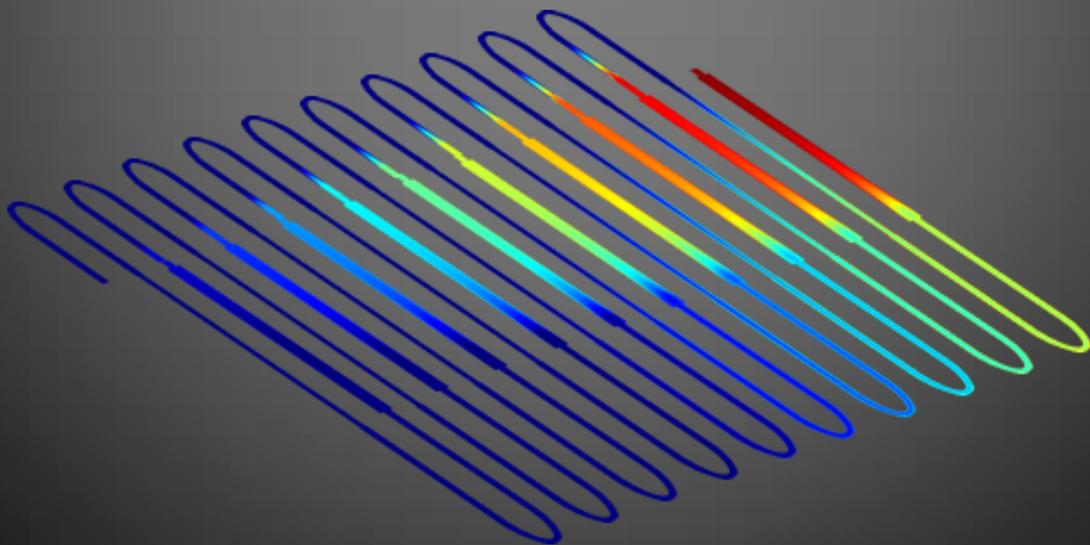


Συγκριτική υπολογιστική μελέτη μικρορευστονικών διατάξεων για την ενίσχυση δειγμάτων DNA μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης



National
Technical
University
of Athens
Εθνικό
Μετσόβιο
Πολυτεχνείο



Institute
Nanoscience
Nanotechnology
Ινστιτούτο
Νανοεπιστήμης
Νανοτεχνολογίας

Βασίλειος
Παπαδόπουλος

Ηλεκτρολόγος Μηχανικός &
Μηχανικός Υπολογιστών
Ε.Μ.Π.

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΝΑΝΟΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ
ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ: Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ"

ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ &
ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ: Ε.Μ.Π.

Δ.Π.Μ.Σ. ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ & ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Κόκκορης Γεώργιος

Αθήνα 2015

Abstract

Two types of microfluidic devices for the implementation of polymerase chain reaction (PCR) are compared through a computational study; PCR is used for the amplification of deoxyribonucleic acid (DNA) and involves thermal cycles in three temperature steps with typical values of 95°C (denaturation), 55°C (annealing), and 72 °C (extension). The first device is a continuous flow device and the second is a static chamber device. In the first device the thermal cycles are implemented with the flow of DNA sample through the microchannels passing repeatedly from different thermal zones. In the second device the thermal cycles are implemented through appropriate time-variation of the temperature of the static chamber. The geometrical specifications for both devices are imposed from the flexible printed circuit (FPC) technology.

The mathematical model couples the equations of laminar flow, heat transfer in both solid and fluid, mass conservation of species, joule heating, and temperature control feedback. The comparison is performed under identical conditions; the same material stack, i.e. flexible thin polymeric films with metal layers for integration of microheaters, the same volume of PCR mixture, and the same PCR protocol. Performance is quantified in terms of DNA amplification, energy consumption, and total operating time. The calculations show that the efficiency of DNA amplification is almost the same in both devices. However, contrary to what is generally believed, the static chamber device fabricated on thin substrates (<1000 μm), despite the necessary temperature ramping up within each thermal cycle, requires (2-4 times) lower energy consumption compared to the continuous flow device. The constant energy losses to the ambient continuously during the operation of the continuous flow device overcome the energy required for the thermal cycling of the static chamber device. However, this result is reversed when the substrate thickness increases above 1000 μm. Concerning the speed, the total time required for the static chamber device to complete a specified number of thermal cycles is only 1.1 to 2 greater than that of the continuous flow device. This outcome is satisfactory, given that in the static chamber device both the PCR sample and the device undergo the thermal cycle, and occurs due to relatively rapid heating and cooling rates for such thin substrates. These advantages for static chamber micro-PCR devices arise as a result of the small substrate thickness where microchannels and microheaters are closely spaced. Both the low energy consumption as well as the inherent protocol flexibility indicate an attractive potential for static chamber micro-PCR devices realized on flexible thin substrates with integrated microheaters for Lab-on-a-Chip (LoC) systems.

Apart from the comparison of the two types of devices, a design of a continuous flow microfluidic device with a smaller footprint is implemented through a computational study. The small footprint maybe necessary for the LoC system integration. However, it reduces the overall length of the heaters and the temperature controller specifications are not met. By integrating multiple metallic layers, using the printed circuit board (PCB) technology, the minimum resistance values at the heaters are met, increasing though the thickness of the device. At the same time, the materials of low cost and commercially available PCB technology exhibit high in-plane thermal conductivity. Therefore the combination of increased device thickness and high thermal conductivity leads to the lack of temperature

uniformity in the thermal zones and lack of thermal isolation between the zones, deteriorating the device efficiency. The computational study shows that the thermal isolation between the zones with the smaller footprint is improved by a distance optimization between the thermal zones. Further improvement is achieved, and consequently an efficient device is proposed, by the formation of trenches between the zones.

Περίληψη

Συγκρίνονται μέσω υπολογιστικής μελέτης δύο μικρορευστονικές διατάξεις για την υλοποίηση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR). Η PCR χρησιμοποιείται για την ενίσχυση (πολλαπλασιασμό) του δεσοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) και περιλαμβάνει θερμικούς κύκλους σε τρία θερμοκρασιακά επίπεδα με τυπικές τιμές 95°C (βήμα αποδιάταξης), 55°C (βήμα υβριδισμού) και 72 °C (βήμα επιμήκυνσης). Η πρώτη είναι διάταξης συνεχούς ροής και η δεύτερη στατικού θαλάμου. Οι θερμικοί κύκλοι στην πρώτη διάταξη υλοποιούνται μέσω της μετακίνησης του δείγματος DNA σε μικροκανάλι που διέρχεται επαναλαμβανόμενα από διαφορετικές θερμικές ζώνες. Στη δεύτερη διάταξη, οι θερμικοί κύκλοι υλοποιούνται με κατάλληλη αυξομείωση της θερμοκρασίας του στατικού θαλάμου. Οι γεωμετρικές προδιαγραφές και για τις δύο διατάξεις επιβάλλονται από την τεχνολογία εύκαμπτων τυπωμένων κυκλωμάτων (flexible printed circuits, FPC).

Το μαθηματικό μοντέλο που χρησιμοποιείται συνδυάζει τις εξισώσεις συνέχειας και διατήρησης της ορμής, εξισώσεις μεταφοράς θερμότητας σε στερεά και ρευστά, διατήρησης μάζας των ειδών, θέρμανσης μέσω του φαινομένου Joule και αυτομάτου ελέγχου θερμοκρασίας. Η σύγκριση γίνεται υπό τις ίδιες συνθήκες: Ίδια στοιβία υλικών, δηλαδή εύκαμπτα λεπτά πολυμερικά υμένα με ενσωματωμένα στρώματα χαλκού για την ολοκλήρωση των αντιστάσεων θέρμανσης, ίδιος όγκος του δείγματος DNA και ίδιο πρωτόκολλο PCR. Η επίδοση των διατάξεων ποσοτικοποιείται με βάση την ενίσχυση του DNA, την κατανάλωση ενέργειας, και το συνολικό χρόνο λειτουργίας. Οι υπολογισμοί δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα σε ενίσχυση του DNA είναι σχεδόν η ίδια και στις δύο διατάξεις. Σε αντίθεση με τη γενική πεποίθηση, η λειτουργία διατάξεων στατικού θαλάμου κατασκευασμένων σε λεπτά υποστρώματα (<1000 μm) απαιτεί (2-4 φορές) χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας συγκρινόμενη με αυτή των διατάξεων συνεχούς ροής, παρά τις συχνές μεταβολές των επιπέδων θερμοκρασίας για κάθε θερμικό κύκλο. Οι συνεχείς απώλειες ενέργειας στο περιβάλλον κατά τη διάρκεια της λειτουργίας της διάταξης συνεχούς ροής (που διαθέτει μεγαλύτερη επιφάνεια από την στατικού θαλάμου) ξεπερνούν την ενέργεια που απαιτείται για τους θερμικούς κύκλους της διάταξης στατικού θαλάμου. Ωστόσο δεν συμβαίνει το ίδιο όταν αυξάνει το πάχος του υποστρώματος πάνω από 1000 μm. Σχετικά με την ταχύτητα, ο συνολικός χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση συγκεκριμένου αριθμού θερμικών κύκλων της PCR στη διάταξη στατικού θαλάμου είναι 1,1 με 2 φορές μεγαλύτερος από εκείνον της διάταξης συνεχούς ροής. Με δεδομένο ότι στη διάταξη στατικού θαλάμου χρειάζεται και το δείγμα και η συσκευή να θερμανθεί και να ψυχθεί για να υλοποιηθούν οι θερμικοί κύκλοι, η επίδοση αυτή είναι ικανοποιητική για τη διάταξη στατικού θαλάμου και επιτυγχάνεται λόγω των σχετικά γρήγορων ρυθμών θέρμανσης και ψύξης των λεπτών υποστρωμάτων. Τα πλεονεκτήματα για τις διατάξεις στατικού θαλάμου προκύπτουν ως αποτέλεσμα του μικρού πάχους του υποστρώματος όπου τα μικροκανάλια και οι θερμικές αντιστάσεις απέχουν ελάχιστα. Τόσο η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας, όσο και η εγγενής ευελιξία για υλοποίηση πρωτοκόλλων PCR υποδεικνύουν μια ελκυστική δυνατότητα για χρήση των διατάξεων στατικού θαλάμου που κατασκευάζονται σε εύκαμπτα λεπτά υποστρώματα με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις σε μικρο-εργαστήρια σε ψηφίδα (Lab-On-a-Chip systems).

Πέρα από τη σύγκριση των δύο διατάξεων υλοποιείται και σχεδιασμός μικρορευστονικής διάταξης ενίσχυσης DNA συνεχούς ροής μικρού αποτυπώματος. Το μικρό αποτύπωμα μπορεί να είναι απαραίτητο για την ολοκλήρωση της διάταξης σε μικρο-εργαστήριο σε ψηφίδα, ταυτόχρονα όμως μειώνει το συνολικό μήκος των αναγκαίων θερμικών στοιχείων ελαττώνοντας την αντίστασή τους. Το αποτέλεσμα είναι η αδυναμία πλήρωσης των προδιαγραφών λειτουργίας του ελεγκτή θερμοκρασίας. Για να μεγαλώσει η αντίσταση και να ικανοποιηθούν οι προδιαγραφές, χρησιμοποιούνται πολλαπλά μεταλλικά επίπεδα στη διάταξη κάνοντας χρήση της τεχνολογίας τυπωμένων κυκλωμάτων (Printed Circuit Board, PCB). Ωστόσο, το πάχος της διάταξης αυξάνεται. Ταυτόχρονα, τα υλικά της τεχνολογίας PCB παρουσιάζουν υψηλή θερμική αγωγιμότητα κατά το επίπεδο της διάταξης. Ο συνδυασμός της αύξησης του πάχους των διατάξεων και της υψηλής θερμικής αγωγιμότητας εμποδίζουν την επίτευξη της θερμοκρασιακής ομοιομορφίας στις θερμικές ζώνες και τη θερμική απομόνωση μεταξύ των ζωνών, τα οποία είναι απαραίτητα για την αποδοτική λειτουργία της διάταξης. Για την ομαλή λειτουργία διάταξης μικρού αποτυπώματος η αριστοποίηση της απόστασης μεταξύ των ζωνών βελτίωσε τη θερμική απομόνωση μεταξύ των ζωνών. Για την περαιτέρω βελτίωση σχεδιάστηκαν διάκενα μεταξύ των ζωνών που εξασφάλισαν ικανοποιητική θερμική απομόνωση μεταξύ των ζωνών και θερμοκρασιακή ομοιομορφία εντός των ζωνών.

Πρόλογος

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Νανοτεχνολογίας και Μικροσυστημάτων του INN, ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος, στα πλαίσια του διατμηματικού προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Μικροσυστήματα και Νανοδιατάξεις» του ΕΜΠ. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Τον Δρ. Κόκκορη Γεώργιο, μεταδιδακτορικό ερευνητή στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης & Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», για την άριστη καθοδήγηση που παρείχε στην εργασία αυτή. Στη θέση του ως επιβλέπων οδήγησε την εργασία αυτή εξάγοντας πολύτιμα συμπεράσματα και οδηγώντας την συστηματικά σε κατεύθυνση όπου θέτονταν οι κατάλληλοι στόχοι. Ο τρόπος εργασίας του θεωρώ πως είναι παραδειγματικός στη διεξαγωγή έρευνας.

Την Δρ. Τσερέπη Αγγελική, διευθύντρια ερευνών Α' στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης & Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», η οποία μου έδωσε τη δυνατότητα να ασχοληθώ ερευνητικά με το ενδιαφέρον πεδίο των μικρο-εργαστηρίων σε ψηφίδα, προσφέροντας πολύτιμες συμβουλές κατά τη διάρκεια της εργασίας αυτής.

Την συνάδελφο μου Κεφαλά Ιωάννα, Χημικό Μηχανικό ΕΜΠ, για την άριστη συνεργασία μας, την μετάδοση γνώσης σε επιστημονικούς τομείς που δεν είχα διδαχτεί, την έμφυτη διεπιστημονικότητα της καθώς και την ηθική της συμπαράσταση κατά τη διάρκεια των σπουδών μας.

Την υποψήφια διδάκτωρ Κάπρου Γωγώ, Χημικό Μηχανικό ΕΜΠ, για τη συνεργασία μας καθώς και για την άψογη πειραματική και κατασκευαστική της δραστηριότητα εντός του εργαστηρίου Νανοτεχνολογίας και Μικροσυστημάτων του INN.

Τους φίλους μου Κωνσταντίνο Κεφαλά, Πέτρο Τσαμπά, Ελένη Βάθη και Όλγα Βασιλειάδου για την πολύτιμη φιλία μας.

Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου, Σωτηρία και Ευάγγελο Παπαδόπουλο, την αδερφή μου Ελπίδα Παπαδοπούλου και θεία μου Αθηνά Ευσταθιάδου για τη συμπαράσταση τους.

Η εργασία αυτή υποστηρίχτηκε εν μέρει από το πρόγραμμα της ΕΕ (FP7-ICT-2011.3.2) LOVE-FOOD: Love wave fully integrated Lab-on-Chip platform for food pathogen detection (Grant agreement no: 317742) και το έργο GSRT “SYNERGASIA” “Converging Lamb wave sensors with microtechnologies towards an integrated Lab-on-chip for clinical diagnostics-Lambsense”.

Αφιερώνεται στον Πατέρα μου

Περιεχόμενα

Abstract	2
Περίληψη.....	4
Πρόλογος.....	6
Περιεχόμενα.....	7
Λίστα σχημάτων.....	10
Λίστα πινάκων	15
1 Εισαγωγή	16
1.1 Εισαγωγή στα μικρορευστονικά συστήματα	17
1.2 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).....	17
1.3 Ιστορική αναδρομή για διατάξεις μPCR.....	20
1.3.1 Στατικού θαλάμου μPCR	20
1.3.2 Συνεχούς ροής μPCR	21
1.3.3 Μικρορευστονικές διατάξεις που κατασκευάζονται στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος.....	26
1.4 Θερμικά στοιχεία για τις διατάξεις μPCR.....	28
1.4.1 Εξωτερικές αντιστάσεις.....	28
1.4.2 Ολοκληρωμένες αντιστάσεις σε μPCR	30
1.4.3 Ανέπαφη θέρμανση σε συσκευές μPCR.....	32
1.5 Υπολογιστικά μοντέλα	34
1.5.1 Μοντέλα για διατάξεις μPCR συνεχούς ροής.....	36
1.5.2 Μοντέλα για διατάξεις μPCR στατικού θαλάμου	38
1.5.3 Μοντέλα κινητικής ενίσχυσης του DNA	40
1.5.4 Μοντέλα ελεγκτών θερμοκρασίας.....	42
1.6 Σκοπός της εργασίας.....	42
2 Βασικές αρχές υπολογιστικών μοντέλων	45
2.1 Εισαγωγή.....	46
2.2 Μηχανική ρευστών	46
2.2.1 Η έννοια του ρευστού	46
2.2.2 Η υπόθεση του συνεχούς μέσου	47
2.2.3 Ιδιότητες ρευστών.....	48
2.2.4 Είδη ροής	53
2.3 Μεταφορά θερμότητας – Διατήρηση μάζας των ειδών	56
2.3.1 Μεταφορά με αγωγή	57

2.3.2	Μεταφορά με συναγωγή.....	60
2.3.3	Μεταφορά με ακτινοβολία	62
2.4	Φαινόμενα θερμοηλεκτρισμού	64
2.5	Κινητικές PCR.....	68
2.5.1	Ιδανική συμπεριφορά	68
2.5.2	Πραγματική συμπεριφορά	69
2.6	Συστήματα αυτομάτου ελέγχου	69
2.6.1	Εισαγωγή	69
2.6.2	Μέθοδοι σχεδίασης συστημάτων αυτομάτου ελέγχου.....	71
2.7	Αριθμητική επίλυση.....	72
2.7.1	Μέθοδοι διακριτοποίησης	72
2.7.2	Μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων	73
3	Υπολογιστικά μοντέλα διατάξεων μPCR συνεχούς ροής και στατικού θαλάμου.....	74
3.1	Εισαγωγή.....	75
3.2	Οι εξισώσεις του μοντέλου	77
3.3	Συνοριακές συνθήκες.....	78
3.4	Σύστημα αυτομάτου ελέγχου θερμοκρασίας	80
3.5	Κινητικές PCR.....	83
3.6	Διάγραμμα ροής της προσομοίωσης.....	84
3.7	Υπολογιστική επίλυση μοντέλων.....	86
4	Αποτελέσματα.....	89
4.1	Εισαγωγή.....	90
4.2	Σύγκριση διατάξεων συνεχούς ροής και στατικού θαλάμου.....	90
4.2.1	Διάταξη μPCR συνεχούς ροής.....	90
4.2.2	Διάταξη μPCR στατικού θαλάμου	93
4.2.3	Συγκριτικά αποτελέσματα	95
4.3	Σχεδιασμός διάταξης συνεχούς ροής με μικρότερο αποτύπωμα	97
4.3.1	Βελτιστοποίηση αποστάσεων των αντιστάσεων.....	99
4.3.2	Εισαγωγή διακένων μεταξύ θερμοκρασιακών ζωνών	101
4.3.3	Ο ρόλος και η θερμοκρασία στα μεταλλικά επιπέδων χαλκού.....	101
5	Συμπεράσματα	104
	Δημοσίευση εργασιών σε επιστημονικά περιοδικά και παρουσίαση επιστημονικών εργασιών σε συνέδρια	107
	Πίνακας βιβλιογραφίας.....	109

Παράρτημα Α.....	114
Γενική περιγραφή της μεθόδου των πεπερασμένων στοιχείων	114
Διακριτοποίηση γεωμετρίας.....	114
Υπολογισμός μητρώου ακαμψίας στοιχείου	114
Διαμόρφωση του τελικού συστήματος ακαμψίας.....	123
Σχηματισμός ολικού μητρώου ακαμψίας από το συναθροισμένο του	124
Επίλυση του τελικού συστήματος.....	125
Γενικευμένη μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων	125
Εξισώσεις πεπερασμένων στοιχείων προβλήματος ροής.....	127
Παράρτημα Β	129
Κώδικας προσομοίωσης λειτουργίας ελεγκτή θερμοκρασίας	129
Κώδικας υπολογισμού φυσικού προβλήματος	130
Κώδικας εγγραφής αρχείου καταγραφής	134

Λίστα σχημάτων

Εικόνα 1 – Θερμικός κύκλος πρωτοκόλλου PCR και εφαρμογή πολλών θερμικών κύκλων.....	18
Εικόνα 2 – Συμβατικές διατάξεις θερμοκυκλοποιητών (thermal cyclers).....	19
Εικόνα 3 – Κατηγορίες διατάξεων PCR.....	20
Εικόνα 4 – Σκαρίφημα της μPCR ΣΘ που περιγράφεται στην αναφορά (Wilding et al. 1994).....	21
Εικόνα 5 – Σχηματικό διάγραμμα της πρώτης ΣΡ PCR (Nakano et al. 1994).....	21
Εικόνα 6 – Σχηματικό διάγραμμα συνεχούς ροής PCR σε ψηφίδα: (α) Διάταξη των τριών θερμοκρασιακών ζωνών της PCR οι οποίες διατηρούνται σε θερμοκρασίες 95°C, 77°C και 60°C. Μία μέθοδος άντλησης μέσω πίεσης χρησιμοποιείται για την έγχυση του δείγματος μέσω ενός μοναδικού καναλιού χαραγμένο στην γυάλινη ψηφίδα. (β) Κάτοψη διάταξης: τρεις είσοδοι στα αριστερά της διάταξης και μία έξοδος στα δεξιά. (Korpp et al. 1998).....	22
Εικόνα 7 – (α) Σκαρίφημα της PDMS περιστροφικής ψηφίδας και των αντιστάσεων. Τα κανάλια ελέγχου φαίνονται με γκρι χρώμα, το ρευστό των καναλιών με μαύρο και οι αντιστάσεις με γκρι μοτίβο. Οι τρεις αντιστάσεις είναι τοποθετημένες με την ακόλουθη σειρά (δεξιόστροφα από επάνω δεξιά γωνία): αποδιάταξη, υβριδισμός και κατάλυση. (β) ολοκλήρωση περιστροφικής ψηφίδας και αντιστάσεων. (Liu et al. 2002).....	23
Εικόνα 8 – (α) Εικόνα ψηφίδας διάταξης μPCR/RT-PCR ΣΡ. Η ψηφίδα (4 cm x4.5 cmx0.11 cm) κατασκευάζεται από δύο γυάλινες πλάκες και περιέχει τέσσερις οπές πρόσβασης εισόδου, δύο για την εισαγωγή μειγμάτων PCR και δύο για το RT. Οι οπές πρόσβασης εξόδου τοποθετούνται μετά από 20, 25, 30, 35 και 40 κύκλους για τη συλλογή του ενισχυμένου προϊόντος. (β) Σχηματικό διάγραμμα για το χειροποίητο σύστημα ανίχνευσης μέσω λέιζερ. (Obeid and Christopoulos 2003).....	24
Εικόνα 9 – Εικόνα της διάταξης μPCR των Fukuba et al. (Fukuba et al. 2004).....	24
Εικόνα 10 – (α) Η διάταξη PCR ΣΡ θερμοκρασιακής βαθμίδας των Crews et al., (β) Το μαιανδρικό κανάλι έχει μία γραμμική θερμοκρασιακή βαθμίδα, όπου απότομες θερμοκρασιακές αλλαγές επιτυγχάνονται μέσα στο στενό κανάλι, ενώ αργές αλλαγές συμβαίνουν στο φαρδύ, (γ) Η λεία και κυρτή επιφάνεια του γυάλινου καναλιού, (δ) θερμική βαθμίδα της διάταξης, απεικονισμένη με θερμική κάμερα και (ε) οπτική απεικόνιση τριών διαστάσεων της θερμικής βαθμίδας. (Crews et al. 2008).....	25
Εικόνα 11 – (α) Υλικά και διαδικασία κατασκευής. (β) Γεωμετρία διάταξης. Αποτελέσματα προσομοίωσης που παρουσιάζουν (γ) την θερμοκρασία των αντιστάσεων συναρτήσει της ηλεκτρικής ισχύος, (δ) το προφίλ θερμοκρασίας ενός θερμικού κύκλου κατά μήκος του καναλιού και (ε) τη μοναδιαία κυψελίδα ενός θερμικού κύκλου στην οποία εκτελέστηκε η προσομοίωση. (Mavraki et al. 2011).....	26
Εικόνα 12 – (α) Υλικά και διαδικασία κατασκευής. (β) Γεωμετρία διάταξης. Αποτελέσματα προσομοίωσης που παρουσιάζουν (γ) τη θερμοκρασιακή κατανομή ενός θερμικού κύκλου για 2 ταχύτητες εισόδου καθώς και (δ) την θερμοκρασιακή ομοιομορφία (%) σε κάθε ζώνη. (ε) Θερμοκρασιακή κατανομή της διάταξης από θερμική κάμερα. (στ) φωτογραφία της όλης διάταξης. (ζ) Εικόνα γέλης αгарόζης όπου εμφανίζει το ποσό DNA που παράγεται με δύο διαφορετικές ταχύτητες ροής. (Moschou et al. 2014).....	27
Εικόνα 13 – (α) Διαδικασία κατασκευής διάταξης. (β) Γεωμετρία διάταξης. (γ) Φωτογραφία διάταξης. Εικόνα ηλεκτροφόρησης γέλης δελιχοντας την ενίσχυση (δ) 113 ζευγών βάσεων με τη μέθοδο ισόθερμης PCR HDA και (ε) 157 ζευγών βάσεων με τη μέθοδο κλασσικής PCR. (στ) Φωτογραφία ολόκληρης της πλατφόρμας. (Karpou et al. 2015).....	28
Εικόνα 14 – (α) Σχηματική παρουσίαση της ψηφίδας από PC. (β) Εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Scanning electron microscope, SEM) του προφίλ του καναλιού, (γ) Εικόνα φθορισμού του θερμικά συγκολλημένου τριχοειδούς δικτύου καναλιών (τα κανάλια περιέχουν φθορεσκίνη). Πηγή: (Liu et al. 2001).....	29

Εικόνα 15 – Σχηματική παρουσίαση της ψηφίδας που χρησιμοποιήθηκε (α) για την ενίσχυση PCR και την ηλεκτροφορητική ανάλυση (electrophoretic analysis) πολλαπλών δειγμάτων DNA, (β) για την ταξινόμηση των προϊόντων της PCR μέσω ενός DNA marker. Πηγή: (Waters et al. 1998)	29
Εικόνα 16 – Εικόνα φθορισμού της σειράς των θαλάμων της μPCR των Matsubara et al. (Matsubara et al. 2004).....	30
Εικόνα 17 – Σχηματική εικόνα της διάταξης μPCR των Neuzil et al. (Neuzil et al. 2006). Αποτελείται από έναν εσωτερικό δίσκο με μία αντίσταση και έναν αισθητήρα θερμοκρασίας στο πίσω μέρος, συνδεδεμένα με δύο στενές ακτίνες με τον εξωτερικό δακτύλιο. Ο δακτύλιος αυτός συνδέεται με το υπόστρωμα με μία δοκό. Το δείγμα (φαίνεται με μπλε χρώμα) καλύπτεται με ορυκτέλαιο και είναι τοποθετημένο με μία γυάλινη καλυπτρίδα μικροσκοπίου.....	31
Εικόνα 18 – Φωτογραφία της κατασκευασμένης ψηφίδας των (Neuzil et al. 2006). Η ψηφίδα αποτελείται από 10 ξεχωριστά ελεγχόμενες αντιστάσεις και μπορεί να υλοποιήσει 10 PCR ταυτόχρονα. Το συνολικό του αποτύπωμα είναι 24,2 x 24,2 mm. Δύο αισθητήρες θερμοκρασίας (φαίνονται με τα βελάκια) βαθμονομούνται με ακρίβεια $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$. Χρησιμοποιούνται για να βαθμονομήσουν τους αισθητήρες θερμοκρασίας της μPCR.	31
Εικόνα 19 – (α) Η σχηματική δομή του διάταξης μPCR και (β) η κατασκευασμένη διάταξη των (Shen et al. 2005).....	32
Εικόνα 20 – Σχηματικό διάγραμμα διάταξης μPCR με χρήση ζεστού αέρα. (α) Πηνίο θέρμανσης. (β) Διαφράγματα για ομοιόμορφη ανάμιξη του ζεστού αέρα. (γ) Θερμοζεύγος που οδηγεί τον ελεγκτή. (δ) Θάλαμος αντίδρασης. (ε) Φυσητήρας αέρα. Πηγή: (Wittwer et al. 1989).....	33
Εικόνα 21 – (α) Εγκατάσταση μPCR υπέρυθρης ακτινοβολίας (Giordano et al. 2001). (β) ψηφίδα πολυϊμιδίου. Πηγή: (Giordano et al. 2001)	34
Εικόνα 22 – (α) Θερμοκρασία στο χγ επίπεδο μοναδιαίας κυψελίδας διάταξης ΣΡ για δύο ταχύτητες εισόδου ρευστού. (β) Υλοποιημένη διάταξη ΣΡ. Πηγή: (Moschou et al. 2014).....	36
Εικόνα 23 – Προσομοίωση της διάχυσης θερμότητας στη διάταξη, σε μεταβατική κατάσταση. Η προσομοίωση προβλέπει την επίτευξη μόνιμης κατάστασης σε χρόνο 410 s (Kumar et al. 2008)	37
Εικόνα 24 – Αποτελέσματα προσομοιώσεων προφίλ θερμοκρασίας σε διατάξεις με διαφορετικά υλικά και γεωμετρία (Kang et al. 2006)	37
Εικόνα 25 – (α) Κατανομή θερμοκρασίας στη διάταξη. (β) Κατανομή θερμοκρασίας κατά μήκος του μικροκαναλιού με διαφορετικές ταχύτητες ρευστού. (Chen et al. 2012).....	38
Εικόνα 26 – Θερμοκρασιακή κατανομή διάταξης ΣΘ (α) με και (β) χωρίς λεπτό στρώμα χαλκού ανάμεσα από τα θερμικά στοιχεία και το θάλαμο ενίσχυσης. Πηγή (Shen et al. 2005)	38
Εικόνα 27 – (α) Κάτοψη διάταξης μPCR ΣΘ. (β) Πλάγια όψη διάταξης. (γ) Θερμοκρασιακή κατανομή στη διάταξη. Πηγή: (Ibrahim et al. 2014).....	39
Εικόνα 28 – (α) Γεωμετρία διάταξης μορφής δίσκου με το θάλαμο ενίσχυσης DNA, τα θερμικά στοιχεία και βαλβίδες πάγου για ψύξη. (β) Κατανομή θερμοκρασίας ρευστού. Η διακεκομμένη γραμμή οριοθετεί την τοποθεσία του θερμικού στοιχείου και η είσοδος/έξοδος του ρευστού τοποθετούνται στις περιοχές όπου βρίσκεται βαλβίδα πάγου. (γ) Σύγκριση των προβλέψεων τις προσομοίωσης σε μεταβατική κατάσταση με δεδομένα από πειράματα για επίτευξη θερμοκρασίας 97.5°C για 45 s. (Amasia et al. 2013)	39
Εικόνα 29 – Σχηματικό διάγραμμα αντιδράσεων PCR με τις χημικές εξισώσεις. (Hunicke-Smith 1997)	40
Εικόνα 30 – Συγκέντρωση DNA σε διάταξη ΣΡ 10 κύκλων. Πηγή: (Wang et al. 2007)	40
Εικόνα 31 – (α) Γεωμετρία 2δ διάταξης ΦΣ όπου το δείγμα DNA περνάει από τις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες PCR και ενισχύεται. (β) Κανονικοποιημένοι ρυθμοί αντίδρασης στις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες PCR. (Allen et al. 2009)	41

Εικόνα 32 – (α) Γεωμετρία διάταξης ΣΡ και κινητική στις αντίστοιχες θερμοκρασιακές ζώνες PCR. (β) Επίδοση PCR αποδίδοντας τη συγκέντρωση του δίκλωνου DNA, μονόκλωνου DNA, ζεύγους μονόκλωνου DNA/εκκινητών και ζεύγους μονόκλωνου DNA/εκκινητών μαζί με το ένζυμο, αντίστοιχα. (Wang and Wang 2010)	42
Εικόνα 33 – Ανάλυση ευαισθησίας βρόγχου αυτόματου ελέγχου ελεγκτή P με διάφορες περιόδους δειγματοληψίας. Πηγή (Ibrahim et al. 2014)	42
Εικόνα 34 – Σχηματική απεικόνιση της παραμόρφωσης ενός: α) ρευστού και β) στερεού υπό την επίδραση μίας διατμητικής δύναμης.	47
Εικόνα 35 – Είδη ροής.....	53
Εικόνα 36 – α) Άτριβη και β) ιξώδης ροή πάνω από μία επίπεδη στερεή επιφάνεια.....	54
Εικόνα 37 – Αγωγή θερμότητας σε επίπεδο τοίχωμα: α) Φυσικό φαινόμενο και β) διάγραμμα θερμοκρασίας.	58
Εικόνα 38 – Ανάπτυξη οριακού στρώματος θερμοκρασίας και ταχύτητας κατά τη ροή ρευστού πάνω από θερμαινόμενη επιφάνεια.....	61
Εικόνα 39 – Κατανομή ταχύτητας και θερμοκρασίας στο οριακό στρώμα.	61
Εικόνα 40 – Ανταλλαγή θερμότητας με ακτινοβολία: α) Μεταξύ δύο επιφανειών, β) μεταξύ μίας επιφάνειας και του περιβάλλοντος χώρου.	63
Εικόνα 41 – Θέρμανση ηλεκτρονικού κυκλώματος λόγω φαινομένου Joule heating. https://www.expodesk.com/	66
Εικόνα 42 – (α) φαινόμενο Seebeck. (β) Φαινόμενο Peltier. (γ) Φαινόμενο Thomson. (δ) Φαινόμενο Joule. (ε) Θερμική αγωγιμότητα. (α) Ηλεκτρική αγωγιμότητα.	67
Εικόνα 43 – Στάδια PCR (Hunicke-Smith 1997).....	68
Εικόνα 44 – Εξάρτηση της αποδιάταξης του DNA σε μια PCR, συναρτήσει της θερμοκρασίας. (Hunicke-Smith 1997)	68
Εικόνα 45 – Σχηματικό διάγραμμα συστήματος με είσοδο και έξοδο.....	70
Εικόνα 46 – Κλειστό σύστημα	70
Εικόνα 47 – Κλειστό σύστημα με ελεγκτή	71
Εικόνα 48 – (α) 10 μοναδιαίες κυψελίδες (10 θερμικοί κύκλοι) της διάταξης μPCR ΣΡ. (β) Η διάταξη μPCR ΣΘ. Η μοναδιαία κυψελίδα της διάταξης μPCR (γ) ΣΡ και (δ) ΣΘ που χρησιμοποιήθηκαν για προσομοίωση. Όλες οι διαστάσεις είναι σε mm. (ε) Διατομή των διατάξεων, όπου φαίνεται η στοιβάδα υλικών (διαστάσεις σε μm).	76
Εικόνα 49 – (α) Διάταξη ΣΡ, κατασκευασμένη σε λεπτά πολυμερικά υμένα (FPC). (β) Διάταξη ΣΡ σε μικρότερο αποτύπωμα και μεγαλύτερου πάχους, κατασκευασμένη σε τεχνολογία τυπωμένων κυκλωμάτων. Το πάχος των μικροκαναλιών είναι 250μm σε όλο το μήκος τους. Όλες οι διαστάσεις είναι σε mm. (γ) Διατομή της διάταξης (β), όπου φαίνεται η στοιβάδα υλικών (διαστάσεις σε μm).	76
Εικόνα 50 – Σύνοψη συνοριακών συνθηκών	79
Εικόνα 51 – Λογικό διάγραμμα ελεγκτή PID, συνδεδεμένος με το σύστημα.....	80
Εικόνα 52 – Επίδοση του ελεγκτή θερμοκρασίας PID στους 345 K; Χρόνος αποκατάστασης (settling time) και ποσοστό υπέρβασης (overshoot percentage).	82
Εικόνα 53 – Κανονικοποιημένες σταθερές ρυθμού αντίδρασης σε σχέση με τη θερμοκρασία του ρευστού.....	84
Εικόνα 54 – Διάγραμμα ροής επίλυσης για τη διάταξη ΣΡ	85
Εικόνα 55 – Διάγραμμα ροής επίλυσης για τη διάταξη ΣΘ	86
Εικόνα 56 – Πλέγμα διάταξης ΣΡ για επίλυση (α) ροής ρευστού, μεταφοράς θερμότητας στα ρευστά και στερεά, Joule heating και (β) διατήρησης μάζας ειδών με κινητική PCR. (β) Πλέγμα διάταξης ΣΘ.....	87
Εικόνα 57 – (α) Πλέγμα συνολικής διάταξης ΣΡ μεγαλύτερου πάχους. (β) Πλέγμα μικροκαναλιού εντός της συνολικής διάταξης ΣΡ μεγαλύτερου πάχους	88

Εικόνα 58 – Θερμοκρασιακή ομοιομορφία των ζωνών σε σχέση με την ταχύτητα εισόδου στη διάταξη ΣΡ [$h=5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$]. Η θερμοκρασιακή ομοιομορφία σε μια ζώνη [π.χ. ζώνη αποδιάταξης (denaturation)] ποσοτικοποιείται από το % ποσοστό της ζώνης με θερμοκρασία ρευστού εντός του εύρους $\pm 1,5^\circ\text{C}$ από το επιθυμητό.	91
Εικόνα 59 – (α) η θερμοκρασία ρευστού/στερεού (K), και (β) η συγκέντρωση dsDNA (10-12mol/m ³) στο μέσο ύψος του μικροκαναλιού μιας μοναδιαίας κυψελίδας: Τα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση του dsDNA αναφέρονται στο δεύτερο θερμικό κύκλο. Η ταχύτητα εισόδου είναι 3 mm/s και το h είναι 5 W/(m ² K).....	93
Εικόνα 60 – (α) Ο λογάριθμος της ενίσχυσης του DNA, $\log_2([\text{dsDNA}]/[\text{dsDNA}]_0)$ στο μέσο ύψος του μικροκαναλιού για 10 θερμικούς κύκλους. Για συγκεντρώσεις DNA κάτω από την αρχική, το χρώμα αντιστοιχεί σε μηδενικές συγκεντρώσεις. (β) Ο λογάριθμος της ενίσχυσης του DNA, $\log_2(\langle[\text{dsDNA}]\rangle/[\text{dsDNA}]_0)$ σε σχέση με τον αριθμό των θερμικών κύκλων. Το $\langle[\text{dsDNA}]\rangle$ είναι η μέση συγκέντρωση dsDNA στην έξοδο του θερμικού κύκλου. Η μέση ταχύτητα εισόδου είναι 3 mm/s και το h είναι 5 W/(m ² K).....	93
Εικόνα 61 – (α) Θερμοκρασία ρευστού και συγκέντρωση dsDNA. (β) είσοδος ρεύματος και (γ) ισχύς για 3 κύκλους PCR στη διάταξη ΣΘ. Για $t=0$ το ρεύμα είναι 2,2 A [3s:4,2s:6,2s, $h=5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$].	94
Εικόνα 62 – Λογάριθμος της ενίσχυσης DNA [$\log_2(\langle[\text{dsDNA}]\rangle/[\text{dsDNA}]_0)$] στο τέλος κάθε κύκλου PCR [3s:4,2s:6,2s, $h=5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$]. Το $\langle[\text{dsDNA}]\rangle$ είναι η μέση συγκέντρωση dsDNA στο τέλος κάθε θερμικού κύκλου.	95
Εικόνα 63 – (α) Ενίσχυση DNA, (β) διάρκεια λειτουργίας, και (γ) κατανάλωση ενέργειας για 10 κύκλους σε σχέση με το πρωτόκολλο (3s:4,2s:6,2s ή 1.8s:2,5s:3,7s), το συντελεστή μεταφοράς θερμότητας [$h=5$ ή $10 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$], και τον τύπο της διάταξης μPCR (ΣΡ ή ΣΘ).	96
Εικόνα 64 – (α) Κατανάλωση ενέργειας στις διατάξεις ΣΡ και ΣΘ για διαφορετικά πάχη υποστρώματος. (β) Απαιτήσεις σε ισχύ για 1 κύκλο διάταξης ΣΡ και ΣΘ για διαφορετικά πάχη υποστρώματος. Το πρωτόκολλο PCR είναι 3s:4,2s:6,2s και ο συντελεστής μεταφοράς θερμότητας είναι 5 W/(m ² K). Πραγματοποιούνται ξεχωριστές ρυθμίσεις στις παραμέτρους του ελεγκτή θερμοκρασίας (K_p , K_i και K_D) για κάθε πάχος υποστρώματος ώστε να διασφαλιστεί η βέλτιστη συμπεριφορά του συστήματος σε κάθε περίπτωση διάταξης.....	96
Εικόνα 65 – Διάταξη ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους. (α) Κανάλια και επίπεδα αντιστάσεων μοναδιαίας κυψελίδας (β) Στοιβά υλικών.	99
Εικόνα 66 – Αποτελέσματα θερμοκρασίας διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους. Οι διακεκομμένες γραμμές της γραφικής παράστασης οριοθετούν την επιθυμητή θερμοκρασία κατά τη διαδρομή του ρευστού στις αντίστοιχες θερμικές ζώνες....	99
Εικόνα 67 – (α) Θερμοκρασία ρευστού για τη βέλτιστη απόσταση των θερμοκρασιακών ζωνών $D_{\text{den-ext}}$ και $D_{\text{ext-ann}}$ κατά μήκος του μικροκαναλιού. (β) Θερμοκρασιακή ομοιομορφία ζωνών για διάφορες αποστάσεις $D_{\text{den-ext}}$ και $D_{\text{ext-ann}}$	100
Εικόνα 68 – (α) Γεωμετρία διάταξης ΣΡ μικρού αποτυπώματος, με διάκενα (trenches) μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών. (β) Αποτελέσματα υπολογισμών θερμοκρασίας για τη διάταξη ΣΡ με διάκενα.....	101
Εικόνα 69 – Θερμοκρασία ρευστού διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους, (α) έχοντας ολοκληρωμένα επίπεδα χαλκού κάτω από όλες τις θερμικές ζώνες και (β) έχοντας ολοκληρωμένα επίπεδα χαλκού μόνο κάτω από τη θερμική ζώνη της αποδιάταξης	102
Εικόνα 70 – Θερμοκρασία αντιστάσεων ζώνης αποδιάταξης της διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους	102
Εικόνα 71 – Τιμές αντιστάσεων (σε Ω) διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους	103
Εικόνα 72 – Πλέγμα σε δισδιάστατο χωρίο. Η αρίθμηση των στοιχείων γίνεται με αριθμούς και η αρίθμηση των κόμβων με αριθμούς μέσα σε κύκλο.	114

Εικόνα 73 – Ισοπαραμετρική απεικόνιση στοιχείου	121
Εικόνα 74 – Χωρίο επίλυσης προβλήματος διαφορικής εξίσωσης.....	126

Λίστα πινάκων

Πίνακας 1 – Ανασκόπηση βιβλιογραφιών με προσομοίωση διατάξεων μPCR	35
Πίνακας 2 – Ιδιότητες υλικών (Perry et al. 1999).....	80
Πίνακας 3 – Παράμετροι και επιδόσεις του ελεγκτή θερμοκρασίας PID.....	82
Πίνακας 4 – Αρχικές συγκεντρώσεις και συντελεστές διάχυσης των ειδών του δείγματος PCR (Wang et al. 2007).....	84
Πίνακας 5 – Θερμική αγωγιμότητα υλικών στοίβας διάταξης μPCR ΣΡ με μικρότερο αποτύπωμα (Εικ. 65β)	98
Πίνακας 6 – Αποτελέσματα διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους.....	99
Πίνακας 7 – Αποτελέσματα διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους, με διάκενα μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών.....	101
Πίνακας 8 – Σύγκριση επίδοσης διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ σε όρους ενίσχυσης DNA, κατανάλωσης ενέργειας και διάρκειας λειτουργίας για διαφορετικά πρωτόκολλα PCR και συντελεστών θερμότητας. Οι διάρκειες σε παρένθεση περιλαμβάνουν και το χρόνο άντλησης του δείγματος DNA.....	105

1 Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή στα μικρορευστονικά συστήματα

Μικρορευστονική («microfluidics») είναι ο όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη ροή σε συστήματα με διαστάσεις μερικών μικρών έως εκατοστών που διαχειρίζονται όγκους από νανό-λίτρα (nL) έως μικρό-λίτρα (μL) (10^{-9} – 10^{-6} L) (Ottino and Wiggins 2004). Η τεχνολογία των μικρορευστονικών συστημάτων που σχετίζεται με τα μικροσυστήματα ολικής ανάλυσης (micro-Total Analysis Systems, μTAS) ή τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα (Lab-on-a-Chip, LoC), αναπτύσσεται ραγδαία και θεωρείται ότι θα φέρει επανάσταση στη χημική και φαρμακευτική βιομηχανία, καθώς και στην υγειονομική περίθαλψη και στα τρόφιμα (Zhang and Ozdemir 2009). Οι μικρορευστονικές διατάξεις μπορούν να προσφέρουν πολλά πλεονεκτήματα συμπεριλαμβανομένης της γρήγορης ανάλυσης, υψηλής απόδοσης και της χαμηλής κατανάλωσης αντιδραστηρίων. Επιπρόσθετα η ενέργεια που απαιτείται για την κατασκευή και λειτουργία των διατάξεων αυτών μπορεί να είναι κατά πολύ μικρότερη από ότι αυτή των αντίστοιχων συμβατικών διατάξεων. Οι μικρορευστονικές διατάξεις άρχισαν να εμφανίζονται στις αρχές του 1975, όταν η πρώτη χρωματογραφία αερίου κατασκευάστηκε σε ένα μόνο πλακίδιο πυριτίου. Σε οικονομικούς όρους, η δυναμική των μικρορευστονικών διατάξεων προκύπτει από την ανάπτυξη της παγκόσμιας αγοράς των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα η οποία ήταν το 2000 \$400 εκ. (Stone and Kim 2001), το 2012 ανήλθε στα \$3,3 δις., το 2013 περίπου \$3,9 δις. και εκτιμάται ότι θα είναι \$14,4 δις. το 2018 (BCC Research LLC 2013).

Στα συστήματα αυτά οι μικρορευστονικές διατάξεις παίζουν σημαντικό ρόλο σε ποικίλες εφαρμογές, όπως για παράδειγμα η μεταφορά, η ανάμιξη, ο διαχωρισμός και οι χημικές αντιδράσεις. Συνήθως, η λειτουργία τους καθορίζει τη συνολική απόδοση ενός μικροεργαστηρίου σε ψηφίδα. Για παράδειγμα ένας καλά σχεδιασμένος μικροαναμίκτης μπορεί να ελαττώσει τον συνολικό χρόνο ανάλυσης και τις διαστάσεις (αποτύπωμα, footprint), ενός μικροεργαστηρίου σε ψηφίδα. Επίσης, σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη τους παίζει και η ανάπτυξη των πεδίων εφαρμογής τους, όπως η αναλυτική χημεία, η σύνθεση υλικών υψηλής απόδοσης και τα συστήματα μικροβιολογικών αναλύσεων.

Για παράδειγμα, στο πλαίσιο του έργου “Love-wave fully integrated Lab-on-a-chip platform for food pathogen detection - LOVE-FOOD” (Contract No 317742) κατασκευάζεται ένα ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο σε ψηφίδα για τον ταχύ και αξιόπιστο έλεγχο τροφίμων, κυρίως γαλακτοκομικών προϊόντων, από παθογόνους οργανισμούς. Το σύστημα αυτό αποτελείται από μία διάταξη για τη δέσμευση και λύση των παθογόνων κυττάρων που μπορεί να βρίσκονται στα τρόφιμα, από μία διάταξη για την εξαγωγή DNA από τα παθογόνα κύτταρα και τέλος από έναν μικροαντιδραστήρα όπου γίνεται η ενίσχυση του DNA με βάση την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR). Οι διατάξεις αυτές περιέχουν μικρορευστονικά συστήματα, ενώ για την μεταξύ τους ολοκλήρωση απαιτούνται μικρορευστονικά δίκτυα με την μεταφορά του δείγματος.

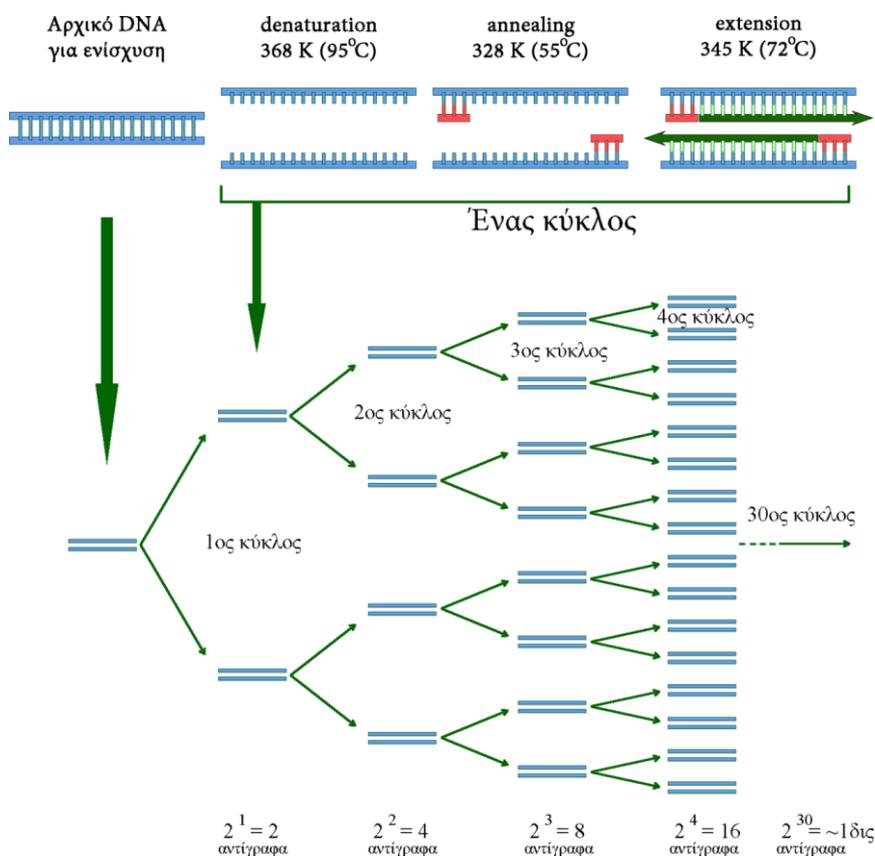
1.2 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η διαδικασία της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase chain reaction - PCR) είναι μία τεχνική που αναπτύχθηκε το 1985 από τον Kary Mullis (Saiki et al. 1985) για την ενίσχυση του δεσοξυριβοζονουκλεϊκού οξέος (DNA). Από τότε έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στα εργαστήρια βιοϊατρικής έρευνας, και έφερε επανάσταση σε διάφορους επιστημονικούς

χώρους, όπως οι κλινικές διαγνώσεις και οι ιατρικές, βιολογικές και ιατροδικαστικές αναλύσεις.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ή PCR μπορεί να δημιουργήσει αντίγραφα τμημάτων του DNA υποβάλλοντάς το σε μια διαδικασία θερμικών κύκλων. Μία τυπική PCR (Εικ. 1) περιλαμβάνει την αποδιάταξη (denaturation) του δίκλωνου DNA στους 95°C, τον υβριδισμό (annealing) των εκκινητών (primers) στους 55°C, και την επιμήκυνση (extension) των αλληλουχιών συνδεδεμένων εκκινητών στους 72°C. Κάθε θερμικός κύκλος μπορεί να διπλασιάσει την ποσότητα του DNA, και εντός 20-35 κύκλων μπορεί να παραχθούν εκατομμύρια αντίγραφα του DNA.

Η ενίσχυση του DNA απαιτεί την ύπαρξη εκκινητών οι οποίοι πλευρίζουν την περιοχή ενδιαφέροντος. Οι εκκινητές είναι μονόκλινα ολιγονουκλεοτίδια μήκους 15 με 50 ζευγών βάσεων τα οποία είναι συμπληρωματικά στο στόχο DNA. Το DNA στόχος (το οποίο μπορεί, για παράδειγμα, να είναι γενωμικό DNA από έναν ασθενή) θερμαίνεται στους 95 °C έτσι ώστε να καθίσταται μονόκλινο (αποδιάταξη). Οι εκκινητές μπορούν στη συνέχεια να συζευχθούν με τις συμπληρωματικές περιοχές του DNA στόχου (υβριδισμός, 55 °C). Μόλις γίνει αυτό, η πολυμεράση του DNA επεκτείνει τον κλώνο χρησιμοποιώντας το DNA στόχο ως εκμαγείο (επιμήκυνση, 72 °C), προσθέτοντας τριφωσφορικούς νουκλεοζίτες (dNTPs): αδινίνη (dATP), κυτοσίνη (dCTP), γουανίνη (dGTP) και θυμίνη (dTTP). Αυτή η σειρά των βημάτων επαναλαμβάνεται 30-40 φορές, με αποτέλεσμα την εκθετική αύξηση στην ποσότητα του DNA.



Εικόνα 1 – Θερμικός κύκλος πρωτοκόλλου PCR και εφαρμογή πολλών θερμικών κύκλων

Το πρωτόκολλο της PCR υλοποιείται σε διατάξεις, γνωστές και ως θερμοκυκλοποιητές (thermal cyclers), που θερμαίνουν και ψύχουν το δείγμα PCR, το οποίο τοποθετείται σε στατικό θάλαμο (Εικ. 2α). Στη συνέχεια κατασκευάστηκαν διατάξεις αρκετά μικρές με δυνατότητα μεταφοράς (Εικ. 2β), κάνοντας χρήση του θερμικού ελέγχου Peltier καθώς και αισθητήρων ακρίβειας. Η εξέλιξη αυτών των διατάξεων οδήγησε σε ανάπτυξη θερμοκυκλοποιητών που υλοποιούν πρωτόκολλα PCR με πλήρως αυτόματο τρόπο, χωρίς την ανθρώπινη παρέμβαση (Εικ. 2γ). Η ολοένα και αυξανόμενη ζήτηση τέτοιων διατάξεων συνέβαλε στην κατασκευή διατάξεων που υλοποιούν παραπάνω από ένα πρωτόκολλο PCR ταυτόχρονα, αναβαθμίζοντας τη λειτουργία τους (Εικ. 2δ). Τέλος, οι επόμενης γενιάς θερμοκυκλοποιητές, υλοποιούν το πρωτόκολλο PCR βασισμένοι στην τεχνολογία σταγονιδίων (Εικ. 2ε - droplet PCR).



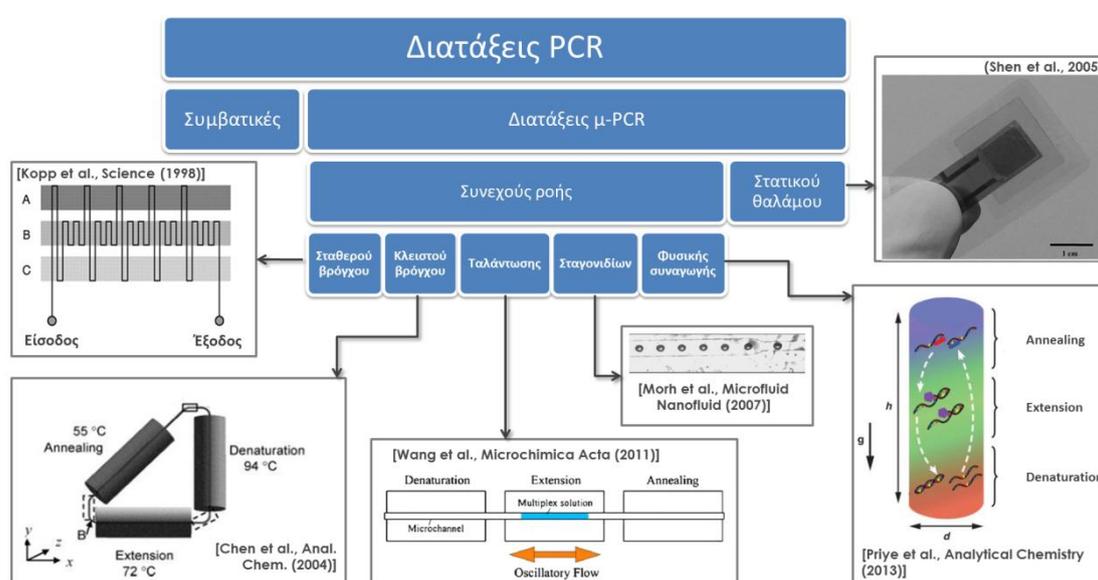
Εικόνα 2 – Συμβατικές διατάξεις θερμοκυκλοποιητών (thermal cyclers)

Αν και εμφανίστηκε στη βιβλιογραφία το 1985, η ανάπτυξη μικρορευστονικών διατάξεων για PCR άρχισε πολύ αργότερα, στις αρχές του 1990, όταν η τεχνολογία των συστημάτων LoC άρχισε να εκμεταλλεύεται τα μικρορευστονικά συστήματα για βιολογικές και χημικές αναλύσεις.

1.3 Κατηγορίες μικρορευστονικών διατάξεων για την PCR (διατάξεις μPCR)

Οι βασικές κατηγορίες μικρορευστονικών διατάξεων που υλοποιούν το πρωτόκολλο της PCR είναι (Εικ. 3) οι διατάξεις συνεχούς ροής (ΣΡ, continuous flow) και οι διατάξεις στατικού θαλάμου (ΣΘ, static chamber ή well-based). Η λειτουργία των διατάξεων ΣΘ ομοιάζει με αυτή των συμβατικών όπου το δείγμα DNA είναι στατικό σε ένα θάλαμο και υποβάλλεται στο θερμικό κύκλο του πρωτοκόλλου της PCR (Ibrahim et al. 2014; Niu et al. 2006; Shen et al. 2005). Οι διατάξεις ΣΡ μπορούν να χωριστούν επιπλέον σε πέντε τύπους: τις διατάξεις ταλαντώσεως (oscillatory devices), του κλειστού βρόγχου (closed-loop), του σταθερού βρόγχου (fixed-loop), των σταγονιδίων (droplet based) και φυσικής συναγωγής (natural convection). Στις διατάξεις ταλαντώσεως (Becker et al. 2014; Brunklaus et al. 2012; Chen et al. 2004; Hunicke-Smith 1997; Wang et al. 2006) το δείγμα κινείται εμπρός και πίσω μεταξύ θαλάμων σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Στο δεύτερο τύπο των διατάξεων, αυτών του κλειστού βρόγχου (Chou et al. 2002; Liu et al. 2002; Lok et al. 2012; Park et al. 2010; Sun et al. 2007), το δείγμα ανακυκλοφορεί μεταξύ των τριών θερμοκρασιακών ζωνών. Και στους δύο αυτούς τύπους ο αριθμός των θερμικών κύκλων μπορεί να είναι ευέλικτος και δεν

περιορίζεται από την κατασκευή αλλά μπορεί να καθοριστεί από τον χρήση της διάταξης. Αντιθέτως, στις διατάξεις σταθερού βρόγχου (Cao et al. 2011; Gärtner et al. 2007; Hashimoto et al. 2004; Kopp et al. 1998; Mohr et al. 2007; Moschou et al. 2014; Obeid and Christopoulos 2003; Thomas et al. 2014) το δείγμα ρέει μεταξύ των σταθερών θερμοκρασιακών ζωνών πάνω σε μία καθορισμένη πορεία και ο αριθμός των θερμικών κύκλων καθορίζεται κατά τη διάρκεια της κατασκευής. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι διατάξεις φυσικής συναγωγής (Allen et al. 2009; Krishnan et al. 2002; Priye et al. 2013): σε αυτές τις διατάξεις ο θερμικός κύκλος λαμβάνει χώρα μέσω φυσικής συναγωγής σε θάλαμο όπου θερμοκρασιακές κλίσεις εφαρμόζονται ανάμεσα από δυο θερμικές πλάκες. Τέλος, χρησιμοποιώντας γεννήτρια παραγωγής σταγονιδίων, όγκου της τάξης των νάνο/πίκο λίτρων, που έχουν παγιδεύσει ένα μόνο κύτταρο, μπορεί να επιτευχθεί αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με μεγάλη ταχύτητα (Mohr et al. 2007).



