



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ»

Κατασκευή Μικρο-Χρωματογραφικής Διάταξης σε
Πολυμερές Κυκλο-Ολεφίνης.
Πειραματική και Υπολογιστική Μελέτη Αυτής.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΟΥ
Κουρμπέτη Ιωάννη

Επιβλέπων Ερευνητής:

Γογγολίδης Ευάγγελος, Ερευνητής Α'

Ίδρυμα:

Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος"

Αθήνα

2016



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ»

Κατασκευή Μικρο-Χρωματογραφικής Διάταξης σε
Πολυμερές Κυκλο-Ολεφίνης.
Πειραματική και Υπολογιστική Μελέτη Αυτής.

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΤΟΥ
Κουρμπέτη Ιωάννη

Επιβλέπων Ερευνητής: Γογγολίδης Ευάγγελος, Ερευνητής Α'
Ίδρυμα: Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος"

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 03 Νοεμβρίου 2016

Ερευνητής Α' Γογγολίδης Ευάγγελος, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος"
Ερευνήτρια Α', Τσερέπη Αγγελική, Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος"
Καθηγητής Τσουκαλάς Δημήτριος, ΕΜΠ - ΣΕΜΦΕ

Αθήνα
2016

.....
Κουρμπέτης Ιωάννης

© (2016) Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο. All rights Reserved. Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς το συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σ' αυτό το έγγραφο εκφράζουν το συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευτεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Ευχαριστίες

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου προς τον Επιβλέποντα Καθηγητή Ερευνητή Α' Γογγολίδη Ευάγγελο για την καθοδήγησή του καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας καθώς και προς το σύνολο της Ομάδας Πλάσμα (Plasma Group) του Ινστιτούτου Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας για την βοήθεια τους. Ιδιαίτερος θα ήθελα να ευχαριστήσω την Διδακτορικό Αθηνά Καστανιά για την συνεχή επίβλεψη και υποστήριξη της κατά τη διεξαγωγή των δοκιμών και πειραμάτων και τον Συνεργαζόμενο Ερευνητή Γεώργιο Κόκκορη για την καθοδήγησή του στην εκτέλεση της υπολογιστικής μελέτης.

Περίληψη

Καθώς ένα διάλυμα ρέει διαμέσου κατάλληλου υποστρώματος, τα επιμέρους συστατικά του είναι δυνατόν να κινούνται με διαφορετική ταχύτητα με συνέπεια τον τελικό διαχωρισμό τους. Η παρατήρηση αυτή στις αρχές του προηγούμενου αιώνα οδήγησε στην ανάπτυξη της χρωματογραφίας. Έκτοτε η εξέλιξη της μεθόδου υπήρξε διαρκής και καθιέρωσε την χρωματογραφία ως βασική μέθοδο αναλύσεων σε κλάδους όπως η φαρμακευτική, η χημική βιομηχανία, η βιομηχανία τροφίμων κλπ. Η ανάπτυξη νέων υλικών και μεθόδων κατασκευής των επέτρεψε τη δημιουργία διαφόρων δομών για τη σύνθεση του υποστρώματος.

Η υιοθέτηση των κατασκευαστικών μεθόδων της μικροηλεκτρονικής έδωσε τη δυνατότητα για την κατασκευή επίπεδων διατάξεων σε δισκίδιο Si και την ενσωμάτωση αυτών σε ψηφίδες. Με την σμίκρυνση των διαστάσεων στην μικρο και νάνο κλίμακα καθώς και τη βελτιστοποίηση της γεωμετρίας και των χρησιμοποιούμενων αντιδραστηρίων η ικανότητα διαχωρισμού σύνθετων μειγμάτων αυξήθηκε σημαντικά με ταυτόχρονη μείωση του απαιτούμενου χρόνου ανάλυσης. Ωστόσο σημαντικός παράμετρος παραμένει το υψηλό κόστος τόσο των πρώτων υλών όσο και των μεθόδων κατασκευής. Περαιτέρω εξέλιξη στον τομέα των χρωματογραφικών αναλύσεων καθιστά αναγκαία τη δυνατότητα κατασκευής διατάξεων υψηλών προδιαγραφών, αναλώσιμης όμως φύσεως και μικρού κόστους σε μικροψηφίδα με την βοήθεια της μικροτεχνολογίας.

Στο πνεύμα αυτό, με την παρούσα εργασία επιδεικνύεται η δυνατότητα κατασκευής μικροχρωματογραφικής στήλης δομημένης διάταξης σε φύλλο πολυμερούς COP (Cyclo-Olefin Polymer) με μικροτεχνολογία.

Αρχικά η γεωμετρία της διάταξης εγχαράσσεται σε δισκίδιο πυριτίου ως “αρνητική” εικόνα με χρήση κλασσικών τεχνικών κατασκευής ολοκληρωμένων κυκλωμάτων. Εν συνεχεία, αυτή αποτυπώνεται εν θερμώ (Hot Embossing) σε φύλλο πολυμερούς πάχους 2 χιλιοστών. Σε δεύτερο χρόνο το σχηματοποιημένο κανάλι σφραγίζεται με φιλμ (0.2 χιλιοστών) από το ίδιο υλικό. Η θερμική στεγανοποίηση υπό τις χρησιμοποιούμενες συνθήκες κρίνεται επαρκής για την λειτουργία της διάταξης σε ροές της τάξης των 10μL/min, αντέχοντας πίεση μέχρι και 20 bars.

Η πρόβλεψη της συμπεριφοράς της εν λόγω διάταξης επιδιώκεται μέσω υπολογιστικής ανάλυσης με χρήση προγράμματος Πεπερασμένων Στοιχείων. Επιλύοντας το αντίστροφο πρόβλημα, γίνεται εκτίμηση της αλληλεπίδρασης χημικών ουσιών με το υλικό του υποστρώματος, με χρήση πειραματικών αποτελεσμάτων υγρής χρωματογραφίας ανάστροφης φάσης σε διαφορετική γεωμετρία διάταξης. Οι εξαγόμενες σταθερές αλληλεπίδρασης αποτελούν τη βάση για την εκτίμηση της

συμπεριφοράς της παρούσας χρωματογραφικής διάταξης στον διαχωρισμό των ίδιων χημικών ουσιών.

Τέλος, η συμπεριφορά της κατασκευασθείσας στήλης χρωματογραφίας μελετάται και πειραματικά μέσω της εκτέλεσης αναλύσεων με σκοπό την αξιολόγηση και των υπολογιστικών προβλέψεων.

Λέξεις Κλειδιά.

Υγρή Χρωματογραφία Ανάστροφης Φάσης, COP (Cyclo-Olefin Polymer), Αποτύπωση εν θερμώ, Προσομοίωση

Abstract

When a solution flows through a proper substrate, the various ingredients move at different velocities and finally they are separated. At the beginning of previous century, this observation led to the development of chromatography. Since then continuous evolution has made chromatography the main method for analysis in scientific areas like chemistry, pharmaceuticals, food industry etc. New materials and new methods of production allowed the synthesis of various structures to act as substrates.

Adopting manufacturing techniques from microelectronics industry new potentials were emerged by constructing planar chromatographic columns in Si wafer and incorporating them in chips. Scaling down to micro and nano dimensions, optimization of geometry and evolution of reagents have brought significant improvements in chromatography by increasing resolution and decreasing analysis time correspondingly. However the high cost of materials and applied techniques remains one of the main drawbacks. Further improvement necessitates the introduction of disposable devices with similar specifications but at lower manufacturing cost by taking advantage of the microelectronics technology.

Pointing to this direction, the present thesis manifests the possibility of using microengineering techniques to build a chromatographic micro-column with an ordered array of cylindrical pillars using Cyclo-Olefin Polymer plate as a substrate.

Having etched the geometry of the device at a silicon wafer by using classic "clean-room" techniques, the master pattern was fabricated. The pattern was transferred to the COP polymeric plate of 2mm thickness by Hot Embossing. The chromatographic micro-column was sealed using a polymeric sheet of the same material by Thermal Bonding. Testing the chip device at normal operation conditions (up to 10 μ L/min flow), the sealed structure could withstand pressures up to 20 bars without any leakage.

The behaviour of the microcolumn was predicted by 2-D simulations in FEA software. Initially the interaction between chemical substances and the substrate was estimated by using older experimental data of RPLC analysis. Then the behaviour of the current chromatographic column was predicted as far as analysis of the same chemical substances is concerned.

Finally the chromatographic column that was constructed during this thesis, it was experimentally evaluated via analysis whilst the experimental data were used for estimating the validity of computational results.

Keywords.

Reverse Phase Liquid Chromatography, COP (Cyclic Olefin Polymer), Hot Embossing, Simulation

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1	Εισαγωγή	17
1.1	Εισαγωγή στους Χημικούς Διαχωρισμούς σε Μικροψηφίδα	17
1.2	Σκοπός Εργασίας	18
2	Βιβλιογραφική Επισκόπηση	21
2.1	Αρχές – Τύποι Χρωματογραφίας	21
2.2	Βασικές Έννοιες Χρωματογραφίας	24
2.3	Αξιολόγηση – Σύγκριση Συστημάτων Χρωματογραφίας	28
2.4	Χρωματογραφία σε Ψηφίδα	32
2.5	Κατασκευή Μικρορευστονικών Διατάξεων σε Πολυμερή Υλικά	39
2.5.1	Αποτύπωση εν Θερμώ (Hot Embossing)	40
2.5.2	Στεγανοποίηση Χρωματογραφικών Διατάξεων	43
2.6	Υπολογιστική Προσομοίωση Διατάξεων Χρωματογραφίας σε Ψηφίδα	45
3	Πειραματικό Μέρος – Κατασκευή Διάταξης Χρωματογραφίας	49
3.1	Εισαγωγή	49
3.2	Επιλογή Υλικού	49
3.3	Χρησιμοποιούμενος Εξοπλισμός	50
3.4	Επιλογή Δομής Καναλιού	52
3.5	Κατασκευή Πρωτοτύπου	53
3.5.1	Διαδικασία Κατασκευής Πρωτοτύπου	53
3.5.2	Εναπόθεση Αντικολλητικού Στρώματος	55
3.6	Αποτύπωση Δομημένου Καναλιού σε Πολυμερές	56
3.6.1	Διαδικασία Αποτύπωσης	56
3.6.2	Βελτιστοποίηση Παραμέτρων	57
3.7	Στεγανοποίηση Δομημένων Καναλιών	67
3.7.1	Βελτιστοποίηση Παραμέτρων	67
3.7.2	Δοκιμές Στεγανοποιημένων Καναλιών	73
4	Προσομοίωση Ροής σε Χρωματογραφική Διάταξη	77
4.1	Εισαγωγή	77
4.2	Μαθηματική Διατύπωση Φαινομένων	77
4.2.1	Ροή Κινητής Φάσης	77
4.2.2	Μεταφορά Χημικών Ουσιών	78
4.2.3	Αντιδράσεις Προσρόφησης και Εκροφήσης	79
4.3	Προσομοίωση Φαινομένων στο COMSOL	80
4.4	Αναλυτική Επαλήθευση Μοντέλου	81
4.4.1	Ανεξαρτησία Λύσης από το Υπολογιστικό Πλέγμα	82
4.4.2	Μελέτη Ρυθμών Αντιδράσεων Προσρόφησης και Εκρόφησης	84
4.5	Μοντελοποίηση Προβλήματος	85
4.5.1	Ορισμός Προβλήματος	85
4.5.2	Προσομοίωση Φαινομένων	86
4.5.3	Παραδοχές	88

4.6	Αποτελέσματα Προσομοιώσεων.....	90
4.6.1	Επίλυση Αντίστροφου Προβλήματος για Εξαγωγή Σταθερών Αντιδράσεων	90
4.6.2	Χρήση Εξαγόμενων Σταθερών για Εκτίμηση Αποτελεσμάτων Αναλύσεων.....	96
5	Χρωματογραφικοί Διαχωρισμοί.....	103
5.1	Εισαγωγή.....	103
5.2	Χρησιμοποιούμενα Αναλώσιμα	103
5.3	Εκτέλεση Πειραμάτων Χρωματογραφίας	104
5.3.1	Περιγραφή Διάταξης	104
5.3.2	Διαδικασία Εκτέλεσης Πειραμάτων	106
5.3.3	Αποτελέσματα Πειραμάτων Χρωματογραφίας.....	107
6	Σχολιασμός - Συμπεράσματα	113
7	Βιβλιογραφία	119
	Παράρτημα Α.....	127
	Βελτιστοποίηση Συνθηκών Αποτύπωσης εν Θερμώ	127
	Παράρτημα Β.....	131
	Αποτελέσματα Προσομοιώσεων Χρωματογραφικής Ανάλυσης σε Στήλης με Ρομβοειδής Μικρο-κίονες	131
	Παράρτημα Γ	135
	Αποτελέσματα Προσομοιώσεων Χρωματογραφικής Ανάλυσης σε Στήλη με Κυλινδρικούς Μικρο-κίονες.....	135
	Παράρτημα Δ.....	137
	Αποτελέσματα Πειραμάτων Χρωματογραφίας.....	137

ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας χρωματογραφικού διαχωρισμού ³⁰	22
Εικόνα 2: Κατηγοριοποίηση Τεχνικών Χρωματογραφίας ³⁰	22
Εικόνα 3: Ροή αναλύτη σε ένα σύστημα χρωματογραφίας ³⁵	25
Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση χρωματογράμματος ³⁰	26
Εικόνα 5: Ανομοιομορφία στη ροή της κινητής φάσης διαμέσου των δομών της στάσιμης ²⁹	29
Εικόνα 6: Γραφική παράσταση εξίσωσης van Deemter ²⁹	30
Εικόνα 7: Κινητικό Διάγραμμα (N,E) ⁴⁵	31
Εικόνα 8: Χαρακτηριστικές εκδοχές στάσιμης φάσης σε μικρορρευστονικό κανάλι: (α) σφαιρικά σωματίδια ⁴⁸ , (β) μονολιθικής δομής ⁴⁹ , (γ) διάταξης μικρο-κίωνων ⁵⁰	33
Εικόνα 9: Χρωματογραφική στήλη με (α) επίπεδο τοίχο και (β) ενσωματωμένους κίονες ⁴	34
Εικόνα 10: Καμπύλες van Deemter για διαχωρισμό 3 χρωστικών (C440, C460, C480) σε χρωματογραφική στήλη κυλινδρικών κίωνων εγχαραγμένη σε Si με απόθεση C-8 (συνεχείς καμπύλες) ⁶ . Σύγκριση με αναλύσεις σε στήλες με σφαιρικά σωματίδια (διακεκομμένες γραμμές).....	35
Εικόνα 11: (α) Δημιουργία πορώδους επιφάνειας σε κυλινδρικούς μικροκίονες με ηλεκτροχημική ανοδίωση. (β) Καμπύλες van Deemter για διαφορετικό πάχος πορώδους επιφάνειας. Αύξηση του πάχους συνεπάγεται και μεγαλύτερο συντελεστή k ⁶²	35
Εικόνα 12: Αύξηση της ενεργού επιφάνειας σε PAC με ανάπτυξη μονολιθικής δομής (α) ως διακλώσεις κάθετες στην επιφάνεια των κίωνων και (β) ως ένα εξωτερικό περίβλημα που τους διαβρέχει ⁵³	36
Εικόνα 13: (α) Ανάπτυξη νανοσωληνών άνθρακα σε ρομβοειδής μικροκίονες. (β) Χρωματογράμματα για στήλη με C-18 (επάνω) και νανοσωληνών άνθρακα (κάτω) ⁹	36
Εικόνα 14: Ανάπτυξη οξειδίου του Si με PECVD σε επιφάνεια κίωνων με πολύ μεγάλο γεωμετρικό λόγο διαμέτρου/ύψους. Το σχηματιζόμενο οξείδιο παρέχει πορώδη επιφάνεια αλλά προκαλεί συνένωση των κίωνων στην κορυφή τους με αποτέλεσμα την στήριξή τους και τη στεγανοποίηση του καναλιού ^{55,56}	37
Εικόνα 15: Διασύνδεση σε σειρά πολλαπλών χρωματογραφικών στηλών μέσω (α) βελτιστοποίηση της γεωμετρίας στροφής ⁵⁸ και (β) χρήσης διανομέα εισόδου-εξόδου ¹⁰	37
Εικόνα 16: (α) Στήλη χρωματογραφίας σε COP και (β) χρωματογράμμα ανάλυσης τεσσάρων χημικών ουσιών ²⁸	38
Εικόνα 17: Τυπική Συμπεριφορά Θερμοπλαστικών Υλικών ⁶⁷	40
Εικόνα 18: Τυπικός κύκλος Θερμοκρασίας & Πίεσης για αποτύπωση εν Θερμώ ⁶⁷	41
Εικόνα 19: Επίδραση των 3 παραμέτρων, θερμοκρασία, πίεση, χρόνος ⁶⁸	42
Εικόνα 20: Παραμόρφωση δομών λόγω αφαίρεσης υποστρώματος σε θερμοκρασία χαμηλότερη της βέλτιστης ^{72,79}	42
Εικόνα 21: Χαρακτηριστικές τεχνικές στεγανοποίησης χρωματογραφικών διατάξεων (από αριστερά προς τα δεξιά: θερμική, με χρήση laser, μέσω τριβής) ⁶⁵	45
Εικόνα 22: (α) Μελετούμενη γεωμετρία κίωνων για τρεις τιμές πορώδους και (β) διαγράμματα van Deemter για τις 9 περιπτώσεις. Συνεχείς γραμμές $\varepsilon=0.4$, διακεκομμένες $\varepsilon=0.6$ και με κουκκίδες $\varepsilon=0.8$. Με την αύξηση του πορώδους όλες οι καμπύλες (διαφορετικές γεωμετρίες) τείνουν να συμπίψουν ⁹⁶	46
Εικόνα 23: (α) Προσομοίωση δομής με επιμηκυσμένους ρομβοειδής κίονες κάθετα στη διεύθυνση ροής. (β) Επίδραση γεωμετρικού λόγου (AR) επιμήκυνσης κίωνων στα διαγράμματα van Deemter. Ελαχιστοποίηση του h με αύξηση του AR ⁹⁹	47
Εικόνα 24: (α) Περιοχή προσομοίωσης χρωματογραφίας σε 3-D και σύγκριση με γεωμετρία 2-D. (β) Πειραματική επαλήθευση προβλέψεων. Πειραματικά αποτελέσματα και αποτελέσματα τρισδιάστατης προσομοίωσης προκύπτουν από αποτελέσματα δισδιάστατης προσομοίωσης με προσθήκη όρου H_{tb}	48
Εικόνα 25: Διαδικασία πολυμερισμού για σύνθεση COC/COP ⁹²	49
Εικόνα 26: Οπτική διαπερατότητα COP ¹⁰⁸	50
Εικόνα 27: Σχηματική αναπαράσταση μάσκας οπτικής λιθογραφίας για τις μικροστήλες χωρίς κανάλι εισαγωγής και μέτρησης δείγματος.....	52
Εικόνα 28: Σχηματική αναπαράσταση μάσκας οπτικής λιθογραφίας για τις μικροστήλες με κανάλι εισαγωγής και μέτρησης δείγματος.....	53
Εικόνα 29: Διαδικασία κατασκευής σφραγίδας σε δισκίο Si ²⁸	54
Εικόνα 30: Φωτογραφία του άκρου του πρωτοτύπου από παρατήρηση στο SEM.....	55
Εικόνα 31: Φωτογραφία τομής του πρωτοτύπου από παρατήρηση στο SEM	55
Εικόνα 32: Αποτύπωση δομής ρομβοειδών κίωνων σε φύλλο COP 188μm στις βέλτιστες συνθήκες ..57	

