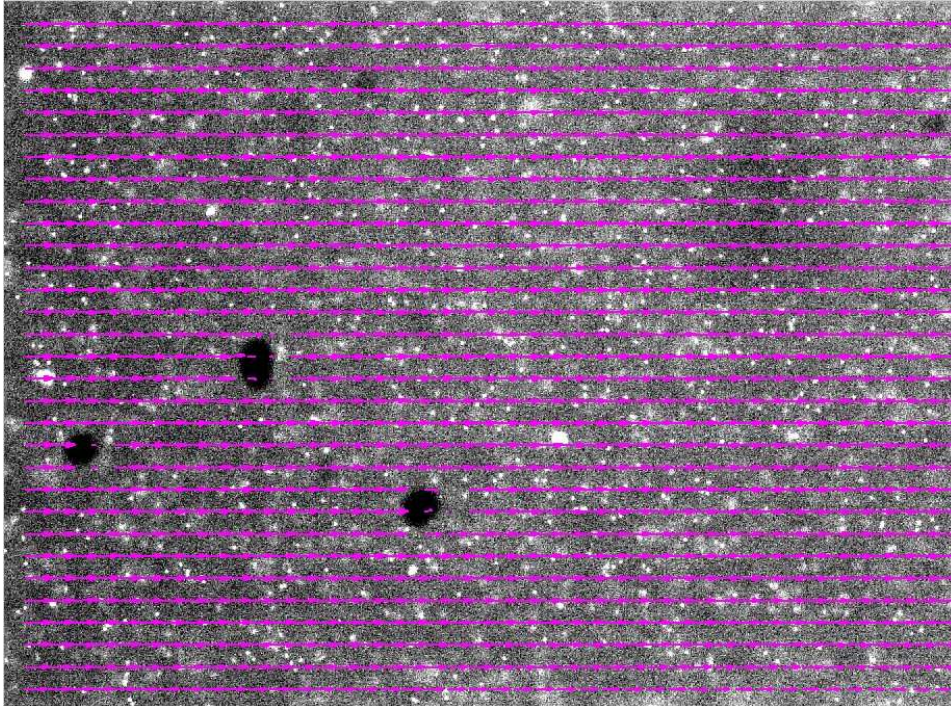


Διάγραμμα 40: Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, RMS (mm/s) της V συνιστώσας, μέσον του βάθους του καναλιού

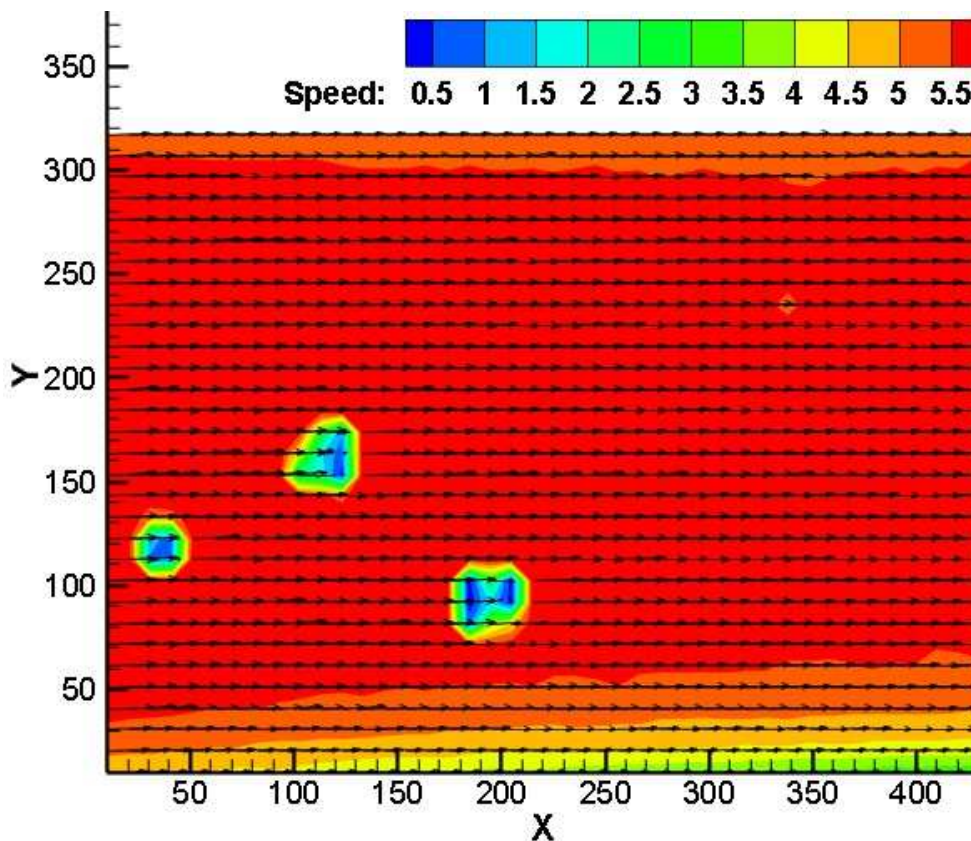


4.2.3.8 Θέση 8 – Δεύτερη U-turn, στο μέσον της στροφής

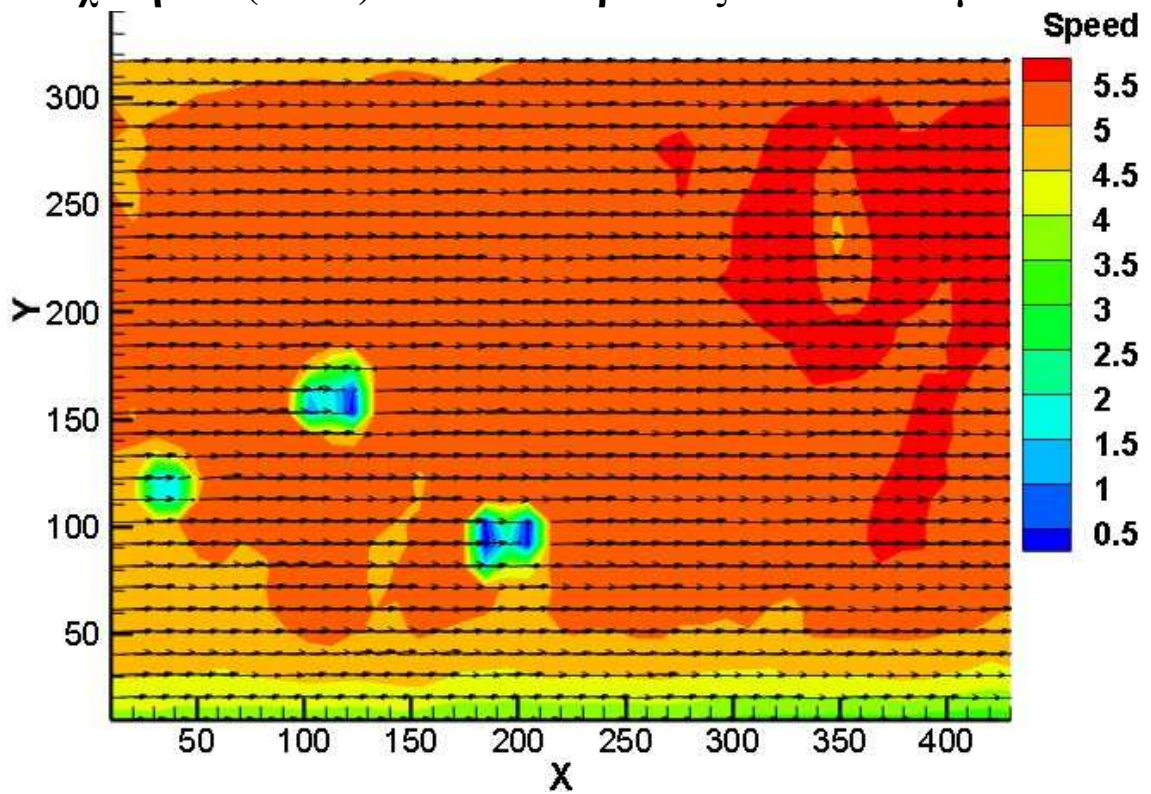
Εικόνα 4.10



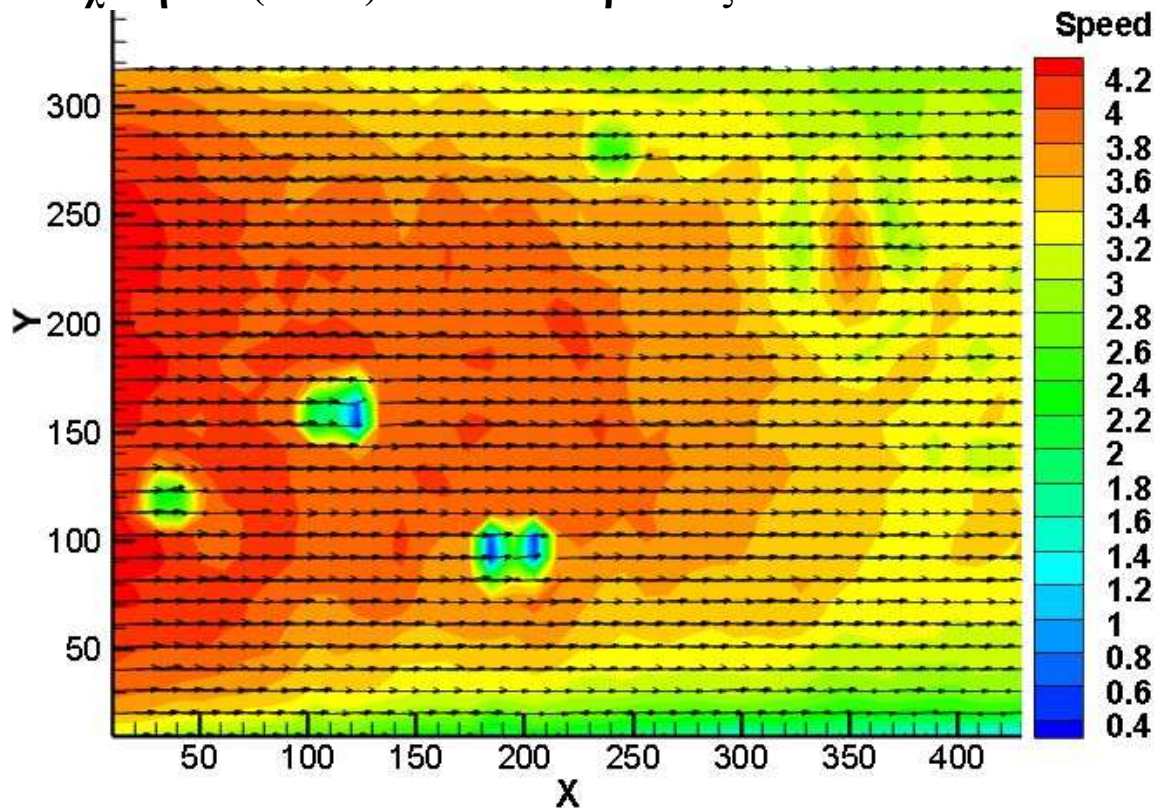
Διάγραμμα 41: Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



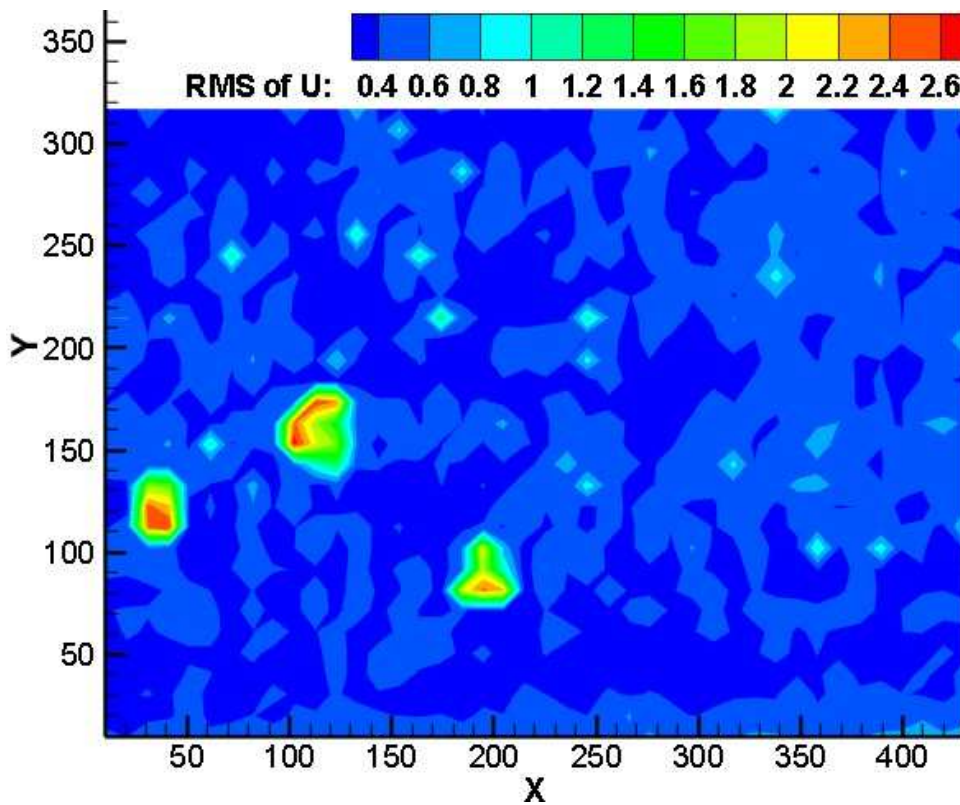
Διάγραμμα 42: Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



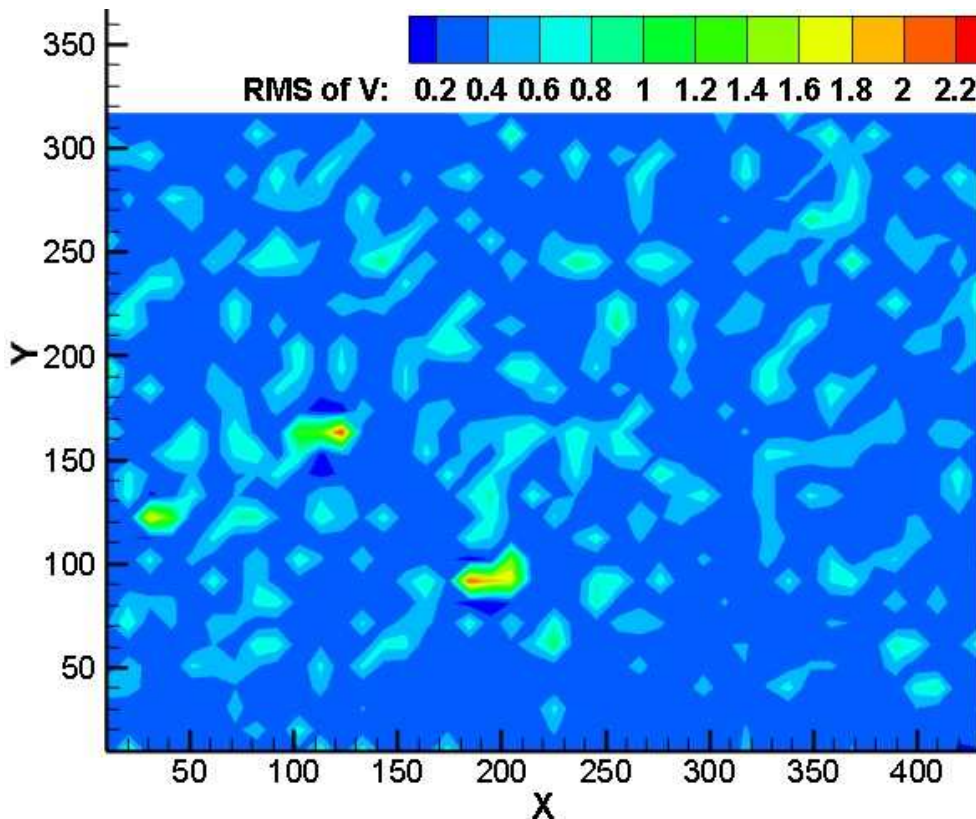
Διάγραμμα 43: Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



Διάγραμμα 44: Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, RMS (mm/s) της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους



Διάγραμμα 45: Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, RMS (mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους



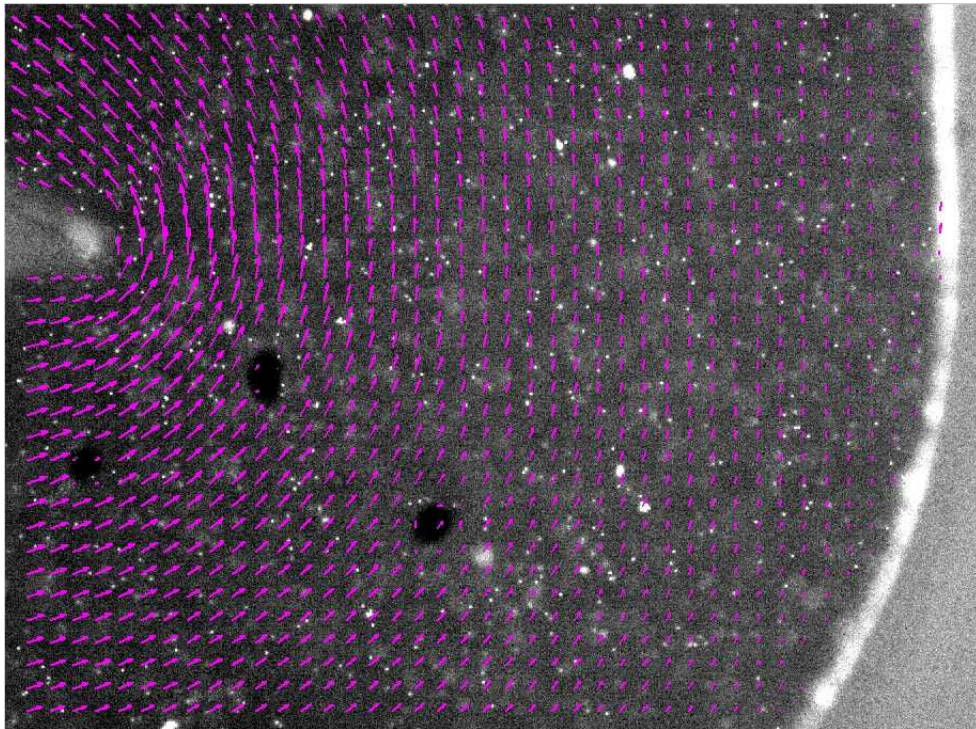
Διάγραμμα 46



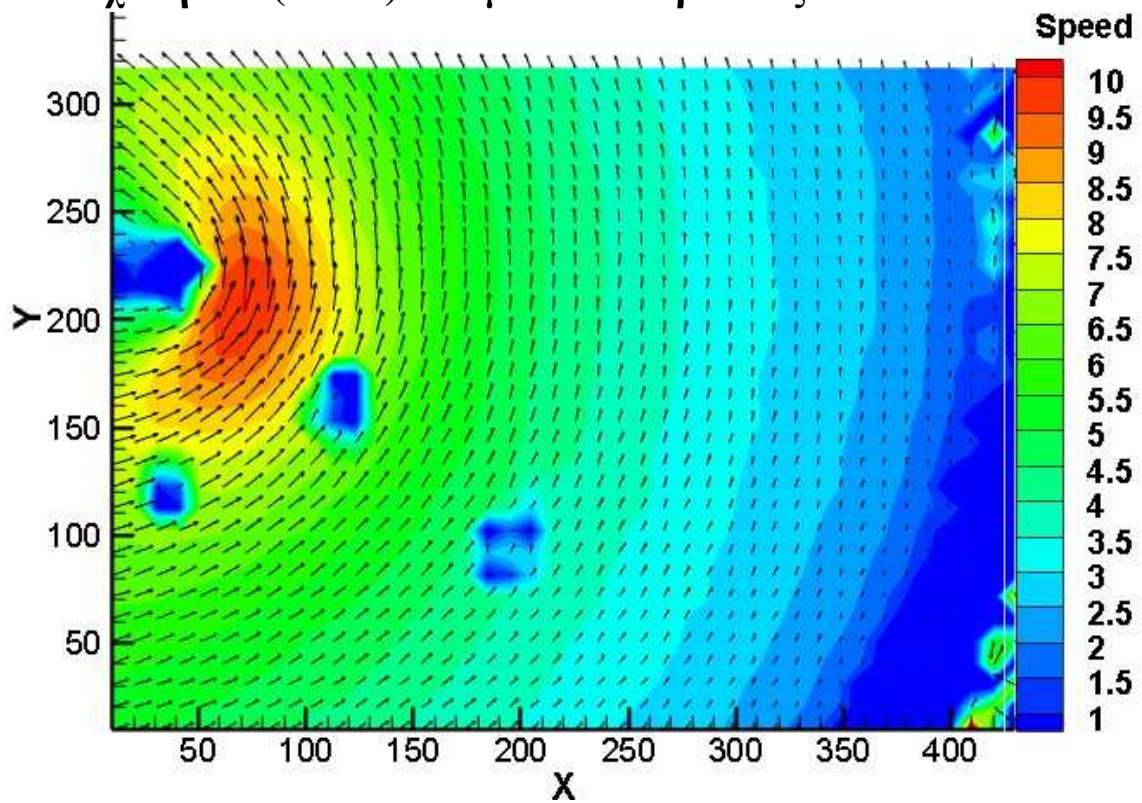
Το προφίλ ταχυτήτων στο μέσον της δεύτερης U-turn, σε σχέση με αυτό της εισόδου είναι σχεδόν όμοιο.