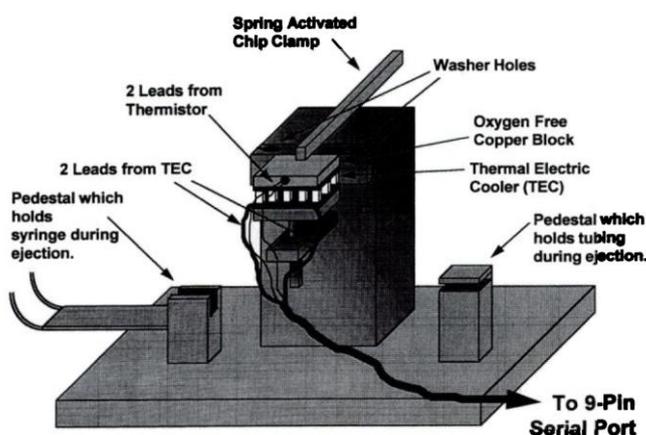
Εικόνα 3 – Κατηγορίες διατάξεων PCR

1.3 Ιστορική αναδρομή για διατάξεις μPCR

1.3.1 Στατικού θαλάμου μPCR

Η πρώτη διάταξη μPCR ΣΘ αναφέρθηκε το 1993 (Northrup et al. 1993). Η διάταξη αποτελούνταν από μία ψηφίδα πυριτίου με ένα θάλαμο 50 μL , ολοκληρώνοντας ένα λεπτό επίπεδο θερμικού στοιχείου για τη θέρμανση του δείγματος και για τη σφράγιση του θαλάμου χρησιμοποιήθηκε μία κόλλα σιλικόνης. Η ενίσχυση του DNA σε αυτή τη διάταξη ολοκληρώθηκε σε περίπου 1 ώρα. Ένα χρόνο αργότερα, το 1994 (Wilding et al. 1994) παρουσιάστηκε μία διάταξη μPCR ΣΘ με δυνατότητα επεξεργασίας όγκου από 5 έως 10 μL κατασκευασμένη με εγχάραξη ψηφίδας πυριτίου (17x15 mm), καλυπτόμενη στο επάνω μέρος με γυαλί πυρέξ (Εικ. 4). Για τους θερμοκρασιακούς κύκλους χρησιμοποιήθηκαν θερμοηλεκτρικές αντιστάσεις και ψήκτρες. Ο χρόνος ενίσχυσης του DNA ήταν 1 ώρα και 45 λεπτά. Τα προϊόντα της PCR (amplicons), και για τις δύο παραπάνω διατάξεις, ανιχνεύτηκαν μέσω ηλεκτροφόρηση γέλης εκτός της ψηφίδας. Μετά από αυτές τις αρχικές δημοσιεύσεις, η μPCR ΣΘ αποτέλεσε αντικείμενο πολλών ερευνών, οι οποίες εστίασαν στη μείωση του χρόνου ενίσχυσης, του όγκου του δείγματος, του κόστους και την ενσωμάτωση της σε ολοκληρωμένα συστήματα για ανίχνευση και ανάλυση. Το ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στην

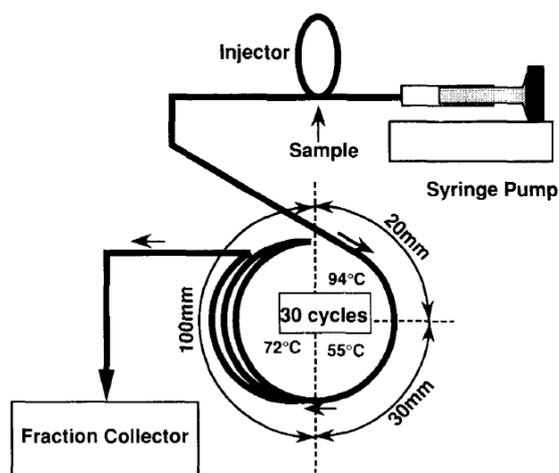
διαδικασία των θερμικών κύκλων με την χρήση εξωτερικών αντιστάσεων είτε ολοκληρωμένων μέσω λεπτών μεταλλικών φιλμ ακόμα και μέσω υψηλών ενεργειακών πηγών υπέρυθρου φωτός. Αυτές οι προσεγγίσεις επιτρέπουν πιο γρήγορους θερμικούς κύκλους και μείωση της θερμικής μάζας.



Εικόνα 4 – Σκαρίφημα της μPCR ΣΘ που περιγράφεται στην αναφορά (Wilding et al. 1994)

1.3.2 Συνεχούς ροής μPCR

Η πρώτη διάταξη PCR ΣΡ (Εικ. 5) ήταν μία διάταξη τριχοειδούς καναλιού από τεφλόν με εσωτερική διάμετρο 500 μm και παρουσιάστηκε το 1994 (Nakano et al. 1994). Σε ένα θερμικό κύκλο το δείγμα της PCR περνούσε από τη ζώνη της αποδιάταξης, μήκους 20 mm και θερμοκρασίας 94°C, έπειτα από τη ζώνη του υβριδισμού των εκκινητών, μήκους 30 mm στους 50 °C, και τέλος από μία ζώνη μήκους 100 mm στους 72°C για το στάδιο της επιμήκυνσης. Σε σύγκριση με τη συμβατική εμπορική διάταξη, το 50% της ενίσχυσης είχε επιτευχθεί σε μόλις το 10 % του χρόνου της αντίστοιχης συμβατικής διαδικασίας, δηλαδή σε 12 – 18 λεπτά.

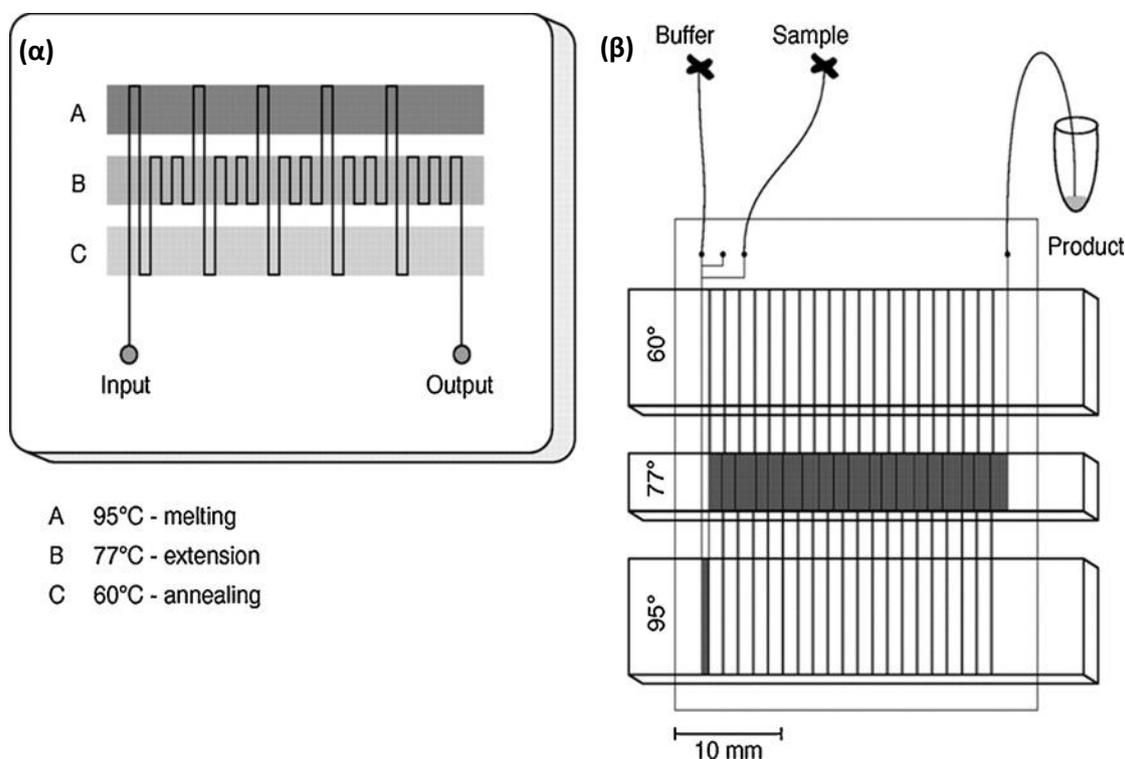


Εικόνα 5 – Σχηματικό διάγραμμα της πρώτης ΣΡ PCR (Nakano et al. 1994)

Άλλη μία διάταξη μPCR ΣΡ τριχοειδούς καναλιού αναφέρθηκε το 1998 (Friedman and Meldrum 1998), η οποία κατασκευάστηκε χρησιμοποιώντας ένα λεπτό φιλμ από οξειδιο ινδίου-κασσιτέρου (indium-tin oxide - ITO), που κάλυπτε την εξωτερική επιφάνεια του

τριχοειδούς και λειτουργούσε τόσο ως αντίσταση όσο και ως αισθητήρας θερμοκρασίας. Επειδή το λεπτό φιλμ που χρησιμοποιήθηκε ήταν οπτικά διάφανο, μπορούσε να χρησιμοποιηθεί μικροσκόπιο φθορισμού για να παρακολουθείται η διαδικασία και επομένως υπήρχε η δυνατότητα για πραγματικού χρόνου PCR (real time PCR). Παρόλο που οι παραπάνω διατάξεις μPCR τριχοειδούς καναλιού έδειξαν τις δυνατότητες των διατάξεων ΣΡ, παρέχοντας υψηλή ταχύτητα, ευελιξία ως προς τον αριθμό των θερμικών κύκλων και μεγάλο εύρος εφαρμογών, δεν ήταν ολοκληρώσιμες σε ψηφίδα.

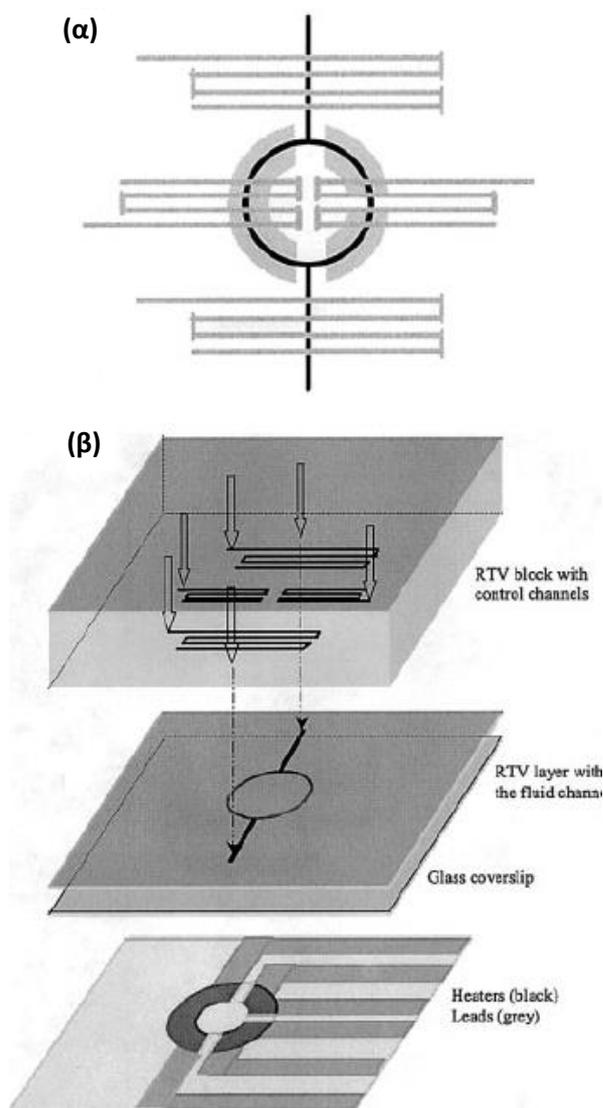
Η πρώτη ολοκληρώσιμη σε ψηφίδα διάταξη μPCR ΣΡ αναπτύχθηκε το 1998 (Kopp et al. 1998) και ήταν σταθερού βρόχου (Εικ. 6). Ένα κανάλι βάρους 40 μm και πλάτους 90 μm εγχαραχτήκε σε μία ψηφίδα από γυαλί. Το συνολικό μήκος του καναλιού ήταν 2,2 m παρέχοντας συνολικά 20 θερμικούς κύκλους. Η δυνατότητα της διάταξης αποδείχθηκε με την ενίσχυση ενός τμήματος DNA με μήκος 176 βάσεων (176-base pair DNA) σε χρόνο από 18,7 έως και 1,5 λεπτά.



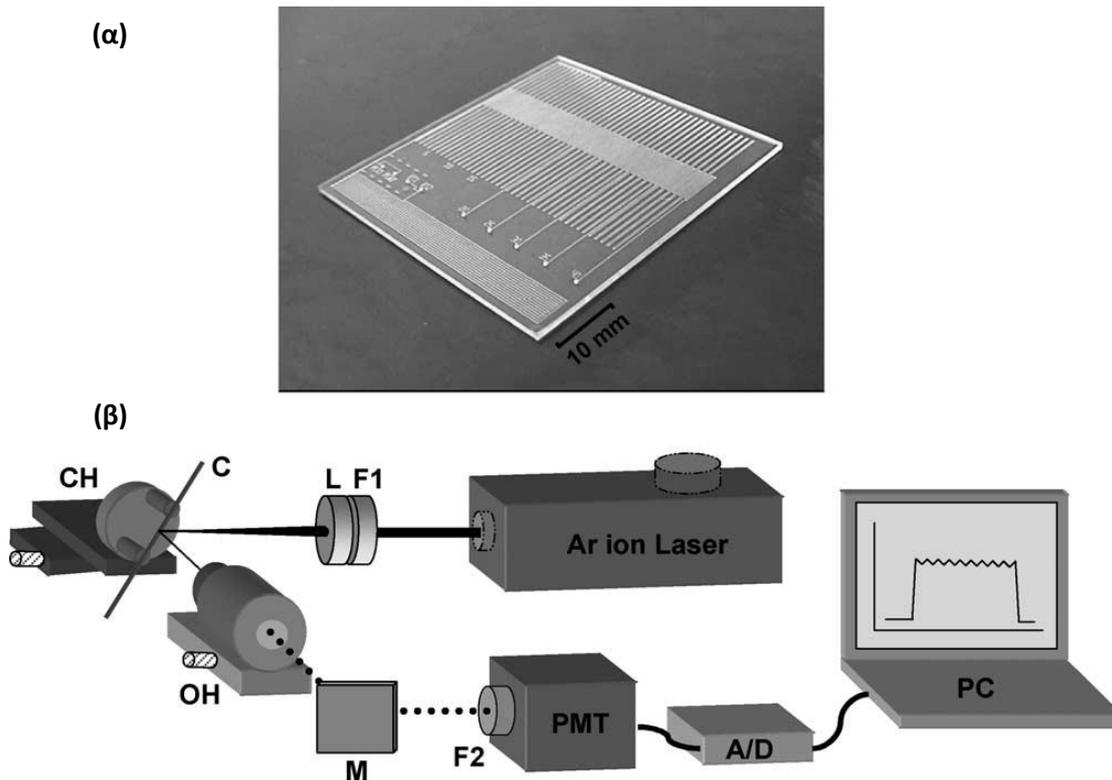
Εικόνα 6 – Σχηματικό διάγραμμα συνεχούς ροής PCR σε ψηφίδα: (α) Διάταξη των τριών θερμοκρασιακών ζωνών της PCR οι οποίες διατηρούνται σε θερμοκρασίες 95°C, 77°C και 60°C. Μία μέθοδος άντλησης μέσω πίεσης χρησιμοποιείται για την έγχυση του δείγματος μέσω ενός μοναδικού καναλιού χαραγμένο στην γυάλινη ψηφίδα. (β) Κάτοψη διάταξης: τρεις εισοδοί στα αριστερά της διάταξης και μία έξοδος στα δεξιά. (Kopp et al. 1998)

Διάφορα σχέδια, διαδικασίες κατασκευής και υλικά παρουσιάστηκαν στην βιβλιογραφία μετά τις πρώτες αυτές εργασίες. Οι Schneegass et al. (Schneegass et al. 2001) παρουσίασαν διάταξη μPCR ΣΡ 25-κύκλων σε υπόστρωμα πυριτίου-γυαλιού, με ολοκληρωμένες αντιστάσεις και αισθητήρες θερμοκρασίας, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία κατασκευής ολοκληρωμένων κυκλωμάτων. Οι West et al. (West et al. 2002) ανέφεραν μία διάταξη μPCR ΣΡ κλειστού βρόχου, όπου ο αριθμός των κύκλων είναι ευέλικτος. Η κίνηση του ρευστού δείγματος σε ένα δακτυλιοειδές μικροκανάλι πραγματοποιήθηκε μέσω ενός AC μαγνητικού

πεδίου, το οποίο αξιοποιεί την αγώγιμη φύση του ηλεκτρολύτη. Διάταξη μPCR ΣΡ κλειστού βρόγχου παρουσίασαν και οι Liu et al. (Liu et al. 2002) με ολοκληρωμένες αντιστάσεις και αντλίες, με δυνατότητα πραγματοποίησης διάφορων πρωτοκόλλων PCR (Εικ. 7). Οι Sun et al. (Sun et al. 2002) κατασκεύασαν μία διάταξη μPCR ΣΡ 30-κύκλων οπτικά διάφανη με ολοκληρωμένες αντιστάσεις και υπόστρωμα γυαλιού χαλαζία κάνοντας χρήση των τεχνικών φωτολιθογραφίας και υγρής χάραξης. Οι Obeid και Christopoulos (Obeid and Christopoulos 2003) συνδύασαν μία διάταξη μPCR ΣΡ (reverse transcription PCR, RT-PCR) με ένα επαγόμενο λέιζερ φθορισμού (laser-induced fluorescence, LIF) ως σύστημα ανίχνευσης (Εικ. 8).

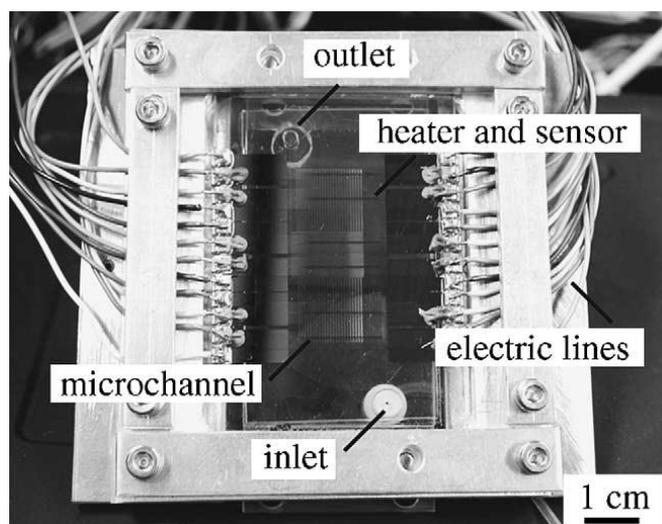


Εικόνα 7 – (α) Σκαρίφημα της PDMS περιστροφικής ψηφίδας και των αντιστάσεων. Τα κανάλια ελέγχου φαίνονται με γκρι χρώμα, το ρευστό των καναλιών με μαύρο και οι αντιστάσεις με γκρι μοτίβο. Οι τρεις αντιστάσεις είναι τοποθετημένες με την ακόλουθη σειρά (δεξιόστροφα από επάνω δεξιά γωνία): αποδιάταξη, υβριδισμός και κατάλυση. (β) ολοκλήρωση περιστροφικής ψηφίδας και αντιστάσεων. (Liu et al. 2002)



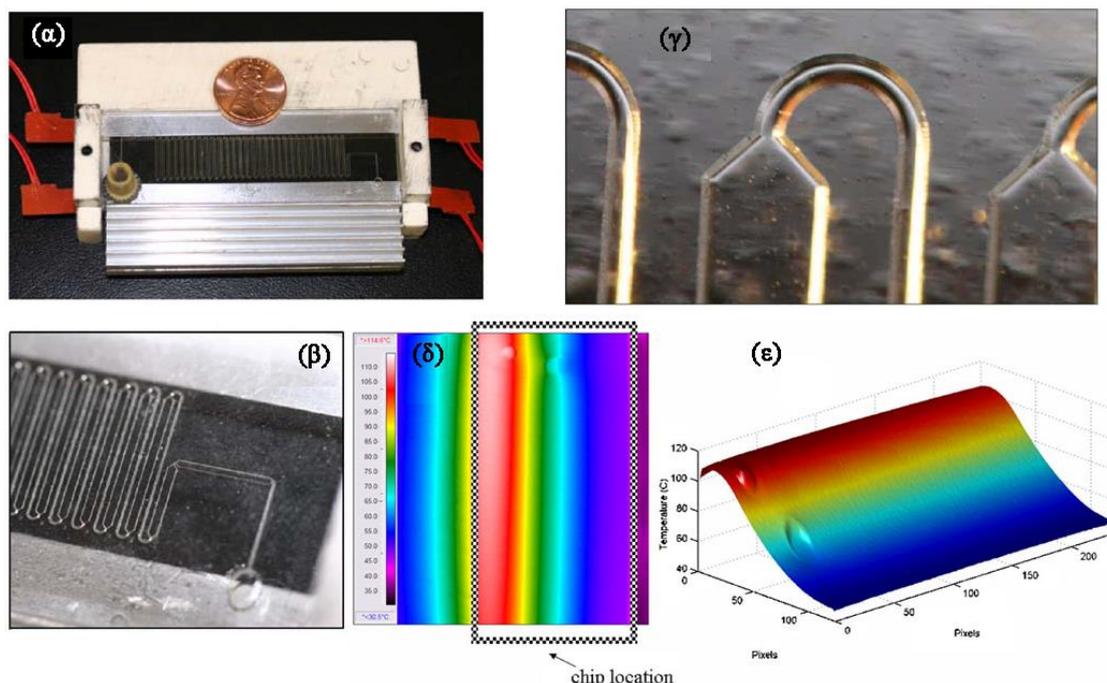
Εικόνα 8 – (α) Εικόνα ψηφίδας διάταξης μPCR/RT-PCR ΣΡ. Η ψηφίδα ($4\text{ cm} \times 4.5\text{ cm} \times 0.11\text{ cm}$) κατασκευάζεται από δύο γυάλινες πλάκες και περιέχει τέσσερις οπές πρόσβασης εισόδου, δύο για την εισαγωγή μειγμάτων PCR και δύο για το RT. Οι οπές πρόσβασης εξόδου τοποθετούνται μετά από 20, 25, 30, 35 και 40 κύκλους για τη συλλογή του ενισχυμένου προϊόντος. (β) Σχηματικό διάγραμμα για το χειροποίητο σύστημα ανίχνευσης μέσω λέιζερ. (Obeid and Christopoulos 2003)

Οι Fukuba et al. (Fukuba et al. 2004) παρουσίασαν μία διάταξη μPCR ΣΡ 30-κύκλων (Εικ. 9) με ολοκληρωμένες αντιστάσεις. Η κατασκευή αποτελούνταν από μία γυάλινη ψηφίδα θερμοκρασιακού ελέγχου και μία ψηφίδα μικροκαναλιών κατασκευασμένη από πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (polydimethylsiloxane, PDMS). Ο έλεγχος της θερμοκρασία γινόταν μέσω ολοκληρωμένου αισθητήρα από λευκόχρυσο (Pt).



Εικόνα 9 – Εικόνα της διάταξης μPCR των Fukuba et al. (Fukuba et al. 2004).

Οι Braun et al. (Braun et al. 2003) έκαναν χρήση λέιζερ για να δημιουργήσουν μία βαθμίδα θερμοκρασίας, με σκοπό να εισάγουν μεταβολή της πυκνότητας ώστε να οδηγήσουν έτσι το δείγμα διαμέσου των διαφορετικών θερμοκρασιακών ζωνών για τη διαδικασία της PCR. Μία διάταξη μPCR ΣΡ παρουσίασαν επίσης και οι Crews et al. (Crews et al. 2008) κατασκευασμένη από γυαλί (Εικ. 10). Η γραμμική θερμική βαθμίδα εφαρμόζεται σε ολόκληρη την διάταξη και επομένως η ταχύτητα της θέρμανσης και της ψύξης υπαγορεύεται από την ταχύτητα του ρευστού σε σχέση με την αρχική θερμοκρασιακή βαθμίδα της διάταξης. Με τη χρήση της συγκεκριμένης διάταξης επιτεύχθηκε ενίσχυση 40 κύκλων PCR σε χρόνο λιγότερο από εννέα λεπτά.



Εικόνα 10 – (α) Η διάταξη PCR ΣΡ θερμοκρασιακής βαθμίδας των Crews et al., (β) Το μαιανδρικό κανάλι έχει μία γραμμική θερμοκρασιακή βαθμίδα, όπου απότομες θερμοκρασιακές αλλαγές επιτυγχάνονται μέσα στο στενό κανάλι, ενώ αργές αλλαγές συμβαίνουν στο φαρδύ, (γ) Η λεία και κυρτή επιφάνεια του γυάλινου καναλιού, (δ) θερμική βαθμίδα της διάταξης, απεικονισμένη με θερμική κάμερα και (ε) οπτική απεικόνιση τριών διαστάσεων της θερμικής βαθμίδας. (Crews et al. 2008)

Οι Wang et al. (Wang et al. 2006) κατασκεύασαν μία διάταξη μPCR ΣΡ σταθερού βρόγχου 20-κύκλων κάνοντας χρήση πολυμερικών υλικών. Η διάταξη κατασκευασμένη από πολυανθρακικό πολυμερές (polycarbonate, PC) είχε τρεις καλά ορισμένες θερμοκρασιακές ζώνες στους 95°C, 55°C και 60°C. Μελετήθηκε η επίδραση της ταχύτητας του ρευστού καθώς και η αναλογία των χρόνων παραμονής στις τρεις διαφορετικές ζώνες (θερμοκρασιακό πρωτόκολλο PCR).

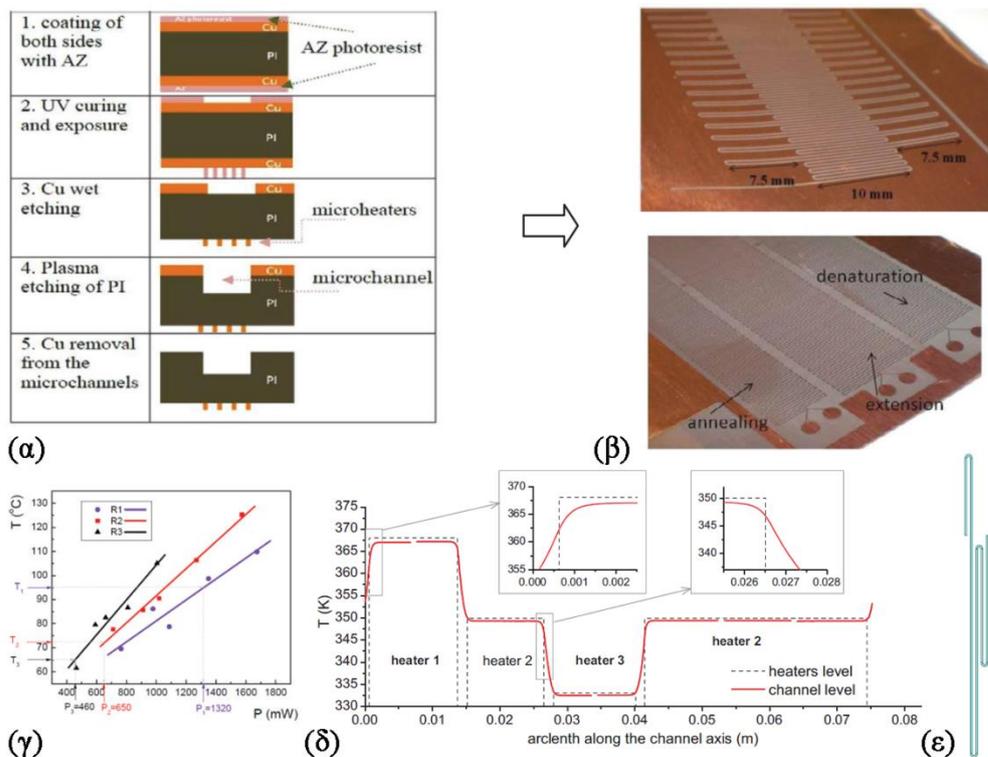
Η θερμοκρασιακή ομοιομορφία των τριών ζωνών των διατάξεων μPCR ΣΡ παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην τελική απόδοση της PCR. Η ομοιομορφία αυτή όμως επηρεάζεται πολύ από την ταχύτητα του ρευστού και το σχέδιο της διάταξης. Η επίτευξη αυτής της θερμοκρασιακής ομοιομορφίας αλλά και η μείωση των ενεργειακών αναγκών των διατάξεων αποτελεί αντικείμενο έρευνας (Hashimoto et al. 2004; Ming et al. 2005; Schneegass et al. 2001). Για παράδειγμα, οι Li et al. (Li et al. 2006) παρουσίασαν μία διάταξη μPCR ΣΡ με μαιανδρικά μικροκανάλια μεταβλητού πλάτους για τον έλεγχο της ταχύτητας

του ρευστού, βελτιστοποιώντας τους χρόνους έκθεσης του δείγματος σε κάθε θερμοκρασιακή φάση της διαδικασίας και ελαχιστοποιώντας τις μεταβατικές χρονικές περιόδους κατά τη διάρκεια μεταβάσεων από τη μία θερμοκρασία στην επόμενη. Στην παρούσα εργασία για τη βελτιστοποίηση των αποστάσεων μεταξύ των ζωνών πραγματοποιήθηκε υπολογιστική μελέτη.

1.3.3 Μικρορευστονικές διατάξεις που κατασκευάζονται στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος

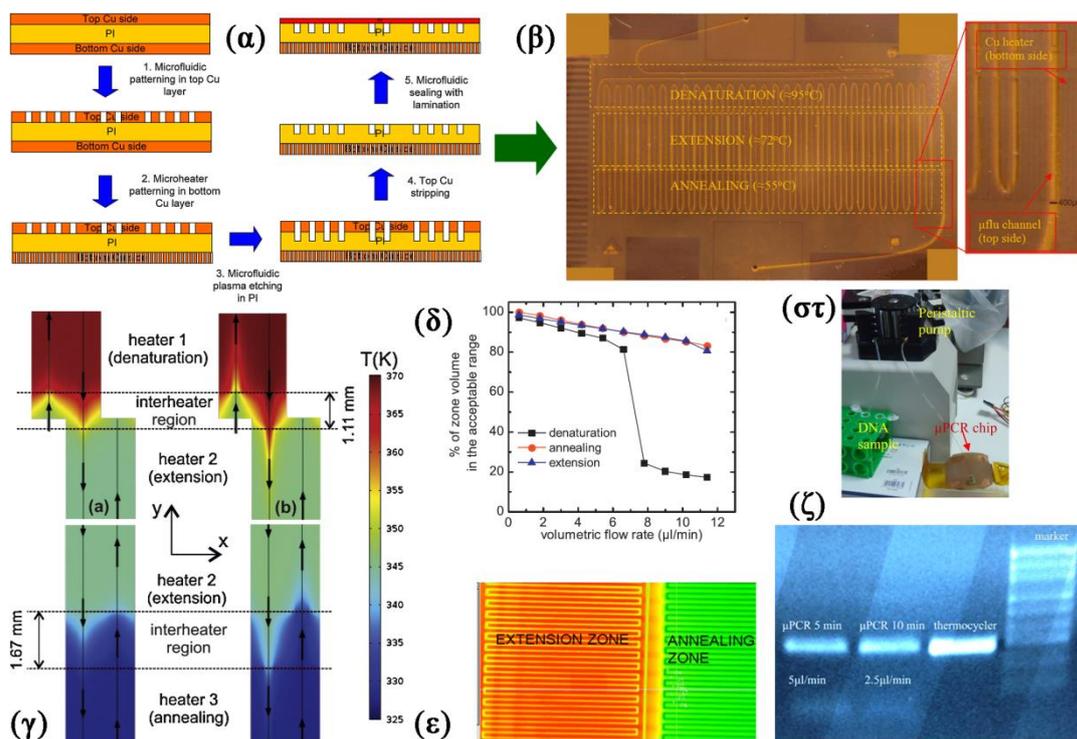
Το Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια μια σημαντική δραστηριότητα στη μελέτη και κατασκευή μικρορευστονικών διατάξεων για βιοαναλυτικές εφαρμογές (Karpou et al. 2015; Kefala et al. 2015; Mavraki et al. 2011; Moschou et al. 2013; Moschou et al. 2014; Papadopoulos et al. 2014; Papadopoulos et al. 2015).

Οι Mavraki et al. (Mavraki et al. 2011) ανέπτυξαν μια χαμηλού κόστους διάταξη ΣΡ με ολοκληρωμένες αντιστάσεις σε λεπτό πολυμερικό υπόστρωμα (Εικ. 11β), με σκοπό την εφαρμογή της σε PCR με γρήγορους ρυθμούς ενίσχυσης DNA. Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είχαν σαν βάση υποστρώματος το εμπορικώς διαθέσιμο Pyralux™ (Εικ. 11α). Επιβεβαιώθηκε η λειτουργία των ολοκληρωμένων θερμικών στοιχείων μέσω υπολογιστικής μελέτης των ηλεκτρικών τους χαρακτηριστικών (Εικ. 11γ) και των προφίλ θερμοκρασίας κατά μήκος των μικροκαναλιών (Εικ. 11δ), μελετώντας ένα θερμικό κύκλο (Εικ. 11ε).



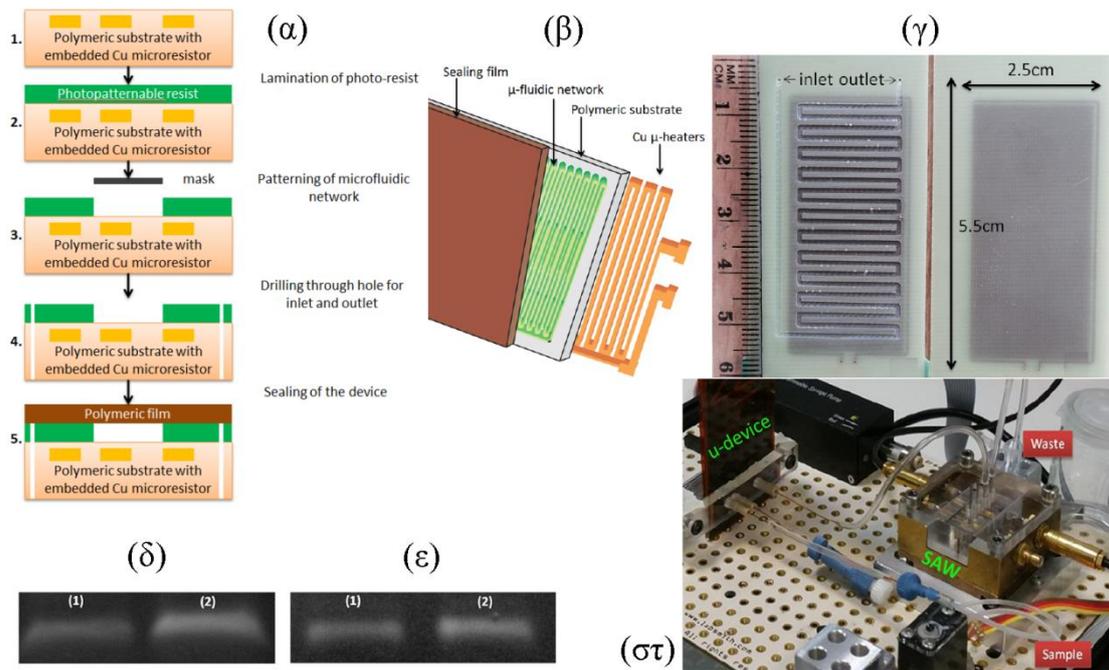
Εικόνα 11 – (α) Υλικά και διαδικασία κατασκευής. (β) Γεωμετρία διάταξης. Αποτελέσματα προσομοίωσης που παρουσιάζουν (γ) την θερμοκρασία των αντιστάσεων συναρτήσει της ηλεκτρικής ισχύος, (δ) το προφίλ θερμοκρασίας ενός θερμικού κύκλου κατά μήκος του καναλιού και (ε) τη μοναδιαία κυψελίδα ενός θερμικού κύκλου στην οποία εκτελέστηκε η προσομοίωση. (Mavraki et al. 2011)

Οι Moschou et al. (Moschou et al. 2014), χρησιμοποιώντας την ίδια τεχνολογία κατασκευής (Εικ. 12α) υλοποίησαν μια διάταξη μPCR ΣΡ (Εικ. 12β) επιβεβαιώνοντας τη λειτουργία της (Εικ. 12στ) με την επιτυχή ενίσχυση μήτρας DNA 90 ζευγών βάσης του γονιδίου GAPDH, μέσα σε 5 λεπτά (Εικ. 12ζ). Η σχεδίαση της διάταξης προήλθε ως αποτέλεσμα υπολογιστικής μελέτης όπου μελετήθηκε η θερμοκρασιακή ομοιομορφία των ζωνών της PCR (Εικ. 12δ) καθώς και τα προφίλ θερμοκρασίας της διάταξης για διάφορες ταχύτητες εισόδου του ρευστού (Εικ. 12γ) που επιβεβαιώθηκαν και με θερμική κάμερα κατά τη διάρκεια λειτουργίας (Εικ. 12ε).



Εικόνα 12 – (α) Υλικά και διαδικασία κατασκευής. (β) Γεωμετρία διάταξης. Αποτελέσματα προσομοίωσης που παρουσιάζουν (γ) τη θερμοκρασιακή κατανομή ενός θερμικού κύκλου για 2 ταχύτητες εισόδου καθώς και (δ) την θερμοκρασιακή ομοιομορφία (%) σε κάθε ζώνη. (ε) Θερμοκρασιακή κατανομή της διάταξης από θερμική κάμερα. (στ) φωτογραφία της όλης διάταξης. (ζ) Εικόνα γέλης αгарόζης όπου εμφανίζει το ποσό DNA που παράγεται με δύο διαφορετικές ταχύτητες ροής. (Moschou et al. 2014)

Τέλος, οι Καρrou et al. (Καρrou et al. 2015) κατασκεύασαν (Εικ. 13α) μια πρωτοπόρα λειτουργική πλατφόρμα ανίχνευσης μεταλλάξεων σχετιζόμενων με καρκίνο του μαστού, μέσω ανίχνευσης του γονιδίου BRCA1 (Εικ. 13β-γ), σε μια διάταξη μPCR ΣΡ και εφάρμοσαν δυο μεθόδους ενίσχυσης: της κλασσικής PCR και της ισόθερμικής ενίσχυσης (HDA – Helicase Dependent Amplification). Και με στις δυο μεθόδους η ενίσχυση πραγματοποιήθηκε επιτυχώς μέσα σε ελάχιστα λεπτά (Εικ. 13δ-ε) και τα προϊόντα DNA ανιχνεύθηκαν μέσω ολοκλήρωσης ενός αισθητήρα επιφανειακών ακουστικών κυμάτων (SAW – surface acoustic waves sensor) (Εικ. 13στ).



Εικόνα 13 – (α) Διαδικασία κατασκευής διάταξης. (β) Γεωμετρία διάταξης. (γ) Φωτογραφία διάταξης. Εικόνα ηλεκτροφόρησης γέλης δελιχνοντας την ενίσχυση (δ) 113 ζευγών βάσεων με τη μέθοδο ισόθερμης PCR HDA και (ε) 157 ζευγών βάσεων με τη μέθοδο κλασσικής PCR. (στ) Φωτογραφία ολόκληρης της πλατφόρμας. (Karprou et al. 2015)

1.4 Θερμικά στοιχεία για τις διατάξεις μPCR

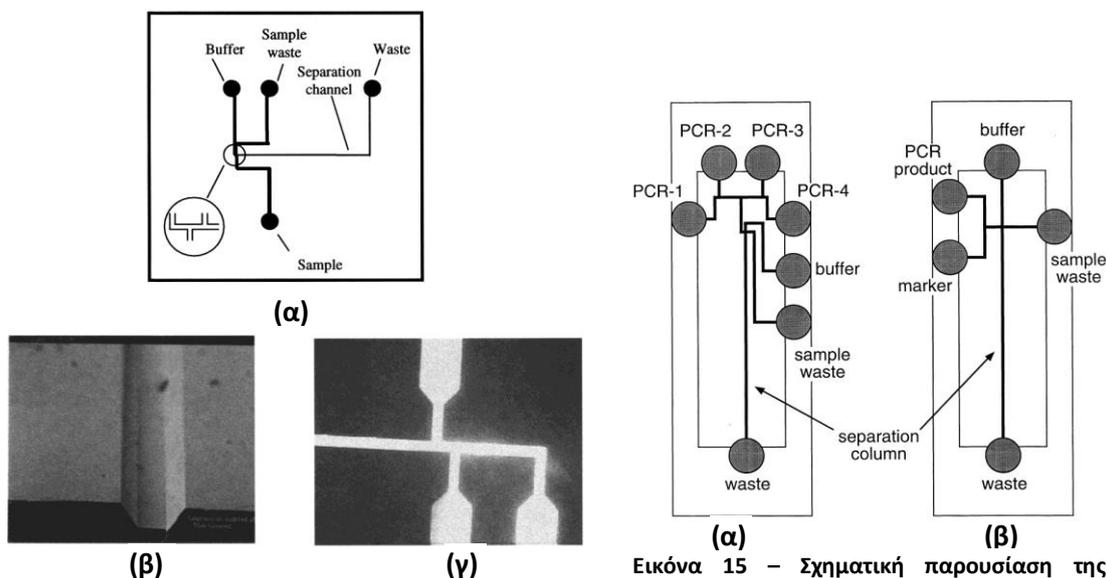
Η PCR δεν είναι ισοθερμοκρασιακή διεργασία. Προκειμένου να υλοποιηθεί απαιτείται η θέρμανση του δείγματος εντός καλά ορισμένων θερμοκρασιακών ζωνών που ορίζονται από το πρωτόκολλο της PCR έτσι ώστε να λάβουν χώρα τα στάδια της αποδιάταξης, υβριδισμού και επιμήκυνσης. Επομένως κρίσιμο στοιχείο της διάταξης, είτε αυτή είναι ΣΘ είτε ΣΡ, είναι τα θερμικά στοιχεία. Στις επόμενες παραγράφους θα περιγραφούν διάφορες τεχνολογίες υλοποίησης αντιστάσεων στις διατάξεις μPCR.

1.4.1 Εξωτερικές αντιστάσεις

Οι εξωτερικές αντιστάσεις που χρησιμοποιούνται σε διατάξεις μPCR είναι μεταλλικά τμήματα συνήθως από χαλκό ή αλουμίνιο με κοιλότητες για την ολοκλήρωση των καναλιών της μPCR και συνδέονται με μια μονάδα peltier για την διαδικασία των θερμικών κύκλων. Η ψηφίδα της διάταξης μPCR τοποθετείται απευθείας στο θερμικό ανακυκλωτή (μονάδα peltier) μέσω μιας επίπεδης μεταλλικής πλάκας.

Βιβλιογραφικά έχουν αναφερθεί πολλές διατάξεις μPCR σε ψηφίδες κατασκευασμένες από διάφορα υλικά με εξωτερικές αντιστάσεις ή εμπορικούς θερμοκυκλοποιητές (thermal cyclers). Οι Liu et al. (Liu et al. 2001) για παράδειγμα κατασκεύασαν μία διάταξη μPCR ΣΘ από PC όγκου 20 μ L με ολοκληρωμένη τριχοειδή ηλεκτροφόρηση για ανάλυση γονιδίου (Εικ. 14). Η ενίσχυση του DNA πραγματοποιήθηκε σε 25 κύκλους με συνολικό χρόνο 223 min, θερμαίνοντας την διάταξη πάνω σε ένα εμπορικό θερμοκυκλοποιητή. Οι Waters et al. (Waters et al. 1998) σχεδίασαν μία διάταξη μPCR ΣΘ από γυαλί με 4 θαλάμους όγκου 12 μ L ο καθένας για να ενισχύσουν (α) 199 και 500 ζεύγη βάσεων (base pair, bp) περιοχών του βακτηριοφάγου (bacteriophage) του λ DNA και (β) 346 και 410 bp περιοχών του γονιδιώματος και πλασμιδίου του DNA του E. coli, αντίστοιχα (Εικ. 15). Ο χρόνος ενίσχυσης

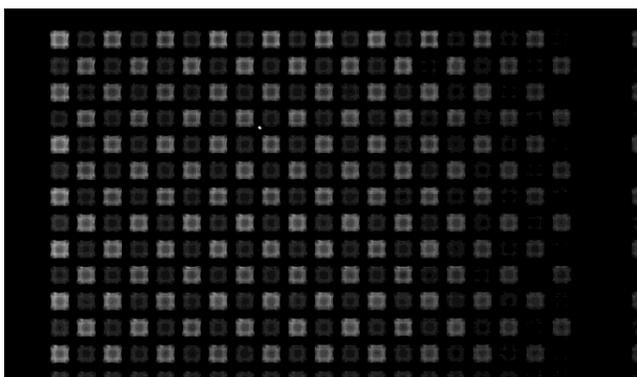
ήταν 223 min και πραγματοποιήθηκε σε 25 κύκλους. Οι Kaigala et al. (Kaigala et al. 2006) επίσης κατασκεύασαν μία διάταξη μPCR ΣΘ 2 μL από γυαλί και PDMS για ανίχνευση του ιού BK (human polyoma virus) με εξωτερικές αντιστάσεις. Οι θερμικοί κύκλοι πραγματοποιούνταν με ένα χειροποίητο θερμοηλεκτρικό σύστημα με ρυθμούς θέρμανσης και ψύξης 5 και 3 °C/s, αντίστοιχα, πετυχαίνοντας χρόνο ενίσχυσης 84 min μέσα σε 25 κύκλους.



Εικόνα 14 – (α) Σχηματική παρουσίαση της ψηφίδας από PC. (β) Εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Scanning electron microscope, SEM) του προφίλ του καναλιού, (γ) Εικόνα φθορισμού του θερμικά συγκολλημένου τριχοειδούς δικτύου καναλιών (τα κανάλια περιέχουν φθοροεσκίνη). Πηγή: (Liu et al. 2001)

Εικόνα 15 – Σχηματική παρουσίαση της ψηφίδας που χρησιμοποιήθηκε (α) για την ενίσχυση PCR και την ηλεκτροφορητική ανάλυση (electrophoretic analysis) πολλαπλών δειγμάτων DNA, (β) για την ταξινόμηση των προϊόντων της PCR μέσω ενός DNA marker. Πηγή: (Waters et al. 1998)

Για μεγάλες ποσότητες ενίσχυσης DNA, οι Matsubara et al. (Matsubara et al. 2004) ανέπτυξαν μία διάταξη μPCR ΣΘ με σειρές από θαλάμους όγκου 40 nL, ο καθένας (Εικ. 16). Συνολικά 1248 θάλαμοι-αντιδραστήρες κατασκευάστηκαν σε μια ψηφίδα πυριτίου διαστάσεων 1x3 in². Για την υλοποίηση των θερμικών κύκλων χρησιμοποιήθηκε ένας εμπορικός θερμοκυκλοποιητής. Ένα χρόνο αργότερα, στην επόμενη δουλειά τους παρουσίασαν έναν θερμοκυκλοποιητή σε μικροκλίμακα για την ίδια διάταξη των 1248 θαλάμων – αντιδραστήρων (Matsubara et al. 2005). Αυτή η διάταξη μPCR χρησιμοποιήθηκε για την ενίσχυση τριών διαφορετικών ορότυπων (serotypes) και πέντε γονιδίων του *Escherichia coli*. Η ενίσχυση πραγματοποιήθηκε σε χρόνο 62 min για τη διάταξη του εμπορικού θερμοκυκλοποιητή και 56 min για τη διάταξη με τον θερμοκυκλοποιητή στη μικροκλίμακα.



Εικόνα 16 – Εικόνα φθορισμού της σειράς των θαλάμων της μPCR των Matsubara et al. (Matsubara et al. 2004).

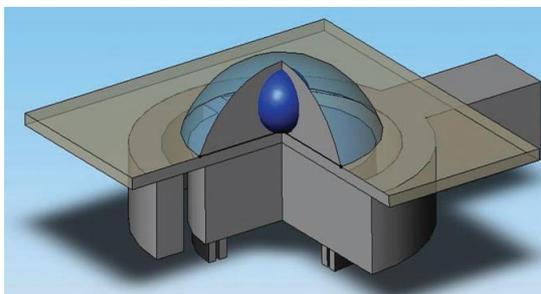
1.4.2 Ολοκληρωμένες αντιστάσεις σε μPCR

Οι ολοκληρωμένες αντιστάσεις είναι λεπτά μεταλλικά στρώματα πάχους από κλάσμα του μm έως αρκετά mm, οι οποίες κατασκευάζονται κατευθείαν στην κάτω πλευρά της ψηφίδας της μPCR με τεχνικές φυσικής εναπόθεσης ατμού, επιμετάλλωσης ή εναπόθεσης λείζερ. Σε μερικές περιπτώσεις τα λεπτά αυτά στρώματα κατασκευάζονται πάνω σε κάποιο υπόστρωμα, όπως γυαλί ή πυρίτιο, το οποίο τοποθετείται κατευθείαν σε επαφή με την ψηφίδα της διάταξης μPCR. Ως υλικά για τις αντιστάσεις χρησιμοποιούνται υλικά υψηλής θερμικής αγωγιμότητας, όπως ο χαλκός, λευκόχρυσος, χρυσός, αργίλιο, βολφράμιο, ίνδιο και οξείδιο του κασσιτέρου. Η ολοκλήρωση της ψηφίδας με λεπτά φιλμ αντιστάσεων παρέχει αποτελεσματική μεταφορά θερμότητας στο δείγμα των αντιδραστηρίων της PCR. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές εργασίες που παρουσιάζουν αντιστάσεις λεπτών φιλμ που προσφέρουν υψηλούς ρυθμούς θέρμανσης και ψύξης σε σχέση με τους εμπορικούς θερμοκυκλοποιητές, οδηγώντας σε γρήγορη ενίσχυση DNA (Zhang and Xing 2007).

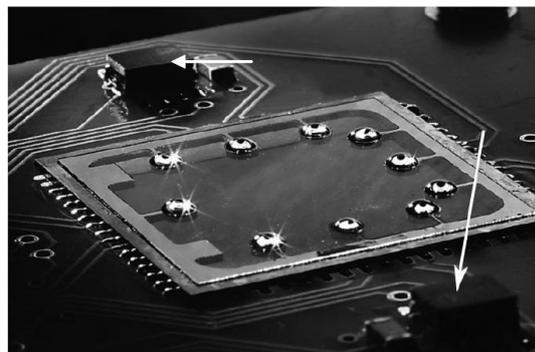
Η πειραματική αξιολόγηση της θερμοκρασιακής ομοιομορφίας γίνεται είτε με απευθείας επαφή μεταξύ του αισθητήρα θερμοκρασίας και του δείγματος της PCR, είτε μέσω συμβατικών αισθητήρων θερμοκρασίας που τοποθετούνται μακριά από το δείγμα της PCR. Η μέτρηση της θερμοκρασίας είναι ακριβέστερη στην πρώτη περίπτωση από ότι στη δεύτερη, ειδικά όταν η ψηφίδα κατασκευάζεται με πολυμερικά υλικά, λόγω της χαμηλής θερμικής αγωγιμότητας που έχουν.

Ένα από τα καλύτερα παραδείγματα χρήσης λεπτών φιλμ αντιστάσεων είναι των Neuzil et al. (Neuzil et al. 2006), οι οποίοι παρουσίασαν ενίσχυση DNA μέσα σε 5,7 min (Εικ. 17 - 18). Κατασκευάστηκε μPCR ΣΘ σε ψηφίδα πυριτίου με μορφή δοκού και έχοντας ένα δίσκο στο τέλος της. Στο επάνω μέρος του δίσκου τοποθετήθηκε μία γυάλινη καλυπτρίδα μικροσκοπίου μαζί με ένα λεπτό φιλμ αντίστασης και έναν αισθητήρα θερμοκρασίας. Για την υλοποίηση της PCR χρησιμοποιήθηκε ένας θάλαμος αντίδρασης, όπου ορυκτέλαιο καλύπτει το δείγμα των αντιδραστηρίων της PCR για αποφυγή της εξάτμισης του δείγματος. Κάθε δείγμα PCR 100 nL, ενθυλακωμένο με το ορυκτέλαιο, τοποθετήθηκε σε ένα αναλώσιμο γυάλινη ψηφίδα για την διαδικασία των θερμικών κύκλων. Η συνδεσμολογία αυτή παρέχει εξαιρετικούς ρυθμούς θέρμανσης και ψύξης, 175°C/s και 125°C/s αντίστοιχα. Η ενίσχυση ήταν ταχεία, εξαιτίας της μικρής θερμικής μάζας και ειδικά των λεπτών φιλμ αντιστάσεων, και παράλληλα επιτεύχθηκε υψηλή απόδοση με πραγματοποίηση 10 αντιδράσεων PCR ταυτόχρονα. Επίσης, τοποθετώντας την μPCR σε ένα μικροσκόπιο ήταν

δυνατή η παρακολούθηση, σε πραγματικό χρόνο, της ενίσχυσης. Η ανάλυση μέσω τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης έδειξε ότι η PCR ήταν υψηλά επιλεκτική.



Εικόνα 17 – Σχηματική εικόνα της διάταξης μPCR των Neuzil et al. (Neuzil et al. 2006). Αποτελείται από έναν εσωτερικό δίσκο με μία αντίσταση και έναν αισθητήρα θερμοκρασίας στο πίσω μέρος, συνδεδεμένα με δύο στενές ακτίνες με τον εξωτερικό δακτύλιο. Ο δακτύλιος αυτός συνδέεται με το υπόστρωμα με μία δοκό. Το δείγμα (φαίνεται με μπλε χρώμα) καλύπτεται με ορυκτέλαιο και είναι τοποθετημένο με μία γυάλινη καλυπτρίδα μικροσκοπίου.

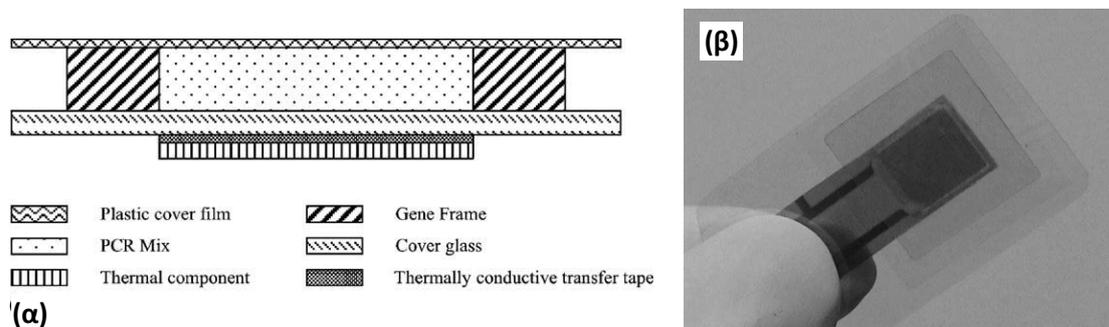


Εικόνα 18 – Φωτογραφία της κατασκευασμένης ψηφίδας των (Neuzil et al. 2006). Η ψηφίδα αποτελείται από 10 ξεχωριστά ελεγχόμενες αντιστάσεις και μπορεί να υλοποιήσει 10 PCR ταυτόχρονα. Το συνολικό του αποτύπωμα είναι 24,2 x 24,2 mm. Δύο αισθητήρες θερμοκρασίας (φαίνονται με τα βελάκια) βαθμονομούνται με ακρίβεια $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$. Χρησιμοποιούνται για να βαθμονομήσουν τους αισθητήρες θερμοκρασίας της μPCR.

Οι Lagally et al. (Lagally et al. 2001) ανέπτυξαν μία διάταξη μPCR ΣΘ από γυαλί, οκτώ θαλάμων με συνολικό όγκο 200 nL, με ολοκληρωμένα λεπτά φιλμ αντιστάσεων από λευκόχρυσο. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας έγινε μέσω ενός ελεγκτή τύπου PID (proportional/integral/derivative, αναλογικού/ολοκληρωτικού/διαφορικού) μέσω LabVIEW. Επιτεύχθηκαν ρυθμοί θέρμανσης και ψύξης $20^{\circ}\text{C}/\text{s}$. Πραγματοποιήθηκαν παράλληλες μPCR για την ενίσχυση ενός συγκεκριμένου χρωμοσώματος από ανθρώπινο γονιδιωματικό DNA σε χρόνο 10 min. Μετά την ενίσχυση το δείγμα ανιχνεύθηκε μέσα στα ολοκληρωμένα κανάλια τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης. Παρόμοια δουλειά παρουσίασαν και οι Rodriguez et al. (Rodriguez et al. 2003), οι οποίοι κατασκεύασαν μία διάταξη μPCR ΣΘ από πυρίτιο με ολοκληρωμένα τριχοειδή γυάλινα κανάλια ηλεκτροφόρησης. Οι ρυθμοί θέρμανσης και ψύξης ήταν $11^{\circ}\text{C}/\text{s}$ και ο χρόνος ενίσχυσης ήταν 13 min για 30 κύκλους.

Γενικά, οι ψηφίδες της μPCR θεωρούνται αναλώσιμες και απορρίπτονται μετά την ενίσχυση του DNA για την αποφυγή μόλυνσης με το ενισχυμένο προϊόν. Όμως η απόρριψη μια ψηφίδας μPCR με ολοκληρωμένες αντιστάσεις δεν είναι οικονομική. Οι Shen et al. (Shen et al. 2005) παρακάμψαν αυτό το πρόβλημα σχεδιάζοντας μια μPCR ΣΘ όγκου 25 μL μεταξύ ενός γυάλινου επιπέδου και ενός πλαστικού καλύμματος (Εικ. 19). Το γυάλινο επίπεδο και το πλαστικό κάλυμμα χωρίζονται μεταξύ τους χρησιμοποιώντας μία συγκολλητική ταινία διπλής όψης. Το λεπτό φιλμ των αντιστάσεων κατασκευάστηκε στο κάτω μέρος του γυαλιού και επιτεύχθηκαν ρυθμοί θέρμανσης και ψύξης των $8^{\circ}\text{C}/\text{s}$. Πραγματοποιήθηκε ενίσχυση ενός τμήματος 244 bp του ιού ηπατίτιδας C σε έναν λογικό χρόνο των 28 min. Τα παραπάνω παραδείγματα δείχνουν ότι η ενίσχυση του DNA μπορεί να γίνει πιο γρήγορη σε μία διάταξη μPCR ΣΘ με ολοκληρωμένες αντιστάσεις λεπτών φιλμ σε σχέση με τους χρόνους που απαιτούνται με τη χρήση εμπορικών ή προσαρμοσμένων θερμοκυκλοποιητών.

Εφαρμόζοντας λεπτά φιλμ αντιστάσεων στις διατάξεις μPCR ΣΘ ελαττώνεται ο χρόνος ενίσχυσης, ενισχύοντας την μεταφορά θερμότητας και αυξάνοντας του ρυθμούς θέρμανσης/ψύξης (Ahmad and Hashsham 2012). Επιπλέον, μικρότεροι όγκοι αντιδραστηρίων, χρήση θερμικών αγωγίμων υλικών και ακρίβεια του θερμοκρασιακού ελέγχου αποτελούν κρίσιμους παράγοντες για γρήγορη και αναπαραγωγίσιμη ενίσχυση γονιδίων. Οι ψηφίδες ολοκληρωμένων αντιστάσεων φαίνεται να είναι πιο ελπιδοφόρες για συστήματα ανάλυσης γονιδίων σε μικρογραφία.

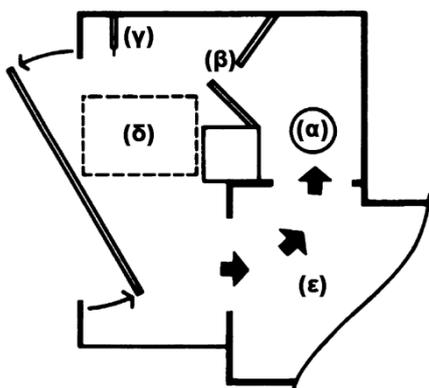


Εικόνα 19 – (α) Η σχηματική δομή του διάταξης μPCR και (β) η κατασκευασμένη διάταξη των (Shen et al. 2005).