Εικόνα 33: (α) $T_{emb}=166^{\circ}\text{C}$, (β) $T_{emb}=156^{\circ}\text{C}$, $P_{max}=2.5\text{MPa}$, $t_{emb}=5\text{min}$	57
Εικόνα 34: Παρατήρηση ψηφίδων στο οπτικό μικροσκόπιο: (α) $T_{emb}=161^{\circ}\text{C}$, (β) $T_{emb}=171^{\circ}\text{C}$, $P_{max}=5.5\text{MPa}$, $t_{emb}=10\text{min}$	58
Εικόνα 35: Επίτευξη μέγιστου ύψους κίωνων με μερική όμως πλήρωση ($T_{emb}=166^{\circ}\text{C}$, $P_{max}=14\text{MPa}$, $t_{emb}=10\text{min}$).....	59
Εικόνα 36: Παραμόρφωση δοκιμίων (bulging) με την αποτύπωση εν θερμώ. Πάνω $P_{max}=5.5\text{MPa}$, κάτω $P_{max}=14\text{MPa}$, για $T_{emb}=166^{\circ}\text{C}$ & $t=10\text{min}$	59
Εικόνα 37: Παρατήρηση δοκιμίων στο οπτικό μικροσκόπιο (α) $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, (β) $T_{master-side}=161^{\circ}\text{C}$, (γ) $T_{master-side}=166^{\circ}\text{C}$, (δ) $T_{master-side}=171^{\circ}\text{C}$	61
Εικόνα 38: Δημιουργία ελαττωμάτων στις κορυφές των κίωνων.....	63
Εικόνα 39: Παραμόρφωση μεγάλων κίωνων και περιγράμματος στο άκρο χρωματογραφικής στήλης μήκους 6cm για (α) $T_{deemboss}=105^{\circ}\text{C}$ και (β) $T_{deemboss}=115^{\circ}\text{C}$	64
Εικόνα 40: Παραμόρφωση μεγάλων κίωνων και περιγράμματος στο άκρο χρωματογραφικής στήλης μήκους 6cm για (α-β) $T_{deemboss}=110^{\circ}\text{C}$ και (γ-δ) $T_{deemboss}=120^{\circ}\text{C}$	64
Εικόνα 41: Μετρήσεις χαρακτηριστικών μεγεθών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο για χρωματογραφική στήλη υπό κατασκευή στις βέλτιστες συνθήκες.....	66
Εικόνα 42: Σχηματική αναπαράσταση της τελικής διάταξης για στεγανοποίηση των δομημένων καναλιών.....	69
Εικόνα 43: Φωτογραφίες δοκιμίων πειραμάτων στεγανοποίησης.....	70
Εικόνα 44: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (0 ^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20).....	70
Εικόνα 45: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (1 ^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20).....	71
Εικόνα 46: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (2 ^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20).....	71
Εικόνα 47: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (3 ^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20).....	71
Εικόνα 48: Τομή στεγανοποιημένης διάταξης. Συνθήκες $T=130^{\circ}\text{C}$, 3 ^η θέση μοχλού, (α) 15 περάσματα και (β) 20 περάσματα.....	72
Εικόνα 49: Κατόψεις στηλών μετά από την αφαίρεση του καπακιού: (α) 2η θέση μοχλού 15 περάσματα και (β) 3η θέση μοχλού 20 περάσματα.....	73
Εικόνα 50: Διάταξη για μέτρηση της αντοχής των στεγανοποιημένων καναλιών υπό συνθήκες λειτουργίας.....	74
Εικόνα 51: (α) Ευθύγραμμο κανάλι και διαμέριση με τριγωνικά στοιχεία για πιστοποίηση προσομοίωσης ροής, (β) Παλμός αναλύτη σε χρόνο $t=0.002$ δευτερόλεπτα από την εισαγωγή του στο κανάλι.....	81
Εικόνα 52: Γεωμετρία χρωματογραφικών διατάξεων στο COMSOL. (α) δομή διάταξης με ρομβοειδής κίονες, (β) δομή διάταξης παρούσης εργασίας.....	86
Εικόνα 53: Στιγμιότυπα προσομοιώσεων για $Q_{\sigma}=1\mu\text{L}/\text{min}$ και διάλυμα $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:80/20$. (α)-(β) προσομοίωση Sodium Benzoate, (γ)-(δ) προσομοίωση Acetaminophen, (ε)-(ζ) προσομοίωση Propylparaben και (η)-(θ) προσομοίωση Naphthalene (*για $K=7.5$ είναι $t=0.2\text{sec}$).....	95
Εικόνα 54: Στιγμιότυπα προσομοιώσεων για $Q_{\sigma}=1\mu\text{L}/\text{min}$ (α)-(β) προσομοίωση Sodium Benzoate, (γ)-(δ) προσομοίωση Acetaminophen, (ε)-(ζ) προσομοίωση Propylparaben και (η)-(θ) προσομοίωση Naphthalene (σε όλες τις περιπτώσεις $t=1.5\text{sec}$, για Sodium Benzoate σε $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:80/20$ είναι $t=0.75\text{sec}$).....	99
Εικόνα 55: Χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση χρωματογραφικής ανάλυσης...103	103
Εικόνα 56: Χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός για εκτέλεση πειραμάτων χρωματογραφίας.....104	104
Εικόνα 57: Συγκράτηση της ψηφίδας COP μεταξύ πλακιδίων PMMA.....105	105
Εικόνα 58: Χρησιμοποιούμενη διάταξη για εκτέλεση πειραμάτων χρωματογραφίας.....105	105
Εικόνα 59: Χρωματογράμματα διέλευσης Uracil διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:90/10$, ροή $2\mu\text{L}/\text{min}$).....108	108
Εικόνα 60: Χρωματογράμματα διέλευσης Acetaminophen διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:90/10$, ροή $2\mu\text{L}/\text{min}$).....109	109
Εικόνα 61: Χρωματογράμματα διέλευσης Methylparaben διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:90/10$, ροή $2\mu\text{L}/\text{min}$). Διακεκομμένες γραμμές: chip A, κανονικές γραμμές: chip B.....109	109
Εικόνα 62: Χρωματογράμματα διέλευσης Propylparaben και Naphthalene διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:90/10$, ροή $2\mu\text{L}/\text{min}$). Διακεκομμένες γραμμές: chip A, κανονικές γραμμές: chip B.....110	110

Εικόνα 63: Υπέρθεση χρωματογραμμάτων των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Naphthalene για παλμούς όγκου 300nL (H ₂ O/ACN:90/10, 2μL/min).....	111
Εικόνα 64: Υπέρθεση χρωματογραμμάτων των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Naphthalene για παλμούς όγκου 200nL (H ₂ O/ACN:90/10, 2μL/min).....	111
Εικόνα 65: Υπέρθεση χρωματογραμμάτων των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Naphthalene για παλμούς όγκου 100nL (H ₂ O/ACN:90/10, 2μL/min).....	112
Εικόνα 66: Φωτογραφίες για $P_{max}=5\text{MPa}$ και $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, 161°C και 166°C	127
Εικόνα 67: Φωτογραφίες για $P_{max}=7.5\text{MPa}$ και $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, 161°C και 166°C	128
Εικόνα 68: Φωτογραφίες για $P_{max}=10\text{MPa}$ και $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, 161°C και 166°C	128
Εικόνα 69: Φωτογραφίες για $P_{max}=12.5\text{MPa}$ και $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, 161°C και 166°C	129
Εικόνα 70: Χρωματογράμματα διάταξης χωρίς παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης. Χρησιμοποιούμενες ουσίες Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen, Propylparaben.....	137
Εικόνα 71: Χρωματογράμματα διάταξης με την παρεμβολή της χρωματογραφικής στήλης. Χρησιμοποιούμενες ουσίες Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen, Methylparaben, Propylparaben, Naphthalene.....	139

ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Διάγραμμα της μεταβολής των εξωτερικών διαστάσεων δύο δοκιμίων COP για διαφορετικές συνθήκες Αποτύπωσης εν Θερμώ (l: μήκος, w: πλάτος, t: πάχος).....	60
Διάγραμμα 2: Κύκλος εφαρμογής θερμοκρασίας και πίεσης.....	65
Διάγραμμα 3: Τιμές χαρακτηριστικών διαστάσεων για σφραγίδα Si και για χρωματογραφικές στήλες πριν και μετά τη διαδικασία στεγανοποίησης, για τις συνθήκες επιτυχούς στεγανοποίησης.....	73
Διάγραμμα 4: Σύγκριση μεταξύ θεωρητικού (H_{th}) και υπολογισμένου ισοδύναμου ύψους για διαφορετική πύκνωση πλέγματος.....	83
Διάγραμμα 5: Διάγραμμα θεωρητικού και υπολογισμένου ισοδύναμου ύψους H συναρτήσει της ταχύτητας u (διάγραμμα van Deemter). Απεικόνιση της συνεισφοράς των όρων A , B , C	84
Διάγραμμα 6: Γραφική παράσταση συγκέντρωσης αναλύτη c_i συναρτήσει του χρόνου για διαφορετικές τιμές ρυθμού k_a	85
Διάγραμμα 7: Γραφική παράσταση ανηγμένου ισοδύναμου ύψους h_{2D} προς ανηγμένη ταχύτητα v για διάφορες τιμές σταθεράς συγκράτησης k'	97
Διάγραμμα 8: Γραφική παράσταση ανηγμένου ισοδύναμου ύψους h_{3D} προς ανηγμένη ταχύτητα v για διάφορες τιμές σταθεράς συγκράτησης k'	97
Διάγραμμα 9: Μεταβολή της ταχύτητας κινητης φάσης.....	100
Διάγραμμα 10: Ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h_{3D} προς ανηγμένη ταχύτητα v για διάφορες τιμές διαμέτρου d_p	101
Διάγραμμα 11: Ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h_{3D} συναρτήσει του εξωτερικού πορώδους ϵ	101
Διάγραμμα 12: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλουσης του αναλύτη Sodium Benzoate.....	133
Διάγραμμα 13: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλουσης του αναλύτη Acetaminophen.....	134
Διάγραμμα 14: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλουσης του αναλύτη Propylparaben.....	134
Διάγραμμα 15: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλουσης του αναλύτη Naphthalene.....	134

ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα μεθόδων ενσωμάτωσης στάσιμης φάσης σε μικρορευστονικά κανάλια.....	33
Πίνακας 2: Ενδεικτική διαφορά στη συρρίκνωση του COP έναντι του Si κατά τη διαδικασία ψύξης...63	63
Πίνακας 3: Συνθήκες Αποτύπωσης εν Θερμώ COP με σφραγίδα Si.....	65
Πίνακας 4: Κρίσιμες διαστάσεις δομών ψηφίδας ανά κατασκευαστικό στάδιο.....	66
Πίνακας 5: Τιμές χαρακτηριστικών διαστάσεων για σφραγίδα Si και για χρωματογραφικές στήλες πριν και μετά τη διαδικασία στεγανοποίησης, για τις συνθήκες επιτυχούς στεγανοποίησης.....	72

Πίνακας 6: Ποσοστό σφάλματος μεταξύ υπολογισμών και αναλυτικής επίλυσης για διαφορετική πύκνωση πλέγματος.....	83
Πίνακας 7: Σταθερά ϕ για τις δύο περιπτώσεις προσομοιούμενων διατάξεων. Τιμές για 2-D και 3-D γεωμετρίας (χρήση των τιμών 3-D γεωμετρίας).....	88
Πίνακας 8: Ιδιότητες κινητής φάσης H ₂ O/ACN για διαφορετικές συστάσεις.....	88
Πίνακας 9: Συντελεστής Μοριακής Διάχυσης των 4 αναλυτών για τις δύο συστάσεις κινητής φάσης...	89
Πίνακας 10: Αποτελέσματα πειραμάτων χρωματογραφίας ²⁸	90
Πίνακας 11: Αποτελέσματα πειραμάτων χρωματογραφίας $t_R=t_{tubes}+t_{chip}^{28}$	91
Πίνακας 12: Αποτελέσματα πειραμάτων χρωματογραφίας k'	91
Πίνακας 13: Σύγκριση εκτιμώμενων σταθερών αντίδρασης K και πειραματικών σταθερών συγκράτησης k'	94
Πίνακας 14: Εκτιμώμενος χρόνος παραμονής αναλυτών εντός της ψηφίδας t_{chip}	96
Πίνακας 15: Σύγκριση εκτιμώμενων σταθερών αντίδρασης K και υπολογισμένων σταθερών συγκράτησης k'	96
Πίνακας 16: Χαρακτηριστικές Διαστάσεις Προσομοιούμενων Χρωματογραφικών Στηλών	100
Πίνακας 17: Χρησιμοποιούμενες ποσότητες αναλυτών	104
Πίνακας 18: Χρόνος διέλευσης παλμών αναλυτών από τη διάταξη χωρίς παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης	107
Πίνακας 19: Χρόνοι διέλευσης ουσιών για την χρησιμοποιούμενη πειραματική διάταξη με παρεμβολή της χρωματογραφικής στήλης.	108
Πίνακας 20: Αναλυτικά αποτελέσματα προσομοιώσεων γεωμετρίας στήλης με ρομβοειδής μικροκίονες. Εκτίμηση υπολογισμένου χρόνου για διάφορες τιμές σταθεράς αντίδρασης K και σύγκριση με πειραματικό χρόνο.	131
Πίνακας 21: Αποτελέσματα προσομοιώσεων όσον αφορά τους χρόνους έκλουσης t_R σε επίπεδο ψηφίδας. Υπολογισμός σταθερών συγκράτησης k' και αντίδρασης K ανά αναλύτη και η μεταξύ τους συσχέτιση. (Σύσταση κινητής φάσης H ₂ O/ACN:90/10).....	135
Πίνακας 22: Αποτελέσματα προσομοιώσεων όσον αφορά τους χρόνους έκλουσης t_R σε επίπεδο ψηφίδας. Υπολογισμός σταθερών συγκράτησης k' και αντίδρασης K ανά αναλύτη και η μεταξύ τους συσχέτιση. (Σύσταση κινητής φάσης H ₂ O/ACN:80/20).....	136
Πίνακας 23: Αναλυτικοί χρόνοι έκλουσης αναλυτών διαμέσου διάταξης με και χωρίς παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης. Κινητή φάση H ₂ O/ACN:90/10, ροή 2μL/min, σωλήνα quartz 15cm.	139

1 Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή στους Χημικούς Διαχωρισμούς σε Μικροψηφίδα

Το 1900 ο Mikhail Tsvet εκτέλεσε τον πρώτο χημικό διαχωρισμό φυτικών χρωστικών από φύλλα φυτών. Διαλύοντας τις χρωστικές σε αιθανόλη και περνώντας το διάλυμα από ανθρακικό ασβέστιο παρατήρησε ότι οι ουσίες διαχωρίζονται σε ζώνες διαφορετικού χρώματος, εξ' ου και ο όρος χρωματογραφία. Στα μέσα του 20ου αιώνα η χρωματογραφία εξελίχθηκε στην βασικότερη τεχνική χημικών διαχωρισμών ενός μείγματος στα επιμέρους συστατικά του με εφαρμογές στη φαρμακευτική και χημική βιομηχανία, τη βιομηχανία τροφίμων κλπ.

Αρχικά οι χρωματογραφικές διατάξεις ήταν κυρίως κυλινδρικές, με ενσωματωμένα σωματίδια, συνήθως σφαιρικά, διαμέσου των οποίων διερχόμενο το διάλυμα αναλυόταν στα επιμέρους συστατικά του. Υιοθετώντας τις κατασκευαστικές διεργασίες που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία της μικροηλεκτρονικής ο Regnier^{1,2} έδωσε νέες προοπτικές στην κατασκευή χρωματογραφικών διατάξεων εγχαράσσοντας χρωματογραφική στήλη σε δισκίδιο πυριτίου. Οι διεργασίες αυτές επιτρέπουν τον σαφή καθορισμό της γεωμετρίας της στήλης, βασικό στοιχείο για την επίτευξη μιας δομημένης διάταξης με στόχο την βελτίωση της διαχωριστικής της ικανότητας³, καθώς και την ακριβή αναπαραγωγή αυτής.

Επιπρόσθετα, σμίκρυνση των διαστάσεων οδήγησε σε μείωση της ποσότητας των προς ανάλυση δειγμάτων καθώς και σε καλύτερη ανιχνευσιμότητα. Βελτιστοποίηση παραμέτρων όπως η γεωμετρία^{4,5} της στήλης ή των μικρο-κίωνων, και η επιφανειακή κατάσταση των ενσωματωμένων δομών^{6,7,8,9}, όπως η τραχύτητα, το πορώδες τους και η χημική τους σύσταση, επέφεραν σημαντική μείωση στον χρόνο ανάλυσης¹⁰ και κατ' επέκταση στο μέγεθος των απαιτούμενων διατάξεων. Πρόκληση ωστόσο εξακολουθεί να αποτελεί η ολοκλήρωση σε μία διάταξη ενός συστήματος διεξαγωγής χρωματογραφικών αναλύσεων που να μπορεί να επιτελέσει όλες τις επιμέρους λειτουργίες (τροφοδοσία διαλύματος, άντληση, ανάλυση-διαχωρισμός, ανίχνευση)¹¹.

Στην ανωτέρω εξέλιξη, σημαντικό ρόλο έχουν διαδραματίσει τόσο η αναλυτική^{12,13,14,15} όσο και η υπολογιστική^{16,17,18,19} προσέγγιση των σύνθετων φαινομένων που λαμβάνουν χώρα σε μία χρωματογραφική ανάλυση. Ειδικότερα η χρήση των προγραμμάτων προσομοίωσης έχει αποτελέσει σημαντικό εργαλείο στην εκτίμηση της επίδρασης των διαφόρων παραμέτρων.

Βασικό όμως μειονέκτημα των ανωτέρω διεργασιών καθώς και των χρησιμοποιούμενων υλικών είναι το υψηλό τους κόστος. Το μειονέκτημα αυτό έρχεται

να αντισταθμίσει η ραγδαία εξέλιξη της επιστήμης στον τομέα των πολυμερικών (πλαστικών) υλικών. Το χαμηλό κόστος παρασκευής και κατεργασίας τους και η μεγάλη ποικιλία τους έχουν στρέψει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας της χρωματογραφίας στην χρήση πολυμερικών υλικών²⁰. Ιδιότητες όπως χημική αδράνεια, οπτική διαφάνεια, απουσία ενδογενούς φθορισμού, συμβατότητα με βιολογικά δείγματα τα καθιστούν κατάλληλα για κατασκευή μικρορευστονικών διατάξεων με εφαρμογή τόσο σε βιοχημικές αναλύσεις κατόπιν κατάλληλης επιφανειακής τροποποίησης^{21,22,23} όσο και σε χημικούς διαχωρισμούς χρωματογραφίας^{24,25} συνδυάζοντας μάλιστα μεθόδους κατεργασίας αυτών με διεργασίες της μικροηλεκτρονικής.

Η πολυμερική κυκλο-ολεφίνη (Cyclic Olefin Polymer – COP) κατατάσσεται μεταξύ των πολυμερικών υλικών, ως ένα από τα πιο κατάλληλα για χρήση ως υπόστρωμα χρωματογραφικής στήλης²⁶. Ωστόσο ενώ έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για κατασκευή απλών μικρορευστονικών καναλιών, ελάχιστες είναι οι αναφορές για χρήση του ως υπόστρωμα χρωματογραφικής στήλης με δομημένη διάταξη μικροκίωνων^{24,27,28}. Παράλληλα ενώ απλά μικρορευστονικά κανάλια έχουν αποτυπωθεί σε υποστρώματα πάχους από μερικές εκατοντάδες μικρόμετρα έως μερικά χιλιοστά, η αποτύπωση δομημένων μικροχρωματογραφικών διατάξεων έχει περιοριστεί μόνο σε λεπτά φύλλα (πάχους < 1mm).

1.2 Σκοπός Εργασίας

Σκοπός της παρούσης μεταπτυχιακής εργασίας είναι η κατασκευή δομημένης μικροχρωματογραφικής στήλης σε πολυμερές υλικό για χρήση σε υγρή χρωματογραφία ανάστροφης φάσης και η μελέτη της συμπεριφοράς της με χρήση προγράμματος Πεπερασμένων Στοιχείων. Συγκεκριμένα επιδιώκεται:

α. Η εξεύρεση συνθηκών για Αποτύπωση εν Θερμώ (Hot Embossing) συγκεκριμένης γεωμετρίας χρωματογραφικής στήλης σε φύλλο πολυμερούς κυκλο-ολεφίνης COP πάχους 2mm. Εν προκειμένω, γεωμετρίας δομημένης διάταξης κυλινδρικών μικρο-κίωνων διαμέτρου 15μm και ύψους 20μm, με γεωμετρικό λόγο βάθους προς πλάτος ίσο με 20/2.3.

β. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών στεγανοποίησης της μικροστήλης με σκοπό την αντοχή της σε συνθήκες λειτουργίας ροών της τάξης μέχρι και 10μL/min.

γ. Η εκτίμηση των σταθερών αντίδρασης χημικών ουσιών, με χρήση πειραματικών αποτελεσμάτων υγρής χρωματογραφίας ανάστροφης φάσης σε στήλη διαφορετικής γεωμετρίας κατασκευασμένη επίσης σε COP (τετραγωνικοί μικροκίονες σε υμένιο πάχους 188μm) μέσω προσομοίωσης σε λογισμικό Πεπερασμένων Στοιχείων.

δ. Η αξιοποίηση των ανωτέρω σταθερών αντίδρασης για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς της χρωματογραφικής στήλης της παρούσας γεωμετρίας (κυλινδρικοί μικρο-κίονες) στο διαχωρισμό διαλύματος των ίδιων χημικών ουσιών, ομοίως μέσω προσομοιώσεων στο ίδιο λογισμικό.

ε. Η εκτέλεση πειραμάτων χρωματογραφίας στις συνθήκες προσομοίωσης και η εξέταση της συμβατότητας πειραματικών αποτελεσμάτων και υπολογιστικών προβλέψεων.

2 Βιβλιογραφική Επισκόπηση

2.1 Αρχές – Τύποι Χρωματογραφίας

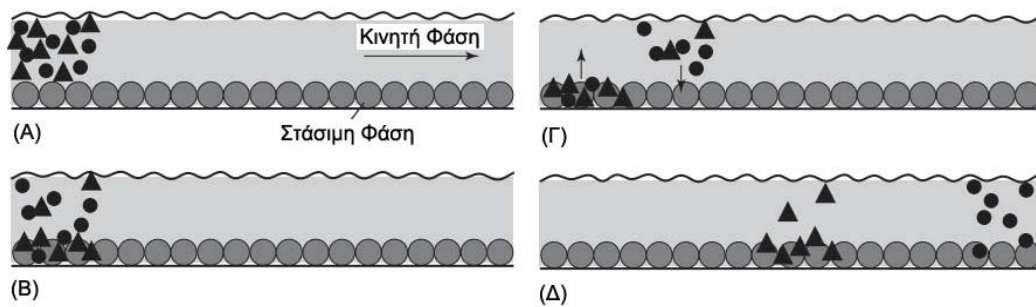
Η χρωματογραφία αποτελεί μία μέθοδο διαχωρισμού ενός μείγματος στα επιμέρους συστατικά, ευρέως διαδεδομένη τόσο σε βιομηχανικό επίπεδο αλλά πολύ περισσότερο σε εργαστηριακό. Πρόκειται για μια φυσική μέθοδο, η αρχή της οποίας στηρίζεται στην διαφορετική κατανομή των συστατικών του μείγματος μεταξύ δύο διακριτών φάσεων²⁹.

Η μία φάση ονομάζεται *στάσιμη (stationary phase)*, μπορεί να απαρτίζεται από κάποιο στερεό ή υγρό υλικό και διατηρείται ακίνητη στο σύστημα. Η δεύτερη φάση που ονομάζεται *κινητή (mobile phase)*, μπορεί να είναι υγρή ή αέρια. Η φάση αυτή ουσιαστικά ρέει διαμέσου της στάσιμης φάσης και φέρει το προς διαχωρισμό μείγμα.

Καθώς η κινητή φάση ρέει διαμέσου της στάσιμης, τα μόρια των ουσιών του δείγματος παρασύρονται με τη ροή και παράλληλα διαχέονται προς όλες τις κατευθύνσεις. Αυτά που βρίσκονται πιο κοντά στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης προσροφούνται σε αυτήν. Λόγω αλληλεπίδρασης και με την κινητή φάση είναι δυνατό να εκροφηθούν και να μεταφερθούν εκ νέου. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσα από μια διαρκώς επαναλαμβανόμενη αλληλουχία γεγονότων προσρόφησης-εκρόφησης. Πρόκειται για μια συνεχή διαδικασία επίτευξης ισορροπίας στην κατανομή της συγκέντρωσης των ουσιών του μείγματος μεταξύ των δύο φάσεων

Ουσιαστικά κατά τη ροή των ουσιών, τα μόριά τους αλληλεπιδρούν και με τις δύο φάσεις. Η αλληλεπίδραση έχει την μορφή ασθενών χημικών δεσμών, όπως οι δεσμοί υδρογόνου, οι δεσμοί Van der Waals, ασθενείς ηλεκτροστατικοί δεσμοί κλπ. Διαφορετικής έντασης αλληλεπίδραση των συστατικών με την εκάστοτε φάση συνεπάγεται διαφορά στην υστέρηση της ροής αυτού και κατ'επέκταση την έξοδο αυτών από την χρωματογραφική στήλη σε διαφορετικούς χρόνους.