4.2.3.9 Θέση 9 – Δεύτερη U-turn ,τέλος στροφής

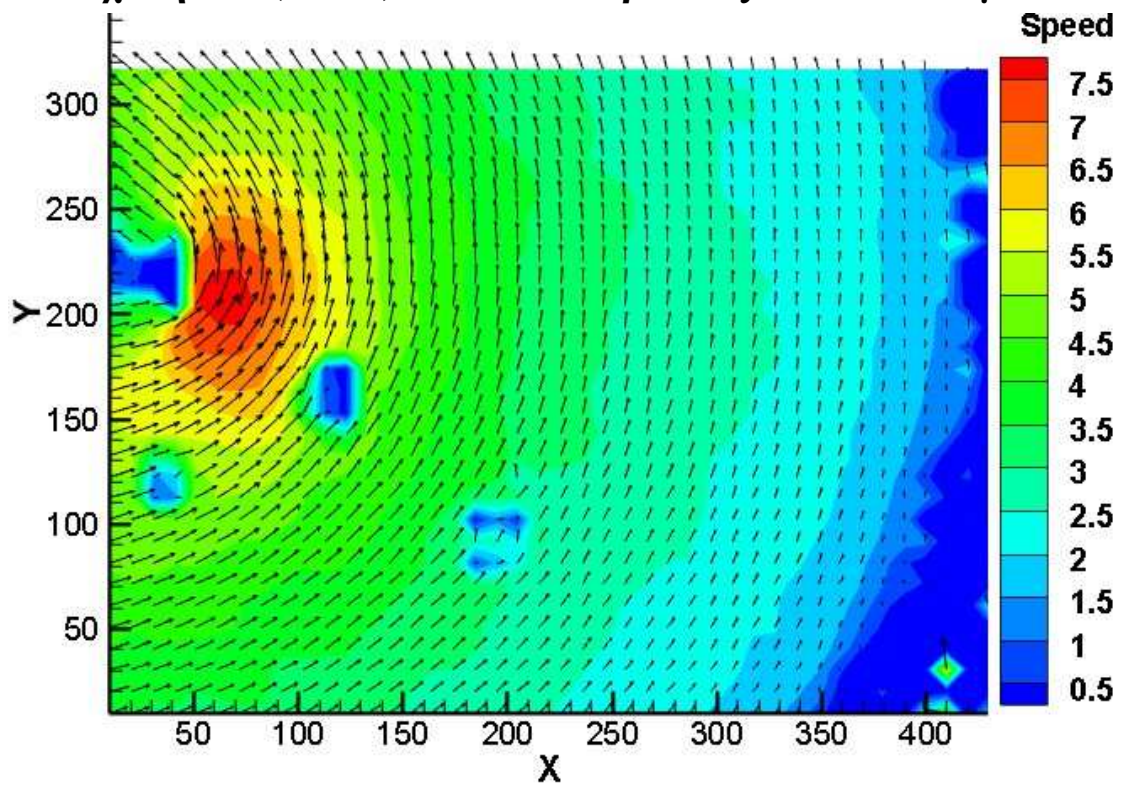
Εικόνα 4.11



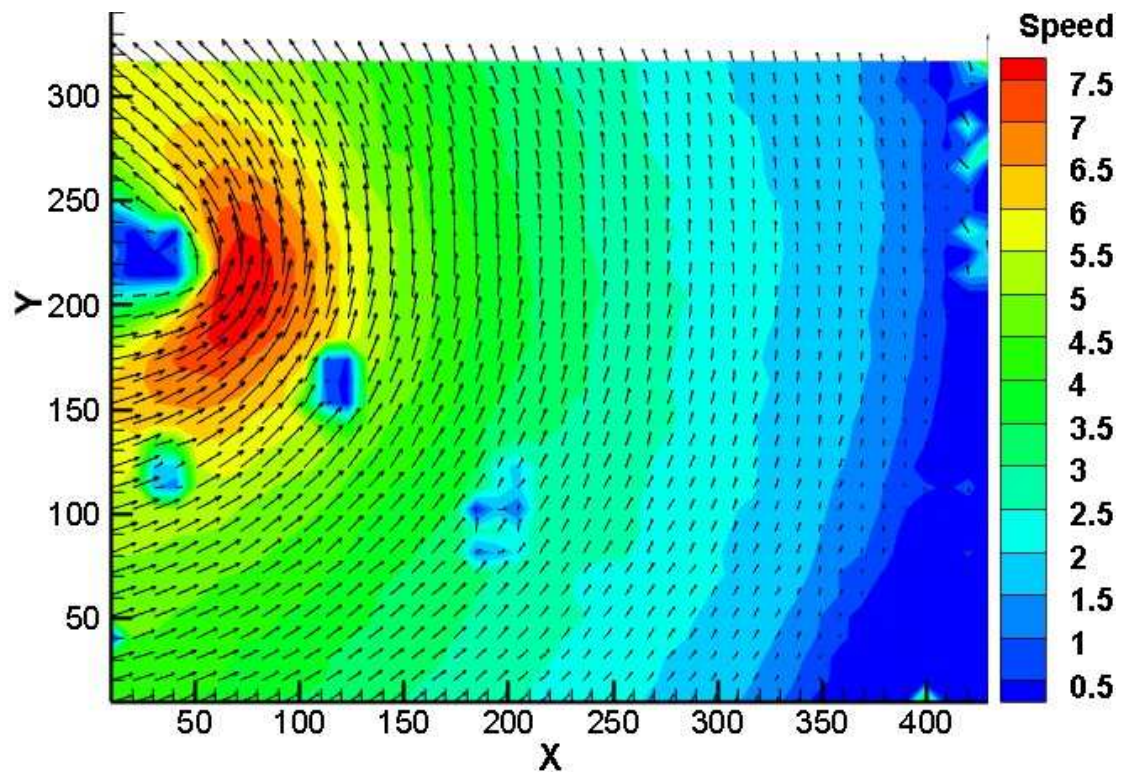
Διάγραμμα 47: Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



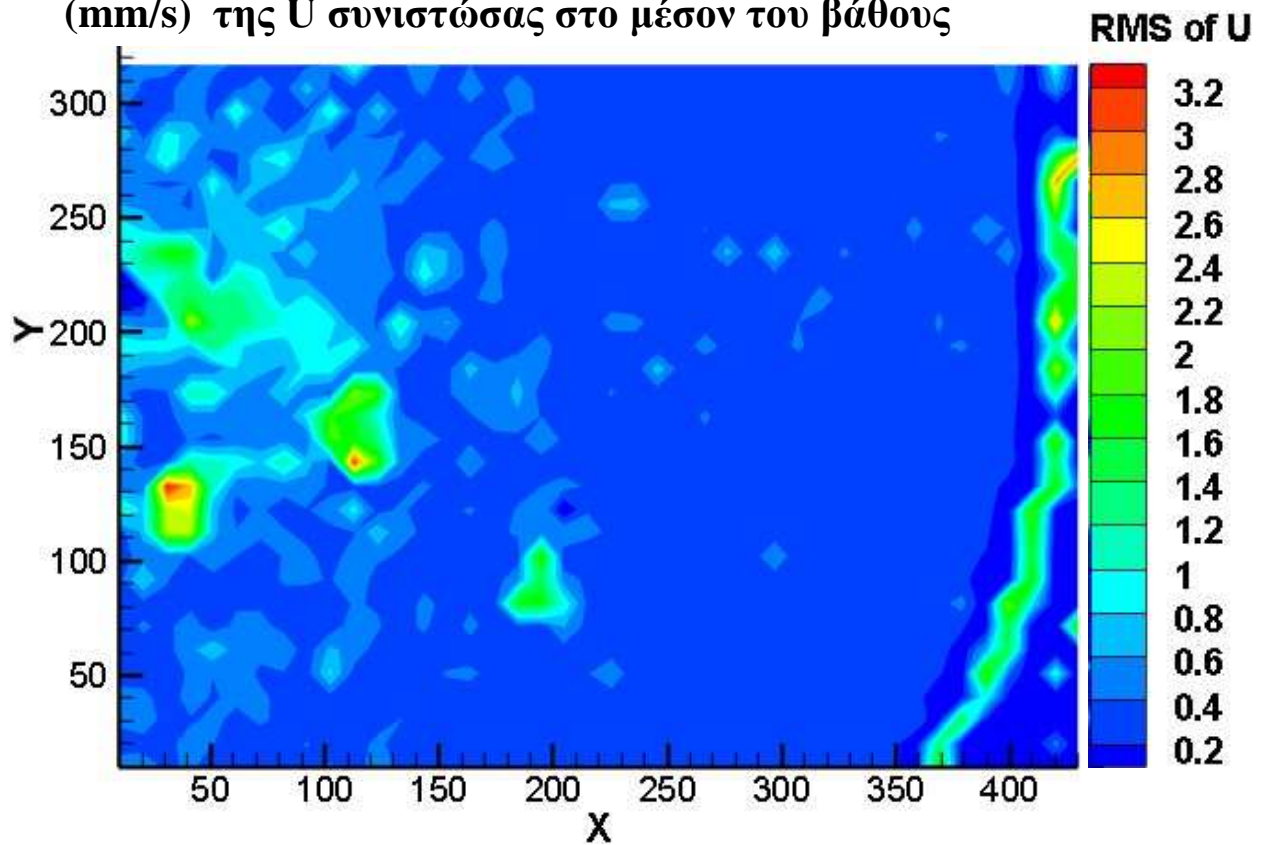
Διάγραμμα 48: Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



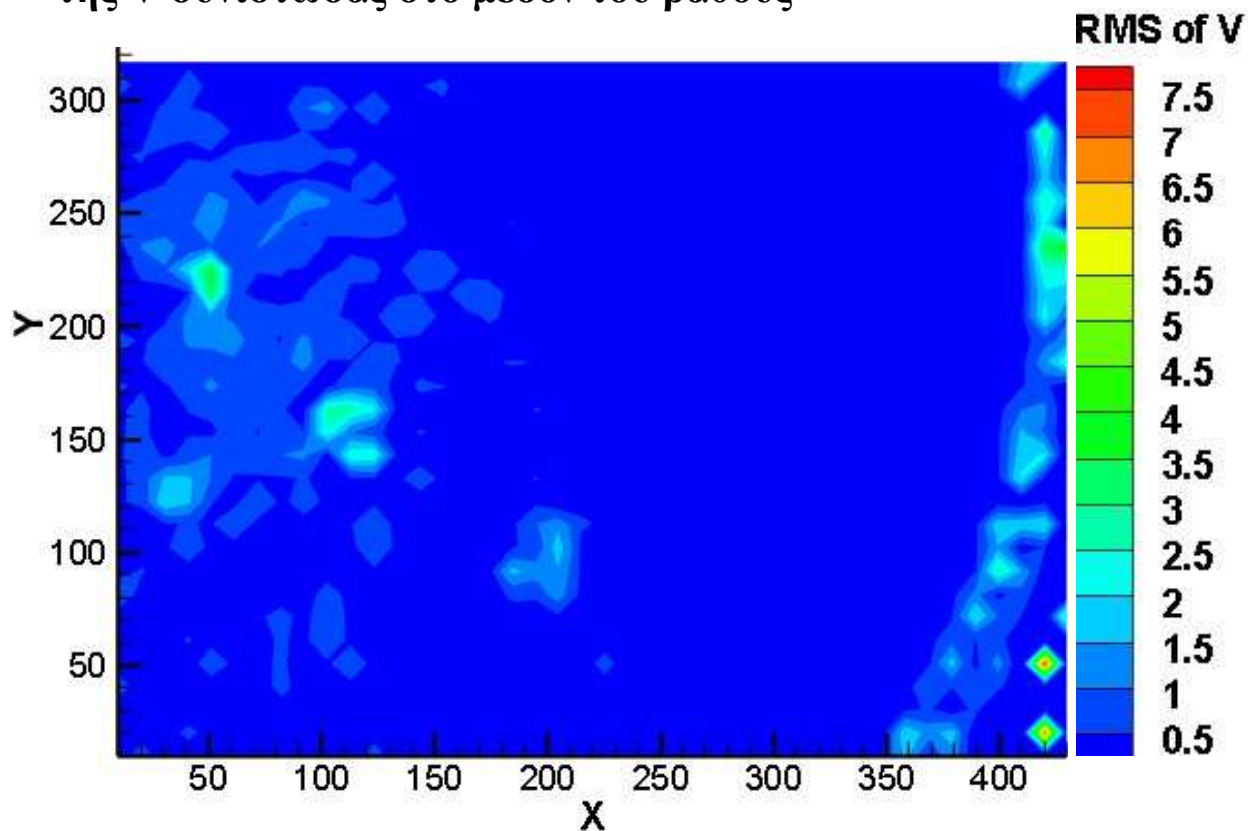
Διάγραμμα 49: Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



Διάγραμμα 50: Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, RMS (mm/s) της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους

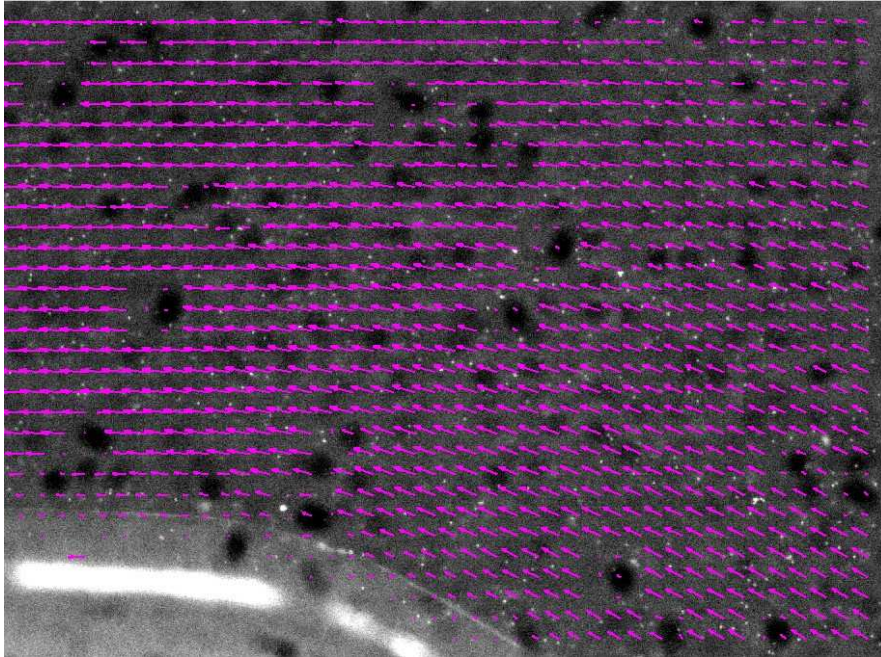


Διάγραμμα 51: Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, RMS (mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους

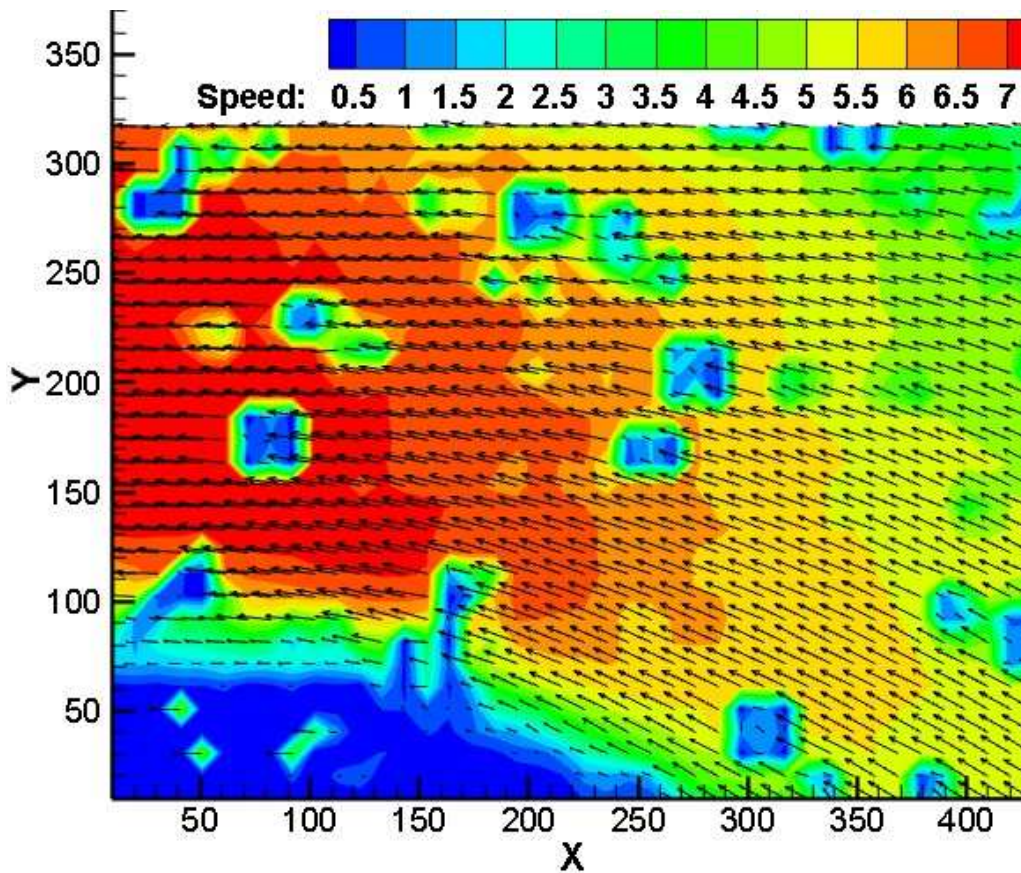


4.2.3.10 Θέση 10 – Τελευταία στροφή, πριν την έξοδο

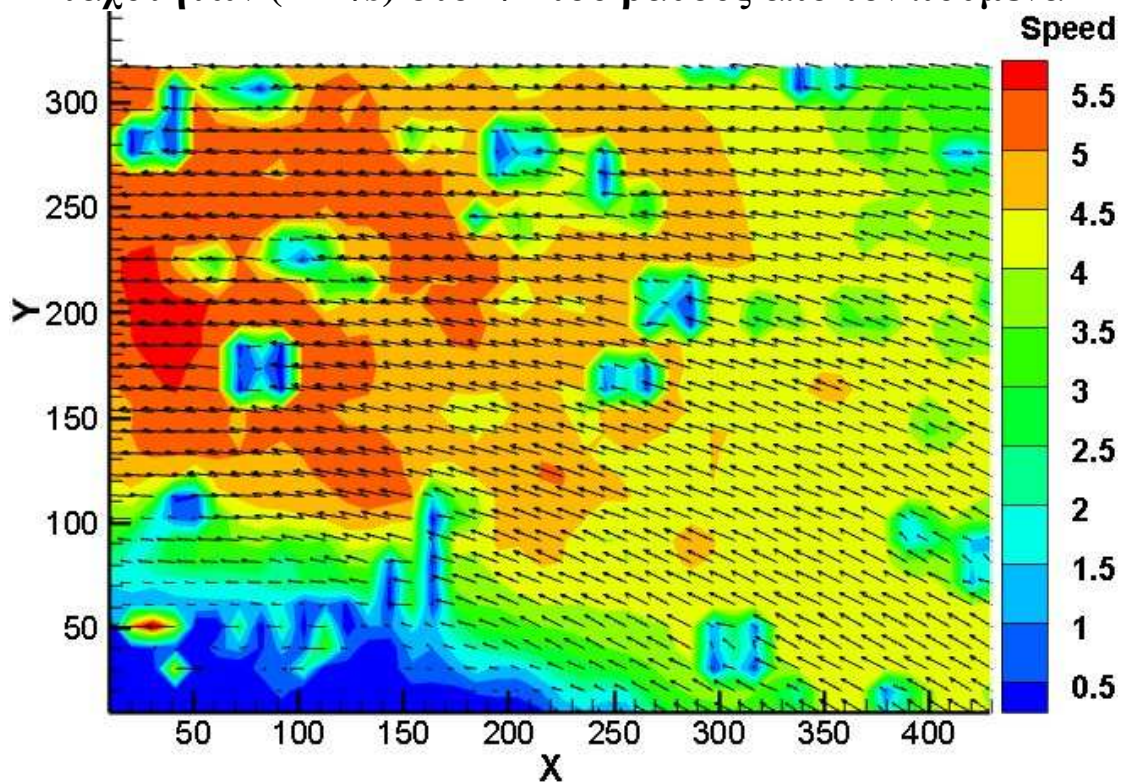
Εικόνα 4.12



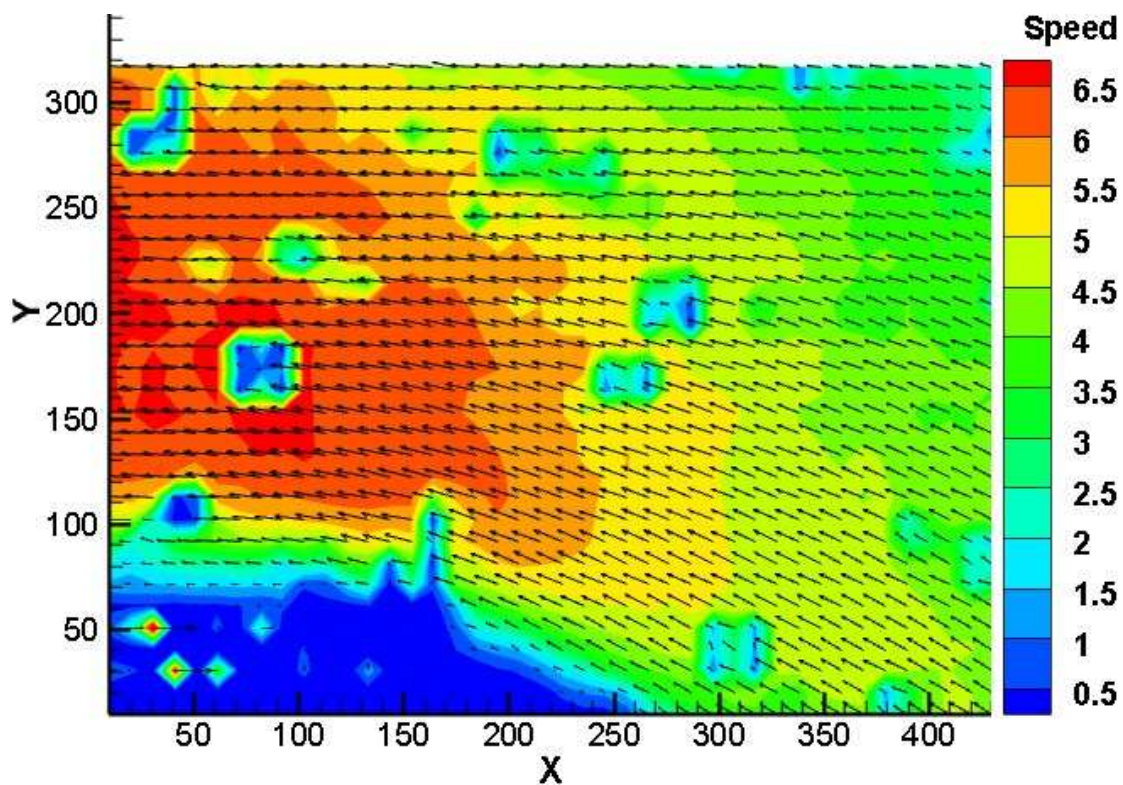
Διάγραμμα 52: Τελευταία στροφή καναλιού πριν την έξοδο, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



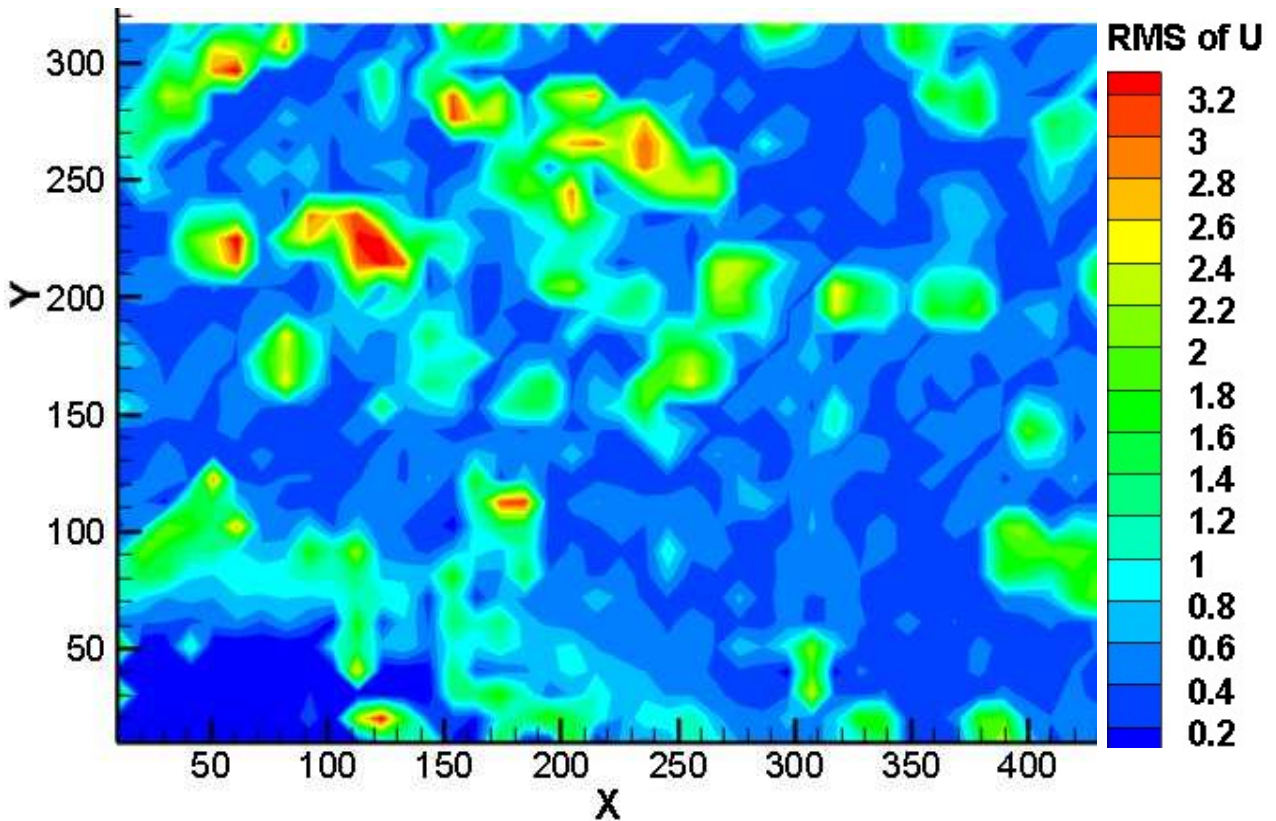
Διάγραμμα 53: Τελευταία στροφή πριν την έξοδο, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα



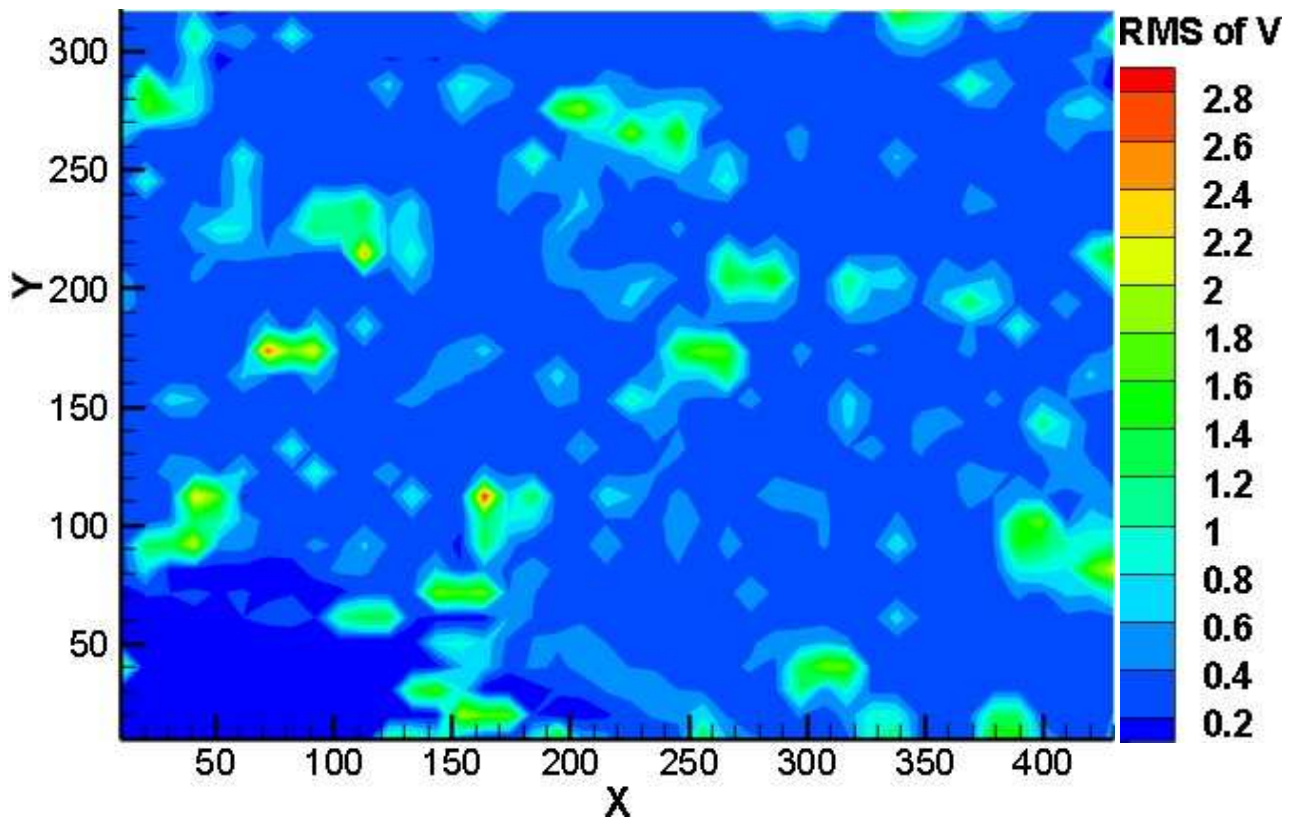
Διάγραμμα 54: Τελευταία στροφή πριν την έξοδο, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination



Διάγραμμα 55: Τελευταία στροφή πριν την έξοδο, RMS (mm/s) της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους

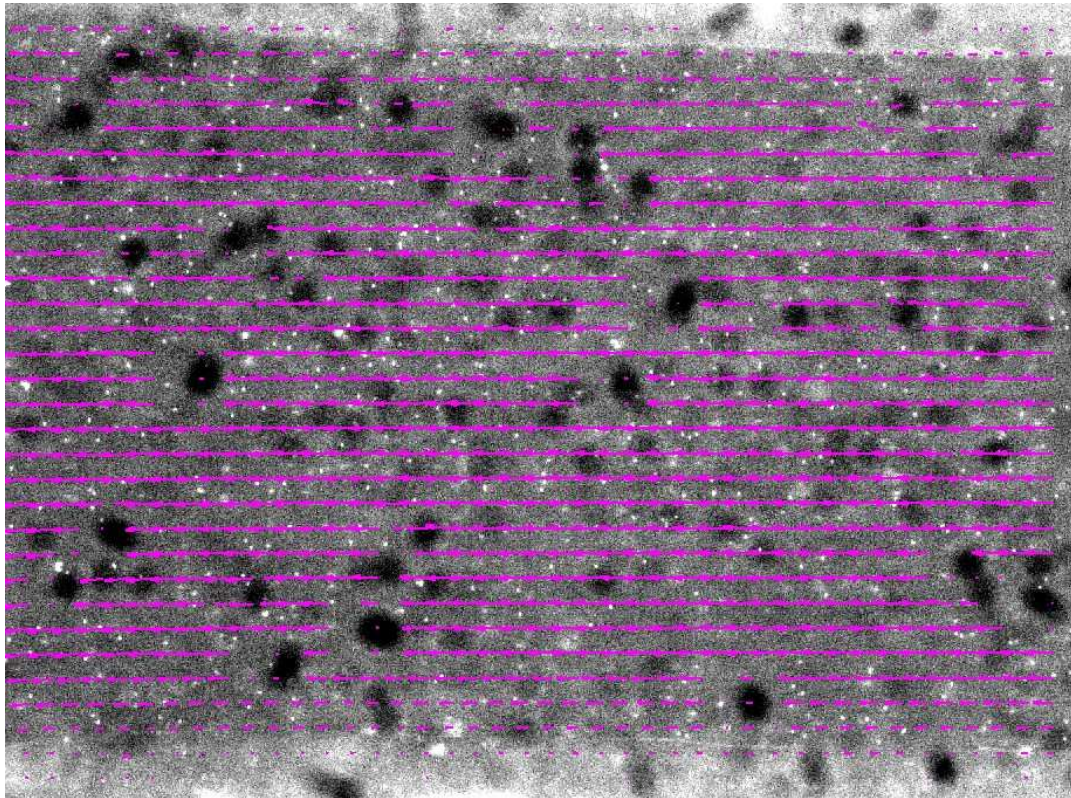


Διάγραμμα 56: Τελευταία στροφή πριν την έξοδο, RMS (mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους

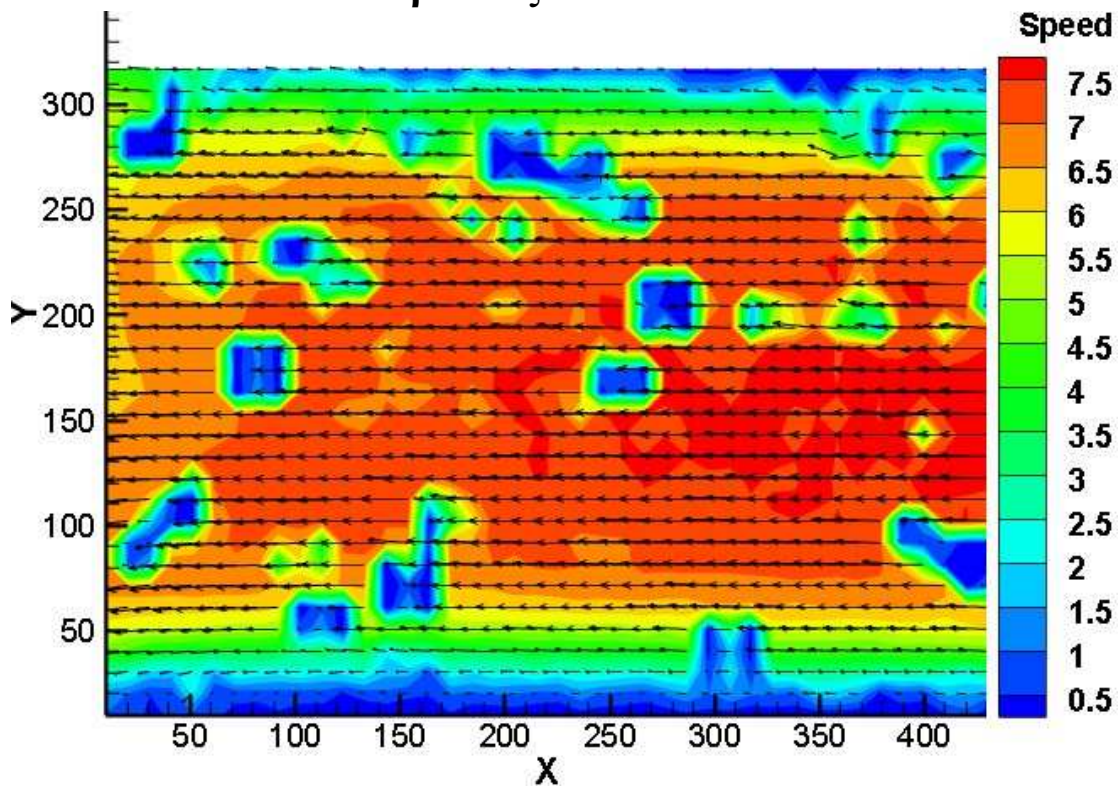


4.2.3.11 Θέση 11 – Έξοδος του μικροαναμίκτη

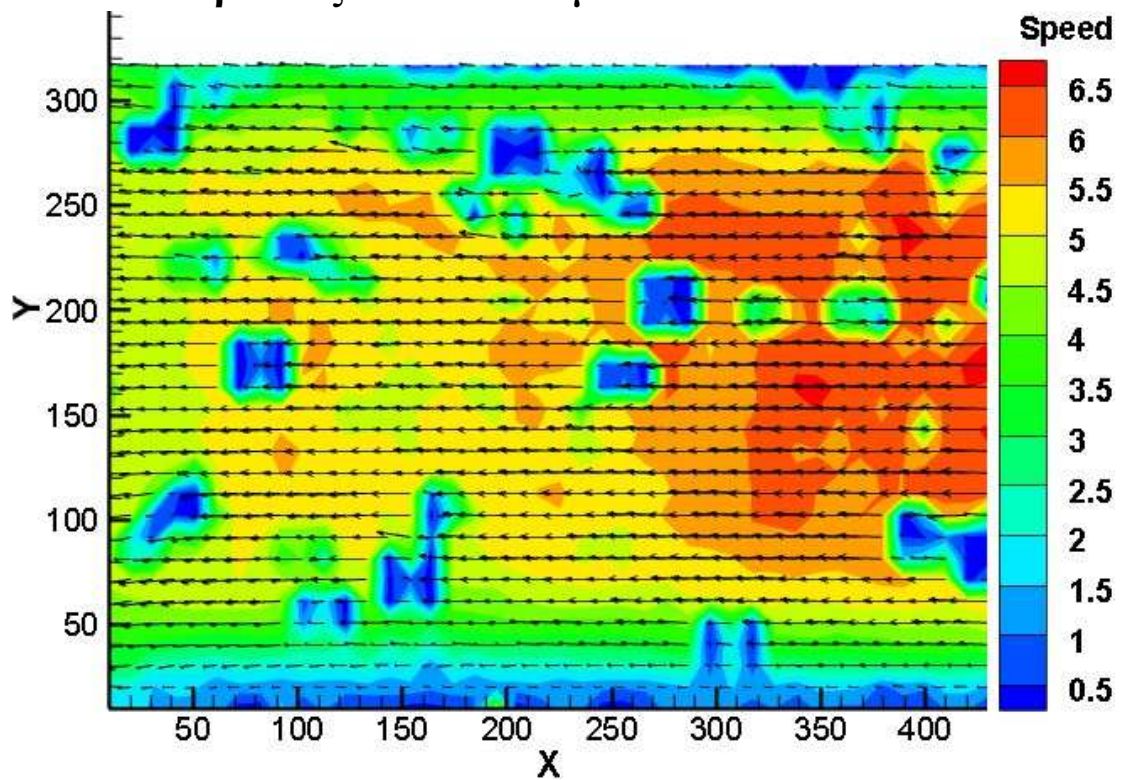
Εικόνα 4.13



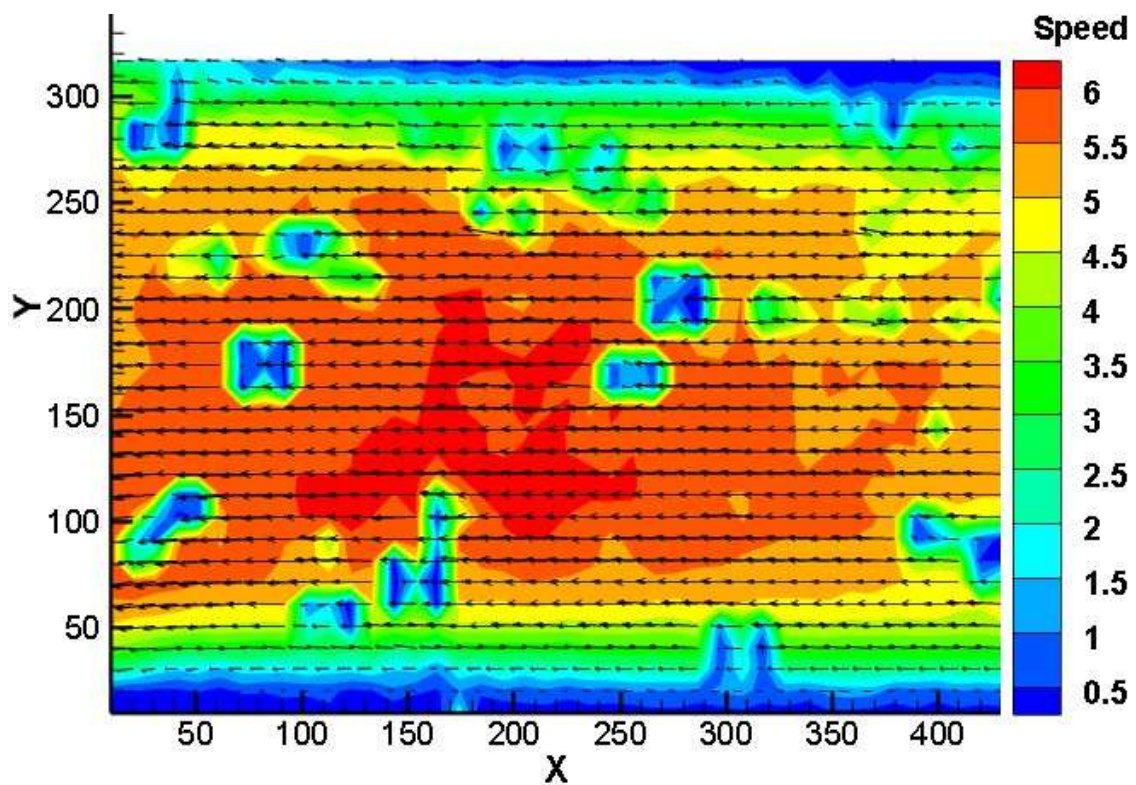
Διάγραμμα 57: Έξοδος, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο μέσον του βάθους του καναλιού