1.4.3 Ανέπαφη θέρμανση σε συσκευές μPCR

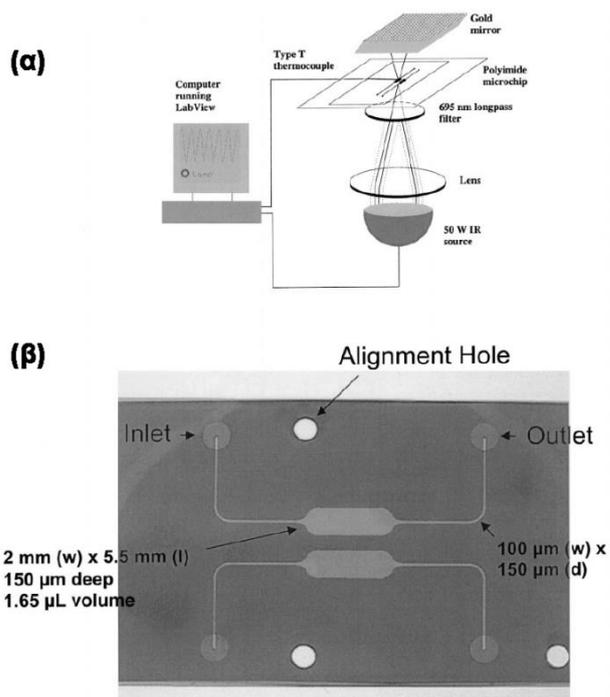
Σε συστήματα μPCR ΣΘ, μία αποτελεσματική επαφή μεταξύ της πηγής θερμότητας και του δοχείου της αντίδρασης της PCR, οδηγεί σε αποδοτική μεταφορά θερμότητας που έχει ως αποτέλεσμα μία αναπαραγωγίσιμη PCR με υψηλή απόδοση. Ένας άλλος τρόπος για την μεταφορά θερμότητας, εκτός από τις εξωτερικές και τις ολοκληρωμένες αντιστάσεις, είναι μέσω ανέπαφης (non-contact) προσέγγισης. Η ανέπαφη θέρμανση εφαρμόζεται με σκοπό να πετύχει μεγαλύτερους ρυθμούς θέρμανσης/ψύξης και επομένως ταχεία ενίσχυση. Μερικά παραδείγματα είναι η θέρμανση του δείγματος της PCR με ζεστό αέρα, υπέρυθρη (IR) ακτινοβολία, λέιζερ, επαγωγή και μικροκύματα (Zhang et al. 2006). Οι πιο συνηθισμένοι τρόποι που εφαρμόζεται για την ανέπαφη θέρμανση είναι ο ζεστός αέρας και η υπέρυθρη ακτινοβολία.

Η χρήση του ζεστού αέρα για την πραγματοποίηση της θερμικής διαδικασίας της PCR εισήχθη από τους Wittwer et al. (Wittwer et al. 1989). Το δείγμα των αντιδραστηρίων της μPCR ΣΘ, τοποθετημένο σε ένα γυάλινο τριχοειδές δοχείο, θερμαίνονταν και ψύχονταν με απότομη αλλαγή των ρευμάτων του αέρα στις επιθυμητές θερμοκρασίες. Ένα τμήμα 536 bp ανθρώπινου γονιδιωματικού DNA ενισχύθηκε με αυτόν τον τρόπο σε χρόνο 15 min (Εικ. 20).



Εικόνα 20 – Σχηματικό διάγραμμα διάταξης μPCR με χρήση ζεστού αέρα. (α) Πηνίο θέρμανσης. (β) Διαφράγματα για ομοιόμορφη ανάμιξη του ζεστού αέρα. (γ) Θερμοζεύγος που οδηγεί τον ελεγκτή. (δ) Θάλαμος αντίδρασης. (ε) Φυσητήρας αέρα. Πηγή: (Wittwer et al. 1989)

Η χρήση της υπέρυθρης ακτινοβολίας είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος θέρμανσης δείγματος PCR χωρίς επαφή. Το νερό απορροφά την υπέρυθρη ακτινοβολία στα μήκη κύματος μεταξύ 900 και 4000 nm, όπου πραγματοποιείται διέγερση των δονητικών ζωνών του με αποτέλεσμα την θέρμανση του δείγματος. Λόγω αυτής της ιδιότητας η υπέρυθρη ακτινοβολία θερμαίνει μόνο το δείγμα των αντιδραστηρίων της PCR και όχι την υπόλοιπη ψηφίδα και άλλα μέρη της διάταξης, εξαρτώμενα βέβαια από τις ιδιότητες των υλικών τους. Επιπλέον, η υπέρυθρη ακτινοβολία μπορεί μέσω φίλτρων και φακών να εστιαστεί και να περιοριστεί σε μήκη κύματος που δεν μπορούν να απορροφηθούν από τα υπόλοιπα υλικά ή να επηρεάσουν τις αντιδράσεις της PCR. Η χρήση της υπέρυθρης ακτινοβολίας ως μέθοδος θέρμανσης του θαλάμου της διάταξης μPCR, εμφανίστηκε για πρώτη φορά το 1998 από τους Oda et al. (Oda et al. 1998), οι οποίοι παρουσίασαν μια μPCR ΣΘ από βοριο-πυριτικό γυαλί (boro-silicate glass block) με όγκο 28 μL. Ένας λαμπτήρας βολφραμίου εφαρμόστηκε ως πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας για τη θέρμανση και μία πηγή πεπιεσμένου αέρα με μία ηλεκτρομαγνητική βαλβίδα για την ψύξη. Οι ρυθμοί θέρμανσης και ψύξης που επιτευχθήκαν ήταν 10°C/s και 20°C/s, αντίστοιχα. Ο συνολικός χρόνος για την διαδικασία της PCR ήταν 14 min. Οι Huhmer και Landers (Hühmer and Landers 2000) επίσης χρησιμοποίησαν την υπέρυθρη ακτινοβολία για την διαδικασία των θερμικών κύκλων σε ένα τριχοειδή θάλαμο μPCR ΣΘ από πυρίτιο όγκου 160 nL. Το δείγμα των αντιδραστηρίων της PCR χρειάστηκε 10 κύκλους για να παράξει ανιχνεύσιμη ποσότητα ενισχυμένου προϊόντος με τη μέθοδο της ηλεκτροφόρησης. Επιτευχθήκαν υψηλοί ρυθμοί θέρμανσης και ψύξης 65°C/s και 20°C/s, αντίστοιχα.



Εικόνα 21 – (α) Εγκατάσταση μPCR υπέρυθρης ακτινοβολίας (Giordano et al. 2001). (β) ψηφίδα πολυιμιδίου. Πηγή: (Giordano et al. 2001)

Την πιο γρήγορη PCR, βασισμένη στην υπέρυθρη ακτινοβολία, παρουσίασαν οι Giordano et al. (Giordano et al. 2001) με χρόνο μόλις 240 s. Η αντίδραση της PCR πραγματοποιήθηκε σε μια μPCR ΣΘ από πολυιμίδιο όγκου 1,7 μL (Εικ. 21). Το πολυιμίδιο είναι ένα πολύ χρήσιμο υλικό για την θέρμανση μέσω υπέρυθρης ακτινοβολίας εξαιτίας της μεγάλης οπτικής μετάδοσης στο εύρος της υπέρυθρης. Για την ακρίβεια του θερμοκρασιακού ελέγχου, ένα θερμοζεύγος τοποθετήθηκε μέσα στο θάλαμο της αντίδρασης.

Οι ανέπαφοι τρόποι θέρμανσης δεν συνεισφέρουν στη θερμική μάζα του συστήματος της μPCR, ενώ οδηγούν σε ταχύτερους θερμικούς κύκλους και επομένως ταχύτερη ενίσχυση του DNA. Όμως οι πηγές υπέρυθρης ακτινοβολίας που παρουσιάστηκαν παραπάνω, όπως για παράδειγμα η λάμπα βολφραμίου, δεν μπορούν να είναι μέρος ενός φορητού συστήματος διάταξης μPCR. Από την άλλη, υπέρυθρα λέιζερ σε μικρογραφία είναι εμπορικά διαθέσιμα και θα μπορούσαν να ικανοποιήσουν απαιτήσεις μίας αποδοτικής ενίσχυσης καθώς και να μπορούν να ολοκληρωθούν σε μια διάταξη μPCR.

1.5 Υπολογιστικά μοντέλα

Κατά τη διάρκεια της σχεδίασης διατάξεων σε ψηφίδα πρέπει να αξιολογηθεί η απόδοση της διάταξης: π.χ. για μια διάταξη μPCR η αξιολόγηση γίνεται σε όρους ενίσχυσης DNA, κατανάλωσης ισχύος και διάρκειας λειτουργίας. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει πολυάριθμες δοκιμές σχεδίων προκειμένου να αναδειχτεί το βέλτιστο με τη μεγαλύτερη απόδοση. Επομένως, στην περίπτωση που η αξιολόγηση αυτή γίνει με τη διαδικασία κατασκευής και διενέργειας πειράματος, το κόστος αυξάνεται λόγω χρήσης βιολογικών αντιδραστηρίων, υλικών κατασκευής και εργατοωρών που δαπανούνται κατά τη διάρκεια δοκιμών. Κρίνεται απαραίτητο λοιπόν η διαδικασία αξιολόγησης διατάξεων, μέσω διαδοχικών δοκιμών διαφόρων σχεδίων, να γίνεται μέσω υπολογιστικής μελέτης

προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το κόστος. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα που παρουσιάζει η χρήση υπολογιστικών μελετών είναι η εύκολη εξαγωγή δεδομένων, απαραίτητων για την εξήγηση φυσικών φαινομένων, σε σημεία της διάταξης όπου θα ήταν αδύνατο να εξαχθούν μέσω πειράματος. Τέλος, τις περισσότερες φορές και για απλές διατάξεις, η αξιολόγηση μιας διάταξης μέσω υπολογιστικής μελέτης μπορεί να γίνει σε μικρό χρονικό διάστημα, εκεί που η κατασκευή της αντίστοιχης διάταξης θα απαιτούσε αρκετές εργατοώρες.

Συγκεκριμένα για τις διατάξεις μPCR, οι περισσότερες εργασίες στοχεύουν στον υπολογισμό της θερμοκρασίας στις διατάξεις καθώς ο έλεγχος της θερμοκρασίας είναι κρίσιμος για την απόδοση της ενίσχυσης. Βασικό κριτήριο σε αυτού του είδους τις υπολογιστικές μελέτες είναι το ομοιόμορφο θερμοκρασιακό προφίλ του δείγματος DNA και στις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες, το οποίο δεν πρέπει να ξεπερνά τα όρια $\pm 1,5$ °C (Niu et al. 2006). Δεδομένου ότι η ενίσχυση DNA καθορίζει σημαντικά την απόδοση της διάταξης μPCR, υπάρχουν μελέτες οι οποίες κάνουν χρήση του μοντέλου διατήρησης των ειδών, λαμβάνοντας υπ' όψιν την κινητική της PCR. Τέλος, λίγες μελέτες συνδυάζουν τη λειτουργία του ελεγκτή θερμοκρασίας σε διατάξεις ΣΘ.

Το αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η προσομοίωση λειτουργίας διατάξεων μPCR (βλ. παράγραφο 1.6) και για αυτό το λόγο επιχειρείται μία σύντομη ανασκόπηση των υπολογιστικών μοντέλων που έχουν χρησιμοποιηθεί στη βιβλιογραφία.

Πίνακας 1 – Ανασκόπηση βιβλιογραφιών με προσομοίωση διατάξεων μPCR

	Διάταξη μPCR*	Γεωμετρία	Ροή ρευστού	Μοντέλο Μεταφορά Θερμότητας σε στερεά/ρευστά	Θερμότητα Joule heating	Διατήρηση μάζας των ειδών	Κινητική PCR	Ελεγκτής θερμοκρασίας**	Λογισμικό
(Allen et al. 2009)	ΦΣ	2δ	✓	Ρευστά		✓	✓		Comsol
(Amasia et al. 2013)	ΣΘ	3δ	✓	Πλήρες					CFD-ACE+
(Cao et al. 2011)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες					STAR-CD CD-Adapco / Lab-Chip-Designer
(Chen et al. 2012)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες					ANSYS Fluent
(Hunnicke-Smith 1997)	T	0δ		Ρευστά		✓	✓		
(Ibrahim et al. 2014)	ΣΘ	3δ		Πλήρες				P	Comsol
(Kang et al. 2006)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες	✓				ANSYS Fluent
(Kumar et al. 2008)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες					ANSYS Fluent
(Mohammed et al. 2012)	ΣΡ	3δ	✓	Ρευστά					ANSYS Fluent
(Mohr et al. 2007)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες					CFD-ACE+
(Moschou et al. 2014)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες					Comsol
(Shen et al. 2005)	ΣΘ	3δ		Πλήρες					ANSYS Fluent
(Thomas et al. 2014)	ΣΡ	3δ	✓	Πλήρες					Solidworks Flow
(Wang and Wang 2010)	ΣΡ	1δ		Ρευστά		✓	✓		
(Wang et al. 2007)	ΣΡ	3δ		Ρευστά		✓	✓		CFD-ACE+
Παρούσα εργασία	ΣΡ & ΣΘ	3δ	✓	Πλήρες	✓	✓	✓	PID	Comsol/Matlab

* ΦΣ=Φυσικής συναγωγής, T=Ταλάντωσης

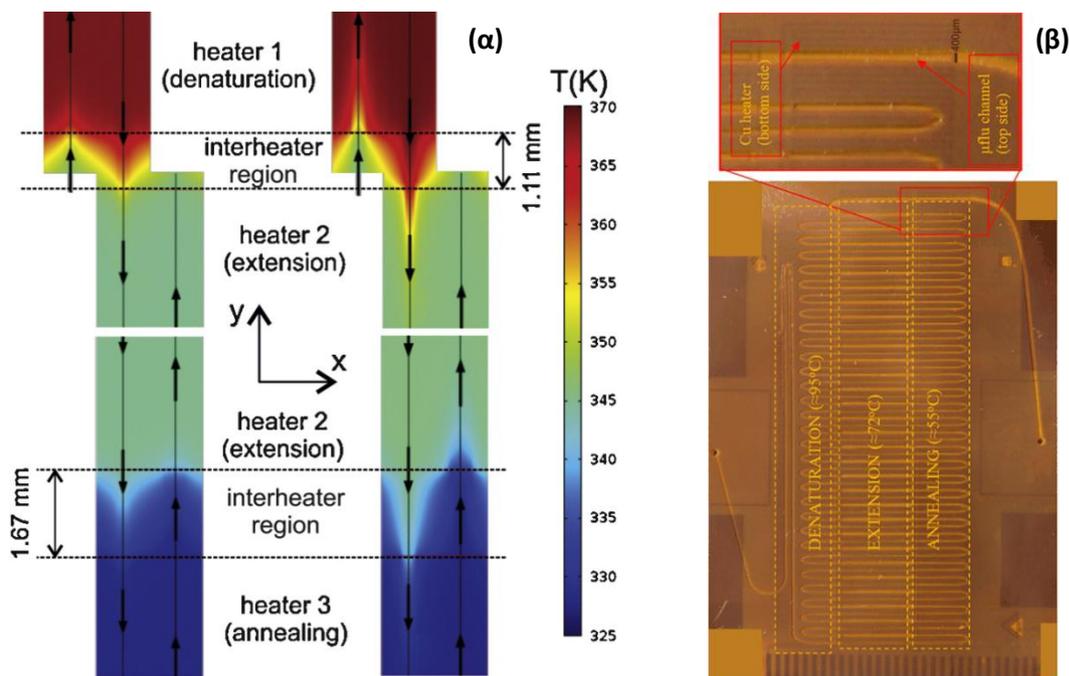
**P=Ελεγκτής Proportional, PID=Ελεγκτής Proportional Integral Derivative

Στην βιβλιογραφία παρουσιάζεται πληθώρα διατάξεων PCR εστιάζοντας είτε σε διατάξεις ΣΡ είτε σε ΣΘ. Ο πίνακας 1 περιλαμβάνει δημοσιευμένες εργασίες μοντελοποίησης και αριθμητικής προσομοίωσης διατάξεων μPCR: οι διάφορες πτυχές των μελετών αυτών, όπως ο αριθμός των διαστάσεων του μοντέλου και οι εξισώσεις που επιλύονται παρουσιάζονται και συγκρίνονται σε σχέση με την παρούσα εργασία.

1.5.1 Μοντέλα για διατάξεις μPCR συνεχούς ροής

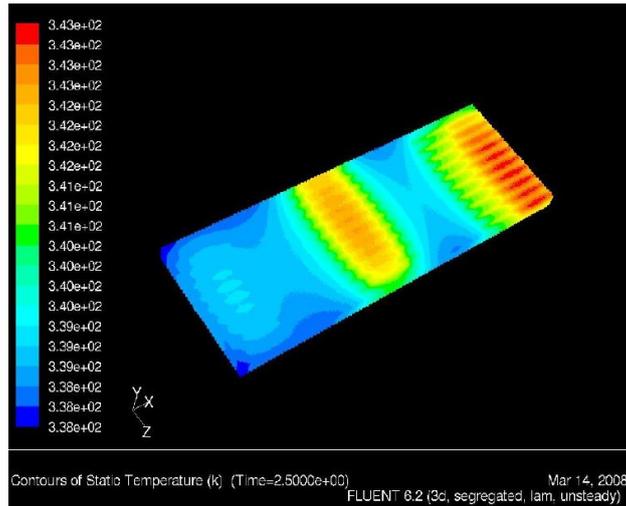
Όσον αφορά τις διατάξεις ΣΡ, οι υπολογισμοί εστιάζουν στη θερμοκρασιακή κατανομή η οποία προκύπτει από τη λύση των εξισώσεων διατήρησης της ορμής και συνέχειας μαζί με την εξίσωση μεταφοράς θερμότητας.

Πιο συγκεκριμένα, οι Moschou et al. (Moschou et al. 2014) προχώρησαν σε υπολογιστική ανάλυση της θερμοκρασιακής ομοιομορφίας και κατασκευή διάταξης μPCR ΣΡ σε λεπτά πολυμερικά υποστρώματα με ολοκληρωμένα θερμικά στοιχεία (Εικ. 22). Μέσω αυτής της προσέγγισης ανέδειξαν ότι η μικρή θερμική μάζα της διάταξης, σε συνδυασμό με τη χαμηλή θερμική διάχυση του πολυμερικού υποστρώματος στο οποίο ολοκληρώνονται τα θερμικά στοιχεία, αποδίδει χαμηλή κατανάλωση ενέργειας με ταχείς ρυθμούς ενίσχυσης DNA.



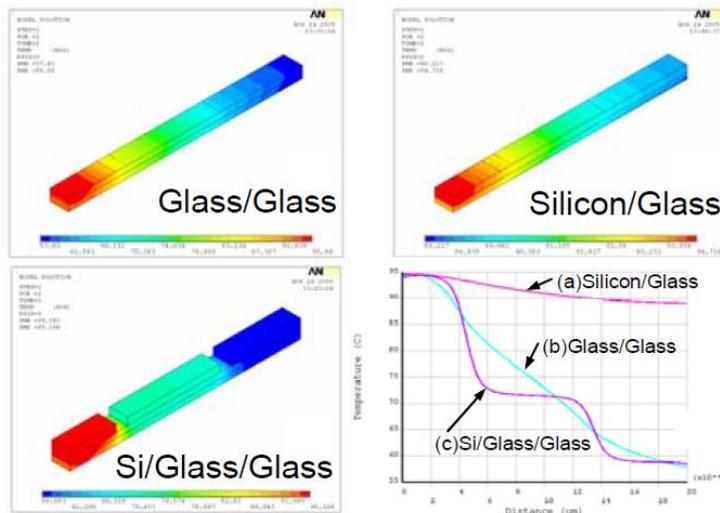
Εικόνα 22 – (α) Θερμοκρασία στο xy επίπεδο μοναδιαίας κυψελίδας διάταξης ΣΡ για δύο ταχύτητες εισόδου ρευστού. (β) Υλοποιημένη διάταξη ΣΡ. Πηγή: (Moschou et al. 2014)

Οι Kumar et al. (Kumar et al. 2008) παρουσίασαν ένα λεπτομερές μοντέλο διάταξης μPCR ΣΡ, ενσωματώνοντας τη ροή του ρευστού καθώς και τη μεταφορά θερμότητας στα ρευστά, προκειμένου να προβλεφθεί η αποτελεσματικότητα του προτεινόμενου σχεδίου. Οι αριθμητικές προσομοιώσεις πραγματοποιήθηκαν για να βρεθούν οι κλίσεις θερμοκρασίας και η κατανομή θερμοκρασίας στην διάταξη (Εικ. 23). Προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η γεωμετρία της διάταξης γίνεται μια παραμετρική μελέτη μεταβάλλοντας την ταχύτητα ροής, τη ροή θερμότητας προς το περιβάλλον καθώς και τις διαστάσεις των καναλιών με σκοπό την επίτευξη θερμικής απομόνωσης μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών.



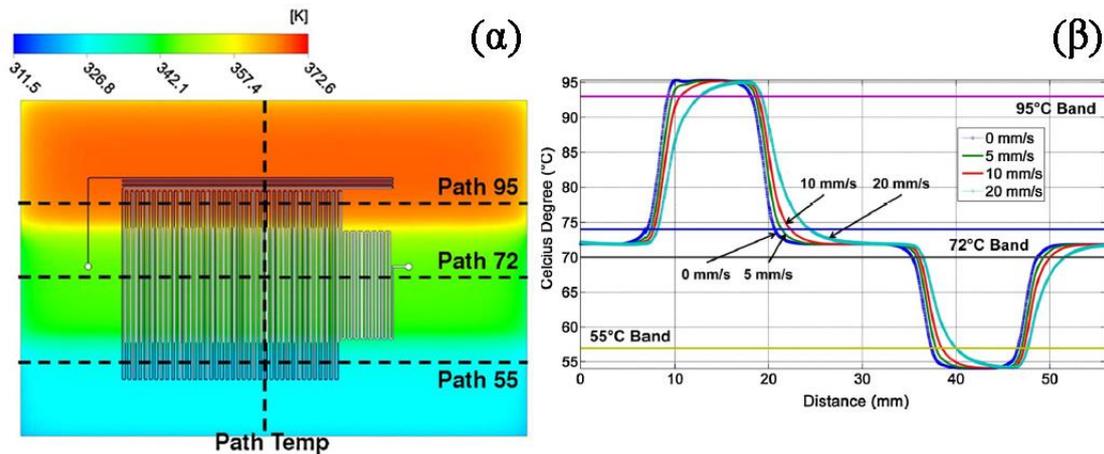
Εικόνα 23 – Προσομοίωση της διάχυσης θερμότητας στη διάταξη, σε μεταβατική κατάσταση. Η προσομοίωση προβλέπει την επίτευξη μόνιμης κατάστασης σε χρόνο 410 s (Kumar et al. 2008)

Οι Kang et al. (Kang et al. 2006) απέδειξαν ότι μπορεί να επιτευχθεί ιδανικό επίπεδο προφίλ ομοιόμορφης θερμοκρασίας σε κάθε μια από τις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες μPCR ΣΡ, μέσω διαδοχικών προσομοιώσεων σε διατάξεις με διαφορετικά υλικά και γεωμετρία, καταλήγοντας σε αυτή με στοιβα υλικών πυριτίου/γυαλιού/πυριτίου και με γεωμετρία που εισάγει διάκενα (trenches) μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών (Εικ. 24).



Εικόνα 24 – Αποτελέσματα προσομοιώσεων προφίλ θερμοκρασίας σε διατάξεις με διαφορετικά υλικά και γεωμετρία (Kang et al. 2006)

Τέλος, οι Chen et al. (Chen et al. 2012) πραγματοποιώντας προσομοιώσεις με διαφορετική ταχύτητα εισόδου ρευστού σε διάταξη μPCR ΣΡ και βρήκαν τις ιδανικές συνθήκες για διαμόρφωση καλά ορισμένων θερμοκρασιακών ζωνών (Εικ. 25).

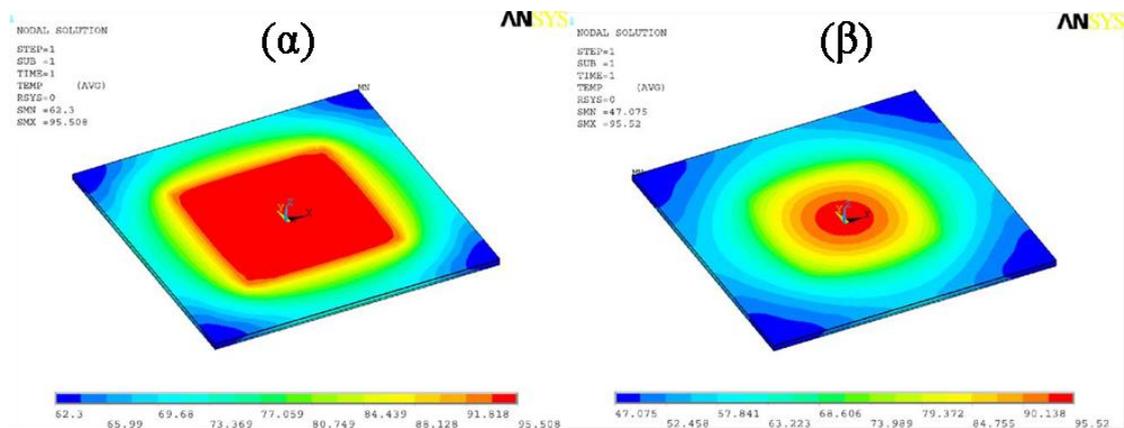


Εικόνα 25 – (α) Κατανομή θερμοκρασίας στη διάταξη. (β) Κατανομή θερμοκρασίας κατά μήκος του μικροκαναλιού με διαφορετικές ταχύτητες ρευστού. (Chen et al. 2012)

1.5.2 Μοντέλα για διατάξεις μPCR στατικού θαλάμου

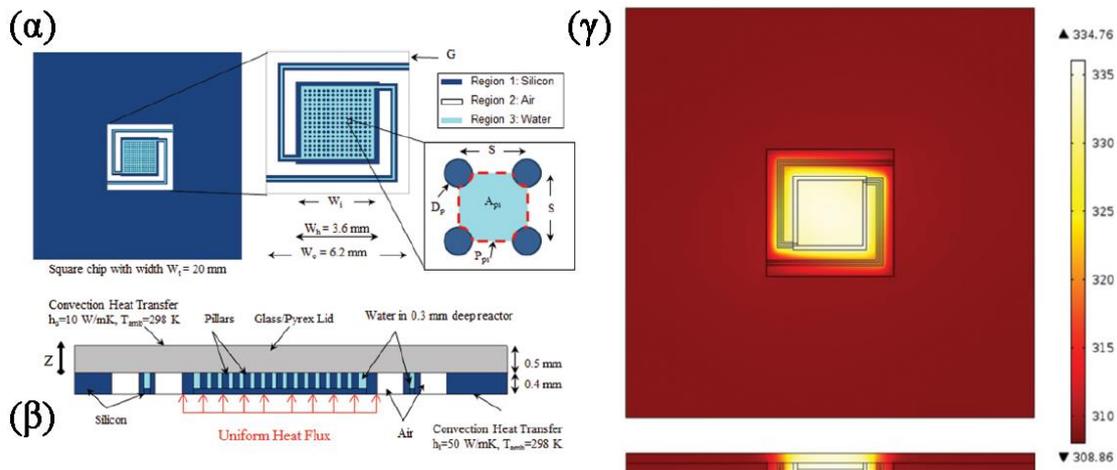
Σχετικά με τις διατάξεις ΣΘ, κοινή πρακτική αποτελεί η επίλυση εξίσωσης μεταφοράς θερμότητας.

Πιο συγκεκριμένα, οι Shen et al. (Shen et al. 2005) προχώρησαν σε βελτιστοποίηση της θερμοκρασιακής ομοιομορφίας, μέσω υπολογιστικής μελέτης, τοποθετώντας ένα λεπτό στρώμα χαλκού ανάμεσα από τα θερμικά στοιχεία και το θάλαμο ενίσχυσης της μPCR ΣΘ (Εικ 26).

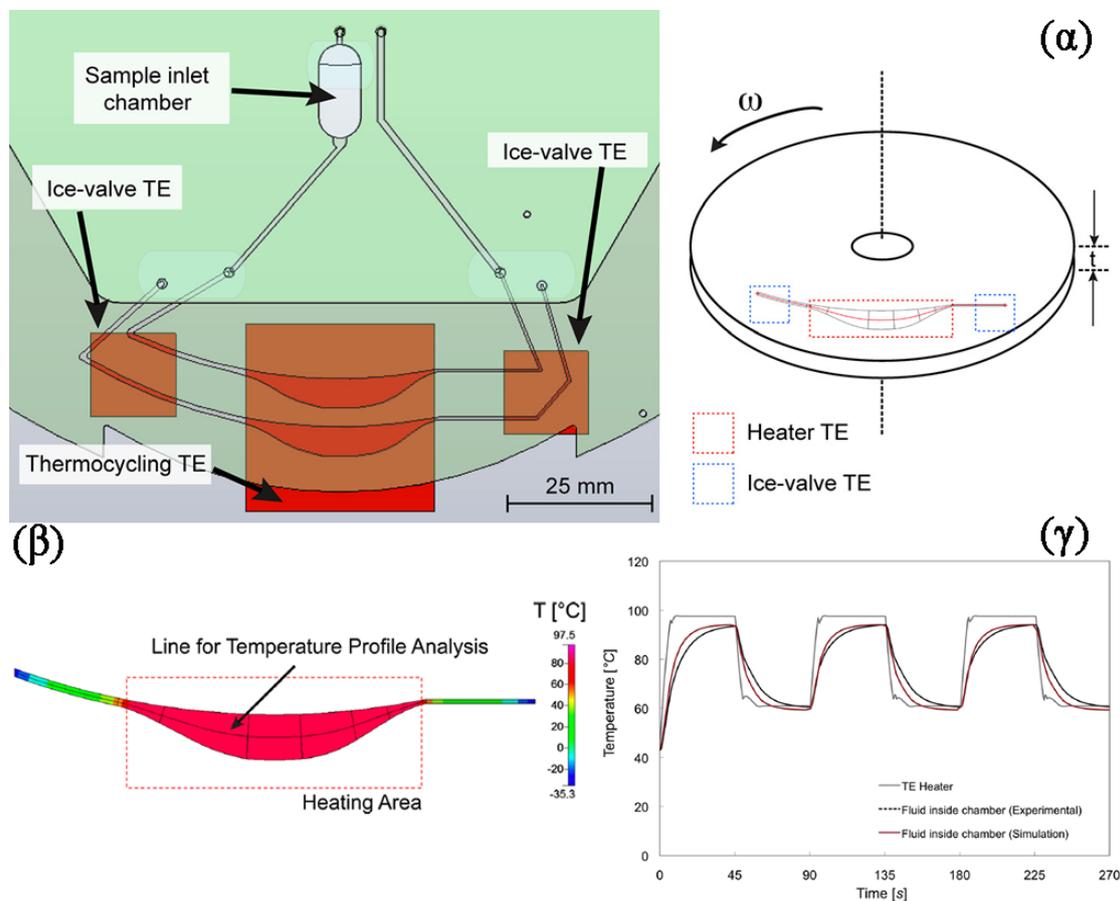


Εικόνα 26 – Θερμοκρασιακή κατανομή διάταξης ΣΘ (α) με και (β) χωρίς λεπτό στρώμα χαλκού ανάμεσα από τα θερμικά στοιχεία και το θάλαμο ενίσχυσης. Πηγή (Shen et al. 2005)

Οι Ibrahim et al. (Ibrahim et al. 2014) πραγματοποίησαν μια μελέτη διάταξης μPCR ΣΘ (Εικ. 27α-β), σε μεταβατική κατάσταση με μικρή διακριτοποίηση στο χρόνο για την εύρεση της θερμοκρασιακής κατανομής σε ένα κύκλο της PCR. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως είναι απαραίτητη η ύπαρξη διακένων μεταξύ του θαλάμου και της υπόλοιπης διάταξης προκειμένου να υπάρξει θερμοκρασιακή απομόνωση και ομοιόμορφη θερμοκρασία στο θάλαμο (Εικ. 27γ).



Εικόνα 27 – (α) Κάτοψη διάταξης μPCR ΣΘ. (β) Πλάγια όψη διάταξης. (γ) Θερμοκρασιακή κατανομή στη διάταξη. Πηγή: (Ibrahim et al. 2014)

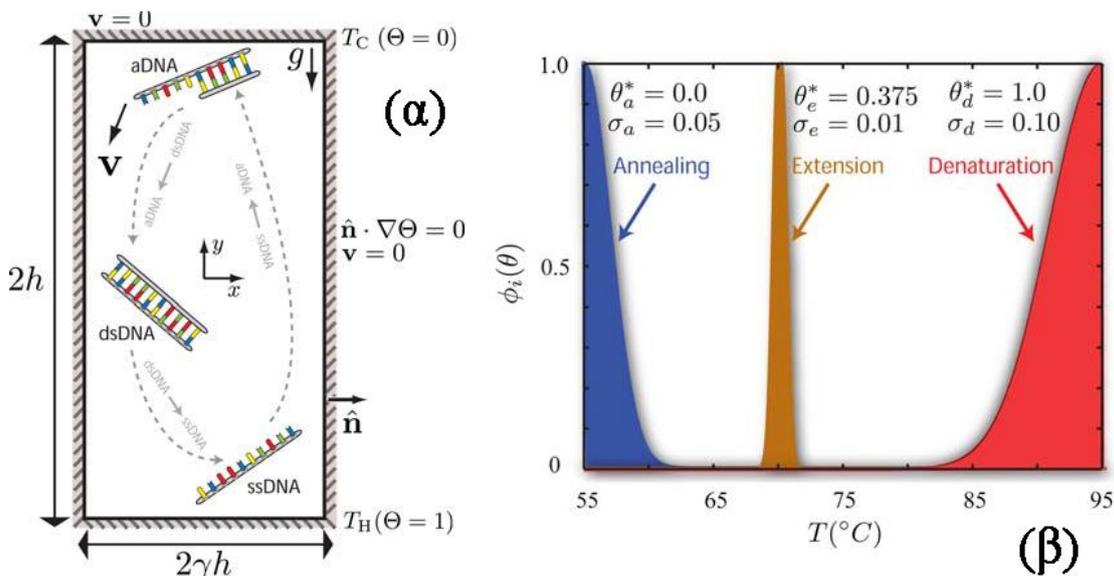


Εικόνα 28 – (α) Γεωμετρία διάταξης μορφής δίσκου με το θάλαμο ενίσχυσης DNA, τα θερμικά στοιχεία και βαλβίδες πάγου για ψύξη. (β) Κατανομή θερμοκρασίας ρευστού. Η διακεκομμένη γραμμή οριοθετεί την τοποθεσία του θερμικού στοιχείου και η είσοδος/έξοδος του ρευστού τοποθετούνται στις περιοχές όπου βρίσκεται βαλβίδα πάγου. (γ) Σύγκριση των προβλέψεων τις προσομοίωσης σε μεταβατική κατάσταση με δεδομένα από πειράματα για επίτευξη θερμοκρασίας 97.5° C για 45 s. (Amasia et al. 2013)

Τέλος, οι Amasia et al. (Amasia et al. 2013) μελέτησαν σε μεταβατική κατάσταση μια πολύπλοκη γεωμετρία δίσκου (Εικ. 28α), πάνω στον οποίο βρίσκονται θάλαμοι ενίσχυσης DNA της μPCR ΣΘ, τα θερμικά στοιχεία για επίτευξη των επιθυμητών θερμοκρασιών, καθώς

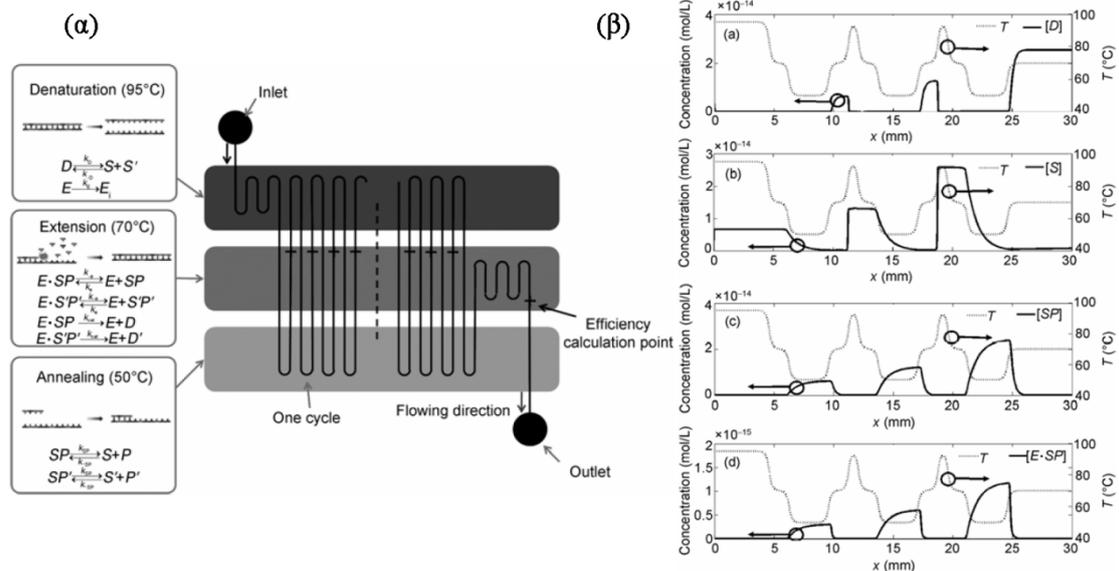
Βασισμένοι στο μοντέλο κινητικής του Hunicke-Smith οι Wang et al. (Wang et al. 2007) εκτίμησαν την ενίσχυση του DNA σε διάταξη μPCR ΣΡ 10 κύκλων (Εικ. 30). Παρατηρήθηκε πως η ενίσχυση του DNA σχετίζεται άμεσα με την ταχύτητα εισόδου του ρευστού στα μικροκανάλια της διάταξης ΣΡ. Για ταχύτητα 60 $\mu\text{L}/\text{min}$ η ενίσχυση ήταν σημαντική ώστε να θεωρηθεί η διάταξη λειτουργική ενώ διπλασιάζοντας απλά την ταχύτητα το προϊόν του DNA δεν ενισχύθηκε καθόλου.

Σε μία διάταξη ΦΣ (Εικ. 31) οι Allen et al. (Allen et al. 2009) συνδυάζουν μοντέλα ροής ρευστού, μετάδοσης θερμότητας σε ρευστά καθώς και χημικής κινητικής PCR για την εύρεση της ενίσχυσης του DNA. Ο χρόνος που προβλέφθηκε για διπλασιασμό του DNA ήταν περίπου 10-25 s και σημαντική παρατήρηση ήταν ο εντοπισμός «νεκρών ζωνών» στο κέντρο του θαλάμου όπου οι αντιδράσεις έχουν χαμηλούς ρυθμούς.



Εικόνα 31 – (α) Γεωμετρία 2D διάταξης ΦΣ όπου το δείγμα DNA περνάει από τις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες PCR και ενισχύεται. (β) Κανονικοποιημένοι ρυθμοί αντίδρασης στις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες PCR. (Allen et al. 2009)

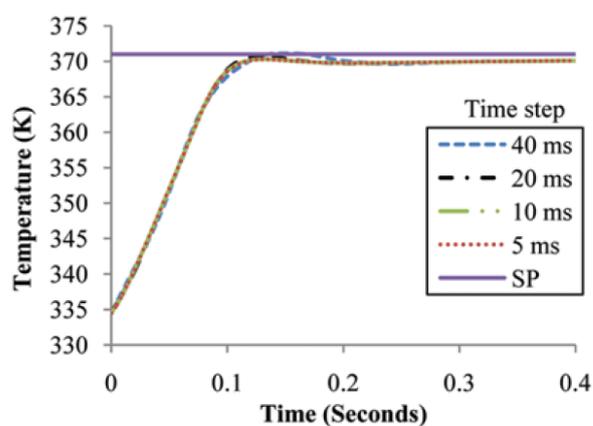
Τέλος, οι Wang και Wang (Wang and Wang 2010) απέδωσαν στην κινητική της PCR ένα πιο ρεαλιστικό μοντέλο (Εικ. 32) που περιέχει τη διπλή έλικα του DNA, το μονόκλωνο DNA, το σύμπλοκο μονόκλωνου DNA-εκκινιτών-ενζύμου καθώς και το ενεργό ένζυμο της πολυμεράσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική εξάρτηση της ενίσχυσης του DNA από την ταχύτητα εισόδου του δείγματος στα μικροκανάλια της μPCR ΣΡ καθώς και από την αναλογία των στοιχείων στο δείγμα της PCR.



Εικόνα 32 – (α) Γεωμετρία διάταξης ΣΡ και κινητική στις αντίστοιχες θερμοκρασιακές ζώνες PCR. (β) Επίδοση PCR αποδίδοντας τη συγκέντρωση του δίκλωνου DNA, μονόκλωνου DNA, ζεύγους μονόκλωνου DNA/εκκινητών και ζεύγους μονόκλωνου DNA/εκκινητών μαζί με το ένζυμο, αντίστοιχα. (Wang and Wang 2010)

1.5.4 Μοντέλα ελεγκτών θερμοκρασίας

Τέλος, λίγες μελέτες κάνουν χρήση μοντέλου ελεγκτή θερμοκρασίας. Μία από αυτές έχει γίνει από τους Ibrahim et al. σε διάταξη ΣΘ (Ibrahim et al. 2014), προσομοιώνοντας τη λειτουργία ενός ελεγκτή P (Proportional) (Εικ. 33).



Εικόνα 33 – Ανάλυση ευαισθησίας βρόγχου αυτόματου ελέγχου ελεγκτή P με διάφορες περιόδους δειγματοληψίας. Πηγή (Ibrahim et al. 2014)

1.6 Σκοπός της εργασίας

Το κίνητρο για την παρούσα εργασία είναι η δραστηριότητα του εργαστηρίου Νανοτεχνολογίας και Μικροσυστημάτων του INN που αφορά στην κατασκευή μικρορευστονικών διατάξεων για την ενίσχυση του DNA (βλ. παράγραφο 1.3.3) καθώς και οι ανάγκες για το σχεδιασμό τέτοιων διατάξεων. Το αντικείμενο της εργασίας είναι η προσομοίωση λειτουργίας διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ.

Οι πρώτες διατάξεις μPCR τύπου ΣΘ είχαν μεγάλη θερμική μάζα συγκρινόμενες με τις αντίστοιχες τύπου ΣΡ. Επομένως λόγω της θερμικής αδράνειας, και λαμβάνοντας υπ' όψιν

ότι μαζί με το δείγμα DNA υποβάλλεται σε θερμικούς κύκλους και η ίδια η διάταξη, ο κάθε θερμικός κύκλος διαρκούσε περισσότερο και οι απαιτήσεις για κατανάλωση ενέργειας ήταν μεγάλες (Zhang and Ozdemir 2009). Ωστόσο η χρήση εύκαμπτων πολυμερικών υμενίων για την κατασκευή μικρορευστονικών διατάξεων (Moschou et al. 2014; Papadopoulos et al. 2014) καθώς και η εξέλιξη των θερμικών στοιχείων από εξωτερικά σε ολοκληρωμένα επέτρεψαν την ελάττωση της θερμικής μάζας των διατάξεων τύπου ΣΘ και, ως εκ τούτου, την αύξηση του ρυθμού θέρμανσης / ψύξης τους (Ahmad and Hashsham 2012). Παρόλα αυτά μια συστηματική σύγκριση των επιδόσεων διατάξεων μPCR τύπου ΣΘ και ΣΡ αναφορικά με την κατανάλωση ενέργειας, την ενίσχυση DNA και τον απαιτούμενο χρόνο για την ολοκλήρωση της διαδικασίας ενίσχυσης λείπει από τη βιβλιογραφία.

Ο σκοπός της εργασίας είναι μια λεπτομερής σύγκριση δύο διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ, κατασκευασμένων σε λεπτά πολυμερικά υποστρώματα με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις. Η σύγκριση γίνεται σε όρους κατανάλωσης ενέργειας, διάρκειας λειτουργίας και ενίσχυσης DNA, μέσω υπολογιστικής μελέτης. Και για τις δυο διατάξεις οι διαστάσεις των μικροκαναλιών όπως επίσης και οι αποστάσεις τους από τις θερμικές αντιστάσεις ορίζονται από τη στοιβάδα υλικών και τις διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία εύκαμπτων τυπωμένων κυκλωμάτων (flexible printed circuit - FPC) (Moschou et al. 2014; Papadopoulos et al. 2014). Και οι δυο διατάξεις είναι τεχνολογικά εφικτές: Η διάταξη ΣΡ έχει ήδη κατασκευαστεί (Moschou et al. 2014) ενώ διατάξεις ΣΘ είναι στη διαδικασία κατασκευής. Η σύγκριση λοιπόν αφορά και στην αξιολόγηση της τεχνολογίας FPC για την κατασκευή διατάξεων μPCR ΣΘ και ΣΡ.

Πέρα από τη σύγκριση των δύο τύπων διατάξεων μPCR με την τεχνολογία FPC στην παρούσα εργασία γίνονται υπολογισμοί για το σχεδιασμό μίας διάταξης μPCR ΣΡ που κατασκευάζεται με τεχνολογία τυπωμένων κυκλωμάτων (printed circuit board, PCB). Η χρήση της τεχνολογίας PCB αντί της FPC είναι προτιμητέα σε περιπτώσεις όπου υπάρχει ανάγκη για μικρό αποτύπωμα της μικρορευστονικής διάταξης, λόγω έλλειψης χώρου σε μικροεργαστήριο σε ψηφίδα που ολοκληρώνει τη διάταξη.

Καθώς το αποτύπωμα ελαττώνεται, το συνολικό διαθέσιμο μήκος των απαραίτητων για τους θερμικούς κύκλους της PCR αντιστάσεων μικραίνει και, ως εκ τούτου, ελαττώνεται και η συνολική τους αντίσταση. Το πρόβλημα που εμφανίζεται έχοντας μικρή αντίσταση στα θερμικά στοιχεία ($< 10 \Omega$) είναι ότι παύουν να πληρούνται οι προδιαγραφές του υπό χρήση συστήματος αυτομάτου ελέγχου της θερμοκρασίας. Αυτό δικαιολογείται με το γεγονός ότι ένας ελεγκτής θερμοκρασίας, προκειμένου να θερμάνει τα θερμικά του στοιχεία, παρέχει ρεύμα στις αντιστάσεις. Όσο μικρότερες είναι οι τιμές των αντιστάσεων των θερμικών στοιχείων τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα να προκληθεί βραχυκύκλωμα στο ηλεκτρικό κύκλωμα του ελεγκτή. Η λύση στο πρόβλημα αυτό είναι η ολοκλήρωση περισσότερων του ενός επιπέδου χαλκού ώστε να αυξηθεί η συνολική αντίσταση των θερμικών στοιχείων. Η ολοκλήρωση πολλών επιπέδων είναι εφικτή με την τεχνολογία PCB. Η χρήση πολλών επιπέδων χαλκού αυξάνει το πάχος της διάταξης. Επίσης, τα εμπορικά διαθέσιμα, και χαμηλού κόστους, υλικά της τεχνολογίας PCB παρουσιάζουν υψηλή θερμική αγωγιμότητα κατά το επίπεδο της διάταξης (in plane thermal conductivity). Για παράδειγμα το υλικό FR4 της τεχνολογίας PCB έχει συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας στο επίπεδο της διάταξης

1.059 W/(mK), ενώ το πολυιμίδιο, υλικό που χρησιμοποιείται στην τεχνολογία FPC έχει αντίστοιχο συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας 0.12 W/(mK).

Ο συνδυασμός της αύξησης του πάχους των διατάξεων και της υψηλής θερμικής αγωγιμότητας οδηγούν σε ένα απαιτητικό πρόβλημα για την επίτευξη θερμοκρασιακής ομοιομορφίας εντός των τριών θερμικών ζωνών της PCR και θερμικής απομόνωσης μεταξύ τους.

Έτσι, ο στόχος του σχεδιασμού διάταξης μPCR ΣΡ με μικρό αποτύπωμα σε τεχνολογία PCB αφορά στον υπολογισμό των βέλτιστων αποστάσεων μεταξύ των θερμικών ζωνών (αντιστάσεων) ώστε να επιτευχθεί θερμοκρασιακή ομοιομορφία εντός των ζωνών καθώς και η εύρεση βέλτιστης γεωμετρίας που θα απομονώνει θερμικά τη μία ζώνη από την άλλη.

Το υπόλοιπο της εργασίας δομείται ως εξής: στο κεφάλαιο 2 παρουσιάζονται οι βασικές αρχές των υπολογιστικών μοντέλων. Στο κεφάλαιο 3 περιγράφονται τα υπολογιστικά μοντέλα των διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ που θα χρησιμοποιηθούν και τα αποτελέσματά τους παρουσιάζονται στο κεφάλαιο 4. Τέλος, συζητούνται τα αποτελέσματα των υπολογισμών στο κεφάλαιο 5.

2 Βασικές αρχές υπολογιστικών μοντέλων

2.1 Εισαγωγή

Το υπολογιστικό μοντέλο για την προσομοίωση της λειτουργίας διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ συνδυάζει τις εξισώσεις συνέχειας και διατήρησης της ορμής, εξισώσεις μεταφοράς θερμότητας σε στερεά και ρευστά, διατήρησης μάζας των ειδών, θέρμανσης μέσω του φαινομένου Joule και αυτομάτου ελέγχου θερμοκρασίας. Στις επόμενες παραγράφους περιγράφονται βασικές αρχές για τη μηχανική ρευστών, τη μεταφορά θερμότητας σε στερεά και ρευστά, το φαινόμενο θέρμανσης Joule, την κινητική της PCR και των συστημάτων αυτομάτου ελέγχου.

2.2 Μηχανική ρευστών

2.2.1 Η έννοια του ρευστού

Στην παρούσα εργασία απαιτείται η ανάπτυξη μοντέλου κίνησης του ρευστού εντός των καναλιών της διάταξης μPCR ΣΡ και εντός του θαλάμου της διάταξης μPCR ΣΘ. Επομένως σε αυτό το κεφάλαιο θα αναπτυχθεί η θεωρία που διέπει τη μηχανική ρευστών.

Από τεχνική άποψη, τα υλικά σώματα ταξινομούνται σε δύο βασικές κατηγορίες: τα ρευστά και τα στερεά (Παπαϊωάννου 1993). Κριτήριο για αυτή την ταξινόμηση είναι ο τρόπος με τον οποίο αντιδρούν τα διάφορα υλικά όταν βρίσκονται υπό την επίδραση διατμητικών τάσεων¹. Ως ρευστά, λοιπόν, χαρακτηρίζονται τα υλικά σώματα τα οποία υφίστανται συνεχή παραμόρφωση (δηλαδή ρέουν) όταν βρίσκονται υπό την επίδραση μίας διατμητικής τάσης, οσοδήποτε μικρή και αν είναι η τάση αυτή. Επομένως, όταν ένα ρευστό βρίσκεται σε κατάσταση ισορροπίας δεν ασκείται σε αυτό καμία διατμητική τάση. Άρα στα ηρεμούντα ρευστά ασκούνται μόνο κάθετες τάσεις.

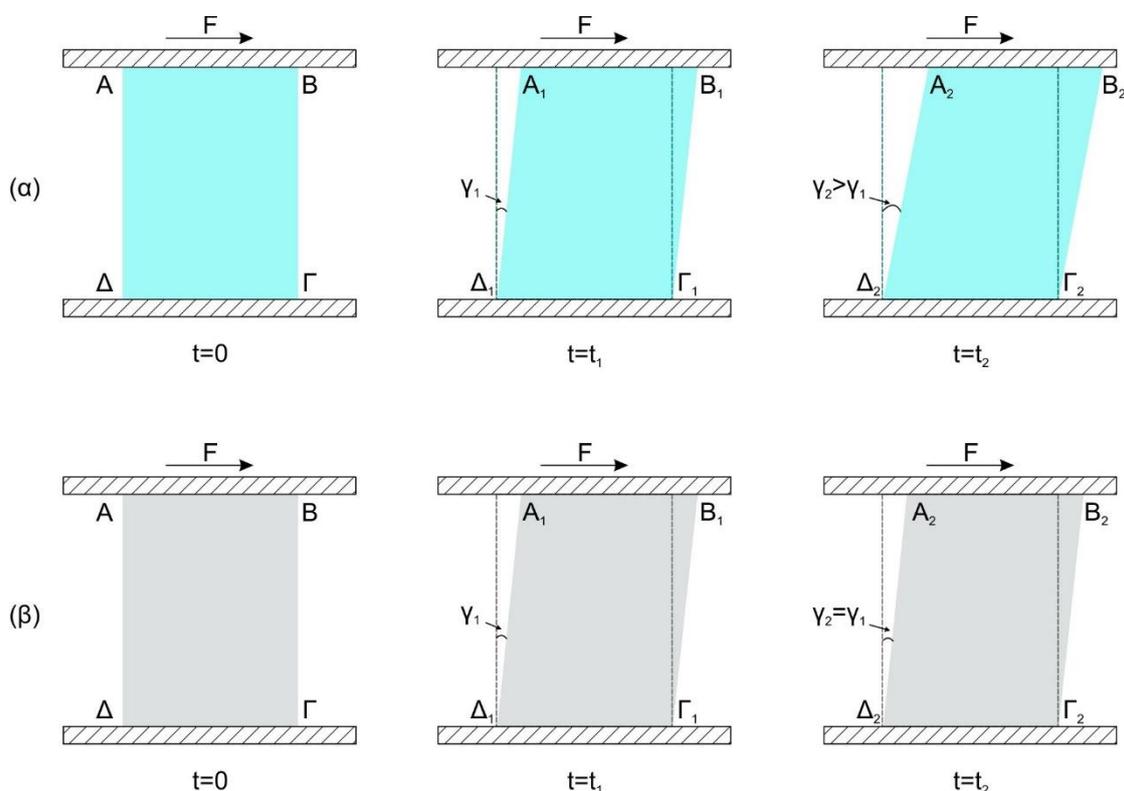
Στην εικόνα 34α απεικονίζονται δύο παράλληλες πλάκες μεταξύ των οποίων περιέχεται μία ποσότητα ενός ρευστού σε ηρεμία. Από την ποσότητα αυτή απομονώνεται προς εξέταση ένα ορθογώνιο στοιχείο ρευστού (ΑΒΓΔ). Έστω ότι την χρονική στιγμή $t=0$ ασκείται στην επάνω πλάκα μία σταθερή διατμητική δύναμη F , η οποία μετατοπίζει την πλάκα παράλληλα προς το επίπεδο της, ενώ η κάτω πλάκα παραμένει ακίνητη. Λόγω της δράσης της δύναμης F , το θεωρούμενο στοιχείο ρευστού παραμορφώνεται και από ορθογώνιο παραλληλόγραμμο γίνεται παραλληλόγραμμο (εικόνα 34α, $t=t_1$). Έτσι τη χρονική στιγμή $t=t_1$, το ρευστό στοιχείο έχει πάρει τη μορφή του πλαγιογωνίου $A_1B_1\Gamma_1\Delta_1$. Η γωνία γ_1 παριστάνει την ολική παραμόρφωση που έχει υποστεί το ρευστό μέχρι τη χρονική στιγμή t_1 . Σε μία μεταγενέστερη χρονική στιγμή $t=t_2$, το ρευστό έχει πάρει τη μορφή του παραλληλογράμμου $A_2B_2\Gamma_2\Delta_2$. Παρατηρείται ότι η νέα γωνία παραμόρφωσης γ_2 είναι μεγαλύτερη από την προηγούμενη ($\gamma_2 > \gamma_1$). Αυτό σημαίνει ότι το ρευστό συνεχίζει να παραμορφώνεται όσο χρόνο διαρκεί η επίδραση της διατμητικής δύναμης. Όταν η επίδραση της δύναμης αυτής σταματήσει το ρευστό παύει να κινείται, αλλά δεν εμφανίζει καμία τάση να επανέλθει στην αρχική του μορφή.

Αντίθετα προς τα ρευστά, τα στερεά σώματα εξ' ορισμού μπορούν να αντιδρούν στην επίδραση διατμητικών τάσεων με στατική παραμόρφωση, δηλαδή φτάνουν σε κατάσταση ισορροπίας. Αυτό ισχύει βέβαια υπό την προϋπόθεση ότι η ασκούμενη διατμητική τάση δεν

¹ Διατμητική ή εφαπτομενική τάση ονομάζεται το πηλίκο μίας διατμητικής δύναμης που ασκείται πάνω σε μία επιφάνεια προς το εμβαδό της επιφάνειας αυτής. Η διατμητική δύναμη έχει διεύθυνση παράλληλη προς το επίπεδο της θεωρούμενης επιφάνειας.

υπερβαίνει το όριο ελαστικότητας του στερεού. Το μέγεθος της στατικής παραμόρφωσης του στερεού σώματος εξαρτάται από το υλικό του σώματος και το μέγεθος της ασκούμενης τάσης. Στην εικόνα 34β παρουσιάζεται η παραμόρφωση ενός στερεού που βρίσκεται υπό την επίδραση μίας σταθερής διατμητικής δύναμης F . Παρατηρείται ότι το στερεό υφίσταται μία ορισμένη παραμόρφωση, η οποία παραμένει σταθερή όσο χρόνο κι αν διαρκεί η επίδραση της δύναμης. Τα στερεά σώματα, αντίθετα προς τα ρευστά, τείνουν να επανέλθουν στην αρχική τους μορφή μόλις αρθεί η διατμητική δύναμη που προκάλεσε την παραμόρφωση τους.

Τα περισσότερα υλικά μπορούν να ταξινομηθούν εύκολα με βεβαιότητα εάν είναι σε ρευστά ή στερεά. Υπάρχουν όμως και ορισμένα υλικά, όπως π.χ. η πίσσα, τα οποία δεν ικανοποιούν πλήρως ούτε τον ορισμό των ρευστών ούτε τον ορισμό των στερεών.



Εικόνα 34 – Σχηματική απεικόνιση της παραμόρφωσης ενός: α) ρευστού και β) στερεού υπό την επίδραση μίας διατμητικής δύναμης.

2.2.2 Η υπόθεση του συνεχούς μέσου

Τα ρευστά αποτελούνται από μόρια τα οποία κινούνται συνεχώς σε ακανόνιστες τροχιές προς όλες τις κατευθύνσεις. Λόγω της κίνησης αυτής, γνωστή και ως θερμική κίνηση, οι θέσεις και οι αποστάσεις μεταξύ των μορίων μεταβάλλονται συνεχώς, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται το πλήθος των μορίων που περιέχονται κάθε χρονική στιγμή σε έναν ορισμένο όγκο ρευστού. Το γεγονός αυτό καθιστά προβληματικό τον καθορισμό των ιδιοτήτων του ρευστού σε ένα σημείο του χώρου. Για παράδειγμα εάν το ρευστό θεωρηθεί ως ένα μοριακό μέσο, η ταχύτητα του σε ένα ορισμένο σημείο του χώρου δεν μπορεί να προσδιορισθεί, αφού είναι μηδέν σε όλες τις χρονικές στιγμές εκτός από εκείνες, κατά τις οποίες ένα μόριο διέρχεται ακριβώς από το θεωρούμενο σημείο. Αυτή δε είναι η ταχύτητα του συγκεκριμένου αυτού μορίου και όχι η μέση ταχύτητα των μορίων γύρω από το σημείο

αυτό. Στη μακροσκοπική ανάλυση των προβλημάτων ροής, για την αποφυγή της απροσδιοριστίας των ιδιοτήτων γίνεται η υπόθεση ότι το ρευστό είναι ένα συνεχές μέσο. Η υπόθεση του συνεχούς μέσου οδηγεί στην παραδοχή ότι οι ιδιότητες του ρευστού, σε μία δεδομένη χρονική στιγμή, μεταβάλλονται από σημείο σε σημείο κατά τρόπο συνεχή.

Το μοντέλο του συνεχούς μέσου αποτελεί τη βάση της θεωρητικής διερεύνησης των προβλημάτων ροής ρευστών. Για να έχει ισχύ θα πρέπει οι διαστάσεις του εξεταζόμενου συστήματος να είναι μεγαλύτερες, τουλάχιστον, από τη μέση ελεύθερη διαδρομή των μορίων του ρευστού. Η μέση ελεύθερη διαδρομή των μορίων είναι περίπου $6,3 \times 10^{-5}$ mm, επομένως σε συνήθεις συνθήκες περιβάλλοντος ικανοποιείται. Ειδικότερα, στην περίπτωση των μικρορευστονικών συστημάτων που αναλύονται σε αυτή τη μελέτη, όπου το πλάτος και ύψος των καναλιών είναι της τάξεως των λίγων δεκάδων μm, μπορεί επίσης να θεωρηθεί το μοντέλο συνεχούς μέσου. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις όπου η μέση ελεύθερη διαδρομή των μορίων είναι είτε αρκετά μεγάλη είτε είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τη μικρότερη χαρακτηριστική διάσταση του θεωρούμενου συστήματος. Στις περιπτώσεις αυτές το μοντέλο του συνεχούς μέσου δεν οδηγεί σε ικανοποιητικά αποτελέσματα. Για την επίλυση τέτοιων προβλημάτων συνήθως χρησιμοποιούνται οι αρχές της Κινητικής Θεωρίας και της Στατιστικής Μηχανικής. Παραδείγματα τέτοιων ροών είναι η κίνηση των διαστημοπλοίων μέσα από τα ανώτερα στρώματα της στρατόσφαιρας και η ροή αερίων μέσα από τους πόρους ενός στερεού καταλύτη. Στο πρώτο παράδειγμα, λόγω πολύ χαμηλής πίεσης, η μέση ελεύθερη διαδρομή των μορίων είναι μεγάλη (της τάξης των 30 cm σε ύψος 100 km πάνω από την επιφάνεια της γης). Στο δεύτερο παράδειγμα η μέση ελεύθερη διαδρομή των μορίων είναι μικρή αλλά και το μέγεθος των πόρων του καταλύτη μπορεί να είναι εξαιρετικά μικρό και συγκρίσιμο με τη μέση ελεύθερη διαδρομή των μορίων.