Στην Εικόνα 1 δίνεται παραστασιακά η διαδικασία του διαχωρισμού. Τα μόρια δύο ουσιών παριστάνονται με γεωμετρικά σχήματα (ουσία 1 – τριγωνικό σχήμα, ουσία 2 – κυκλικό σχήμα). Με την εισαγωγή του δείγματος (Α) τα μόρια που βρίσκονται πιο κοντά στην στάσιμη φάση προσροφούνται σε αυτή (Β). Τα υπόλοιπα μεταφέρονται από την κινητή φάση. Σε δεύτερο χρόνο έχουμε μια νέα αλληλεπίδραση με εκρόφηση των πρώτων μορίων και προσρόφηση των υπολοίπων (Γ). Μετά από αρκετές επαναλήψεις του μηχανισμού οι δύο ουσίες έχουν πλέον διαχωριστεί (Δ). Μακροσκοπικά, οι διακριτές πλέον ουσίες κινούνται ως διακριτοί παλμοί-ζώνες κατά μήκος της στήλης.



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας χρωματογραφικού διαχωρισμού³⁰.

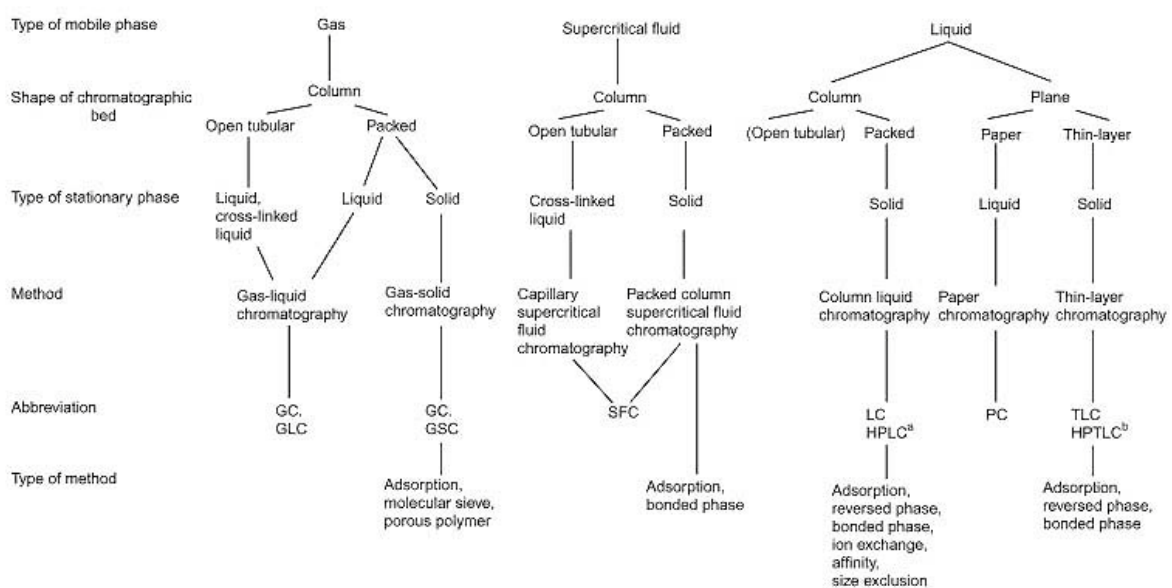
Κατά την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιούνται διάφορες τεχνικές, για την κατηγοριοποίηση των οποίων η συνηθέστερη ιεράρχηση που ακολουθείται είναι βάσει:

α. του τύπου της κινητής φάσης οπότε διακρίνουμε την *αέρια χρωματογραφία* (GC – *Gas Chromatography*) και την *υγρή χρωματογραφία* (LC – *Liquid Chromatography*)

β. της μορφής του χρωματογραφικού υποστρώματος, διακρίνοντας την *επίπεδη* (*planar chromatography*) και την *χρωματογραφία στήλης* (*column chromatography*) τύπου είτε *ελεύθερης ροής* (*open tubular*) είτε *ενσωματωμένων σωματιδίων* (*packed*).

γ. του τύπου της στάσιμης φάσης (στερεό ή υγρό)

Στην Εικόνα 2 δίνεται ένα διάγραμμα με τις βασικές τεχνικές χρωματογραφίας όπως ταξινομούνται σύμφωνα με τα κριτήρια της ανωτέρου παραγράφου.



Εικόνα 2: Κατηγοριοποίηση Τεχνικών Χρωματογραφίας³⁰

Μεταξύ των αν αέρω τεχνικ ώ η υγ ή χρωματογ φφία αποτελ ίε την βασικότερη τεχνική που εφαρμόζεται σε εργαστήρια αναλυτικής χημείας, βιοχημείας, φαρμακευτικής κλπ. Το κυριότερο πλεονέκτημά της, εν συγκρίσει με την αέρια χρωματογραφία, είναι ότι εκτελείται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό ανόργανων ή οργανικών ενώσεων, συστατικών μικρού και μεγάλου μοριακού βάρους, ασταθών ουσιών όπως εκρηκτικές κλπ³¹.

Με κριτήριο τον μηχανισμό επίτευξης του διαχωρισμού, διακρίνονται οι κάτωθι τεχνικές υγρής χρωματογραφίας³⁰:

α. *Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης (NPLC – Normal Phase LC)* όπου η στάσιμη φάση είναι υλικό πολικής φύσεως (π.χ. οξειδίο του πυριτίου, οξειδίο του αλουμινίου) και η κινητή φάση είναι μη πολική (π.χ. εξάνιο, επτάνιο). Ο μηχανισμός έγκειται στην προσρόφηση ουσιών στη στάσιμη φάση με σχηματισμό δεσμών υδρογόνου. Χρησιμοποιείται κυριότερα στο διαχωρισμό ισομερών.

β. *Χρωματογραφία Ανάστροφης Φάσης (RPLC – Reversed Phase LC)* με στάσιμη φάση μη πολικής φύσεως και αντίστροφα κινητή φάση πολικής φύσεως. Συνηθέστερα η στάσιμη φάση προκύπτει από τη σύζευξη αλκυλο-ομάδων 8 ή 18 ατόμων άνθρακα (C-8, C-18) σε σωματίδια ή επιφάνεια οξειδίου του πυριτίου. Η κινητή φάση είναι συνήθως το νερό ή διάλυμα αυτού με *μεθανόλη (MeOH)* ή *ακετονιτρίλιο (ACN)*. Οι περισσότεροι πολικές ουσίες του μείγματος συγκρατούνται ασθενέστερα οπότε εξέρχονται της χρωματογραφικής στήλης σε συνομότερο χρόνο.

γ. *Χρωματογραφία Ιοντοεναλλαγής (Ion Exchange Chromatography)*. Οι προς διαχωρισμό ουσίες αλληλεπιδρούν με τη στάσιμη φάση με δημιουργία δεσμών ηλεκτροστατικής φύσεως.

δ. *Χρωματογραφία Αποκλεισμού (Size Exclusion Chromatography)* όπου δεν λαμβάνει χώρα κάποιας μορφής δεσμός μεταξύ ουσιών και στάσιμης φάσης παρά μόνο διαχωρισμός ανάλογα με το μέγεθος των μορίων της κάθε ουσίας.

ε. *Χρωματογραφία Συγγένειας (Affinity Chromatography)*. Χρησιμοποιείται για ανάλυση βιολογικών δειγμάτων. Η επιφάνεια της στασίμης φάσης “ενεργοποιείται” με ομάδες που έχουν την ικανότητα συγκράτησης συγκεκριμένων βιολογικών μορίων. Όλες οι υπόλοιπες ενώσεις του δείγματος παρασύρονται από την κινητή φάση.

Η πρόωση της κινητής φάσης εντός της στήλης μπορεί να επιτευχθεί με δύο τρόπους: με πίεση παραγόμενη από αντλίες (*Pressure Driven - PD*) και με εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου (*Electrokinetic Flow - EKF*). Η εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου πλεονεκτεί καθώς το προφίλ της ροής είναι πιο ομοιόμορφο, η συνολική διάταξη παροχής ισχύος είναι απλούστερη ενώ και τα απαιτούμενα ποσά ενέργειας είναι μικρότερα. Επιπρόσθετα η εφαρμογή πίεσης οδηγεί σε αύξηση της θερμοκρασίας της στήλης λόγω των αναπτυσσόμενων τριβών. Ωστόσο το κυριότερο πλεονέκτημα της

χρωματογραφίας υπό πίεση είναι η μη ύπαρξη περιορισμού ως προς την επιλογή των χρησιμοποιούμενων υλικών ενώ και τα όποια μειονεκτήματά της εξαλείφονται με τη σμίκρυνση των διαστάσεων³².

2.2 Βασικές Έννοιες Χρωματογραφίας

Κατά τη διαδικασία του διαχωρισμού οι διάφορες ουσίες (αναλύτες) εισάγονται στην κινητή φάση. Κάθε αναλύτης εμπεριέχεται σε μοριακή συγκέντρωση C_M . Λόγω διαφοροποίησης της συγκέντρωσης αυτής στον χώρο, τα μόρια διαχέονται από περιοχές με υψηλότερη συγκέντρωση προς περιοχές με χαμηλότερη συγκέντρωση. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της κάθε ουσίας ελέγχεται από τον συντελεστή διάχυσης (D_M) αυτής στο διάλυμα της κινητής φάσης σύμφωνα με το νόμο του Fick (εξίσωση 1)³³.

$$\frac{\partial C_M}{\partial t} = D_M \nabla^2 C_M \quad (1)$$

Παράλληλα, λόγω της ροής της κινητής φάσης, τα μόρια μεταφέρονται στη χρωματογραφική διάταξη. Η μεταβολή της συγκέντρωσης καθορίζεται από την ταχύτητα της ροής (εξίσωση 2) καθώς και από την ομοιομορφία των διαδρομών όπως αυτή ορίζεται από τη δομή της στάσιμης φάσης^{29, 33}.

$$\frac{\partial C_M}{\partial t} = -\mathbf{u} \nabla C_M \quad (2)$$

Κοντά στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης λαμβάνει χώρα μια διαρκής μετακίνηση μορίων του αναλύτη μεταξύ των δύο φάσεων. Η κίνηση μορίων προς τη στάσιμη φάση καθορίζεται από τον ρυθμό προσρόφησης (k_{ads}), τις ελεύθερες “θέσεις” της επιφάνειας ($1-\theta$) που μπορούν να προσροφήσουν τα μόρια αυτά καθώς και την συγκέντρωση του αναλύτη σε ένα πολύ λεπτό στρώμα κινητής φάσης που διαβρέχει την επιφάνεια της στάσιμης (C_{Mw}). Η αντίστροφη ροή καθορίζεται από τον ρυθμό εκρόφησης (k_{des}) και την επιφανειακή συγκέντρωση του αναλύτη στην στάσιμη φάση (C_S)³⁴. Η μεταβολή της συγκέντρωσης C_S συναρτήσει του χρόνου δίνεται από την εξίσωση:

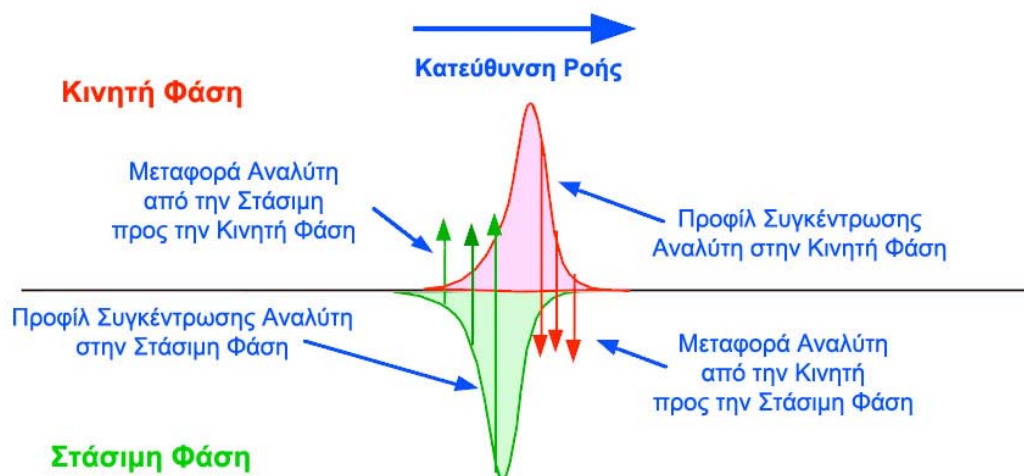
$$\frac{\partial C_S}{\partial t} = k_{ads} C_{Mw} (1 - \theta) - k_{des} C_S \quad (3)$$

Η ανωτέρω διαδικασία που αποδίδεται παραστατικά στην Εικόνα 3 περιγράφεται και μέσω της αμφίδρομης αντίδρασης:



Η επίτευξη ισορροπίας αποτελεί τη βάση για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό και προσδιορίζεται από την σταθερά της αντίδρασης K_D , ή συντελεστή διαχωρισμού, που ισούται με τον λόγο C_S/C_M . Η γραφική παράσταση των δύο συγκεντρώσεων

δίνει καμπύλες που καλούνται *ισόθερμες* του συστήματος, οπότε και η σταθερά K_D εκφράζει την κλίση αυτών των καμπυλών.



Εικόνα 3: Ροή αναλύτη σε ένα σύστημα χρωματογραφίας^{3b}

Το προφίλ των συγκεντρώσεων C_M και C_S μπορεί να προσεγγισθεί από μία *Κανονική Κατανομή (Κατανομή Gauss)* της μορφής:

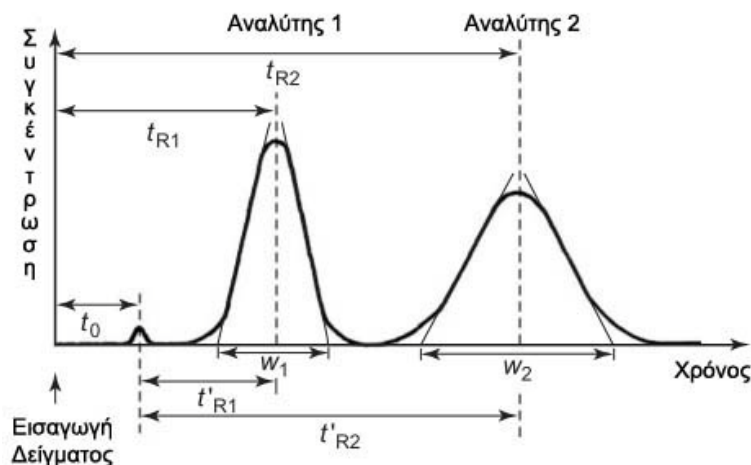
$$C(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-(x^2-\mu^2)/2\sigma^2} \quad (5)$$

Στην πραγματικότητα η κατανομή δεν είναι ακριβώς συμμετρική, εμφανίζοντας μία μικρή υστέρηση στο χείλος εκφυγής, ωστόσο η προσέγγιση είναι ικανοποιητική. Η θέση του κάθε αναλύτη στη χρωματογραφική στήλη δίνεται από τον μέσο (μ). Η *τυπική απόκλιση* (σ) αποτελεί ένα μέτρο της διεύρυνσης του παλμού-κατανομής του αναλύτη, το οποίο συνεχώς αυξάνει με τη ροή κατά μήκος της στήλης ως αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης της μοριακής διάχυσης (D_M), της διασποράς λόγω ροής (u) και της αλληλεπίδρασης με τις δύο φάσεις (k_{ads}, k_{des}).

Στην έξοδο της στήλης κατάλληλος ανιχνευτής καταγράφει μία παράμετρο που συνδέεται με την συγκέντρωση των ουσιών (π.χ. φασματογράφος μάζας, ανιχνευτής UV) συναρτήσει του χρόνου, οπότε προκύπτουν *χρωματογράμματα* αντίστοιχα με την Εικόνα 4. Ο χρόνος που απαιτείται για μια ουσία, που δεν αλληλεπιδρά με τις δύο φάσεις να διατρέξει την χρωματογραφική στήλη, χαρακτηρίζεται ως *χρόνος αναφοράς* (t_0), ενώ ο χρόνος που χρειάζεται ένας αναλύτης, που αλληλεπιδρά, καλείται *χρόνος συγκράτησης ή χρόνος έκλουσης* t_R (*retention time*).

Στη χρωματογραφία η θέση ενός παλμού ενός αναλύτη ουσιαστικά δεν περιγράφεται από τον χρόνο συγκράτησης, αλλά από μια σταθερά που ορίζεται ως *σταθερά συγκράτησης* k' (*retention factor*)³⁰ και ορίζεται ως:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (6)$$



Εικόνα 4: Σχηματική απεικόνιση χρωματογράμματος³⁰

Η σταθερά συγκράτησης k' ισούται και με το γραμμομοριακό λόγο μεταξύ των δύο φάσεων (n_S/n_M) όταν το σύστημα, όπως περιγράφεται από την αντίδραση (4), βρίσκεται σε κατάσταση ισορροπίας. Αν β είναι η αναλογία φάσεων V_S/V_M τότε η σταθερά k' συνδέεται με τον συντελεστή K_D ³⁶:

$$k' = K_D \beta \quad (7)$$

Είδαμε προηγουμένως ότι το K_D εκφράζει την κλίση των ισόθερμων καμπυλών του συστήματος. Αποτελεί επιδίωξη η λειτουργία αυτού σε συνθήκες ώστε το K_D να παραμένει σταθερό, δηλαδή τα C_S και C_M να έχουν γραμμική εξάρτηση, καθώς με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται μέγιστη απόδοση. Αυτό καθορίζεται από την *μέγιστη ποσότητα αναλύτη ανά μάζα στάσιμης φάσης (mass loadability)* πέραν της οποίας παρατηρείται μείωση του k' λόγω λειτουργίας στη μη γραμμική περιοχή των ισόθερμων καμπύλων C_S vs. C_M . Μεγαλύτερη ποσότητα αναλύτη οδηγεί σε *υπερφόρτωση* του συστήματος και πιθανόν μειωμένη απόδοση.

Η ικανότητα διαχωρισμού δύο ουσιών χαρακτηρίζεται από την *ανάλυση R*, που μπορεί να επιτευχθεί σε μία χρωματογραφική στήλη, η οποία για δύο ουσίες 1 και 2 ορίζεται ως:

$$R = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_2 + w_1} \quad (8)$$

Όπου w είναι το πλάτος του παλμού στη βάση του και $w(1/2)$ στο μέσο του σε χρονικές συντεταγμένες.

Ένα μέγεθος το οποίο χαρακτηρίζει την δυνατότητα μιας στήλης να επιτελέσει ένα διαχωρισμό και χρησιμεύει στη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών συστημάτων είναι το *Ισοδύναμο Θεωρητικό Ύψος Στήλης H (Height Equivalent to Theoretical Plate - HETP)*. Έχει μονάδες μήκους και εκφράζει το διάστημα μέσα στο οποίο επιτυγχάνεται ισορροπία στην κατανομή του αναλύτη μεταξύ των δύο φάσεων.

Αποτελεί ένα μέτρο της διεύρυνσης του παλμού της συγκέντρωσης μιας ουσίας, καθώς αυτός κινείται κατά μήκος της χρωματογραφικής στήλης. Εκφράζοντας την συγκέντρωση σε χωρικές συντεταγμένες (x) σε δύο διαφορετικά χρονικά στιγμιότυπα, προκύπτει ότι η αύξηση του τετραγώνου της τυπικής απόκλισης της καμπύλης κατανομής της συγκέντρωσης $\Delta\sigma_x^2$ είναι ανάλογη της απόστασης της θέσης των δύο παλμών³⁷. Η σταθερά αναλογίας ισούται με το Ισοδύναμο Ύψος Στήλης H :

$$H = \frac{\Delta\sigma_x^2}{\Delta x} \quad (9)$$

Χρησιμοποιώντας χρονικές συντεταγμένες, το ισοδύναμο ύψος στήλης ορίζεται ως:

$$H = \left(\frac{\Delta\sigma_t}{\Delta t}\right)^2 \Delta x \quad (10)$$

Όπου Δx είναι η απόσταση μεταξύ δύο σημείων από όπου διέρχεται ο παλμός με χρονικό διαχωρισμό Δt .

Για μία χρωματογραφική στήλη με μήκος L και ισοδύναμο ύψος H , αυτή απαρτίζεται από αριθμό N ισοδύναμων πλακών:

$$N = \frac{L}{H} \quad (11)$$

Τα δύο μεγέθη (H και N) είναι αλληλένδετα και αποτελούν μέτρο της δυνατότητας ενός συστήματος να επιτελέσει ένα διαχωρισμό. Μικρότερο H σημαίνει μικρότερο ρυθμό αύξησης της διεύρυνσης ενός παλμού, μικρότερη αλληλεπικάλυψη μεταξύ διαδοχικών παλμών άρα και καλύτερη δυνατότητα διαχωρισμού. Ομοίως μεγαλύτερο N σημαίνει ότι για δεδομένο μήκος στήλης επιτυγχάνονται πολύ περισσότερες καταστάσεις ισορροπίας, άρα και πάλι καλύτερος διαχωρισμός, δηλαδή κατ' ουσία καλύτερη ανάλυση³⁰:

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{k'_2}{1+k'} \right) \left(\frac{\alpha-1}{\alpha} \right) \quad (12)$$

Όπου $\alpha = k'_2/k'_1$ ο παράγοντας διαχωρισμού δύο ουσιών με διαδοχικές τιμές παράγοντα συγκράτησης k' και \bar{k}' η μέση τιμή των δύο αυτών τιμών k'_1 και k'_2 . Υπερφόρτωση ενός συστήματος οδηγεί σε μείωση του N .

Κατά τη ροή της, η κινητή φάση διατρέχει μια στήλη μήκους L σε χρόνο t_0 , δηλαδή έχει ταχύτητα $u_0 = L/t_0$, εν ώ λ ό ω της αν ίστασης που συν α τ ά από τη στάσιμη φάση εμφανίζει πτώση πίεσης ΔP . Η διαπερατότητα K_v αποτελεί ένα μέτρο της αντίστασης φ στη ροή και ορίζεται ως:

$$K_v = \frac{u_0 \eta L}{\Delta P} \quad (13)$$

με η το ιξώδες της κινητής φάσης.

Καθώς υψηλότερη διαπερατότητα K_v συνεπάγεται καλύτερη ροή, άρα και ταχύτερο διαχωρισμό, οι Bristow και Κνοχ³⁸ εισήγαγαν την έννοια της εμπέδισης διαχωρισμού E :

$$E = \frac{H^2}{K_v} \quad (14)$$

Πρόκειται για ένα αδιάστατο μέγεθος που εκφράζει την ικανότητα ενός υποστρώματος στάσιμης φάσης να εκτελέσει ταχύτερη χρωματογραφική ανάλυση. Μικρότερο E συνεπάγεται συντομότερο χρόνο ανάλυσης. Μια βασική έννοια όσον αφορά τη δομή μιας χρωματογραφικής στήλης που επηρεάζει την ροή, άρα και την διαπερατότητα K_v και την εμπέδιση E , είναι το πορώδες ε .