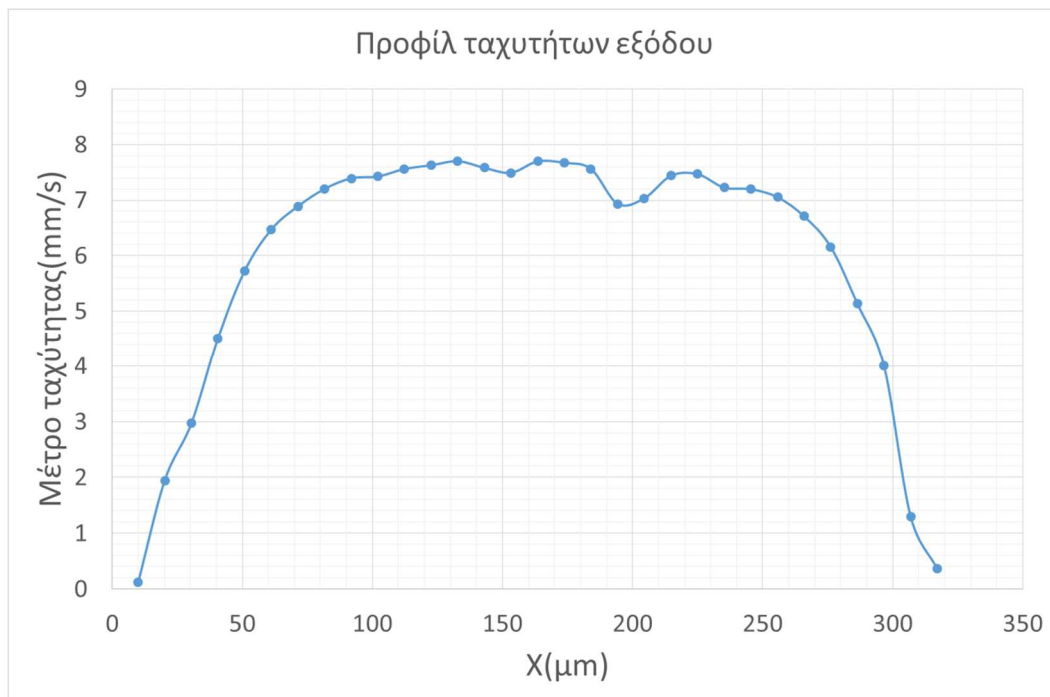
Διάγραμμα 58: Έξοδος, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από τον πυθμένα του καναλιού



Διάγραμμα 59: Έξοδος, πεδίο ταχυτήτων (mm/s) στο 1/4 του βάθους από το Lamination του καναλιού

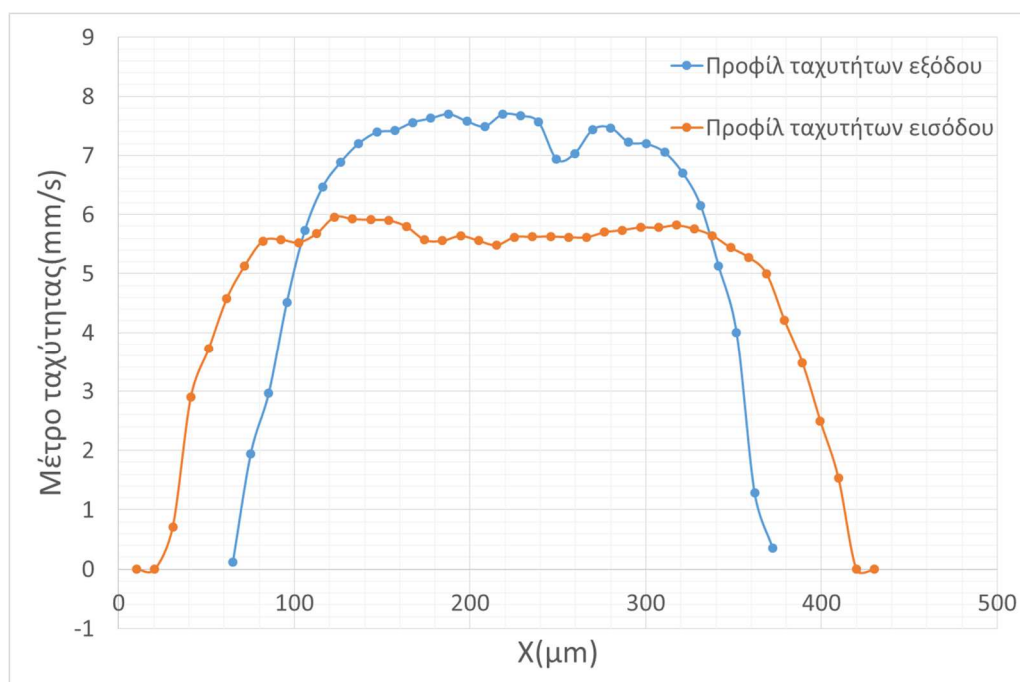


Διάγραμμα 60

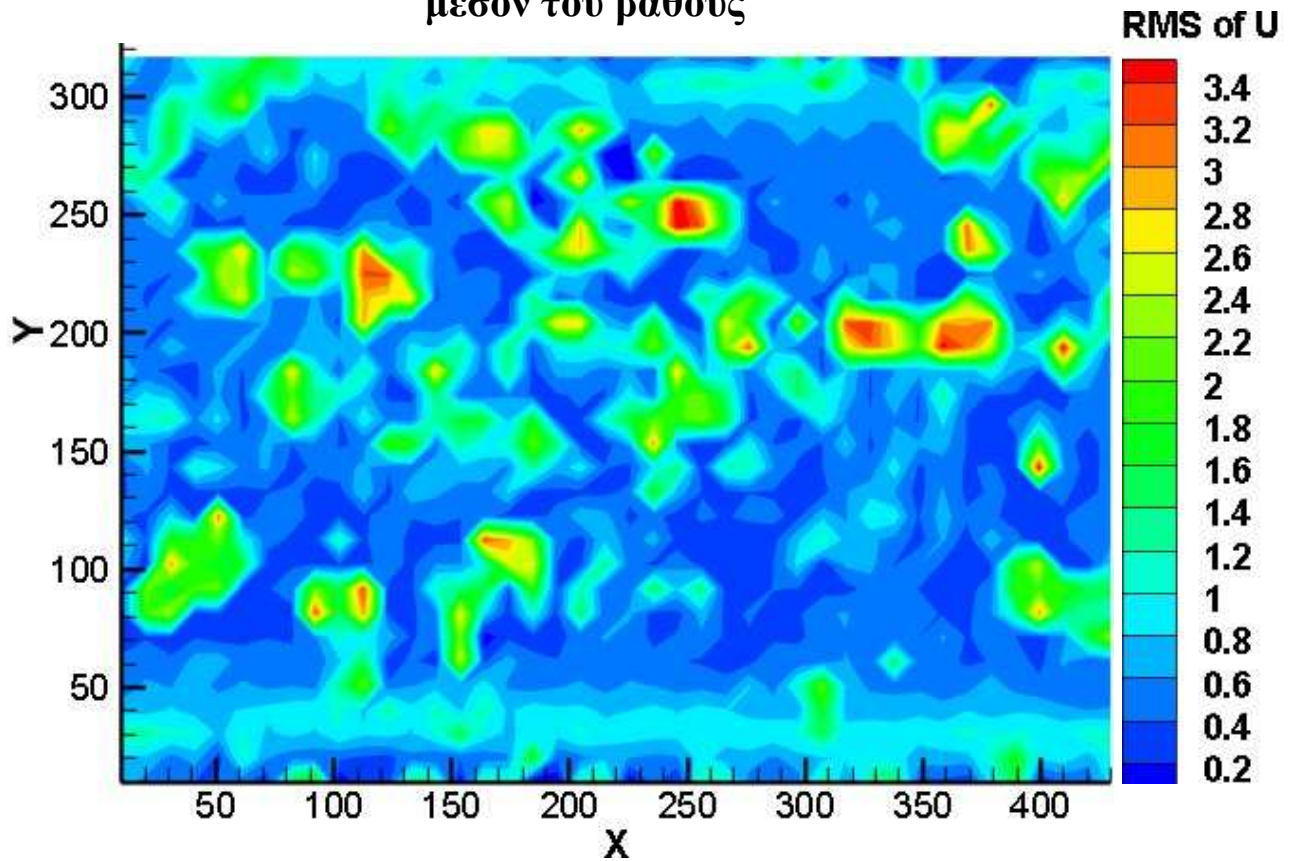


Παρατηρούμε μια στένωση της διατομής περίπου 90 μm , η οποία οδηγεί σε αύξηση ταχυτήτων σε αυτήν την θέση σε σχέση με το προφίλ ταχυτήτων που παρατηρήθηκε στην είσοδο, και το οποίο είχε μέγιστη τιμή τα 6mm/s. Αντίστοιχα, το προφίλ εξόδου, λόγω της μείωσης της διατομής παρουσιάζει μέγιστη ταχύτητα κοντά στα 7,8mm/s.

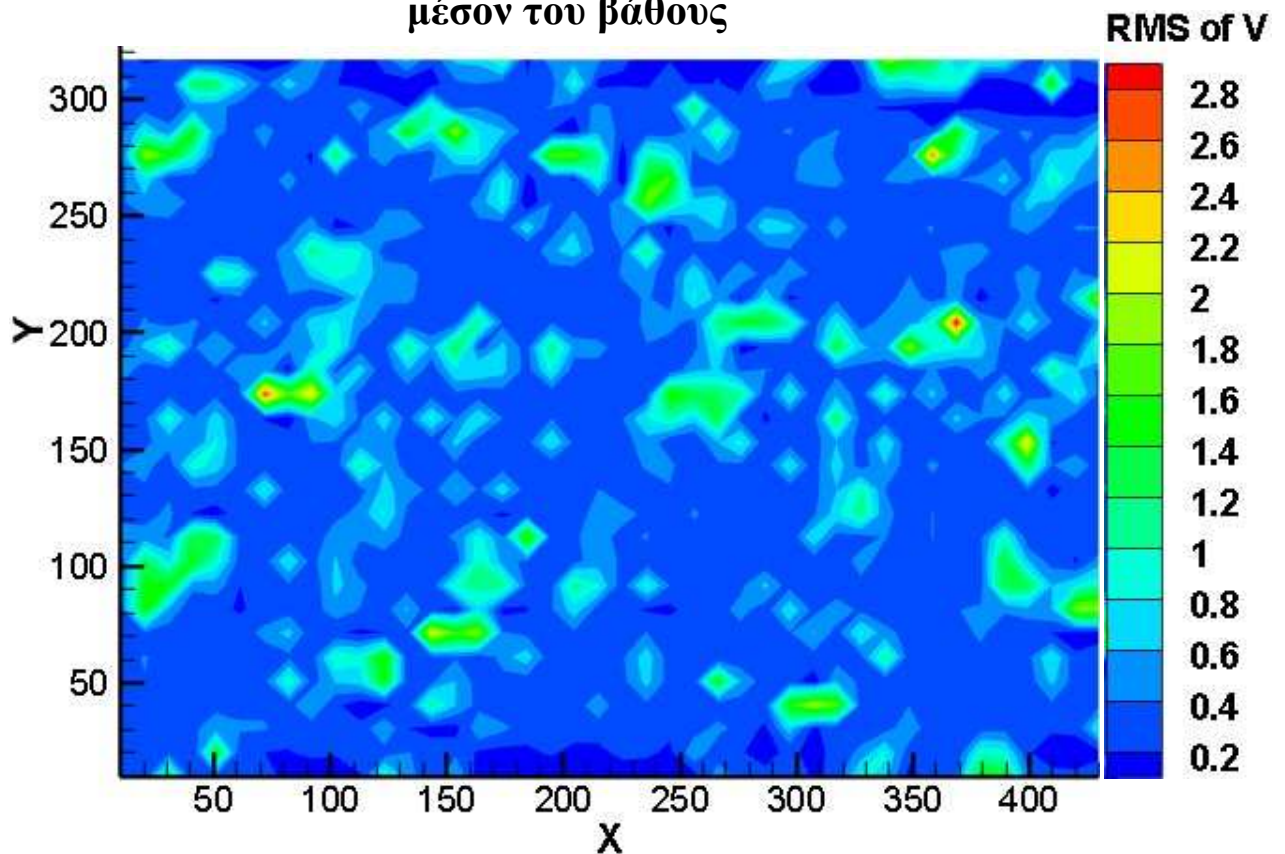
Διάγραμμα 61



Διάγραμμα 62: Έξοδος, RMS (mm/s) της U συνιστώσας στο μέσον του βάθους



Διάγραμμα 63: Έξοδος, RMS (mm/s) της V συνιστώσας στο μέσον του βάθους



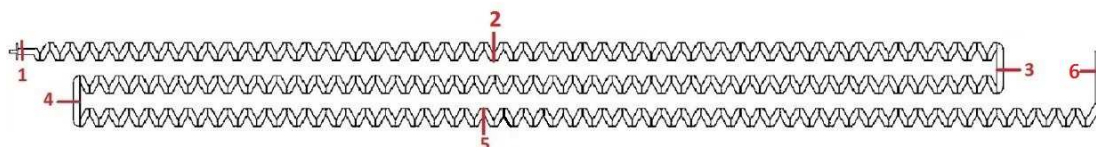
4.3 Μέτρηση συγκεντρώσεων

4.3.1 Στόχος και περιγραφή πειράματος

Κατά την μέτρηση του πεδίου ταχυτήτων εντός του μικροαναμίκτη με micro-PIV εισήγαμε σωματίδια και από τις δύο εισόδους του αναμίκτη ώστε να έχουμε μια οπτικοποίηση και μέτρηση της ταχύτητας της ροής σε όλο το εύρος του καναλιού. Κατά το δεύτερο μέρος του πειράματος, θέλαμε να μελετήσουμε την αποτελεσματικότητα της ανάμιξης στον αναμίκτη. Για αυτόν τον λόγο, τα σωματίδια μαζί με απιονισμένο νερό εισήχθησαν από την μια μόνο είσοδο του αναμίκτη σε αναλογία 100μL σωματιδίων προς 10mL νερό, ενώ η άλλη είσοδος τροφοδοτείτο με απιονισμένο νερό.

Οι μετρήσεις έγιναν για τρεις διαφορετικές παροχές της αντλίας, συγκεκριμένα για 3μL/min, 10μL/min και 20μL/min. Σε κάθε περίπτωση η παροχή εντός του αναμίκτη, εφόσον έχουμε τροφοδοσία του με δύο σύριγγες, θα είναι διπλάσια αυτής που ρυθμίζουμε στην αντλία. Για τις παροχές των 10μL/min και 20μL/min, εικόνες λάβαμε μόνο για την είσοδο και την έξοδο του αναμίκτη. Τις δύο αυξημένες αυτές παροχές, τις επιλέξαμε με σκοπό να δούμε αν η αύξηση της παροχής θα επηρεάσει θετικά την ανάμιξη. Οι θέσεις των μετρήσεων για την παροχή των 3μL/min, φαίνονται στο ακόλουθο σχήμα.

Εικόνα 4.14



Κατά την διάρκεια του πειράματος, εμφανίζονταν εντός του αναμίκτη αρκετές φυσαλίδες. Ελέγχοντας την στεγανότητα του Lamination, το στόμιο της σύριγγας, τις εισόδους στο Chip holder και τοποθετώντας μια τρίτη σύριγγα στην έξοδο με την οποία δημιουργούμε υποπίεση, οι φυσαλίδες εν τέλει απομακρύνθηκαν. Προσοχή χρειάζεται κατά την χρήση της τρίτης σύριγγας στην έξοδο, ώστε να μην δημιουργήσουμε υπερβολική υποπίεση, διότι σε αυτήν την περίπτωση μπορεί να έχουμε αναρρόφηση αέρα, από οποιοδήποτε σημείο του κυκλώματος δεν είναι πλήρως στεγανό.

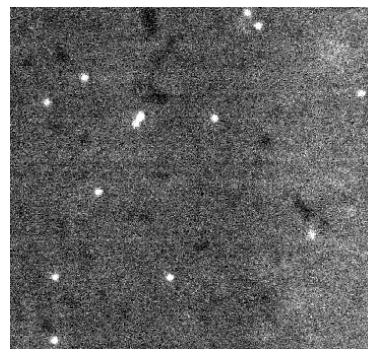
4.3.2 Επεξεργασία εικόνας στην Matlab

Στο Παράρτημα 2, παρατίθεται ο κώδικας με τον οποίον έγινε η επεξεργασία εικόνας. Ο κώδικας εντοπίζει τα σωματίδια στην εικόνα, καταγράφει την θέση τους, και στην συνέχεια αθροίζει πόσα από αυτά βρίσκονται σε κάθε περιοχή της εικόνας και τέλος σχεδιάζει το διάγραμμα συγκεντρώσεων. Στον κώδικα υπάρχουν σχόλια που περιγράφουν τα κυριότερα βήματα της διαδικασίας. Κάποια κομμάτια του προγράμματος όπως η παρουσίαση στην οθόνη των αποτελεσμάτων ή η δημιουργία γραφικών, έχουν μετατραπεί σε σχόλια, καθώς καθυστερούν την εκτέλεση του προγράμματος. Είναι όμως χρήσιμα σε περίπτωση που κάνουμε έναν μικρό αριθμό επαναλήψεων, για να παρακολουθούμε την πορεία του κώδικα και να ελέγξουμε ότι τα αποτελέσματα που εξάγουμε είναι σωστά.