2.2.3 Ιδιότητες ρευστών

Η πυκνότητα και το ιξώδες είναι δύο ιδιότητες των ρευστών ιδιαίτερα σημαντικές για το χαρακτηρισμό του είδους της ροής και την αναλυτική περιγραφή της ρεολογικής συμπεριφοράς τους. Αυτές οι ιδιότητες περιγράφονται στις επόμενες δύο παραγράφους.

2.2.3.1 Πυκνότητα

Πυκνότητα, ρ , ενός ρευστού είναι ο λόγος της μάζας, m , του ρευστού προς τον όγκο, V , που καταλαμβάνει αυτή στο χώρο. Ο λόγος m/V εκφράζει την πραγματική πυκνότητα του ρευστού μόνο σε περίπτωση ομοιόμορφης κατανομής της μάζας του. Σε περίπτωση ανομοιόμορφης κατανομής της μάζας, ο λόγος m/V εκφράζει μία μέση πυκνότητα, που όμως δεν αποτελεί πραγματική ιδιότητα του ρευστού. Η πυκνότητα σε ένα δεδομένο σημείο του χώρου ορίζεται από την παρακάτω εξίσωση.

$$\rho = \lim_{\delta V \rightarrow \delta V_0} \left[\frac{\delta m}{\delta V} \right] \quad (1)$$

Όπου δV_0 είναι ο ελάχιστος οριακός όγκος που οδηγεί στον ορισμό της μοναδικής τιμής για την πυκνότητα του ρευστού γύρω από το θεωρούμενο σημείο. Ο οριακός αυτός όγκος είναι 10^{-9} mm³ για όλα τα υγρά και τα αέρια σε ατμοσφαιρική πίεση. Στον όγκο αυτόν περιέχεται ένας σημαντικός αριθμός μορίων (π.χ. σε 10^{-9} mm³ αέρα σε κανονικές συνθήκες περιέχονται

περίπου 30 εκατομμύρια μόρια), για να μπορεί από στατιστικής άποψης να οριστεί μία σχεδόν σταθερή τιμή. Επομένως, ο όγκος αυτός είναι ο ελάχιστος όγκος ρευστού για τον οποίο η θεώρηση στατιστικών μέσων όρων έχει φυσικό νόημα. Ειδικότερα, στην περίπτωση των μικρορευστονικών συστημάτων που αναλύονται σε αυτή τη μελέτη μπορεί επίσης από στατιστικής άποψης να οριστεί μία σχεδόν σταθερή τιμή πυκνότητας.

Η πυκνότητα, όπως φαίνεται και από τον ορισμό της, έχει μονάδες μάζας ανά κυβικό μέτρο (ML^{-3}) και η μονάδα μέτρησης της στο σύστημα SI είναι kg/m^3 .

Το αντίστροφο της πυκνότητας ονομάζεται ειδικός όγκος και προφανώς έχει διαστάσεις (L^3M^{-1}) και η μονάδα μέτρησης στο σύστημα SI είναι το m^3/kg .

$$\nu = \frac{1}{\rho} \quad (2)$$

Μία άλλη εύχρηστη ιδιότητα, που σχετίζεται με άμεσα με την πυκνότητα, είναι το ειδικό βάρος. Το ειδικό βάρος, γ , ενός ρευστού ορίζεται το γινόμενο της πυκνότητας του ρευστού επί την τοπική επιτάχυνση βαρύτητας, δηλαδή:

$$\gamma = \rho g \quad (3)$$

Το ειδικό βάρος έχει διαστάσεις δύναμης ανά κυβικό μέτρο ($L^{-2}MT^{-2}$) και η μονάδα μέτρησης στο σύστημα SI είναι N/m^3 . Το ειδικό βάρος χρησιμοποιείται κυρίως στα προβλήματα στατικής των ρευστών και στα προβλήματα ροής με ελεύθερη επιφάνεια.

Η πυκνότητα των ρευστών εξαρτάται γενικώς από την πίεση και τη θερμοκρασία. Η εξάρτηση αυτή εκφράζεται ποσοτικά με το μέτρο *συμπιεστότητας* και το *συντελεστή κυβικής διαστολής*. Το μέτρο συμπιεστότητας, k , ενός ρευστού ορίζεται από την εξίσωση:

$$k = \frac{1}{\rho} \left[\frac{\partial \rho}{\partial p} \right]_T \quad (4)$$

Το μέτρο συμπιεστότητας εκφράζει τη σχετική μεταβολή της πυκνότητας του ρευστού ($\partial\rho/\rho$) η οποία προέρχεται από τη μεταβολή της πίεσης υπό σταθερή θερμοκρασία και έχει διαστάσεις αντίστροφης πίεσης ($LM^{-1}T^{-2}$) και μονάδα μέτρησης στο σύστημα SI Pa^{-1} . Το μέτρο συμπιεστότητας ενός υλικού είναι το αντίστροφο του *μέτρου ελαστικότητας*, E , το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως στη μηχανική.

$$k = \frac{1}{E} \quad (5)$$

Ο συντελεστής κυβικής διαστολής, β , ενός ρευστού ορίζεται από την ακόλουθη εξίσωση και εκφράζει τη σχετική μεταβολή της πυκνότητας του ρευστού, η οποία προέρχεται από τη μεταβολή της θερμοκρασίας υπό σταθερή πίεση.

$$\beta = -\frac{1}{\rho} \left[\frac{\partial \rho}{\partial T} \right]_p \quad (6)$$

Ο συντελεστής κυβικής διαστολής έχει διαστάσεις αντίστροφης θερμοκρασίας (T^{-1}) και μονάδες στο σύστημα SI K^{-1} . Το αρνητικό πρόσημο στη σχέση - β - τίθεται γιατί ο λόγος $d\rho/dT$ είναι αρνητικός, αφού η αύξηση της θερμοκρασίας υπό σταθερή πίεση προκαλεί μείωση της πυκνότητας του ρευστού.

Επειδή σε συνήθεις συνθήκες οι τιμές των k και β είναι πολύ μικρές, οι μεταβολές της πυκνότητας των υγρών μπορούν να θεωρηθούν αμελητέες, οδηγώντας στην παραδοχή ότι σε συνήθεις συνθήκες τα υγρά είναι ασυμπίεστα. Η παραδοχή αυτή δεν ισχύει σε περιπτώσεις όπου υπάρχουν απότομες ή μεγάλες μεταβολές πίεσης (π.χ. υδραυλικές πρέσες και υδραυλικά συστήματα πέδησης). Αντίθετα προς την πυκνότητα των υγρών, η πυκνότητα των αερίων εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την πίεση και τη θερμοκρασία. Στην ειδική περίπτωση των τελείων αερίων η εξάρτηση αυτή δίνεται από την *καταστατική εξίσωση*.

$$p = \rho R^* T \quad (7)$$

Όπου p είναι η πίεση, ρ η πυκνότητα, T η απόλυτη θερμοκρασία και R^* η ειδική σταθερά του αερίου². Όπως αποδεικνύεται το μέτρο συμπιεστότητας των τελείων αερίων ισούται με το αντίστροφο της πίεσης και ο συντελεστής κυβικής διαστολής τους, με το αντίστροφο της απόλυτης θερμοκρασίας.

$$k = \frac{1}{p} \quad (8)$$

$$\beta = \frac{1}{T} \quad (9)$$

Τα πραγματικά αέρια ακολουθούν ικανοποιητικά την καταστατική εξίσωση των τελείων αερίων όταν βρίσκονται σε χαμηλές πιέσεις και υψηλές θερμοκρασίες. Στις περιπτώσεις που δεν ικανοποιούν την καταστατική εξίσωση των τελείων αερίων γίνεται χρήση είτε πειραματικών δεδομένων είτε περισσότερων σύνθετων καταστατικών εξισώσεων.

2.2.3.2 Ιξώδες

Το *ιξώδες*, μ , είναι η ιδιότητα εκείνη των ρευστών που τους δίνει τη δυνατότητα να αντιστέκονται σε κάθε προσπάθεια αλλαγής της μορφής τους. Η παραμόρφωση των ρευστών, ή αλλιώς η διάτμηση αυτών, προκαλείται από την επίδραση διατμητικών τάσεων. Για τα αέρια και για τα περισσότερα υγρά ισχύει η ακόλουθη σχέση.

$$(\text{Διατμητική τάση}) = \mu \times (\text{Ρυθμός διάτμησης}) \quad (10)$$

Δηλαδή, η διατμητική τάση που αναπτύσσεται σε ένα τέτοιο ρευστό όταν υφίσταται σταθερή διάτμηση είναι ευθέως ανάλογη προς το ιξώδες του. Τα ρευστά της κατηγορίας αυτής ονομάζονται *νευτωνικά ρευστά*. Αντίθετα τα ρευστά τα οποία δεν ακολουθούν την παραπάνω σχέση ονομάζονται *μη νευτωνικά ρευστά*.

² Η ειδική σταθερά ενός αερίου R^* ενός αερίου ισούται με τον λόγο της παγκόσμιας σταθερά R των αερίων προς το μοριακό βάρος του αερίου.

Οι διαστάσεις του ιξώδους είναι $L^{-1}MT^{-1}$ και η μονάδα μέτρησης στο σύστημα SI είναι Pa·s. Μία μονάδα που χρησιμοποιείται συχνά για τη μέτρηση του ιξώδους είναι το poise (P), το οποίο ισούται με το 1/10 του Pa·s (1 poise = 0,1 Pa·s). Στην πράξη χρησιμοποιείται συνήθως το centipoise (cP, 1 cP = 10^{-3} Pa·s).

Το ιξώδες μ ονομάζεται συχνά δυναμικό ιξώδες προς διάκριση από το *κινηματικό ιξώδες*, ν , το οποίο ορίζεται από την παρακάτω σχέση.

$$\nu = \frac{\mu}{\rho} \quad (11)$$

Την έννοια του κινηματικού ιξώδους εισήγαγε για πρώτη φορά ο Maxwell (το 1860) κυρίως για λόγους διευκόλυνσης των υπολογισμών και απλούστευσης των ρευστομηχανικών σχέσεων, λόγω της συχνής εμφάνισης σε αυτές του λόγου μ/ρ . Επειδή ο λόγος μ/ρ έχει διαστάσεις κινηματικής (μήκος και χρόνος) δόθηκε στο μέγεθος αυτό το όνομα κινηματικό ιξώδες. Το δυναμικό ιξώδες έχει διαστάσεις L^2T^{-1} και μονάδα μέτρησης στο σύστημα SI m^2/s . Αρκετά συχνά χρησιμοποιείται ως μονάδα το stokes (St):

$$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2/\text{s} = 10^{-4} \text{ m}^2/\text{s}.$$

Το ιξώδες των νευτωνικών ρευστών εξαρτάται από τη μοριακή φύση του ρευστού, την πίεση και τη θερμοκρασία. Στην περίπτωση μιγμάτων, το ιξώδες εξαρτάται και από τη σύσταση του μίγματος.

Σε χαμηλές πιέσεις, το δυναμικό ιξώδες των καθαρών ρευστών είναι πρακτικά ανεξάρτητο από την πίεση και εξαρτάται μόνο από τη θερμοκρασία. Σε υψηλές πιέσεις, για δεδομένη θερμοκρασία, το ιξώδες του ρευστού αυξάνεται συνήθως με την αύξηση της πίεσης. Αντίθετα προς το δυναμικό ιξώδες, το κινηματικό ιξώδες των υγρών και κυρίως των αερίων, εξαρτάται από την πίεση, ακόμα και σε χαμηλές πιέσεις.

Αντίθετα προς την πίεση, η θερμοκρασία επηρεάζει, και μάλιστα σε σημαντικό βαθμό, το ιξώδες των ρευστών. Όμως, η επίδραση αυτή δεν είναι ίδια και για τα δύο είδη ρευστών. Έτσι, ενώ το ιξώδες των αερίων αυξάνεται, το ιξώδες των υγρών μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Η διαφορετική επίδραση της θερμοκρασίας στο ιξώδες των υγρών και των αερίων οφείλεται στη μοριακή φύση του ρευστού. Η αντίσταση ενός ρευστού σε διάτμηση, άρα και το ιξώδες του, εξαρτάται από τις μοριακές δυνάμεις (*δυνάμεις συνοχής*) και από την ταχύτητα μεταφοράς *μοριακής ορμής* από μία περιοχή σε μία άλλη. Στα υγρά οι αποστάσεις μεταξύ των μορίων είναι πολύ μικρότερες από τις αντίστοιχες αποστάσεις στα αέρια. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα οι δυνάμεις συνοχής που αναπτύσσονται μεταξύ των μορίων των υγρών να είναι πολύ μεγαλύτερες από τις αντίστοιχες των μορίων των αερίων. Έτσι, στα υγρά η αντίσταση σε διάτμηση οφείλεται κυρίως στις δυνάμεις συνοχής, στα αέρια στην ταχύτητα μεταφοράς μοριακής ορμής, η οποία εξαρτάται από την ταχύτητα κίνησης των μορίων του. Με την αύξηση της θερμοκρασίας οι δυνάμεις συνοχής

μειώνονται, ενώ η ταχύτητα κίνησης των μορίων αυξάνεται, γεγονός που δικαιολογεί τη διαφορετική επίδραση της θερμοκρασίας στο ιξώδες των υγρών και των αερίων.

Το κινηματικό ιξώδες, τόσο των υγρών όσο και των αερίων, μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Τα ιξώδη των ρευστών μετριοούνται με τη χρήση ειδικών οργάνων τα οποία ονομάζονται *ιξωδόμετρα*. Για τα περισσότερα από τα συνήθη ρευστά υπάρχουν στη βιβλιογραφία αρκετά δεδομένα. Ο προσδιορισμός του ιξώδους, εάν δεν υπάρχει στη βιβλιογραφία, μπορεί να γίνει και υπολογιστικά με τη χρήση θεωρητικών μοντέλων.

Σε χαμηλές πιέσεις, επειδή το δυναμικό ιξώδες είναι πρακτικά ανεξάρτητο από την πίεση, ο υπολογισμός του ιξώδους μ γίνεται συνήθως με τη χρήση αναλυτικών σχέσεων, οι οποίες έχουν ως μόνη μεταβλητή τη θερμοκρασία. Έτσι, για τον υπολογισμό του δυναμικού ιξώδους των υγρών χρησιμοποιείται συνήθως η παρακάτω εμπειρική σχέση.

$$\frac{\mu}{\mu_0} = \exp\left(\frac{a}{b+T} - \frac{a}{b+T_0}\right) \quad (12)$$

Όπου μ_0 είναι το δυναμικό ιξώδες του υγρού σε μία ορισμένη θερμοκρασία αναφοράς T_0 (συνήθως στους 273 K) και a , b σταθερές χαρακτηριστικές του υγρού. Στην ειδική περίπτωση κορεσμένων υγρών το δυναμικό ιξώδες υπολογίζεται συνήθως από την παρακάτω εμπειρική σχέση.

$$\log(\mu) = a + \frac{b}{T} + cT + dT^2 \quad (13)$$

Όπου a , b , c , d είναι σταθερές χαρακτηριστικές του υγρού.

Για τον υπολογισμό του δυναμικού ιξώδους μ των αερίων χρησιμοποιείται συνήθως ο *νόμος του Sutherland*. Ο νόμος του Sutherland δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα στην περιοχή θερμοκρασιών από 150 K έως 1000 K.

$$\frac{\mu}{\mu_0} = \left(\frac{c+T_0}{c+T}\right) \left(\frac{T}{T_0}\right)^{1.5} \quad (14)$$

Ενώ συχνά η εξίσωση -14- χρησιμοποιείται στην απλοποιημένη μορφή της.

$$\frac{\mu}{\mu_0} \approx \left(\frac{T}{T_0}\right)^n \quad (15)$$

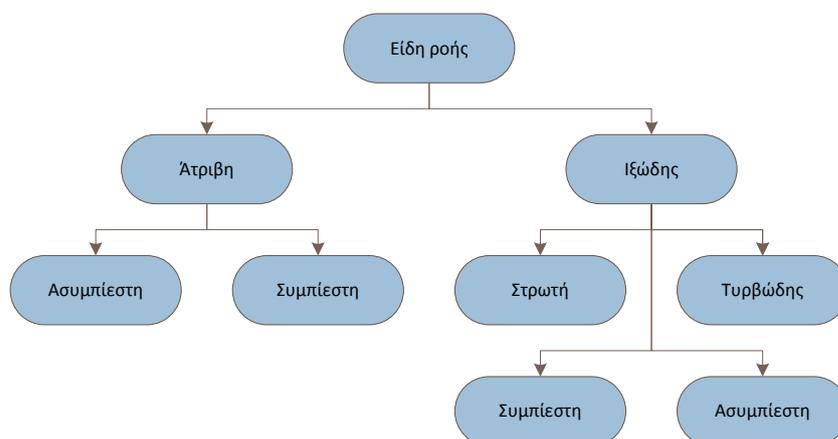
Όπου ο εκθέτης n παίρνει τιμές από 0,5 έως 1. Η σχέση αυτή αναφέρεται συχνά και ως *εκθετικός νόμος του ιξώδους των αερίων*. Τέλος, σε χαμηλές πιέσεις, για τον υπολογισμό του ιξώδους των αερίων χρησιμοποιείται ευρύτατα η ακόλουθη αλγεβρική εξίσωση

$$\mu = a + bT + cT^2 \quad (16)$$

όπου a , b και c είναι σταθερές χαρακτηριστικές του αερίου.

2.2.4 Είδη ροής

Με τον όρο *ροή* εννοούμε την κίνηση ενός ρευστού μέσα σε μία ορισμένη περιοχή του χώρου η οποία ονομάζεται *πεδίο ροής*. Μία ροή μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε διάφορες κατηγορίες ή είδη ροής (Εικ. 35) ανάλογα με το κριτήριο που χρησιμοποιείται κάθε φορά για το χαρακτηρισμό της.



Εικόνα 35 – Είδη ροής

2.2.4.1 Άτριβη και ιξώδης ροή

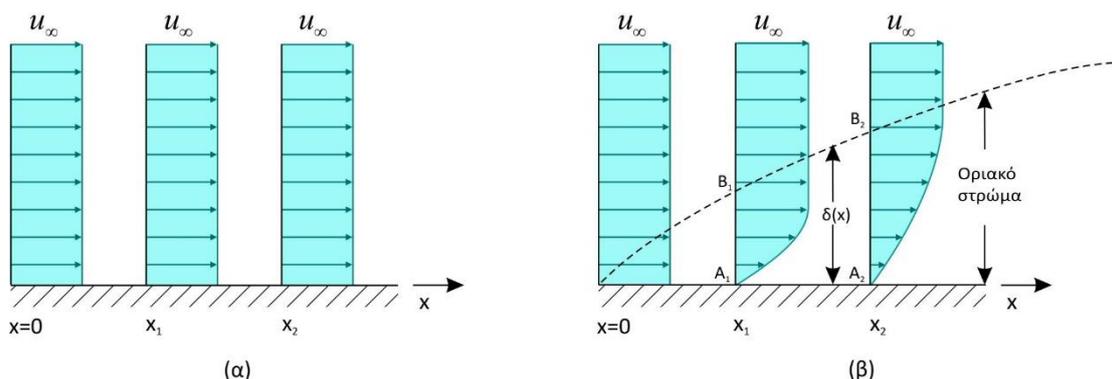
Άτριβη ροή ονομάζεται η ροή ενός ρευστού το οποίο έχει ιξώδες μηδέν. Τα ρευστά που έχουν την ιδιότητα αυτή ονομάζονται *ιδανικά ρευστά*³. Επειδή στη φύση δεν υπάρχει κανένα ρευστό το οποίο να έχει ιξώδες μηδέν, η έννοια της άτριβης ροής είναι θεωρητική.

Ιξώδης ροή ονομάζεται η ροή ενός πραγματικού ρευστού. Τα πραγματικά ρευστά έχουν όλα ιξώδες, ανεξάρτητα αν αυτό είναι μικρό ή μεγάλο. Η θεώρηση του ιξώδους στην ανάλυση των προβλημάτων ροής αυξάνει σημαντικά τη δυσκολία διατύπωσης και επίλυσης των εξισώσεων που διέπουν τη ροή του ρευστού. Αντίθετα προς την άτριβη ροή, η ιξώδης ροή επηρεάζεται σημαντικά από την παρουσία στερεών τοιχωμάτων.

Στην εικόνα 36 απεικονίζεται το ποιοτικό διάγραμμα κατανομής της ταχύτητας ενός α) ιδανικού ρευστού και β) ενός πραγματικού ρευστού που κινούνται πάνω σε μία στερεή επιφάνεια παράλληλα προς αυτήν. Το ρευστό και στις δύο περιπτώσεις φτάνει στην άκρη της πλάκας με ομοιόμορφη ταχύτητα U_∞ . Από την σύγκριση των τριών κατανομών της ταχύτητα (στις θέσεις $x = x_1$ και x_2) συμπεραίνεται ότι η ταχύτητα του ιδανικού ρευστού (Εικ. 36α) παραμένει σταθερή σε όλο το μήκος της πλάκας, σε αντίθεση με την περίπτωση του πραγματικού ρευστού (Εικ. 36β) του οποίου η κατανομή της ταχύτητας παύει να είναι ομοιόμορφη. Στην περίπτωση του πραγματικού ρευστού, στα σημεία επαφής του ρευστού με την πλάκα (σημεία A_1 και A_2) η ταχύτητα είναι μηδέν. Αυτό σημαίνει ότι στην ιξώδη ροή το ρευστό δεν ολισθαίνει πάνω στην πλάκα, όπως στην περίπτωση του ιδανικού ρευστού, αλλά είναι στέρεα προσκολλημένο πάνω σε αυτή. Η παρατήρηση αυτή, η οποία είναι

³ Σε ορισμένα συγγράμματα ως ιδανικά ρευστά ορίζονται τα ρευστά που έχουν ιξώδες μηδέν και σταθερή πυκνότητα.

γενική, αποτελεί βασική «οριακή συνθήκη» για την ανάλυση προβλημάτων ιξώδους ροής πάνω και γύρω από στερεά σώματα, η οποία είναι γνωστή ως *συνθήκη μη ολίσθησης*. Η συνθήκη αυτή αναφέρει ότι τα πραγματικά ρευστά στα σημεία επαφής τους με στερεά τοιχώματα αποκτούν την ταχύτητα του τοιχώματος ή η σχετική ταχύτητα του ρευστού ως προς το στερεό τοίχωμα είναι μηδέν. Η μη ολίσθηση των ρευστών έχει επιβεβαιωθεί πειραματικά. Η συνθήκη της μη ολίσθησης οφείλεται στην ιξώδη φύση των ρευστών και δεν έχει καμία σχέση με το είδος του υλικού ή την υφή της στερεής επιφάνειας και ισχύει όταν ισχύει και η υπόθεση του συνεχούς μέσου.



Εικόνα 36 – α) Άτριβη και β) ιξώδης ροή πάνω από μία επίπεδη στερεή επιφάνεια.

Μία επιπλέον ενδιαφέρουσα παρατήρηση για την εικόνα 36 είναι ότι καθώς απομακρυνόμαστε από την επιφάνεια της πλάκας, η ταχύτητα του ρευστού αυξάνει συνεχώς μέχρι να αποκτήσει την οριακή τιμή u_∞ , οπότε και παραμένει σταθερή. Η περιοχή του ρευστού στην οποία συμβαίνει μεταβολή της ταχύτητας ονομάζεται *οριακό στρώμα*. Το πάχος δ του οριακού στρώματος αυξάνει συνεχώς κατά τη διεύθυνση της ροής. Η ανάπτυξη του οριακού στρώματος συνεπάγεται και ανάπτυξη διατμητικών τάσεων, λόγω της ανομοιόμορφης κατανομής της ταχύτητας. Έξω από το οριακό στρώμα η κατανομή της ταχύτητας είναι ομοιόμορφη, επομένως στη περιοχή αυτή δεν αναπτύσσονται διατμητικές τάσεις.

2.2.4.2 Στρωτή και τυρβώδης ροή

Στρωτή ροή ονομάζεται η ιξώδης ροή κατά την οποία τα σωματίδια του ρευστού κινούνται ομαλώς και κατά στρώματα (ή στιβάδες). Σε κάθε τέτοιο στρώμα, η κατανομή της ταχύτητας του ρευστού είναι ομοιόμορφη σε όλη την έκταση μίας εγκάρσιας, προς τη διεύθυνση της ροής, διατομής του στρώματος. Επομένως, κατά τη στρωτή ροή, η μόνη κίνηση που παρατηρείται είναι κατά τη διεύθυνση της ροής, ενώ κατά την κάθετη προς αυτή διεύθυνση δεν υπάρχει συνιστώσα ταχύτητας. Άρα, κατά τη στρωτή ροή, τα γειτονικά στρώματα του ρευστού δεν ανταλλάσσουν μεταξύ τους μάζα σε μορφή σωματιδίων, ή διαφορετικά στη στρωτή ροή δεν συμβαίνει *μακροσκοπική* ανάμιξη των γειτονικών στρωμάτων του ρευστού. Η επικοινωνία των στρωμάτων αυτών γίνεται μόνο σε μοριακό επίπεδο λόγω θερμικής κίνησης των μορίων.

Τυρβώδης ροή ονομάζεται η ιξώδης ροή κατά την οποία τα σωματίδια του ρευστού κινούνται σε ακανόνιστες τροχιές προς όλες τις διευθύνσεις κατά εντελώς τυχαίο τρόπο. Η κίνηση των σωματιδίων του ρευστού μοιάζει σε μεγάλο βαθμό με τη θερμική κίνηση των

μορίων. Επομένως, κατά την τυρβώδη ροή, εκτός από μοριακή ανάμιξη συμβαίνει και μακροσκοπική ανάμιξη των γειτονικών στρωμάτων του ρευστού, η οποία είναι πολύ πιο έντονη από την πρώτη. Το κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα της τυρβώδους ροής είναι ότι οι ιδιότητες του ρευστού σε τυχαίο σημείο του πεδίου ροής διακυμαίνονται συνεχώς κατά εντελώς τυχαίο τρόπο.

Η ύπαρξη των δύο ειδών ιξώδους ροής διαπιστώθηκε για πρώτη φορά από τον Hagen (1839). Όμως ο Hagen δεν κατάφερε να αναγνωρίσει τη βασική παράμετρο η οποία επηρεάζει το είδος της ροής, την οποία αναγνώρισε ο Osborne Reynolds. Έτσι, ως κριτήριο για το διαχωρισμό των δύο αυτών ειδών ροής είναι ο αριθμός Reynolds, ο οποίος είναι μία αδιάστατη ομάδα γεωμετρικών και φυσικών μεταβλητών και παριστάνεται με το σύμβολο Re . Για ροή μέσα σε κυκλικούς αγωγούς, αριθμός Re , ορίζεται από την ακόλουθη σχέση:

$$Re = \frac{\rho \mathbf{u} d}{\mu} \quad (17)$$

Όπου d είναι η εσωτερική διάμετρος του αγωγού, ρ η πυκνότητα, μ το δυναμικό ιξώδες και \mathbf{u} η μέση ταχύτητα ροής του ρευστού μέσα στον αγωγό. Η εξίσωση αυτή γράφεται συχνά υπό τη μορφή:

$$Re = \frac{\mathbf{u} d}{\nu} \quad (18)$$

Όπου ν είναι το κινηματικό ιξώδες του ρευστού.

Η μετατροπή της ιξώδους ροής από στρωτή σε τυρβώδη γίνεται όταν ο αριθμός Re αποκτήσει μία κρίσιμη τιμή, Re_c , η οποία είναι γνωστή ως κρίσιμος αριθμός *Reynolds*. Στην ειδική περίπτωση ροής μέσα σε κυκλικούς αγωγούς, ο κρίσιμος αριθμός Reynolds εξαρτάται από την τραχύτητα των εσωτερικών τοιχωμάτων του αγωγού και κυρίως από τις αρχικές διαταραχές της ροής, δηλαδή τις διαταραχές που συμβαίνουν κατά την είσοδο του ρευστού στον αγωγό. Σε συνήθεις κυκλικούς αγωγούς, η ροή μετατρέπεται από στρωτή σε τυρβώδη για τιμές Re μεγαλύτερες από 2000 και μικρότερες από 4000. Η τιμή 2000 για τον αριθμό Re αποτελεί ένα ανώτερο όριο για την ευστάθεια της στρωτής ροής. Κάτω από ορισμένες συνθήκες η ροή σε αγωγό μπορεί να είναι στρωτή και για αριθμούς $Re > 2000$, αλλά μία τέτοια κατάσταση είναι ασταθής και με τη μικρότερη διαταραχή μεταπίπτει σε τυρβώδη. Για αριθμούς $Re < 2000$, οι εξωτερικές διαταραχές της ροής, οσοδήποτε σοβαρές και αν είναι αυτές, αποσβένουν και η ροή γίνεται τελικά στρωτή σε σχετικά μεγάλες αποστάσεις από την είσοδο της ροής.

2.2.4.3 Ασυμπίεστη και συμπίεστη ροή

Ασυμπίεστη ροή ονομάζεται η ροή ενός ρευστού, πραγματικού ή ιδανικού, κατά την οποία οι μεταβολές της πυκνότητας σε όλη την έκταση του πεδίου ροής είναι αμελητέες. Αντίθετα, *συμπίεστη ροή* ονομάζεται η ροή κατά την οποία οι μεταβολές της πυκνότητας είναι σημαντικές. Τα φαινόμενα συμπίεσότητας εμφανίζονται συνήθως σε υψηλές ταχύτητες. Όταν η ταχύτητα του ρευστού μεταβάλλεται σημαντικά, η πίεση άρα και η πυκνότητά του, μεταβάλλεται επίσης σημαντικά. Συνήθως για το χαρακτηρισμό μίας ροής

ως συμπιεστή ή ασυμπίεστη χρησιμοποιείται ο αριθμός Mach, M , ο οποίος ορίζεται από την ακόλουθη σχέση:

$$M = \frac{u}{a} \quad (19)$$

Όπου u είναι η ταχύτητα του ρευστού σε ένα δεδομένο σημείο του πεδίου ροής και a η ταχύτητα του ήχου στο σημείο αυτό. Στην πράξη, η ροή ενός ρευστού χαρακτηρίζεται ως ασυμπίεστη όταν ο αριθμός Mach είναι μικρότερος ή το πολύ ίσος με 0,3.

$M \leq 0,3$: Συνθήκη ασυμπίεστης ροής

Στις ροές υγρών που παρουσιάζουν τεχνικό ενδιαφέρον, η ταχύτητα της ροής είναι συνήθως μικρή (κυμαίνεται μεταξύ 1 m/s και 10 m/s), και η ταχύτητα του ήχου στα υγρά είναι αρκετά μεγάλη (της τάξης των 1000 m/s). Έτσι, ο αριθμός Mach σε ροές υγρών είναι πολύ μικρός και ικανοποιούν τη συνθήκη ασυμπίεστης ροής. Δεν συμβαίνει όμως το ίδιο για τις ροές των αερίων που συνήθως η ταχύτητα του αερίου μπορεί να είναι ίση ή μεγαλύτερη από την ταχύτητα του ήχου στο αέριο και επομένως, οι ροές των αερίων δεν ικανοποιούν πάντοτε τη συνθήκη ασυμπίεστης ροής.

Συμπιεστές ροές εμφανίζονται συχνά σε διάφορες τεχνικές εφαρμογές, όπως είναι τα διάφορα συστήματα συμπιεσμένου αέρα, η μεταφορά αερίων σε αγωγούς υπό υψηλή πίεση, τα πνευματικά συστήματα ελέγχου κ.α.

2.3 Μεταφορά θερμότητας – Διατήρηση μάζας των ειδών

Στην παρούσα εργασία απαιτείται η θερμοκρασιακή μελέτη για τη λεπτομερή σύγκριση δυο διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ. Επομένως σε αυτό το κεφάλαιο θα αναπτυχθεί η θεωρία που διέπει την μεταφορά θερμότητας στα στερεά και τα ρευστά.

Όπως είναι γνωστό από τη θερμοδυναμική, θερμότητα είναι η ενέργεια που ανταλλάσσεται μεταξύ ενός συστήματος και του περιβάλλοντος όταν υπάρχει μεταξύ τους θερμοκρασιακή διαφορά (Κουμούτσος and Λυγερού 1991). Επομένως, σε κάθε περίπτωση που υπάρχει διαφορά θερμοκρασίας εμφανίζεται η τάση για μεταφορά θερμικής ενέργειας από τη θερμότερη προς την ψυχρότερη περιοχή που τείνει να φέρει το σύστημα σε θερμική ισορροπία, με αποκατάσταση ομοιόμορφης θερμοκρασίας σε όλες τις περιοχές. Διακρίνονται τρεις βασικοί μηχανισμοί μεταφοράς θερμότητας.

α) Μεταφορά με αγωγή πραγματοποιείται όταν γίνεται μεταφορά θερμότητας από το ένα μόριο της ύλης σε γειτονικό του, χωρίς να παρατηρείται (μακροσκοπικά) μετακίνηση υλικού από τη μία θέση του χώρου στην άλλη. Ο μηχανισμός αυτός ισχύει κατά βάση στα στερεά ή σε ακινητοποιημένα ρευστά, όπως στα πρώτα στρώματα ρευστού που βρίσκονται σε μία θερμή επιφάνεια.

β) Μεταφορά με συναγωγή⁴ συμβαίνει όταν η μεταφορά θερμότητας οφείλεται σε (ή συνοδεύεται με) μετακίνηση μάζας ρευστού από μία θέση του χώρου σε άλλη. Το ρευστό

⁴ Με τον όρο συναγωγή αποδίδεται ο αγγλικός όρος «convection». Σε πολλά ελληνικά συγγράμματα ο όρος αυτός έχει αποδοθεί ως «μεταφορά θερμότητας» ή «μετάδοση θερμότητας με μεταφορά».

που μετακινείται φέρει μαζί του και την ενέργεια που περιέχει, επηρεάζοντας έτσι το ενεργειακό περιεχόμενο, επομένως και την θερμοκρασία, στο χώρο όπου καταλήγει.

Οι δύο αυτοί μηχανισμοί μεταφοράς θερμότητας είναι αντίστοιχοι με τους μηχανισμούς μεταφοράς ορμής και μάζας. Η μεταφορά θερμότητας με αγωγή αντιστοιχεί με τη μεταφορά ορμής κατά τη στρωτή ροή και τη μεταφορά μάζας με διάχυση. Η μεταφορά θερμότητας με συναγωγή αντιστοιχεί με τη μεταφορά ορμής κατά την τυρβώδη ροή και τη μεταφορά μάζας με συναγωγή.

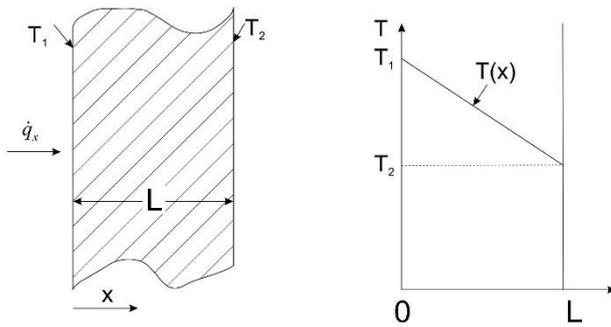
γ) Μεταφορά με ακτινοβολία συμβαίνει όταν η ενέργεια μεταφέρεται με ηλεκτρομαγνητικά κύματα. Ο μηχανισμός αυτός δεν παρουσιάζει καμία αντιστοιχία με άλλα φαινόμενα μεταφοράς.

Σε πολλές περιπτώσεις, στην πράξη, οι τρεις αυτοί μηχανισμοί δρουν παράλληλα. Για λόγους απλότητας πολλές φορές εξετάζεται μόνο ο κυρίαρχος μηχανισμός, με τον οποίο γίνεται η μεταφορά του μεγαλύτερου ποσού θερμότητας και αμελούνται οι δευτερεύοντες. Για παράδειγμα, από ένα θερμό τοίχωμα που βρίσκεται σε επαφή με τον ατμοσφαιρικό αέρα, θερμότητα μεταφέρεται προς το περιβάλλον και με συναγωγή και με ακτινοβολία. Εάν η θερμοκρασία στην επιφάνεια ενός τοιχώματος είναι σχετικά χαμηλή, όπως στην περίπτωση ενός θερμικού σώματος ενός συστήματος κεντρικής θέρμανσης στο οποίο κυκλοφορεί ζεστό νερό, τότε το μεγαλύτερο μέρος της θερμότητας μεταφέρεται με συναγωγή. Εάν η θερμοκρασία της θερμής επιφάνειας είναι αρκετά υψηλή, όπως στην περίπτωση της αντίστασης μίας ηλεκτρικής θερμάστρας, τότε η θερμική ενέργεια μεταφέρεται κυρίως με ακτινοβολία.

2.3.1 Μεταφορά με αγωγή

Ο όρος αγωγή ή διάχυση θερμότητας χρησιμοποιείται όταν θερμότητα μεταφέρεται σε ένα υλικό λόγω θερμοκρασιακής διαφοράς χωρίς να υπάρχει μακροσκοπικά μετακίνηση μάζας του υλικού, παρόλο που μικροσκοπικά τα μόρια μετακινούνται όπως περιγράφεται από τη θεωρία της μοριακής δομής της ύλης. Σε ένα αέριο π.χ. όπου μακροσκοπικά δεν παρατηρείται καμία κίνηση, η μεταφορά θερμότητας με αγωγή οφείλεται στην κινητικότητα των μορίων και μπορεί να προβλεφθεί από την κινητική θεωρία των αερίων. Για τα στερεά και τα υγρά έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα για να εξηγήσουν το μηχανισμό μεταφοράς με αγωγή.

Ανεξάρτητα όμως από τον μηχανισμό μεταφοράς σε μικροσκοπικό επίπεδο, μακροσκοπικά παρατηρείται πάντα αναλογία μεταξύ του ρυθμού ροής και του δυναμικού (ή της κινούσας δύναμης) που προκαλεί τη ροή αυτή. *Δυναμικό για τη ροή θερμότητας είναι η θερμοκρασία ή η συγκέντρωση θερμικής ενέργειας.*



Εικόνα 37 – Αγωγή θερμότητας σε επίπεδο τοίχωμα: α) Φυσικό φαινόμενο και β) διάγραμμα θερμοκρασίας.

Υποθέτοντας ένα τοίχωμα που από την μία πλευρά του θερμαίνεται έτσι ώστε να διατηρεί σταθερή θερμοκρασία ίση με T_1 ενώ η άλλη πλευρά του έχει θερμοκρασία ίση με T_2 , τότε θερμότητα περνάει συνεχώς με αγωγή από τη θερμή παρειά του τοιχώματος προς την ψυχρή (Εικ. 37). Έχει βρεθεί πειραματικά ότι ο ρυθμός ροής θερμότητας, δηλαδή το ποσό θερμότητας που μεταφέρεται στη μονάδα του χρόνου, είναι ανάλογος της διαφοράς της θερμοκρασίας και αντιστρόφως ανάλογη του πάχους του τοιχώματος. Η βασική μαθηματική σχέση που συνδέει το ρυθμό ροής θερμότητας με τη βαθμίδα της θερμοκρασίας διέπεται από τον νόμο του Fourier για την αγωγή και έχει την ακόλουθη μορφή.

$$\dot{q}_x'' = -\lambda \frac{\partial T}{\partial x} \quad (20)$$

Όπου \dot{q}_x'' είναι το ποσό θερμότητας που μεταφέρεται κατά τη διεύθυνση x στη μονάδα του χρόνου και ανά μονάδα επιφάνειας κάθετης προς τη διεύθυνση x . το μέγεθος αυτό είναι γνωστό και ως ανηγμένος (ανά μονάδα επιφάνειας) ρυθμός (ανά μονάδα χρόνου) ροής θερμότητας⁵. Ο συντελεστής αναλογίας λ είναι χαρακτηριστικός του υλικού και λέγεται συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας. Το αρνητικό πρόσημο στη σχέση μπαίνει επειδή η θερμότητα άγεται από την περιοχή των υψηλών θερμοκρασιών στην περιοχή χαμηλών θερμοκρασιών, δηλαδή κατά τη διεύθυνση της αρνητικής θερμοκρασιακής βαθμίδας ($\partial T/\partial x$).

Ο νόμος Fourier, όπως και ο αντίστοιχος νόμος για το ιξώδες του Newton και ο νόμος Fick για τη μεταφορά της μάζας με διάχυση, συνδέουν το ρυθμό ροής με τη βαθμίδα του αντίστοιχου δυναμικού και είναι νόμοι *φαινομενολογικοί*, βασίζονται δηλαδή στην παρατήρηση των φυσικών φαινομένων και όχι σε κάποια θεωρία για τη συμπεριφορά της ύλης.

Στο παράδειγμα που εξετάστηκε ο ρυθμός ροής θερμότητας είναι σταθερός. Δηλαδή ίδιος για κάθε θέση x . Αυτό συμβαίνει όταν έχουμε μόνιμη κατάσταση χωρίς ταυτόχρονη παραγωγή θερμότητας στο εσωτερικό ενός ομοιογενούς τοιχώματος. Σταθερός ρυθμός ροής θερμότητας συνεπάγεται και σταθερή βαθμίδα θερμοκρασίας ($\partial T/\partial x$) που σημαίνει γραμμική κατανομή θερμοκρασίας στο τοίχωμα. Υπό αυτές τις συνθήκες ισχύει:

⁵ Με τον όρο «ανηγμένος ρυθμός ροής θερμότητας» αποδίδεται ο αγγλικό όρος «heat flux».

$$\dot{q}_x'' = -\lambda \frac{\partial T}{\partial x} = \text{σταθερό} \quad (21)$$

η ολοκλήρωση της οποίας για θερμοκρασιακά όρια T_1 και T_2 στις παρειές του τοιχώματος πάχους L και για σταθερό λ δίνει:

$$\int_0^L \dot{q}_x'' dx = -\int_{T_1}^{T_2} \lambda dT \quad \text{ή} \quad \dot{q}_x'' = \lambda \frac{T_1 - T_2}{L} \quad (22)$$

Από την παραπάνω σχέση μπορεί να υπολογιστεί το σύνολο της θερμότητας που ρέει ανά μονάδα χρόνου μέσα από τοίχωμα με τα παραπάνω χαρακτηριστικά (λ , L , T_1 , T_2) και με συνολική επιφάνεια A .

$$\dot{q}_x = \lambda A \frac{T_1 - T_2}{L} \quad (23)$$

Η σχέση -20- συνδέει το ρυθμό ροής θερμότητας με τη θερμοκρασιακή βαθμίδα για μονοδιάστατη αγωγή. Μονοδιάστατη αγωγή συμβαίνει όταν υπάρχει θερμοκρασιακή διαφορά μόνο κατά τη διεύθυνση x και όχι στις άλλες διευθύνσεις y και z , δηλαδή οι ισοθερμοκρασιακές επιφάνειες να είναι επίπεδα κάθετα στη διεύθυνση x . Ο ανηγμένος ρυθμός ροής \dot{q}'' είναι διάνυσμα κάθετο στις ισοθερμοκρασιακές επιφάνειες.

Σε ένα τριδιάστατο πεδίο θερμοκρασιών και για ένα ισότροπο μέσο⁶, η εξίσωση Fourier έχει την παρακάτω μορφή.

$$\dot{\mathbf{q}}'' = -\lambda \nabla T = -\lambda \left[i \frac{\partial T}{\partial x} + j \frac{\partial T}{\partial y} + k \frac{\partial T}{\partial z} \right] \quad (24)$$

Δηλαδή το διάνυσμα του ρυθμού ροής $\dot{\mathbf{q}}''$ είναι κάθετο σε κάθε θέση στην ισοθερμοκρασιακή επιφάνεια και έχει συνιστώσες:

$$\dot{q}_x'' = -\lambda \frac{\partial T}{\partial x}, \quad \dot{q}_y'' = -\lambda \frac{\partial T}{\partial y}, \quad \dot{q}_z'' = -\lambda \frac{\partial T}{\partial z} \quad (25)$$

Η εξίσωση -24- εκφράζει την αναλογία μεταξύ διαφοράς δυναμικού και ρυθμού ροής θερμότητας, αν ως δυναμικό θεωρηθεί η θερμοκρασία. Εάν όμως, ως δυναμικό για τη ροή θερμότητας θεωρηθεί η συγκέντρωση θερμικής ενέργειας που είναι

$$C_T = \frac{m C_p T}{V} = \rho C_p T \quad (26)$$

τότε ο ρυθμός ροής θερμότητας με αγωγή δίνεται από την εξίσωση -27-, όπου C_p η θερμοχωρητικότητα του υλικού, η οποία ορίζεται ως η ποσότητα της θερμότητας που

⁶ Ισότροπο λέγεται το υλικό που έχει την ίδια αγωγιμότητα προς όλες τις διευθύνσεις στο χώρο. Υπάρχουν υλικά, όπως το ξύλο ή ορισμένοι κρύσταλλοι με μη συμμετρική διάταξη των ατόμων, τα οποία παρουσιάζουν συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας που εξαρτάται από τη διεύθυνση. Τα υλικά αυτά καλούνται ανισότροπα.

αποβάλλεται ή απορροφάται από κάποιο σώμα όταν η θερμοκρασία του μεταβληθεί κατά ένα βαθμό Κελσίου.

$$\dot{q}'' = -\alpha \nabla C_T \quad (27)$$

Ο συντελεστής αναλογίας α ονομάζεται συντελεστής θερμικής διαχυτότητας, είναι αντίστοιχος με το κινηματικό ιξώδες (ν) στη ροή των ρευστών και με το συντελεστή διαχύσεως (D) στη μεταφορά μάζας, και έχει διάσταση $L^2 T^{-1}$ (όπως και οι συντελεστές D και ν). Με σύγκριση των σχέσεων -24- και -27- προκύπτει ότι ο συντελεστής θερμικής διαχυτότητας συνδέεται με το συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας λ από την παρακάτω σχέση:

$$\alpha = \frac{\lambda}{\rho C_p} \quad (28)$$

Η παραπάνω σχέση ορίζει μία ακόμη ιδιότητα των υλικών που, όπως και ο λ , είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας και της πίεσης.

2.3.2 Μεταφορά με συναγωγή

Μετάδοση θερμότητας με συναγωγή λαμβάνει χώρα πάντοτε μέσα στα ρευστά, λόγω της κινητικότητας που αυτά παρουσιάζουν. Έτσι, συναγωγή συμβαίνει όταν ένα ρευστό ρέει ή αναδεύεται (εξαναγκασμένη κυκλοφορία), αλλά ακόμη και όταν ένα ρευστό θερμαίνεται ή ψύχεται «ακίνητο» σε ένα χώρο.

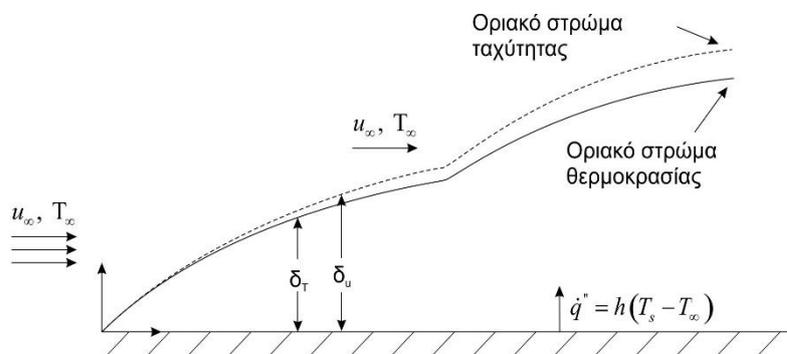
Το ρευστό που έρχεται σε επαφή με θερμά τοιχώματα, ή που κατά κάποιον τρόπο θερμαίνεται, εμφανίζει άνοδο της θερμοκρασίας και κατά συνέπεια διαστέλλεται. Προκαλείται έτσι διαφορά πυκνότητας ανάμεσα σε περιοχές με διαφορετικές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα την κίνηση του ρευστού λόγω παρουσίας δυνάμεων άνωσης. Η κίνηση αυτή καλείται *φυσική κυκλοφορία*.

Σε ένα ρευστό λοιπόν που βρίσκεται υπό την επήρεια θερμοκρασιακών διαφορών συμβαίνει πάντα μεταφορά θερμότητας με συναγωγή, εκτός εάν ο χώρος που καταλαμβάνει είναι τόσο περιορισμένος ώστε να μην επιτρέπει την ελεύθερη κίνηση του, όπως π.χ. το ρευστό που βρίσκεται μέσα στους πόρους ενός στερεού. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται ως μονωτικά είναι πορώδη και παγιδεύουν αέρα μέσα στους πόρους τους (αφρολέξ, υαλοβάμβακας, διογκωμένη πολυστερίνη, πολυουρεθάνη κ.λπ.). ο αέρας έχει πολύ μικρή θερμική αγωγιμότητα σε σχέση με τα στερεά υλικά και γι' αυτό το υλικό εμφανίζεται ως δυσθερμαγωγό.

Ο ρυθμός μεταφοράς θερμότητας είναι προφανές ότι εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της ροής του ρευστού (γεωμετρία, ταχύτητα, ιξώδες, πυκνότητα), καθώς και από τις ιδιότητες του ρευστού που έχουν σχέση με τη μεταφορά θερμότητας, δηλαδή από το συντελεστή θερμικής αγωγιμότητας και από την ειδική θερμότητα. Για την επίλυση λοιπόν προβλημάτων θερμότητας πρέπει παράλληλα να αναλυθεί και το πρόβλημα της ροής.

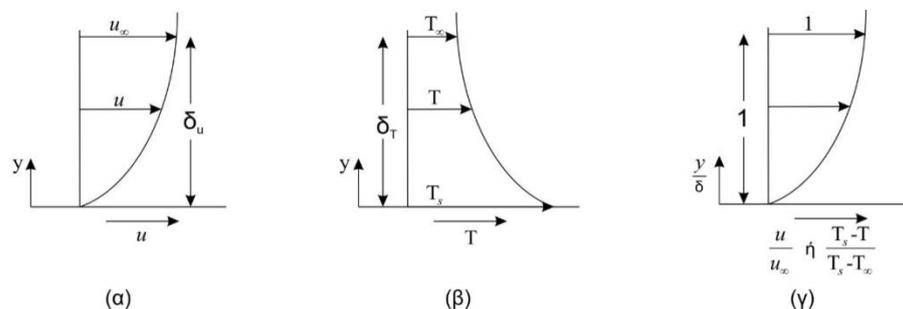
Θεωρείται μία οριζόντια, θερμή, μεταλλική πλάκα πάνω από την οποία κινείται ρεύμα αέρα που έχει θερμοκρασία T_∞ μικρότερη από τη θερμοκρασία της στερεάς επιφάνειας. Το

στρώμα του αέρα που έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια έχει ταχύτητα μηδέν. Θερμότητα μεταφέρεται από την επιφάνεια αυτή προς το στρώμα με αγωγή και μπορεί να θεωρηθεί ότι η θερμοκρασία σε θέση αυτή ($y=0$) είναι ίση με την θερμοκρασία της επιφάνειας. Κοντά στην επιφάνεια ο αέρας κινείται με στρωτή ροή και η θερμότητα μεταφέρεται κατά τη κατεύθυνση y με αγωγή (με τον ίδιο τρόπο που γίνεται η μεταφορά ορμής). Όσο απομακρυνόμαστε από την επιφάνεια ο αέρας κινείται πιο ελεύθερα έτσι ώστε η μεταφορά θερμότητας (και ορμής) να οφείλεται κυρίως στη συναγωγή δηλαδή σε μάζες θερμού αέρα που φεύγουν από την περιοχή υψηλών θερμοκρασιών κοντά στην επιφάνεια και μεταφέρουν τη θερμική τους ενέργεια στον αέρα που βρίσκεται μακριά από την επιφάνεια. Η θερμοκρασία πλησιάζει την οριακή της τιμή T_∞ σε μικρή σχετικά απόσταση από την επιφάνεια. Αναπτύσσεται δηλαδή ένα οριακό στρώμα θερμοκρασίας αντίστοιχο με το οριακό στρώμα ταχύτητας. Σημειώνεται ότι το πάχος δ_T του οριακού στρώματος της θερμοκρασίας δεν είναι εν γένει ίδιο με το πάχος του οριακού στρώματος της ταχύτητας δ_u (Εικ. 38).



Εικόνα 38 – Ανάπτυξη οριακού στρώματος θερμοκρασίας και ταχύτητας κατά τη ροή ρευστού πάνω από θερμαινόμενη επιφάνεια.

Στην εικόνα 39 (α και β) έχει σχεδιαστεί η κατανομή ταχύτητας και θερμοκρασίας στο αντίστοιχο οριακό στρώμα (Εικ. 38). Για την απεικόνιση κατανομής θερμοκρασιών, σε αντιστοίχιση με την κατανομή ταχυτήτων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η διαφορά $T_s - T$ αντί του T . Τα μεγέθη μπορούν να αδιαστατοποιηθούν αν χρησιμοποιηθεί ο λόγος u/u_∞ για την ταχύτητα και $(T_s - T)/(T_s - T_\infty)$ για τη θερμοκρασία. Τότε και οι δύο καμπύλες μεταβάλλονται μεταξύ 0 και 1 (Εικ. 39γ).



Εικόνα 39 – Κατανομή ταχύτητας και θερμοκρασίας στο οριακό στρώμα.

Ο ρυθμός ροής θερμότητας με συναγωγή είναι κατά προσέγγιση ανάλογος με την κινούσα δύναμη, δηλαδή τη διαφορά θερμοκρασίας ($T_s - T_\infty$). Η αναλογία αυτή εκφράζεται με την παρακάτω σχέση.

$$\dot{q}'' = h(T_s - T_\infty) \quad (29)$$

Όπου T_s είναι η θερμοκρασία της επιφάνειας, T_∞ η θερμοκρασία του ρευστού και ο παράγων αναλογίας h λέγεται συντελεστής μεταφοράς θερμότητας με συναγωγή ή απλά συντελεστής συναγωγής και έχει διαστάσεις:

$$\frac{\text{Ενέργεια}}{(\text{Χρόνος}) (\text{Επιφάνεια}) (\Delta T)}$$

Η σχέση -29- είναι γνωστή και ως νόμος ψύξεως του Newton. Ο συντελεστής συναγωγής εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της ροής (ταχύτητα, γεωμετρία) και από τις ιδιότητες του ρευστού (αγωγιμότητα, ειδική θερμότητα, ιξώδες και πυκνότητα). Ο υπολογισμός του σε ορισμένες απλές περιπτώσεις μπορεί να γίνει με αυστηρά μαθηματική ανάλυση των βασικών εξισώσεων συνέχειας, ορμής και ενέργειας. Σε πολύπλοκότερα προβλήματα χρησιμοποιούνται ημιεμπειρικές σχέσεις. Πολλές φορές όμως ο προσδιορισμός του h δεν είναι εύκολος, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση του υπολογισμού του h από την εξωτερική επιφάνεια ενός τοίχου στον ατμοσφαιρικό αέρα (χρησιμοποιήστε την τιμή της ταχύτητας του αέρα, η οποία μεταβάλλεται συνεχώς). Σε αυτές τις περιπτώσεις συνήθως χρησιμοποιούνται τιμές από τη βιβλιογραφία που υπολογίστηκαν σε παρόμοιες συνθήκες.

2.3.3 Μεταφορά με ακτινοβολία

Θερμική ακτινοβολία εκπέμπεται και απορροφάται από όλα τα στερεά σώματα σε όποια θερμοκρασία κι αν βρίσκονται. Ακτινοβολία επίσης εκπέμπουν και απορροφούν τα υγρά και ορισμένα αέρια. Η μέγιστη ισχύς που είναι δυνατόν να ακτινοβολεί ένα σώμα, ανά μονάδα επιφάνειας, δίνεται από τον νόμο των Stefan-Boltzmann.

$$\dot{q}''_\mu = \sigma T_s^4 \quad (30)$$

Και η ολική ισχύς που η επιφάνεια, με εμβαδό A , εκπέμπει είναι:

$$\dot{q}''_\mu = \sigma A T_s^4 \quad (31)$$

Όπου T_s είναι η απόλυτη θερμοκρασία της εξωτερικής επιφάνειας και σ ένας συντελεστής γνωστός ως σταθερά Stefan-Boltzmann ($\sigma = 5,67 \times 10^{-8} \text{ W}/(\text{m}^2 \text{K}^4)$). Μία επιφάνεια η οποία εκπέμπει αυτή την ενέργεια, που είναι η μέγιστη δυνατή τιμή εκπομπής, λέγεται *μέλαν σώμα*. Στην πράξη οι επιφάνειες παρουσιάζουν μικρότερη εκπομπή που δίνεται για την ανά μονάδα επιφάνειας ισχύ από τη σχέση:

$$\dot{q}''_\mu = \varepsilon \sigma T_s^4 \quad (32)$$

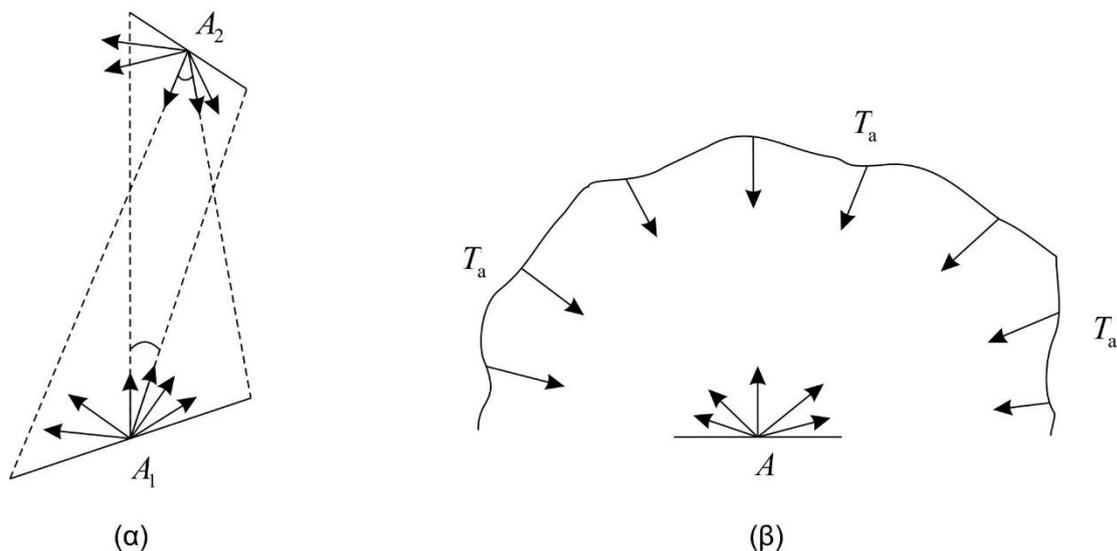
και για την ολική ισχύ από τη σχέση:

$$\dot{q}_\mu'' = \varepsilon \sigma A T_s^4 \quad (33)$$

Όπου ε είναι ο συντελεστής εκπομπής της επιφάνειας, που μπορεί να πάρει τιμές από 0 έως 1 και δείχνει την «απόδοση» σε θερμική εκπομπή της επιφάνειας, σε σχέση με την εκπομπή του μέλανος σώματος ($\varepsilon = \dot{q}/\dot{q}_\mu$).

Συνήθως στις εφαρμογές ενδιαφέρον δεν έχει ο ρυθμός εκπομπής αλλά ο ρυθμός ανταλλαγής θερμότητας, δηλαδή η διαφορά μεταξύ ακτινοβολίας που εκπέμπει ένα σώμα και εκείνης που απορροφά.

Για τον υπολογισμό της θερμότητας που ανταλλάσσεται με ακτινοβολία μεταξύ δύο επιφανειών που βρίσκονται σε διαφορετική θερμοκρασία θα πρέπει να ληφθεί υπόψη, εκτός από τους συντελεστές εκπομπής και απορρόφησης της κάθε επιφάνειας, η σχετική θέση τους. Με αυτόν τον τρόπο προσδιορίζεται το ποσοστό της θερμότητας που ακτινοβολείται από τη μία επιφάνεια με εμβαδόν A_1 και που προσπίπτει πάνω σε άλλη επιφάνεια με εμβαδόν A_2 , και το αντίστροφο. Το ποσοστό αυτό εξαρτάται και από την απόσταση και τον προσανατολισμό των δύο επιφανειών⁷.



Εικόνα 40 – Ανταλλαγή θερμότητας με ακτινοβολία: α) Μεταξύ δύο επιφανειών, β) μεταξύ μίας επιφάνειας και του περιβάλλοντος χώρου.