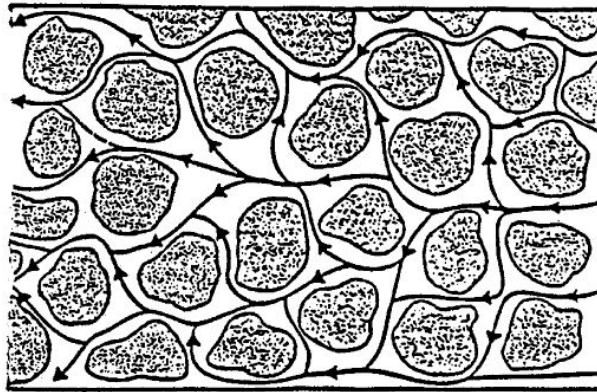
Πρόκειται ουσιαστικά για τον λόγο του όγκου που καταλαμβάνει η κινητή φάση προς τον συνολικό όγκο της στήλης και αποτελεί ένα μέτρο της “πληρότητας” αυτής από δομές στάσιμης φάσης. Προσδιορίζεται καθαρά από τη γεωμετρία της διάταξης και καλείται εξωτερικό πορώδες προς διάκριση με το εσωτερικό πορώδες (ε_{int}) που είναι δυνατό να αναπτυχθεί στην επιφάνεια των δομών αυξάνοντας την ενεργό επιφάνεια.

2.3 Αξιολόγηση – Σύγκριση Συστημάτων Χρωματογραφίας

Το ισοδύναμο ύψος H μίας χρωματογραφικής διάταξης δεν είναι σταθερό αλλά μεταβάλλεται με την ταχύτητα ροής u_0 της κινητής φάσης. Η συσχέτιση των δύο μεγεθών δίνεται από την εξίσωση van Deemter³⁹:

$$H = A + B/u_0 + Cu_0 \quad (15)$$

Το A ορίζεται ως *διάχυση δίνης* (*eddy diffusion*) και είναι ένας όρος που σχετίζεται με την πολυπλοκότητα των διαδρομών όπου ρέει η κινητή φάση, όπως αυτές ορίζονται από τις δομές της στάσιμης. Τα μόρια της κάθε ουσίας “ταξιδεύουν” σε διαφορετικές διαδρομές, με διαφορετικές ταχύτητες με αποτέλεσμα τη διεύρυνση της κατανομής της συγκέντρωσής τους. Μεγαλύτερη ανομοιομορφία στις ακολουθούμενες διαδρομές συνεπάγεται μεγαλύτερη τιμή του A , άρα και αύξηση του H . Μία μέθοδος για μείωση του παράγοντα αυτού στη διεύρυνση του παλμού είναι η ενσωμάτωση σε ψηφίδες ομοιόμορφων σωματιδίων (π.χ. σφαιρίδια ίδιων διαστάσεων). Σημαντική μείωση επιτυγχάνεται με την κατασκευή διατεταγμένων δομών. Μαθηματικά ισούται με $A=2\lambda d_p$, όπου d_p είναι ένα χαρακτηριστικό μέγεθος των δομών, π.χ. η διάμετρος των σωματιδίων, και λ ένας γεωμετρικός παράγοντας.

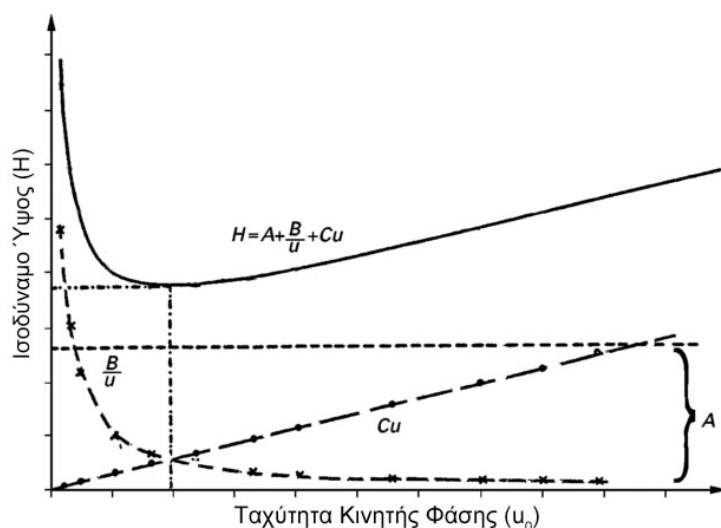


Εικόνα 5: Ανομοιομορφία στη ροή της κινητής φάσης διαμέσου των δομών της στάσιμης²⁹

Ο όρος B καλείται *αξονική διάχυση* και σχετίζεται με το συντελεστή μοριακής διάχυσης και τον χρόνο παραμονής του δείγματος εντός της διάταξης. Ισούται με $B=2\gamma D_M$, όπου ο γ ονομάζεται *παράγοντας παρεμπόδισης (obstruction factor)*. Εξαρτάται από μια φυσική ιδιότητα των χρησιμοποιούμενων ουσιών. Η συνεισφορά του όρου στη διεύρυνση του παλμού εξαρτάται από την ταχύτητα της ροής. Είναι μεγαλύτερη σε μικρές ταχύτητες καθώς τα μόρια έχουν περισσότερο χρόνο να διαχυθούν προς όλες τις κατευθύνσεις. Σε μεγαλύτερες ταχύτητες γίνεται αμελητέα καθώς όλα τα μόρια κινούνται ταυτόχρονα προς την ίδια κατεύθυνση.

Τέλος, ο όρος C σχετίζεται με την “αντίσταση” ως προς την μετακίνηση μαζών μεταξύ στάσιμης και κινητής φάσης. Η συνεισφορά του όρου στο ισοδύναμο ύψος είναι ανάλογη της ταχύτητας. Στο διάστημα που ορισμένα μόρια του αναλύτη κινούνται προς την στάσιμη φάση, αλληλεπιδρούν με αυτή (προσοφούνται) και εν συνεχεία εκροφούνται προς την κινητή φάση, τα υπόλοιπα παρασύρονται από την ροή. Σε μικρές ταχύτητες υπάρχει ο απαραίτητος χρόνος θ για τις ανώτερες αντιδράσεις. Σε μεγαλύτερες ταχύτητες δημιουργείται μεγαλύτερο “άπλωμα” της κατανομής της συγκέντρωσης. Μικρότερη τιμή του C μπορεί να επιτευχθεί με χρήση κινητών φάσεων με μικρό ιξώδες και με σμίκρυνση των διαστάσεων των δομών της στάσιμης φάσης³⁰.

Γραφικά η εξίσωση 15 απεικονίζεται στην Εικόνα 6. Υπάρχει ένα εύρος ταχυτήτων u_0 όπου το ισοδύναμο ύψος H παρουσιάζει ελάχιστο. Πρόκειται για την περιοχή λειτουργίας μιας χρωματογραφικής διάταξης στην οποία επιτυγχάνεται η βέλτιστη απόδοση. Η λειτουργία σε μικρότερες της βέλτιστης ταχύτητες είναι απαγορευτική λόγω μεγάλης αύξησης του H . Αντίθετα η λειτουργία μιας στήλης στην περιοχή όπου κυριαρχεί ο όρος C θεωρείται περισσότερο ελεγχόμενη.



Εικόνα 6: Γραφική παράσταση εξίσωσης van Deemter²⁹

Προκειμένου να είναι δυνατή η σύγκριση μεταξύ χρωματογραφικών συστημάτων με διαφορετικό χαρακτηριστικό μέγεθος δομών d_p , ο Knox εισήγαγε την έννοια των ανηγμένων (αδιάστατων) μεταβλητών για τα μεγέθη H και u_0 :

$$h = H/d_p \quad (16)$$

$$v = u_0 d_p / D_M \quad (17)$$

και κατόπιν διεξαγωγής πειραμάτων σε διάφορα συστήματα πρότεινε την κάτωθι εξίσωση⁴⁰:

$$h = A'v^n + B'/v + C'v \quad (18)$$

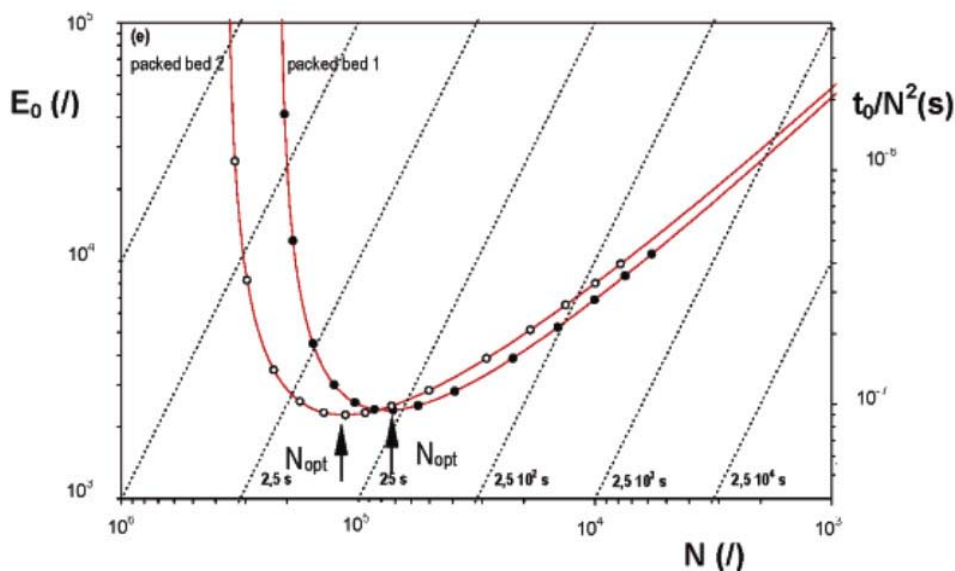
Οι εξισώσεις των van Deemter και Knox αποτελούν μια εμπειρική καταγραφή της συσχέτισης των H και u_0 και είναι πολύ βασικό εργαλείο για την μελέτη της συμπεριφοράς μιας χρωματογραφικής στήλης, καθώς και τη σύγκριση μεταξύ διαφορετικών διατάξεων. Ωστόσο οι τρεις όροι προκύπτουν περισσότερο από προσαρμογή καμπύλων (*curve fitting*) από πειραματικά δεδομένα-μετρήσεις καθώς δεν είχε δοθεί αναλυτική εξήγηση των μηχανισμών που αυτοί περιγράφουν¹².

Επιδιώκοντας μια πιο αναλυτική εξήγηση των φαινομένων ο Giddings⁴¹ απέδωσε την επίδραση της διάχυσης δίνης σε σύζευξη πέντε διαφορετικών συνεισφορών μελετώντας λεπτομερώς την ροή της κινητής φάσης διαμέσου των καναλιών όπως αυτά ορίζονται από την στάσιμη ενώ διέγινωσε συνεισφορά στον όρο C και των συντελεστών διάχυσης τόσο στο εσωτερικό του πορώδους των στάσιμων δομών (D_{part}) όσο και στην επιφάνειά τους (D_s). Η συνεχής προσπάθεια για βελτιστοποίηση των χρωματογραφικών διατάξεων μέσω καλύτερης κατανόησης της

συμπεριφοράς των, έχει οδηγήσει σε επιδίωξη τόσο διαφορετικών προσεγγίσεων^{15,42,43,44} των φαινομένων όσο και πιο λεπτομερούς παραμετροποίησης^{12,13} αυτών, ένδειξη της πολυπλοκότητας των συστημάτων και σημασίας της μεθόδου.

Στην εξίσωση 18 υπεισέρχεται ένα χαρακτηριστικό μέγεθος d_p , για την εξαγωγή των ανηγμένων μεγεθών, ο προσδιορισμός του οποίου δεν είναι πάντα προφανής. Στην περίπτωση κυλινδρικής στήλης με σφαιρικά σωματίδια το d_p ισούται με τη διάμετρο τους όπως και στην περίπτωση διάταξης κωνικών μικρο-κίωνων. Ωστόσο, όπως θα δούμε κατωτέρω, π.χ. το σχήμα των μικρο-κίωνων δεν είναι πάντα κυλινδρικό ενώ και στην περίπτωση στήλης με μονολιθική δομή δεν είναι εύκολο να οριστεί ένα χαρακτηριστικό μέγεθος.

Με σκοπό τη δυνατότητα σύγκρισης διαφορετικών χρωματογραφικών συστημάτων με απαλοιφή της έννοιας του χαρακτηριστικού μεγέθους d_{ref} , ο Desmet πρότεινε την χρήση διαγραμμάτων της εμπέδησης διαχωρισμού E ως προς τον αριθμό ισοδύναμων πλακών N (Εικόνα 6) που καλούνται κινητικά διαγράμματα.



Εικόνα 7: Κινητικό Διάγραμμα (N,E)^{4b}

Ο αριθμός θεωρητικών πλακών N υπολογίζεται μέσω πειραματικών αποτελεσμάτων ως:

$$N = \left(\frac{\Delta P}{\eta} \right) \left[\frac{K_v}{u_0 H} \right]_{\text{exp}} \quad (19)$$

ο χρόνος t_0 ως:

$$t_0 = \left(\frac{\Delta P}{\eta} \right) \left[\frac{K_v}{u_0^2} \right]_{\text{exp}} \quad (20)$$

και η εμπέδηση διαχωρισμού E ως:

$$E = \left(\frac{\Delta P}{\eta}\right) \frac{t_0}{N^2} \quad (21)$$

Στον οριζόντιο άξονα το N παριστάνεται σε αντίστροφη σειρά, οπότε τα κινητικά διαγράμματα εμφανίζουν ομοιότητα με τις καμπύλες van Deemter και Knox. Το ελάχιστο αντιστοιχεί στον βέλτιστο αριθμό N για ταχύτερο διαχωρισμό. Για τον ίδιο αριθμό N από διαγράμματα δύο ή περισσότερων συστημάτων, καθώς κινούμαστε από κάτω προς τα πάνω μπορούμε να διαπιστώσουμε με πύση χρονική διαφορά τα διάφορα συστήματα μπορούν να επιτελέσουν τον ίδιο διαχωρισμό.

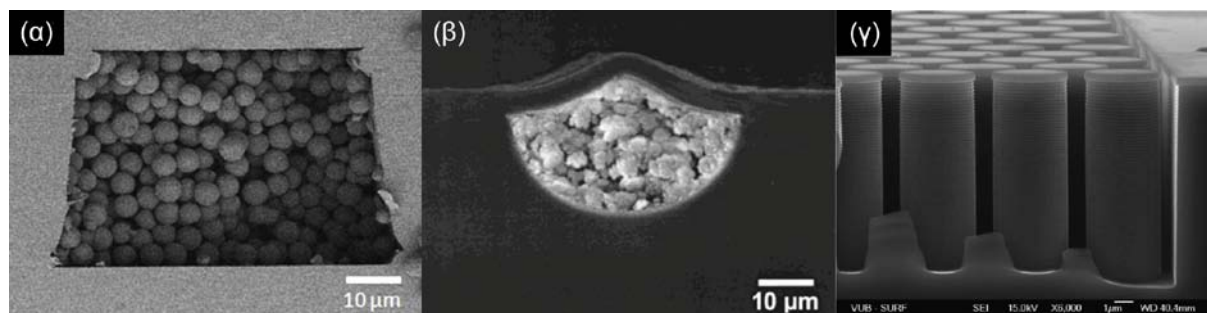
2.4 Χρωματογραφία σε Ψηφίδα

Η απαίτηση για σμίκρυνση των διαστάσεων και ενσωμάτωση όλων των συσκευών εκτέλεσης μιας χρωματογραφικής ανάλυσης σε μία ολοκληρωμένη διάταξη (*micro Total Analysis System – μTAS*) οδήγησε στη σταδιακή μετάβαση από το κλασικό κυλινδρικό σχήμα στην επίπεδη μορφολογία. Ισχυρότερο κίνητρο για την μετάβαση αυτή αποτέλεσε το γεγονός της υιοθέτησης κατασκευαστικών τεχνικών της μικροηλεκτρονικής (μικροτεχνολογία) από τη βιομηχανία της χρωματογραφίας. Τεχνικές όπως οπτική λιθογραφία (*photolithography*), εγχάραξη (*etching*), χημική εναπόθεση (*CVD – Chemical Vapour Deposition*), εκτομή με laser (*laser ablation*) έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δημιουργία μικρορευστονικών καναλιών σε διάφορες βάσεις υποστρώματα (δισκίδια πυριτίου, γυαλί, πολυμερικά υλικά)⁴⁶.

Ωστόσο σημαντική πρόοδος έχει σημειωθεί, ειδικότερα την τελευταία δεκαετία, και στην κατασκευή κλασικών κυλινδρικών διατάξεων. Κυριότερη αφορμή στάθηκαν οι υψηλές απαιτήσεις σε αναλύσεις της φαρμακευτικής βιομηχανίας. Το μήκος των διατάξεων έχει περιοριστεί στα 50mm (από 300mm). Η διάμετρος των ενσωματωμένων σωματιδίων έχει μειωθεί από 10 σε 1.5μm, γεγονός που οδήγησε σε απαίτηση για πολύ υψηλότερες πιέσεις λειτουργίας (της τάξης των 1000bar – *High Performance Liquid Chromatography - HPLC*) αλλά και σε βελτίωση της διαχωριστικής ικανότητας με επίτευξη τιμών HETP ίσες με 1,7μm (ή $h=1.5$). Πέραν της περίπτωσης χρήσης ενσωματωμένων σφαιριδίων ως στάσιμη φάση, νέες τεχνικές (π.χ. *sol-gel*) έδωσαν τη δυνατότητα κατασκευής μονοκόμματης στήλης μονολιθικού τύπου, ενώ η εξέλιξή τους επέτρεψε τον καλύτερο έλεγχο του πορώδους τους άρα και της ενεργού επιφάνειάς των⁴⁷.

Η αποκτηθείσα τεχνογνωσία όσον αφορά τα χρησιμοποιούμενα υλικά και τις τεχνικές ανάπτυξής τους έχει αξιοποιηθεί πλήρως και στην σύνθεση ψηφίδων επίπεδης μορφολογίας. Οι επικρατέστερες εκδοχές ενσωμάτωσης της στάσιμης φάσης στα μικρορευστονικά κανάλια είναι: α) με τοποθέτηση σωματιδίων κυρίως σφαιρικής γεωμετρίας (*Packed Bed*), β) με ανάπτυξη μονολιθικών δομών (*Monolithic*) και γ) με δημιουργία δομημένης διάταξης μικρο-κίωνων (*Pillar Array Column – PAC*)

(Εικόνα 8). Στον πίνακα 1 δίνονται συνοπτικά τα κυριότερα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της κάθε μεθόδου^{32, 46}.



Εικόνα 8: Χαρακτηριστικές εκδοχές στάσιμης φάσης σε μικρορευστονικό κανάλι: (α) σφαιρικά σωματίδια⁴⁸, (β) μονολιθικής δομής⁴⁹, (γ) διάταξης μικρο-κίωνων⁵⁰

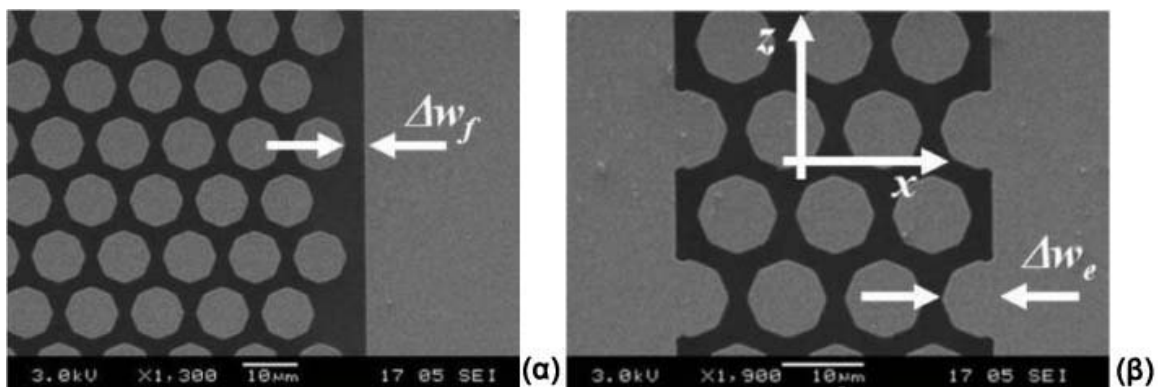
Πίνακας 1: Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα μεθόδων ενσωμάτωσης στάσιμης φάσης σε μικρορευστονικά κανάλια

	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Ενσωματωμένα Σωματίδια	<ul style="list-style-type: none"> • Μεγάλη ποικιλία υλικών • Δυνατότητα επιλογής κατάλληλου υλικού (βάσει χημικής συνάφειας) • Καλή επαναληψιμότητα σωματιδίων • Ευρύτερες συνθήκες λειτουργίας για υπερφόρτωση συστήματος 	<ul style="list-style-type: none"> • Μικρή επαναληψιμότητα στη διάταξη των σωματιδίων • Απαιτήση διάταξης για συγκράτηση των σωματιδίων • Υψηλή πτώση πίεσης εν λειτουργία
Μονολιθικής Δομής	<ul style="list-style-type: none"> • Μικρή πτώση πίεσης εν λειτουργία • Υψηλή διαθεσιμότητα υλικών 	<ul style="list-style-type: none"> • Μη επαναληψιμότητα • Διαδικασία κατασκευής εξαρτάται από υλικό βάσης-υποστρώματος
Διάταξης Μικρο-κίωνων	<ul style="list-style-type: none"> • Υψηλή τάξη δομών, ελαχιστοποίηση διάχυσης δίνης, υψηλότερη απόδοση • Πολύ καλή επαναληψιμότητα διατάξεων 	<ul style="list-style-type: none"> • Περιορισμός ως προς το εύρος λειτουργίας για αποφυγή υπερφόρτωσης • Δυσκολία στη δημιουργία πορώδους επιφάνειας

Η κατασκευή για πρώτη φορά χρωματογραφικής στήλης, όπου η στάσιμη φάση απαρτίζεται από διατεταγμένους μικρο-κίονες, αποδίδεται στον Regnier¹. Η επιθυμητή κάτοψη της γεωμετρίας μετεφέρεται με οπτική λιθογραφία σε ρητίνη που έχει αποθεθεί σε δισκίδιο Πυριτίου. Με χρήση αντιδραστήρα πλάσματος ακολουθεί ανισότροπη εγχάραξη του πυριτίου (*Deep Reactive Ion Etching – DRIE*) ώστε να σχηματισθεί η τρισδιάστατη δομή.