Ως βασικά κριτήρια για τον εντοπισμό των σωματιδίων στον κώδικα αυτόν χρησιμοποιήθηκαν η φωτεινότητά και το μέγεθος. Άλλα κριτήρια που μπορεί να είναι χρήσιμα για τον εντοπισμό είναι:

1. Ο λόγος περιμέτρου προς εμβαδόν του αντικειμένου. Για τα σωματίδια, αυτή η ποσότητα αποτελεί μέτρο του πόσο κυκλικό είναι το αντικείμενο και η τιμή της πρέπει να πλησιάζει την αντίστοιχη του κύκλου.
2. Το πόσο συμπαγές είναι ένα αντικείμενο. Με τον όρο συμπαγές εννοείται, το ποσοστό των pixel εντός του αντικειμένου που έχουν την τιμή 255 προς εκείνα που έχουν την τιμή 0 (μαύρα). Ένα αντίστοιχο κριτήριο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι η ιδιότητα Solidity που υπολογίζει η συνάρτηση regionprops της Matlab. Η ποσότητα Solidity αντιστοιχεί στο ποσοστό των pixel που περιέχονται στο ελαχίστου μεγέθους πολύγωνο (convex hull) που μπορεί να περικλείσει την περιοχή και που ανήκουν ταυτόχρονα στην περιοχή.

Τα παραπάνω αυτά κριτήρια δεν έδειξε να βελτιώνουν την απόδοση του κώδικα για τα σωματίδια 1μm και τον φακό 10X που χρησιμοποιήσαμε, καθώς τα pixel που καταλαμβάνει κάθε σωματίδιο στην εικόνα είναι πολύ λίγα και τα αντικείμενα που εντοπίζει ο κώδικας (σωματίδια) είναι εκ των πραγμάτων τετραγωνικής και ακανόνιστης μορφής. Σε περίπτωση μεγαλύτερων σωματιδίων και υψηλότερης μεγέθυνσης, μπορούν να αποδειχθούν χρήσιμα για την αποκοπή του θορύβου, καθώς τα σωματίδια σε αυτήν την περίπτωση εμφανίζονται αρκετά κυκλικά, όπως φαίνεται στην διπλανή εικόνα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κριτήριο κυκλικότητας.

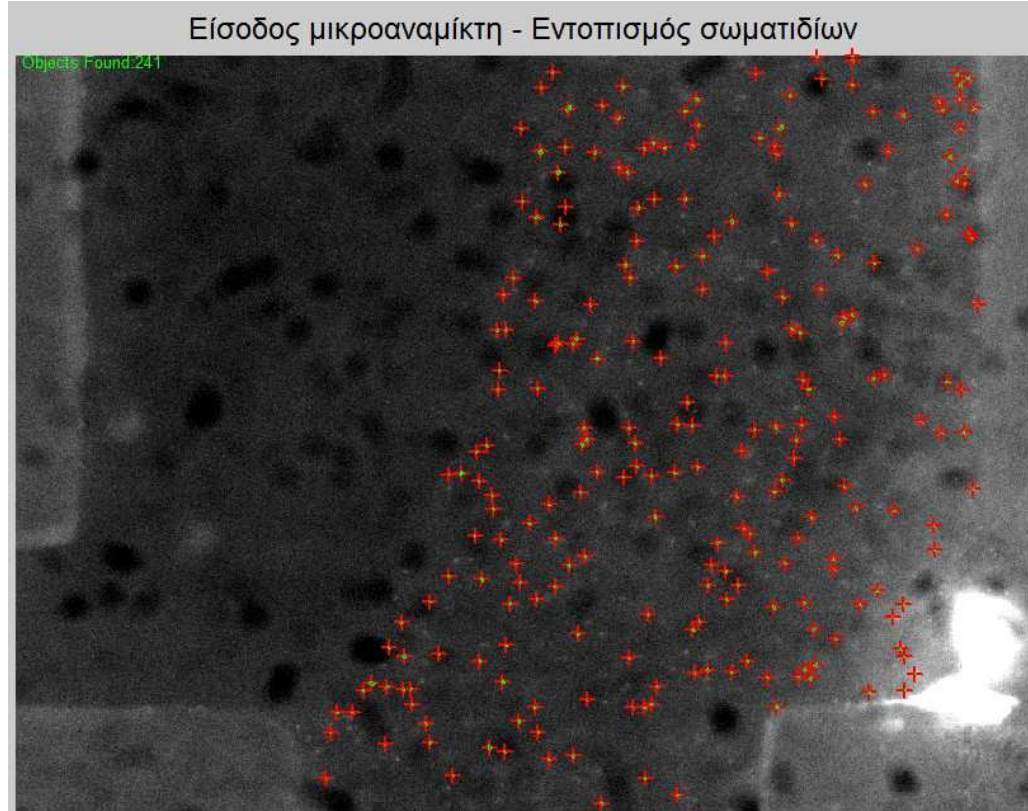
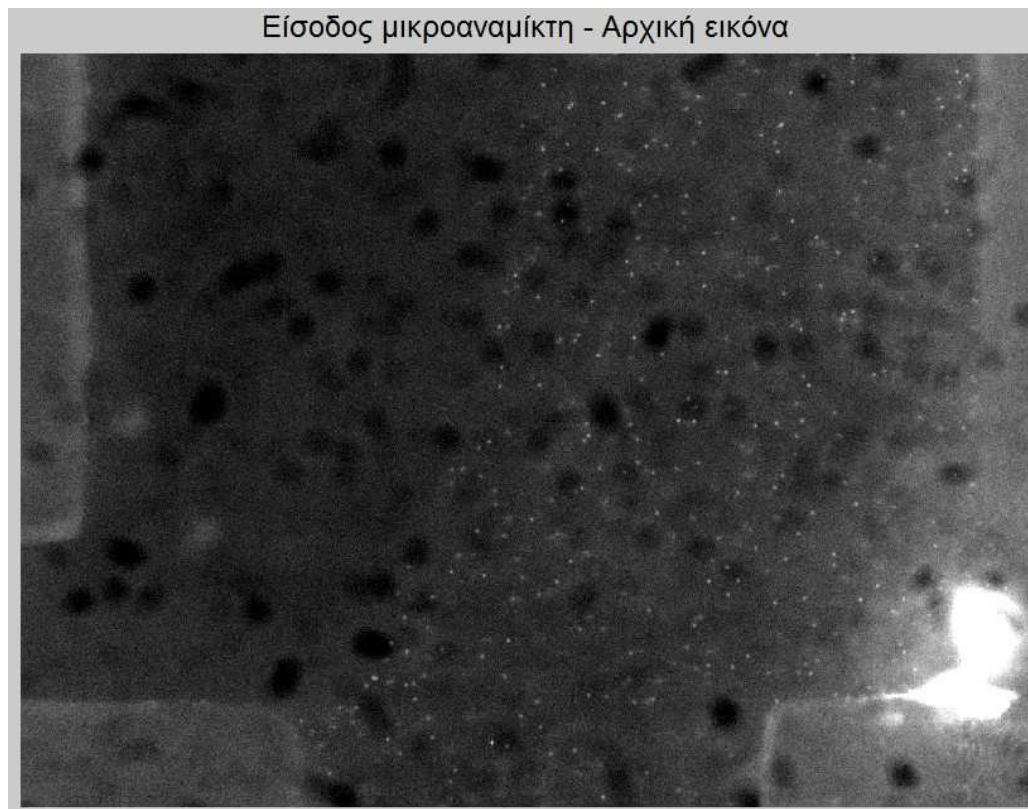


Ένα άλλο εργαλείο που βοηθά στην εξάλειψη του θορύβου, είναι η δυνατότητα που προσφέρει η Matlab, να γίνει επιλογή με το χέρι, της περιοχής όπου ο κώδικας θα αναζητήσει σωματίδια, μέσω της δημιουργίας μιας μάσκας. Με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να αποκόψουμε περιοχές με υψηλά επίπεδα θορύβου (πολύ φωτεινές), όπου θα εντοπίζονταν σωματίδια χωρίς να υπάρχουν αλλά και περιοχές πέραν των τοιχωμάτων όπου μπορεί να τύχει να υπάρχουν κάποιες φωτεινές κουκίδες, οι οποίες όμως δεν είναι σωματίδια.

4.3.3 Παρουσίαση αποτελεσμάτων

4.3.3.1 Θέση 1 – Είσοδος αναμίκτη, με παροχή αντλίας 3μL/min

Εικόνες 4.15 , 4.16

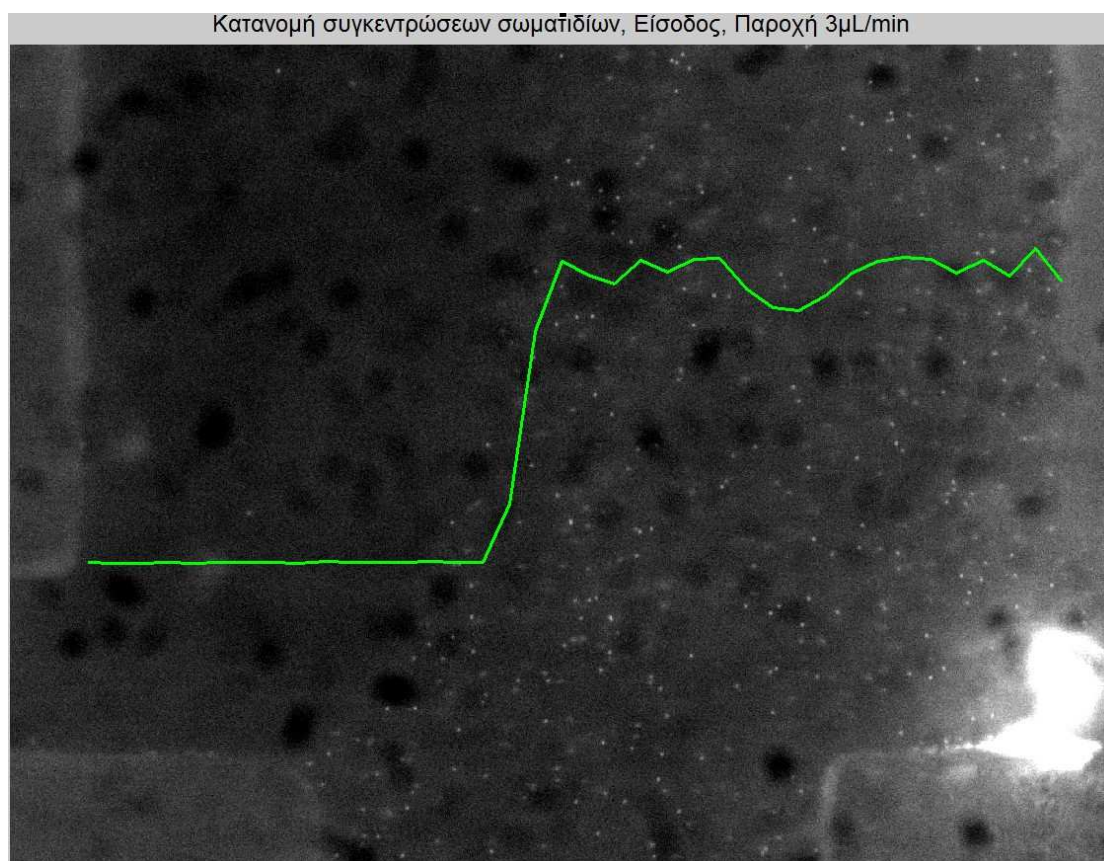


Στην είσοδο του αναμίκτη, φαίνονται τα δύο ρεύματα που εισάγουμε, το ένα με τα σωματίδια και το άλλο με το νερό. Παραπάνω παρατίθεται μια από τις 1000 εικόνες που ελήφθησαν στην είσοδο, και κάτω από εκείνη φαίνονται οι θέσεις στην εικόνα, όπου ο κώδικας εντόπισε σωματίδια. Βλέπουμε ότι το πρόγραμμα εντοπίζει όσα σωματίδια είναι εντός εστίασης καθώς και μερικά που δεν είναι τόσο εστιασμένα αλλά φαίνονται με επαρκή ευκρίνεια. Ταυτόχρονα, βλέπουμε ότι δεν εντοπίζονται σωματίδια σε θέσεις όπου δεν υπάρχουν.

Ακολουθεί το διάγραμμα των συγκεντρώσεων σε υπέρθεση με την φωτογραφία. Όπως φαίνεται, στο αριστερό τμήμα του καναλιού έχουμε μηδενικές συγκεντρώσεις σωματιδίων, ενώ στο δεξιό τμήμα έχουμε σχεδόν ομοιόμορφη κατανομή των συγκεντρώσεων. Μικρή συγκέντρωση σωματιδίων έχουμε και πάνω στο δεξιό τοίχωμα, όπου είναι προσκολλημένα κάποια σωματίδια. Η υπέρθεση της εικόνας και της γραφικής έγινε με τις ακόλουθες εντολές στην Matlab:

```
x=0:1376/(size(A,2)-1):1376;  
img20=flipud(img20);  
imshow(img20); hold on;  
plot(x(3:end-1),A(3:end-1));  
set(gca, 'ydir', 'normal');
```

Εικόνα 4.17



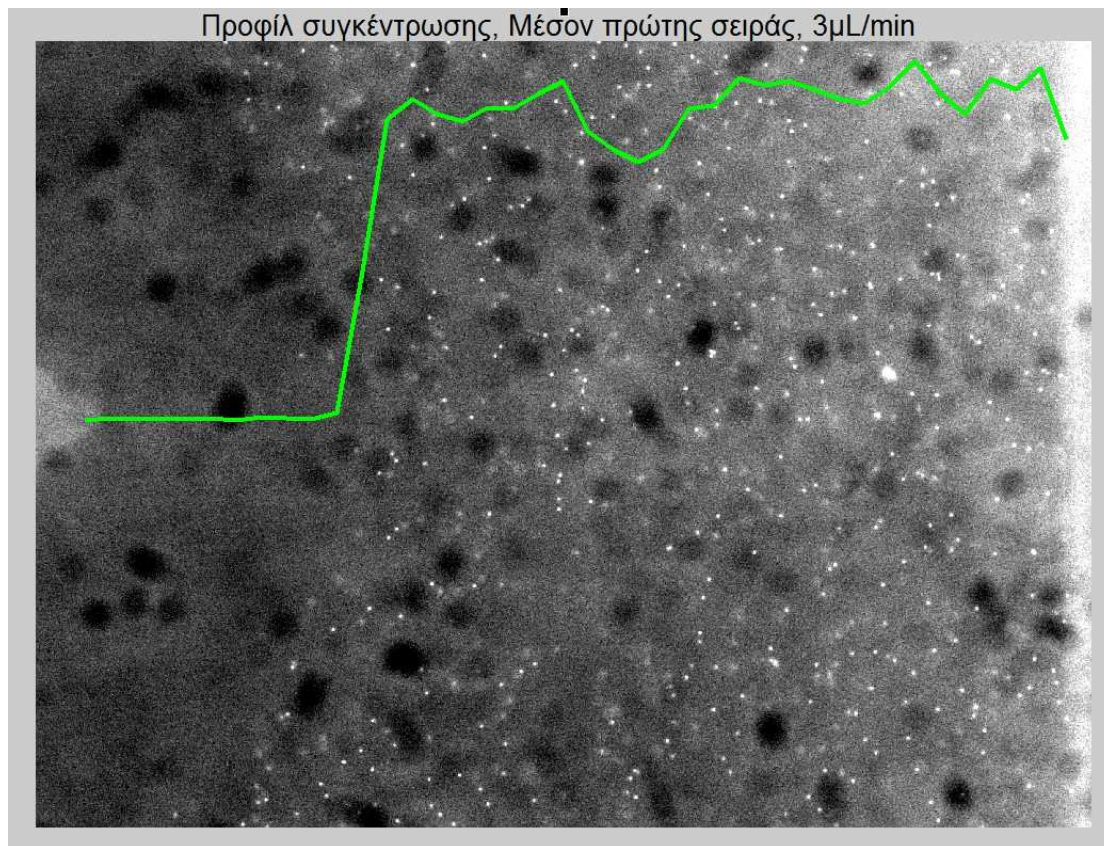
Στην συνέχεια παρουσιάζεται ένα ποσοτικό γράφημα των συγκεντρώσεων. Εδώ ο αριθμός των σωματιδίων για κάθε 'λωρίδα' της εικόνας έχει διαιρεθεί με το εμβαδόν της λωρίδας, οπότε προκύπτουν τα σωματίδια/ μm^2 . Η μέση συγκέντρωση των σωματιδίων στο δεξιό τμήμα του καναλιού προκύπτει περίπου 0,0034 σωματίδια/ μm^2 , Μια ταχεία επαλήθευση της τάξης μεγέθους μπορεί να γίνει, αν διαιρέσουμε τον συνολικό αριθμό σωματιδίων που εντοπίζονται σε μια εικόνα, τον οποίον υπολογίζει ο κώδικας, με το εμβαδόν του δεξιού τμήματος όπου αυτά εμφανίζονται. Η περιοχή όπου παρατηρούνται σωματίδια ξεκινάει από τα 170 μm περίπου και φθάνει μέχρι το τοίχωμα.

Διάγραμμα 64



4.3.3.2 Θέση 2, Μέσον πρώτης σειράς αναμίκτη, παροχή αντλίας 3μL/min

Εικόνα 4.18



Διάγραμμα 65

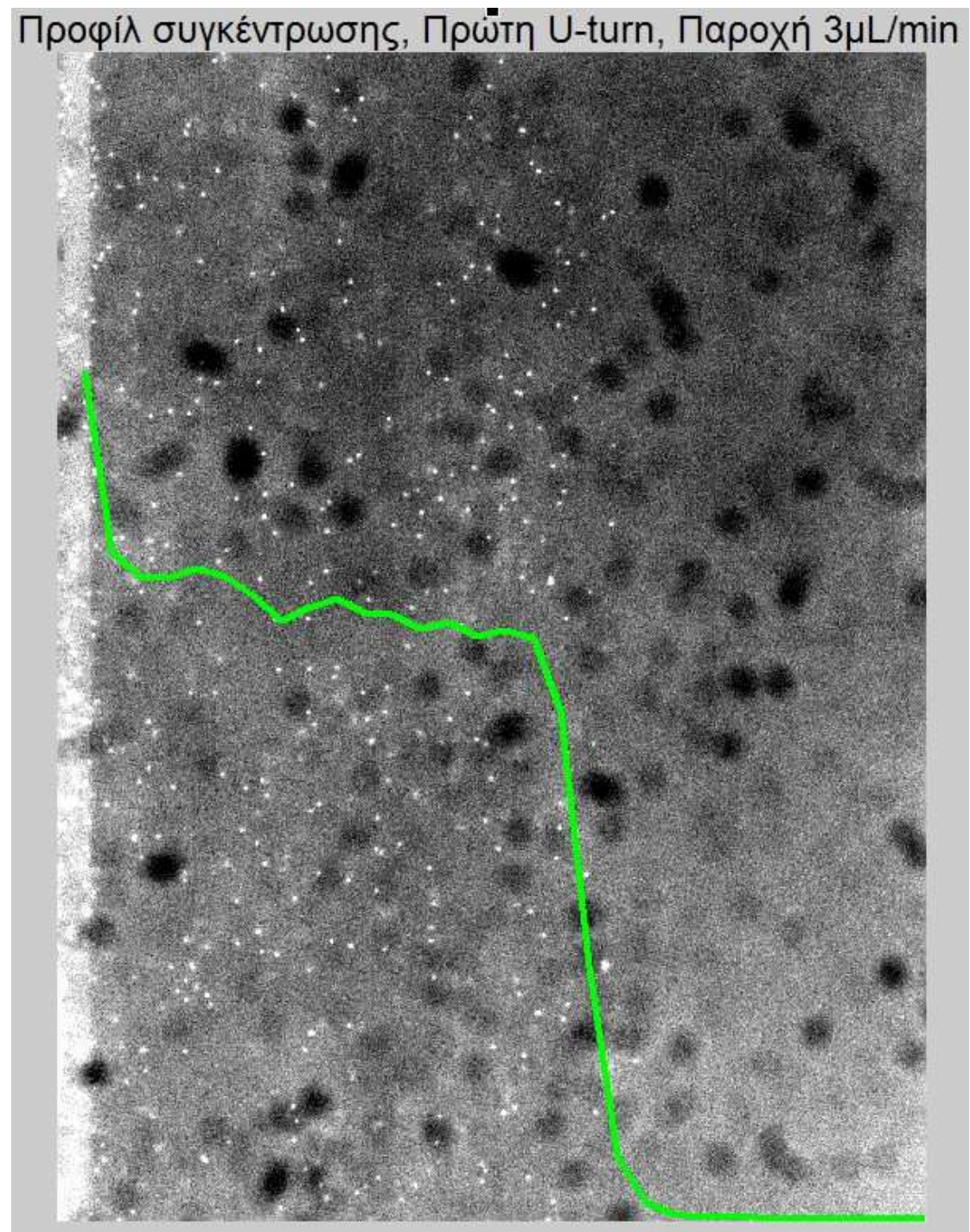


Παρατηρούμε μια αύξηση στο ποσοστό του πλάτους του καναλιού που καταλαμβάνεται από το ρεύμα των σωματιδίων, το οποίο σε αυτήν την θέση έχει πλάτος κοντά στα 270 μm . Αυτό δεν σημαίνει πως έχει επιτευχθεί σε μεγαλύτερο βαθμό ανάμιξη μεταξύ των ρευμάτων, παρά οφείλεται στο γεγονός ότι στο εσωτερικό της στροφής το ρευστό επιταχύνεται, όπως φαίνεται και από τα διαγράμματα ταχυτήτων που προέκυψαν από το μPIV . Η επιτάχυνση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την επακόλουθη πτώση πίεσης στο εσωτερικό της στροφής. Αυτό γίνεται εμφανές από την αύξηση του πλάτους της ζώνης που περιέχει σωματίδια, η οποία εξαπλώνεται ώστε να εξισωθούν οι πιέσεις. Στην θέση 5, όπου τα σωματίδια βρίσκονται στο εσωτερικό της στροφής, θα δούμε παρακάτω ότι η ζώνη των σωματιδίων είναι αυτή που εμφανίζεται να έχει μειωμένο πλάτος πάνω στην στροφή, ενώ το ρεύμα του νερού καταλαμβάνει το μεγαλύτερο τμήμα του καναλιού.