⁷ Για την ανταλλαγή θερμότητας μεταξύ δύο επιφανειών με εμβαδόν A_1 και A_2 και με συντελεστές εκπομπής ε_1 και ε_2 αντίστοιχα ισχύει η ακόλουθη σχέση:

$$\dot{q}_{1 \rightarrow 2} = \sigma A_1 \mathcal{F}_{12} (T_1^4 - T_2^4).$$

Ο συντελεστής \mathcal{F}_{12} δίνει ποιο ποσοστό της ακτινοβολίας που εκπέμπει η μία επιφάνεια απορροφάται από την άλλη και δίνεται από τη σχέση:

$$\frac{1}{\mathcal{F}_{12}} = \frac{1}{F_{12}} + \frac{1}{\varepsilon_1} - 1 + \frac{A_1}{A_2} \left[\frac{1}{\varepsilon_2} - 1 \right]$$

όπου F_{12} είναι ο συντελεστής μορφής που δείχνει το ποσοστό της ολικής ακτινοβολίας της επιφάνειας A_1 που προσπίπτει στην A_2 και εξαρτάται μόνο από τη γεωμετρία του συστήματος.

Στην περίπτωση ανταλλαγής θερμότητας με ακτινοβολία μεταξύ μίας επιφάνειας, με εμβαδόν A και θερμοκρασία T_s , και του περιβάλλοντος που βρίσκεται σε ομοιόμορφη θερμοκρασία T_a η ακτινοβολία που εκπέμπει η επιφάνεια απορροφάται εξολοκλήρου από το περιβάλλον. Το περιβάλλον λοιπόν μπορεί να θεωρηθεί ως μέλαν σώμα που απορροφά όλη την ενέργεια που δέχεται ($\epsilon_2=1$). Ο ρυθμός ανταλλαγής θερμότητας σε αυτή την περίπτωση δίνεται από την παρακάτω σχέση.

$$\dot{q} = A\epsilon\sigma(T_s^4 - T_a^4) \quad (34)$$

2.4 Φαινόμενα θερμοηλεκτρισμού

Οι διατάξεις μPCR απαιτούν τη χρήση θερμικών στοιχείων προκειμένου να επιτευχθούν οι επιθυμητές θερμοκρασίες που υλοποιούν το πρωτόκολλο της PCR. Αυτά τα θερμικά στοιχεία είναι αντιστάσεις που διαρρέονται από ρεύμα σύμφωνα με το φαινόμενο ηλεκτρικής αγωγιμότητας, λόγω διαφοράς τάσης στα άκρα τους. Η ροή του ρεύματος αναπτύσσει την απαιτούμενη θερμότητα σύμφωνα με το φαινόμενο θέρμανσης Joule (Joule heating). Τέλος, λόγω της θερμικής αγωγιμότητας μεταφέρεται θερμότητα στα μέρη του αγωγού. Τα τρία αυτά θερμοηλεκτρικά φαινόμενα θα χρησιμοποιηθούν σε αυτή τη μελέτη. Συνεπώς σε αυτό το κεφάλαιο θα γίνει μια ιστορική αναδρομή στα θερμοηλεκτρικά φαινόμενα.

Ο γενικός ορισμός του θερμοηλεκτρισμού κατά μια ευρύ έννοια αφορά φαινόμενα μετατροπής ευθέως και αντιστρόφως της ηλεκτρικής ενέργειας σε θερμότητα (Singh 2003). Μια διάταξη που βασίζεται στο φαινόμενο του θερμοηλεκτρισμού αποτελείται από δυο διαφορετικούς αγωγούς συνδεδεμένους στα άκρα τους, διαμορφώνοντας δυο ακροδέκτες. Οι ακροδέκτες διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη λειτουργία της διάταξης. Τα διάφορα φαινόμενα που παρουσιάζονται στους αγωγούς και στους ακροδέκτες τους είναι τα ακόλουθα:

- Φαινόμενο Seebeck
- Φαινόμενο Peltier
- Φαινόμενο Thomson
- Φαινόμενο Joule
- Θερμική αγωγιμότητα
- Ηλεκτρική αγωγιμότητα

Ο Γερμανός φυσικός Seebeck ανακάλυψε το πρώτο θερμοηλεκτρικό φαινόμενο το 1822. Παρατήρησε ότι όταν δύο παρόμοιοι αγωγοί συνδέονται στα άκρα τους, έχοντας σε αυτά διαφορετικές θερμοκρασίες, αναπτύσσεται τάση στους ακροδέκτες (Εικ. 42α). Η τάση που αναπτύσσεται με αυτό τον τρόπο βρέθηκε να είναι συνάρτηση του των ιδιοτήτων του υλικού και της διαφοράς θερμοκρασίας που εφαρμόζεται στα άκρα των αγωγών. Η διάταξη που λειτουργεί βασισμένη σε αυτό το φαινόμενο είναι γνωστή ως θερμοζεύγος και οι αγωγοί που χρησιμοποιούνται για να διαμορφώσουν το θερμοζεύγος ονομάζονται θερμοστοιχεία. Η τάση που αναπτύσσεται είναι ίση με

$$V_S = a_S (T_X - T_R) \quad (35)$$

όπου V_S το δυναμικό Seebeck, a_S συντελεστής Seebeck και $T_X - T_R$ η διαφορά θερμοκρασίας στα άκρα των αγωγών.

Το 1834, ο Γάλλος φυσικός Peltier ανακάλυψε ένα θερμοηλεκτρικό φαινόμενο (φαινόμενο Peltier) που ήταν αντίθετο από το αποτέλεσμα του φαινομένου Seebeck. Παρατήρησε ότι σε ένα θερμοζεύγος απελευθερώνεται θερμότητα στον ένα ακροδέκτη ενώ απορροφάται στον άλλο, όταν ένα ηλεκτρικό ρεύμα διέλθει μέσω των κόμβων. Η κατεύθυνση της ροής θερμότητας μπορεί να αντιστραφεί με την αντιστροφή της κατεύθυνσης του ρεύματος, όπως απεικονίζεται στην εικόνα 42β. Αξίζει να σημειωθεί ότι το φαινόμενο Peltier εμφανίζεται είτε το ρεύμα εφαρμόζεται από εξωτερικό παράγοντα είτε από το φαινόμενο Seebeck. Ως εκ τούτου, μόνο η παρουσία της διαφοράς θερμοκρασίας στα άκρα του θερμοζεύγους μπορεί να προκαλέσει απορρόφηση θερμότητας ή απελευθέρωση στους ακροδέκτες του εξαιτίας του φαινομένου Peltier. Το ποσό της θερμότητας που απελευθερώνεται ή απορροφάται στους ακροδέκτες του θερμοζεύγους δίνεται από τον τύπο

$$Q_S = \pi_P I \quad (36)$$

όπου Q_S το ποσό της θερμότητας που απελευθερώνεται ή απορροφάται στους ακροδέκτες, π_P σταθερά Peltier και I το ρεύμα που διέρχεται στο θερμοζεύγος.

Ο λόρδος Kelvin (William Thomson) το 1851 καθιέρωσε μία σχέση μεταξύ των συντελεστών των φαινομένων Seebeck και Peltier. Επίσης προέβλεψε και την ύπαρξη ενός τρίτου θερμοηλεκτρικού φαινομένου, το οποίο παρατηρήθηκε κατόπιν πειραματικά. Το φαινόμενο Thomson αφορά την απορρόφηση ή απελευθέρωση θερμότητας από έναν ομοιογενή αγωγό που διαρρέεται από ηλεκτρικό ρεύμα και ο οποίος παρουσιάζει μία διαφορά θερμοκρασίας κατά μήκος του (Εικ. 42γ). Το αν θα απορροφηθεί ή θα απελευθερωθεί η θερμότητα εξαρτάται αμοιβαία από την κατεύθυνση του ηλεκτρικού ρεύματος και διαφοράς θερμοκρασίας. Η θερμότητα που παράγεται δίνεται από την παρακάτω έκφραση

$$\frac{Q_{th}}{l} = \sigma_T I \frac{dT}{dx} \quad (37)$$

όπου Q_{th} η θερμότητα που παράγεται για μήκος αγωγού l ο οποίος διαρρέεται από ρεύμα I και παρουσιάζει κλίση θερμοκρασίας κατά μήκος του ίση με $\frac{dT}{dx}$. Το σ_T είναι η σταθερά Thomson.

Το φαινόμενο Joule προκαλεί θερμότητα σε ένα αγωγό που διαρρέεται από ρεύμα (Εικ. 42δ). Αντιθέτως από το φαινόμενο Thomson, η θερμότητα λόγω Joule πάντα απορροφάται ανεξαρτήτως από την κατεύθυνση του ρεύματος και την παρουσία κλίσης θερμοκρασίας. Το ποσό της θερμότητας Q_J εξαρτάται από το ρεύμα I και την αντίσταση R του αγωγού

$$Q_J = I^2 R \quad (38)$$

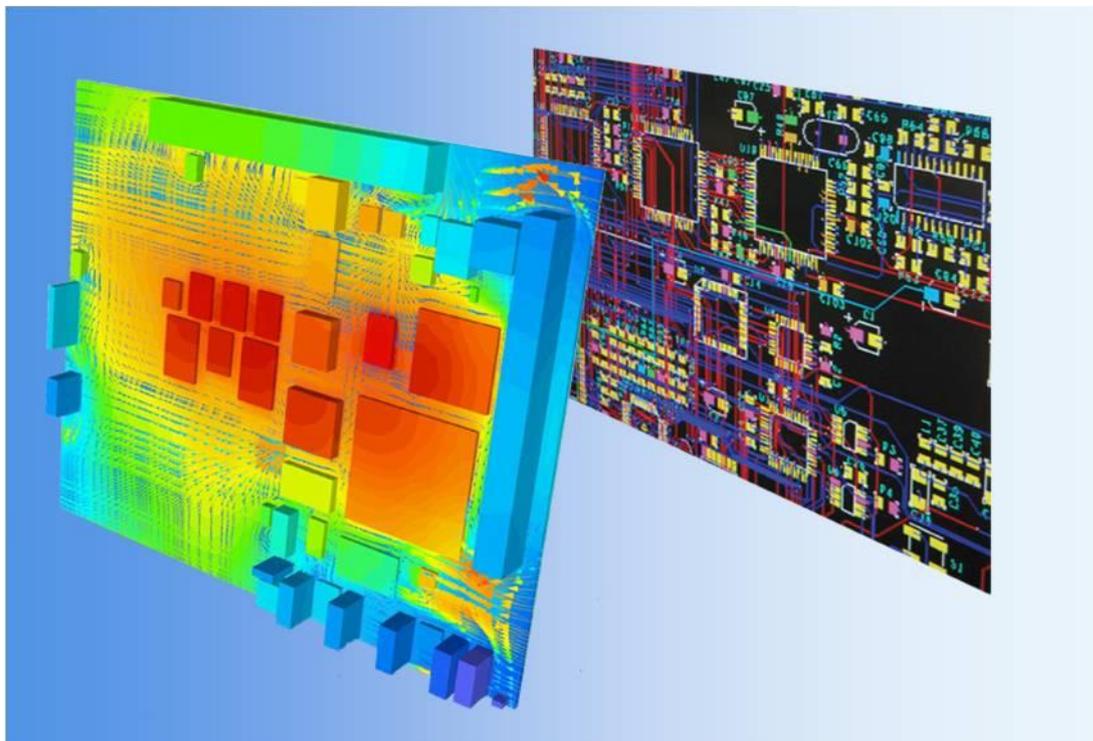
Η αντίσταση του αγωγού μπορεί να αντικατασταθεί από την έκφραση που συσχετίζει την ειδική ηλεκτρική αντίσταση γ του αγωγού, το μήκος του l και το εμβαδό της διατομής του A .

$$R = \gamma \frac{l}{A} \quad (39)$$

Το ποσό της θερμότητας Joule ανά μονάδα όγκου q_J^m μπορεί να εξαχθεί διαιρώντας την εξίσωση -38- με τον όγκο του αγωγού

$$q_J^m = \frac{Q_J}{V} = \frac{I^2 R}{Al} \Rightarrow q_J^m = \gamma \left(\frac{I}{A} \right)^2 \Rightarrow q_J^m = \gamma (\vec{J} \cdot \vec{J}) = \gamma |\vec{J}|^2 \quad (40)$$

Το αποτέλεσμα θέρμανσης από το φαινόμενο Joule είναι εμφανές στα ηλεκτρονικά κυκλώματα (Εικ. 41).



Εικόνα 41 – Θέρμανση ηλεκτρονικού κυκλώματος λόγω φαινομένου Joule heating. <https://www.expodesk.com/>

Η θερμική αγωγιμότητα (Εικ. 42ε) προκύπτει λόγω της παρουσίας κλίσης θερμοκρασίας σε έναν αγωγό που επάγει μία ροή θερμότητας σε κατεύθυνση αρνητική της κλίσης της θερμοκρασίας. Το της άγουσας θερμότητας δίνεται από το νόμο Fourier, ο οποίος δηλώνει

ότι ο ρυθμός της θερμότητας \vec{q} που άγεται σε μια μονάδα επιφάνειας είναι ανάλογος προς τη βαθμίδα θερμοκρασίας T του υλικού

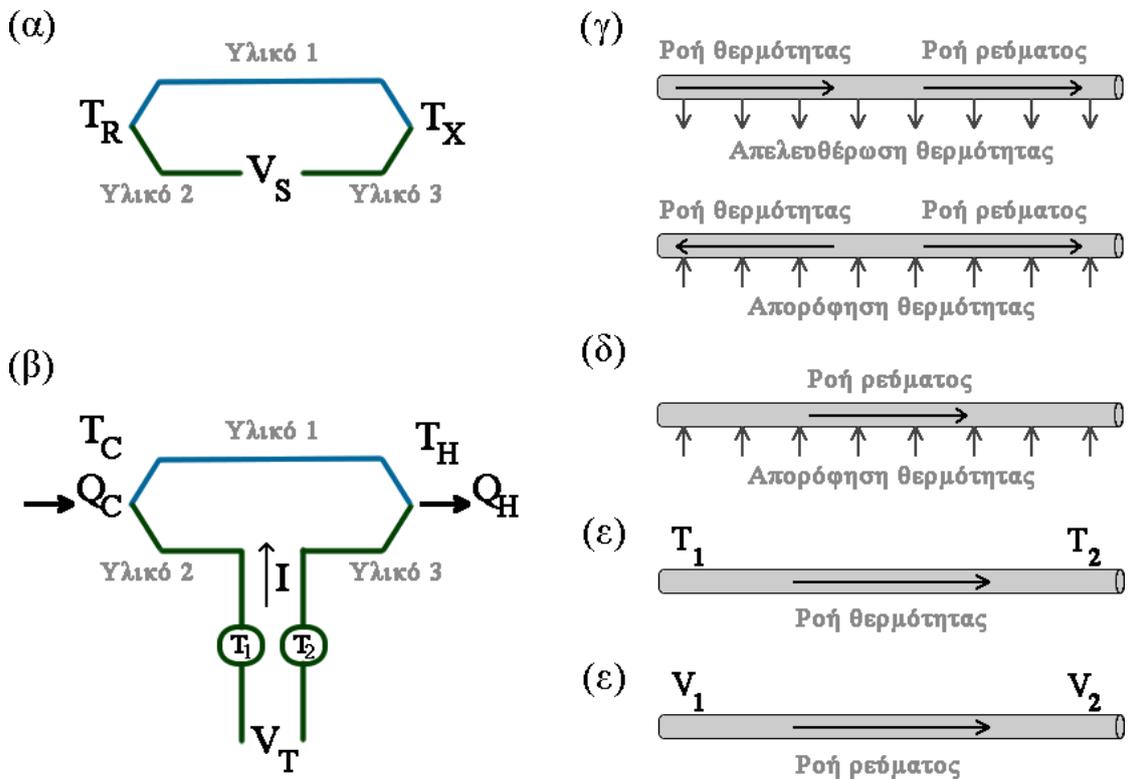
$$\vec{q} = -\lambda \nabla T \quad (41)$$

όπου λ ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητα του υλικού.

Τέλος, η ηλεκτρική αγωγιμότητα (Εικ. 42ζ) εμφανίζεται λόγω παρουσίας βαθμίδας τάσης σε έναν αγωγό, επάγοντας μία ροή φορέων φορτίου από υψηλό σε χαμηλό δυναμικό. Η ροή των φορέων φορτίου είναι γνωστή ως ηλεκτρικό ρεύμα, η οποία σχετίζεται με την κλίση της τάσης, όπως δίνεται από το νόμο του Ohm.

$$\vec{J} = \frac{1}{\gamma} \nabla \varphi \quad (42)$$

όπου J η πυκνότητα ρεύματος και φ η κατανομή τάσης στον αγωγό.



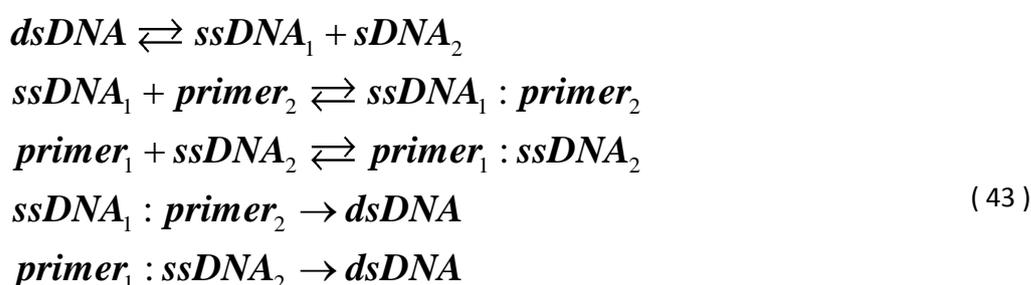
Εικόνα 42 – (α) φαινόμενο Seebeck. (β) Φαινόμενο Peltier. (γ) Φαινόμενο Thomson. (δ) Φαινόμενο Joule. (ε) Θερμική αγωγιμότητα. (α) Ηλεκτρική αγωγιμότητα.

Στη συνέχεια η θερμοκρασία του διαλύματος ανεβαίνει μέχρι το σημείο που μπορεί να λειτουργήσει ο καταλύτης της αντίδρασης, η πολυμεράση. Η πολυμεράση αναγνωρίζει και συνδέεται με τη μήτρα DNA και τους εκκινητές, αναπαράγοντας τον κλώνο του DNA.

Επαναλαμβάνοντας αυτή τη διαδικασία, σε N κύκλους προκύπτουν 2^N αντίγραφα της κάθε μήτρας DNA.

2.5.2 Πραγματική συμπεριφορά

Υπάρχουν πολλές λεπτομέρειες που αγνοούνται από την ιδανική συμπεριφορά που περιγράφηκε παραπάνω. Η πρώτη απλοποίηση αφορούσε την υπόθεση ότι η αποδιάταξη, η υβριδισμός και η επιμήκυνση συμβαίνουν μόνο όταν η θερμοκρασία βρίσκεται στην επιθυμητή τιμή για κάθε στάδιο. Η πραγματικότητα δείχνει ότι στην ουσία λαμβάνουν χώρα οι χημικές αντιδράσεις -43- που συμβαίνουν ταυτόχρονα, με ρυθμούς αντίδρασης που εξαρτώνται από την θερμοκρασία.



Η επόμενη απλοποίηση του ιδανικού μοντέλου είναι η θεώρηση των σταθερών συγκεντρώσεων των εκκινητών και του ενζύμου. Στην πραγματικότητα εάν χρησιμοποιηθούν 100 μήτρες μορίων DNA και 1×10^6 μόρια εκκινητών, σε μόλις 18 θερμικούς κύκλους όλοι οι εκκινητές θα έχουν εξαντληθεί από τις αντιδράσεις.

Δεδομένων των πραγματικών συνθηκών, έχουν αναπτυχθεί μοντέλα που προβλέπουν την ενίσχυση του DNA. Ένα από αυτά προβλέπεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$F = I(1 + \lambda)^N \tag{44}$$

όπου F το τελικό προϊόν του DNA, N ο αριθμός των θερμικών κύκλων, I το αρχικό προϊόν DNA, με το λ να ορίζει την απόδοση της ενίσχυσης. Η Εξ. -44- αποδόθηκε από τους Mullis και Faloona (Mullis and Faloona 1987).

2.6 Συστήματα αυτομάτου ελέγχου

2.6.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα εργασία, και πιο συγκεκριμένα στην υπολογιστική μελέτη των διατάξεων μPCR ΣΘ, υπάρχει η ανάγκη αυτομάτου ελέγχου της θερμοκρασίας του ρευστού προκειμένου να επιτευχθούν οι επιθυμητές θερμοκρασίες του εφαρμοζόμενου πρωτοκόλλου PCR σε προκαθορισμένους χρόνους. Επομένως σε αυτό το κεφάλαιο ακολουθεί μια εισαγωγή στις βασικές αρχές της θεωρίας συστημάτων αυτομάτου ελέγχου.

Σύστημα είναι ένα σύνολο στοιχείων τα οποία είναι κατάλληλα συνδεδεμένα μεταξύ τους για να επιτελέσουν κάποιο έργο (Παρασκευόπουλος 2001). Για να φέρει όμως ένα σύστημα

εις πέρας ένα έργο θα πρέπει να του δοθεί η κατάλληλη διέγερση. Η Εικ. 45 δίνει ένα εποπτικό σχήμα της παραπάνω έννοιας. Αν συμβολιστεί το σύστημα με τον τελεστή T, τότε η έξοδος είναι

$$y(t) = T[u(t)] \quad (45)$$

Προκειμένου να διευκολυνθούν οι υπολογισμοί απόκρισης των συστημάτων συνεχούς χρόνου γίνεται χρήση του μετασχηματισμού Laplace

$$L\{f(t)\} = \int_0^{\infty} f(t)e^{-st} dt = F(s) \quad (46)$$

Επομένως η εξίσωση -45- γίνεται

$$Y(s) = T(s) \cdot U(s) \quad (47)$$

χρησιμοποιώντας απλά γινόμενα μετασχηματισμένων συναρτήσεων σε μορφή Laplace, στο πεδίο πλέον των συχνοτήτων s (και όχι του χρόνου t).



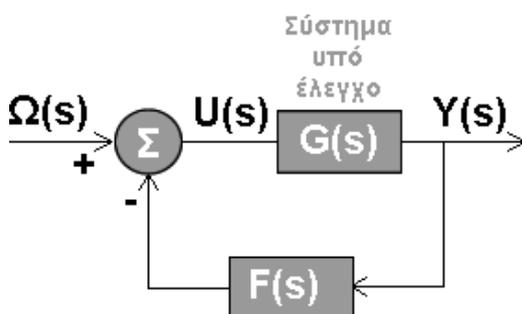
Εικόνα 45 – Σχηματικό διάγραμμα συστήματος με είσοδο και έξοδο

Σύστημα αυτομάτου ελέγχου είναι ένα σύστημα που τα διάφορα μέρη του είναι συνδεδεμένα μεταξύ τους έτσι ώστε να συμπεριφέρονται αυτόματα κατά ένα προκαθορισμένο επιθυμητό τρόπο.

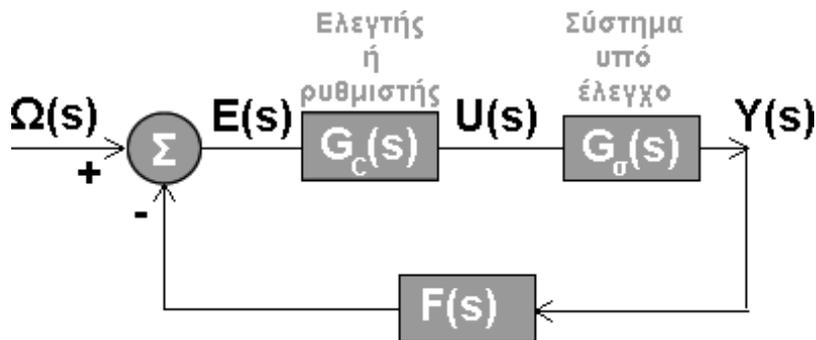
Στην Εικ. 46 ισχύουν οι παρακάτω συμβολισμοί:

- $G(s)$ είναι η συνάρτηση μεταφοράς του απ' ευθείας κλάδου
- $F(s)$ είναι η συνάρτηση μεταφοράς του κλάδου ανατροφοδότησης
- $G(s)F(s)$ είναι η συνάρτηση μεταφοράς του ανοικτού βρόγχου

Ένα τυπικό σύστημα είναι όπως αυτό της εικόνας 47.



Εικόνα 46 – Κλειστό σύστημα



Εικόνα 47 – Κλειστό σύστημα με ελεγκτή

Η $G_o(s)$ συμβολίζει τη συνάρτηση μεταφοράς του υπό έλεγχο συστήματος, ενώ $G_c(s)$ συμβολίζει τη συνάρτηση μεταφοράς του ελεγκτή ή ρυθμιστή ή αντισταθμιστή. Το $\Omega(s)$ είναι το σήμα εισόδου ή αναφοράς, το $E(s)$ είναι το σήμα σφάλματος, το $U(s)$ είναι το σήμα ελέγχου και το $Y(s)$ είναι το σήμα εξόδου. Ο έλεγχος επιτυγχάνεται με την ανατροφοδότηση της εξόδου στην είσοδο. Με αυτό τον τρόπο είναι ανά πάσα στιγμή γνωστό το σφάλμα εξόδου, το οποίο και με κατάλληλο ελεγκτή $G_c(s)$ μπορεί να μηδενιστεί.

2.6.2 Μέθοδοι σχεδίασης συστημάτων αυτομάτου ελέγχου

Στην κλασική θεωρία αυτομάτου ελέγχου ο συγκερασμός των αντικρουόμενων προδιαγραφών επιτυγχάνεται με ελεγκτές που συνήθως αποτελούνται από ένα ενισχυτή με ενίσχυση K σε σειρά με παθητικά ηλεκτρικά δίκτυα έτσι ώστε η συνάρτηση μεταφοράς $G_c(s)$ του αντισταθμιστή να έχει τη γενική μορφή

$$G_c(s) = \frac{\prod_{i=1}^m (1 + T_i' s)}{\prod_{i=1}^n (1 + T_i s)} \quad (48)$$

Τα παθητικά δίκτυα αντιστάθμισης που χρησιμοποιούνται ονομάζονται δίκτυα αντιστάθμισης και είναι συνήθως δίκτυα προήγησης φάσης, καθυστέρησης φάσης, καθυστέρησης-προήγησης φάσης, γεφυρωμένου T και άλλα. Τα βασικά συμπεράσματα από την μελέτη τέτοιων δικτύων οδηγούν στις εξής δυνατότητες:

- Τα δίκτυα προήγησης φάσης μπορούν να βελτιώσουν, στο μεν πεδίο της συχνότητας τη συνάρτηση μεταφοράς βρόγχου στις υψηλές συχνότητες, στο δε πεδίο του χρόνου τη μεταβατική κατάσταση, μειώνοντας το χρόνο ανύψωσης και την υπερύψωση και εν μέρη το σφάλμα στη μόνιμη κατάσταση.
- Τα δίκτυα καθυστέρησης φάσης μπορούν να βελτιώσουν, στο μεν πεδίο της συχνότητας τη συνάρτηση μεταφοράς βρόγχου στις χαμηλές συχνότητες, στο δε πεδίο του χρόνου το σφάλμα στη μόνιμη κατάσταση εις βάρος της μεταβατικής κατάστασης διότι αυξάνει ο χρόνος ανύψωσης.
- Τα δίκτυα καθυστέρησης-προήγησης φάσης συνδυάζουν τα παραπάνω χαρακτηριστικά, αυξάνοντας όμως την τάξη του συστήματος κατά δύο και περιπλέκοντας την μελέτη του.

Ένα παράδειγμα τέτοιου ελεγκτή που κάνει χρήση όλων των παραπάνω δικτύων είναι ο αναλογικός-ολοκληρωτικός-διαφορικός ελεγκτής PID (Proportional-Integral-Derivative controller) με συνάρτηση μεταφοράς

$$G_C(s) = K_P + \frac{K_I}{s} + K_D s \quad (49)$$

όπου οι παράμετροι K_P , K_I και K_D αντιστοιχούν στον αναλογικό, ολοκληρωτικό και παραγωγικό όρο ενίσχυσης.

- Τα δίκτυα γεφυρωμένου T διαφέρουν από τα προηγούμενα μόνο στο ότι είναι χρήσιμα κατά την πραγματοποίηση αντισταθμιστών, οι οποίοι βελτιώνουν την απόδοση και την ευστάθεια του συστήματος.

2.7 Αριθμητική επίλυση

Για την επίλυση των εξισώσεων χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό υπολογιστικό πακέτο COMSOL (COMSOL) Version 4.3b, το οποίο εφαρμόζει τη μέθοδο των Πεπερασμένων στοιχείων (Finite Element Method). Η διαδικασία επίλυσης του προβλήματος παρουσιάζεται σε αυτό το κεφάλαιο.

Η μελέτη φαινομένων στη φύση με σύγχρονα υπολογιστικά μέσα ακολουθεί δύο βασικά στάδια, τη μαθηματική διατύπωση του προβλήματος και την αριθμητική ανάλυση του μαθηματικού μοντέλου (Παπαδρακάκης 2001). Η μαθηματική διατύπωση βασίζεται σε ορισμένες παραδοχές γύρω από τις διαδικασίες που χαρακτηρίζουν το φαινόμενο, ενώ η αριθμητική ανάλυση χρησιμοποιεί αριθμητικές μεθόδους και τις δυνατότητες του υπολογιστή προκειμένου να δώσει λύση στη μαθηματική διατύπωση του προβλήματος. Παρά το γεγονός ότι η διατύπωση των κυρίαρχων εξισώσεων που διέπουν τα περισσότερα φαινόμενα στη φύση δεν μπορεί να χαρακτηριστεί εξαιρετικά δυσχερής η εξεύρεση της ακριβούς λύσης είναι μία επίπονη και δύσκολη διαδικασία. Στις περιπτώσεις αυτές οι προσεγγιστικές μέθοδοι επίλυσης της μαθηματικής διατύπωσης αποτελούν μία πρόσφορη εναλλακτική αντιμετώπιση των προβλημάτων αυτών. Από τις πλέον διαδεδομένες προσεγγιστικές μεθόδους για την επίλυση προβλημάτων της Μηχανικής είναι οι μέθοδοι των μεταβολών, μία εκ των οποίων είναι και η μέθοδος Rayleigh-Ritz και οι μέθοδοι των σταθμικών υπολοίπων, μία εκ των οποίων είναι και η μέθοδος Galerkin.

2.7.1 Μέθοδοι διακριτοποίησης

Οι κύριες μέθοδοι διακριτοποίησης είναι τρεις.

1. **Η μέθοδος των πεπερασμένων όγκων ελέγχου** (Finite Volume Methods), η οποία ανήκει στην ολοκληρωτικές μεθόδους (integral methods).
2. **Η μέθοδος των πεπερασμένων διαφορών** (Finite Difference Methods), η οποία ανήκει στις μη ολοκληρωτικές μεθόδους (non-integral methods).
3. **Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων** (Finite Elements).

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων. Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων φαίνεται να αντιμετωπίζει καλύτερα προβλήματα σύνθετων γεωμετρικών, πολλαπλών – συνεκτικών χώρων και σύνθετων οριακών συνθηκών,

προβλήματα που με τη μέθοδο των πεπερασμένων διαφορών υπήρχαν δυσκολίες (Τσαμασφύρος and Θεοτόκογλου 1989). Η ακριβής αριθμητική λύση όμως είτε με την μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων, είτε με τη μέθοδο των πεπερασμένων διαφορών για την επίλυση προβλημάτων ρευστών απαιτεί μεγάλο υπολογιστικό κόστος.

2.7.2 Μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων

Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων μπορεί να θεωρηθεί ως μία ειδική διατύπωση των μεθόδων Rayleigh-Ritz και σταθμικών υπολοίπων η οποία όμως πλεονεκτεί σαφώς ως προς τις αρχικές διατυπώσεις των μεθόδων αυτών λόγω της μεγαλύτερης ευκολίας με την οποία αντιμετωπίζει πολύπλοκες γεωμετρίες και του ευχερέστερου προγραμματισμού της (Παπαδρακάκης 2001). Η θεμελιώδης αρχή της μεθόδου των πεπερασμένων στοιχείων βασίζεται στην αντικατάσταση του γεωμετρικά σύνθετου πεδίου του προβλήματος σε ένα σύνολο απλών υποπεδίων τα οποία ονομάζονται πεπερασμένα στοιχεία.

Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων καταλήγει σε ένα σύστημα εξισώσεων που το πλήθος του ταυτίζεται με το πλήθος των βαθμών ελευθερίας του προβλήματος, το οποίο μπορεί να επιλυθεί μόνο μέσω Η/Υ. Επομένως, η ανάπτυξη της μεθόδου αυτής και η χρήση της για την επίλυση πρακτικών προβλημάτων του μηχανικού ταυτίζεται με την ανάπτυξη της τεχνολογία των Η/Υ. Η εξέλιξη των Η/Υ με τις ολοένα και μεγαλύτερες δυνατότητες διαχείρισης μεγάλου όγκου δεδομένων αλλά και την αύξηση της ταχύτητας εκτελέσεων αριθμητικών πράξεων κατέστησε εφικτή την επίλυση με την μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων σύνθετων προβλημάτων του μηχανικού τα οποία θεωρούνταν απροσπέλαστα πριν μερικά χρόνια. Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων αν και επινοήθηκε και εφαρμόστηκε για την στατική ανάλυση φορέων έχει καθολικότερη εφαρμογή σε μία ευρύτερη κατηγορία προβλημάτων του μηχανικού όπως για παράδειγμα στη ρευστομηχανική, στη μεταφορά θερμότητας, στην ακουστική, στον ηλεκτρομαγνητισμό και στην εμβιομηχανική.

Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων εμπεριέχει την έννοια της προσέγγισης και όχι της ακριβούς λύσης με την έννοια ότι η ικανοποίηση των σχέσεων ισορροπίας περιορίζεται σε ένα πεπερασμένο αριθμό σημείων της γεωμετρίας του προβλήματος. Επομένως για να ληφθεί η ακριβής λύση πρέπει το μέγεθος των στοιχείων να γίνει απειροστό. Αν το μέγεθος των στοιχείων είναι πεπερασμένο, τα αποτελέσματα θα είναι προσεγγιστικά, θα περιέχουν δηλαδή κάποιο σφάλμα που θα γίνεται μικρότερο όσο το μέγεθος των στοιχείων μειώνεται.

Η διαδικασία της ανάπτυξης της μεθόδου των πεπερασμένων στοιχείων αποτελείται από πέντε βήματα, τη διακριτοποίηση της γεωμετρίας, τον υπολογισμό του μητρώου ακαμψίας του στοιχείου, τη διαμόρφωση του τελικού συστήματος ακαμψίας, την επίλυση του συστήματος και τον υπολογισμό των εντατικών και παραμορφωσιακών μεγεθών. Περισσότερα για τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων υπάρχουν στο παράρτημα Α.

3 Υπολογιστικά μοντέλα διατάξεων μPCR συνεχούς ροής και στατικού θαλάμου

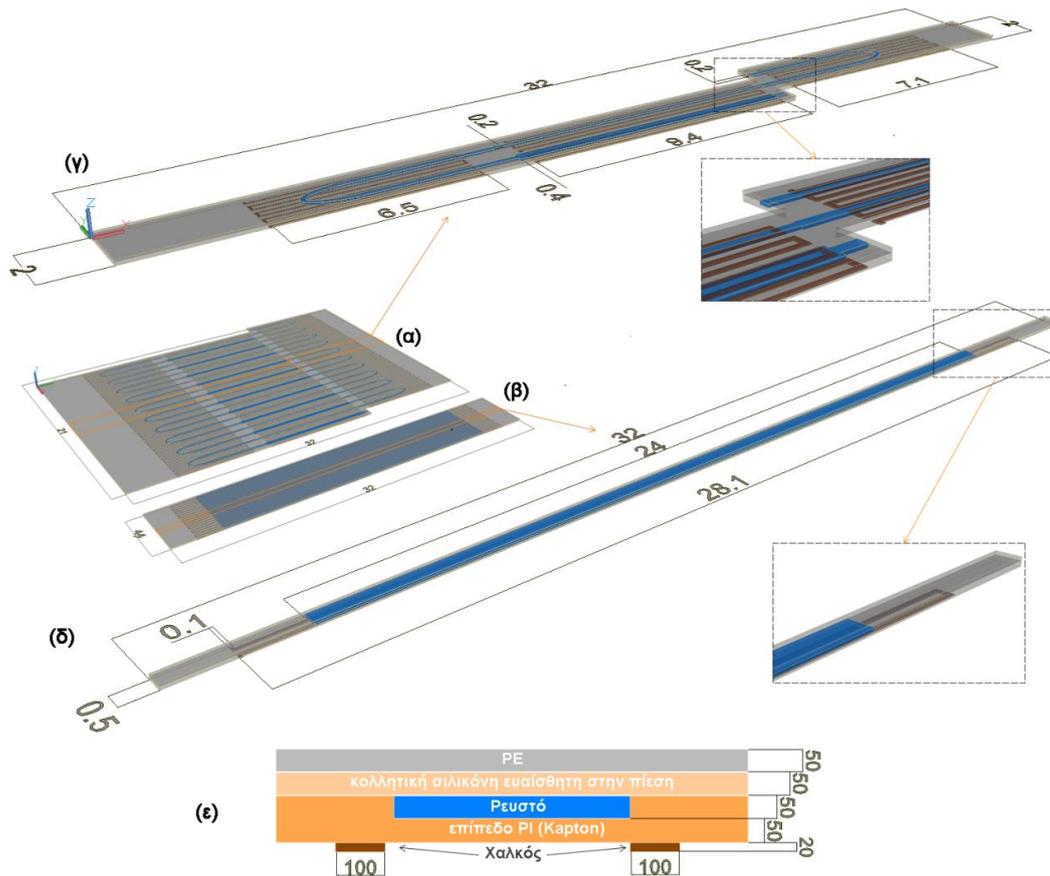
3.1 Εισαγωγή

Ο σκοπός της εργασίας είναι η αξιολόγηση των επιδόσεων διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ. Η αξιολόγηση γίνεται σε όρους κατανάλωσης ενέργειας, διάρκειας λειτουργίας, ενίσχυσης DNA και θερμοκρασιακής ομοιομορφίας, μέσω υπολογιστικής μελέτης. Το μαθηματικό μοντέλο που χρησιμοποιείται συνδυάζει τις εξισώσεις συνέχειας και διατήρησης της ορμής, εξισώσεις μεταφοράς θερμότητας σε στερεά και ρευστά, διατήρησης μάζας των ειδών, θέρμανσης μέσω του φαινομένου Joule και αυτομάτου ελέγχου θερμοκρασίας.

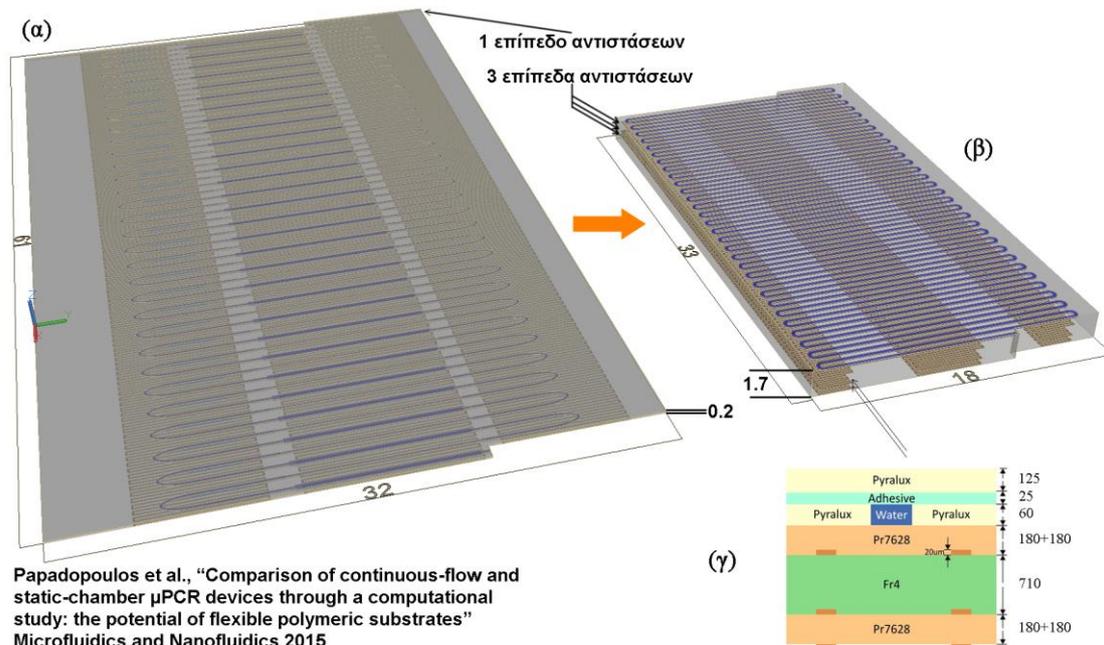
Οι υπολογισμοί της παρούσας εργασίας που αφορούν στη σύγκριση διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ γίνονται σε μοναδιαίες κυψελίδες των διατάξεων οι οποίες φαίνονται στην εικόνα 48. Ειδικότερα στη γεωμετρία της διάταξης ΣΡ (Εικ. 48α) παρουσιάζεται ένα τμήμα της διάταξης όπου λαμβάνουν χώρα 10 θερμικοί κύκλοι. Αυτό το σχέδιο έχει ήδη υλοποιηθεί (Moschou et al. 2014). Οι γεωμετρικές προδιαγραφές των διατάξεων προέρχονται από την τεχνολογία FCP. Το βάθος του μικροκαναλιού σχήματος μαιάνδρου είναι 50 μm και το πλάτος του είναι 200 μm στην ζώνη αποδιάταξης και υβριδισμού ενώ είναι 400 μm στη ζώνη επιμήκυνσης. Στη γεωμετρία της διάταξης ΣΘ (Εικ. 48β), Ένας θάλαμος βρίσκεται πάνω από τις θερμικές αντιστάσεις. Το ρευστό παραμένει στατικό στο θάλαμο και οι θερμικές αντιστάσεις, οι οποίες ελέγχονται από ελεγκτή, παρέχουν το επιθυμητό προφίλ θερμοκρασίας συναρτήσει του χρόνου, εφαρμόζοντας το επιθυμητό πρωτόκολλο PCR.

Η στοιβάδα των υλικών και για τις δυο διατάξεις παρουσιάζεται στην Εικ. 1ε και βασίζεται σε εμπορικώς διαθέσιμα εύκαμπτα πολυμερικά φιλμ με μεταλλικά στρώματα. Η διάταξη ΣΡ έχει κατασκευαστεί σύμφωνα με το εμπορικώς διαθέσιμο επιχαλκωμένο υπόστρωμα πολυϊμιδίου (PI) (Thomas et al. 2014). Τα μικροκανάλια έχουν δημιουργηθεί πάνω σε στρώμα PI (Karton) και οι μαιανδρικού σχήματος θερμικές αντιστάσεις σε λεπτό (20 μm) στρώμα επένδυσης χαλκού. Η στιβάδα σφράγισης αποτελείται από ένα ευαίσθητο στην πίεση συγκολλητικό στρώμα σιλικόνης (50 μm) το οποίο προσκολλάται σε ένα στρώμα (50 μm) πολυαιθυλενίου (PE). Στη μοναδιαία κυψελίδα της διάταξης ΣΡ (Εικ. 48γ), λαμβάνει χώρα ένας θερμικός κύκλος, ενώ στη μοναδιαία κυψελίδα της διάταξης ΣΘ (Εικ. 48δ), είναι υπό μελέτη μια λωρίδα του συνόλου της γεωμετρίας, περιλαμβάνοντας μια στροφή της θερμικής αντίστασης.

Όσον αφορά τη δεύτερη υπολογιστική μελέτη, που αφορά στο σχεδιασμό διάταξης μPCR ΣΡ που κατασκευάζεται με τεχνολογία PCB πολλαπλών στρωμάτων χαλκού, η γεωμετρία της μοναδιαίας κυψελίδας παρουσιάζεται στην εικόνα 49β και η στοιβά των υλικών στην εικόνα 49γ.



Εικόνα 48 – (α) 10 μοναδιαίες κυψελίδες (10 θερμικοί κύκλοι) της διάταξης μPCR ΣΡ. (β) Η διάταξη μPCR ΣΘ. Η μοναδιαία κυψελίδα της διάταξης μPCR (γ) ΣΡ και (δ) ΣΘ που χρησιμοποιήθηκαν για προσομοίωση. Όλες οι διαστάσεις είναι σε mm. (ε) Διατομή των διατάξεων, όπου φαίνεται η στοιβάδα υλικών (διαστάσεις σε μm).



Papadopoulos et al., "Comparison of continuous-flow and static-chamber μPCR devices through a computational study: the potential of flexible polymeric substrates" Microfluidics and Nanofluidics 2015

Εικόνα 49 – (α) Διάταξη ΣΡ, κατασκευασμένη σε λεπτά πολυμερικά υμένα (FPC). (β) Διάταξη ΣΡ σε μικρότερο αποτύπωμα και μεγαλύτερου πάχους, κατασκευασμένη σε τεχνολογία τυπωμένων κυκλωμάτων. Το πάχος των μικροκαναλιών είναι 250μm σε όλο το μήκος τους. Όλες οι διαστάσεις είναι σε mm. (γ) Διατομή της διάταξης (β), όπου φαίνεται η στοιβάδα υλικών (διαστάσεις σε μm).

3.2 Οι εξισώσεις του μοντέλου

Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε για την προσομοίωση της διάταξης ΣΡ αποτελείται από την εξίσωση συνέχειας

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (50)$$

και την εξίσωση διατήρησης της ορμής

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = \nabla \cdot \left[-pI + \mu (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) - \frac{2}{3} \mu (\nabla \cdot \mathbf{u}) I \right] + \rho \mathbf{g} \quad (51)$$

όπου \mathbf{u} , ρ , μ , και p είναι το διάνυσμα της ταχύτητας, η πυκνότητα, το δυναμικό ιξώδες, και η πίεση του ρευστού, αντίστοιχα. Το \mathbf{g} είναι η επιτάχυνση της βαρύτητας.

Περιλαμβάνει επίσης την εξίσωση διατήρησης μάζας των ειδών,

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_i \nabla C_i) + \mathbf{u} \cdot \nabla C_i = R_i \quad (52)$$

όπου D_i , C_i και R_i είναι ο συντελεστής διάχυσης, η συγκέντρωση και το καθαρό ποσοστό της παραγωγής του κάθε είδους i που ενώνεται με το δείγμα της PCR, π.χ. το δίκλωνο DNA ή οι εκκινητές. Το καθαρό ποσοστό παραγωγής καθορίζεται από την κινητική της αντίδρασης (βλ. παράγραφο 2.5).

Το μοντέλο ολοκληρώνεται από την εξίσωση μεταφοράς θερμότητας στα στερεά επίπεδα και στο ρευστό

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho C_p \mathbf{u} \cdot \nabla T = \nabla \cdot (k \nabla T) + Q_j \quad (53)$$

όπου T , k , και C_p είναι η θερμοκρασία, η θερμική αγωγιμότητα, και η θερμοχωρητικότητα των επιπέδων ή του ρευστού. Η ταχύτητα \mathbf{u} στην παραπάνω εξίσωση είναι μηδέν για όλα τα χωρία, εκτός από του ρευστού. Το Q_j είναι ο ρυθμός παραγωγής θερμότητας στη θερμική αντίσταση j ($i=1,2,3$, και s). Είναι μηδέν για όλα τα χωρία εκτός αυτού των θερμικών αντιστάσεων. Οι δείκτες 1, 2, και 3 αντιστοιχούν στις τρεις θερμικές αντιστάσεις της διάταξης ΣΡ: Διαφορετικός ρυθμός παραγωγής θερμότητας απαιτείται σε κάθε θερμική αντίσταση για να επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία (95 °C, 55 °C και 72 °C στην περίπτωση μας) σε κάθε ζώνη. Ο δείκτης s αντιστοιχεί στη θερμική αντίσταση της διάταξης ΣΘ.

Η θερμότητα που παράγεται από τις θερμικές αντιστάσεις προέρχεται από τη ροή ρεύματος και οι ρυθμοί παραγωγής θερμότητας προέρχονται από το φαινόμενο θέρμανσης Joule, δηλαδή

$$Q_j = \mathbf{J}_j \cdot \mathbf{E}_j \quad (54)$$

όπου \mathbf{J}_j και \mathbf{E}_j είναι η πυκνότητα του ρεύματος και το ηλεκτρικό πεδίο στη θερμική αντίσταση j : συνδέονται με την εξίσωση

$$\mathbf{J}_j = \sigma \mathbf{E}_j \quad (55)$$

και υπολογίζονται από την εξίσωση διατήρησης ρεύματος,

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \quad (56)$$

Το σ είναι η ηλεκτρική αγωγιμότητα της θερμικής αντίστασης: Όλες οι θερμικές αντιστάσεις προέρχονται από χαλκό, επομένως ο δείκτης j παραλείπεται.

Το μοντέλο για τη διάταξη ΣΘ αποτελείται από τις εξισώσεις μεταφοράς θερμότητας σε στερεά και ρευστά, διατήρησης μάζας των ειδών του δείγματος, θέρμανσης μέσω του φαινομένου Joule και αυτομάτου ελέγχου θερμοκρασίας. Κατά τη διάρκεια της λειτουργίας των διατάξεων ΣΘ όλες οι μεταβλητές (π.χ. η θερμοκρασία, οι συγκεντρώσεις και τα ρεύματα) μεταβάλλονται με το χρόνο, ενώ για τη διάταξη ΣΡ παραμένουν σταθερές. Επομένως, οι Εξ. -52- έως -56- λύνονται σε μόνιμη κατάσταση για τη διάταξη ΣΡ και σε μεταβατική κατάσταση για τη διάταξη ΣΘ.

3.3 Συνοριακές συνθήκες

Θεωρούνται συνθήκες μη ολίσθησης για την ταχύτητα και μηδενική παράγωγος για τη συγκέντρωση στα τοιχώματα των μικροκαναλιών. Θεωρούνται πλήρως ανεπτυγμένα παραβολικά προφίλ στην είσοδο των μικροκαναλιών, ενώ στην έξοδό τους θεωρούνται μηδενικές παράγωγοι και για την ταχύτητα και για την συγκέντρωση κατά τη διεύθυνση της ροής. Σε όλες τις εξωτερικές επιφάνειες των μοναδιαίων κυψελίδων θεωρείται διάδοση και μεταφορά θερμότητας μέσω ακτινοβολίας. Δεδομένου ότι οι υπολογισμοί πραγματοποιούνται σε μοναδιαία κυψελίδα, εφαρμόζονται περιοδικές συνθήκες στα αντίστοιχα σύνορα. Στη μοναδιαία κυψελίδα της διάταξης ΣΡ λαμβάνει χώρα μόνο ένας θερμικός κύκλος. Συνεπώς, προκειμένου να υπολογιστούν οι συγκεντρώσεις των ειδών στον 2ο, 3ο, κ.λπ. κύκλο, εφαρμόζονται τα προφίλ συγκέντρωσης της εξόδου του κύκλου n στην είσοδο του κύκλου $n+1$. Αναφορικά με το μοντέλο θέρμανσης Joule, εφαρμόζεται ομοιόμορφη πυκνότητα ρεύματος στην «είσοδο» της θερμικής αντίστασης, ενώ η «έξοδος» θεωρείται ότι είναι γειωμένη. Οι πυκνότητες ρεύματος στην «είσοδο» των θερμικών αντιστάσεων στη διάταξη ΣΡ ορίζονται τέτοιες ώστε οι μέσες θερμοκρασίες στις ζώνες PCR να είναι ίσες με τις προκαθορισμένες θερμοκρασίες του πρωτοκόλλου (95 °C, 55 °C και 72 °C). Αυτό γίνεται με μια επαναληπτική διαδικασία βελτιστοποίησης. Η πυκνότητα ρεύματος στην «είσοδο» της θερμικής αντίστασης στη διάταξη ΣΘ προέρχεται από ένα ελεγκτή (ρεύματος) θερμοκρασίας ο οποίος περιγράφεται στην παράγραφο 3.4. Ηλεκτρική μόνωση εφαρμόζεται σε όλα τα σύνορα των θερμικών αντιστάσεων. Μια σύνοψη των εφαρμοσμένων συνοριακών συνθηκών που εφαρμόζονται στις μοναδιαίες κυψελίδες των δυο διατάξεων φαίνεται στην εικόνα 50.

ΥΠΟΜΝΗΜΑ

Ομοιόμορφη πυκνότητα ρεύματος στην είσοδο των αντιστάσεων
→

Γείωση στην έξοδο των αντιστάσεων
⊥

Μόνωση στις επιφάνειες των αντιστάσεων
▶

Περιοδικές συνθήκες
→

Μεταφορά θερμότητας στο περιβάλλον
→

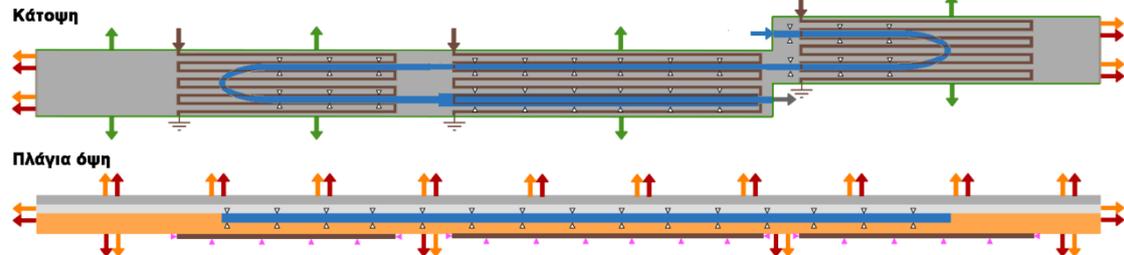
Μεταφορά θερμότητας από ακτινοβολία
→

Είσοδος καναλιών
- παραβολικό προφίλ ταχύτητας ρευστού
- Προφίλ συγκεντρώσεων από την έξοδο του (n-1) κύκλου
→

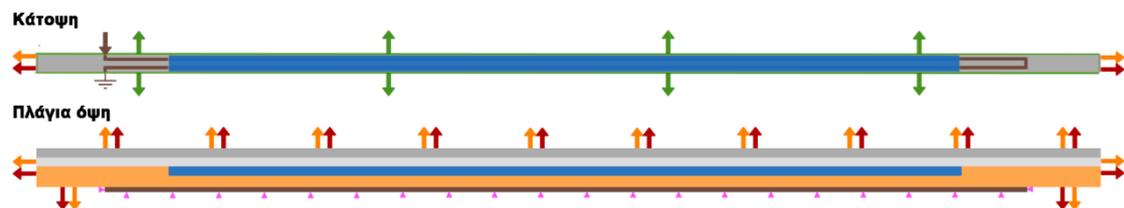
Έξοδος καναλιών μηδενικές παράγωγοι
→

Τοιχώματα καναλιών
- Συνθήκες μη ολίσθησης για τη ροή
- μηδενικές παράγωγοι για την συγκέντρωση
▷

Μοναδιαία κυψελίδα διάταξης ΣΡ



Μοναδιαία κυψελίδα διάταξης ΣΘ



Εικόνα 50 – Σύνοψη συνοριακών συνθηκών

Η πυκνότητα και το δυναμικό ιζώδες του δείγματος DNA θεωρούνται ίσα με εκείνα του νερού. Και τα δυο είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας και προέρχονται από τη βάση δεδομένων του Comsol. Η τιμή του συντελεστή μεταφοράς θερμότητας θεωρείται ίση με 5 και 10 W / (m²K) προκειμένου να εξεταστεί η ευαισθησία των αποτελεσμάτων στην αλλαγή της τιμής του. Η θερμοχωρητικότητα, η πυκνότητα, η θερμική αγωγιμότητα και ο συντελεστής θερμικής εκπομπής της επιφάνειας των υλικών στη στοίβα φαίνονται στον Πίν. 2. Οι ιδιότητες του στρώματος PI (Σχ. 48ε) είναι εκείνες του Kapton. Για τις ιδιότητες του ευαίσθητου στην πίεση συγκολλητικού σιλικόνης θεωρούνται αυτές της πολυδιμεθυλοσιλοξάνης (Polydimethylsiloxane, PDMS).

Η ηλεκτρική αγωγιμότητα του χαλκού δηλαδή του υλικού των θερμικών αντιστάσεων, προέρχεται από τον τύπο

$$\sigma = \frac{1}{\rho_0 [1 + \alpha(T - T_0)]} \quad (57)$$

όπου ρ_0 (1,68×10⁻⁸ Ω m) είναι η ειδική αντίσταση σε θερμοκρασία ίση με T_0 (293,15 K), και α είναι ο συντελεστής θερμοκρασίας της αντίστασης (0,00386 K⁻¹) (Perry et al. 1999).

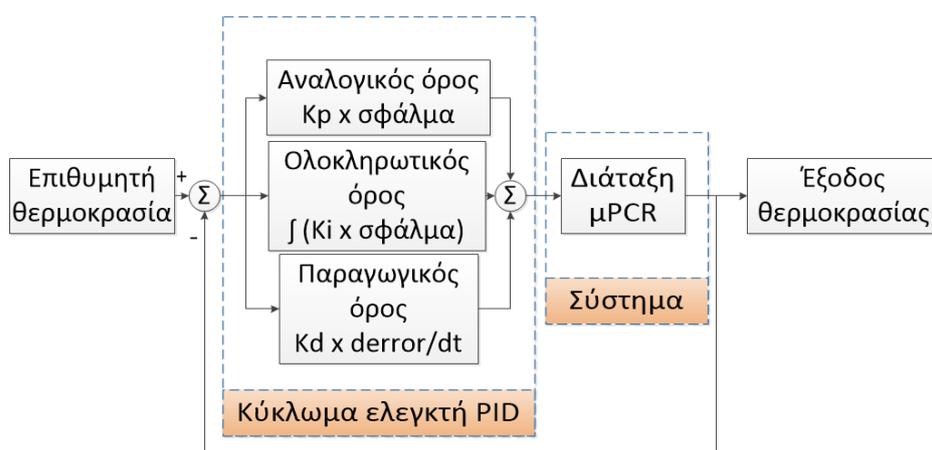
Η θερμοχωρητικότητα και η θερμική αγωγιμότητα του νερού είναι συναρτήσεις της θερμοκρασίας και προέρχονται από τη βάση δεδομένων του Comsol.

Πίνακας 2 – Ιδιότητες υλικών (Perry et al. 1999)

Υλικό	Θερμοχωρητικότητα [J/(kgK)]	Πυκνότητα (kg/m ³)	Συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας [W/(mK)]	Συντελεστής θερμικής εκπομπής της επιφάνειας
Χαλκός	$358+0.09623384T \frac{J}{kgK}$	8960	401	0,03
Karton	1090	1420	0,1200	0,78
PDMS	1430	983	0,1511	0,96
PE	2400	950	0,4450	0,92

3.4 Σύστημα αυτομάτου ελέγχου θερμοκρασίας

Ένα τυπικό ηλεκτρονικό κύκλωμα που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της θερμοκρασίας είναι ο αναλογικός-ολοκληρωτικός-παραγωγικός ελεγκτής ρεύματος (PID) (Qiu et al. 2006). Το λογικό διάγραμμα που αναπαριστά τη λειτουργία του φαίνεται στην Εικ. 51. Η είσοδος του κυκλώματος είναι η επιθυμητή θερμοκρασία του ρευστού (δείγμα PCR). Ο ελεγκτής θερμοκρασίας PID πραγματοποιεί την αφαίρεση της επιθυμητής θερμοκρασίας και της τρέχουσας μέσης τιμής της θερμοκρασίας του ρευστού, εξάγοντας το σφάλμα. Το σφάλμα αυτό, το ολοκλήρωμά του, και η παράγωγός του πολλαπλασιάζονται με έναν αναλογικό (K_p), ολοκληρωτικό (K_i), και παραγωγικό (K_d) συντελεστή. Το άθροισμα αυτών των πολλαπλασιασμών καθορίζει την είσοδο ρεύματος στη διάταξη ΣΘ, γνωστό και ως “σύστημα” στα συστήματα αυτοματισμού. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται με μια προκαθορισμένη περίοδο δειγματοληψίας, μέχρι να σταθεροποιηθεί το ρεύμα στην είσοδο του συστήματος και έως ότου το ρευστό φτάσει στην επιθυμητή θερμοκρασία.