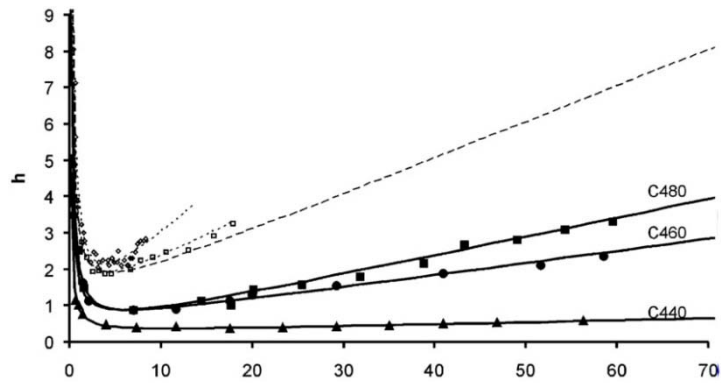
Το κυριότερο πλεονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου ανάπτυξης στάσιμης φάσης είναι η επαναληψιμότητα καθώς και η δυνατότητα μαζικής παραγωγής πανομοιότυπων διατάξεων. Λόγω της διατεταγμένης θέσης των κίωνων, η ροή είναι πιο ομαλή με αποτέλεσμα την ελαχιστοποίηση της διάχυσης δίνης, ωστόσο πρόκληση αποτελεί η δυνατότητα αύξησης της ενεργού επιφάνειας για συγκεκριμένη γεωμετρία².

Ο De Pra⁴ μελετώντας χρωματογραφικές στήλες με διατεταγμένους μικροκίονες και συγκρίνοντας την μορφή του τοίχου του μικροκαναλιού για δύο τύπους τοίχων, επίπεδους (Εικόνα 9.α) και με ενσωματωμένους μικρο-κίονες (Εικόνα 9.β), ως προς την επίδρασή τους στο H , απέδειξε ότι στην πρώτη περίπτωση η ακριβής απόσταση είναι πολύ σημαντική, με βέλτιστη τιμή ίση με το 15% της διαμέτρου των κίωνων, επαληθεύοντας τις θεωρητικές προβλέψεις του Vervoort¹⁷. Ωστόσο, όσο μικραίνει η διάμετρος των κίωνων η επίτευξη της ιδανικής απόστασης είναι πολύ δύσκολη. Βέλτιστη απόσταση διαπιστώθηκε και στη δεύτερη περίπτωση, ωστόσο η συμπεριφορά της στήλης ήταν λιγότερο επιρρεπής στην απόκλιση από την ιδανική τιμή. Μελετώντας δύο σχήματα κίωνων, κυλινδρικό και ρομβοειδές, παρατήρησε ότι το ρομβοειδές σχήμα και η αύξηση του πορώδους επιτρέπουν καλύτερη ροή με αποτέλεσμα χαμηλότερη εμπέδηση διαχωρισμού E . Ωστόσο καθώς αυξάνει το πορώδες αυξάνει και το ισοδύναμο ύψος H^{51} .

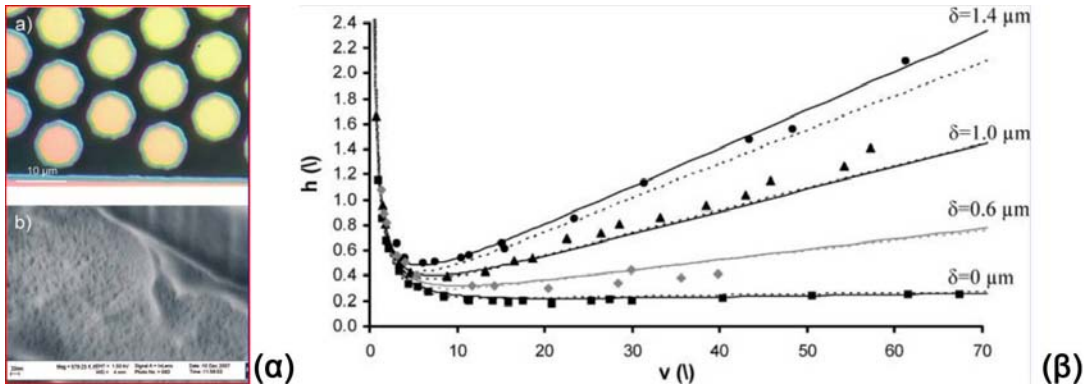


Εικόνα 9: Χρωματογραφική στήλη με (α) επίπεδο τοίχο και (β) ενσωματωμένους κίονες⁴.

Με την απόθεση C-8 στην ίδια στήλη, ως μη πολική φάση για *RPLC*, ο Wim De Malsche⁶ εκτέλεσε διαχωρισμό τριών ουσιών επιδεικνύοντας τη δυνατότητα εκτέλεσης καλύτερων διαχωρισμών (Εικόνα 10) σε σύγκριση με στήλη σφαιρικών σωματιδίων ενώ παρατήρησε αύξηση του ισοδύναμου ύψους H με αύξηση του παράγοντα συγκράτησης k' . Εφαρμόζοντας ηλεκτροχημική ανοδίσωση σε στήλη με κίονες διαμέτρου 10 μ m πέτυχε τη δημιουργία μιας επιφανειακής πορώδους ζώνης πάχους 550nm, αυξάνοντας την ενεργό επιφάνεια κατά 200 φορές. Το h σημείωσε μικρή μόνο αύξηση σε σύγκριση με αντίστοιχη στήλη χωρίς επιφανειακή τροποποίηση, από 0.2 σε 0.3⁷. Μελετώντας την επίδραση του επιφανειακού πορώδους κατόπιν απόθεσης C-8 παρατήρησε ότι με τη αύξηση του χρόνου ανοδίσωσης, άρα και του πάχους της πορώδους επιφάνειας, αυξήθηκε η δυνατότητα συγκράτησης (αύξηση του k' – Εικόνα 11). Στις συνθήκες μέγιστης συγκράτησης ($k'=12$) το βέλτιστο h_{min} ήταν μόλις 0.9 σε σχέση με 0.5 για την περίπτωση στήλης χωρίς απόθεση C-8⁵².

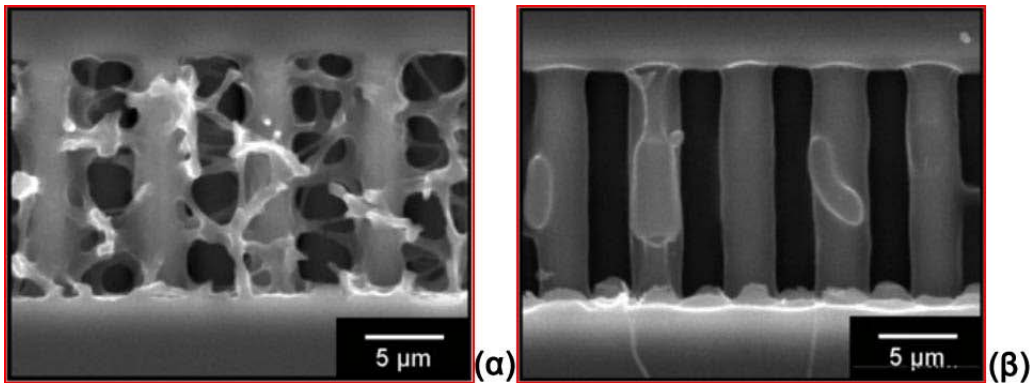


Εικόνα 10: Καμπύλες van Deemter για διαχωρισμό 3 χρωστικών (C440, C460, C480) σε χρωματογραφική στήλη κυλινδρικών κίωνων εγχαραγμένη σε Si με απόθεση C-8 (συνεχείς καμπύλες)⁶. Σύγκριση με αναλύσεις σε στήλες με σφαιρικά σωματίδια (διακεκομμένες γραμμές)



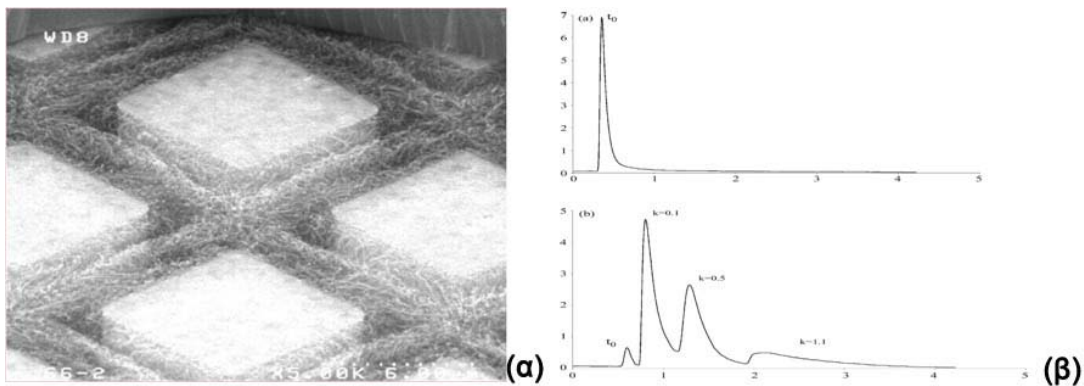
Εικόνα 11: (α) Δημιουργία πορώδους επιφάνειας σε κυλινδρικούς μικροκίονες με ηλεκτροχημική ανοδίσωση. (β) Καμπύλες van Deemter για διαφορετικό πάχος πορώδους επιφάνειας. Αύξηση του πάχους συνεπάγεται και μεγαλύτερο συντελεστή k'^{62} .

Μια διαφορετική προσέγγιση για αύξηση της ενεργού επιφάνειας ήταν ο συνδυασμός της δομημένης διάταξης των μικρο-κίωνων σε υπόστρωμα Si με ανάπτυξη μονολιθικής δομής με την τεχνική sol-gel, που επιχειρήθηκε από τον Detobel⁵³. Διαφοροποιώντας τη σύνθεση των αντιδραστηρίων και την απόσταση των μικρο-κίωνων είναι δυνατό να προκύψουν είτε μονολιθικές διακλαδώσεις που αναπτύσσονται κάθετα σε αυτούς (Εικόνα 12.α) είτε ένα εξωτερικό πορώδες στρώμα που τους διαβρέχει (Εικόνα 12.β). Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται καλύτερος έλξη ως προς τις διαστάσεις του πυρήνα (αρχική ή διάμετρος κίονα) και του εξωτερικού πορώδους στρώματος. Με την απόθεση επίστρωσης C-8 σε κίονες αρχικής διαμέτρου 2.4μm στους οποίους είχε αναπτυχθεί εξωτερικό πορώδες πάχους 500nm, ο Detobel εκτέλεσε χρωματογραφικό διαχωρισμό σε χρωστικές επιδεικνύοντας βέλτιστο $h_{min}= 0.7$ και 1.2 για $k' = 0$ και 6.5 αντίστοιχα⁸.



Εικόνα 12: Αύξηση της ενεργού επιφάνειας σε PAC με ανάπτυξη μονολιθικής δομής (α) ως διακλαδώσεις κάθετες στην επιφάνεια των κίωνων και (β) ως ένα εξωτερικό περίβλημα που τους διαβρέχει⁵³

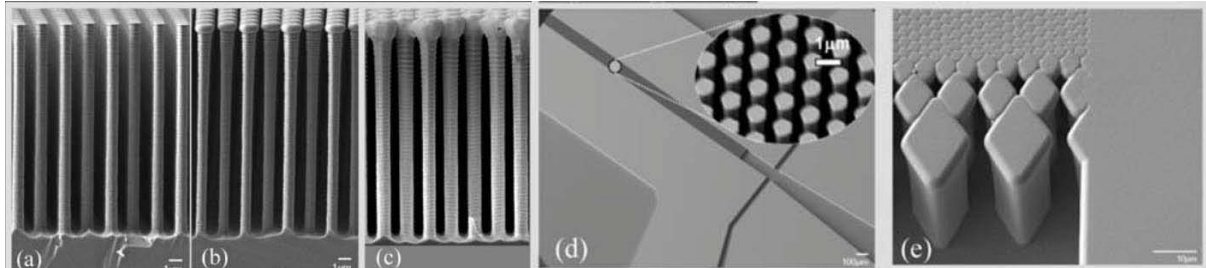
Αντί της εναπόθεσης αλκυλο-ομάδων (C-8 και C-18) για τη δημιουργία μη πολικής στάσιμης φάσης για RPLC, ο Fonverne πρότεινε την ανάπτυξη νανοσωλήνων άνθρακα (Εικόνα 13) σε υπόστρωμα ψηφίδας Si στο οποίο είχε αποθεθεί Νικέλιο ως καταλύτης. Έχοντας ως αναφορά αντίστοιχη ψηφίδα Πυριτίου με επίστρωση C-18, διαπίστωσε ότι η υδρόφοβη φύση των νανοσωλήνων παρέχει καλύτερη συγκράτηση ουσιών ακόμα και σε περίπτωση αυξημένου ποσοστού οργανικού διαλύτη ($H_2O/ACN:80/20$ αντί $95/5$)^{9,54}.



Εικόνα 13: (α) Ανάπτυξη νανοσωλήνων άνθρακα σε ρομβοειδής μικροκίονες. (β) Χρωματογράμματα για στήλη με C-18 (επάνω) και νανοσωλήνες άνθρακα (κάτω)⁹

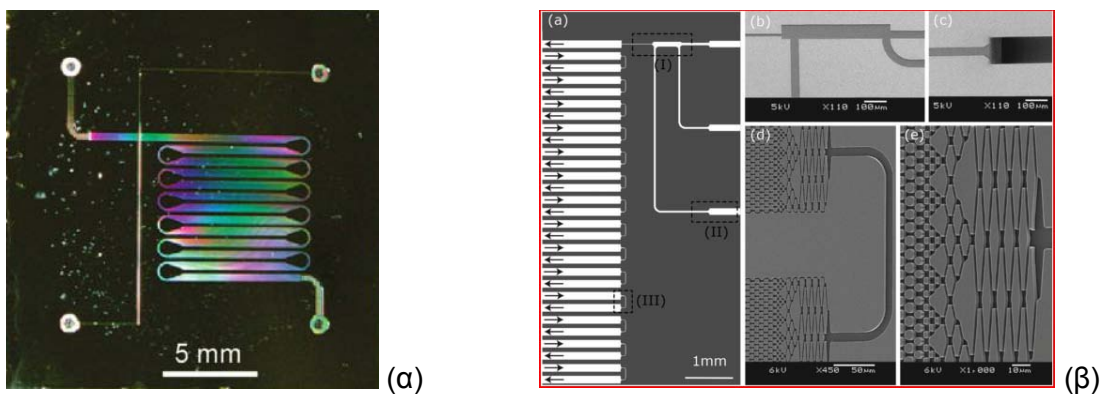
Η ανάγκη σμίκρυνσης των διαστάσεων (διάμετρος κίωνων) για βελτίωση της απόδοσης μιας στήλης σε συνδυασμό με την απαίτηση για αύξηση του λόγου επιφάνειας/όγκου μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της μηχανικής αντοχής των κίωνων⁷. Η ομάδα των Lavrik και Taylor επιδίωξε να αντιμετωπίσει το πρόβλημα αυτό με την αρχική εγχάραξη κίωνων (ακόμα και διαμέτρου $1\mu m$) και κατόπιν την ανάπτυξη οξειδίου του πυριτίου με PECVD για τη δημιουργία της απαιτούμενης πορώδους ενεργού επιφάνειας. Με ακριβή έλεγχο των συνθηκών PECVD είναι δυνατόν να επιτευχθεί αυξημένη ανάπτυξη οξειδίου στην κορυφή των κίωνων με αποτέλεσμα την σταθεροποίηση αυτών αλλά και την στεγανοποίηση του καναλιού (Εικόνα 14)^{55,56}. Στην πράξη βέβαια ανοχές στις κατασκευαστικές μεθόδους (ανάλυση οπτικής

λιθογραφίας) θέτουν περιορισμούς, καθώς έχουν σαν αποτέλεσμα ελαττώματα όπως συννένωση κίωνων με πλευρικά τοιχώματα ή/και μεταξύ τους. Για διαμέτρους της τάξης των 0.6μm και κάτω τα κατασκευαστικά ελαττώματα είναι εντονότερα με συνέπεια την αύξηση αντί της μείωσης του ισοδύναμου ύψους H , άρα και επιδείνωση της απόδοσης της χρωματογραφικής στήλης⁵⁷.



Εικόνα 14: Ανάπτυξη οξειδίου του Si με PECVD σε επιφάνεια κίωνων με πολύ μεγάλο γεωμετρικό λόγο διαμέτρου/ύψους. Το σχηματιζόμενο οξείδιο παρέχει πορώδη επιφάνεια αλλά προκαλεί συννένωση των κίωνων στην κορυφή τους με αποτέλεσμα την στήριξή τους και τη στεγανοποίηση του καναλιού^{55,56}.

Ακόμα όμως και στην περίπτωση χρωματογραφικής στήλης με χαμηλό H , για τον διαχωρισμό σύνθετων δειγμάτων απαιτείται αυξημένος αριθμός N , ο οποίος επιτυγχάνεται με αύξηση του συνολικού μήκους. Αυτό δύναται να υλοποιηθεί με σύνδεση σε σειρά πολλαπλών χρωματογραφικών διατάξεων. Βελτιστοποίηση των διασυνδέσεων ώστε αυτές να μην συνεισφέρουν περαιτέρω σε αύξηση της διεύρυνσης παλμού μπορεί να επιτευχθεί είτε με διαφοροποίηση της γεωμετρίας (Εικόνα 15.α)⁵⁸ είτε με χρήση διανομέα στην είσοδο και έξοδο της κάθε στήλης⁵⁹. Εφαρμογή της δεύτερης τεχνικής, από την ομάδα του De Malsche, έδωσε 100000 θεωρητικές πλάκες σε στήλη συνολικού μήκους 1.4m με κίονες διαμέτρου $d_p=11\mu\text{m}$ ⁶⁰. Η ίδια ερευνητική ομάδα, με εγχάραξη κίωνων με $d_p=5\mu\text{m}$ και σύνδεση 60 στηλών μήκους 5cm η καθεμία πέτυχε αριθμό $N=10^6$ (με $h\sim 0.5$ – Εικόνα 15.β)¹⁰.



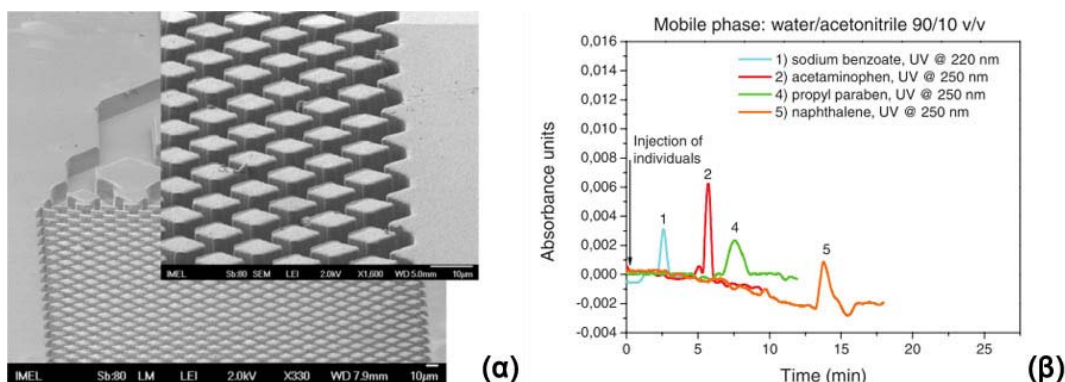
Εικόνα 15: Διασύνδεση σε σειρά πολλαπλών χρωματογραφικών στηλών μέσω (α) βελτιστοποίηση της γεωμετρίας στροφής⁵⁸ και (β) χρήσης διανομέα εισόδου-εξόδου¹⁰

Από την πρώτη εφαρμογή της, το 1998¹, σημαντική εξέλιξη έχει σημειωθεί στην εγχάραξη χρωματογραφικών στηλών σε υπόστρωμα Si. Ωστόσο τόσο το κόστος των χρησιμοποιούμενων υλικών (υπόστρωμα Si, στεγανοποίηση με Quartz) και τεχνικών,

όσο και η απαίτηση για επιφανειακή τροποποίηση του Si (επίστρωση με οργανικής φύσης υλικά για εκτέλεση RPLC) οδήγησαν σε ανάπτυξη αντίστοιχων δομών και σε πολυμερικά υλικά²⁷.

Το 2009 ο Illa²⁴ κατασκεύασε χρωματογραφική στήλη μήκους 5cm, με κίονες διαμέτρου 15.3μm και ύψους 4.3μm σε φύλλο COP πάχους 188μm. Ένα υλικό με πολύ καλές ιδιότητες για χρήση σε στήλη υγρής χρωματογραφίας ανάστροφης φάσης λόγω της υψηλής υδροφοβικότητας και της οπτικής καθαρότητας. Σε συνθήκες μηδενικής συγκράτησης ($k'=0$) μέτρησε ανηγμένη τιμή ισοδύναμου ύψους ίση με $h=0.15$, εν ώ ο διαχωρισμός τεσσάρων χρωστικών σε κινητή φάση H₂O/MeOH:70/30 επετεύχθη μόλις από το μισό μήκος της στήλης. Λόγω της δυναμικής του συγκεκριμένου υλικού για χρήση ως στάσιμη φάση RPLC, μελέτησε επίσης την επίδραση του ύψους των κίωνων στη διεύρυνση παλμού⁶¹.

Κατασκευάζοντας στήλες με τρία διαφορετικά βάθη, 2.5, 5.7 και 8μm, παρατήρησε αύξηση του ισοδύναμου ύψους H με την αύξηση του ύψους των κίωνων. Με εκτίμηση των όρων A, B και C της εξίσωσης van Deemter διαπίστωσε αύξηση του όρου A, που απέδωσε σε αυξημένη πιθανότητα κατασκευαστικών ατελειών με αύξηση του βάθους, και του όρου C, γεγονός που συνάδει με τις θεωρητικές προβλέψεις⁶². Καθώς αύξηση του βάθους συνεπάγεται μείωση του λόγου ενεργού επιφάνειας προς όγκο ορευστού, συνεπώς και μείωση του συντελεστή συγκράτησης k' . Εκτελώντας πειράματα διαχωρισμού σε χρωστικές και συγκρίνοντας τα αποτελέσματα με μη πορώδεις δομές κίωνων σε υπόστρωμα Si⁶ διαπίστωσε ότι με τις στήλες σε COP επιτυγχάνεται αντίστοιχο ισοδύναμο ύψος H αλλά μεγαλύτερος συντελεστής συγκράτησης k' . Αν κά σε σύγκριση με τις πορώδεις δομές Si⁵² ο συντελεστής k' είναι πολύ μικρότερος⁶³, το COP αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο υλικό για υπόστρωμα RPLC.