Σε αυτήν την θέση, ο μέσος αριθμός σωματιδίων/ μm^2 στο ρεύμα των σωματιδίων υπολογίζεται ίσος με : 0,0035 σωματίδια/ μm^2 .

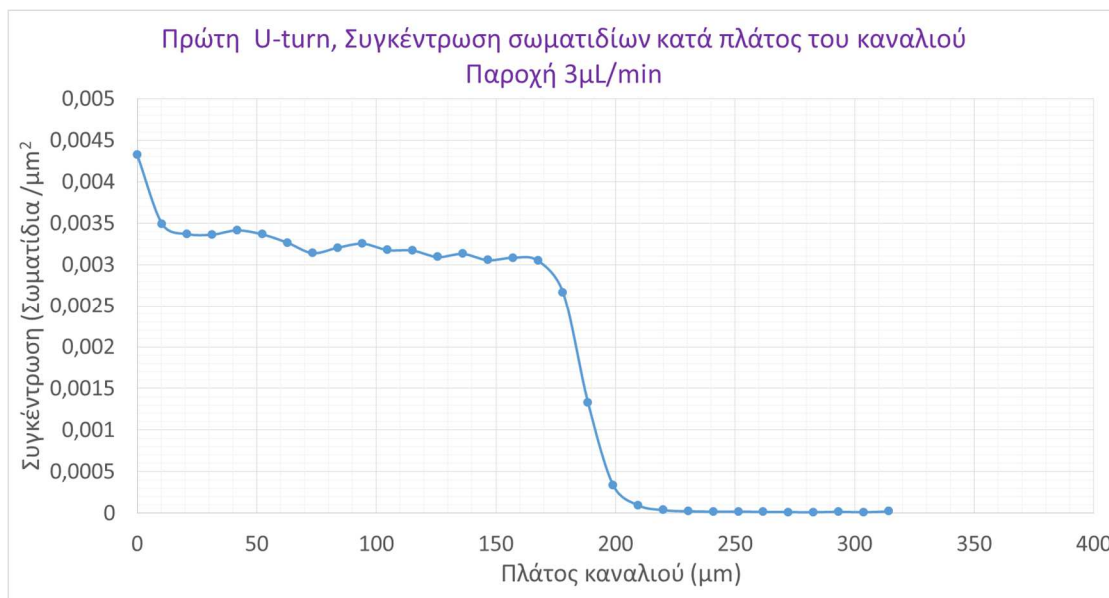
4.3.3.3 Θέση 3 , Πρώτη U-turn του αναμίκτη, με παροχή 3μL/min

Εικόνα 4.19



Το εύρος της περιοχής όπου βρίσκονται σωματίδια είναι σε αυτήν την θέση λίγο λιγότερο από 200 μm , όπως φαίνεται στο ακόλουθο διάγραμμα:

Διάγραμμα 66

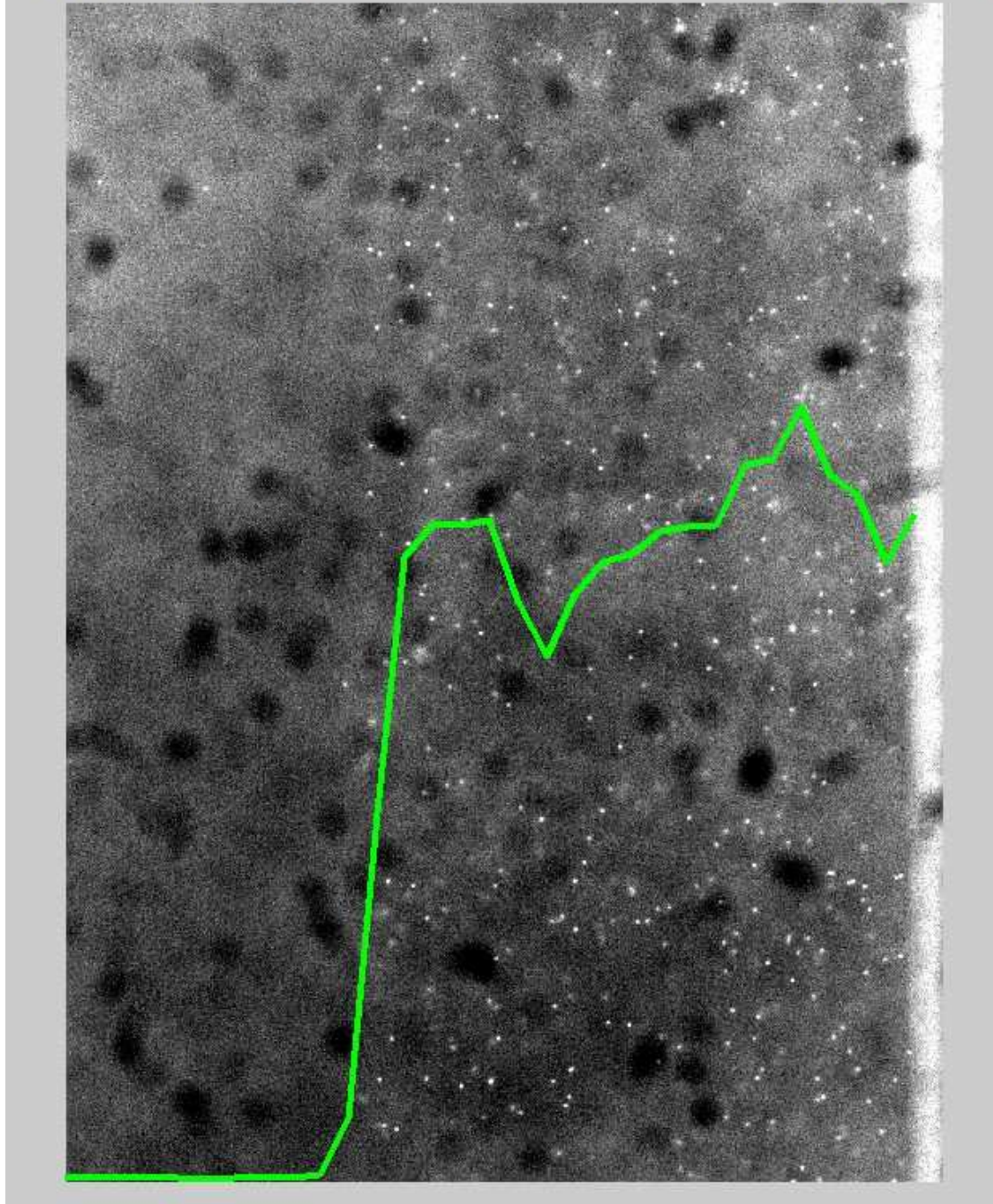


Στην παραπάνω γραφική παρατηρείται μια κορυφή στο αριστερό όριο, το οποίο αντιστοιχεί στο αριστερό τοίχωμα. Η αυξημένη συγκέντρωση σωματιδίων στο τοίχωμα, οφείλεται σε σωματίδια τα οποία κατά την διέλευση της ροής, προσκολλώνται πάνω του. Σημαντικός είναι ο καθαρισμός του αναμίκτη μετά την χρήση, ώστε να απομακρυνθούν τα σωματίδια αυτά από το τοίχωμα. Ο μέσος αριθμός σωματιδίων/ μm^2 στο ρεύμα των σωματιδίων προκύπτει σε αυτήν την θέση ίσος με 0,0032 σωματίδια/ μm^2 .

4.3.3.4 Θέση 4, Δεύτερη U-turn του αναμίκτη, με παροχή 3μL/min

Εικόνα 4.20

Προφίλ συγκέντρωσης, Δεύτερη U-turn, Παροχή 3μL/min



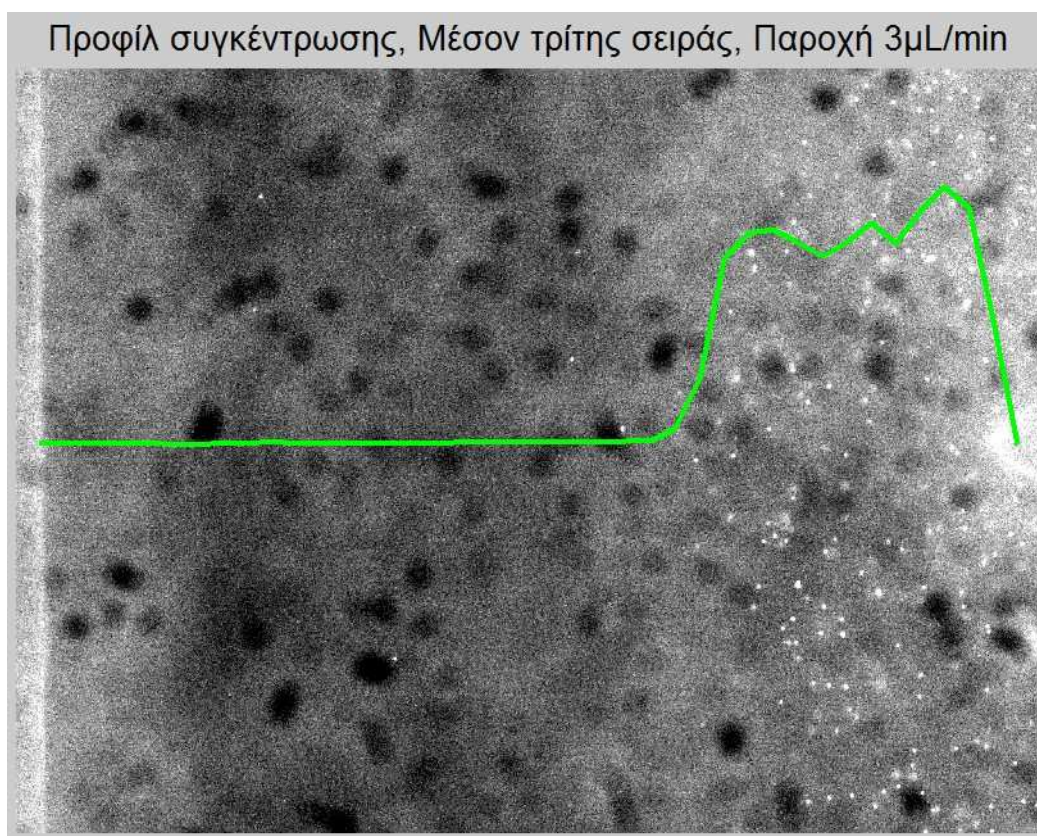
Διάγραμμα 67



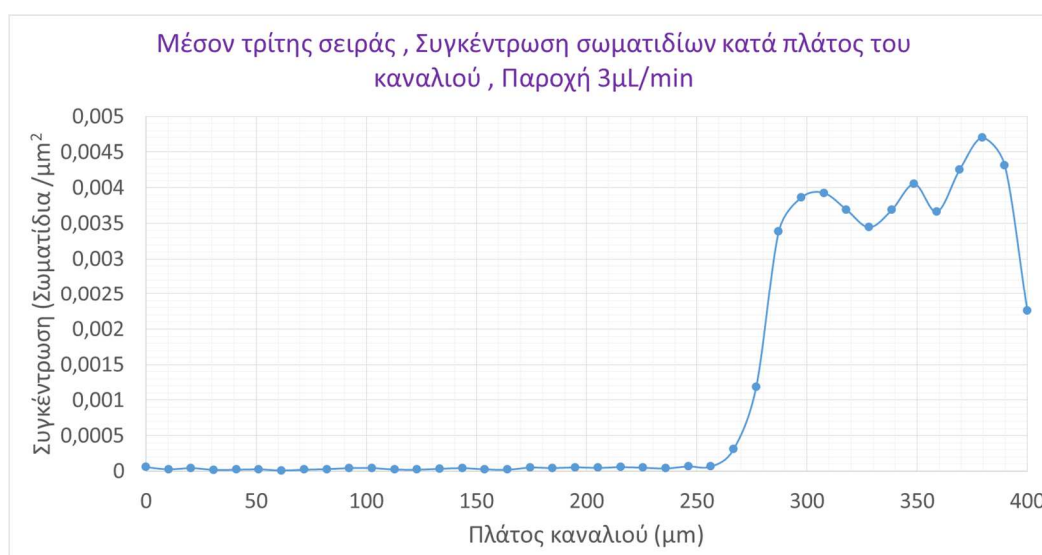
Στην θέση αυτήν του αναμίκτη, το εύρος της περιοχής που περιέχει σωματίδια φαίνεται ελαφρώς αυξημένο. Ο μέσος αριθμός σωματιδίων/μm² στο ρεύμα των σωματιδίων υπολογίζεται 0,0034 σωματίδια/μm².

4.3.3.5 Θέση 5, Μέσον τρίτης σειράς, με παροχή 3μL/min

Εικόνα 4.21



Διάγραμμα 68

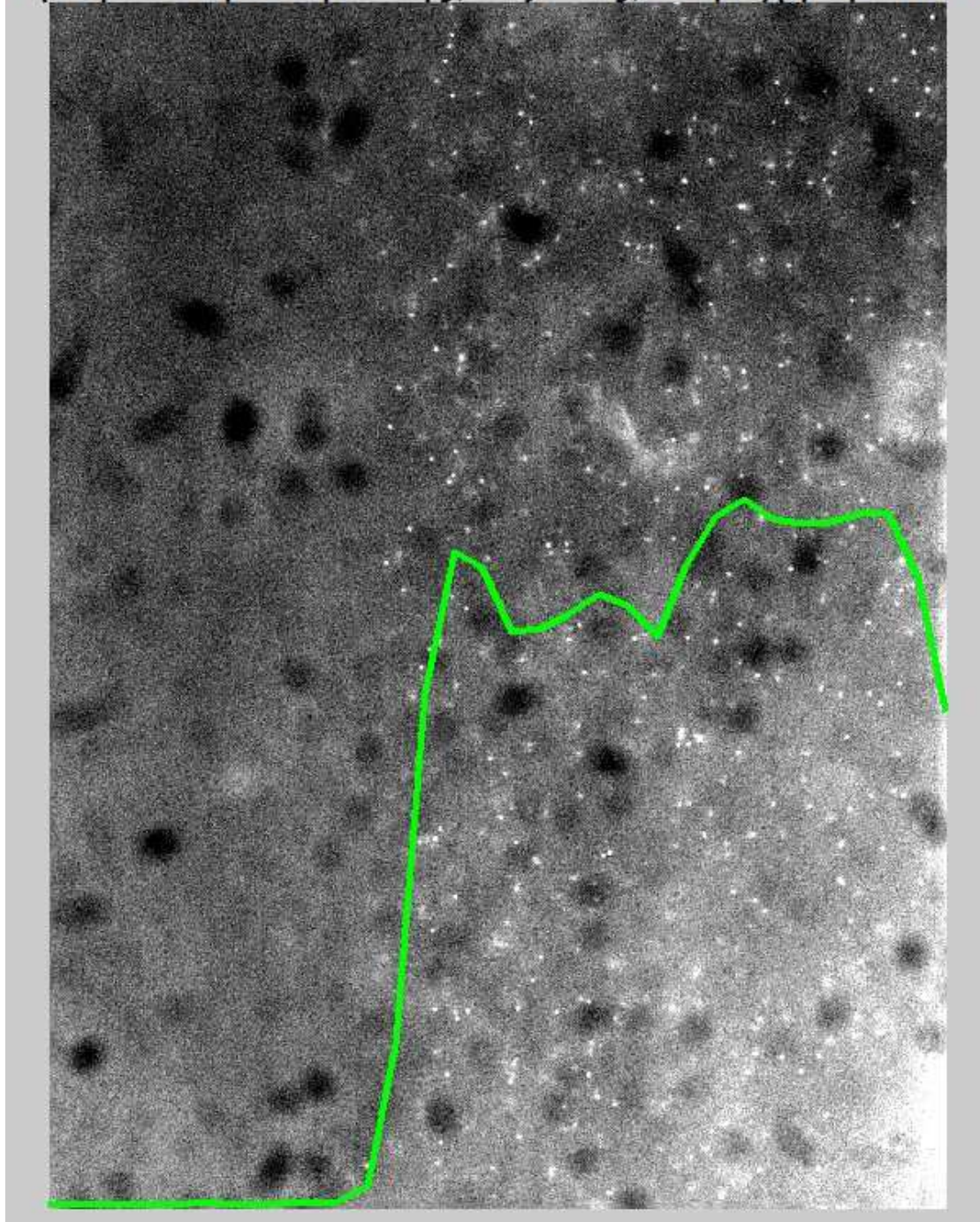


Όπως είδαμε στην θέση δύο (μέσον της πρώτης σειράς), στην στροφή το ρεύμα που βρίσκεται εσωτερικά συμπιέζεται, ενώ αυτό που είναι στην εξωτερική πλευρά επεκτείνεται σε πλάτος. Αυτό γίνεται εμφανές και σε αυτήν την θέση, όπου το πλάτος του ρεύματος που περιέχει τα σωματίδια και που βρίσκεται εσωτερικά, μειώνεται και καταλαμβάνει πλάτος μικρότερο από 150μm. Ο μέσος αριθμός σωματιδίων/μm² στο ρεύμα των σωματιδίων εμφανίζεται εδώ ίσος με 0,0038 σωματίδια/μm².

4.3.3.7 Θέση 6, Έξοδος του αναμίκτη, με παροχή 3μL/min

Εικόνα 4.22

Προφίλ συγκέντρωσης, Έξοδος, Παροχή 3μL/min



Διάγραμμα 69

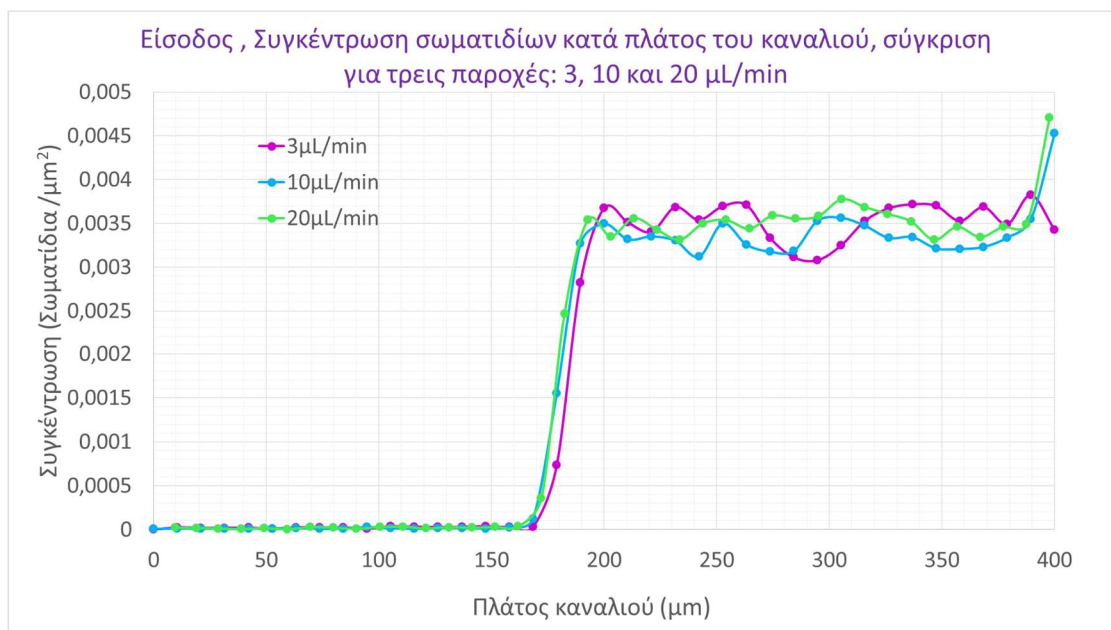


Στην έξοδο το πλάτος της ζώνης όπου περιέχονται σωματίδια παραμένει κοντά στα 200 μm , γεγονός που δείχνει ότι τα σωματίδια πολυστυρενίου 1 μm , δεν έχουν αρκετά μεγάλο συντελεστή διάχυσης στο νερό. Αυτό το χαρακτηριστικό τους είναι αναμενόμενο, αφού το κύριο κριτήριό μας στην επιλογή τους είναι η ιδιότητά τους να ακολουθούν πιστά τις γραμμές ροής του ρευστού, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μέτρηση του πεδίου ταχυτήτων μέσω PIV. Άρα ως ένα βαθμό το δεύτερο αυτό πείραμα επιβεβαιώνει την καταλληλότητα των σωματιδίων για εφαρμογές μPIV . Για περαιτέρω επιβεβαίωση, δοκιμάζουμε και δύο υψηλότερες παροχές στην αντλία (10 $\mu\text{L}/\text{min}$ και 20 $\mu\text{L}/\text{min}$).