Εικόνα 51 – Λογικό διάγραμμα ελεγκτή PID, συνδεδεμένος με το σύστημα

Στην παρούσα εργασία, το σύστημα είναι το μοντέλο που έχει περιγραφεί στις προηγούμενες δύο ενότητες, και ο ελεγκτής θερμοκρασίας πραγματοποιείται από την εξίσωση

$$\mathbf{J}(t) = K_p e(t) + K_I \int_0^t e(t) d\tau + K_D \frac{d}{dt} e(t) \quad (58)$$

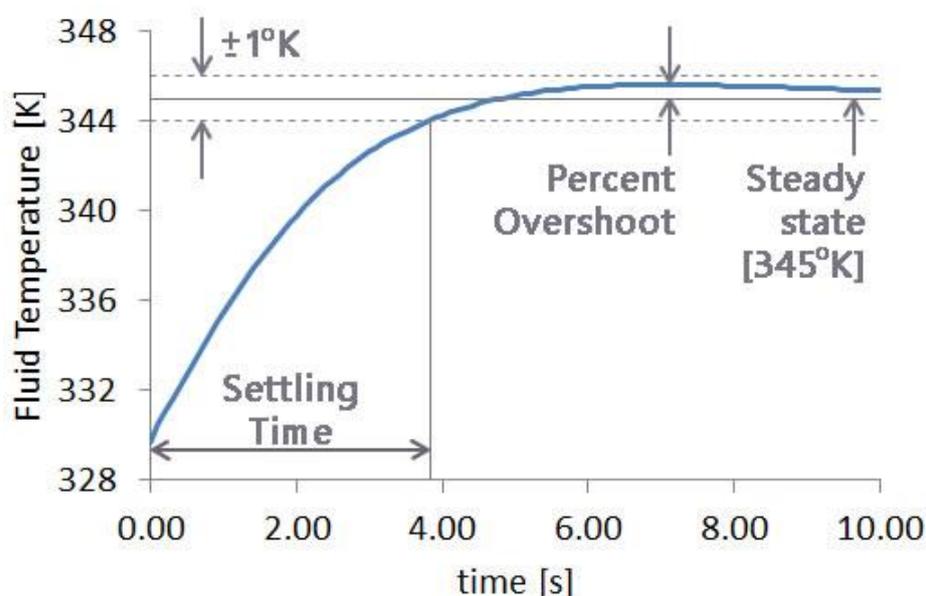
όπου το \mathbf{J} είναι η ομοιόμορφη πυκνότητα ρεύματος που εφαρμόζεται στην «είσοδο» των θερμικών αντιστάσεων.

Η ταυτόχρονη επίλυση και των δυο προβλημάτων, το πρώτο με Comsol και το δεύτερο με κώδικα Matlab (MathWorks), είναι μια ρεαλιστικώς ολοκληρωμένη προσομοίωση του υπό ανάλυση συστήματος. Ο κώδικας Matlab υπολογίζει την είσοδο του ρεύματος στις θερμικές αντιστάσεις και το μοντέλο που περιγράφηκε στις προηγούμενες δύο ενότητες υπολογίζει την ταχύτητα του ρευστού και την πίεση, τη θερμοκρασία και τις συγκεντρώσεις των ειδών. Αυτή η σύζευξη του ελεγκτή θερμοκρασίας με το μοντέλο μPCR απαιτείται μόνο για την διάταξη ΣΘ λόγω επαναλαμβανόμενης μετάβασης των επιθυμητών θερμοκρασιών των θερμικών αντιστάσεων, σύμφωνα με το πρωτόκολλο PCR. Αυτή η διαδικασία δεν είναι απαραίτητη για την προσομοίωση της διάταξης μPCR ΣΡ, δεδομένου ότι οι τρεις θερμικές αντιστάσεις κάτω από τη διάταξη φτάνουν στις θερμοκρασίες αποδιάταξης, υβριδισμού και επιμήκυνσης μόνο μια φορά και παραμένουν σε αυτές μέχρι την ολοκλήρωση της λειτουργίας. Για τη διάταξη ΣΘ, οι εξισώσεις λύνονται για ένα χρονικό διάστημα 100 ms (περίοδος δειγματοληψίας), θέτοντας ως είσοδο στο σύστημα την πυκνότητα ρεύματος από την Εξ. -58-. Οι υπολογισμοί αυτοί επαναλαμβάνονται μέχρις ότου η θερμοκρασία του ρευστού φτάσει στα προκαθορισμένα επίπεδα θερμοκρασίας του πρωτόκολλου της PCR. Υπάρχει μια χρονική περίοδος κατά την οποία ο ελεγκτής απενεργοποιείται. Αυτή η χρονική περίοδος ξεκινάει όταν αλλάζει η επιθυμητή θερμοκρασία από αυτή της αποδιάταξης (95°C) προς αυτή του υβριδισμού (55°C). Η απώλεια θερμότητας προς το περιβάλλον ψύχει τις διατάξεις, και ο ελεγκτής θερμοκρασίας λειτουργεί ξανά όταν το ρευστό φτάσει στη θερμοκρασία του υβριδισμού. Η ρύθμιση των παραμέτρων K_p , K_I και K_D είναι απαραίτητα για την σταθερότητα και τη βέλτιστη συμπεριφορά του συστήματος (Dittmar et al. 2012).

Η βελτιστοποίηση (manual tuning) των παραμέτρων του ελεγκτή PID, που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της απόδοσης της διάταξης μPCR ΣΘ, περιελάμβανε μια σειρά από προσομοιώσεις δοκιμής και σφάλματος σε μεταβατική κατάσταση. Οι προσομοιώσεις αυτές περιελάμβαναν επίλυση μόνο των μοντέλων θέρμανσης μέσω φαινομένου Joule και μεταφοράς θερμότητας σε στερεά και ρευστό, με την παρουσία ελεγκτή θερμοκρασίας.

Για $t=0$ τέθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος όλη η διάταξη μPCR ΣΘ, ενώ στις αντιστάσεις εφαρμόστηκε μηδενικό ρεύμα. Ο σκοπός αυτών των προσομοιώσεων ήταν η εύρεση των βέλτιστων τιμών των παραμέτρων του ελεγκτή PID (K_p , K_I και K_D) προκειμένου να επιτευχθεί γρήγορη και χωρίς ταλαντώσεις στην απόκριση της μέσης θερμοκρασίας ρευστού στους 345 K (Εικ. 52). Στην αρχή τίθενται μηδενικές οι δύο παράμετροι K_I και K_D ενώ η παράμετρος K_p αυξάνεται έως ότου η απόκριση του συστήματος αρχίζει να ταλαντώνεται: Η παράμετρος K_p τίθεται στο μισό αυτής της τιμής. Ωστόσο η επιθυμητή θερμοκρασία δεν επιτυγχάνεται. Προκειμένου να αντισταθμιστεί αυτή η διαφορά αυξάνεται σταδιακά το K_I . Τέλος, για μια γρήγορη απόκριση αυξάνεται το K_D μέχρις ότου ο χρόνος απόκρισης παύει να ελαττώνεται. Η χρονική διάρκεια στην οποία η μέση θερμοκρασία του ρευστού φτάνει την επιθυμητή λέγεται χρόνος αποκατάστασης (settling

time). Αυτή η σειρά προσομοιώσεων εφαρμόζεται για συντελεστές θερμότητας 5 και 10 W/(m²K), οδηγώντας σε ένα συνδυασμό βέλτιστων τιμών K_p, K_i και K_d. Αυτές οι τιμές, το ποσοστό υπέρβασης της επιθυμητής θερμοκρασίας (overshoot) καθώς και οι χρόνοι αποκατάστασης παρουσιάζονται στον Πιν. 3. Το κατώφλι εντός του οποίου θεωρείται ότι η επιθυμητή θερμοκρασία έχει επιτευχθεί θεωρείται ίσο με ±1K.



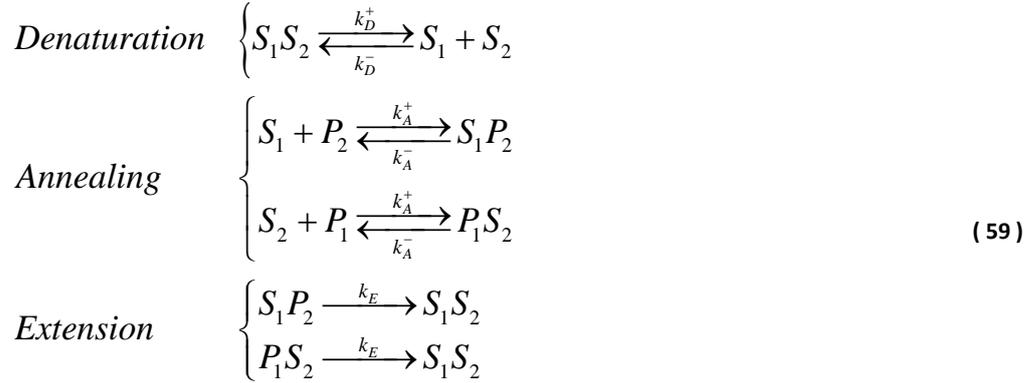
Εικόνα 52 – Επίδοση του ελεγκτή θερμοκρασίας PID στους 345 K; Χρόνος αποκατάστασης (settling time) και ποσοστό υπέρβασης (overshoot percentage).

Πίνακας 3 – Παράμετροι και επιδόσεις του ελεγκτή θερμοκρασίας PID.

Προδιαγραφές ελεγκτή	Για h=5W/(m ² K)	Για h=10W/(m ² K)
K _p	0,1000	0,1000
K _i	0,0400	0,0320
K _d	0,0040	0,0045
95 K settling time	4,2 s	3,8 s
Διάρκεια που ο ελεγκτής είναι ανενεργός	16,2 s	10,9 s
55 K settling time	6,9 s	6,0 s
72 K settling time	4,2 s	3,8 s
95 K overshoot	1,6%	1,6%
55 K overshoot	0,6%	0,8%
72 K overshoot	3,8%	3,4%

3.5 Κινητικές PCR

Η κινητική της αντίδρασης PCR χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ενίσχυσης του DNA στις διατάξεις μPCR. Η σύνθεση, η εκτίμηση των κινητικών παραμέτρων και η εφαρμογή των κινητικών των PCR, για την αξιολόγηση της απόδοσης ενίσχυσης DNA, έχουν αποτελέσει αντικείμενο αρκετών προηγούμενων εργασιών (Athavale et al. 2001; Hunicke-Smith 1997; Li et al. 2012; Mehra and Hu 2005; Priye et al. 2013; Wang et al. 2007). Η κινητική των αντιδράσεων που χρησιμοποιείται στην εργασία αυτή περιγράφεται λεπτομερώς στην εργασία του Hunicke-Smith (Hunicke-Smith 1997). Ακολουθούν οι αντιδράσεις για τα τρία στάδια της PCR δηλαδή τα στάδια αποδιάταξης (denaturation), υβριδισμού (annealing) και επιμήκυνσης (extension):



Το $S_1 S_2$ αναπαριστά το δίκλωνο DNA (dsDNA), το S_1 και S_2 τα μονόκλωνά του, το P_1 και P_2 τους ευθείς και αντίστροφους εκκινητές, και το $S_1 P_2$ και $P_1 S_2$ το σύμπλεγμα εκκινητή-μονόκλωνου DNA. Ο πίνακας 4 περιέχει τους συντελεστές διάχυσης όλων των ειδών (Wang et al. 2007). Οι σταθερές ρυθμού της αντίδρασης προέρχονται από τις εξισώσεις του Hunicke-Smith (Hunicke-Smith 1997) και την έρευνα των Wang et al. (Wang et al. 2007):

$$k_D^+(T) = \frac{k_0^+ \left(1 + \tanh \left[\frac{T - 88}{5} \right] \right)}{2} \tag{60}$$

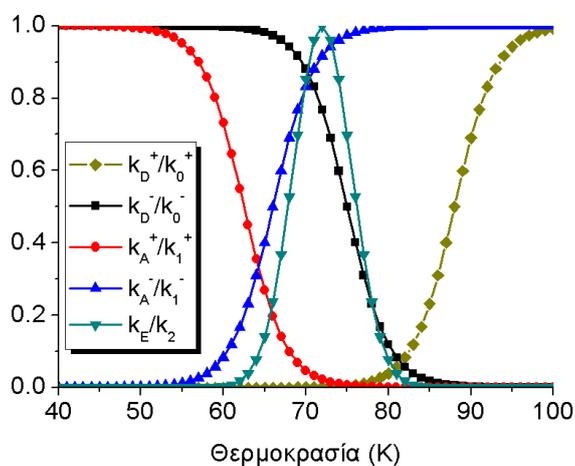
$$k_D^-(T) = \frac{k_0^- \left(1 + \tanh \left[\frac{-(T - 75)}{5} \right] \right)}{2} \tag{61}$$

$$k_A^+(T) = \frac{k_1^+ \left(1 + \tanh \left[\frac{-(T - 62.5)}{5} \right] \right)}{2} \tag{62}$$

$$k_A^-(T) = \frac{k_1^- \left(1 + \tanh \left[\frac{T - 66}{5} \right] \right)}{2} \tag{63}$$

$$k_E(T) = k_2 \exp \left(- \left[\frac{T - 72}{5} \right]^2 \right) \tag{64}$$

Το T είναι η θερμοκρασία του ρευστού σε $^{\circ}\text{C}$, και τα k_0^+ , k_0^- , k_1^+ , k_1^- και k_2 είναι ίσα με (Wang et al. 2007) $12,5 \text{ s}^{-1}$, $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, 10^{-4} s^{-1} , και $0,32 \text{ s}^{-1}$, αντίστοιχα. Η Εικ. 53 δείχνει την εξάρτηση των σταθερών ρυθμού αντίδρασης με τη θερμοκρασία.



Εικόνα 53 – Κανονικοποιημένες σταθερές ρυθμού αντίδρασης σε σχέση με τη θερμοκρασία του ρευστού

Πίνακας 4 – Αρχικές συγκεντρώσεις και συντελεστές διάχυσης των ειδών του δείγματος PCR (Wang et al. 2007).

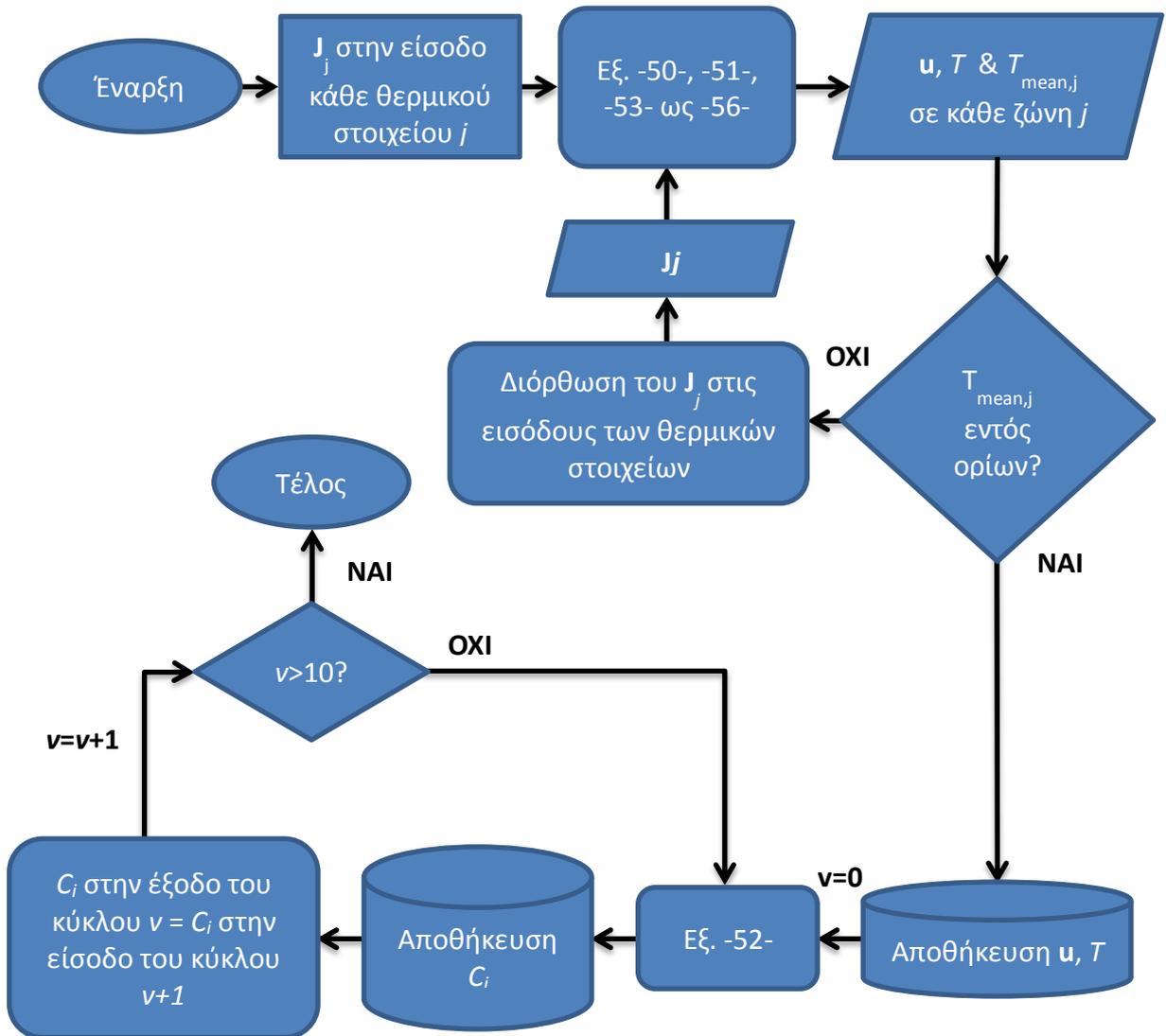
Είδη	Αρχική συγκέντρωση [mol/m ³]	Συντελεστής διάχυσης [m ² /s]
S_1 & S_2	0	10^{-10}
P_1 & P_2	3×10^{-7}	10^{-9}
S_1P_2 & P_1S_2	0	10^{-10}
S_1S_2	$5,71 \times 10^{-12}$	10^{-10}

Θα πρέπει να σημειωθεί η παρακάτω παρατήρηση για την κινητική που χρησιμοποιείται σε αυτή την εργασία. Αν το ένζυμο που χρησιμοποιείται για την ενίσχυση έχει ονομαστική απόδοση x bp/s, απαιτείται ένα στάδιο επιμήκυνσης ίσο με y/x s για τον κύκλο θερμοκρασίας, όπου y είναι το μήκος (σε bp) του τμήματος του DNA που πρόκειται να ενισχυθεί. Ωστόσο, αυτή η ονομαστική απόδοση αφορά μεγαλύτερους όγκους διατάξεων, όπου χρόνος για τη θερμική ισορροπία είναι απαραίτητος (Hunicke-Smith 1997). Σε μια διάταξη μPCR, ο χρόνος που απαιτείται για αποδοτική επιμήκυνση μπορεί να μειωθεί από y/x σε $y/(6x)$ s (Hunicke-Smith 1997). Σε αυτή την εργασία δοκιμάζονται δυο πρωτόκολλα PCR, 3s:4.2s:6.2s και 1.8s:2.5s:3.7s (χρόνοι για τα στάδια αποδιάταξης, υβριδισμού, και επιμήκυνσης, αντίστοιχα). Συνεπώς, η κινητική που χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία ισχύει για τις περιπτώσεις όπου $y/(6x) \leq 3,7$ s.

3.6 Διάγραμμα ροής της προσομοίωσης

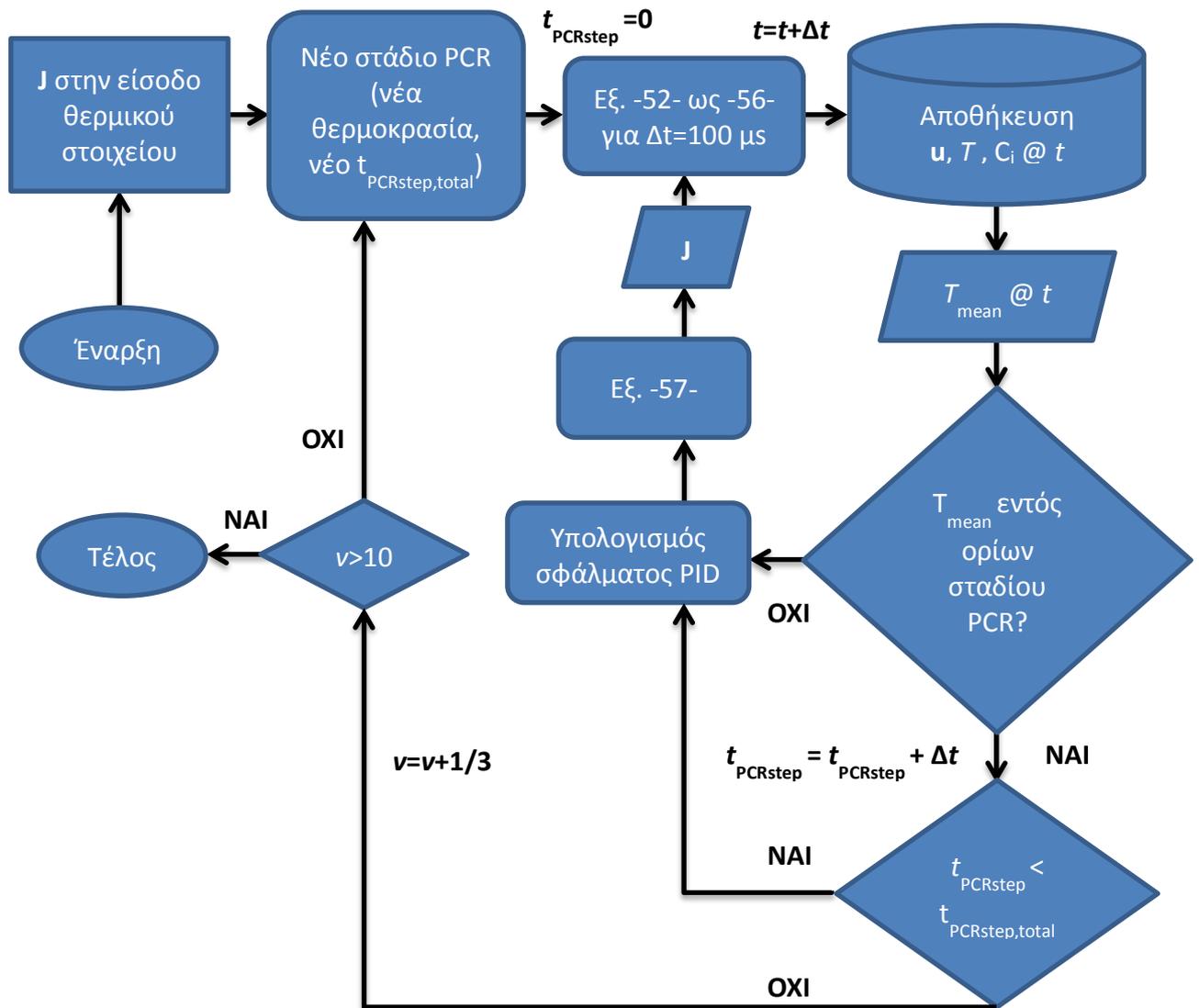
Το διάγραμμα ροής της προσομοίωσης και για τις δύο διατάξεις μPCR παρουσιάζεται στις εικόνες 54 και 55. Για τη διάταξη ΣΡ (Εικ. 54) υπολογίζονται, σε μόνιμη κατάσταση, μόνο μια

φορά οι πυκνότητες ρεύματος στα θερμικά στοιχεία, η θερμοκρασία και τα προφίλ ταχύτητας σε μια μοναδιαία κυψελίδα, μέσω ενός αλγόριθμου βελτιστοποίησης για εύρεση των κατάλληλων ρευμάτων στα θερμικά στοιχεία. Ο αλγόριθμος τερματίζεται όταν η μέση θερμοκρασία του ρευστού σε κάθε ζώνη είναι ίση με την επιθυμητή. Στη συνέχεια εξάγονται επαναληπτικά τα προφίλ συγκέντρωσης για κάθε ένα από τους 10 κύκλους της PCR, διαδοχικά, εισάγοντας τα προφίλ συγκέντρωσης της εξόδου ενός κύκλου στην είσοδο του επόμενου.



Εικόνα 54 – Διάγραμμα ροής επίλυσης για τη διάταξη ΣΡ

Για τη διάταξη ΣΘ (Εικ. 55) επιλύεται, σε μεταβατική κατάσταση, η λειτουργία του ελεγκτή θερμοκρασίας μαζί με όλες τις εξισώσεις του μοντέλου (βλ. παράγραφο 3.2), κατά τη διάρκεια όλης της διαδικασίας της PCR. Ο κώδικας Matlab παρουσιάζεται στο παράρτημα Β.



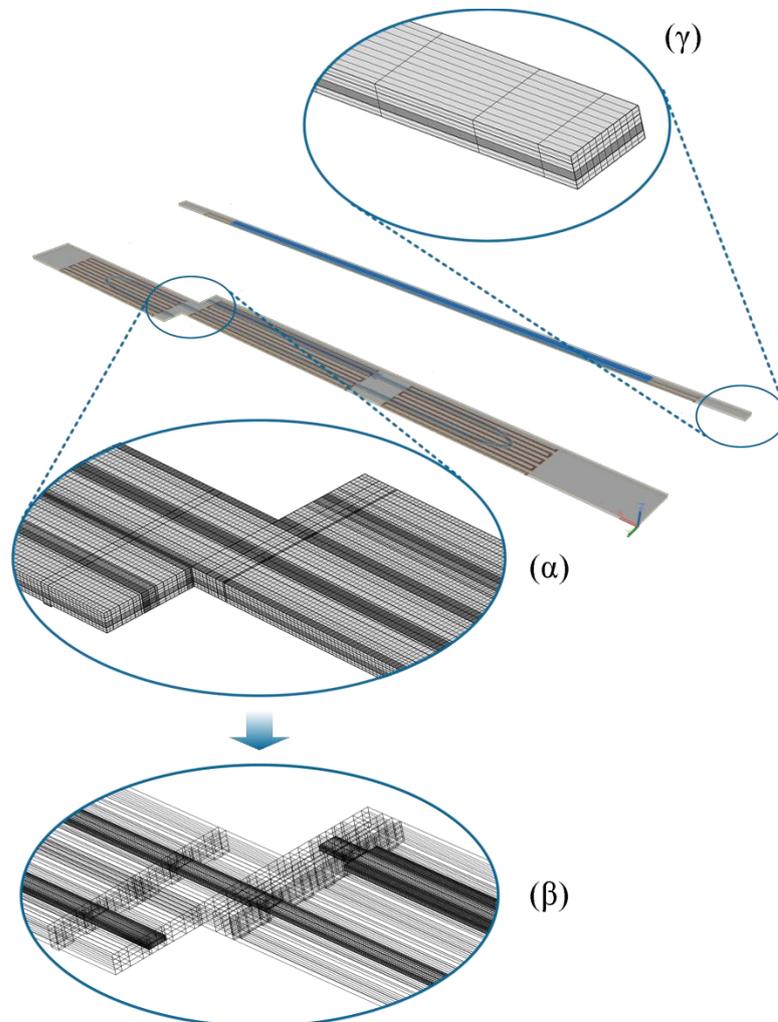
Εικόνα 55 – Διάγραμμα ροής επίλυσης για τη διάταξη ΣΘ

3.7 Υπολογιστική επίλυση μοντέλων

Η αριθμητική επίλυση των υπό χρήση μοντέλων γίνεται με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων και υλοποιείται με τον εμπορικό κώδικα Comsol (COMSOL AB, Σουηδία). Η αριθμητική λύση ενός υπολογιστικού προβλήματος εξαρτάται από την πυκνωση του πλέγματος που χρησιμοποιείται. Όσο πυκνώνει το πλέγμα τόσο η λύση πλησιάζει στην πραγματική. Όμως από ένα βαθμό πυκνωσης και πλέον η λύση αλλάζει ελάχιστα ώστε να θεωρείται σταθερή. Όταν λοιπόν, βρεθεί η κατάλληλη πυκνωση πέρα από την οποία οποιαδήποτε επιπλέον πυκνωση δεν επιφέρει αλλαγές στη λύση, δηλαδή η λύση γίνεται ανεξάρτητη του θεωρούμενου πλέγματος.

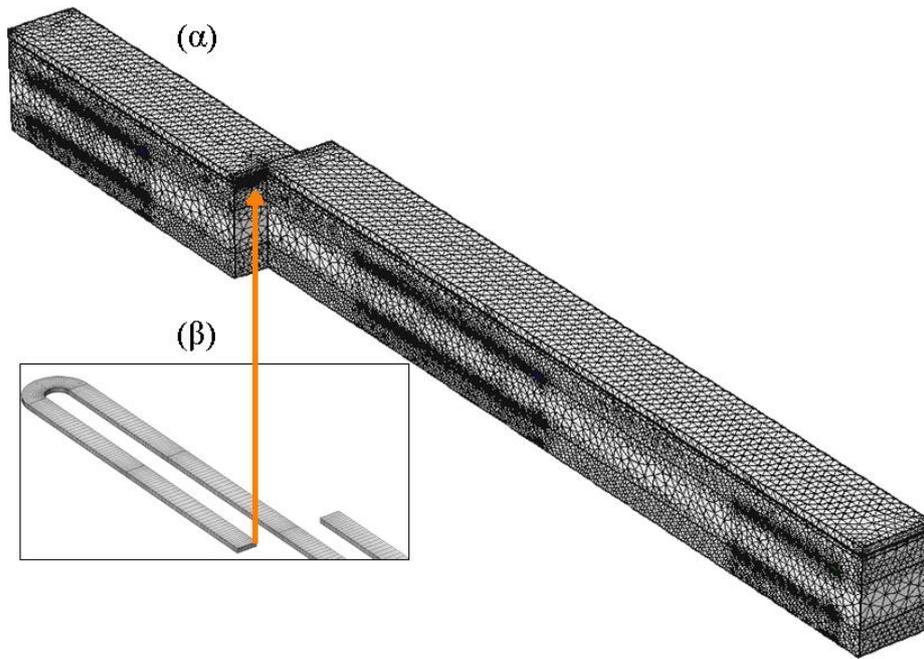
Στη διάταξη ΣΡ, όπου τα μοντέλα λύνονται στη μόνιμη κατάσταση, για την ανεξαρτησία της λύσης από το πλέγμα για το πεδίο ταχύτητας, πίεσης και θερμοκρασίας χρειάστηκαν περίπου 2 εκατομμύρια κελιά (Εικ. 56α), ενώ για τις εξισώσεις της διατήρησης της μάζας των ειδών περίπου 280 χιλιάδες κελιά (Εικ. 56β).

Στη διάταξη ΣΘ, όπου τα μοντέλα λύνονται στη μεταβατική κατάσταση, για την ανεξαρτησία πλέγματος από τη λύση για το πεδίο θερμοκρασίας και των κλασμάτων μάζας των ειδών χρησιμοποιήθηκαν περίπου 10 χιλιάδες κελιά (Εικ. 56γ). Τέλος, μόνο για τη διάταξη ΣΘ, η λύση των μοντέλων στη μεταβατική κατάσταση γίνεται σε συνδυασμό με κώδικα που αναπτύχθηκε στο υπολογιστικό πακέτο Matlab (MathWorks) ο οποίος προσομοιώνει τη λειτουργία του αυτομάτου ελεγκτή θερμοκρασίας PID.



Εικόνα 56 – Πλέγμα διάταξης ΣΡ για επίλυση (α) ροής ρευστού, μεταφοράς θερμότητας στα ρευστά και στερεά, Joule heating και (β) διατήρησης μάζας ειδών με κινητική PCR. (β) Πλέγμα διάταξης ΣΘ.

Για τη διάταξη ΣΡ μεγαλύτερου πάχους τα μοντέλα ΣΡ λύνεται στη μόνιμη κατάσταση. Για την ανεξαρτησία της λύσης από το πλέγμα για το πεδίο ταχύτητας, πίεσης και θερμοκρασίας χρειάστηκαν περίπου 1,8 εκατομμύρια κελιά (Εικ. 57).



Εικόνα 57 – (α) Πλέγμα συνολικής διάταξης ΣΡ μεγαλύτερου πάχους. (β) Πλέγμα μικροκαναλιού εντός της συνολικής διάταξης ΣΡ μεγαλύτερου πάχους

4 Αποτελέσματα

4.1 Εισαγωγή

Ο σκοπός της εργασίας είναι μια λεπτομερής σύγκριση δύο διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ, κατασκευασμένων σε λεπτά πολυμερικά υποστρώματα με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις. Η σύγκριση γίνεται σε όρους κατανάλωσης ενέργειας, διάρκειας λειτουργίας και ενίσχυσης DNA, μέσω υπολογιστικής μελέτης. Και για τις δυο διατάξεις οι διαστάσεις των μικροκαναλιών όπως επίσης και οι αποστάσεις τους από τις θερμικές αντιστάσεις ορίζονται από τη στοιβάδα υλικών και τις διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στην τεχνολογία εύκαμπτων τυπωμένων κυκλωμάτων (FPC).

Πέρα από τη σύγκριση των δύο τύπων διατάξεων μPCR με την τεχνολογία FPC στην παρούσα εργασία γίνονται υπολογισμοί για το σχεδιασμό μίας διάταξης μPCR ΣΡ που κατασκευάζεται με τεχνολογία τυπωμένων κυκλωμάτων (PCB). Η χρήση της τεχνολογίας PCB αντί της FPC είναι προτιμητέα σε περιπτώσεις όπου υπάρχει ανάγκη για μικρό αποτύπωμα της μικρορευστονικής διάταξης (και άρα πολλά επίπεδα χαλκού που θα αυξήσουν την αντίσταση των θερμικών στοιχείων), λόγω έλλειψης χώρου σε μικροεργαστήριο σε ψηφίδα που ολοκληρώνει τη διάταξη.

4.2 Σύγκριση διατάξεων συνεχούς ροής και στατικού θαλάμου

Για μια αντικειμενική σύγκριση όσον αφορά την κατανάλωση ενέργειας, τον απαιτούμενο χρόνο, και την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του DNA, οι υπολογισμοί εκτελούνται κάτω από τις ακόλουθες προϋποθέσεις: α) Η ίδια στοιβάδα υλικών θεωρείται και για τις δύο διατάξεις (Εικ. 48ε). β) Τα δείγματα PCR που πρόκειται να ενισχυθούν έχουν τον ίδιο όγκο 5,3 μL και την ίδια αρχική συγκέντρωση (Πίν. 4). γ) Η ίδια κινητική PCR, το ίδιο πρωτόκολλο PCR, και ο ίδιος αριθμός κύκλων θεωρούνται και για τις δύο διατάξεις. Τα επιλεγμένα πρωτόκολλα PCR, δηλαδή 3s: 4,2s: 6,2s και 1,8s: 2,5S: 3,7s (για αποδιάταξη, υβριδισμό, και επιμήκυνση αντιστοίχως) υπαγορεύονται από i) τις σχετικές αναλογίες των όγκων στα μικροκανάλια της διάταξης ΣΡ και ii) τις προδιαγραφές για την ομοιομορφία της θερμοκρασίας στη διάταξη ΣΡ. Παρόλο που οι συμβατικές διατάξεις PCR απαιτούν 25-35 κύκλους, για να επιταχυνθούν οι υπολογισμοί, οι συγκρίσεις σε αυτή την εργασία γίνονται για 10 θερμικούς κύκλους, το οποίο είναι αρκετό για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Ο χρόνος που απαιτείται για κάθε διάταξη περιλαμβάνει όχι μόνο το χρόνο για την ενίσχυση ενός δείγματος DNA 5,3 μL, αλλά επίσης και το χρόνο που απαιτείται για την άντληση του δείγματος μέσα και έξω από τις διατάξεις. Η ενέργεια που απαιτείται για την άντληση δεν λαμβάνεται υπόψη. Ούτε ο χρόνος και η ενέργεια που απαιτείται για την προθέρμανση και την τελική επιμήκυνση του δείγματος της PCR λαμβάνονται υπόψη.

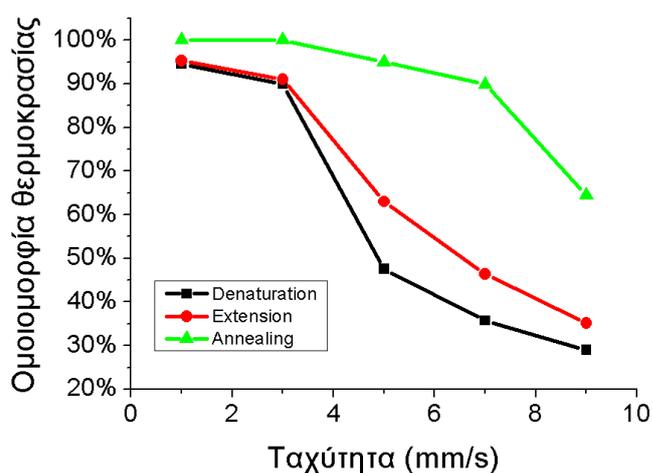
Τέλος, τόσο στη μελέτη της διάταξης ΣΡ όσο και της ΣΘ, θεωρούνται δύο τιμές για το συντελεστή μεταφοράς θερμότητας (h), 5 και 10 W / (m²K), προκειμένου να ελεγχθεί η ευαισθησία των υπολογισμών σχετικά με τις απώλειες θερμότητας προς το περιβάλλον.

4.2.1 Διάταξη μPCR συνεχούς ροής

Η μοναδιαία κυψελίδα της διάταξης ΣΡ, που παρουσιάζεται στην Εικ. 48γ, παρέχει όγκο ρευστού 0,53 μL, έτσι, 10 θερμικοί κύκλοι αντιστοιχούν σε συνολικό όγκο ρευστού 5,3 μL.

Μια προδιαγραφή για την αποτελεσματική ενίσχυση PCR είναι η ομοιομορφία της θερμοκρασίας σε κάθε μία από τις θερμικές ζώνες. Εκτελούνται προσομοιώσεις με

ταχύτητα εισόδου 1 έως 9 mm / s (0,6 έως 5,4 mL / min), προκειμένου να εντοπιστούν οι αλλαγές στην ομοιομορφία της θερμοκρασίας. Η ομοιομορφία της θερμοκρασίας σε μια ζώνη (π.χ. στη ζώνη αποδιάταξης) ποσοτικοποιείται με το % ποσοστό της ζώνης με τη θερμοκρασία ρευστού εντός του εύρους $\pm 1,5^\circ\text{C}$ από το επιθυμητό. Η Εικ. 58 δείχνει το ποσοστό αυτό για τις τρεις ζώνες σε σχέση με την ταχύτητα εισόδου. Οι ταχύτητες εισόδου 3 και 5 mm / s επιλέγονται για την εκτέλεση των υπολογισμών: Με την πρώτη τιμή εισόδου ταχύτητας, η ομοιομορφία της θερμοκρασίας υπερβαίνει το 90% για όλες τις ζώνες, ενώ με την τελευταία, οι ομοιομορφίες είναι χαμηλότερες, δηλαδή, 48%, 63% και 95%, για την ζώνη αποδιάταξης, επιμήκυνσης και υβριδισμού αντίστοιχα, υποδεικνύοντας την ευαισθησία της ζώνης αποδιάταξης και επιμήκυνσης στην ταχύτητα εισόδου. Δεδομένης της γεωμετρίας και τις διαστάσεις της διάταξης ΣΡ, και της ταχύτητας εισόδου που επιλέγεται, υλοποιείται το πρωτόκολλο PCR 3s:4,2s:6,2s (χρόνοι για αποδιάταξη, υβριδισμό και επιμήκυνση ανά κύκλο) για την πρώτη ταχύτητα (3 mm / s) και 1,8s: 2,5s: 3,7s για τη δεύτερη (5 mm / s).



Εικόνα 58 – Θερμοκρασιακή ομοιομορφία των ζωνών σε σχέση με την ταχύτητα εισόδου στη διάταξη ΣΡ [$h=5\text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$]. Η θερμοκρασιακή ομοιομορφία σε μια ζώνη [π.χ. ζώνη αποδιάταξης (denaturation)] ποσοτικοποιείται από το % ποσοστό της ζώνης με θερμοκρασία ρευστού εντός του εύρους $\pm 1,5^\circ\text{C}$ από το επιθυμητό.

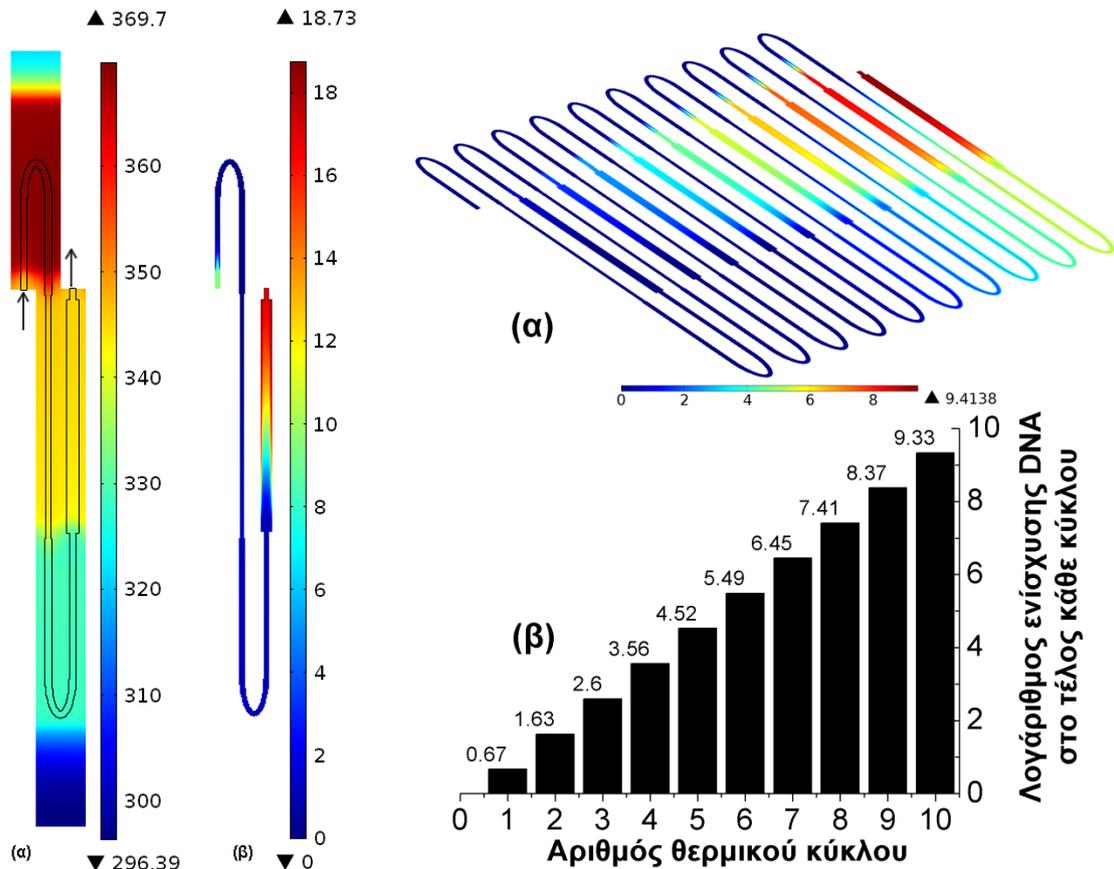
Τα αποτελέσματα των υπολογισμών με μια ταχύτητα εισόδου 3 mm / s (πρωτόκολλο 3s: 4,2s: 6,2s) φαίνονται στις Εικ. 59 και 60. Η θερμοκρασία στο μέσο ύψος του μικροκαναλιού φαίνεται στην Εικ. 59α. Η αμελητέα θερμική επιρροή μεταξύ των ζωνών δηλώνει την ομοιομορφία της θερμοκρασίας, η οποία φαίνεται στην Εικ. 58. Η συγκέντρωση του dsDNA στο μέσο ύψος του μικροκαναλιού δείχνεται στην Εικ. 59β. Είναι προφανές ότι όταν το δείγμα της PCR εισέρχεται στην ζώνη αποδιάταξης, η συγκέντρωση του dsDNA μειώνεται, ενώ αυξάνει στη ζώνη επιμήκυνσης.

Η αναλογία της τοπικής προς την αρχική συγκέντρωση του dsDNA φαίνεται στην Εικ. 60α για 10 θερμικούς κύκλους. Η ενίσχυση του DNA φαίνεται στην Εικ. 60β. Ορίζεται ως ο λόγος της μέσης συγκέντρωσης του dsDNA στην έξοδο ενός θερμικού κύκλου προς την αρχική συγκέντρωση dsDNA. Η ενίσχυση DNA βρέθηκε να είναι περίπου $2^{9.33}=645$ [$h=5\text{W}/(\text{m}^2\text{K})$], ενώ η ιδανική είναι 2^{10} . Αν η ενίσχυση ποσοτικοποιηθεί με τον κανόνα $(1+\lambda)^n$ (Hunicke-Smith 1997) όπου n είναι ο αριθμός των κύκλων και λ είναι η απόδοση των αντιδράσεων της PCR ($0<\lambda<1$), το λ είναι 0,909.

Η απαιτούμενη διάρκεια για την ενίσχυση ενός δείγματος 5,3 μL σε διάταξη μPCR ΣΡ 10 κύκλων είναι ίση περίπου με 353 s. Η τιμή αυτή προέρχεται από τον πολλαπλασιασμό του χρόνου που απαιτείται για 1 κύκλο [0,53 μL / (παροχή = 1,8 μL / min)] επί 20 (10 \times 2 κύκλους, ο επιπλέον πολλαπλασιασμός με 2 λαμβάνει υπόψη το χρόνο που απαιτείται για να έχει ολοκληρωθεί η ενίσχυση όλου του όγκου 5,3 μL). Η συνολική κατανάλωση ενέργειας για μία λειτουργία 10 κύκλων είναι το άθροισμα των ρυθμών παραγωγής θερμότητας (ισχύος) στις θερμικές αντιστάσεις πολλαπλασιασμένα με το συνολικό χρόνο που απαιτείται και υπολογίζεται περίπου 253 J.

Σύμφωνα με την Εικ. 58 η ομοιομορφία της θερμοκρασίας του δείγματος της PCR μειώνεται σημαντικά όταν η ταχύτητα εισόδου ρυθμίζεται στα 5 mm/s. Οι ίδιοι υπολογισμοί εκτελούνται για αυξημένη ταχύτητα εισόδου (5 mm/s) προκειμένου να παρατηρηθεί η επίδραση της μειωμένης ομοιομορφίας θερμοκρασίας στην απόδοση της διάταξης. Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο PCR είναι το 1,8s:2,5s:3,7s. Σε όρους ενίσχυσης DNA, το αποτέλεσμα βρέθηκε να είναι περίπου $2^{8,23}=300$ [$h=5$ W/(m^2K)], δηλαδή λιγότερο από το μισό της ενίσχυσης με το πρώτο πρωτόκολλο PCR (3s:4,2s:6,2s), τονίζοντας τη σημασία της ομοιομορφίας της θερμοκρασίας στην απόδοση της PCR. Η εξάρτηση της ενισχύσεως του DNA από την ταχύτητα εισόδου που προβλέπεται από την προσομοίωση είναι σύμφωνη με τα αποτελέσματα μιας διάταξης μPCR ΣΡ που πραγματοποιήθηκε με επιχάλκωμένο στρώμα πολυϊμιδίου (Moschou et al. 2014). Επιπλέον, το μικρότερο πρωτόκολλο οδήγησε σε μειωμένη διάρκεια, δηλαδή 212 s, και μειωμένη κατανάλωση ενέργειας, =150 J, το οποίο είναι ένα αναμενόμενο αποτέλεσμα θεωρώντας ότι η ογκομετρική παροχή είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση αυτή.

Ο συντελεστής μεταφοράς θερμότητας (h) επηρεάζει την απόδοση της διάταξης. Αναμένεται ότι, στην περίπτωση κατά την οποία ο συντελεστής μεταφοράς θερμότητας αυξάνεται, η συνολική κατανάλωση ενέργειας θα πρέπει επίσης να αυξηθεί λόγω αυξημένων απωλειών θερμότητας προς το περιβάλλον. Ο συντελεστής μεταφοράς θερμότητας δεν αναμένεται να επηρεάσει τη διάρκεια λειτουργίας της PCR σε μία διάταξη ΣΡ. Ωστόσο, μια τέτοια αλλαγή θα επιδεινώσει την ανομοιομορφία της θερμοκρασίας: Ως εκ τούτου, η ενίσχυση dsDNA αναμένεται να μειωθεί. Οι ίδιοι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν με h ίσο με 10 W / (m^2K), όπου η ενίσχυση DNA βρέθηκε να είναι περίπου ίση με $2^{9,30} = 630$ και η συνολική κατανάλωση ενέργειας ίση με 363 J.



Εικόνα 59 – (α) η θερμοκρασία ρευστού/στερεού (Κ), και (β) η συγκέντρωση dsDNA (10-12mol/m³) στο μέσο ύψος του μικροκαναλιού μιας μοναδιαίας κυψελίδας: Τα αποτελέσματα για τη συγκέντρωση του dsDNA αναφέρονται στο δεύτερο θερμικό κύκλο. Η ταχύτητα εισόδου είναι 3 mm/s και το h είναι 5 W/(m²K).

Εικόνα 60 – (α) Ο λογάριθμος της ενίσχυσης του DNA, $\log_2([dsDNA]/[dsDNA]_0)$ στο μέσο ύψος του μικροκαναλιού για 10 θερμικούς κύκλους. Για συγκεντρώσεις DNA κάτω από την αρχική, το χρώμα αντιστοιχεί σε μηδενικές συγκεντρώσεις. (β) Ο λογάριθμος της ενίσχυσης του DNA, $\log_2(\langle [dsDNA] \rangle / [dsDNA]_0)$ σε σχέση με τον αριθμό των θερμικών κύκλων. Το $\langle [dsDNA] \rangle$ είναι η μέση συγκέντρωση dsDNA στην έξοδο του θερμικού κύκλου. Η μέση ταχύτητα εισόδου είναι 3 mm/s και το h είναι 5 W/(m²K).

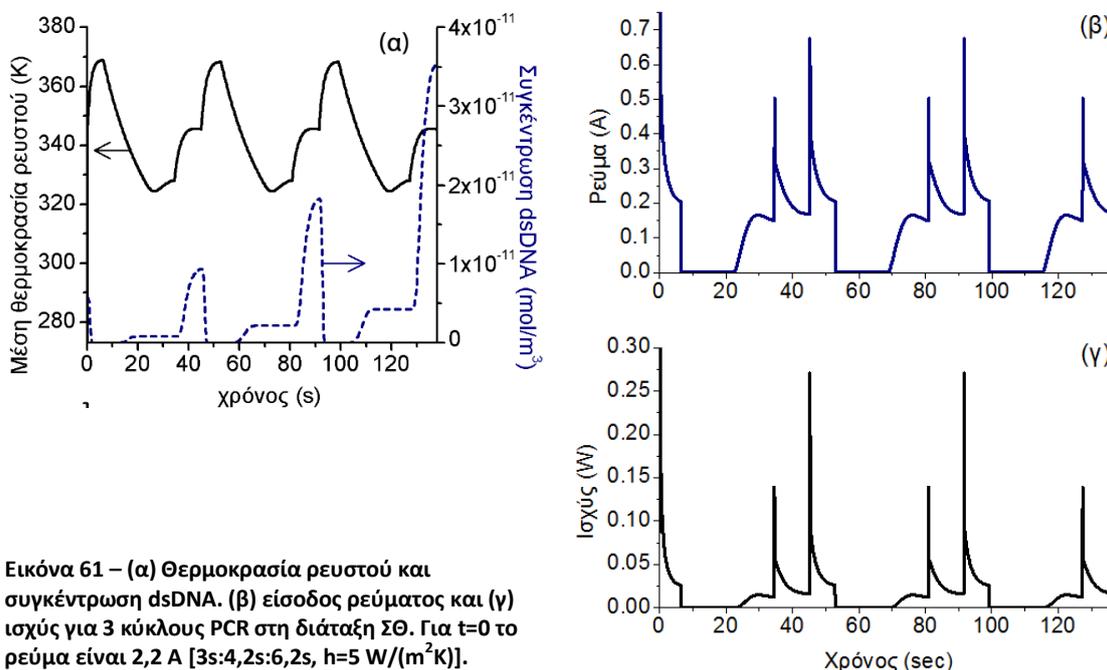
4.2.2 Διάταξη μPCR στατικού θαλάμου

Η μοναδιαία κυψελίδα διάταξης μPCR ΣΘ, που εικονίζεται στο Σχ. 48δ, έχει όγκο ρευστού 0,6 μL και επομένως 8,83 μοναδιαίες κυψελίδες είναι απαραίτητες για συνολικό όγκο ρευστού 5,3 μL, ίδιο με αυτό της διάταξης ΣΡ 10 θερμικών κύκλων.

Η Εικ. 61α δείχνει τη μέση θερμοκρασία του δείγματος PCR και τη διακύμανση της μέσης συγκέντρωσης dsDNA σε σχέση με το χρόνο για 3 θερμικούς κύκλους. Η συγκέντρωση του dsDNA μεγιστοποιείται κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης και ελαχιστοποιείται κατά τη διάρκεια της αποδιάταξης. Οι μεταβάσεις από τη μία ζώνη στην άλλη δεν είναι απότομες και οδηγούνται από την καμπύλη ρεύματος, προερχόμενη από τον ελεγκτή θερμοκρασίας (Εικ. 61β). Η κατανάλωση ισχύος ακολουθεί την καμπύλη ρεύματος (Εικ. 61γ), όπως αναμενόταν. Η κατανάλωση ενέργειας υπολογίζεται από την ολοκλήρωση της καμπύλης ισχύος στην πάροδο του χρόνου: Για 10 κύκλους, υπολογίζεται περίπου 69 J.

Διαπιστώνεται ότι κάθε κύκλος διαρκεί περίπου 46 s, δηλαδή 3 s για την αποδιάταξη, 4,2 s για τον υβριδισμό, και 6,2 s για την επιμήκυνση, συν το χρόνο που απαιτείται για τη μετάβαση από τη μία θερμοκρασία στην άλλη: 23,1 s για τη μετάβαση από τη θερμοκρασία αποδιάταξης στη θερμοκρασία υβριδισμού, 4,2 s από τη θερμοκρασία υβριδισμού σε αυτή της επιμήκυνσης, και 4,2 s από τη θερμοκρασία επιμήκυνσης σε αυτή του υβριδισμού. Έτσι, ο συνολικός χρόνος που απαιτείται για την ενίσχυση του DNA και την ανάκτηση του τελικού προϊόντος DNA βρέθηκε να είναι περίπου 463 s συν το χρόνο που απαιτείται για την άντληση του δείγματος DNA εντός και εκτός του θαλάμου: Ο τελευταίος όρος είναι δύο φορές η αναλογία του συνολικού όγκου των 5,3 mL επί της παροχής που χρησιμοποιείται για την άντληση. Εάν ληφθεί υπόψη μια ρεαλιστική παροχή, δηλαδή, 5 mL / min, ο συνολικός χρόνος είναι περίπου 590 s [3s:4,2s:6,2s, $h = 5 \text{ W} / (\text{m}^2\text{K})$].

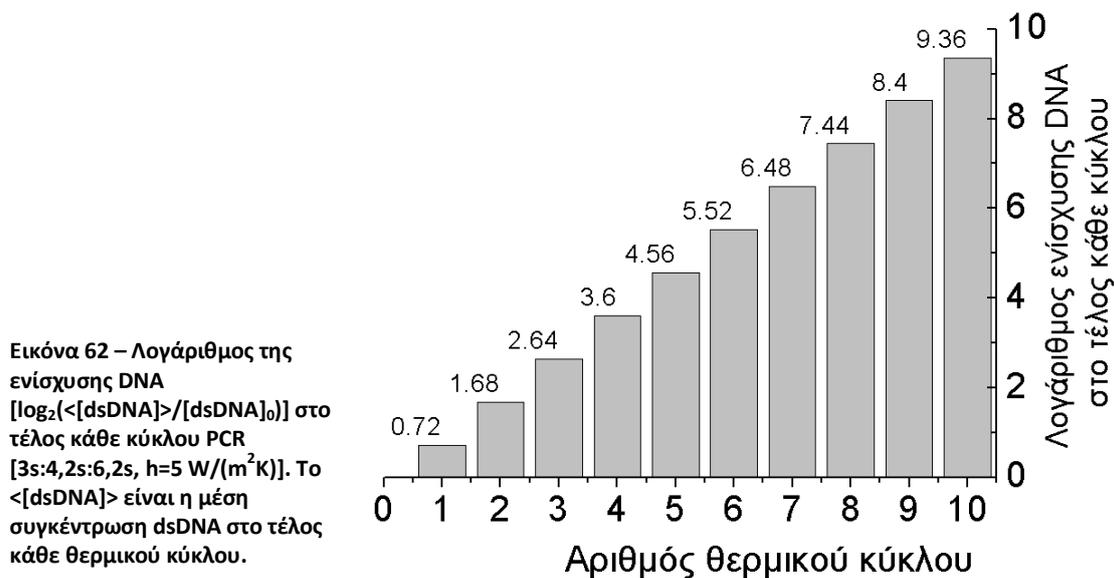
Η Εικ. 62 δείχνει την ενίσχυση του DNA στο τέλος κάθε θερμικού κύκλου. Η ενίσχυση του DNA μετά από 10 κύκλους είναι περίπου $2^{9,36} = 657$ [3s:4,2s:6,2s, $h = 5 \text{ W} / (\text{m}^2\text{K})$]. Ως εκ τούτου, η απόδοση της αντίδρασης PCR, λ , είναι 0,913. Στο δεύτερο πρωτόκολλο (1,8s:2,5s:3,7s) η ενίσχυση DNA βρέθηκε να είναι περίπου 436 [$h = 5 \text{ W} / (\text{m}^2\text{K})$]. Όπως ήταν αναμενόμενο, λόγω του μικρότερου πρωτοκόλλου, τόσο η διάρκεια και η κατανάλωση ενέργειας μειώνονται σε 409 s και 61 J, αντιστοίχως. Αυτό αντιστοιχεί, ανά κύκλο, σε 1,8 s στην αποδιάταξη, 2,5 s στον υβριδισμό, και 3,7 s στην επιμήκυνση, συν το χρόνο που απαιτείται για τη μετάβαση από τη μία ζώνη στην άλλη, που είναι ο ίδιος με εκείνον που παρατηρήθηκε με πρωτόκολλο PCR 3s:4,2s:6,2s και $h = 5 \text{ W} / (\text{m}^2\text{K})$.



Εικόνα 61 – (α) Θερμοκρασία ρευστού και συγκέντρωση dsDNA. (β) είσοδος ρεύματος και (γ) ισχύς για 3 κύκλους PCR στη διάταξη ΣΘ. Για $t=0$ το ρεύμα είναι 2,2 A [3s:4,2s:6,2s, $h=5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$].

Η αύξηση του συντελεστή μεταφοράς θερμότητας θα έχει τα ίδια αποτελέσματα στην ενίσχυση του DNA και την κατανάλωση ενέργειας, όπως στην περίπτωση της διάταξης ΣΡ. Ως εκ τούτου, η ενίσχυση DNA βρέθηκε να είναι περίπου $2^{9,30} = 630$ και η συνολική κατανάλωση ενέργειας είναι 85 J για $h = 10 \text{ W} / (\text{m}^2\text{K})$. Παρ' όλα αυτά, η διάρκεια της λειτουργίας της PCR μπορεί να διαφέρει και εξαρτάται από τις παραμέτρους σχεδιασμού

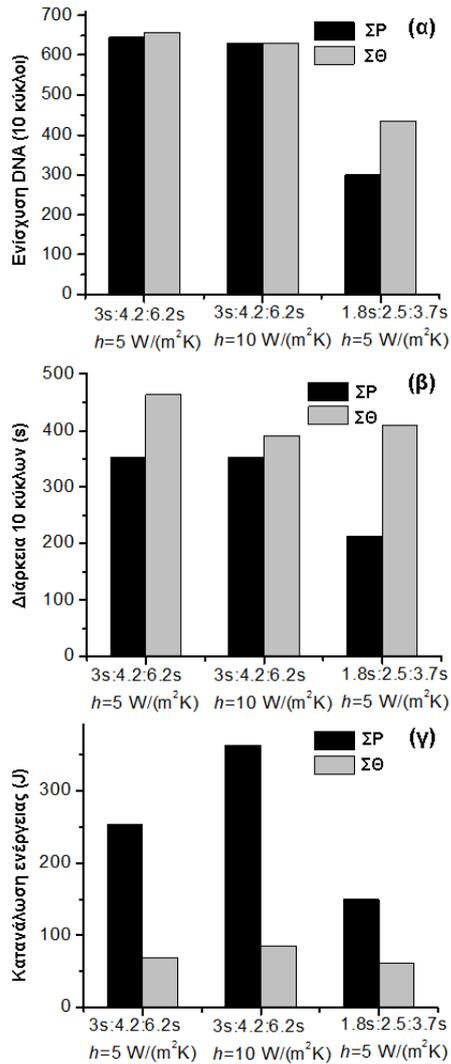
του ελεγκτή θερμοκρασίας. Η διάρκεια της PCR για αυτές τις συνθήκες βρέθηκε να είναι 519 s.