Εικόνα 16: (α) Στήλη χρωματογραφίας σε COP και (β) χρωματογράμμα ανάλυσης τεσσάρων χημικών ουσιών²⁸

Χρησιμοποιώντας επίσης ως υπόστρωμα φύλλο COP αλλά υιοθετώντας την διάταξη που είχε προταθεί αρχικά από τον Regnier, η Τσουγένη²⁸ εκτέλεσε επιτυχώς

διαχωρισμό τεσσάρων χημικών ουσιών (parabens) τεκμηριώνοντας την ανωτέρω πρόβλεψη (Εικόνα 16).

2.5 Κατασκευή Μικρορευστονικών Διατάξεων σε Πολυμερή Υλικά

Αφορμή για την στροφή προς την κατασκευή μικρορευστονικών διατάξεων σε πολυμερή υλικά αποτέλεσε κυρίως η σημαντική μείωση του κόστους μαζικής παραγωγής. Παρά ταύτα οι φυσικές και χημικές ιδιότητες μερικών μόνο υλικών (όπως το COP) είναι συμβατές με τα αναλώσιμα που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία (π.χ. οργανικοί διαλύτες) αλλά και τις μεθόδους ανίχνευσης (π.χ. ανιχνευτές UV).

Όπως και στις υπόλοιπες περιπτώσεις η διαδικασία κατασκευής των διατάξεων θα μπορούσε να χωρισθεί σε δύο βασικά στάδια με επιμέρους τεχνικές για την υλοποίησή τους:

1) τη δημιουργία του καναλιού και των δομών²⁰

α. με αποτύπωση εν θερμώ, όπου η “αρνητική” όψη της επιθυμητής δομής κατασκευάζεται ως σφραγίδα και κατόπιν μεταφέρεται με εφαρμογή πίεσης και θερμοκρασίας στο πολυμερές

β. με χύτευση, όπου το πολυμερές θερμαίνεται σε υψηλή θερμοκρασία, μεγαλύτερη του σημείου τήξης, ρέει σε καλούπι και μορφοποιείται με την μείωση της θερμοκρασίας

γ. εκτομή με laser, όπου με εφαρμογή ακτινοβολίας UV έχουμε σπάσιμο των πολυμερικών δεσμών και απομάκρυνση υλικού μέσω εξάχνωσης

δ. λιθογραφία με ακτίνες X

ε. εγχάραξη με πλάσμα⁶⁴

2) τη στεγανοποίησή του⁶⁵

α. με συνδυασμένη εφαρμογή θερμότητας και πίεσης, οπότε στη διεπιφάνεια ευνοείται η αλληλοδιάχυση – “πλέξιμο” των πολυμερικών αλυσίδων των δύο υλικών

β. με δημιουργία τριβής στη διεπιφάνεια με σκοπό την τοπική τήξη των δύο υλικών

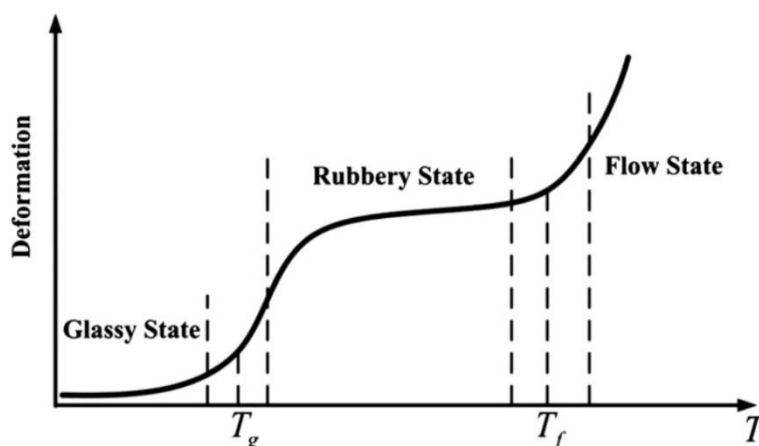
γ. με εισαγωγή ενός τρίτου σώματος π.χ. θερμικής αντίστασης, πηνίου και την τοπική αύξηση της θερμοκρασίας στη διεπιφάνεια με ροή ηλεκτρικού ρεύματος, επαγωγή ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας κλπ.

2.5.1 Αποτύπωση εν Θερμώ (Hot Embossing)

Η αποτύπωση εν θερμώ και η χύτευση αποτελούν απλούστερες μεθόδους καθώς απαιτούν λιγότερο εξειδικευμένο εξοπλισμό μικρότερου κόστους, με κυριότερο στάδιο αυτό της κατασκευής της σφραγίδας ή του καλουπιού. Ωστόσο η χύτευση υστερεί έναντι της αποτύπωσης καθώς το εύρος των θερμοκρασιών λειτουργίας είναι μεγαλύτερο με συνέπεια την ανάπτυξη μεγαλύτερων θερμικών τάσεων στο υλικό⁶⁶.

Η διαδικασία της αποτύπωσης εν θερμώ ξεκινά με την μεταφορά σε κατάλληλο υλικό του “αρνητικού” αντιγράφου της επιθυμητής δομής με τη μορφή σφραγίδας. Αυτό μπορεί να γίνει είτε με μηχανουργική κατεργασία (εφόσον το μέγεθος των διατάξεων είναι σχετικά μεγάλο $> 100\mu\text{m}$), είτε με κάποια από τις τεχνικές της μικροηλεκτρονικής (οπτική λιθογραφία, εγχάραξη DRIE, υγρή εγχάραξη, LIGA)⁶⁶. Εν μέρει η τεχνική εξαρτάται και από το υλικό της σφραγίδας το οποίο μπορεί να είναι κάποιο μέταλλο, δισκίδιο Si ή κάποιο άλλο πολυμερές.

Εν συνεχεία το υλικό του υποστρώματος τοποθετείται μεταξύ δύο επιφανειών και αυξάνεται η θερμοκρασία με ταυτόχρονη εφαρμογή πίεσης. Καθώς θερμαίνεται ένα θερμοπλαστικό πολυμερές, η κινητικότητα των πολυμερικών αλυσίδων αυξάνεται. Μέχρι μια χαρακτηριστική θερμοκρασία που καλείται θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης T_g αυτό παραμένει σκληρό. Για $T > T_g$ η κινητικότητα αυξάνει περισσότερο και το πολυμερές συμπεριφέρεται ως ασυμπίεστο ελαστικό, ενώ η όποια παραμόρφωση υφίσταται είναι αναστρέψιμη. Με περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας ($T > T_f$) το πολυμερές γίνεται περισσότερο ρευστό λόγω ολίσθησης των πολυμερικών αλυσίδων και η παραμόρφωση του είναι πλέον μη αναστρέψιμη (Εικόνα 17)⁶⁷.



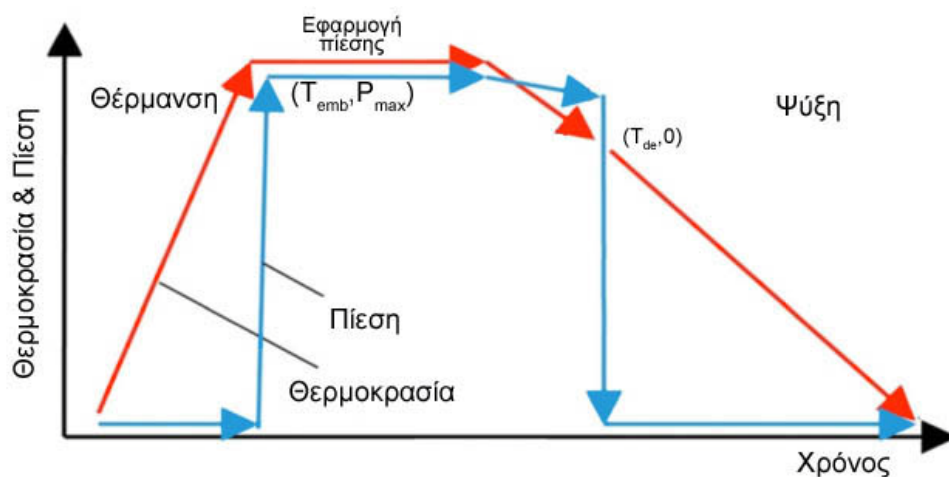
Εικόνα 17: Τυπική Συμπεριφορά Θερμοπλαστικών Υλικών⁶⁷

Με διατήρηση της εφαρμοζόμενης πίεσης και θερμοκρασίας για αρκετό χρονικό διάστημα το πολυμερές σε ρευστή κατάσταση “γεμίζει” τα οριζόμενα από τη σφραγίδα κενά. Με μείωση της θερμοκρασίας κάτω από την T_g οι πολυμερικές

αλυσίδες ακινητοποιούνται στις νέες θέσεις και έχουμε σχηματισμό της επιθυμητής δομής οπότε αίρεται η εφαρμοζόμενη πίεση και το μορφοποιημένο κομμάτι απομακρύνεται από την σφραγίδα. Ένας τυπικός κύκλος της διαδικασίας εικονίζεται στην Εικόνα 18.

Οι βασικότεροι παράμετροι που καθορίζουν την σωστή μορφοποίηση του πολυμερούς, και μάλιστα με σειρά σπουδαιότητας, είναι^{68,69}: α) η μέγιστη εφαρμοζόμενη θερμοκρασία (T_{emb}), β) η μέγιστη εφαρμοζόμενη πίεση (P_{max}) και γ) ο χρόνος διατήρησης των ανωτέρω συνθηκών πίεσης και θερμοκρασίας (t_{emb}), οπότε και η συνήθης πρακτική εξεύρεσης των καλύτερων συνθηκών είναι:

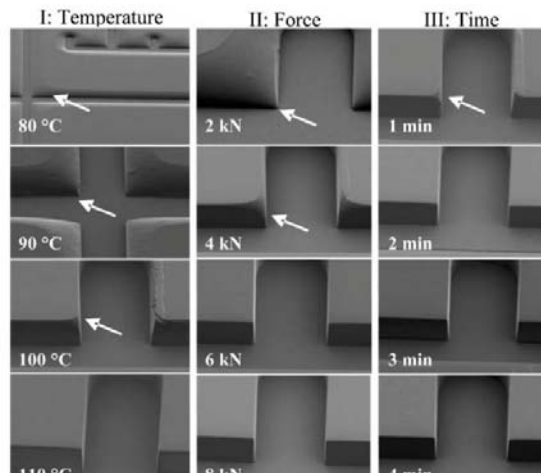
- α. αύξηση της θερμοκρασίας για σταθερή πίεση και χρόνο
- β. αύξηση της πίεσης για την βέλτιστη θερμοκρασία και σταθερό χρόνο
- γ. αύξηση του χρόνου για τις βέλτιστες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας



Εικόνα 18: Τυπικός κύκλος Θερμοκρασίας & Πίεσης για αποτύπωση εν Θερμώ⁶⁷

Ο ρόλος των παραμέτρων είναι κάπως συμπληρωματικός, δηλαδή για παράδειγμα χρήση μικρότερης θερμοκρασίας θα απαιτήσει είτε εφαρμογή μεγαλύτερης πίεσης είτε διατήρηση των συνθηκών για περισσότερο χρόνο⁷⁰. Καθώς όμως καλύτερος έλεγχος της θερμοκρασίας δίνει καλύτερα αποτελέσματα⁷¹ ενώ μικρές διακυμάνσεις στο χρόνο δεν επιφέρουν σημαντικές διαφοροποιήσεις⁷² ακολουθείται η ανωτέρω σειρά στη βελτιστοποίηση των παραμέτρων (Εικόνα 19).

Ως γενικός κανόνας για την επιλογή της θερμοκρασίας έχει αναφερθεί, τόσο πειραματικά⁷² όσο και υπολογιστικά^{73,74} η τιμή $T_{emb} > T_g + 20^\circ\text{C}$. Ωστόσο πιο πολύπλοκες δομές⁶⁸ ή μεγαλύτερος λόγος ύψους/πλάτους δομής⁷⁵ έχουν αποδοθεί καλύτερα σε αρκετά υψηλότερες τιμές ($T_{emb} = T_g + \sim 40^\circ\text{C}$).

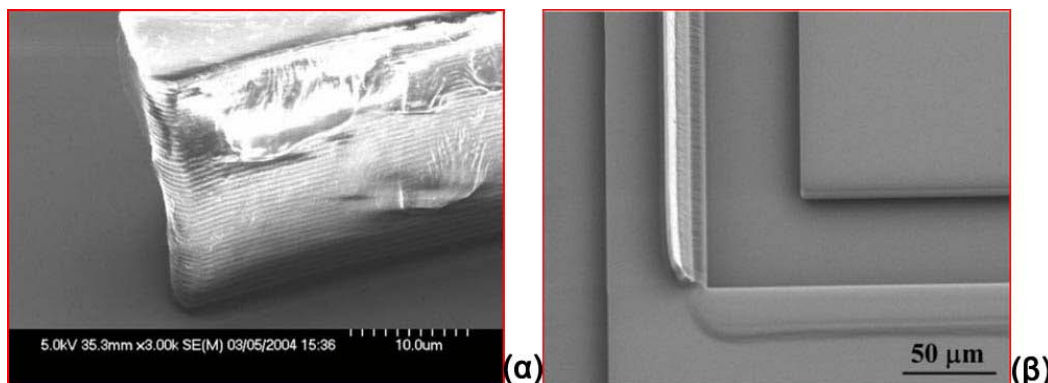


Εικόνα 19: Επίδραση των 3 παραμέτρων, θερμοκρασία, πίεση, χρόνος⁶⁸

Όσον αφορά την εφαρμοζόμενη πίεση, πέραν από την τελική τιμή αυτής, σημασία έχει επίσης ο ρυθμός αύξησής της. Αργή εφαρμογή της πίεσης συνεπάγεται καλύτερη πλήρωση των θέσεων της σφραγίδας^{76,77} γεγονός που εξηγείται λαμβάνοντας υπόψη την visco-πλαστική συμπεριφορά των πολυμερών σε υψηλές θερμοκρασίες και την αντίδρασή του υλικού στην επιβαλλόμενη παραμόρφωση^{70,78}.

Πέραν όμως από την επιλογή των συνθηκών για την βέλτιστη μορφοποίηση του υλικού του υποστρώματος εντός της σφραγίδας, το τελευταίο στάδιο της διαδικασίας, η απομάκρυνση του πολυμερούς, χρήζει επίσης ιδιαίτερης προσοχής.

Η κλίση των τοιχωμάτων της σφραγίδας και η τραχύτητά τους είναι δυνατόν να αποτελέσουν αίτια αγκίστρωσης του πολυμερούς με αποτέλεσμα τη δυσκολία αφαίρεσης ή την πρόκληση φθοράς στις ακμές των σχηματοποιημένων δομών⁷². Η απόθεση αντικολλητικού στρώματος στα πλευρικά τοιχώματα διευκολύνει την απομάκρυνση του πολυμερούς μέσω ελαχιστοποίησης της χημικής συνάφειας⁶⁶.



Εικόνα 20: Παραμόρφωση δομών λόγω αφαίρεσης υποστρώματος σε θερμοκρασία χαμηλότερη της βέλτιστης^{72,79}

Σημαντικό ρόλο παίζει και η διαφορά μεταξύ σφραγίδας και υποστρώματος ως προς τους Συντελεστές Θερμικής Διαστολής (*Coefficient of Thermal Expansion – CTE*)⁸⁰. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται συνήθως ως υποστρώματα (COP,

PMMA) έχουν CTE της τάξης των 50-70ppm/K, μία τάξη μεγέθους μεγαλύτερο του CTE του Si (~5ppm/K). Απαιτείται επομένως προσεκτική επιλογή της θερμοκρασίας αφαίρεσης του υποστρώματος (T_d) καθώς χαμηλότερες τιμές συνεπάγονται αυξημένες θερμικές τάσεις ενώ υψηλότερες τιμές ελοχεύουν τον κίνδυνο μη ικανοποιητικής σταθεροποίησης του πολυμερούς και μηχανικής παραμόρφωσης στις ακμές των δομών⁷⁹.

Τέλος όσον αφορά την ίδια τη σφραγίδα, η χρήση δισκιδίου Si έχει το μειονέκτημα του χαμηλού CTE, είναι όμως απόλυτα συμβατή με τις τεχνικές της μικροηλεκτρονικής για σχεδιασμό της επιθυμητής δομής. Είναι πιθανόν να εμφανίζει υψηλή τραχύτητα τοιχωμάτων, με χρήση DRIE, μπορεί όμως να δώσει πολύ περισσότερα αντίγραφα λόγω υψηλής μηχανικής αντοχής. Αντίθετα η χρήση κάποιου πολυμερούς (SU-8, PDMS) συνεπάγεται μικρότερη διαφορά ως προς το CTE, δίνει όμως περιορισμένο αριθμό κομματιών ανά σφραγίδα λόγω υψηλότερου ρυθμού φθοράς⁷².

Η αποτύπωση εν θερμώ έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την κατασκευή χρωματογραφικών διατάξεων σε πολυμερές με το COP να κερδίζει συνεχώς έδαφος όσον αφορά την επιλογή του ως υλικό υποστρώματος²⁶. Το πάχος του υποστρώματος μπορεί να ποικίλει από μερικές εκατοντάδες μικρόμετρα^{71, 81} μέχρι μερικά χιλιοστά^{75,76,82,83}. Ωστόσο σε όλες τις περιπτώσεις πρόκειται για χρωματογραφική στήλη απλού καναλιού τετραγωνικής διατομής. Σε πολύ λίγες περιπτώσεις έχει αναφερθεί αποτύπωση δομημένης διάταξης μικροκίωνων ενώ σε όλες το πάχος του υποστρώματος ήταν της τάξης των 188 μm ^{61,28} ή και μικρότερο²⁷.

2.5.2 Στεγανοποίηση Χρωματογραφικών Διατάξεων

Η βασικότερη πρόκληση στη στεγανοποίηση των διατάξεων είναι η διατήρηση της δομικής ακεραιότητας του μικρορευστονικού καναλιού με ταυτόχρονη επίτευξη δεσμού μεταξύ υποστρώματος και καπακιού αρκετά ισχυρού να αντέχει πιέσεις μέχρι και 400 bar που εφαρμόζονται σε συνθήκες HPLC.

Η αρχή είναι η ίδια σε όλες τις τεχνικές: η αύξηση της θερμοκρασίας τοπικά στη διεπιφάνεια των δύο υλικών ώστε να ευνοηθεί η κινητικότητα και η αλληλοδιάχυση των πολυμερικών αλυσίδων.

Στη θερμική στεγανοποίηση, αυξάνεται η θερμοκρασία συνολικά του συστήματος και εφαρμόζεται πίεση για καλύτερη επαφή των δύο σωμάτων. Βασικός εξοπλισμός είναι είτε κάποια θερμική πρέσσα⁶⁵ είτε ένας ελασματοποιητής (laminator)⁸⁴. Με σκοπό την αποφυγή ή αλλώσεως είτε του κ α α ού είτε των εσωτερικών δομών (π.χ. μικρο-κίονες) συνίσταται η εφαρμοζόμενη θερμοκρασία να μην ξεπερνά την T_g ⁸⁵. Παράλληλα απαιτείται καλός έλεγχος και της πίεσης ώστε το

καπάκι να μην εισχωρήσει εντός του καναλιού αν και, όπως και στην αποτύπωση εν θερμώ, η πίεση θεωρείται λιγότερο σημαντική παράμετρος από τη θερμοκρασία⁷¹.

Καθώς τα πολυμερή είναι κατά βάση υδρογονάνθρακες με λίγες (PDMS, PMMA) ή καθόλου (COP) ενεργές ομάδες (υδροξυλίων, καρβοξυλίων κοκ.) έχουν χαμηλή επιφανειακή ενέργεια με αποτέλεσμα η απευθείας κόλλησή τους να παρουσιάζει συνήθως μικρές αντοχές.

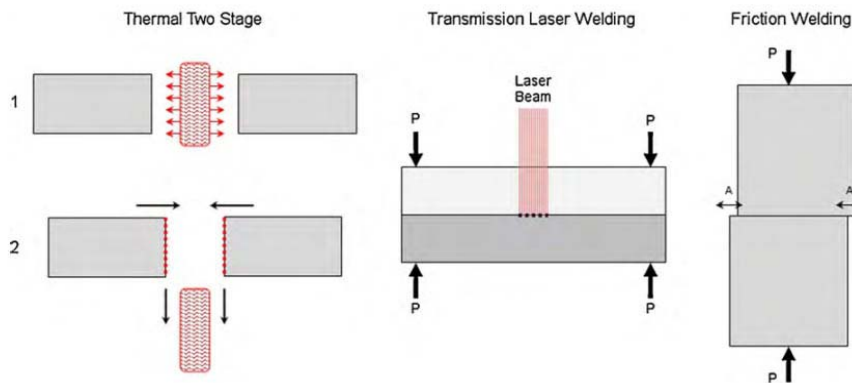
Ως εναλλακτικές μέθοδοι έχουν προταθεί η χρήση ενός ενδιάμεσου στρώματος ως υλικό συγκόλλησης. Αυτό μπορεί να είναι είτε κάποια εποξική κόλλα είτε ένα φιλμ διαφορετικού πολυμερούς (π.χ. PDMS μεταξύ PMMA). Το μειονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι είτε η έμφραξη του καναλιού από το τρίτο υλικό είτε τυχόν περιορισμοί που θέτει αυτό π.χ. ασυμβατότητα με συγκεκριμένα αναλώσιμα όπου το υπόστρωμα είναι ανθεκτικό⁷¹.

Εναλλακτική τεχνική αύξησης της επιφανειακής ενέργειας είναι η εισαγωγή ενεργών ομάδων στην επιφάνεια με έκθεση του υποστρώματος και του καπακιού σε πλάσμα O_2 ⁸⁶ ή Ar/O_2 ^{87,88} οπότε επιτυγχάνεται οξειδωση αυτής. Παρενέργεια αυτής της μεθόδου είναι η σημαντική αύξηση της επιφανειακής τραχύτητας. Αντίθετα η οξειδωση σε περιβάλλον O_3 με ή χωρίς ταυτόχρονη έκθεση σε ακτινοβολία UV οδηγεί επίσης σε αύξηση της επιφανειακής τραχύτητας χωρίς να αλλιώνει σημαντικά την επιφανειακή τραχύτητα²¹ καθιστώντας εφικτή την ασθενή σύνδεση πολυμερών (PMMA, COC) ακόμα και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος⁸⁹.