4.3.3.8 Θέση 1, Είσοδος αναμίκτη, Σύγκριση προφίλ συγκεντρώσεων σωματιδίων για παροχές 3, 10 και 20 $\mu\text{L}/\text{min}$

Για να μελετήσουμε την επίδραση της παροχής στην ανάμιξη, πήραμε επιπλέον μετρήσεις στην είσοδο και στην έξοδο, για δύο ακόμα παροχές (10 και 20 $\mu\text{L}/\text{min}$). Στο παρακάτω διάγραμμα ακολουθεί η σύγκριση των γραφικών της συγκέντρωσης που προέκυψαν στην είσοδο για τις τρεις συνολικά παροχές. Τα τρία προφίλ στην είσοδο δεν διαφέρουν ιδιαίτερα μεταξύ τους.

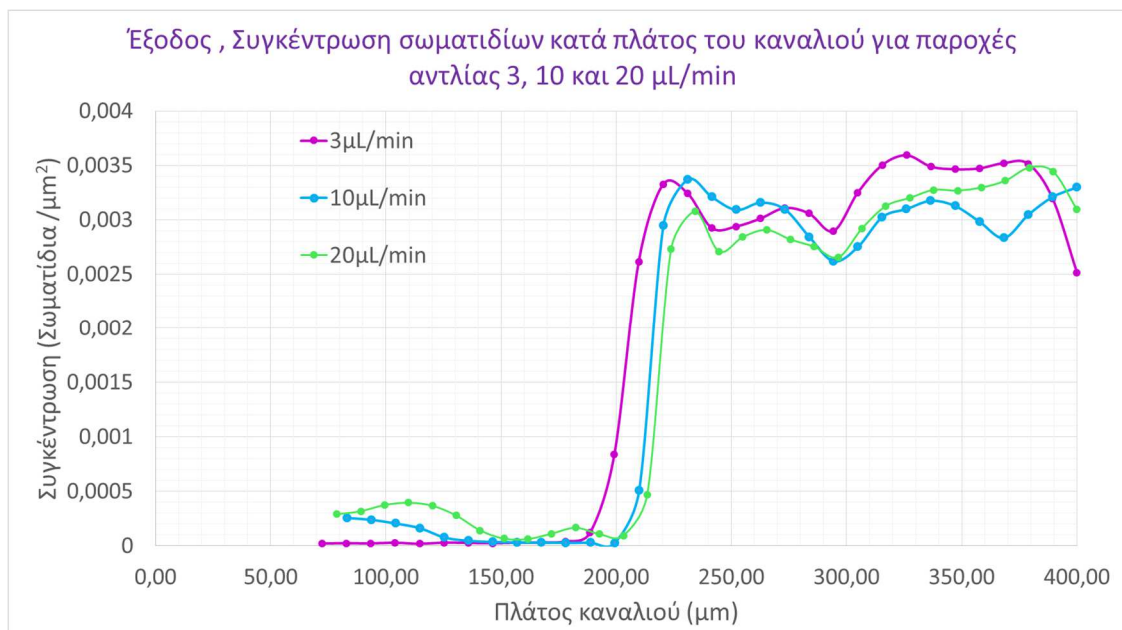
Διάγραμμα 70



4.3.3.9 Θέση 6, Έξοδος του αναμίκτη, Σύγκριση προφίλ συγκεντρώσεων σωματιδίων για παροχές 3, 10 και 20 $\mu\text{L}/\text{min}$

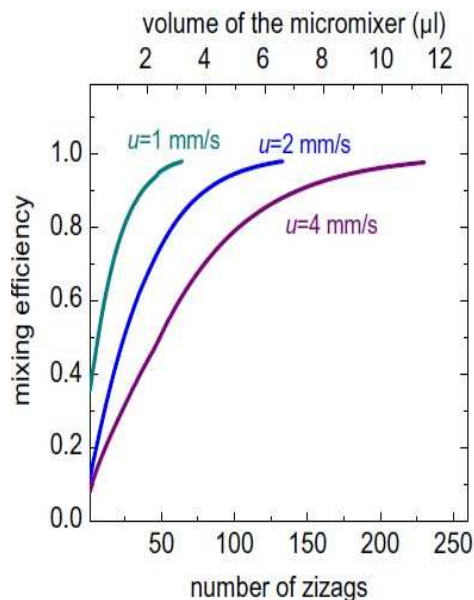
Παρακάτω ακολουθεί η σύγκριση των γραφικών της συγκέντρωσης που προέκυψαν στην έξοδο για τις τρεις συνολικά παροχές.

Διάγραμμα 71



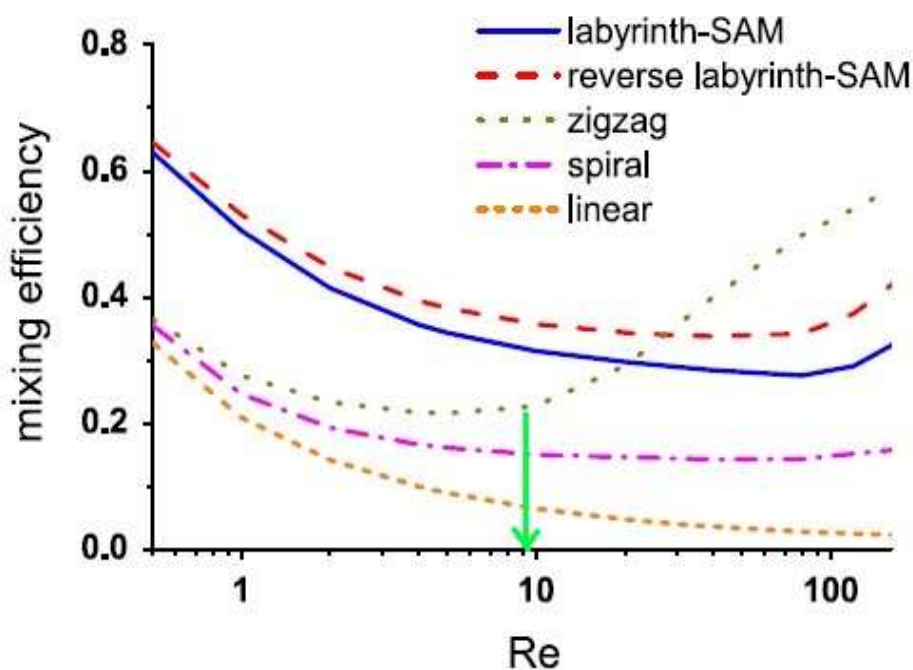
Διάγραμμα 72

Στην έξοδο παρατηρούμε ότι όσο αυξάνεται η παροχή, το πλάτος της δέσμης των σωματιδίων μειώνεται. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με το συμπέρασμα των ερευνητών στον Δημόκριτο, ότι όσο αυξάνεται η ταχύτητα εισόδου στον αναμίκτη, τόσο το μήκος που απαιτείται για να επιτευχθεί ο ίδιος βαθμός ανάμιξης αυξάνεται. Ο χρόνος που απαιτείται για την ανάμιξη βέβαια διατηρείται σταθερός, διότι μπορεί να αυξάνεται η απόσταση που πρέπει να διανύσει το ρευστό για να αναμιχθεί, αλλά την διανύει με μεγαλύτερη ταχύτητα, οπότε ο χρόνος παραμένει ίδιος. Τα αποτελέσματα της προσομοίωσης που έκαναν οι ερευνητές στον Δημόκριτο μέσω της οποίας εξήχθη αυτό το συμπέρασμα, φαίνονται στο διάγραμμα δεξιά.



Όπως φαίνεται στο ακόλουθο διάγραμμα, στον αναμίκτη που χρησιμοποιήθηκε, για αριθμούς Re μέχρι και 5, η απόδοση της ανάμιξης μειώνεται με την αύξηση του Re . Για Reynolds μεγαλύτερους του $Re=10$, έχουμε, λόγω της εμφάνισης δινών Dean, απότομη αύξηση του βαθμού ανάμιξης με την αύξηση του Re . Στις συνθήκες του πειράματος, θεωρώντας για το νερό : $\mu=0,000891 \text{ kg}/(\text{m} \cdot \text{s})$, $\rho=997 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$, και με την παροχή $Q=6\mu\text{L}/\text{min}$ και διατομή $A=24000\mu\text{m}^2$, προκύπτει $v=4,17 \text{ mm}/\text{s}$ και Reynolds ίσος με $Re = \frac{\rho v D_h}{\mu}=0,487 < 5$. Αντίστοιχα και για την μέγιστη παροχή που εφαρμόζουμε ($Q=20\mu\text{L}/\text{min}$ στην αντλία άρα συνολικά $40\mu\text{L}/\text{min}$ εντός του αναμίκτη), ο Reynolds προκύπτει ίσος με $Re = 3,24 < 5$. Επομένως και για τις τρεις παροχές, αναμένεται πτώση του βαθμού ανάμιξης με την αύξηση της παροχής, γεγονός που συμφωνεί με τα πειραματικά αποτελέσματα.

Διάγραμμα 73



Σύμφωνα με τους Liu και Meyer ('Particle Tracking Velocimetry for Diffusion Coefficient Calculation for Drug Delivery Through Brain Tissues'), ο συντελεστής διάχυσης σωματιδίων διαμέτρου 200nm, υπολογίστηκε πειραματικά, ίσος με $6,2 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$, τρεις τάξεις μεγάλους μικρότερος από αυτόν των ενζύμων (Συντελεστής διάχυσης ενζύμων $10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$). Για τα σωματίδια $1\mu\text{m}$ που χρησιμοποιούμε στο πείραμα, αναμένεται μικρότερος συντελεστής διάχυσης από αυτόν των σωματιδίων 200nm, πράγμα που συμφωνεί με την πολύ μικρή διάχυση που παρατηρήσαμε στο πείραμα.

Βιβλιογραφία 4^ο Κεφαλαίου

Ioanna N. Kefala, Vasileios E. Papadopoulos, Georgia Karpou, George Kokkoris, George Papadakis, Angeliki Tserepi, 'A labyrinth split and merge micromixer for bioanalytical Applications', *Microfluid Nanofluid* DOI 10.1007/s10404-015-1610-4, 2015

Mahmood Norouzi & Behrooz Zare Vamerzani & Mahdi Davoodi & Nazanin Biglari & Mohammad Mohsen Shahmardan , 'An exact analytical solution for creeping Dean flow of Bingham plastics through curved rectangular ducts', *Rheol Acta* (2015) 54:391-402 , DOI 10.1007/s00397-014-0807-x , 2014

Virginie Mengeaud, Jacques Josserand, and Hubert H. Girault , 'Mixing Processes in a Zigzag Microchannel: Finite Element Simulations and Optical Study', *Anal. Chem.* 2002, 74, 4279-4286, 2002

C. Liu and D. M. Meyer, 'Particle Tracking Velocimetry for Diffusion Coefficient Calculation for Drug Delivery Through Brain Tissues'

Συμπεράσματα

Κατά την παρούσα διπλωματική εργασία έγινε μελέτη της ροής εντός ενός παθητικού μικροαναμίκτη μαιανδρικής γεωμετρίας, που σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε στο Ινστιτούτο μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. 'Δημόκριτος', για ενζυματική πέψη του DNA. Ο αναμίκτης έχει τις ακόλουθες βασικές διαστάσεις: Πλάτος κυρίως καναλιού :400μm , Πλάτος κεντρικού καναλιού εισόδου: 200μm, Πλάτος πλευρικών καναλιών εισόδου: 100μm, Βάθος καναλιού: 60μm, Συνολικός όγκος αναμίκτη: 7,5μL.

Η βασική δυσκολία που παρουσιάστηκε κατά τα πειράματα, ήταν η αφαίρεση των φυσαλίδων αέρα που εμφανίζονταν εντός του καναλιού. Ιδιαίτερα αποτελεσματική στην αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος αποδείχθηκε η χρήση μιας σύριγγας συνδεδεμένης στην έξοδο του αναμίκτη, με την οποία, αναρροφώντας, δημιουργούμε υποπίεση εντός του αναμίκτη. Η υποπίεση οδηγεί στην διόγκωση των φυσαλίδων και διευκολύνει την απομάκρυνσή τους.

Κατά το πρώτο μέρος του πειράματος, έγινε μέτρηση του πεδίου ταχυτήτων του αναμίκτη, για παροχή εντός του αναμίκτη 6μL/min και αριθμό Reynolds ίσο με $Re=0,487$. Έγινε χρήση της μεθόδου micro-PIV, με σκεδαστές φθορίζοντα σωματίδια μέσης διαμέτρου 1μm. Ρέον μέσο ήταν το νερό και οι μετρήσεις έγιναν σε τρία βάθη (οριζόντια επίπεδα) εστιάζοντας σε ευθύγραμμο καθώς και σε καμπύλα τμήματα του αναμίκτη.

A) Συμπεράσματα πειράματος ταχυτήτων:

Παρατηρούνται διαφορές στην κατά βάθος κατανομή της ταχύτητας που οφείλονται στην τριβή με τον πυθμένα και το lamination.

Λόγω της έρπουσας ροής (χαμηλός Reynolds - μικρές αδρανειακές δυνάμεις), όπως αναμένεται δεν εμφανίζονται δίνες Dean και το μέγιστο της ταχύτητας εμφανίζεται προς το εσωτερικό της στροφής.

Στις συνθήκες του πειράματος, δεν εμφανίζεται κάπου αποκόλληση της ροής.

Στο δεύτερο μέρος του πειράματος, εισήχθη εντός του καναλιού του αναμίκτη, ένα ρεύμα νερού και ένα ρεύμα νερού – σωματιδίων σκεδαστών 1μm, με σκοπό την μελέτη της διάχυσης των σωματιδίων εντός του αναμίκτη. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές παροχές της αντλίας : 3, 10 και 20μL/min (αντίστοιχες παροχές εντός του αναμίκτη : 6, 20 και 40 μL/min), στις οποίες αντιστοιχούν οι Reynolds: 0,487 , 1,622 και 3,244. Οι μετρήσεις έγιναν στο μέσον του βάθους του καναλιού, εστιάζοντας σε ευθύγραμμο καθώς και καμπύλα τμήματα του αναμίκτη.

B) Συμπεράσματα πειράματος συγκεντρώσεων:

Λόγω του χαμηλού αριθμού Reynolds, δεν εμφανίζονται δίνες Dean, οι οποίες θα ενίσχυαν την ανάμιξη. Ταυτόχρονα, αυξάνοντας την παροχή και άρα την ταχύτητα και τον αριθμό Peclet, μειώνεται ο χρόνος επαφής των προς ανάμιξη ρευμάτων και άρα ο χρόνος που διατίθεται για την διάχυση.

Για καμία επομένως από τις τρεις παροχές που χρησιμοποιήθηκαν , δεν παρατηρήθηκε σημαντική διάχυση σωματιδίων από το ένα ρεύμα στο άλλο.

Η χρήση μικρότερης διαμέτρου σωματιδίων, τα οποία παρουσιάζουν υψηλότερο συντελεστή διάχυσης, θα ευνοούσε την διάχυση μεταξύ των ρευμάτων.

Παράρτημα 1

```
clc

%t=input('please choose position in the micromixer: ',s);
%by removing the following big outer loop and uncommenting the line
above
% we can run the code for user specified positions

PositionNames =
{'lapexbot', 'lapexmid', 'lapexup', 'lturnbot', 'lturnm', ...
'lturnup', 'lturncenterbot', 'lturncentermid', 'lturncenterup', 'lturn
nendbot', ...
'lturnendmid', 'lturnendup', 'lturnstartbot', 'lturnstartmid', 'lturn
nstartup' ...
'2turncenterbot', '2turncentermid', '2turncenterup', '2turnendbot', '
2turnendmid', ...
'2turnendup',
'2turnstartbot', '2turnstartmid', '2turnstartup', 'exitbot', ...
'exitmid', 'exitup', 'inletbot', 'inletmid', 'inletup', 'lastturnbot', ...
'lastturnmid', 'lastturnup'};

GraphTitleNames={'Δεύτερη κορυφή zig zag, προς τον πυθμένα του
καναλιού', ...
'Δεύτερη κορυφή zig zag, στο μέσον του βάθους του καναλιού', ...
'Δεύτερη κορυφή zig zag, προς το Lamination του καναλιού', ...
'Πρώτη στροφή καναλιού, προς τον πυθμένα του καναλιού', ...
'Πρώτη στροφή καναλιού, στο μέσον του βάθους του καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, μέσον στροφής, προς τον πυθμένα του καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, μέσον στροφής, στο μέσον του βάθους του
καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, μέσον στροφής, προς το Lamination του
καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, τέλος στροφής, προς τον πυθμένα του καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, τέλος στροφής, στο μέσον του βάθους του
καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, τέλος στροφής, προς το Lamination του
καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, προς τον πυθμένα του καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, στο μέσον του βάθους του
καναλιού', ...
'Πρώτη U-turn, αρχή στροφής, προς το Lamination του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, προς τον πυθμένα του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, στο μέσον του βάθους του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, μέσον στροφής, προς το Lamination του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, προς τον πυθμένα του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, στο μέσον του βάθους του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, τέλος στροφής, προς το Lamination του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, προς τον πυθμένα του καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, στο μέσον του βάθους του
καναλιού', ...
'Δεύτερη U-turn, αρχή στροφής, προς το Lamination του
καναλιού', ...
```



```

'Εξοδος, προς τον πυθμένα του καναλιού',...
'Εξοδος, στο μέσον του βάθους του καναλιού',...
'Εξοδος, προς το Lamination του καναλιού',...
'Είσοδος, προς τον πυθμένα του καναλιού',...
'Είσοδος, στο μέσον του βάθους του καναλιού',...
'Είσοδος, προς το Lamination του καναλιού',...
'Τελευταία στροφή του καναλιού πριν την έξοδο, προς τον πυθμένα
του καναλιού',...
'Τελευταία στροφή του καναλιού πριν την έξοδο, μέσω του βάθους
του καναλιού',...
'Τελευταία στροφή του καναλιού πριν την έξοδο, προς το Lamination
του καναλιού'};

startingpoint=input('Which position to start from? Enter a number
from 1 to 33 : ');
for num=startingpoint:numel(PositionNames);

t=PositionNames(num); t=char(t);

File_Path=['C:\Users\user\Desktop\Processing Data\Z_17th July 2nd
exp\',t];
Image_Name=[t,'000000.T000.D000.P000.H000.LA.tiff'];
img1=imread([File_Path,'\',Image_Name]); % reads image file
img1=rgb2gray(img1); %converting to greyscale image
img1=imadjust(img1); %imadjust works on greyscale images %for
clearer visualisation

Channel_Depth=60; % channel dimensions in micrometers
Channel_Width=400;
pixel_to_length_ratio=3.125; % one micrometer= 3.125 pixels
dt=400; % microseconds - laser time delay
between consecutive shots
dx=32; % half the size of the interrogation
window (64x64)
dy=32; % likewise
I=size(img1,2)/dx-1; % size(img1,2)=columns of img1=1376
J=size(img1,1)/dy-1; % 1024/32 is twice the number of
interrogation areas that fit vertically in the image.
% if we calculate a vector for every half of an int/tion window we
get 1024/32-1 vectors
Total_Number_Of_Vectors=I*J;

Maximum_Upixel_Speed=2*dx/4; % a particles displacement
between two shots % should be no greater than one fourth
of the interrogation region
Maximum_Vpixel_Speed=2*dy/4;
Minimum_Speed=0.01;

Path=['C:\Users\user\Desktop\Processing Data\Z_17th July 2nd
exp\',t,'\Analysis\*.vec'];
Text_Files = dir(Path); % Get the selected file data
Text_File_Names = {Text_Files.name}; % Create a cell array of file
names

cd(['C:\Users\user\Desktop\Processing Data\Z_17th July 2nd
exp\',t,'\Analysis\']);

for iFile = 1:numel(Text_File_Names);
fid=fopen(Text_File_Names{iFile}); % get file id-