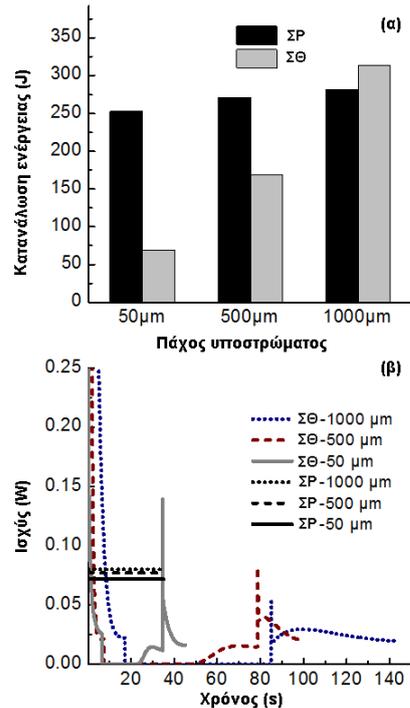
4.2.3 Συγκριτικά αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης των διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ απεικονίζονται στην Εικ. 63 για δύο διαφορετικά πρωτόκολλα PCR και δύο διαφορετικούς συντελεστές μεταφοράς θερμότητας, 5 και 10 W / (m²K). Παρατηρείται ότι ο βαθμός ενίσχυσης του DNA για το πρώτο πρωτόκολλο (3s:4,2s:6,2s) είναι σχεδόν ο ίδιος και για τις δύο διατάξεις (Σχ. 63α). Παρ' όλα αυτά, κατά την υιοθέτηση ταχύτερου πρωτοκόλλου (1,8s:2,5s:3,7s), η διαφορά στην ενίσχυση του DNA μεταξύ των δύο διατάξεων είναι υψηλή: Για τη διάταξη ΣΡ, δεδομένης της χειρότερης ομοιομορφίας θερμοκρασίας σε σχέση με αυτή του ΣΘ, η ενίσχυση είναι $2^{8,23} = 300$, ενώ για αυτή του ΣΘ είναι $2^{8,77} = 436$. Το ταχύτερο πρωτόκολλο μειώνει την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης για τις δύο διατάξεις λόγω του μειωμένου συνολικού χρόνου αντίδρασης. Το κινητικό μοντέλο για μια συγκεκριμένη διαδικασία ενίσχυσης του DNA μπορεί να είναι διαφορετικό από αυτό που υιοθετήθηκε σε αυτή την εργασία. Ωστόσο, με το ίδιο πρωτόκολλο και για τις δύο διατάξεις, το συμπέρασμα όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης δεν αναμένεται να είναι διαφορετικό από αυτό που προκύπτει από το κινητικό μοντέλο που υιοθετείται.

Ακόμη και χωρίς να ληφθεί υπόψη ο συνολικός χρόνος που απαιτείται για την άντληση του δείγματος DNA μέσα και έξω από τη διάταξη ΣΘ, ο χρόνος που απαιτείται για τη διάταξη ΣΡ είναι μικρότερος από εκείνο της διάταξης ΣΘ λόγω του μεγαλύτερου χρόνου καθυστέρησης που απαιτείται για τη μετάβαση από τη μία ζώνη στην άλλη (Εικ. 63β). Η υστέρηση αυτή ενισχύεται από το χαμηλό φυσικό ρυθμό απώλειας θερμότητας στο περιβάλλον κατά τη διέλευση από τη θερμοκρασία της αποδιάταξης σε αυτή του υβριδισμού.



Εικόνα 63 – (α) Ενίσχυση DNA, (β) διάρκεια λειτουργίας, και (γ) κατανάλωση ενέργειας για 10 κύκλους σε σχέση με το πρωτόκολλο (3s:4,2s:6,2s ή 1.8s:2,5s:3,7s), το συντελεστή μεταφοράς θερμότητας [$h=5$ ή $10 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$], και τον τύπο της διάταξης μPCR (ΣP ή ΣΘ).



Εικόνα 64 – (α) Κατανάλωση ενέργειας στις διατάξεις ΣP και ΣΘ για διαφορετικά πάχη υποστρώματος. (β) Απαιτήσεις σε ισχύ για 1 κύκλο διάταξης ΣP και ΣΘ για διαφορετικά πάχη υποστρώματος. Το πρωτόκολλο PCR είναι 3s:4,2s:6,2s και ο συντελεστής μεταφοράς θερμότητας είναι $5 \text{ W}/(\text{m}^2\text{K})$. Πραγματοποιούνται ξεχωριστές ρυθμίσεις στις παραμέτρους του ελεγκτή θερμοκρασίας (K_p , K_i και K_D) για κάθε πάχος υποστρώματος ώστε να διασφαλιστεί η βέλτιστη συμπεριφορά του συστήματος σε κάθε περίπτωση διάταξης.

Τέλος, η κατανάλωση ενέργειας της διάταξης ΣΘ είναι σημαντικά χαμηλότερη από 2 έως 4 φορές σε σύγκριση με την διάταξη ΣP για όλες τις περιπτώσεις που μελετήθηκαν (Εικ. 63γ). Αυτό μπορεί να αποδοθεί στις μικρότερες απώλειες θερμότητας προς το περιβάλλον για τη διάταξη ΣP: Η περιοχή σε επαφή με τον περιβάλλοντα χώρο είναι σχεδόν 4,5 φορές μεγαλύτερη για αυτή της ΣP σε σύγκριση με τη διάταξη ΣΘ. Οι συνεχείς απώλειες θερμότητας κατά τη διάρκεια της λειτουργίας της διάταξης ΣP υπερβαίνουν την ενέργεια

που απαιτείται για τη θερμική ανακύκλωση ολόκληρης της διάταξης ΣΘ (υπόστρωμα και δείγμα της PCR).

Λόγω του πολύ λεπτού υποστρώματος (50 μm), η διάταξη ΣΘ έχει μικρή θερμική μάζα και η απόσταση μεταξύ των ολοκληρωμένων θερμικών αντιστάσεων και του δείγματος της PCR είναι μικρή: Τόσο η μικρή θερμική μάζα όσο και η μικρή απόσταση επιτρέπουν τη γρήγορη θερμική ισορροπία στη διάταξη ΣΘ σε σύγκριση με διατάξεις που πραγματοποιούνται σε παχύτερα υποστρώματα. Στην Εικ. 64α απεικονίζεται η επίδραση του πάχους του υποστρώματος επί της κατανάλωσης ενέργειας των δύο διατάξεων ΣΘ και ΣΡ. Όσο το πάχος υποστρώματος αυξάνεται, η κατανάλωση ενέργειας αυξάνεται για τις δύο διατάξεις. Ωστόσο, η αύξηση είναι πιο έντονη για τη διάταξη ΣΘ. Για ένα πάχος υποστρώματος 1000 μm , η κατανάλωση ενέργειας για τη διάταξη ΣΘ υπερβαίνει εκείνη της διάταξης ΣΡ, το οποίο είναι συνεπές με την καθεστηκυία αντίληψη στη βιβλιογραφία.

Καθώς αυξάνεται το πάχος του υποστρώματος, η αύξηση της κατανάλωσης ενέργειας για τις διατάξεις ΣΡ οφείλεται στην αναπόφευκτη αύξηση της θερμοκρασίας στις ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις έτσι ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία στο δείγμα της PCR. Στις διατάξεις ΣΘ, καθώς αυξάνεται το πάχος του υποστρώματος, η απόκριση του συστήματος είναι βραδύτερη. Έτσι, ο χρόνος που απαιτείται για ένα θερμικό κύκλο αυξάνει, όπως μπορεί να φανεί στην Εικ. 64β, όπου οι απαιτήσεις ισχύος συναρτήσει του χρόνου για έναν κύκλο φαίνονται για τις δύο διατάξεις ΣΘ και ΣΡ. Η κατανάλωση ενέργειας υπολογίζεται ολοκληρώνοντας τις καμπύλες της Εικ. 64β στο χρόνο. Η Εικ. 64β υποδεικνύει το λόγο για την μεγαλύτερη κατανάλωση ενέργειας των διατάξεων ΣΡ σε σύγκριση με αυτές ΣΘ σε λεπτά υποστρώματα (50 μm). Ακόμη και αν οι απαιτήσεις σε ισχύ για τη διάταξη ΣΘ υπερβαίνουν εκείνες ΣΡ, κατά τη μετάβαση από τη μια θερμοκρασία στην άλλη (βλ. τις κορυφές στην Εικ. 64β), η διάρκειες αυτών των μεταβάσεων είναι πολύ μικρές. Στις διατάξεις ΣΡ απαιτείται σταθερή κατανάλωση ρεύματος έτσι ώστε να κρατηθούν όλες οι επιθυμητές θερμοκρασίες (95 °C, 72 °C και 55 °C) σε όλη τη διάρκεια της ενίσχυσης.

4.3 Σχεδιασμός διάταξης συνεχούς ροής με μικρότερο αποτύπωμα

Σε πολλές περιπτώσεις κατά τη διαδικασία σχεδίασης μικρορευστονικών διατάξεων παρουσιάζεται πρόβλημα έλλειψης χώρου εντός του οποίου θα εκτείνεται η διάταξη μPCR. Στην περίπτωση που το αποτύπωμα της διάταξης ελαττώνεται, το συνολικό διαθέσιμο μήκος των απαραίτητων για τους θερμικούς κύκλους της PCR αντιστάσεων μικραίνει και, ως εκ τούτου, ελαττώνεται και η συνολική τους αντίσταση. Το πρόβλημα που εμφανίζεται έχοντας μικρή αντίσταση στα θερμικά στοιχεία (< 10 Ω) είναι ότι παύουν να πληρούνται οι προδιαγραφές του υπό χρήση συστήματος αυτομάτου ελέγχου της θερμοκρασίας. Αυτό δικαιολογείται με το γεγονός ότι ένας ελεγκτής θερμοκρασίας, προκειμένου να θερμάνει τα θερμικά του στοιχεία, παρέχει ρεύμα στις αντιστάσεις. Όσο μικρότερες είναι οι τιμές των αντιστάσεων των θερμικών στοιχείων τόσο μεγαλύτερη είναι η πιθανότητα να προκληθεί βραχυκύκλωμα στο ηλεκτρικό κύκλωμα του ελεγκτή. Η λύση στο πρόβλημα αυτό είναι η ολοκλήρωση περισσότερων του ενός επιπέδου χαλκού ώστε να αυξηθεί η συνολική αντίσταση των θερμικών στοιχείων. Η ολοκλήρωση πολλών επιπέδων είναι εφικτή με την τεχνολογία PCB. Η χρήση πολλών επιπέδων χαλκού αυξάνει το πάχος της διάταξης. Επίσης, τα εμπορικά διαθέσιμα, και χαμηλού κόστους, υλικά της τεχνολογίας PCB παρουσιάζουν υψηλή θερμική αγωγιμότητα κατά το επίπεδο της διάταξης (in plane thermal conductivity).

Επομένως ο συνδυασμός της αύξησης του πάχους των διατάξεων και της υψηλής θερμικής αγωγιμότητας οδηγούν σε ένα απαιτητικό πρόβλημα για την επίτευξη θερμοκρασιακής ομοιομορφίας εντός των θερμικών ζωνών της PCR και θερμικής απομόνωσης μεταξύ τους.

Συνεπώς, ο στόχος του σχεδιασμού διάταξης μPCR ΣΡ με μικρό αποτύπωμα σε τεχνολογία PCB αφορά στον υπολογισμό των βέλτιστων αποστάσεων μεταξύ των θερμικών ζωνών (αντιστάσεων) ώστε να επιτευχθεί θερμοκρασιακή ομοιομορφία εντός των ζωνών καθώς και η εύρεση βέλτιστης γεωμετρίας που θα απομονώνει θερμικά τη μία ζώνη από την άλλη.

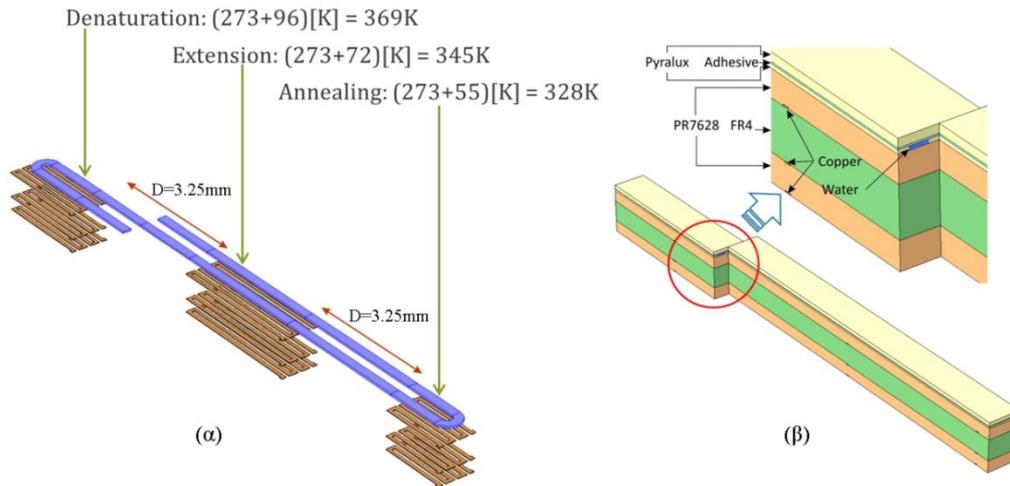
Για την εύρεση της βέλτιστης γεωμετρίας διάταξης ΣΡ σε μικρότερο αποτύπωμα πραγματοποιείται συστηματική μελέτη, μεταβάλλοντας α) τις αποστάσεις μεταξύ των θερμικών ζωνών και β) εισάγοντας διάκενα μεταξύ των ζωνών, βοηθώντας έτσι τη θερμική απομόνωση των ζωνών.

Οι σταθερές συνθήκες κάτω από τις οποίες πραγματοποιείται η μελέτη περιλαμβάνουν παροχή ρευστού στη είσοδο των μικροκαναλιών 0 μL/min (δηλαδή στατικό ρευστό) έως 5 μL/min, συντελεστή μεταφοράς θερμότητας (h) 5 W / (m²K) και πρωτόκολλο PCR 1:1:1. Οι επιθυμητές θερμοκρασίες είναι 369 K, 328 K και 345 K για τις ζώνες αποδιάταξης, υβριδισμού και επιμήκυνσης αντίστοιχα και επιτυγχάνονται βελτιστοποιώντας τις πυκνότητες ρεύματος που ρέουν τις αντιστάσεις. Η θερμική αγωγιμότητα για κάθε υλικό της στοίβας φαίνεται στον πίνακα .

Πίνακας 5 – Θερμική αγωγιμότητα υλικών στοίβας διάταξης μPCR ΣΡ με μικρότερο αποτύπωμα (Εικ. 65β)

Υλικό	Συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας [W/(mK)]
FR4	1.059 κατά x, 1.059 κατά y και 0.343 κατά z
Pyralux	0,1200
Χαλκός	$358+0.09623384T \frac{J}{kgK}$
PR7628	1.059 κατά x, 1.059 κατά y και 0.343 κατά z
Adhesive	0.230

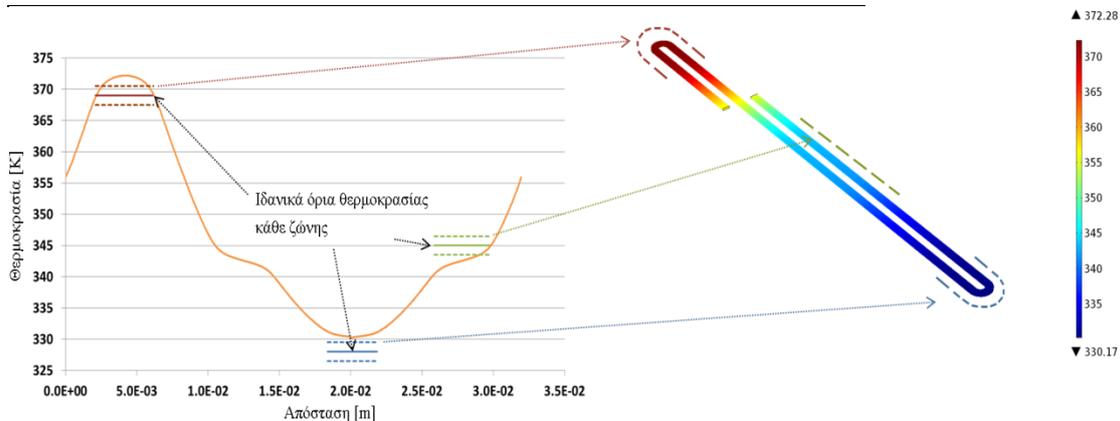
Η αρχική γεωμετρία της διάταξης, στην οποία θα αναζητηθεί η θερμοκρασιακή ομοιομορφία εντός των ζωνών, φαίνεται στην εικόνα 65. Ως θερμοκρασιακή ομοιομορφία ορίζεται (Moschou et al. 2014; Papadopoulos et al. 2015) το ποσοστό του ρευστού που βρίσκεται εντός του ορίου ±1,5 °C από την επιθυμητή θερμοκρασία (Niu et al. 2006). Σε αυτή τη γεωμετρία οι θερμικές αντιστάσεις τοποθετήθηκαν σε ίση απόσταση D=3,25 mm και τα αποτελέσματα μέσης θερμοκρασίας και θερμοκρασιακής ομοιομορφίας σε κάθε ζώνη, καθώς και πυκνότητας ρευμάτων της κάθε αντίστασης, παρουσιάζονται στον πίνακα 6. Στην εικόνα 66 παρουσιάζεται η θερμοκρασία κατά μήκος του μικροκαναλιού, στο μέσο ύψος του, με αρχή την είσοδο και τέλος την έξοδο από αυτό. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι καμία από τις επιθυμητές θερμοκρασίες δεν επιτυγχάνεται.



Εικόνα 65 – Διάταξη ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους. (α) Κανάλια και επίπεδα αντιστάσεων μοναδιαίας κυψελίδας (β) Στοιβία υλικών.

Πίνακας 6 – Αποτελέσματα διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους

	Μέση θερμοκρασία [K]	Πυκνότητα ρεύματος [A/m ²]	Θερμοκρασιακή ομοιομορφία
Αποδιάταξη	371,4	1,09E+07	17,6%
Υβριδισμός	330,6	3,62E+07	0.0%
Επιμήκυνση	342,6	1,17E+08	21.0%



Εικόνα 66 – Αποτελέσματα θερμοκρασίας διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους. Οι διακεκομμένες γραμμές της γραφικής παράστασης οριοθετούν την επιθυμητή θερμοκρασία κατά τη διαδρομή του ρευστού στις αντίστοιχες θερμικές ζώνες.

Δεδομένων των αποτελεσμάτων, κρίνεται απαραίτητο να αναζητηθούν οι βέλτιστες αποστάσεις που πρέπει να έχουν οι θερμικές ζώνες μεταξύ τους προκειμένου να επιτευχθούν οι επιθυμητές θερμοκρασίες, έχοντας θερμοκρασιακή ομοιομορφία πάνω από 80%. Στην περίπτωση που η βελτιστοποίηση των αποστάσεων των θερμικών ζωνών δεν ικανοποιήσει αυτούς τους στόχους, θα μελετηθούν τα αποτελέσματα που δίνει η εισαγωγή διακένων (trenches) μεταξύ των ζωνών, προκειμένου να απομονωθούν καλύτερα οι ζώνες.

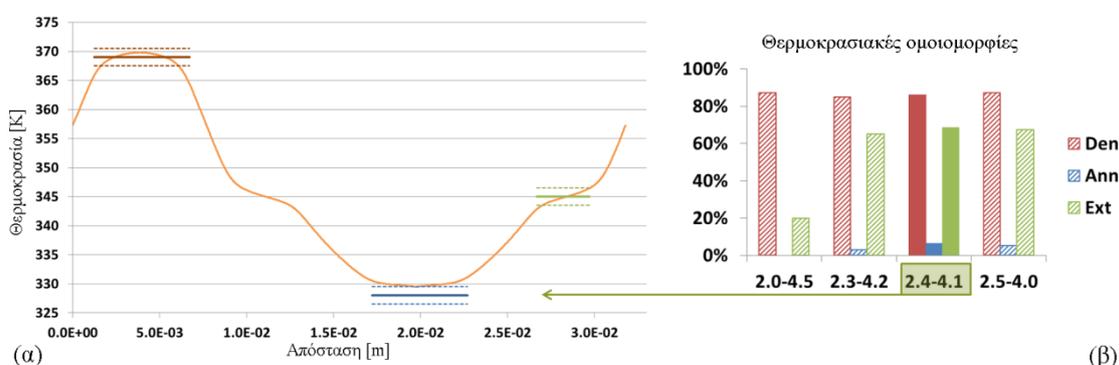
4.3.1 Βελτιστοποίηση αποστάσεων των αντιστάσεων

Οι πρώτοι υπολογισμοί για τη βελτιστοποίηση των αποστάσεων των αντιστάσεων ήταν χρονοβόροι: Ο υπολογισμός για ένα μόνο συνδυασμό αποστάσεων (μεταξύ ζωνών

αποδιάταξης-επιμήκυνσης και υβριδισμού-επιμήκυνσης) απαιτούσε την υλοποίηση ενός εσωτερικού αλγόριθμου αριστοποίησης των ρευμάτων που διαρρέουν τις τρεις αντιστάσεις ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία ρευστού σε κάθε ζώνη. Το πλήθος των βημάτων του αλγόριθμου αριστοποίησης των ρευμάτων ήταν μεγάλο χωρίς μάλιστα ικανοποιείται η επιθυμητή θερμοκρασία σε κάθε ζώνη. Επομένως αποφασίστηκε η απλοποίηση του προβλήματος, εφαρμόζοντας ρεύμα μόνο στην αντίσταση της αποδιάταξης.

Επίσης, στη θερμοκρασία του ρευστού κατά μήκος της πορείας του ρευστού στο κανάλι (Εικ. 66) παρατηρήθηκε ιδιαίτερο πρόβλημα μεταξύ των ζωνών υβριδισμού και επιμήκυνσης. Η μικρή διαδρομή του ρευστού μεταξύ αυτών των ζωνών δεν επιτρέπει στο ρευστό να μεταβεί από θερμοκρασία 328 K έως 345 K. Ως εκ τούτου, πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση των αποστάσεων των θερμικών ζωνών αλλάζοντας την απόσταση των θερμικών στοιχείων της αποδιάταξης και επιμήκυνσης από 2,0 mm έως τα 2,5 mm. Επομένως, κρατώντας σταθερό το αποτύπωμα, η απόσταση των θερμικών στοιχείων της επιμήκυνσης και υβριδισμού αλλάζουν από 4,5 mm έως 4,0 mm.

Τα συνολικά αποτελέσματα όσον αφορά τη θερμοκρασιακή ομοιομορφία εντός των ζωνών αποτυπώνονται στο διάγραμμα 67β. Η βέλτιστη λύση (Εικ. 67α) που προέκυψε είχε απόσταση μεταξύ της ζώνης αποδιάταξης-επιμήκυνσης ίση με $D_{den-ext}=2,4$ mm και επιμήκυνσης-υβριδισμού ίση με $D_{ext-ann}=4,1$ mm. Τα αποτελέσματα είναι καλύτερα σε σχέση με το αρχικό σχέδιο (Εικ. 68), ωστόσο η θερμοκρασία στη ζώνη υβριδισμού είναι ελάχιστα εκτός των ορίων. Έτσι, φαίνεται ότι το αποτύπωμα της διάταξης αυτής δεν επαρκεί για τη σωστή της λειτουργία. Η μελέτη για περαιτέρω βελτίωση θα συνεχίσει στην παράγραφο 4.3.2 με διαμόρφωση διακένων μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών.



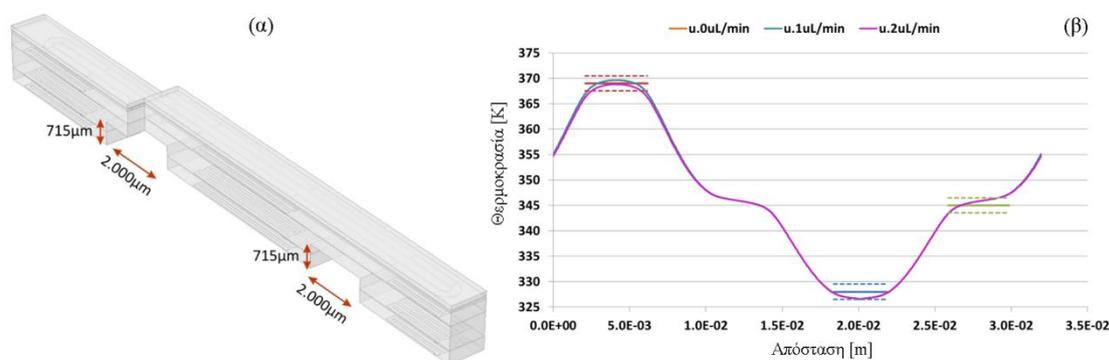
Εικόνα 67 – (α) Θερμοκρασία ρευστού για τη βέλτιστη απόσταση των θερμοκρασιακών ζωνών $D_{den-ext}$ και $D_{ext-ann}$ κατά μήκος του μικροκαναλιού. (β) Θερμοκρασιακή ομοιομορφία ζωνών για διάφορες αποστάσεις $D_{den-ext}$ και $D_{ext-ann}$.

Ωστόσο, το ενδιαφέρον αποτέλεσμα που προκύπτει από αυτή τη μελέτη είναι η πιθανή λειτουργία της διάταξης μPCR ΣΡ με ένα ελαφρά μεγαλύτερο αποτύπωμα παρέχοντας ρεύμα μόνο στο θερμικό στοιχείο της αποδιάταξης, ελαττώνοντας κατά πολύ την κατανάλωση ισχύος. Η πιθανότητα αυτή καθώς και ο ρόλος των δύο ανενεργών θερμικών στοιχείων (κάτω από τις ζώνες του υβριδισμού και επιμήκυνσης) συζητούνται στην ενότητα 4.3.3.

4.3.2 Εισαγωγή διακένων μεταξύ θερμοκρασιακών ζωνών

Η ύπαρξη διακένων μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών μπορεί να απομονώσει θερμικά τις ζώνες της PCR. Επομένως η γεωμετρία διάταξης μPCR ΣΡ, μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους διαμορφώνεται όπως φαίνεται στην εικόνα 68α, με ανάπτυξη διακένων πλάτους 2 mm και ύψους ίσο με το ήμισυ του ύψους της διάταξης. Στην επίλυση βελτιστοποιήθηκαν οι είσοδοι ρεύματος και στις τρεις αντιστάσεις όπως επίσης έγιναν μελέτες για διαφορετικές παροχές ρευστού στην είσοδο των μικροκαναλιών: στάσιμο ρευστό, 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ και 2 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Τα αποτελέσματα, που παρουσιάζονται στον πίνακα 7 και την εικόνα 68β, δείχνουν αρκετά ικανοποιητική θερμοκρασιακή ομοιομορφία και στις τρεις θερμοκρασιακές ζώνες, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί το επιθυμητό πρωτόκολλο της PCR (1:1:1) στη διάταξη αυτή, έχοντας πετύχει τις επιθυμητές θερμοκρασίες, με ποσοστά θερμοκρασιακής ομοιομορφίας μεγαλύτερα από 80% και στις τρεις ζώνες.



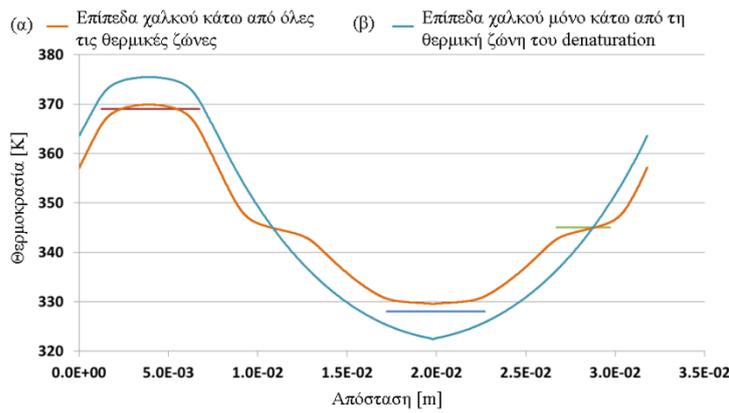
Εικόνα 68 – (α) Γεωμετρία διάταξης ΣΡ μικρού αποτυπώματος, με διάκενα (trenches) μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών. (β) Αποτελέσματα υπολογισμών θερμοκρασίας για τη διάταξη ΣΡ με διάκενα.

Πίνακας 7 – Αποτελέσματα διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους, με διάκενα μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών.

$u=1\mu\text{L}/\text{min}$	Μέση θερμοκρασία [K]	Πυκνότητα ρεύματος [A/m^2]	Θερμοκρασιακή ομοιομορφία
Αποδιάταξη	368,4	1,02E+08	86,6%
Υβριδισμός	326,9	1,19E+04	99,6%
Επιμήκυνση	345,7	6,56E+07	81,7%

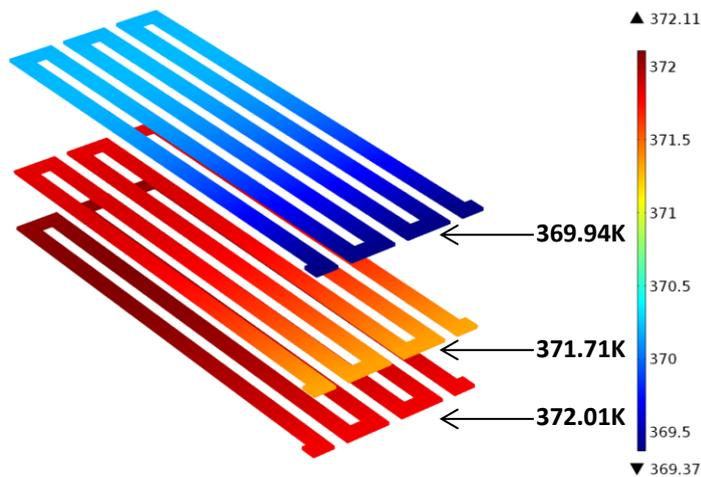
4.3.3 Ο ρόλος και η θερμοκρασία στα μεταλλικά επιπέδων χαλκού

Τα αποτελέσματα βελτιστοποίησης αποστάσεων μεταξύ των ζωνών της μPCR ανέδειξαν την πιθανότητα λειτουργίας της διάταξης με ελαφρά μεγαλύτερο αποτύπωμα παρέχοντας ρεύμα μόνο στο θερμικό στοιχείο της αποδιάταξης, ελαττώνοντας κατά πολύ την κατανάλωση ισχύος (βλ. παράγραφο 4.3.1). Προκειμένου να αναδειχθεί η σημασία των μεταλλικών επιπέδων κάτω από τις ζώνες του υβριδισμού και επιμήκυνσης, πραγματοποιήθηκε μια επιπλέον υπολογιστική μελέτη αφαιρώντας το επίπεδο χαλκού στις αντίστοιχες περιοχές. Από τα αποτελέσματα (Εικ. 69) προκύπτει ότι τα μεταλλικά αυτά επίπεδα, παρόλο που δεν ρέει ρεύμα σε αυτά, είναι απαραίτητα διότι, λόγω της μεγάλης θερμικής αγωγιμότητας του χαλκού, δημιουργούν επίπεδα προφίλ θερμοκρασίας (Εικ. 69α), οδηγώντας σε βελτίωση της ομοιομορφίας της θερμοκρασίας σε κάθε ζώνη



Εικόνα 69 – Θερμοκρασία ρευστού διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους, (α) έχοντας ολοκληρωμένα επίπεδα χαλκού κάτω από όλες τις θερμικές ζώνες και (β) έχοντας ολοκληρωμένα επίπεδα χαλκού μόνο κάτω από τη θερμική ζώνη της αποδιάταξης

Μια επιπλέον χρήσιμη πληροφορία που προκύπτει από την προσομοίωση είναι η κατανομή θερμοκρασιών στο υλικό των θερμικών στοιχείων. Παρατηρείται ότι τα θερμικά στοιχεία μιας θερμικής ζώνης δεν έχουν την ίδια θερμοκρασία σε κάθε ένα από τα επίπεδα ολοκλήρωσης. Για παράδειγμα στα θερμικά στοιχεία της ζώνης αποδιάταξης (Εικ. 70) το εύρος θερμοκρασιών αλλάζει σε ένα εύρος περίπου 2 K, από 369 K μέχρι 372 K. Επομένως η επιθυμητή θερμοκρασία στο ρευστό (368 K) διαφέρει κατά 1 με 3 K από τη θερμοκρασία στις αντιστάσεις.

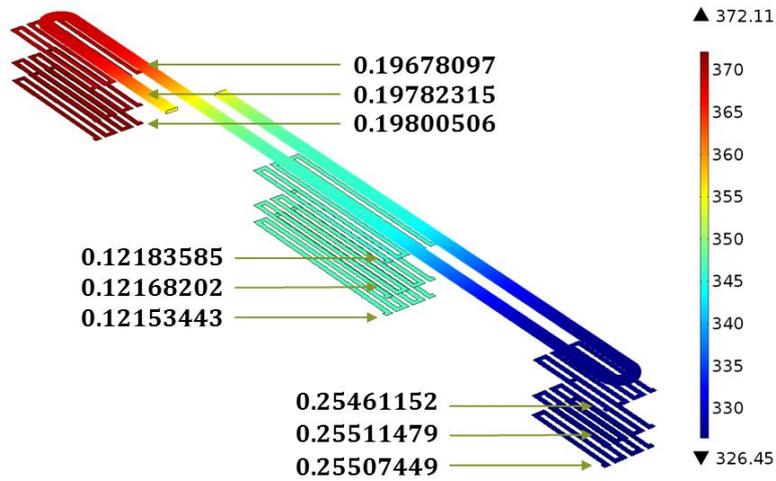


Εικόνα 70 – Θερμοκρασία αντιστάσεων ζώνης αποδιάταξης της διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους

Τέλος, προκειμένου να επιβεβαιωθεί η σωστή λειτουργία του ελεγκτή θερμοκρασίας, ο οποίος έχει προδιαγραφές αντίστασης θερμικών στοιχείων πάνω από 10 Ω, γίνεται εξαγωγή της τιμής αντιστάσεων από τα αποτελέσματα. Η εξίσωση που παρέχει την τιμή της αντίστασης στον όγκο ενός αγώγιμου υλικού παρέχεται από το χωρικό ολοκλήρωμα της εξίσωσης:

$$R = \int \frac{\rho_0 [1 + \alpha(T - T_{amb})]}{A^2} dV \quad (65)$$

Οι τιμές αντιστάσεων που προέκυψαν στη διάταξη μPCR με ύπαρξη διακένων μεταξύ των ζωνών (Εικ. 71) ήταν 18 Ω για το θερμικό στοιχείο της ζώνης αποδιάταξης, 11 Ω για του υβριδισμού και 23 Ω για της επιμήκυνσης. Είναι όλες μεγαλύτερες από τα 10 Ω των προδιαγραφών του ελεγκτή θερμοκρασίας. Οι αντιστάσεις αφορούν στο θερμικό στοιχείο που θερμαίνει 30 κύκλους και όχι στη μοναδιαία κυψελίδα.



Εικόνα 71 – Τιμές αντιστάσεων (σε Ω) διάταξης ΣΡ μικρότερου αποτυπώματος και μεγαλύτερου πάχους

5 Συμπεράσματα

Αξιολογείται μέσω προσομοίωσης η απόδοση δύο διατάξεων μPCR, μιας διάταξης ΣΘ και μιας διάταξης ΣΡ, που κατασκευάζονται σε εύκαμπτα λεπτά υποστρώματα με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις που καθορίζουν τις θερμικές ζώνες. Επιλύεται αριθμητικά ένα μαθηματικό μοντέλο το οποίο λαμβάνει υπόψη τη ροή του ρευστού, τη μεταφορά θερμότητας τόσο σε στερεά όσο και σε ρευστά, τη διατήρηση μάζας των ειδών, τη θέρμανση μέσω του φαινομένου joule, σε συνδυασμό με την λειτουργία ενός αναλογικού-ολοκληρωτικού-παραγωγικού ελεγκτή θερμοκρασίας. Μελετήθηκαν η ενίσχυση δείγματος DNA 5,3 μL σύμφωνα με δύο πρωτόκολλα (3s:4,2s:6,2s και 1,8s:2,5s:3,7s) για 10 κύκλους. Οι προδιαγραφές σχετικά με τη στοίβα των υλικών είναι ίδιες και για τις δύο διατάξεις και προέρχονται από την τεχνολογία των εύκαμπτων τυπωμένων κυκλωμάτων που εφαρμόζεται για την κατασκευή των διατάξεων.

Τα αποτελέσματα, των οποίων η σύνοψη φαίνεται στον Πιν. 8, δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα ενίσχυσης του DNA είναι σχεδόν η ίδια και στις δύο διατάξεις μPCR, με τη διάταξη ΣΡ να είναι πιο ευαίσθητη στο πρωτόκολλο: Ένα ταχύτερο πρωτόκολλο δεν επηρεάζει μόνο το συνολικό χρόνο αντίδρασης, αλλά επίσης και την ομοιομορφία της θερμοκρασίας στη διάταξη ΣΡ. Βρέθηκε ότι η διάταξη ΣΡ απαιτεί (2-4 φορές) μεγαλύτερη κατανάλωση ενέργειας σε σύγκριση με την διάταξη ΣΘ: Η κατανάλωση ενέργειας της διάταξης ΣΘ αυξάνει όταν αυξάνει το πάχος του υποστρώματος, και υπερβαίνει αυτό της διάταξης ΣΡ όταν το πάχος υποστρώματος είναι μεγαλύτερο από 1000 μm . Τέλος, ο συνολικός χρόνος που απαιτείται για την ενίσχυση του DNA στη διάταξη μPCR ΣΘ είναι μεγαλύτερος κατά ένα συντελεστή 1,1 έως 2,0 λόγω της καθυστέρησης που απαιτείται για τη μετάβαση από τη μία θερμοκρασία στην άλλη.

Πίνακας 8 – Σύγκριση επίδοσης διατάξεων μPCR ΣΡ και ΣΘ σε όρους ενίσχυσης DNA, κατανάλωσης ενέργειας και διάρκειας λειτουργίας για διαφορετικά πρωτόκολλα PCR και συντελεστών θερμότητας. Οι διάρκειες σε παρένθεση περιλαμβάνουν και το χρόνο άντλησης του δείγματος DNA.

Τύπος διάταξης	ΣΡ			ΣΘ		
	3s:4,2s:6,2s		1,8s:2,5s:3,7s	3s:4,2s:6,2s		1,8s:2,5s:3,7s
Πρωτόκολλο PCR	s					
Συντελεστής θερμότητας	5 W/m ² K	10 W/m ² K	5 W/m ² K	5 W/m ² K	10 W/m ² K	5 W/m ² K
Ενίσχυση DNA	645	630	300	657	630	436
Κατανάλωση ενέργειας (J)	253	363	150	69	85	61
Διάρκεια λειτουργίας 10 κύκλων (s)	353	353	212	463 (590)	391 (519)	409 (536)

Οι υπολογισμοί που διεξήχθησαν σε αυτή την εργασία δείχνουν ότι, παρά την προτίμηση που υπάρχει στις διατάξεις ΣΡ, οι διατάξεις μPCR ΣΘ που κατασκευάζονται πάνω σε εύκαμπτα λεπτά υποστρώματα με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις μπορεί να είναι προτιμότερες σε σχέση με την αντίστοιχη διάταξη μPCR ΣΡ: Η υπεροχή τους αφορά κυρίως την κατανάλωση ενέργειας και οφείλεται σαφώς στη χρήση εύκαμπτων λεπτών πολυμερικών υποστρωμάτων με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις: Η μικρότερη θερμική μάζα και η μικρότερη απόσταση των θερμικών αντιστάσεων από το δείγμα της PCR

επιτρέπει γρήγορους ρυθμούς θέρμανσης και ψύξης του δείγματος της PCR σε σύγκριση με τις συμβατικές διατάξεις και τις διατάξεις μPCR υλοποιημένες σε παχύτερα υποστρώματα. Μαζί με αυτό το πλεονέκτημα έρχεται και η ευελιξία της διάταξης ΣΘ στο να εξυπηρετήσει κάθε πρωτόκολλο PCR. Οι διατάξεις ΣΡ εξυπηρετούν μόνο ένα συγκεκριμένο αριθμό πρωτοκόλλων που ορίζονται από τις σχετικές αναλογίες όγκου αποδιάταξης:υβριδισμού:επιμήκυνσης, το οποίο καθορίζεται στο στάδιο του σχεδιασμού/κατασκευής. Τόσο η χαμηλή ενεργειακή κατανάλωση όσο και η ευελιξία πρωτοκόλλου δείχνουν ελκυστικές προοπτικές για τις διατάξεις μPCR ΣΘ σε λεπτά υποστρώματα με ολοκληρωμένες θερμικές αντιστάσεις. Το μειονέκτημα ωστόσο των διατάξεων μPCR ΣΘ σχετίζεται με την αυξημένη απαίτηση στις προδιαγραφές του ελεγκτή θερμοκρασίας. Λόγω των συνεχών αλλαγών θερμοκρασίας ο ελεγκτής πρέπει να παρουσιάζει ευρωστία στον έλεγχο για την επίτευξη των επιθυμητών θερμοκρασιών καθώς και γρήγορη απόκριση, οδηγώντας στην ελάττωση του συνολικού χρόνου λειτουργίας της διάταξης.

Τέλος, σε πολλές βιοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε μικρορευστονικές διατάξεις, είναι απαραίτητη η θερμοκρασιακή ομοιομορφία σε κάθε ζώνη καθώς και η θερμική απομόνωση μεταξύ των ζωνών. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι η ενίσχυση DNA μέσω της PCR. Οι προκλήσεις που αντιμετωπίζονται συχνά στη σχεδίαση τέτοιων διατάξεων είναι το μικρό αποτύπωμα. Σε διατάξεις με μικρό αποτύπωμα, προκειμένου να ικανοποιηθούν οι ελάχιστες απαιτήσεις του ελεγκτή θερμοκρασίας σε συνολική αντίσταση των θερμικών στοιχείων, χρησιμοποιούνται πολλαπλά επίπεδα μετάλλου. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση του πάχους της διάταξης. Επίσης, τα υλικά της τεχνολογίας PCB (Printed Circuit Board) που χρησιμοποιούνται για την ολοκλήρωση πολλαπλών επιπέδων μετάλλου, εμφανίζουν υψηλή θερμική αγωγιμότητα [σε σχέση με τα πολύ λεπτά υποστρώματα της τεχνολογίας FPC (Flexible Printed Circuit)]. Η υψηλότερη θερμική αγωγιμότητα σε συνδυασμό με το μεγαλύτερο πάχος αυξάνουν τη δυσκολία επίλυσης του πρόβληματος της θερμικής απομόνωσης μεταξύ των ζωνών σε διατάξεις με μικρό αποτύπωμα.

Η λύση σε αυτό το πρόβλημα είναι η βελτιστοποίηση των αποστάσεων των θερμικών στοιχείων μεταξύ τους, βελτιώνοντας τη θερμοκρασιακή ομοιομορφία μόνο στην περίπτωση που υπάρχει αρκετός χώρος για το αποτύπωμα της διάταξης. Ωστόσο, στην περίπτωση που δεν επαρκεί το αποτύπωμα προτείνεται η τοποθέτηση διακένων μεταξύ των θερμοκρασιακών ζωνών.

Δημοσίευση εργασιών σε επιστημονικά περιοδικά και παρουσίαση επιστημονικών εργασιών σε συνέδρια

Συμπεράσματα από την παρούσα εργασία δημοσιεύτηκαν στα παρακάτω επιστημονικά περιοδικά όπως επίσης παρουσιάστηκαν και στα παρακάτω συνέδρια:

Δημοσιεύσεις:

V. E. Papadopoulos, G. Kokkoris, I. N. Kefala, and A. Tserepi, "Comparison of continuous-flow and static-chamber μ PCR devices through a computational study: the potential of flexible polymeric substrates," *Microfluid. Nanofluid.* 19, 867 (2015).

I. N. Kefala, V. E. Papadopoulos, G. Kaprou, G. Kokkoris, G. Papadakis, and A. Tserepi, "A labyrinth split and merge micromixer for bioanalytical applications," *Microfluid. Nanofluid.* 19, 1047 (2015).

G. Kaprou, G. Papadakis, G. Kokkoris, V. Papadopoulos, I. Kefala, D. Papageorgiou, "Miniaturized devices towards an integrated lab-on-a-chip platform for DNA diagnostics," *Proc. SPIE 9518, Bio-MEMS and Medical Microdevices II*, 95180G (2015).

V. E. Papadopoulos, I. N. Kefala, G. Kaprou, G. Kokkoris, D. Moschou, G. Papadakis, et al., "A passive micromixer for enzymatic digestion of DNA," *Microelectronic Engineering* 124, 42 (2014).

Συνέδρια:

G. Kaprou, G. Kokkoris, G. Papadakis, V. Papadopoulos, I. Kefala, S. Chatzandroulis, E. Gizeli, A. Tserepi, "DNA amplification microdevices towards diagnostic platforms for Pathogen detection", *Microfluidics Congress, London, 20-21 October, 2015* (poster)

G. Kaprou, G. Papadakis, G. Kokkoris, V. Papadopoulos, I. Kefala, K. Ellinas, E. Gizeli, A. Tserepi, "Designing microfluidic devices for temperature sensitive biochemical reactions", *6th International Conference on Micro-Nanoelectronics, Nanotechnologies & MEMs, Athens, 4-7 October, 2015* (oral)

V. Papadopoulos, I. Kefala, G. Kaprou, G. Kokkoris, A. Tserepi, "Miniaturized DNA amplification devices towards Lab-on-a-chip Platforms for DNA diagnostics", *6th International Conference on Micro-Nanoelectronics, Nanotechnologies & MEMs, Athens, 4-7 October, 2015* (oral)

B. Παπαδόπουλος, Ι. Κεφαλά, Γ. Κόκκορης, Γ. Παπαδάκης, Α. Τσερέπη, "Σύγκριση μικρορρευστονικών διατάξεων για την ενίσχυση DNA μέσω υπολογιστικής μελέτης", *10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χημικών Μηχανικών, Πάτρα, 4-6 Ιουνίου, 2015* (oral)

Ι. Κεφαλά, Β. Παπαδόπουλος, Γ. Κάπρου, Γ. Κόκκορης, Γ. Παπαδάκης, Α. Τσερέπη, "Σύγκριση παθητικών μικροαναμικτών για βιοαναλυτικές εφαρμογές μέσω υπολογιστικής μελέτης", *10ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χημικών Μηχανικών, Πάτρα, 4-6 Ιουνίου, 2015* (oral)

G. Kokkoris, G. Papadakis, V. Papadopoulos, I. Kefala, G. Kaprou, D. Papageorgiou, E. Gizeli, A. Tserepi, "*Microfluidics for an Integrated Lab-on-chip Platform for DNA diagnostics*", SPIE Microtechnologies, Barcelona, 4-6 May, 2015 (oral).

I. Kefala, , V. Papadopoulos, G. Kokkoris, G. Kaprou, D. Moschou, G. Papadakis, A. Tserepi, "*Design of passive micromixer for the enzymatic digestion of DNA*", 4th Micro and Nano Flows Conference, London, 7-10 September, 2014 (oral).

V. Papadopoulos, I. Kefala, G. Kokkoris, A. Tserepi, "*Continuous Flow vs. Stationary μ PCR Devices on Ultra Thin Polymeric Substrates*", 4th Micro and Nano Flows Conference, London, 7-10 September, 2014 (oral).

I. Kefala, G. Kokkoris, G. Kaprou, D. Moschou, G. Papadakis, E. Gizeli, A. Tserepi, "*A passive micromixer for enzymatic digestion of DNA*", 39th International Conference on Micro and Nano Engineering, London, 16-19 September, 2013 (poster).

B. Παπαδόπουλος, I. Κεφαλά, Γ. Κόκκορης, Γ. Παπαδάκης, Α. Τσερέπη, "*Σχεδιασμός παθητικού μικροαναμίκτη για ενζυμική πέψη δεσοξυριβοζονουκλεϊκού οξέος (DNA)*", 9ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χημικών Μηχανικών, Αθήνα, 23-25 Μαΐου, 2013 (poster).

Διαλέξεις:

(Invited) G. Kokkoris, I. Kefala, V. Papadopoulos, "*Simulation of microfluidic components of a LoC for food pathogen detection: A μ PCR device and a passive micromixer*", Faculty of Physical Sciences and Engineering, University of Southampton, UK, September 10, 2014.

Πίνακας βιβλιογραφίας

- Ahmad F, Hashsham SA (2012) Miniaturized nucleic acid amplification systems for rapid and point-of-care diagnostics: a review. *Anal Chim Acta* 733:1-15
- Allen J, Kenward M, Dorfman K (2009) Coupled flow and reaction during natural convection PCR. *Microfluidics and Nanofluidics* 6:121-130
- Amasia M, Kang S-W, Banerjee D, Madou M (2013) Experimental validation of numerical study on thermoelectric-based heating in an integrated centrifugal microfluidic platform for polymerase chain reaction amplification. *Biomicrofluidics* 7
- Athavale M, Chen Z, Furmanczyk M, Przekwas A Coupled multiphysics and chemistry simulations of PCR microreactors with active control. In: *Proc. Int. Conf. Modeling and Simulation of Microsystems*, 2001. pp 574-577
- BCC Research LLC (2013) Global Biochip Markets: Microarrays and Lab-on-a-Chip - BIO049E. BCC Research LLC. <http://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/biochip-markets-microarrays-bio049e.html>. Accessed June 19, 2014
- Becker H, Hlawatsch N, Klemm R, Moche C, Hansen-Hagge T, Gärtner C Real-time PCR in microfluidic devices. In, 2014. pp 89760Z-89760Z-89766
- Braun D, Goddard NL, Libchaber A (2003) Exponential DNA replication by laminar convection. *Phys Rev Lett* 91:158103
- Brunklau S et al. (2012) Fast nucleic acid amplification for integration in point-of-care applications. *Electrophoresis* 33:3222-3228
- Cao Q, Kim M-C, Klapperich C (2011) Plastic microfluidic chip for continuous-flow polymerase chain reaction: Simulations and experiments. *Biotechnology Journal* 6:177-184
- Chen P-C, Fan W, Hoo T-K, Chan LCZ, Wang Z (2012) Simulation guided-design of a microfluidic thermal reactor for polymerase chain reaction. *Chemical Engineering Research and Design* 90:591-599
- Chen Z, Qian S, Abrams WR, Malamud D, Bau HH (2004) Thermosiphon-based PCR reactor: experiment and modeling. *Anal Chem* 76:3707-3715
- Chou CF et al. (2002) A miniaturized cyclic PCR device—modeling and experiments. *Microelectronic Engineering* 61–62:921-925
- COMSOL I Comsol Multiphysics. 4.3b edn., Sweden
- Crews N, Wittwer C, Gale B (2008) Continuous-flow thermal gradient PCR. *Biomed Microdevices* 10:187-195
- Dittmar R, Gill S, Singh H, Darby M (2012) Robust optimization-based multi-loop PID controller tuning: A new tool and its industrial application. *Control Engineering Practice* 20:355-370
- Friedman NA, Meldrum DR (1998) Capillary tube resistive thermal cycling. *Anal Chem* 70:2997-3002
- Fukuba T, Yamamoto T, Naganuma T, Fujii T (2004) Microfabricated flow-through device for DNA amplification—towards in situ gene analysis. *Chemical Engineering Journal* 101:151-156
- Gärtner C, Klemm R, Becker H Methods and instruments for continuous-flow PCR on a chip. In, 2007. pp 646502-646502-646508
- Giordano BC, Ferrance J, Swedberg S, Hühmer AFR, Landers JP (2001) Polymerase Chain Reaction in Polymeric Microchips: DNA Amplification in Less Than 240 Seconds. *Analytical Biochemistry* 291:124-132
- Hühmer AFR, Landers JP (2000) Noncontact Infrared-Mediated Thermocycling for Effective Polymerase Chain Reaction Amplification of DNA in Nanoliter Volumes. *Analytical Chemistry* 72:5507-5512

- Hashimoto M, Chen P-C, Mitchell MW, Nikitopoulos DE, Soper SA, Murphy MC (2004) Rapid PCR in a continuous flow device. *Lab on a Chip* 4:638-645
- Hunnicke-Smith SP (1997) PCR and cycle sequencing reactions: a new device and engineering model.
- Ibrahim O, Jones B, Hassab M, Op de Beeck M (2014) Three-Dimensional Transient Thermal Analysis for a Silicon PCR Microreactor. *Numerical Heat Transfer, Part A: Applications* 65:1069-1088
- Kaigala GV, Huskins RJ, Preiksaitis J, Pang XL, Pilarski LM, Backhouse CJ (2006) Automated screening using microfluidic chip-based PCR and product detection to assess risk of BK virus-associated nephropathy in renal transplant recipients. *Electrophoresis* 27:3753-3763
- Kang J, Chen C, Smolinski J, Thomas R, Tucker J, Auner G (2006) Simulation and optimization of a flow-through micro PCR chip. Boston, MA: NSTI Nanotech:585-588
- Kaprou G et al. Miniaturized devices towards an integrated lab-on-a-chip platform for DNA diagnostics. In: van den Driesche S (ed) *Bio-MEMS and Medical Microdevices II Conference, 2015*. SPIE. doi:10.1117/12.2181953
- Kefala IN, Papadopoulos VE, Karpou G, Kokkoris G, Papadakis G, Tserepi A (2015) A labyrinth split and merge micromixer for bioanalytical applications. *Microfluidics and Nanofluidics*
- Kopp MU, Mello AJD, Manz A (1998) Chemical Amplification: Continuous-Flow PCR on a Chip. *Science* 280:1046-1048
- Krishnan M, Ugaz VM, Burns MA (2002) PCR in a Rayleigh-Bénard convection cell. *Science* 298:793
- Kumar S, Thorsen T, Das SK Thermal modeling for design optimization of a microfluidic device for continuous flow polymerase chain reaction (PCR). In: *ASME 2008 Heat Transfer Summer Conference collocated with the Fluids Engineering, Energy Sustainability, and 3rd Energy Nanotechnology Conferences, 2008*. American Society of Mechanical Engineers, pp 323-330
- Lagally ET, Emrich CA, Mathies RA (2001) Fully integrated PCR-capillary electrophoresis microsystem for DNA analysis. *Lab on a Chip* 1:102-107
- Li L, Wang C, Song B, Mi L, Hu J (2012) Kinetic Parameters Estimation in the Polymerase Chain Reaction Process Using the Genetic Algorithm. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 51:13268-13273
- Li S et al. (2006) A Continuous-Flow Polymerase Chain Reaction Microchip With Regional Velocity Control. *Journal of microelectromechanical systems : a joint IEEE and ASME publication on microstructures, microactuators, microsensors, and microsystems* 15:223-236
- Liu J, Enzelberger M, Quake S (2002) A nanoliter rotary device for polymerase chain reaction. *ELECTROPHORESIS* 23:1531-1536
- Liu Y, Ganser D, Schneider A, Liu R, Grodzinski P, Kroutchinina N (2001) Microfabricated polycarbonate CE devices for DNA analysis. *Anal Chem* 73:4196-4201
- Lok K, Lee P, Kwok Y, Nguyen N-T (2012) Nested PCR in magnetically actuated circular closed-loop PCR microchip system. *Microchim Acta* 177:111-117
- Matsubara Y, Kerman K, Kobayashi M, Yamamura S, Morita Y, Takamura Y, Tamiya E (2004) On-chip nanoliter-volume multiplex TaqMan polymerase chain reaction from a single copy based on counting fluorescence released microchambers. *Anal Chem* 76:6434-6439
- Matsubara Y, Kerman K, Kobayashi M, Yamamura S, Morita Y, Tamiya E (2005) Microchamber array based DNA quantification and specific sequence detection from a single copy via PCR in nanoliter volumes. *Biosensors & bioelectronics* 20:1482-1490

- Mavraki E, Moschou D, Kokkoris G, Vourdas N, Chatzandroulis S, Tserepi A (2011) A continuous flow μ PCR device with integrated microheaters on a flexible polyimide substrate. *Procedia Engineering* 25:1245-1248
- Mehra S, Hu W-S (2005) A kinetic model of quantitative real-time polymerase chain reaction. *Biotechnology and Bioengineering* 91:848-860
- Ming Y, Rohit P, Mark AB (2005) Cost-effective thermal isolation techniques for use on microfabricated DNA amplification and analysis devices. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 15:221
- Mohammed A, Adeniyi AA, Hassan AB (2012) Modelling of Serpentine Continuous Flow Polymerase Chain Reaction Microfluidics. *International Journal of Engineering Science & Technology* 4
- Mohr S et al. (2007) Numerical and experimental study of a droplet-based PCR chip. *Microfluidics and Nanofluidics* 3:611-621
- Moschou D et al. Integrated biochip for PCR-based DNA amplification and detection on capacitive biosensors. In, 2013. pp 87650L-87650L-87659
- Moschou D, Vourdas N, Kokkoris G, Papadakis G, Parthenios J, Chatzandroulis S, Tserepi A (2014) All-plastic, low-power, disposable, continuous-flow PCR chip with integrated microheaters for rapid DNA amplification. *Sensors and Actuators B: Chemical* 199:470-478
- Mullis KB, Faloona FA (1987) [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In: Ray W (ed) *Methods in Enzymology*, vol Volume 155. Academic Press, pp 335-350. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)55023-6](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)55023-6)
- Nakano H, Matsuda K, Yohda M, Nagamune T, Endo I, Yamane T (1994) High speed polymerase chain reaction in constant flow. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 58:349-352
- Neuzil P, Zhang C, Pipper J, Oh S, Zhuo L (2006) Ultra fast miniaturized real-time PCR: 40 cycles in less than six minutes. *Nucleic acids research* 34:e77
- Niu ZQ, Chen WY, Shao SY, Jia XY, Zhang WP (2006) DNA amplification on a PDMS-glass hybrid microchip. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 16:425-433
- Northrup MA, Ching MT, White RM, Lawton RT (1993) DNA amplification with a microfabricated reaction chamber. Paper presented at the Int. Conf. on Solid-State Sensors and Actuators, Transducers '93, Yokohama, 1993
- Obeid PJ, Christopoulos TK (2003) Continuous-flow DNA and RNA amplification chip combined with laser-induced fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* 494:1-9
- Oda RP et al. (1998) Infrared-mediated thermocycling for ultrafast polymerase chain reaction amplification of DNA. *Anal Chem* 70:4361-4368
- Ottino JM, Wiggins S (2004) Introduction: mixing in microfluidics. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 362:923-935
- Papadopoulos VE et al. (2014) A passive micromixer for enzymatic digestion of DNA. *Microelectronic Engineering* 124:42-46
- Papadopoulos VE, Kokkoris G, Kefala IN, Tserepi A (2015) Comparison of continuous-flow and static-chamber μ PCR devices through a computational study: the potential of flexible polymeric substrates. *Microfluidics and Nanofluidics* 19:867-882
- Park DSW et al. (2010) Titer plate formatted continuous flow thermal reactors for high throughput applications: Fabrication and testing. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 20
- Perry RH, Green DW, Maloney JO (1999) *Perry's chemical engineer's handbook* on CD-ROM. McGraw-Hill, New York; San Francisco; Washington D.C. [et al.]
- Priye A, Hassan YA, Ugaz VM (2013) Microscale Chaotic Advection Enables Robust Convective DNA Replication. *Analytical Chemistry* 85:10536-10541

- Qiu X, Yuan J, Wang Z (2006) Feedforward Variable Structural Proportional-Integral-Derivative for Temperature Control of Polymerase Chain Reaction. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 14:200-206
- Rodriguez I et al. (2003) Practical integration of polymerase chain reaction amplification and electrophoretic analysis in microfluidic devices for genetic analysis. *Electrophoresis* 24:172-178
- Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (1985) Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230:1350-1354
- Schneegass I, Brautigam R, Kohler JM (2001) Miniaturized flow-through PCR with different template types in a silicon chip thermocycler. *Lab Chip* 1:42-49
- Shen K, Chen X, Guo M, Cheng J (2005) A microchip-based PCR device using flexible printed circuit technology. *Sensors and Actuators B: Chemical* 105:251-258
- Singh G (2003) Steady state and transient analysis of thermoelectric devices using finite element method.
- Stone HA, Kim S (2001) Microfluidics: Basic issues, applications, and challenges. *AIChE Journal* 47:1250-1254
- Sun K, Yamaguchi A, Ishida Y, Matsuo S, Misawa H (2002) A heater-integrated transparent microchannel chip for continuous-flow PCR. *Sensors and Actuators B: Chemical* 84:283-289
- Sun Y, Kwok YC, Nguyen NT (2007) A circular ferrofluid driven microchip for rapid polymerase chain reaction. *Lab Chip* 7:1012-1017
- Thomas S, Orozco R, Ameal T (2014) Thermal gradient continuous-flow PCR: a guide to design. *Microfluidics and Nanofluidics*:1-13
- Wang H, Chen J, Zhu L, Shadpour H, Hupert ML, Soper SA (2006) Continuous flow thermal cycler microchip for DNA cycle sequencing. *Analytical Chemistry* 78:6223-6231
- Wang S, Wang W (2010) Kinetic characteristics of continuous flow polymerase chain reaction chip: A numerical investigation. *Sci China Technol Sci* 53:1967-1972
- Wang Y, Pant K, Grover J, Sundaram S (2007) Multi-physics Simulational Analysis of a Novel PCR Micro-Device. *Nanotech* 3:456-459
- Waters LC, Jacobson SC, Kroutchinina N, Khandurina J, Foote RS, Ramsey JM (1998) Multiple sample PCR amplification and electrophoretic analysis on a microchip. *Anal Chem* 70:5172-5176
- West J et al. (2002) Application of magnetohydrodynamic actuation to continuous flow chemistry. *Lab Chip* 2:224-230
- Wilding P, Shoffner MA, Kricka LJ (1994) PCR in a silicon microstructure. *Clinical chemistry* 40:1815-1818
- Wittwer CT, Fillmore GC, Hillyard DR (1989) Automated polymerase chain reaction in capillary tubes with hot air. *Nucleic acids research* 17:4353-4357
- Zhang C, Xing D (2007) Miniaturized PCR chips for nucleic acid amplification and analysis: latest advances and future trends. *Nucleic acids research* 35:4223-4237
- Zhang C, Xu J, Ma W, Zheng W (2006) PCR microfluidic devices for DNA amplification. *Biotechnology Advances* 24:243-284
- Zhang Y, Ozdemir P (2009) Microfluidic DNA amplification--a review. *Anal Chim Acta* 638:115-125
- Κουμούτσος Ν, Λυγερού Β (1991) Μεταφορά θερμότητας. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Μπουμπουρή ΑΓ (1992) Υπολογιστική ανάλυση με την μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα
- Παπαδρακάκης Μ (2001) Ανάλυση φορέων με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Παπασωτηρίου, Αθήνα

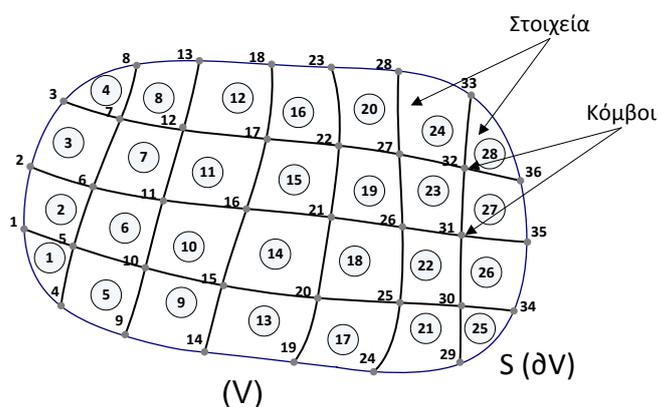
- Παπαϊωάννου ΆΘ (1993) Μηχανική των ρευστών Ι. Σ. Αθανασόπουλος - Σ. Παπαδάμης & ΣΙΑ Ε.Ε., Αθήνα
- Παρασκευόπουλος ΠΝ (2001) Εισαγωγή στον αυτόματο έλεγχο. Τόμος Α: Θεωρία. Τόμος Β: Εφαρμογές.
- Τσαμασφύρος Γ, Θεοτόκογλου Ε (1989) Η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων. Συμεών, Αθήνα

Παράρτημα Α

Γενική περιγραφή της μεθόδου των πεπερασμένων στοιχείων

Διακριτοποίηση γεωμετρίας

Το χωρίο V και το σύνορο S (∂V) υποδιαιρούνται σε επάλληλα υποχωρία (subdomains) πεπερασμένου πλήθους με το «άπλωμα» ενός πλέγματος (mesh) (Εικ. 72). Καθένα από τα υποχωρία ονομάζεται στοιχείο (element). Στα όρια των επάλληλων στοιχείων αλλά και στο εσωτερικό των στοιχείων ορίζονται οι κόμβοι (nodes) του πλέγματος. Έστω ότι το πλήθος των στοιχείων συμβολίζεται με NE και το πλήθος των κόμβων με N . Η αρίθμηση των στοιχείων και των κόμβων είναι αυθαίρετες, αν και συνήθως γίνεται προσπάθεια ώστε οι αριθμήσεις να οδηγούν σε οικονομία από πλευράς κώδικα.