Μια διαφορετική προσέγγιση είναι η χημική τροποποίηση με εμβάπτιση των προς συγκόλληση κομματιών σε κατάλληλο διάλυμα διαλύτη (π.χ.εμβάπτιση COP σε διάλυμα EtOH/APTES²² ή EtOH/Decalin⁹⁰) οπότε επιτυγχάνεται στεγανοποίηση σε θερμοκρασία αρκετά χαμηλότερη της T_g . Η χρήση όμως διαλυτών είναι πιθανό να οδηγήσει σε μικρορωγματώσεις στο πολυμερές⁸⁹ ενώ απαιτείται και ένα πρόσθετο στάδιο πλύσης της στήλης πριν από τη χρήση με σκοπό την άρση της χημικής τροποποίησης ειδικότερα στην περίπτωση που η ροή της κινητής φάσης επιτυγχάνεται μέσω ηλεκτρικού πεδίου (EOF)⁸⁵.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η περίπτωση χρησιμοποίησης υλικών με διαφορετικό T_g ^{75,91} για το υπόστρωμα και το καπάκι. Συνήθως το υπόστρωμα στο οποίο έχει σχηματισθεί η επιθυμητή δομή έχει υψηλότερο T_g από το καπάκι. Εφαρμόζοντας θερμοκρασία μεταξύ των δύο T_g , το υπόστρωμα διατηρεί τη δομική του ακεραιότητα ενώ το υλικό του καπακιού σε περισσότερο ρευστή κατάσταση προσφύεται στο υπόστρωμα. Τα υλικά αυτά μπορεί είτε να είναι διαφορετικά πολυμερή, π.χ. COP με PMMA, είτε το ίδιο πολυμερές αλλά διαφορετικής τάξεως λόγω διαφορετικής σύνθεσης των πολυμερικών αλυσίδων όπως παρατηρείται στο COP⁹². Σε περίπτωση χρήσης του ίδιου υλικού, οπότε και η θερμοκρασία στεγανοποίησης είναι ελαφρά μικρότερη του T_g , ένα δεύτερο στάδιο ανόπτησης σε

υψηλότερη θερμοκρασία κατόπιν άρσης της πίεσης επιτρέπει το καλύτερο “πλέξιμο” των αλυσίδων και αύξηση αντοχής της ένωσης^{91,24}.



Εικόνα 21: Χαρακτηριστικές τεχνικές στεγανοποίησης χρωματογραφικών διατάξεων (από αριστερά προς τα δεξιά: θερμική, με χρήση laser, μέσω τριβής)⁶⁵

Στην κόλληση μέσω τριβής το υπόστρωμα διατηρείται σταθερό ενώ το καπάκι περιστρέφεται ή πάλλεται στην οριζόντια ή την εγκάρσια διεύθυνση. Τοπικά παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας, τήξη και σύνδεση των δύο κομματιών. Μεταξύ των διάφορων τεχνικών, η παραγωγή ταλάντωσης με χρήση υπερήχων αποτελεί τη συνηθέστερη για κόλληση θερμοπλαστικών. Στην περίπτωση σύνδεσης ημικρυσταλλικών πολυμερών η αντοχή είναι υψηλότερη σε σύγκριση με κόλληση άμορφων υλικών. Ειδικότερα στην περίπτωση των μικρορευστονικών διατάξεων απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή ώστε να μην παραμορφωθούν οι μικροδομές κατά τη διάρκεια των ταλαντώσεων⁶⁵.

Τέλος στην περίπτωση στεγανοποίησης με χρήση τρίτου σώματος, κατά κύριο λόγο μεταλλικού υλικού, και παραγωγής θερμότητας μέσω ροής ηλεκτρικού ρεύματος ή επαγωγής ηλεκτρομαγνητικού πεδίου, σημαντικοί περιορισμοί τίθενται τόσο ως προς την σχεδίαση για ενσωμάτωση του μεταλλικού υλικού στην διάταξη όσο και ως προς την αντοχή της σύνδεσης σε βάθος χρόνου εξαιτίας υποβάθμισης της αντοχής λόγω π.χ. διάβρωσης του μετάλλου⁶⁵.

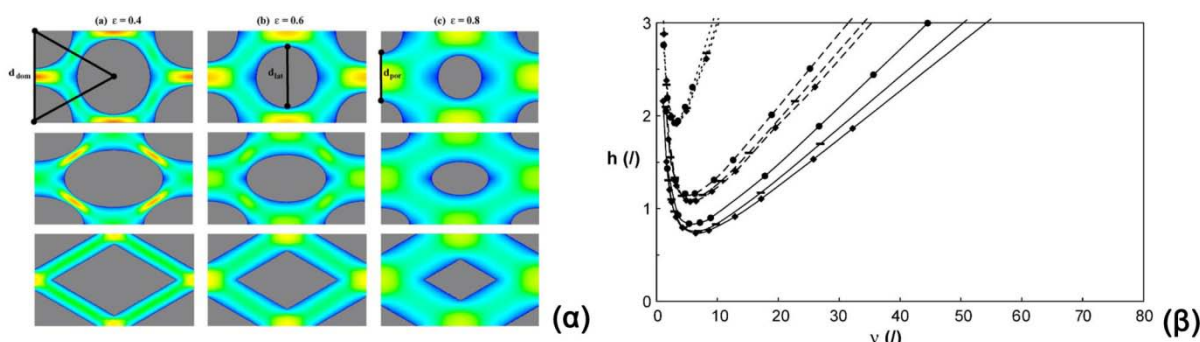
2.6 Υπολογιστική Προσομοίωση Διατάξεων Χρωματογραφίας σε Ψηφίδα.

Σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των χρωματογραφικών διατάξεων σε ψηφίδα έχει διαδραματίσει η χρήση υπολογιστικών προγραμμάτων για προσομοίωση της συμπεριφοράς των. Τόσο η διαθεσιμότητα αρκετών λογισμικών Πεπερασμένων Στοιχείων (COMSOL, ANSYS-FLUENT, ABAQUS), όσο και η ραγδαία εξέλιξη των υπολογιστών παρέχουν τη δυνατότητα μοντελοποίησης και επίλυσης ενός προβλήματος με σκοπό την μελέτη επίδρασης διαφόρων παραμέτρων σε σύντομο χρονικό διάστημα αλλά και με πολύ μικρότερο κόστος.

Η βασική αρχή των λογισμικών αυτών έγκειται στη διαμέριση ενός πεδίου σε στοιχειώδη κελιά (*elements*) και την επίλυση των πολύπλοκων αναλυτικών εξισώσεων, που περιγράφουν τα διάφορα φαινόμενα, αρχικά σε επίπεδο κελιών στους κόμβους (*nodes*), με σκοπό την εξαγωγή χαρακτηριστικών μεγεθών (μεταβλητών) που αποδίδουν την εξέλιξη των φαινομένων σε ολόκληρο το πεδίο. Ειδικότερα στην περίπτωση της χρωματογραφίας που, όπως περιγράφηκε και στην παράγραφο 3.2, έχουμε συνέργεια τριών φαινομένων (μεταφορά μέσω ροής, μεταφορά λόγω διάχυσης και αλληλεπίδραση μεταξύ φάσεων μέσω αντιδράσεων) η χρήση τέτοιων προγραμμάτων είναι καταλυτικής σημασίας καθώς η ακριβής λύση των εξισώσεων προκειμένου για πολύπλοκες δομές είναι αδύνατη.

Το 2003 ο Gzil¹⁶ επαλήθευσε και μέσω προσομοίωσης ότι η αυξημένη τάξη των ψηφίδων με μικρο-κίονες οδηγεί σε σημαντική μείωση του ισοδύναμου ύψους H καθώς ο όρος A των εξισώσεων Knox και van Deemter γίνεται μία τάξη μεγέθους μικρότερος. Επίσης το μικρότερο μέγεθος δομών δίνει καλύτερες τιμές του H . Μοντελοποιώντας τις αυξημένες ανοχές των τεχνικών μικροηλεκτρονικής με τη σμίκρυνση των διαστάσεων ως διαφοροποίηση θέσης και διάστασης των δομών ο Billen έδειξε τόσο για πορώδη⁹³ όσο και για μη πορώδη⁹⁴ δομή ότι υπάρχει ένα κάτω όριο πέραν του οποίου η αταξία που προκαλούν οι κατασκευαστικές ανοχές οδηγεί σε αύξηση του H .

Εκτενώς έχει μελετηθεί και η επίδραση του σχήματος των κίωνων σε χρωματογραφική ψηφίδα. Τα σχήματα που έχουν εξεταστεί είναι το κυλινδρικό, το εξαγωνικό και το ρομβοειδές. Βέβαια διαφορετικά σχήματα συνεπάγονται διαφορετικό χαρακτηριστικό μέγεθος d_p για τον υπολογισμό των ανηγμένων μεγεθών (h). Η χρήση της ισοδύναμης διαμέτρου, δηλαδή διαμέτρου κύκλου με το ίδιο εμβαδό με το υπό εξέταση σχήμα, φαίνεται να δίνει τα καλύτερα αποτελέσματα για σύγκριση των τριών σχημάτων⁹⁵.

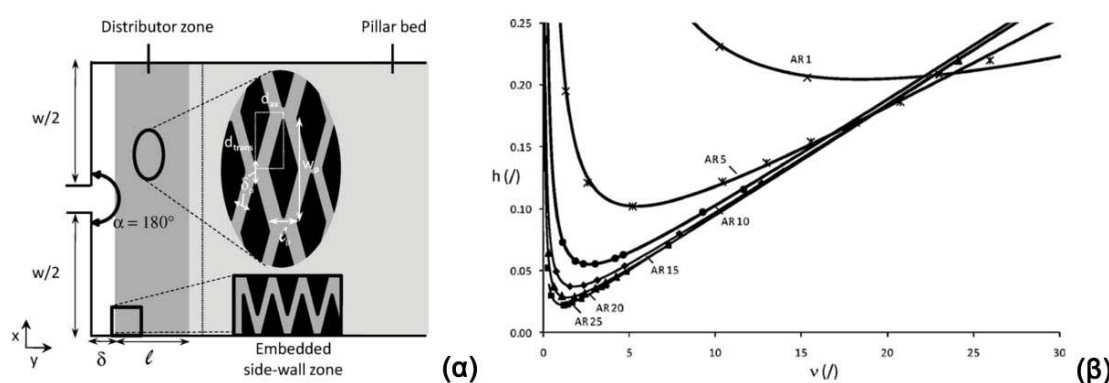


Εικόνα 22: (α) Μελετούμενη γεωμετρία κίωνων για τρεις τιμές πορώδους και (β) διαγράμματα van Deemter για τις 9 περιπτώσεις. Συνεχείς γραμμές $\varepsilon=0.4$, διακεκομμένες $\varepsilon=0.6$ και με κουκκίδες $\varepsilon=0.8$. Με την αύξηση του πορώδους όλες οι καμπύλες (διαφορετικές γεωμετρίες) τείνουν να συμπτέσουν⁹⁶

Συγκρίνοντας το κυλινδρικό με το εξαγωνικό σχήμα, το παραγόμενο ισοδύναμο ύψος H παίρνει πολύ κοντινές τιμές. Αντίθετα το ρομβοειδές φαίνεται να δίνει

μικρότερο H^{18} , γεγονός που επαληθεύτηκε σε μετέπειτα χρόνο και πειραματικά⁵¹. Η επίδραση του σχήματος είναι σημαντική για πορώδες της τάξης του 40%, μειώνεται όμως σημαντικά με την αύξηση του ε ⁹⁶.

Χρησιμοποιώντας δε επιμηκυμένες δομές, στη διεύθυνση της ροής, επιτυγχάνεται μείωση του όρου C της εξίσωσης van Deemter, άρα και μείωση του ισοδύναμου ύψους H^{18} . Επιπρόσθετα επιτυγχάνεται μικρότερη εμπέδιση διαχωρισμού E άρα και ταχύτερες αναλύσεις⁹⁶. Μελετώντας την βελτιστοποίηση του τρόπου εισαγωγής του δείγματος σε χρωματογραφική στήλη τύπου PAC ο Vangelouven απέδειξε υπολογιστικά την αποτελεσματικότητα χρήσης στον διανομέα εισόδου ρομβοειδών δομών επιμηκυμένων στην κάθετη της ροής διεύθυνση⁹⁷, το οποίο τεκμηρίωσε και πειραματικά⁹⁸.



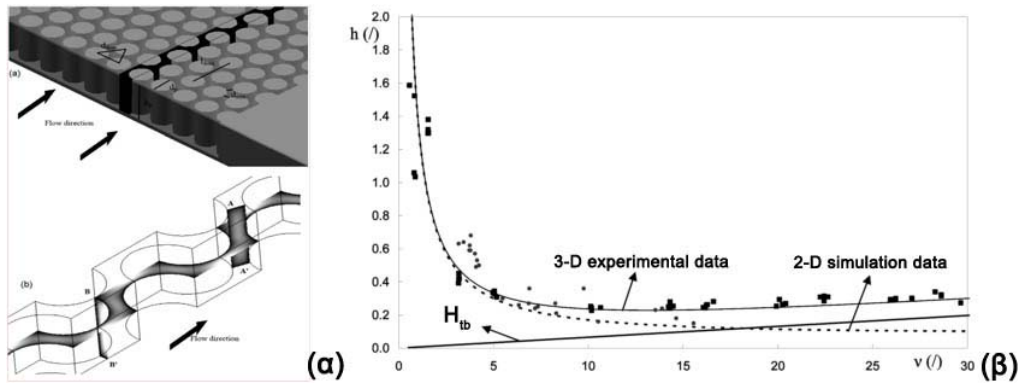
Εικόνα 23: (α) Προσομοίωση δομής με επιμηκυμένους ρομβοειδής κίονες κάθετα στη διεύθυνση ροής. (β) Επίδραση γεωμετρικού λόγου (AR) επιμήκυνσης κίωνων στα διαγράμματα van Deemter. Ελαχιστοποίηση του h με αύξηση του AR ⁹⁹.

Χρήση αντίστοιχων δομών κατά μήκος ολόκληρης της στήλης εκτιμήθηκε⁹⁹ ότι αναστέλει τη σημασία επίτευξης ακριβούς γεωμετρίας στα πλευρικά τοιχώματά της, όπως είχε υπολογιστεί από τον Vervoort¹⁷ και επαληθευτεί από τον de Pra⁴. Το κέρδος της εν λόγω τεχνικής έγκειται στην άρση των περιορισμών που τίθενται με τη σμίκρυνση των διαστάσεων λόγω των αδυναμιών των κατασκευαστικών τεχνικών. Ωστόσο, λόγω της αυξημένης αντίστασης στη ροή, θα πρέπει να υπάρχει συμβιβασμός μεταξύ της πίεσης λειτουργίας και του χρόνου ανάλυσης^{100,101}.

Οι υψηλές απαιτήσεις των προσομοιώσεων χρωματογραφικών διατάξεων σε υπολογιστικούς πόρους (επεξεργαστική ισχύς, μνήμη) καθιστούν αρκετά δύσκολη την προσομοίωση τρισδιάστατων δομών (3-D). Για την περίπτωση ψηφίδων τύπου PAC η προσομοίωση της δισδιάστατης απεικόνισης (2-D) στερείται μελέτη της επίδρασης των άνω και κάτω τοιχωμάτων της διάταξης. Ωστόσο μελετώντας και τον συγκεκριμένο παράγοντα ο J. De Smet¹⁰² απέδειξε ότι όσον αφορά τον υπολογισμό του ισοδύναμου ύψους H , αυτό αυξάνεται με την αύξηση του ύψους των δομών. Το σημαντικό συμπέρασμα, που αποδείχθηκε και πειραματικά⁵, είναι ότι η τιμή του H_{3-D}

ισούται με την πρόβλεψη του H_{2-D} προσθέτοντας ένα σταθερό όρο ($H_{tb}=(2\kappa_{aris}a^2/D_M)u$).

Η πειραματική επαλήθευση όλων των υπολογιστικών εκτιμήσεων προσδίδει στη χρήση των λογισμικών Πεπερασμένων Στοιχείων την αξιοπιστία για παραγωγή αναλύσεων με σκοπό την εξοικονόμηση τόσο χρόνου όσο και κόστους πειραμάτων.



Εικόνα 24: (α) Περιοχή προσομοίωσης χρωματογραφίας σε 3-D και σύγκριση με γεωμετρία 2-D. (β) Πειραματική επαλήθευση προβλέψεων. Πειραματικά αποτελέσματα και αποτελέσματα τρισδιάστατης προσομοίωσης προκύπτουν από αποτελέσματα δισδιάστατης προσομοίωσης με προσθήκη όρου H_{tb}

Επιπρόσθετα, εφαρμογή πιο εξειδικευμένων τεχνικών (προσομοίωση Monte Carlo) δημιουργεί νέους ορίζοντες στην πληρέστερη κατανόηση των φαινομένων που λαμβάνουν χώρα σε μια χρωματογραφική ανάλυση. Παρέχοντας τη δυνατότητα προσομοίωσης της συμπεριφοράς των μορίων των χρησιμοποιούμενων ουσιών και αναλυσίμων είναι δυνατή η ανάλυση παραμέτρων όπως η επιφανειακή κάλυψη σε αλκυλομάδες^{103,104}, η σύνθεση της κινητής φάσης¹⁰⁵ και η μοριακή δομή των αναλυτών^{106,107}.

3 Πειραματικό Μέρος – Κατασκευή Διάταξης Χρωματογραφίας

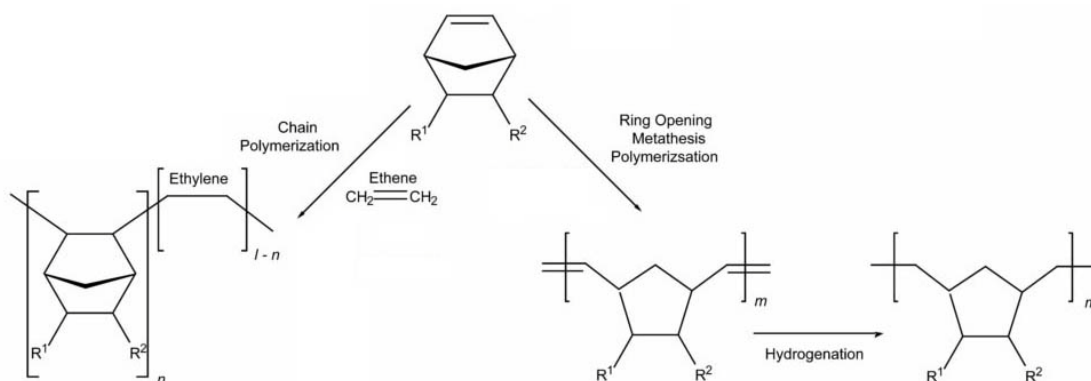
3.1 Εισαγωγή

Η κατασκευή χρωματογραφικής διάταξης μικροκίωνων σε υπόστρωμα πολυμερούς έχει υλοποιηθεί στο παρελθόν μόνο σε περίπτωση πολύ λεπτού υποστρώματος (<0.2mm) ενώ σε μεγαλύτερα πάχη έχει αναφερθεί αποτύπωση απλών καναλιών τετραγωνικής διατομής. Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφεται η διαδικασία κατασκευής χρωματογραφικής στήλης με δομημένη διάταξη μικρο-κίωνων (PAC) σε υπόστρωμα πολυμερούς COP πάχους 2mm.

Αρχικά δίνεται η μέθοδος κατασκευής του πρωτοτύπου (*master*) σε δισκίδιο Si με χρήση κλασικών τεχνικών μικροηλεκτρονικής. Εν συνεχεία αναλύεται η διαδικασία και οι συνθήκες σχηματοποίησης των δομών του καναλιού με χρήση της Αποτύπωσης εν Θερμώ (*Hot Embossing*) και η τελική στεγανοποίησή του με λεπτό φύλλο COP πάχους 188μm με Θερμική Συγκόλληση (*Thermal Bonding*).

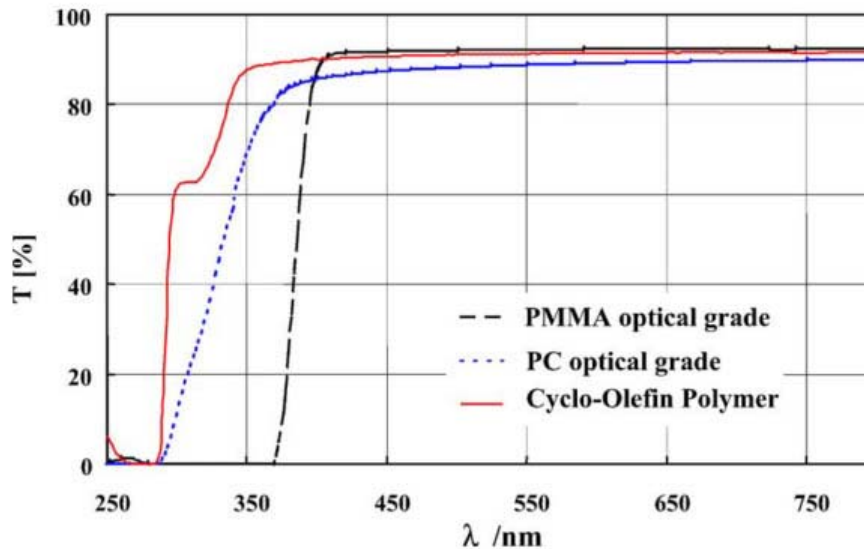
3.2 Επιλογή Υλικού

Ως υλικό για την κατασκευή των ψηφίδων επελέγη το COP, πολυμερές κυκλο-ολεφίνης. Πρόκειται για ένα θερμοπλαστικό το οποίο έχει ως πρώτη ύλη το νορβορνένιον (Norbornene). Ανάλογα με τη μέθοδο πολυμερισμού και την χρήση ή όχι άλλων μονομερών διακρίνονται δύο εκδοχές του πολυμερούς με παραπλήσιες ιδιότητες. Από συμπολυμερισμό με χρήση αιθυλενίου προκύπτει Συμπολυμερές Κυκλοολεφίνης (*Cyclo-Olefin Copolymer*) ενώ με πολυμερισμό και υδρογόνωση προκύπτει καθαρό Πολυμερές Κυκλο-ολεφίνης (*Cyclo-Olefin Polymer*)⁹².



Είναι πολύ καλός μονωτής του ηλεκτρισμού με αντοχή σε υψηλές θερμοκρασίες. Τα κυριότερα πλεονεκτήματά του έναντι άλλων πολυμερών που

χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία (PMMA, PDMS, SU-8) είναι η αντοχή του σε χημικούς διαλύτες, η υψηλή διαφάνεια, με διαπερατότητα φως μεγαλύτερη του 90% σε $\lambda=400-800\text{nm}$ για υλικό πάχους 2mm, και το εξαιρετικά χαμηλό ποσοστό προσρόφησης υγρασίας (<0.01%)^{26,108}.



Εικόνα 26: Οπτική διαπερατότητα COP¹⁰⁸

Ως προς τον χειρισμό του απαιτείται ωστόσο προσοχή, καθώς έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες δημιουργεί μια κιτρινωπή απόχρωση λόγω οξείδωσης, προσβάλλεται από μη-πολικούς διαλύτες ενώ και η επαφή με λιπαρές ουσίες μπορεί να δημιουργήσει ρωγμάτωση¹⁰⁸.