```

```

        A{iFile}=textscan(fid,'%f , %f ,%f, %f ,%f','headerlines',1); %
putting commas
        %between the format means they will be omitted during file
scanning
        fclose(fid);
        Xpixel=A{1}{1}; Ypixel=A{1}{2};
        Upixel(:,iFile)=A{iFile}{3};      Vpixel(:,iFile)=A{iFile}{4};
        CON(:,iFile)=A{iFile}{5};
    end;

% the following loop removes invalid velocities (measurements whose
last
% column (CON) equals -1, as well as too big and too small velocities
% when a velocity is invalid its value is set to zero
number_of_invalid_speeds=0;
for i=1:size(CON,1);
    number_of_invalid_speeds=0;
    for j=1:size(CON,2);
        if CON(i,j)==-1 ||
abs(Upixel(i,j))>=Maximum_Upixel_Speed ||...
        abs(Vpixel(i,j))>=Maximum_Vpixel_Speed ||...
        abs(Upixel(i,j))<=Minimum_Speed
||abs(Vpixel(i,j))<=Minimum_Speed;
            Upixel(i,j)=0;
            Vpixel(i,j)=0;
            index(i,j)=1; % This index shows the speed at that
                % point is invalid
            number_of_invalid_speeds=number_of_invalid_speeds+1;
        else
            index(i,j)=0;
        end
    end
    num_inv_speed(i,1)=number_of_invalid_speeds;
end

X=Xpixel/pixel_to_length_ratio;
Y=Ypixel/pixel_to_length_ratio;
Uspeed=Upixel*1000/(dt*pixel_to_length_ratio); %Upixel is the
displacement in pixels
Vspeed=Vpixel*1000/(dt*pixel_to_length_ratio); % *1000 turns m/s to
% mm/s
% the following loop calculates a mean velocity for each point in the
field
% by averaging the measurements coming from all files for that point.
% Attention: To calculate the average U and V we do not divide by the
% number of elements in a row but by the number of non- zero elements
for i=1:size(Uspeed,1);
    Num_nonzero_elements_Uspeed(i)=sum(Uspeed(i,:)~=0);
    Num_nonzero_elements_Vspeed(i)=sum(Vspeed(i,:)~=0);

    if Num_nonzero_elements_Uspeed(i)~=0;
        U(i,1)=sum(Uspeed(i,:))/ Num_nonzero_elements_Uspeed(i);
    else
        U(i,1)=0;
    end;

    if Num_nonzero_elements_Vspeed(i)~=0;
        V(i,1)=sum(Vspeed(i,:))/Num_nonzero_elements_Vspeed(i);
    else
        V(i,1)=0;
    end;
end;

```

```

end;

%%% calculating RMS of U-speed and V-speed for each point
for i=1:I*J;
    ursum=0; vrsum=0;
    if Num_nonzero_elements_Uspeed(i)==0;
        URMS(i,1)=0;
    else
        for ti=1:numel(Text_File_Names);
            if index(i,ti)==0;
                ursum=ursum+(Uspeed(i,ti)-U(i,1))^2;
            else
                end
            end
        end
        URMS(i,1)=sqrt(ursum/(numel(Text_File_Names)-. . .
        num_inv_speed(i,1)));
    end

    if Num_nonzero_elements_Vspeed(i)==0;
        VRMS(i,1)=0;
    else
        for ti=1:numel(Text_File_Names);
            if index(i,ti)==0;
                vrsum=vrsum+((Vspeed(i,ti)-V(i,1)))^2;
            else
                end
            end
        end
        VRMS(i,1)=sqrt(vrsum/(numel(Text_File_Names)-. . .
        num_inv_speed(i,1)));
    end
end

%%% IN THE FOLLOWING PART WE USE A USER SPECIFIED MASK ON EACH IMAGE
%%% TO CUT OFF ANY VECTORS THAT APPEAR OUTSIDE THE CHANNEL

counter=1;
for k=1:31;
    Ufinal(k,1:42)=U(counter:counter+42-1)';
    Vfinal(k,1:42)=V(counter:counter+42-1)';
    counter=counter+42;
end

figure(40); img2=img1; imshow(img2);

if num==16||num==17||num==18;
    h=imrect;
else;
    h = imfreehand; %select the part of the channel that you want to keep
end;
M = ~h.createMask();
% % img2(M)=0;

% % % keeping only that part of the vector field specified by the
% % % mask M some velocities appear on, or beyond the walls of the
% % % channel and we want to eliminate them

Xi=[33:32:993]';
Yi=[32:32:1344];

```

```

X_index_for_M= repmat(Xi,1,42);
Y_index_for_M= repmat(Yi,31,1);

for i=1:J;
    for j=1:I;
        if M(X_index_for_M(i,j),Y_index_for_M(i,j))==1;
            Ufinal(i,j)=0;
            Vfinal(i,j)=0;
        else
            end
        end
    end

%%% now that we have zeroed out speeds that appear outside the
%%% channel, in order to plot the vectors and to have a (1302x5)
%%% matrix that we can use in tecplot, we need to turn the Ufinal
%%% and Vfinal matrices back into column vectors, such that the first
%%% element corresponds to the point (32,991) , the second to
%%% (64,991) etc.

n=1;
for i=1:31;
    Uquiver(n:n+42-1,1)=Ufinal(i,1:42);
    Vquiver(n:n+42-1,1)=Vfinal(i,1:42);
    n=n+42;
end

figure(num);
img1=flipud(img1); % % we flip the image because it is going to be
                  % automatically reflipped by matlab when we
                  % superimpose the graph on it

imshow(img1); hold on;
quivermatrix=[Xpixel Ypixel Uquiver Vquiver];

% % % plotting only non- zero vectors
K = ~(quivermatrix(:,3)==0 & quivermatrix(:,4)==0);
quiver(quivermatrix(K,1),quivermatrix(K,2),quivermatrix(K,3),quiverma
trix(K,4),'m','linewidth',2);

% % % When we superimpose a graph on an image MATLAB reverses the Y-
axis so that
% % % Y gets larger as you move down. This corresponds to making the
Y-axis
% % % increase in the same direction as image raster coordiantes (top
left corner
% % % of the image is the origin). When the plot is made, it is using
the new,
% % % reversed Y-axis, thus explaining why it is flipped. We can tell
MATLAB to
% % % flip the axis back to normal, with the following command;

set(gca,'ydir','normal');

% % % The image is now flipped back to normal as well

TitleText=char(GraphTitleNames(num))
title([TitleText],'Color','b','FontSize',18)

```

```

xlabel('X','FontSize', 20) % x-axis label
ylabel('Y','FontSize', 20) % y-axis label

% % % saving current figure
saveas(gcf,['C:\Users\user\Desktop\Processing Data\Z_17th July 2nd
exp\MATLAB_GRAPHS\',t, '.fig']);
saveas(gcf,['C:\Users\user\Desktop\Processing Data\Z_17th July 2nd
exp\MATLAB_GRAPHS\',t, '.tiff']);
hold on;
tecplotCON=zeros(Total_Number_Of_Vectors,1)+1;% We create a vector of
ones
% % %to include as the last column in the output file that will be
used to plot
% % %the data contours in tecplot

tecplot_matrix_speed{num}=[X Y Uquiver Vquiver tecplotCON];
tecplot_matrix_RMS{num}=[X Y URMS VRMS tecplotCON];

end

```

Παράρτημα 2

```
clc

clear all
% change current folder
cd('D:\ΚατερίναD\Βιβλιοθήκες\Mech.ntua\Διπλωματική\8july\3mluturn\...
RawData');

% Get the selected file data
images = ir('D:\ΚατερίναD\Βιβλιοθήκες\Mech.ntua\Διπλωματική\8july\...
3mluturn\RawData\*.tiff');
imageNames = {images.name}; % Create a cell array of file names

img1=imread(imageNames{1}); % reads 1st image
img1=rgb2gray(img1); %converting to greyscale image
img1=imadjust(img1); %imadjust works on greyscale images %for c
%clearer visualization

figure(28); imshow(img1); % opens a figure for the user to
% handcrop the image

% % h = imfreehand; %select the part of the channel that you want to
% % keep shape of selection can be arbitrary

h = imrect; % selecting a rectangular area
M = ~h.createMask(); % we create the mask that we will use for every
%picture in the folder

figure(28); imshow(img1); % displays cropped image

img1=imread(imageNames{1}); % reads image file
img1=rgb2gray(img1); % converting to greyscale image

img30=imadjust(img1); % imadjust works on greyscale images
% for clearer visualisation

SatisfiedWithAngle=0;

% In the following loop, we rotate the image by t degrees, until the
% channel becomes vertical. The we can separate the image into
% vertical columns and count the number of particles in each of
% them, thus creating a concentration profile
% We find the correct angle of rotation after a few trials
while SatisfiedWithAngle==0;
    t=input('Please enter desired rotation angle t(degrees)...
around the vertical axis: ');
    img20=imrotate(img30,t);
    figure(1); imshow(img30); hold on;
    for k = 1:25:size(img30,2)
        x = [k k];
        y = [1 size(img30,1)];
        xrot=x.*cosd(t)-y.*sind(t);
        yrot=x.*sind(t)+y.*cosd(t);
        xlim = get(gca,'XLim');
        a = (yrot(2)-yrot(1))/(xrot(2)-xrot(1));
        b = yrot(2)-a*xrot(2);

        y1 = a*xlim(1) + b;
        y2 = a*xlim(2) + b;
```

```

        line([xlim(1) xlim(2)],[y1 y2],'Color','r')
    % We draw these rotated lines. Once they are parallel to the
    % channel walls, we have the desired angle of rotation.
    end

    SatisfiedWithAngle=input('Are you satisfied with angle. . .
    of rotation t? if yes, press 1, if not, press 0: ');
    if SatisfiedWithAngle~=0 && SatisfiedWithAngle~=1;
        SatisfiedWithAngle=input('Try again! Please type 0(not
    satisfied) or 1(satisfied): ');
    else
        end
    hold off
end

% The waitbar displays the progress while the code is running
hh= waitbar(0,'Please wait...');

% This is where the main loop that reads all image files and
%processes them starts
for iFile = 1:numel(imageNames);

% The brightness of the second laser pulse is usually greater, so we
% might have to use different luminosity and particle size criteria,
% depending on whether a picture was taken on the first or second
% pulse of the laser.

%     if mod(iFile,2)== 0;         % iFile is an even number
%         luminosityLowerLimit=12;
%         minParticleSize=8;
%         maxParticleSize=60;
%     else
%         luminosityLowerLimit=9;
%         minParticleSize=5;
%         maxParticleSize=60;
%     end

img1=imread(imageNames{iFile});        % reads image file
img10=img1;
img1=rgb2gray(img1);        % converting to greyscale image
img30=imadjust(img1);      % imadjust works on greyscale images
                             % (used for clearer visualization)
img20=imrotate(img30,t);

% Subtracting two consecutive images removes noise that is common for
% both of the pictures (for instance; fixed bright spots etc.)
    if iFile<=(numel(imageNames)-2);
        J=imread(imageNames{iFile+2}); J=rgb2gray(J);
    else
        J=imread(imageNames{iFile-2}); J=rgb2gray(J);
    end
img1=imsubtract(img1,J);

%keeping only that part of the image specified by the mask M
img1(m)=0;

img1 = imrotate(img1,t);

```

```

% % Displaying the histogram.
%figure(11); imshow(img1);
% [pixelCount, grayLevels] = imhist(img1);
% subplot(2, 2, 2);
% bar(pixelCount);
% title('Histogram of original image');
% xlim([0 grayLevels(end)]); % Scale x axis manually.
% grid on;

% The previous for loop zeroed out the part of the image
% not included in the mask. Here we zero out pixels that are
% too dim →Zero corresponds to black. The value 255 (white)is
% assigned to pixels with luminosity between 10 and and 255.

for mm = 1:size(img1,1);
    for nn = 1:size(img1,2);
        if img1(mm,nn) <= 255 && img1(mm,nn) >= 10;
            img1(mm,nn)=255;
        else
            img1(mm,nn)=0;
        end
    end
end

% the following part is optional, and whether we use it or not
% depends on whether or not the borders of the image are clean, or
% whether the processing we have done so far, has left us with large
% bright areas at the borders.

% CLEARING ONLY THE RIGHT AND LEFT BORDER OF THE IMAGE!!
% the command img1=imclearborder(img1); %removes objects attached
% to all four borders of the image. For grayscale images,
% imclearborder tends to reduce the overall intensity level in
% addition to suppressing border structures. If we use the command,
% we do so on a binary image.

% %To get rid of objects touching just two borders is simple. Simply
% store the 2 edges of the image that you want to keep. Then zero out
% those 2 edges and call imclearborder(). Then restore the 2 edges
% that you previously zeroed out.

% Store the two edges (top and bottom)
% topEdge = img1(1, :);
% bottomEdge=img1(end,:);

% % Zero out 2 edges (top and bottom)
% img1(1, :) = false;
% img1(end,:)= false;
%
% % Clear objects touching left and right edge
% img1 = imclearborder(img1);
% % Restore the 2 edges.
% img1(1, :) = topEdge;
% img1(end,:)=bottomEdge;
% %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

img2 = xor(bwareaopen(img1,5), bwareaopen(img1,60));

```



```

%% the command img2 = xor(bwareaopen(img1,a), bwareaopen(img1,b));
% removes objects less than 'a' pixels in size and objects greater
% than 'b' in size

labeledImage = bwlabel(img2, 8); % Label each dot so we can make
% measurements of it. The bwlabel command returns the matrix
% 'labeledImage' of the same size as img2, containing labels for the
% connected objects found in img2

% % The elements of L are integer values greater than or equal to 0.
% The pixels labeled 0 are the background. The pixels labeled 1 make
% up one object. The pixels labeled 2 make up a second object; and so
% on.

% % Now let's trace the boundaries for each object
[B,L] = bwboundaries(img2,'noholes');
% % B, a P-by-1 cell array, where P is the number of objects and
% holes. Each cell in the cell array contains a Q-by-2 matrix.
% Each row in the matrix contains the row and column coordinates of
% a boundary pixel. Q is the number of boundary pixels for the
% corresponding region.

% fill any holes, so that regionprops can be used to estimate
% the area enclosed by each of the boundaries
img2 = imfill(img2,'holes');

% get all of the properties for each object (particle)
% properties include area, centroid, pixel value, perimeter etc
dotMeasurements = regionprops(labeledImage, img2, 'all');
numberOfDots = size(dotMeasurements, 1);

% THE FOLLOWING SECTION CALCULATES AND DISPLAYS THE CIRCULARITY NEXT
% TO EACH OBJECT ON THE ADJUSTED IMAGE
% Circularity can be used to cut off objects that are
% not round enough. Especially in cases where we use a higher
% magnification and bigger particles, particles should appear round
% and objects that occur as a result of noise should be of irregular
% shape. In such a case roundness used as a criterion can reduce
% noise. In our case the particles appear small in the pictures and
% circularity does not prove a very useful criterion.

% figure(1); imshow(img20); hold on;
% % % % Estimating roundness for each object in the image
% stats=regionprops(L,'Area','Centroid');
% threshold=0.8;
% % % loop over the boundaries
% for k = 1:numberOfDots
%
% % %obtain (X,Y) boundary coordinates corresponding to label 'k'
% boundary = B{k};
%
% % %compute a simple estimate of the object's perimeter
% delta_sq = diff(boundary).^2;
% perimeter = sum(sqrt(sum(delta_sq,2)));
%
% % %obtain the area calculation corresponding to label 'k'
% area = stats(k).Area;
%
% % %compute the roundness metric
% metric = 4*pi*area/perimeter^2;
% Metric(k)=metric;
% % % display the results

```

```

% metric_string = sprintf('%2.2f',metric);
%
% text(boundary(1,2)-35,boundary(1,1)+13,metric_string,...
% 'Color','y','FontSize',14,'FontWeight','bold');
%
% end
% hold off

% % % Cut off any objects that do not fulfil the roundness criterion
% img2=ismember(labeledImage,find(Metric>=threshold));
% [B,L] = bwboundaries(img2,'noholes');
% labeledImage = bwlabel(img2, 8);

% % % Get all the dot properties once again, after having cut off
% % % some objects
dotMeasurements = regionprops(labeledImage, img2, 'all');
numberOfDots = size(dotMeasurements, 1);
dotECD = zeros(1, numberOfDots);

% % Print header line in the command window.

% % % fprintf(1,'Blob #      Mean Intensity Area Perimeter...
Centroid      Diameter\n');

% Loop over all dots printing their measurements to the command
window.

allDotCentroids=zeros(1,2*numberOfDots);

m=1;
for k = 1 : numberOfDots      % Loop through all dots.

% % %      % Find the mean intensity of each dot

% thisDotPixels = dotMeasurements(k).PixelIdxList; % Get list
% % % of pixels in current dot

% meanGL = mean(img10(thisDotPixels)); % Find mean intensity (in
% % % original image!)

%dotArea = dotMeasurements(k).Area;          % Get area.
%dotPerimeter = dotMeasurements(k).Perimeter; % Get perimeter.
dotCentroid = dotMeasurements(k).Centroid;%Get centroid one at a time

    allDotCentroids(m) = dotCentroid(1,1);
    allDotCentroids(m+1)=dotCentroid(1,2);
    m=m+2;
%dotECD(k) = sqrt(4 * dotArea / pi);
% % % Compute ECD - Equivalent Circular Diameter.

% fprintf(1,'#%2d %17.1f %11.1f %8.1f %8.1f %8.1f % 8.1f\n',k, ...
meanGL, dotArea, dotPerimeter, dotCentroid, dotECD(k));

end

centroidsX = allDotCentroids(1:2:end-1);
centroidsY = allDotCentroids(2:2:end);

% % % The following section plots the centroid and boundary of each
% % % particle on the image

```

```

%% % figure(2); imshow(img20);
%% % hold on
%% % for k = 1 : numberOfDots;           % Loop through all dots
%% % % % plotting the dot centroids
%% %     plot(centroidsX(k), centroidsY(k), 'r+',...
%% %         'MarkerSize', 10, 'LineWidth', 2);
%% % end;
%% % % % plot the border of each object
%% % for k = 1:numberOfDots
%% %     boundary = B{k};
%% %     plot(boundary(:,2), boundary(:,1), 'g', 'LineWidth', 1.2)
%% % end
%% % text(10,10, strcat('\color{green}Objects...
%% %     Found:', num2str(length(B))))
%% % hold off;

%% % figure(3); imshow(img2); hold on;

%% % Plotting centroids on black and white rotated image
%% % By holding on we keep the plot open for the vertical lines
%% % that slice the image to be drawn during the next for loop

%% for k = 1 : numberOfDots
%%     plot(centroidsX(k), centroidsY(k), 'r+', 'MarkerSize', ...
%%         10, 'LineWidth', 2);
%% end

Mi = size(img2,1);
N = size(img2,2);
step=16;           % We separate the iamge into vertical sectors, each
                  % with a width of 'step' pixels

    if iFile==1;
        xmin=0; % start looking for particles at that x
        xmax=size(img2,2); % stop looking for particles at that x
        columnsA=size([xmin:step:xmax],2)-1;
        A=zeros(1,columnsA);
    else
    end

m=1;
k =xmin:step:xmax ;
for w=1:size(k,2)-1;
    x = [k(w) k(w)];
    y = [1 Mi];
    for n=1:numberOfDots
        if k(w)<centroidsX(n)&&centroidsX(n)<=k(w+1);
            A(1,m)=A(1,m)+1;
        else
        end
    end
    m=m+1;
waitbar(iFile / numel(imageNames) ) % updating the waitbar value after
                                     % each iteration
end
close(hh);

```