Εικόνα 72 – Πλέγμα σε δισδιάστατο χωρίο. Η αρίθμηση των στοιχείων γίνεται με αριθμούς και η αρίθμηση των κόμβων με αριθμούς μέσα σε κύκλο.

Υπολογισμός μητρώου ακαμψίας στοιχείου

Προσδιορισμός των μετατοπίσεων σε κάθε στοιχείο

Οι μετατοπίσεις σε κάθε σημείο του στοιχείου εκφράζονται συναρτήσει των μετατοπίσεων των κόμβων με τη βοήθεια κάποιου παρεμβολικού τύπου, που συνήθως είναι πολυώνυμο. Η επιλογή αυτή γίνεται γιατί οι αλγεβρικές πράξεις με τα πολυώνυμα, όπως η ολοκλήρωση ή η παραγωγή, είναι σχετικά εύκολες και έτσι μπορούμε να δώσουμε τις τελικές εκφράσεις σε κλειστή μορφή. Όσο μεγαλύτερου βαθμού είναι το πολυώνυμο που επιλέγεται για την προσεγγιστική έκφραση των μετατοπίσεων τόσο πιο καλύτερα προσεγγίζεται η πραγματική λύση.

Για παράδειγμα στο εξαεδρικό ορθογωνικό στοιχείο 8 κόμβων, οι μετατοπίσεις κάθε σημείου ορίζονται από τρεις συνιστώσες u , v και w , που είναι παράλληλες ως προς τους άξονες x , y , z αντίστοιχα. Επομένως κάθε κόμβος έχει 3 βαθμούς ελευθερίας και άρα οι βαθμοί ελευθερίας του στοιχείου είναι 24. Το αντίστοιχο πολυώνυμο παρεμβολής για κάθε μετατόπιση είναι της παρακάτω μορφής:

$$\mathbf{a} = \mathbf{A}^{-1} \mathbf{q}^e \quad (70)$$

όπου \mathbf{A}^{-1} το μητρώο μετασχηματισμού των μετατοπίσεων. Αντικαθιστώντας τη σχέση -70- στη σχέση -68- η τελευταία γίνεται:

$$\mathbf{q}(x, y, z) = \mathbf{M}(x, y, z) \mathbf{A}^{-1} \mathbf{q}^e = \mathbf{N}(x, y, z) \mathbf{q}^e = [N_1(x, y, z) \quad \dots \quad N_8(x, y, z)] \mathbf{q}^e \quad (71)$$

Τα $N_i(x, y, z)$, με $i=1, \dots, 8$, γράφονται:

$$N_i(x, y, z) = \begin{bmatrix} v_i(x, y, z) & 0 & 0 \\ 0 & v_i(x, y, z) & 0 \\ 0 & 0 & v_i(x, y, z) \end{bmatrix} = v_i(x, y, z) \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (72)$$

Οι συναρτήσεις v_i καλούνται *συναρτήσεις σχήματος* και εξαρτώνται από την γεωμετρία του στοιχείου και τον παρεμβολικό τύπο που χρησιμοποιήθηκε. Από τη σχέση -72- προκύπτει ότι οι συναρτήσεις σχήματος ικανοποιούν τις ακόλουθες σχέσεις:

$$\begin{aligned} v_i(x_i, y_i, z_i) &= 1 \\ v_j(x_i, y_i, z_i) &= v_m(x_i, y_i, z_i) = \dots = 0 \end{aligned} \quad (73)$$

Για τον υπολογισμό των συναρτήσεων σχήματος γίνεται χρήση των αδιάστατων τοπικών συντεταγμένων του στοιχείου (ξ, η, ζ) με αρχή το κέντρο του στοιχείου. Οι συντεταγμένες του κέντρου του στοιχείου ορίζονται ως εξής:

$$(x_0, y_0, z_0) = \left(\frac{x_1 + x_5}{2}, \frac{y_1 + y_4}{2}, \frac{z_1 + z_2}{2} \right) \quad (74)$$

Οι αδιάστατες συντεταγμένες ορίζονται συναρτήσει των καθολικών:

$$(\xi, \eta, \zeta) = \left(\frac{x - x_0}{c}, \frac{y - y_0}{a}, \frac{z - z_0}{b} \right) \quad (75)$$

Όπου a, b και c τα ημιμήκη των πλευρών του στοιχείου. Από την παραπάνω σχέση ισχύει:

$$-1 \leq \xi \leq 1, \quad -1 \leq \eta \leq 1, \quad -1 \leq \zeta \leq 1 \quad (76)$$

Με αντικατάσταση της -75- στη σχέση -71- προκύπτουν οι συναρτήσεις σχήματος του στοιχείου συναρτήσει των αδιάστατων συντεταγμένων:

$$\left. \begin{aligned} v_1 &= \frac{1}{8}(1+\xi)(1+n)(1-\zeta), & v_5 &= \frac{1}{8}(1-\xi)(1+n)(1-\zeta) \\ v_2 &= \frac{1}{8}(1+\xi)(1+n)(1+\zeta), & v_6 &= \frac{1}{8}(1-\xi)(1+n)(1+\zeta) \\ v_3 &= \frac{1}{8}(1+\xi)(1-n)(1+\zeta), & v_7 &= \frac{1}{8}(1-\xi)(1-n)(1+\zeta) \\ v_4 &= \frac{1}{8}(1+\xi)(1-n)(1-\zeta), & v_8 &= \frac{1}{8}(1-\xi)(1-n)(1-\zeta) \end{aligned} \right\} \quad (77)$$

Παραμορφώσεις και τάσεις του στοιχείου

Οι παραμορφώσεις στο τυχόν στοιχείο, στην περίπτωση της τρισδιάστατης ελαστικότητας, συνδέονται με τις μετατοπίσεις $\mathbf{q}(x, y, z)$ με την παρακάτω σχέση:

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{xx} \\ \varepsilon_{yy} \\ \varepsilon_{zz} \\ \gamma_{xy} \\ \gamma_{yz} \\ \gamma_{zx} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial u}{\partial x} \\ \frac{\partial v}{\partial y} \\ \frac{\partial w}{\partial z} \\ \frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} \\ \frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} \\ \frac{\partial w}{\partial x} + \frac{\partial u}{\partial z} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial}{\partial x} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\partial}{\partial y} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\partial}{\partial z} \\ \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial}{\partial x} & 0 \\ 0 & \frac{\partial}{\partial z} & \frac{\partial}{\partial y} \\ \frac{\partial}{\partial z} & 0 & \frac{\partial}{\partial x} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u \\ v \\ w \end{bmatrix} \Rightarrow \boldsymbol{\varepsilon} = \mathbf{XN}(x, y, z)\mathbf{q}^e = \mathbf{Bq}^e = [\mathbf{B}_1 \quad \dots \quad \mathbf{B}_8]\mathbf{q}^e \quad (78)$$

ή σε συμπυκνμένη μορφή

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \mathbf{Bq}^e \quad (79)$$

όπου $\mathbf{X} = \begin{bmatrix} \frac{\partial}{\partial x} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\partial}{\partial y} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\partial}{\partial z} \\ \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial}{\partial x} & 0 \\ 0 & \frac{\partial}{\partial z} & \frac{\partial}{\partial y} \\ \frac{\partial}{\partial z} & 0 & \frac{\partial}{\partial x} \end{bmatrix}$ είναι ένα μητρώο τελεστής και $\mathbf{B} = \mathbf{XN}(x, y, z)$.

Η σχέση -79- συνδέει τις παραμορφώσεις στο τυχόν στοιχείο με τις μετατοπίσεις των κόμβων \mathbf{q}^e και το μητρώο \mathbf{B} , το οποίο προσδιορίζεται πολύ απλά εφόσον οι μετατοπίσεις έχουν εκφραστεί συναρτήσει των κομβικών παραμέτρων και των συναρτήσεων σχήματος.

Το πεδίο των τάσεων εκφράζεται ως:

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{D}(\boldsymbol{\varepsilon} - \boldsymbol{\varepsilon}_0) \quad (80)$$

όπου $\boldsymbol{\varepsilon}_0$ οι αρχικές παραμορφώσεις (δηλαδή οι παραμορφώσεις που οφείλονται στην ανομοιόμορφη αλλαγή της θερμοκρασίας στη συστολή ή διόγκωση, κλπ.) και \mathbf{D} το μητρώο ελαστικότητας.

Το μητρώο ελαστικότητας στην τρισδιάστατη εντατική κατάσταση και με παραδοχές γραμμικού, ισότροπου και ελαστικού υλικού είναι ίσο με:

$$\mathbf{D} = \frac{E(1-\nu)}{(1+\nu)(1-2\nu)} \begin{bmatrix} 1 & & & & & & & & \\ \frac{\nu}{1-\nu} & 1 & & & & & & & \\ \frac{\nu}{1-\nu} & \frac{\nu}{1-\nu} & 1 & & & & & & \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1-2\nu}{2(1-\nu)} & & & & & \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1-2\nu}{2(1-\nu)} & & & & \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1-2\nu}{2(1-\nu)} & & & \\ & & & & & & & & & \end{bmatrix} \quad (81)$$

Συμμετρικό

Εφαρμογή της αρχής των δυνατών έργων

Απομονώνοντας από την γεωμετρία του προβλήματος ένα στοιχείο τότε σε αυτό θα ασκούνται τρία είδη δυνάμεων. Στο σύνορο του στοιχείου θα δρουν κάποιες τάσεις που προέρχονται από τα γειτονικά στοιχεία. Οι τάσεις αυτές μπορούν να θεωρηθούν σαν μία κατανομή επιφανειακών τάσεων $\mathbf{T} = \{T_x, T_y, T_z\}^T$. Ακόμη στο στοιχείο δρα και το διάνυσμα των καθολικών δυνάμεων $\mathbf{f} = \{f_x, f_y, f_z\}^T$. Τέλος εάν στον κάθε κόμβο i του στοιχείου δρουν οι συγκεντρωμένες δυνάμεις $\mathbf{P}_i = \{P_{xi}, P_{yi}, P_{zi}\}^T$, οπότε σε όλους τους κόμβους του στοιχείου θα δρουν οι δυνάμεις $\mathbf{F}_p^e = \{P_1, P_2, \dots, P_8\}^T$.

Εφαρμόζοντας της αρχής των δυνατών έργων στο στοιχείο (e) που έχει όγκο V^e και συνολική επιφάνεια S^e ισχύει:

$$\int_{V^e} \{\delta \mathbf{q}\}^T \mathbf{f} dV + \int_{S^e} \{\delta \mathbf{q}\}^T \mathbf{T} dS + \{\delta \mathbf{q}^e\}^T \mathbf{F}_p^e = \int_{V^e} \{\delta \boldsymbol{\varepsilon}\}^T \boldsymbol{\sigma} dV \quad (82)$$

όπου $\delta \mathbf{q}$ και $\delta \boldsymbol{\varepsilon}$ οι δυνατές μετατοπίσεις και παραμορφώσεις αντίστοιχα. Ο όρος (α) αναφέρεται στις δυνάμεις του πεδίου που ασκούνται σε όλο τον όγκο του στοιχείου, ο (β) στις επιφανειακές τάσεις που προέρχονται από τα γειτονικά στοιχεία και ο (γ) στις δυνάμεις που δρουν σε όλους τους κόμβους του στοιχείου, ενώ το δεξιό μέρος της σχέσης αντιστοιχεί στο συνολικό δυνατό έργο.

Οι δυνατές μετατοπίσεις και παραμορφώσεις εκφράζονται με την βοήθεια των σχέσεων -71- και -79- ως ακολούθως:

$$\delta \mathbf{q} = \mathbf{N} \delta \mathbf{q}^e \quad (83)$$

$$\delta \boldsymbol{\varepsilon} = \mathbf{B} \delta \mathbf{q}^e \quad (84)$$

Τελικά η σχέση -82- γίνεται:

$$\int_{V^e} \mathbf{N}^T \mathbf{f} dV + \int_{S^e} \mathbf{N}^T \mathbf{T} dS + \mathbf{F}_p^e = \left(\int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV \right) \mathbf{q}^e - \int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \boldsymbol{\varepsilon}_0 dV \quad (85)$$

ή

$$\mathbf{F}_f^e + \mathbf{F}_T^e + \mathbf{F}_p^e + \mathbf{F}_{\varepsilon_0}^e = \left(\int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV \right) \mathbf{q}^e = \mathbf{k}^e \mathbf{q}^e \quad (86)$$

ή

$$\boxed{\mathbf{F}^e = \mathbf{k}^e \mathbf{q}^e} \quad (87)$$

όπου \mathbf{F}_f^e , \mathbf{F}_T^e οι στατικά ισοδύναμες κομβικές δυνάμεις για τις δυνάμεις πεδίου και για τις τάσεις από τους γειτονικούς κόμβους αντίστοιχα, $\mathbf{F}_{\varepsilon_0}^e$ οι στατικά ισοδύναμες κομβικές δυνάμεις που ισορροπούν το έργο των αρχικών παραμορφώσεων και $\mathbf{k}^e = \left(\int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV \right)$ το ζητούμενο μητρώο ακαμψίας του στοιχείου που υπολογίζεται ως εξής:

$$\boxed{\mathbf{k}^e = \int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV = \int_0^{2b} \int_0^{2c} \int_0^{2a} \mathbf{B}(x, y, z)^T \mathbf{D} \mathbf{B} dx dy dz} \quad (88)$$

Ιδιότητες του μητρώου ακαμψίας

Για το μητρώο ακαμψίας κάθε είδους στοιχείου ισχύουν οι παρακάτω ιδιότητες:

- Τα στοιχεία k_{ij} του μητρώου ακαμψίας είναι η δύναμη P_i που απαιτείται για τη μετατόπιση δ_j ίση με την μονάδα και μηδέν τις υπόλοιπες μετατοπίσεις.
- Η κάθε στήλη του μητρώου ακαμψίας του στοιχείου παριστάνει γενικευμένες δυνάμεις που ισορροπούν. Ισχύει δηλαδή ότι το άθροισμα των στοιχείων κάθε στήλης είναι μηδέν:

$$\sum_j k_{ij} = 0 \quad (89)$$

- Το μητρώο ακαμψίας του στοιχείου είναι συμμετρικό δηλαδή $k_{ij} = k_{ji}$. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από το θεώρημα της αμοιβαιότητας.
- Το μητρώο ακαμψίας είναι ημιθετικά ορισμένο⁸ αφού εάν η σχέση -87- πολλαπλασιαστεί με τον όρο $\frac{1}{2}(\mathbf{q}^e)^T$ ισχύει:

$$\frac{1}{2}(\mathbf{q}^e)^T \mathbf{k}^e \mathbf{q}^e = \frac{1}{2}(\mathbf{q}^e)^T \mathbf{F}^e \quad (90)$$

Ισοπαραμετρική απεικόνιση

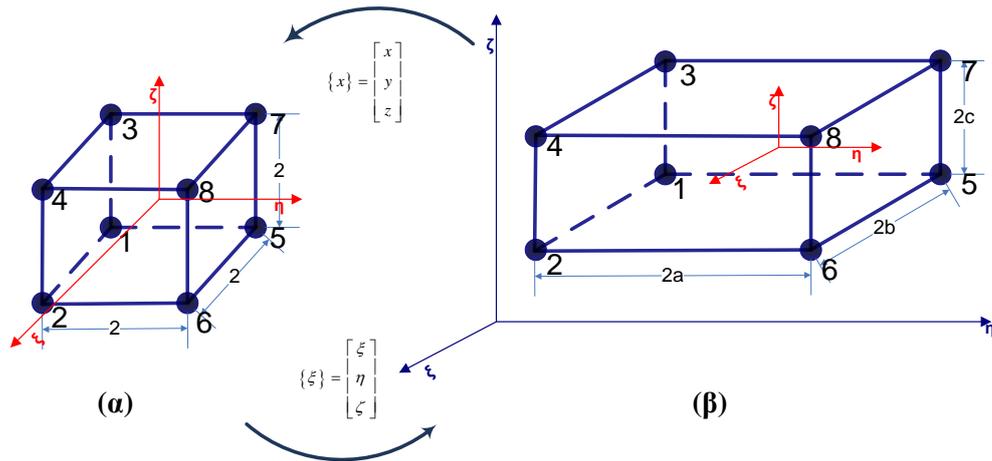
Από την σχέση -88- παρατηρείται ότι για τον υπολογισμό του μητρώου ακαμψίας του στοιχείου υπεισέρχονται τόσο οι συναρτήσεις σχήματος όσο και οι πρώτοι παράγωγοι αυτών ως προς το (x, y, z) . Επομένως είναι απαραίτητοι δύο μετασχηματισμοί.

Επειδή οι συναρτήσεις σχήματος ορίζονται στο τοπικό σύστημα συντεταγμένων είναι απαραίτητο να βρεθεί η σχέση που συνδέει τις παραγώγους των συναρτήσεων σχήματος στο καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων συναρτήσεων των παραγώγων των συναρτήσεων σχήματος ως προς το τοπικό σύστημα συντεταγμένων.

Δεδομένου ότι τα μητρώα \mathbf{B} και \mathbf{N} είναι γνωστά μόνο στο τοπικό σύστημα συντεταγμένων πρέπει να μετασχηματιστούν τα ολοκληρώματα στη σχέση -88- από ολοκληρώματα στο καθολικό σύστημα σε ολοκληρώματα στο τοπικό σύστημα συντεταγμένων.

Η διαδικασία που χρησιμοποιείται για τους μετασχηματισμούς αυτούς ονομάζεται *ισοπαραμετρική απεικόνιση*. Η ισοπαραμετρική θεώρηση βασίζεται στη χρήση ενός δευτέρου συστήματος συντεταγμένων το οποίο ορίζεται στο καρτεσιανό σύστημα μέσω μιας απεικόνισης που ονομάζεται φυσικό σύστημα (Εικ. 73). Ο όρος ισοπαραμετρικός εξηγείται από το γεγονός ότι τόσο οι συνιστώσες της μετατόπισης (u, v, w) όσο και οι καρτεσιανές συντεταγμένες (x, y, z) εκφράζονται ως προς τις αντίστοιχες επικόμβιες ποσότητες, με τις ίδιες συναρτήσεις παρεμβολής ή συναρτήσεις σχήματος. Εάν ο βαθμός του πολυωνύμου που ορίζει τις συντεταγμένες είναι μικρότερος από τον βαθμό του πολυωνύμου των μετατοπίσεων τότε η απεικόνιση θεωρείται υποπαραμετρική, ενώ στην αντίθετη περίπτωση θεωρείται υπερπαραμετρική. Στην παρούσα εργασία θα παρουσιαστεί η χρήση της ισοπαραμετρικής απεικόνισης.

⁸ Δηλαδή για κάθε διάνυσμα \mathbf{x} ισχύει $\mathbf{x}^T \mathbf{A} \mathbf{x} \geq 0$.



Εικόνα 73 – Ισοπαραμετρική απεικόνιση στοιχείου

Η ιδέα από την οποία ξεκίνησε η μέθοδος ήταν να παρασταθούν οι συντεταγμένες ενός οποιουδήποτε σημείου μέσα σε κάθε στοιχείο σύμφωνα με τον τρόπο που ορίστηκαν οι παραμορφώσεις συναρτήσει των κομβικών παραμέτρων. Έτσι ισχύει:

$$\mathbf{x} = \mathbf{N}' \mathbf{x}^e \quad (91)$$

Όπου $\mathbf{x}^T = [x, y, z]$, $(\mathbf{x}^e)^T = [x_1, y_1, z_1, \dots, x_8, y_8, z_8]$ και \mathbf{N}' το μητρώο των συναρτήσεων σχήματος, ίδιο στην περίπτωση που συμπίπτουν οι κόμβοι όπως στην παρούσα περίπτωση (εάν οι κόμβοι δεν σύμπτταν τότε να ήταν ανάλογο), με το μητρώο των συναρτήσεων σχήματος που βρέθηκε κατά την παρεμβολή των μετατοπίσεων.

Το \mathbf{N}' άρα και τα ν' είναι συναρτήσεις των ξ, η, ζ και παίρνουν τιμές στο κλειστό διάστημα $(-1,1)$. Αυτό σημαίνει ότι οι σχέσεις -91- δεν κάνουν τίποτα άλλο από το να πραγματοποιούν μία απεικόνιση του εξαεδρικού στοιχείου της εικόνας 73(α) από τον χώρο των φυσικών ή τοπικών συντεταγμένων στο καθολικό σύστημα. Δηλαδή ένα τυπικό αρχικό στοιχείο, το γενεσιουργό στοιχείο, που αναφέρεται σε ένα σύστημα φυσικών ή τοπικών συντεταγμένων μπορεί να απεικονισθεί με τη βοήθεια κατάλληλων συναρτήσεων σχήματος ν' σε ένα παραμορφώνω στοιχείο, το παράγωγο στοιχείο στο καρτεσιανό σύστημα.

Για τον πρώτο μετασχηματισμό έχοντας το σύστημα (ξ, η, ζ) των τοπικών συντεταγμένων να αντιστοιχεί στο (x, y, z) σύστημα των καθολικών συντεταγμένων και κάνοντας χρήση του κανόνα για την μερική διαφόριση προκύπτει:

$$\frac{\partial}{\partial \xi} = \frac{\partial}{\partial x} \frac{\partial x}{\partial \xi} + \frac{\partial}{\partial y} \frac{\partial y}{\partial \xi} + \frac{\partial}{\partial z} \frac{\partial z}{\partial \xi} \quad (92)$$

Πραγματοποιώντας αντίστοιχα τη διαφόριση και για τις άλλες δύο συντεταγμένες τελικά προκύπτει:

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial}{\partial \xi} \\ \frac{\partial}{\partial \eta} \\ \frac{\partial}{\partial \zeta} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial x}{\partial \xi} & \frac{\partial y}{\partial \xi} & \frac{\partial z}{\partial \xi} \\ \frac{\partial x}{\partial \eta} & \frac{\partial y}{\partial \eta} & \frac{\partial z}{\partial \eta} \\ \frac{\partial x}{\partial \zeta} & \frac{\partial y}{\partial \zeta} & \frac{\partial z}{\partial \zeta} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \frac{\partial}{\partial x} \\ \frac{\partial}{\partial y} \\ \frac{\partial}{\partial z} \end{pmatrix} = \mathbf{J} \begin{pmatrix} \frac{\partial}{\partial x} \\ \frac{\partial}{\partial y} \\ \frac{\partial}{\partial z} \end{pmatrix} \quad (93)$$

όπου \mathbf{J} το Ιακωβιανό μητρώο που συνδέει τις παραγώγους ως προς το τοπικό σύστημα συντεταγμένων με τις παραγώγους ως προς το καθολικό σύστημα συντεταγμένων. Το \mathbf{J} δίνεται συναρτήσει των τοπικών συντεταγμένων. Οπότε βάσει των συναρτήσεων σχήματος ν' που καθορίζουν τον μετασχηματισμό των συντεταγμένων ($\nu' = \nu$ στην παρούσα περίπτωση του ισοπαραμετρικού στοιχείου) το μητρώο \mathbf{J} γράφεται:

$$\mathbf{J} = \begin{bmatrix} \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \xi} x_i & \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \xi} y_i & \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \xi} z_i \\ \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \eta} x_i & \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \eta} y_i & \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \eta} z_i \\ \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \zeta} x_i & \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \zeta} y_i & \sum \frac{\partial \nu'_i}{\partial \zeta} z_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial \nu'_1}{\partial \xi} & \frac{\partial \nu'_2}{\partial \xi} & \frac{\partial \nu'_3}{\partial \xi} & \dots \\ \frac{\partial \nu'_1}{\partial \eta} & \frac{\partial \nu'_2}{\partial \eta} & \frac{\partial \nu'_3}{\partial \eta} & \dots \\ \frac{\partial \nu'_1}{\partial \zeta} & \frac{\partial \nu'_2}{\partial \zeta} & \frac{\partial \nu'_3}{\partial \zeta} & \dots \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 & y_1 & z_1 \\ x_2 & y_2 & z_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots \end{bmatrix} \quad (94)$$

Οπότε οι πρώτες παράγωγοι ως προς το καθολικό σύστημα συντεταγμένων λαμβάνοντας υπόψη τη σχέση -93- είναι:

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial}{\partial x} \\ \frac{\partial}{\partial y} \\ \frac{\partial}{\partial z} \end{pmatrix} = \mathbf{J}^{-1} \begin{pmatrix} \frac{\partial}{\partial \xi} \\ \frac{\partial}{\partial \eta} \\ \frac{\partial}{\partial \zeta} \end{pmatrix} \quad (95)$$

Για τον δεύτερο μετασχηματισμό όπου και απαιτείται αλλαγή τόσο στις μεταβλητές όσο και στα όρια ολοκλήρωσης, χρησιμοποιείται η σχέση:

$$dV = dx dy dz = (\det \mathbf{J}) d\xi d\eta d\zeta \quad (96)$$

όπου:

$$\det \mathbf{J} = \frac{\partial(x, y, z)}{\partial(\xi, \eta, \zeta)} \quad (97)$$

Θεωρώντας ότι το αντίστροφο του \mathbf{J} μπορεί να βρεθεί η κατά όγκο ολοκλήρωση που αντιστοιχεί στην εξίσωση -88- μπορεί να πραγματοποιηθεί ως ακολούθως:

$$\mathbf{k}^e = \int_{-1}^1 \int_{-1}^1 \int_{-1}^1 \mathbf{B}(\xi, \eta, \zeta)^T \mathbf{DB}(\det \mathbf{J}) d\xi d\eta d\zeta \quad (98)$$

Διαμόρφωση του τελικού συστήματος ακαμψίας

Η διαμόρφωση του τελικού συστήματος ακαμψίας μπορεί να γίνει είτε με τη διαδικασία ισορροπίας των επιμέρους κόμβων, είτε με την εφαρμογή της αρχής των δυνατών έργων, είτε με εποπτικό τρόπο (“ευρεστικό”). Η αρχή των δυνατών έργων δεν εκφράζει παρά την ισορροπία στο σύνολο των κόμβων του σώματος. Όμως η εφαρμογή της αρχής των δυνατών έργων επιτρέπει να εξεταστούν πιο γενικά μοντέλα από ότι η συνθήκη ισορροπίας των κόμβων. Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η αρχή των δυνατών έργων.

Συναθροισμένο μητρώο ακαμψίας

Αφού η γεωμετρία του προβλήματος έχει χωριστεί σε N πεπερασμένα στοιχεία τα δυνατά έργα θεωρούνται ως άθροισμα των δυνατών έργων των επιμέρους στοιχείων. Δηλαδή ισχύει:

$$\sum_{e=1}^N \left[\int_{V^e} \delta \mathbf{q}^T \mathbf{f} dV + \int_{S^e} \delta \mathbf{q}^T \mathbf{T} dS \right] = \sum_{e=1}^N \int_{V^e} \delta \boldsymbol{\varepsilon}^T \boldsymbol{\sigma} dV \quad (99)$$

Οπότε λαμβάνοντας υπόψη στις σχέσεις -79-, -80- η παραπάνω σχέση γίνεται:

$$\sum_{e=1}^N (\delta \mathbf{q}^e)^T \left\{ \int_{V^e} \mathbf{N}^T \mathbf{f} dV + \int_{S^e} \mathbf{N}^T \mathbf{T} dS + \int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \boldsymbol{\varepsilon}_0 dV - \left(\int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{D} \mathbf{B} dV \right) \mathbf{q}^e \right\} = 0 \quad (100)$$

Αν \mathbf{F}^e είναι το διάνυσμα της συνισταμένης του ισοδύναμου συστήματος των γενικευμένων κομβικών δυνάμεων του στοιχείου η παραπάνω σχέση γράφεται:

$$\sum_{e=1}^N (\delta \mathbf{q}^e)^T (\mathbf{F}^e - \mathbf{k}^e \mathbf{q}^e) = 0 \quad (101)$$

Η παραπάνω σχέση μπορεί να γραφτεί σε μητρωϊκή μορφή:

$$\begin{pmatrix} \delta \mathbf{q}^1 \\ \delta \mathbf{q}^2 \\ \vdots \\ \delta \mathbf{q}^e \\ \vdots \\ \delta \mathbf{q}^N \end{pmatrix}^T \left(\begin{pmatrix} \mathbf{F}^1 \\ \mathbf{F}^2 \\ \vdots \\ \mathbf{F}^e \\ \vdots \\ \mathbf{F}^N \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} \mathbf{k}^1 & 0 & \dots & 0 & \dots & 0 \\ 0 & \mathbf{k}^2 & & & & \vdots \\ \vdots & & \ddots & & & \vdots \\ 0 & \dots & \dots & \mathbf{k}^e & & 0 \\ \vdots & & & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & \dots & 0 & & \mathbf{k}^N \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mathbf{q}^1 \\ \mathbf{q}^2 \\ \vdots \\ \mathbf{q}^e \\ \vdots \\ \mathbf{q}^N \end{pmatrix} \right) = 0 \quad (102)$$

Ή σε πιο συμπυκνωμένη μορφή:

$$(\delta \mathbf{q}^*)^T (\mathbf{F}^* - \mathbf{K}^* \mathbf{q}^*) = 0 \quad (103)$$

όπου \mathbf{K}^* συμβολίζει το διαγώνιο υπερμητρώο (δηλαδή το μητρώο τα στοιχεία του οποίου είναι μητρώα) με στοιχεία τα $\mathbf{k}^1, \mathbf{k}^2, \dots, \mathbf{k}^e, \dots, \mathbf{k}^N$. Το \mathbf{F}^* είναι επίσης υπερμητρώο με στοιχεία τα $\mathbf{F}^1, \mathbf{F}^2, \dots, \mathbf{F}^e, \dots, \mathbf{F}^N$, δηλαδή τις γενικευμένες κομβικές δυνάμεις των N πεπερασμένων στοιχείων και \mathbf{q}^* το υπερμητρώο διάνυσμα με στοιχεία τα $\mathbf{q}^1, \mathbf{q}^2, \dots, \mathbf{q}^e, \dots, \mathbf{q}^N$, δηλαδή τις γενικευμένες κομβικές μετατοπίσεις των N πεπερασμένων στοιχείων. Τα μητρώα $\mathbf{F}^*, \mathbf{K}^*, \mathbf{q}^*$ λέγονται συναθροισμένα.

Σχηματισμός ολικού μητρώου ακαμψίας από το συναθροισμένο του

Τα στοιχεία του μητρώου \mathbf{q}^* δεν είναι μεταξύ τους εντελώς ανεξάρτητα, αφού κάθε κόμβος ανήκει σε περισσότερα από ένα στοιχεία. Έστω \mathbf{r} το μητρώο – διάνυσμα των kn μετατοπίσεων των n κόμβων του σώματος (όπου k ο αριθμός των κομβικών παραμέτρων κάθε κόμβου) και \mathbf{R} το μητρώο διάνυσμα των kn κομβικών δυνάμεων. Το διάνυσμα \mathbf{q}^* συνδέεται με το διάνυσμα \mathbf{r} με μία σχέση της μορφής:

$$\mathbf{q}^* = \mathbf{t}_1 \mathbf{r} \quad (104)$$

όπου \mathbf{t}_1 είναι ένα λογικό μητρώο (Boolean) συνεκτικότητας (connectivity) ή μετασχηματισμού (transformation) ανάλογα με την περίπτωση, διαστάσεων $ksN \times kn$ (όπου s ο αριθμός των κόμβων κάθε στοιχείου). Άρα το δυνατό έργο που παράγουν οι δυνάμεις \mathbf{F}^* κατά τις δυνατές μετατοπίσεις $\delta \mathbf{q}^*$ θα πρέπει να είναι ίσο με το έργο των δυνάμεων \mathbf{R} κατά τις δυνατές μετατοπίσεις $\delta \mathbf{r}$. Δηλαδή είναι:

$$(\delta \mathbf{q}^*)^T \mathbf{F}^* = \delta \mathbf{r}^T \mathbf{R} \quad (105)$$

Η παραπάνω σχέση μέσω της σχέσης -104- γίνεται:

$$\delta \mathbf{r}^T (\mathbf{t}_1^T \mathbf{F}^* - \mathbf{R}) (\delta \mathbf{q}^*)^T = 0 \quad (106)$$

Από την τελευταία σχέση προκύπτει:

$$\mathbf{R} = \mathbf{t}_1^T \mathbf{F}^* \quad (107)$$

Αντικαθιστώντας τις σχέσεις -107-, -105- στη σχέση -103- προκύπτει:

$$\delta \mathbf{r}^T (\mathbf{R} - \mathbf{t}_1^T \mathbf{K}^* \mathbf{t}_1 \mathbf{r}) = 0 \quad (108)$$

Και επειδή το $\delta \mathbf{r}$ είναι ένα τυχαίο διάνυσμα διάφορο του μηδενός τελικά ισχύει:

$$\boxed{\mathbf{K} \mathbf{r} = \mathbf{R}} \quad (109)$$

όπου:

$$\boxed{\mathbf{K} = \mathbf{t}_1^T \mathbf{K}^* \mathbf{t}_1} \quad (110)$$

είναι το ολικό μητρώο ακαμψίας της γεωμετρίας του προβλήματος.

Ιδιότητες του μητρώου ακαμψίας

Το ολικό μητρώο ακαμψίας παρουσιάζει ακριβώς τις ίδιες ιδιότητες με το μητρώο ακαμψίας του στοιχείου. Επιπλέον όμως το ολικό μητρώο ακαμψίας έχει πολλά μηδενικά στοιχεία αφού στην ισορροπία κάθε κόμβου συμμετέχουν μόνο τα στοιχεία που περιλαμβάνουν τον υπόψη κόμβο. Τα μηδενικά αυτά στοιχεία, ανάλογο με την τρόπο αρίθμησης των κόμβων, καταλαμβάνουν το άνω δεξιό και κάτω αριστερό τριγωνικό μέρος του μητρώου, δηλαδή το μητρώο αυτό έχει τη μορφή μητρώου – λωρίδας. Το πλάτος της λωρίδας μπορεί με κατάλληλη αρίθμηση να μειωθεί.

Επίλυση του τελικού συστήματος

Οι βασικές μέθοδοι για την επίλυση μεγάλων γραμμικών συστημάτων είναι οι *απευθείας μέθοδοι* και οι *επαναληπτικές μέθοδοι* (Τσαμασφύρος and Θεοτόκογλου 1989). Με τις πρώτες μεθόδους (Gauss, Gauss-Jordan, Cholesky, κλπ.) το μητρώο και επομένως οι άγνωστοι προσδιορίζονται απευθείας. Στις δεύτερες μεθόδους (επαναληπτική μέθοδος του Jacobi ή του ολικού βήματος, επαναληπτική μέθοδος των Gauss-Seidel ή του απλού βήματος, κλπ.) με μία σειρά συνεχών διορθώσεων των αρχικών εκτιμήσεων επιτυγχάνονται οι πραγματικές τιμές των αγνώστων.

Οι επαναληπτικές μέθοδοι είναι απαραίτητοι όταν υπάρχουν πάρα πολύ μεγάλα συστήματα, που είναι η συνήθης κατάσταση στη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Στα περισσότερα προβλήματα πεπερασμένων στοιχείων το μητρώο των συντελεστών έχει ορισμένες ιδιότητες όπως η συμμετρία και η μορφή μητρώου – λωρίδας. Επομένως, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τεχνικές που λαμβάνουν υπόψη αυτά τα χαρακτηριστικά των μητρώων έτσι ώστε να μειωθεί όσο το δυνατόν περισσότερο ο χώρος αποθήκευσης στη μνήμη του υπολογιστή, καθώς και ο χρόνος επίλυσης. Τέτοιες τεχνικές είναι για παράδειγμα οι τεχνικές μετώπου *frontal*.

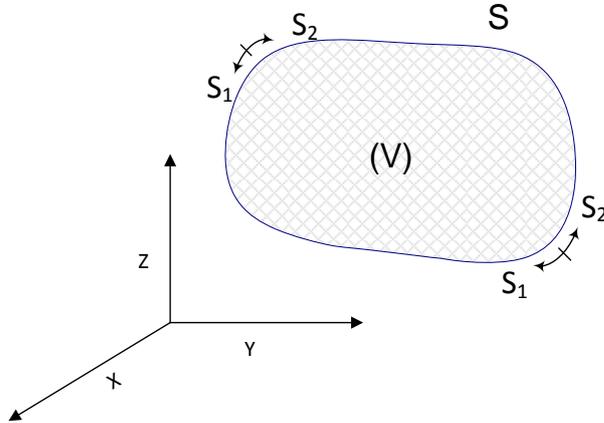
Άλλη μία τεχνική που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι η *στατική συμπύκνωση* όπου μία μεγάλη γεωμετρία μπορεί να χωριστεί σε υπο-γεωμετρίες απαλείφοντας τους εσωτερικούς κόμβους κάθε υπο-γεωμετρίας. Επιπλέον, σύγχρονες επαναληπτικές μέθοδοι έχουν προταθεί, στην περίπτωση των μεγάλων συστημάτων, όπως η *μέθοδος LANZOS*, η *Συζυγής Μέθοδος Κλίσης (Conjugate Gradient (CG) Method)* και η *Συζυγής Μέθοδος Κλίσης με Προ-συντήρηση (Preconditioning)*.

Γενικευμένη μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων

Αν και η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων συνήθως συνδέεται με προβλήματα ελαστικότητας ή πλαστικότητας σε διάφορες κατασκευές, η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται στην επίλυση και άλλων προβλημάτων του μηχανικού (Τσαμασφύρος and Θεοτόκογλου 1989). Γενικά, η μέθοδος των πεπερασμένων στοιχείων είναι μία προσεγγιστική μέθοδος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αριθμητική λύση οποιονδήποτε διαφορικών εξισώσεων. Η παρακάτω ανάλυση αφορά την γενικευμένη μέθοδο των σταθμικών υπολοίπων.

Ένα πρόβλημα μηχανικής γενικά ανάγεται στην επίλυση ενός συστήματος διαφορικών εξισώσεων στο χωρίο όγκου V όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (Μπουντουβής 1992; Τσαμασφύρος and Θεοτόκογλου 1989).

$$\mathbf{A}\mathbf{u} = \mathbf{f} \quad (111)$$



Εικόνα 74 – Χωρίο επίλυσης προβλήματος διαφορικής εξίσωσης

Η λύση \mathbf{u} της εξίσωσης πρέπει επίσης να ικανοποιεί τις οριακές συνθήκες στο όριο S (∂V) του χωρίου V .

$$\mathbf{B}\mathbf{u} = \mathbf{g} \quad (112)$$

Όπου \mathbf{A} είναι διαφορικός τελεστής, όχι απαραίτητα γραμμικός, που δρουν στην άγνωστη συνάρτηση \mathbf{u} και \mathbf{B} είναι ένας «συνοριακός» τελεστής ορισμένος στο σύνορο, ∂V , του χωρίου V . Η \mathbf{u} μπορεί να είναι ένα βαθμωτό μέγεθος ή ένα διάνυσμα με πολλές συνιστώσες.

Η λύση \mathbf{u} είναι συνάρτηση της θέσης \mathbf{x} στο χωρίο V που είναι (υπο)περιοχή ενός μονό-, δι- ή τρι-διάστατου Ευκλείδειου χώρου. Το διάνυσμα θέσης \mathbf{x} ορίζεται από τις συντεταγμένες, x_i , κάθε σημείου στο V .

$$\mathbf{x} = \sum_{i=1}^n x_i \mathbf{e}_i \quad (113)$$

Όπου \mathbf{e}_i είναι τα μοναδιαία διανύσματα στους άξονες συντεταγμένων και n η διάσταση του Ευκλείδειου χώρου. Οι συναρτήσεις \mathbf{f} και \mathbf{g} είναι γνωστές συναρτήσεις θέσης, ορισμένες στα V και ∂V , αντίστοιχα.

Δηλαδή η εξίσωση -111- είναι μία διαφορική εξίσωση, συνήθης ή με μερικές παραγώγους, και η -112- είναι οι συνοριακές συνθήκες που πρέπει να ικανοποιεί η λύση της διαφορικής εξίσωσης.

Εξισώσεις πεπερασμένων στοιχείων προβλήματος ροής

Θεωρείται μία σταθερή ασυμπίεστη αστρόβιλη ροή σε ένα τρισδιάστατο χώρο ροής (V) περιορισμένο από μία επιφάνεια S (βλ. Εικόνα 74). Το πρόβλημα κυριαρχείται από την αρχή διατήρησης της μάζας.

$$\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} = 0 \quad (114)$$

Χρησιμοποιώντας μία *συνάρτηση δυναμικού* Φ , οι συνιστώσες της ταχύτητας ορίζονται ως εξής:

$$u = -\frac{\partial \Phi}{\partial x}, \quad v = -\frac{\partial \Phi}{\partial y}, \quad w = -\frac{\partial \Phi}{\partial z} \quad (115)$$

Το αρνητικό πρόσημο σημαίνει ότι η θετική διεύθυνση της ροής είναι στη διεύθυνση μείωσης της Φ . Αντικαθιστώντας την τελευταία σχέση στη σχέση -114- προκύπτει ότι η Φ ικανοποιεί την εξίσωση Laplace⁹.

Το δυναμικό Φ και οι συνιστώσες στο τυχόν στοιχείο (e), εκφράζονται συναρτήσει των συναρτήσεων σχήματος ως ακολούθως:

$$\begin{aligned} \Phi(x, y, z) &= \sum_{i=1}^m v_i(x, y, z) \Phi_i \\ u(x, y, z) &= \sum_{i=1}^m \frac{\partial v_i}{\partial x}(x, y, z) \Phi_i \\ v(x, y, z) &= \sum_{i=1}^m \frac{\partial v_i}{\partial y}(x, y, z) \Phi_i \\ w(x, y, z) &= \sum_{i=1}^m \frac{\partial v_i}{\partial z}(x, y, z) \Phi_i \end{aligned} \quad (116)$$

Ή σε μητρική μορφή:

$$\Phi(x, y, z) = \mathbf{N}(x, y, z) \mathbf{\Phi}^e \quad (117)$$

$$\begin{Bmatrix} u \\ v \\ w \end{Bmatrix} = -\mathbf{B}(x, y, z) \mathbf{\Phi}^e \quad (118)$$

⁹ Εξίσωση Laplace: $\Delta \Phi = 0$ ή $\nabla^2 \Phi = 0$ ή $\frac{\partial^2 \Phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Phi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \Phi}{\partial z^2} = 0$

Για να σχηματιστούν οι εξισώσεις ενός τυχόν στοιχείου (e), χρησιμοποιείται η μέθοδος των σταθμισμένων υπολοίπων, που αναλύθηκε σε προηγούμενη παράγραφο. Βάσει της εξίσωσης -114- είναι:

$$\int_{V^e} \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} \right) v_i dV = 0, \quad i = 1, 2, \dots, m \quad (119)$$

Ολοκληρώνοντας την παραπάνω εξίσωση σύμφωνα με το θεώρημα των Green-Gauss και εκφράζοντας το επιφανειακό ολοκλήρωμα ως το άθροισμα των ολοκληρωμάτων στις επιφάνειες S_1 και S_2 προκύπτει το παρακάτω.

$$\int_{V^e} \left(\frac{\partial v_i}{\partial x} + \frac{\partial v_i}{\partial y} + \frac{\partial v_i}{\partial z} \right) \begin{Bmatrix} u \\ v \\ w \end{Bmatrix} dV = \int_{S_1} (\mathbf{v} \cdot \mathbf{n}) v_i dS + \int_{S_2} v_n v_i dS \quad (120)$$

Εισάγοντας τις ταχύτητες του στοιχείου από την εξίσωση -118- εμφανίζονται τελικά οι εξισώσεις του στοιχείου.

$$\mathbf{k}^e \Phi^e = \mathbf{F}_{s_1}^e + \mathbf{F}_{s_2}^e \quad (121)$$

Όπου:

$$\mathbf{k}^e = \int_{V^e} \mathbf{B}^T \mathbf{B} dV \quad (122)$$

$$\mathbf{F}_{s_1}^e = \int_{S_1} (\mathbf{v} \cdot \mathbf{n}) \mathbf{N}^T dS \quad (123)$$

$$\mathbf{F}_{s_2}^e = \int_{S_2} v_n \mathbf{N}^T dS \quad (124)$$

Το μικρό \mathbf{k}^e είναι αντίστοιχο με το μητρώο ακαμψίας του στοιχείου το διάνυσμα $\mathbf{F}_{s_1}^e$ παριστάνει τις «αντιδράσεις» στους κόμβους που αντιστοιχούν σε καθορισμένες τιμές της Φ στο S_1 ενώ το διάνυσμα $\mathbf{F}_{s_2}^e$ αντιστοιχεί σε γνωστές τιμές του v_n στο S_2 . Η συνάθροιση των εξισώσεων των στοιχείων του \mathbf{N} και η διαμόρφωση του τελικού συστήματος ακολουθεί τη διαδικασία που περιγράφεται σε προηγούμενη παράγραφο.

Παράρτημα Β

Σε αυτό το παράρτημα παρουσιάζεται ο κώδικας Matlab μέσω του οποίου λύνεται υπολογιστικά το πρόβλημα ελέγχου θερμοκρασίας διάταξης μPCR ΣΘ. Ο κώδικας αυτός δέχεται ως είσοδο αρχείο Comsol στο οποίο έχει οριστεί το φυσικό πρόβλημα της διάταξης, όπως ορίζεται στην παράγραφο 3.2.

Κώδικας προσομοίωσης λειτουργίας ελεγκτή θερμοκρασίας

Όνομα αρχείου: *main.m*

```
ModelUtil.showProgress(true);
%% PID values
Kp = 0.1;
Ki = 0.032;
Kd = 0.0045;
%% temperatures
Tden = 368.15;
Tann = 328.15;
Text = 345.15;
Tenv = 293.15;
setpoint = Tden;
%% test duration
tDen = 3.0153;
tAnn = 4.1952;
tExt = 6.2000;
tCurrentDen = 0;
tCurrentAnn = 0;
tCurrentExt = 0;
Tband = 2.0;
%% errors
integral = 0;
error = setpoint - Tenv;
errorPrevious = 0;
%% time interval
dt = 0.1;
%% Iterate for completing protocol
n = 0;
for cycles = 1:10
    denStatus = 0;
    annStatus = 0;
    extStatus = 0;
    while ~(denStatus==2 && annStatus==2 && extStatus==2)
        %% calculate input in PID
        integral = integral + error*dt;
        derivative = (error-errorPrevious)/dt;
        input = Kp*error + Ki*integral + Kd*derivative;
        if input<=0
            %%current must not be less than zero
            input = 0.01;
            integral = 0;
        end
        logFile(strcat('setting input current density to:
',num2str(input)));
        %% measure response from plant
        currentResult = plant(input, n, dt);
        %% find errors
        if (denStatus==0 && annStatus==0 && extStatus==0 &&
currentResult<Tden+Tband/2 && currentResult>Tden-Tband/2)
```

```

        denStatus = 1;
        elseif (denStatus==1 && annStatus==0 && extStatus==0 &&
currentResult<Tden+Tband/2 && currentResult>Tden-Tband/2)
            tCurrentDen = tCurrentDen + dt;
            if tCurrentDen>tDen
                denStatus = 2;
                setpoint = Tann;
                integral = 0;
                tCurrentDen = 0;
            end
            elseif (denStatus==2 && annStatus==0 && extStatus==0 &&
currentResult<Tann+Tband/2 && currentResult>Tann-Tband/2)
                annStatus = 1;
                elseif (denStatus==2 && annStatus==1 && extStatus==0 &&
currentResult<Tann+Tband/2 && currentResult>Tann-Tband/2)
                    tCurrentAnn = tCurrentAnn + dt;
                    if tCurrentAnn>tAnn
                        annStatus = 2;
                        setpoint = Text;
                        integral = 0;
                        tCurrentAnn = 0;
                    end
                    elseif (denStatus==2 && annStatus==2 && extStatus==0 &&
currentResult<Text+Tband/2 && currentResult>Text-Tband/2)
                        extStatus = 1;
                        elseif (denStatus==2 && annStatus==2 && extStatus==1 &&
currentResult<Text+Tband/2 && currentResult>Text-Tband/2)
                            tCurrentExt = tCurrentExt + dt;
                            if tCurrentExt>tExt
                                extStatus = 2;
                                setpoint = Tden;
                                integral = 0;
                                tCurrentExt = 0;
                            end
                        end
                    end
                errorPrevious = error;
                error = setpoint - currentResult;
                n = n + 1;
            end
        end
end
end

```

Κώδικας υπολογισμού φυσικού προβλήματος

Όνομα αρχείου: plant.m

```

function out = plant(current, iteration, interval)
    %% opening model
    model = mphload(strcat('staticPCR-Joule-Time-h5-
radiation',num2str(iteration),'.mph'));
    %% Setting new value
    model.param.set('jCurrent',strcat(num2str(current),'e8[A/m^2]'));
    %% Running model
    model.sol('sol2').runAll;
    %% Create tables
    %... for Mean Temperature
    model.result.table.create('tbl1', 'Table');
    model.result.table('tbl1').comments('Volume Average 1 (T)');
    %...for Power
    model.result.table.create('tbl2', 'Table');

```

```

    model.result.table('tbl2').comments('Volume Integration 1
(ec.Qh)');
    %...for C_S1S2
    model.result.table.create('tbl3', 'Table');
    model.result.table('tbl3').comments('Volume Average 2
(mol/m^3)');
    %...for C_S1
    model.result.table.create('tbl4', 'Table');
    model.result.table('tbl4').comments('Volume Average 3
(mol/m^3)');
    %...for C_S2
    model.result.table.create('tbl5', 'Table');
    model.result.table('tbl5').comments('Volume Average 4
(mol/m^3)');
    %...for C_P1
    model.result.table.create('tbl6', 'Table');
    model.result.table('tbl6').comments('Volume Average 5
(mol/m^3)');
    %...for C_P2
    model.result.table.create('tbl7', 'Table');
    model.result.table('tbl7').comments('Volume Average 6
(mol/m^3)');
    %...for C_S1P2
    model.result.table.create('tbl8', 'Table');
    model.result.table('tbl8').comments('Volume Average 7
(mol/m^3)');
    %...for C_P1S2
    model.result.table.create('tbl9', 'Table');
    model.result.table('tbl9').comments('Volume Average 8
(mol/m^3)');
    %% Create derived values
    if iteration==0
        %... for Mean Temperature
        model.result.numerical.create('av1', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av1').selection.named('sel1');
        model.result.numerical('av1').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av1').set('expr', 'T');
        model.result.numerical('av1').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for Power
        model.result.numerical.create('int1', 'IntVolume');
        model.result.numerical('int1').selection.named('sel2');
        model.result.numerical('int1').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('int1').set('expr', 'ec.Qh');
        %...for C_S1S2
        model.result.numerical.create('av2', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av2').selection.named('sel1');
        model.result.numerical('av2').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av2').set('expr', 'c_S1S2');
        model.result.numerical('av2').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for C_S1
        model.result.numerical.create('av3', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av3').selection.named('sel1');
        model.result.numerical('av3').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av3').set('expr', 'c_S1');
        model.result.numerical('av3').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for C_S2
        model.result.numerical.create('av4', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av4').selection.named('sel1');

```

```

        model.result.numerical('av4').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av4').set('expr', 'c_S2');
        model.result.numerical('av4').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for C_P1
        model.result.numerical.create('av5', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av5').selection.named('sell');
        model.result.numerical('av5').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av5').set('expr', 'c_P1');
        model.result.numerical('av5').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for C_P2
        model.result.numerical.create('av6', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av6').selection.named('sell');
        model.result.numerical('av6').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av6').set('expr', 'c_P2');
        model.result.numerical('av6').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for C_S1P2
        model.result.numerical.create('av7', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av7').selection.named('sell');
        model.result.numerical('av7').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av7').set('expr', 'c_S1P2');
        model.result.numerical('av7').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
        %...for C_P1S2
        model.result.numerical.create('av8', 'AvVolume');
        model.result.numerical('av8').selection.named('sell');
        model.result.numerical('av8').set('data', 'dset2');
        model.result.numerical('av8').set('expr', 'c_P1S2');
        model.result.numerical('av8').setIndex('looplevelinput',
'last', 0);
    end
    %% Fill tables with derived values
    %...for Mean Temperature
    model.result.numerical('av1').set('table', 'tbl1');
    model.result.numerical('av1').setResult;
    %...for Power
    model.result.numerical('int1').set('table', 'tbl2');
    model.result.numerical('int1').setResult;
    %...for C_S1S2
    model.result.numerical('av2').set('table', 'tbl3');
    model.result.numerical('av2').setResult;
    %...for C_S1
    model.result.numerical('av3').set('table', 'tbl4');
    model.result.numerical('av3').setResult;
    %...for C_S2
    model.result.numerical('av4').set('table', 'tbl5');
    model.result.numerical('av4').setResult;
    %...for C_P1
    model.result.numerical('av5').set('table', 'tbl6');
    model.result.numerical('av5').setResult;
    %...for C_P2
    model.result.numerical('av6').set('table', 'tbl7');
    model.result.numerical('av6').setResult;
    %...for C_S1P2
    model.result.numerical('av7').set('table', 'tbl8');
    model.result.numerical('av7').setResult;
    %...for C_P1S2
    model.result.numerical('av8').set('table', 'tbl9');
    model.result.numerical('av8').setResult;

```

```

%% Get last values
%...of Mean Temperature
outTempMatrix = model.result.table('tbl1').getReal();
out = outTempMatrix(end,2);
%...of Power
outPowerMatrix = model.result.table('tbl2').getReal();
power = outPowerMatrix(end,2);
%...of C_S1S2
outC_S1S2Matrix = model.result.table('tbl3').getReal();
C_S1S2 = outC_S1S2Matrix(end,2);
%...of C_S1
outC_S1Matrix = model.result.table('tbl4').getReal();
C_S1 = outC_S1Matrix(end,2);
%...of C_S2
outC_S2Matrix = model.result.table('tbl5').getReal();
C_S2 = outC_S2Matrix(end,2);
%...of C_P1
outC_P1Matrix = model.result.table('tbl6').getReal();
C_P1 = outC_P1Matrix(end,2);
%...of C_P2
outC_P2Matrix = model.result.table('tbl7').getReal();
C_P2 = outC_P2Matrix(end,2);
%...of C_S1P2
outC_S1P2Matrix = model.result.table('tbl8').getReal();
C_S1P2 = outC_S1P2Matrix(end,2);
%...of C_P1S2
outC_P1S2Matrix = model.result.table('tbl9').getReal();
C_P1S2 = outC_P1S2Matrix(end,2);
%% Delete tables
model.result.table.remove('tbl1');
model.result.table.remove('tbl2');
model.result.table.remove('tbl3');
model.result.table.remove('tbl4');
model.result.table.remove('tbl5');
model.result.table.remove('tbl6');
model.result.table.remove('tbl7');
model.result.table.remove('tbl8');
model.result.table.remove('tbl9');
%% save model
if iteration==0
    model.study('std2').feature('time').set('useinitsol', 'on');
    model.study('std2').feature('time').set('initmethod', 'sol');
    model.study('std2').feature('time').set('initstudy', 'std2');
    model.study('std2').feature('time').set('solnum', 'last');
end
logFile(strcat('mean temperature and power:
', num2str((iteration+1)*interval), '\t', num2str(out), '\t', num2str(power),
'\t', num2str(C_S1S2), '\t', num2str(C_S1), '\t', num2str(C_S2), '\t', num2str(C_P1),
'\t', num2str(C_P2), '\t', num2str(C_S1P2), '\t', num2str(C_P1S2)));
    model.save(strcat('/home/user/Desktop/ioanna-vasilis/static-control/controlStaticWithKinetics/staticPCR-Joule-Time-h5-radiation', num2str(iteration+1), '.mph'));
    delete(strcat('/home/user/Desktop/ioanna-vasilis/static-control/controlStaticWithKinetics/staticPCR-Joule-Time-h5-radiation', num2str(iteration), '.mph'));
end

```

Κώδικας εγγραφής αρχείου καταγραφής

Όνομα αρχείου: *logFile.m*

```
function [] = logFile( StringValue )
%
a = datestr(now, 'yy/mm/dd HH:MM:SS AM');
b = ': ';
c = StringValue;
str = [a b c];
disp(str);    % Equivalent to horzcat(a, b)

if exist('logs.txt', 'file')==2
    fileID = fopen('logs.txt', 'a');
else
    fileID = fopen('logs.txt', 'w');
end
fprintf(fileID, str);
fprintf(fileID, '\n');
fclose(fileID);

end
```