Για την κατασκευή των ψηφίδων έγινε προμήθεια δισκιδίων COP, προέλευσης Zeonex, πάχους 2mm και διαμέτρου 11cm από την εταιρεία Microfluidic Chip Shop. Για τη στεγανοποίηση των ψηφίδων επελέγη φιλμ COP, προέλευσης Zeonor, πάχους 188μm υπό μορφή φύλλων σε διαστάσεις A4. Η θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης και των δύο υλικών είναι $T_g=136^\circ\text{C}$.

3.3 Χρησιμοποιούμενος Εξοπλισμός

Στα πλαίσια της παρούσης εργασίας έγινε χρήση του κάτωθι εξοπλισμού:

1. Για την κατασκευή της σφραγίδας με εφαρμογή τεχνικών μικροηλεκτρονικής:

- α. Λιθογραφία με χρήση συσκευής Karl-Suss MJB 3 STD Mask Aligner
- β. Εγχάραξη σε αντιδραστήρα πλάσμα επαγωγικής σύζευξης (*Inductively Coupled Plasma – ICP*) Micromachining Etching Tool (MET) της Alcatel
- γ. Καθαρισμός σε αντιδραστήρα πλάσμα RIE

2. Για την αποτύπωση εν θερμώ έγινε χρήση θερμικής πρέσσας τύπου CARVER μοντέλο 3850CE με δυνατότητα ξεχωριστού ελέγχου της θερμοκρασίας σε κάθε πλατώ. Η εφαρμογή της πίεσης επιτυγχάνεται μέσω υδραυλικής χειραντλίας σε έμβολο που μετακινεί το κάτω πλατώ ενώ το άνω παραμένει σταθερό. Η εφαρμοζόμενη πίεση αναγράφεται σε μηχανικό μανόμετρο. Η συσκευή δεν διαθέτει ενσωματωμένο σύστημα ψύξης με συνέπεια την ψύξη των πλατών με φυσική ροή αέρα.

3. Για τη στεγανοποίηση έγινε χρήση συσκευής ελασματοποίησης φωτοπολυμερούς (*Photopolymer Dry Film Laminator*) και συγκεκριμένα του μοντέλου *Laminator Mega 305*. Η συσκευή αποτελείται από δύο θερμαινόμενα τύμπανα με επικάλυψη ελαστικής σιλικόνης. Τα προς συγκόλληση υλικά, υπόστρωμα και φιλμ επικάλυψης, διέρχονται μεταξύ των τυμπάνων και με τη συνδυασμένη εφαρμογή πίεσης και θερμοκρασίας επιτυγχάνεται συγκόλληση του φιλμ επάνω στο υπόστρωμα. Η μέγιστη θερμοκρασία ανέρχεται σε 130°C και είναι ηλεκτρικά ελεγχόμενη μέσω αισθητήρα υπερύθρων. Η ταχύτητα περιστροφής των τυμπάνων κυμαίνεται μεταξύ 0.2 και 1.6 μέτρων το λεπτό, ρυθμιζόμενη σε 10 στάδια. Όσον αφορά την εφαρμοζόμενη πίεση, αυτή ελέγχεται έμμεσα μέσω μοχλού ο οποίος ρυθμίζει την απόσταση μεταξύ των δύο τυμπάνων.

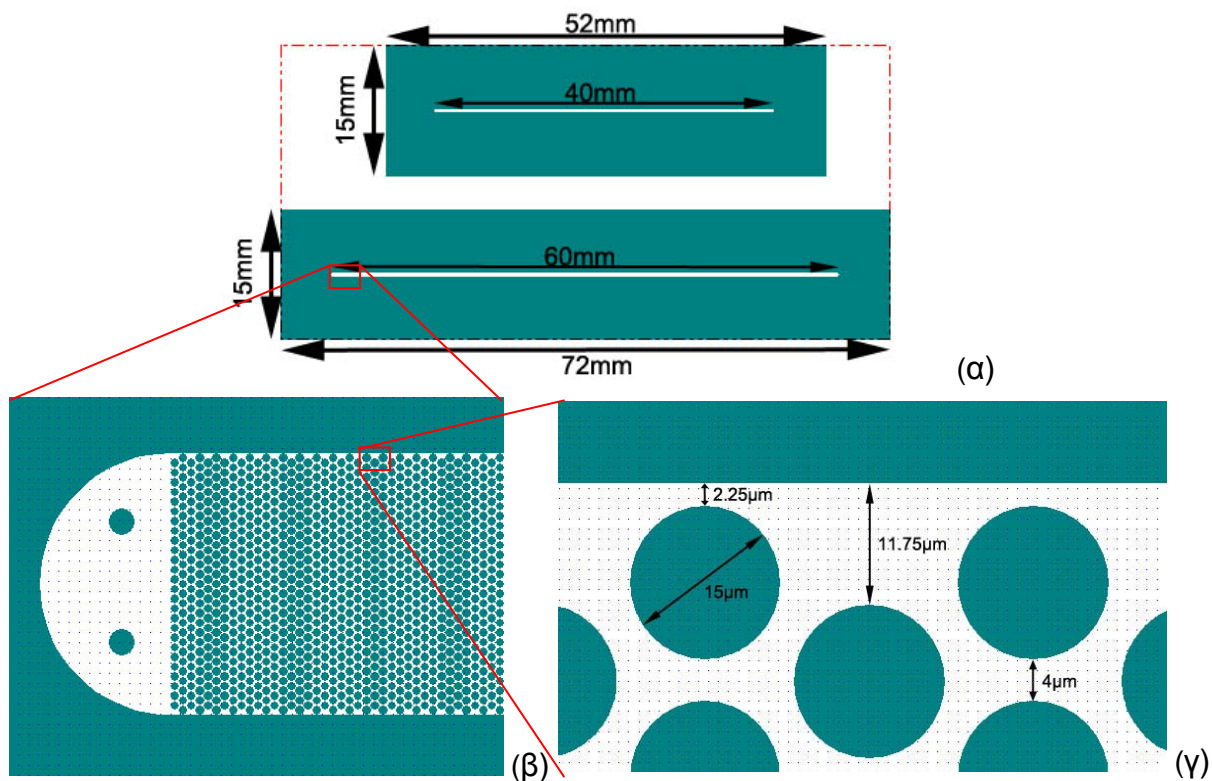
4. Η παρατήρηση των παραχθέντων δοκιμών υλοποιήθηκε με χρήση οπτικού μικροσκοπίου OLYMPUS με χρήση αντικειμενικών φακών μεγεθύνσεων 10x, 50x, 100x και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου JEOL JSM-7401F FEG SEM.

5. Για την εκτέλεση δοκιμών αντοχής σε συνθήκες ροής χρησιμοποιήθηκε αντλία τύπου SP200IZ Syringe Pump. Πρόκειται για διάταξη στην οποία τοποθετείται σύριγγα με το προς ανάλυση μείγμα ή κινητή φάση. Η συσκευή διαθέτει ατέρμονα ο οποίος κινεί το έμβολο της σύριγγας. Ορίζοντας τις παραμέτρους της τελευταίας (όγκος, διάμετρος) και επιλέγοντας την ροή του ρευστού, αυτή επιτυγχάνεται μέσω περιστροφής του ατέρμονα στην αντίστοιχη γωνιακή ταχύτητα.

6. Η χρωματογραφική ανάλυση εκτελέστηκε σε διάταξη αποτελούμενη από μικροαντλίες της Labsmith Inc. και σύστημα ανίχνευσης της *θ-metrisis*. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν δύο μικροαντλίες, μία για την κινητή φάση και μία για τους αναλύτες. Μέσω συνδεσμολογίας βαλβίδων το διάλυμα εισάγεται στην ψηφίδα. Εξερχόμενο της ψηφίδας διέρχεται μέσω σωλήνας μεταξύ οπτικών ινών διαμέτρου 200μm. Ως πηγή φωτός χρησιμοποιείται λάμπα δευτερίου ενώ ο αισθητήρας ψύχεται με χρήση του φαινομένου Peltier.

3.4 Επιλογή Δομής Καναλιού

Στην Εικόνα 27 δίνεται σχηματική αναπαράσταση της μάσκας που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή του καναλιού. Σε αυτήν περιλαμβάνονται δύο εκδοχές της ίδιας διάταξης με διαφοροποίηση στο συνολικό μήκος της χρωματογραφικής στήλης. Η μία στήλη έχει μήκος 40mm και η άλλη 60mm ενώ το πλάτος είναι το ίδιο και ίσο με 514μm. Περιμετρικά της κάθε στήλης διαμορφώθηκε ένα πλαίσιο με διαστάσεις 15x52 mm και 15x72 mm αντίστοιχα.

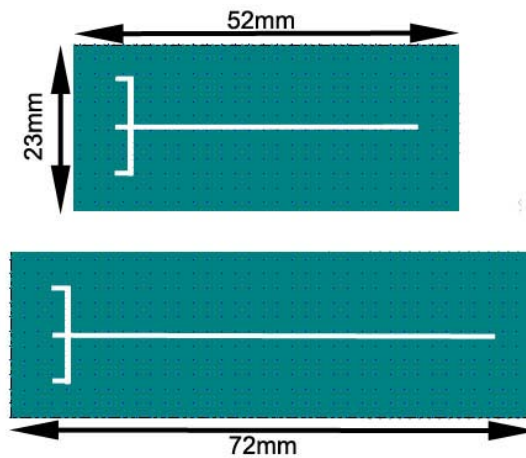


Εικόνα 27: Σχηματική αναπαράσταση μάσκας οπτικής λιθογραφίας για τις μικροστήλες χωρίς κανάλι εισαγωγής και μέτρησης δείγματος

Στην λεπτομέρεια (β) δίνονται σε μεγέθυνση το άκρο της διάταξης και στην λεπτομέρεια (γ) οι επιμέρους διαστάσεις. Όπως φαίνεται και σε μεγέθυνση η στήλη αποτελείται από κυλινδρικούς μικρο-κίονες με διάμετρο $d_p=15\mu\text{m}$. Η μεταξύ τους απόσταση είναι $d=4\mu\text{m}$. Το εξωτερικό πορώδες υπολογίζεται σε $\epsilon=43\%$. Η πρώτη σειρά των κίωνων απέχει από τα πλευρικά τοιχώματα (*sidewalls*) $d_{sw}=2.25\mu\text{m}$ που ισούται με $0.15d_p$, τη βέλτιστη δηλαδή απόσταση, βάσει της εκτίμησης του Vervoort¹⁷ για ελαχιστοποίηση της επίδρασης στη διεύρυνση παλμού H . Οι δύο μεγαλύτεροι κίονες στο άκρο της στήλης έχουν διάμετρο $D=60\mu\text{m}$.

Στην Εικόνα 28 δίνονται μία δεύτερη εκδοχή του ζεύγους μικροστηλών με διαφοροποίηση ως προς την ύπαρξη καναλιού εισαγωγής και μέτρησης δείγματος με όγκο της τάξεως μερικών δεκάδων νανολίτρων. Η τομή της στήλης και του καναλιού εισαγωγής καθορίζει τον όγκο του δείγματος. Τόσο το μήκος όσο και οι επιμέρους

διαστάσεις των στηλών αυτών είναι πανομοιότυπες με τις αντίστοιχες διαστάσεις των στηλών χωρίς κανάλι εισαγωγής της Εικόνας 27.



Εικόνα 28: Σχηματική αναπαράσταση μάσκας οπτικής λιθογραφίας για τις μικροστήλες με κανάλι εισαγωγής και μέτρησης δείγματος

Ο σχεδιασμός των στηλών έγινε σε συνεργασία με τον ερευνητή Wim De Malsche, επίκουρο καθηγητή στο τμήμα Χημικών Μηχανικών του Ελεύθερου Πανεπιστημίου των Βρυξελλών, και μέλους της ομάδας του καθηγητού Gert Desmet.

Το ύψος των κίωνων, παράμετρος που καθορίζεται από τον χρόνο εγχάραξης όπως θα δούμε κατωτέρω, είναι 20μm οπότε ο όγκος της στήλης των 4cm υπολογίζεται σε 180nL περίπου. Με βάση τον ορισμό του γεωμετρικού λόγου (*Aspect Ratio – AR*) ως ύψος προς ελάχιστο πλάτος αυτός ισούται με $AR=20/2.25\approx 8.9$ για τα τοιχώματα και $AR=20/4=5$ για τους υπόλοιπους κίονες.

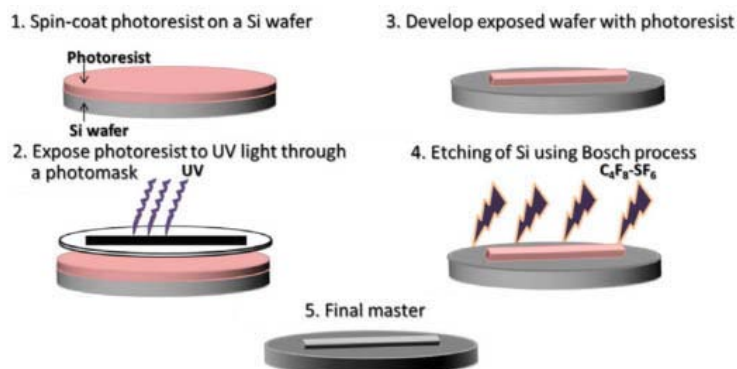
3.5 Κατασκευή Πρωτοτύπου

3.5.1 Διαδικασία Κατασκευής Πρωτοτύπου

Το πρωτότυπο, σφραγίδα, κατασκευάστηκε σε δισκίο Si 4 ιντσών με χρήση κλασσικών τεχνικών της μικροηλεκτρονικής. Για την μεταφορά της κάτοψης της δομής με οπτική λιθογραφία έγινε επίστρωση ρητίνης θετικού τόνου (ρητίνη AZ) διά περιστροφής για 30 δευτερόλεπτα με 5000rpm και εν συνεχεία “ψήσιμο” αυτής για 10 λεπτά στους 95°C. Η έκθεση σε ακτινοβολία UV εφαρμόστηκε για χρονικό διάστημα 270 δευτερολέπτων. Ακολούθησε εμφάνιση για 1 λεπτό ώστε να απομακρυνθεί η ρητίνη από τις περιοχές ακτινοβολήσης και δεύτερο “ψήσιμο” για 15 λεπτά στους 120°C για σταθεροποίηση της εναπομείνουσας ποσότητας. Βεβαία διαπιστώθηκε ότι καλύτερες δομές επιτυγχάνονται με ψήσιμο μέχρι τους 110°C, αλλά εφαρμόστηκε το ψήσιμο στους 120 °C επειδή αποτελεί τυπική διαδικασία του καθαρού χώρου που εφαρμόζονται από τους τεχνικούς του εργαστηρίου.

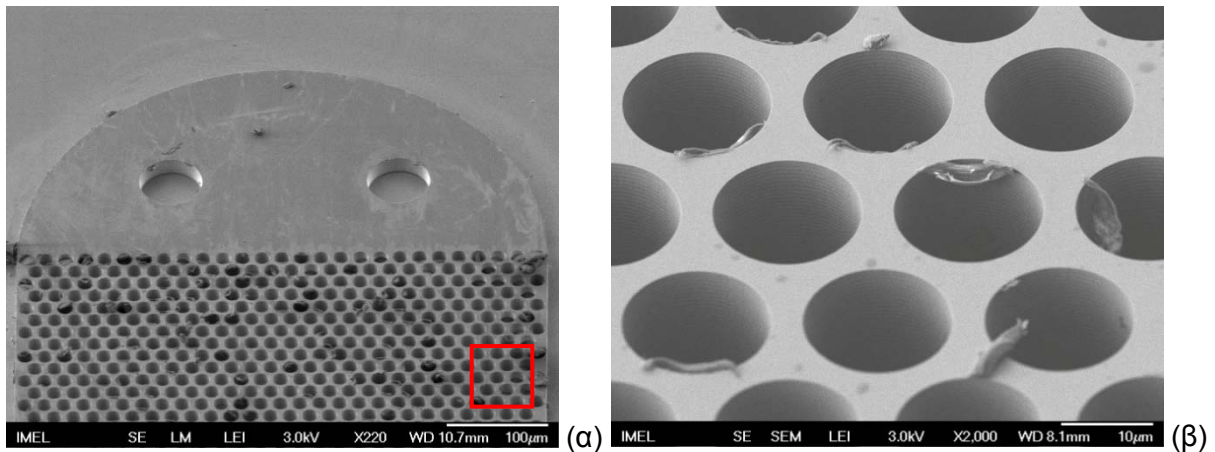
Έχοντας ορίσει την κάτοψη του καναλιού στη ρητίνη, αυτή μεταφέρθηκε στο δισκίδιο Si με εγχάραξη σε αντιδραστήρα πλάσμα επαγωγικής σύζευξης. Για την επίτευξη υψηλά ανισότροπης δομής εφαρμόστηκε η τεχνική των εναλλασσόμενων βημάτων εγχάραξης/παθητικοποίησης που είναι γνωστή ως τεχνική Bosch. Στο πρώτο στάδιο έχουμε απομάκρυνση υλικού με εγχάραξη με SF₆. Στο δεύτερο στάδιο έχουμε απόθεση ενός στρώματος C₄F₈ που δρα ως παθητικοποιητής των τοιχωμάτων. Σε κάθε κύκλο αυξάνει το κατακόρυφο βάθος εγχάραξης, καθώς η διαδικασία προχωρά με ταχύτερο ρυθμό στην κάθετη διεύθυνση, ενώ από τα πλαϊνά τοιχώματα απλά αφαιρείται το προστατευτικό στρώμα. Επιτυγχάνεται με τον τρόπο αυτό η σχηματοποίηση δομών μεγάλου ύψους με σχεδόν κάθετες πλευρές. Στην προκειμένη περίπτωση οι συνθήκες της εγχάραξης ήταν: ισχύς $P=1800W$, σε πίεση $p=5.3Pa$ με τάση ηλεκτροδίου $V=-70V$ και θερμοκρασία $T=293K$. Ο κύκλος της τεχνικής Bosch είχε ως εξής: ροή αερίων 172sccm SF₆ / 110sccm C₄F₈ με χρονισμό 7sec/3sec αντίστοιχα. Για επίτευξη βάθους 20μm η όλη διαδικασία εφαρμόστηκε για συνολικό χρόνο 390 δευτερολέπτων.

Για την απομάκρυνση της εναπομείνουσας ρητίνης ακολούθησε πλύση του δισκιδίου σε λατρό υπερήχων για 10 λεπτά σε διάλυμα ακετόνης, 10 λεπτά σε διάλυμα ισοπροπανόλης και εν συνεχεία εμβάπτιση σε διάλυμα Piranha 1:2 (H₂O₂:H₂SO₄). Ακολούθησε τελικός καθαρισμός σε αντιδραστήρα πλάσμα RIE σε περιβάλλον οξυγόνου σε συνθήκες: ισχύς $P=200W$, πίεση $p=10mTorr$, χρόνος $t=10sec$.



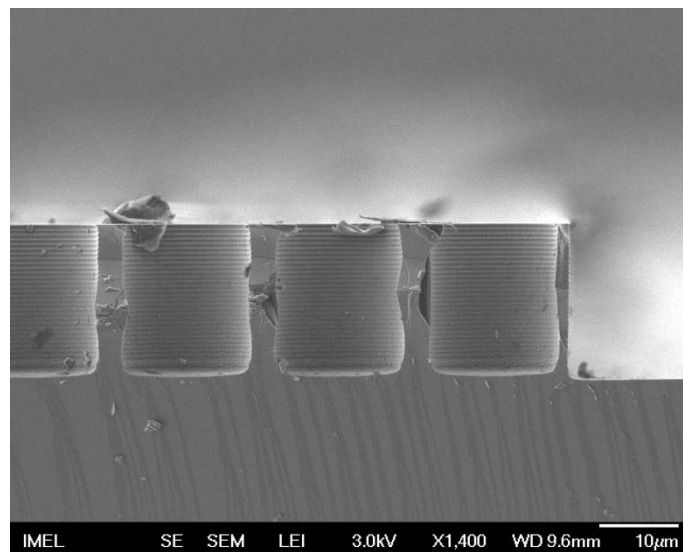
Εικόνα 29: Διαδικασία κατασκευής σφραγίδας σε δισκίδιο Si²⁸

Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας το δισκίδιο κόπηκε στις δύο ψηφίδες στο περίγραμμα όπως ορίζεται στην Εικόνα 27.α. Στην Εικόνα 30 δίνεται φωτογραφία του άκρου του πρωτοτύπου από παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και σε μεγέθυνση μια περιοχή όπου διακρίνονται καλύτερα οι οπές-φρεάτια του πρωτοτύπου, η πλήρωση των οποίων θα δώσει τους κυλινδρικούς μικρο-κίονες της ψηφίδας.



Εικόνα 30: Φωτογραφία του άκρου του πρωτοτύπου από παρατήρηση στο SEM

Στην Εικόνα 31 δίνεται φωτογραφία μίας τομής στην οποία φαίνεται καλύτερα το βάθος της εγχάραξης στο Si. Παρατηρούμε ότι τα τοιχώματα είναι κάθετα ως αποτέλεσμα της ανισότροπης εγχάραξης με την τεχνική Bosch. Διακρίνουμε δε τις πτυχώσεις (ripples) που δημιουργούνται σε αυτά λόγω της κυκλικής εναλλαγής των σταδίων εγχάραξης-παθητικοποίησης.



Εικόνα 31: Φωτογραφία τομής του πρωτοτύπου από παρατήρηση στο SEM

Από παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και μέτρηση σε προφιλόμετρο ακίδας προέκυψε ότι το βάθος των δομών είναι με μικρές διαφοροποιήσεις ίσο με το επιθυμητό των 20µm, ενώ το βάθος στην ελεύθερη περιοχή εκτός των δομών είναι ελάχιστα μόνο μεγαλύτερο και ίσο με 10nm (microloading effect).

3.5.2 Εναπόθεση Αντικολλητικού Στρώματος

Για την διευκόλυνση του αποχωρισμού της σχηματισμένης ψηφίδας του πολυμερούς από τη σφραγίδα Si μετά την αποτύπωση εν θερμώ, έγινε απόθεση ενός αντικολλητικού στρώματος στην επιφάνεια της σφραγίδας. Η απόθεση

υλοποιήθηκε σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο έγινε απόθεση C_4F_8 σε αντιδραστήρα πλάσμα επαγωγικής σύζευξης (ICP MET Alcatel). Οι συνθήκες της απόθεσης ήταν: ισχύς $P=900W$, πίεση $p=5Pa$, ροή 25sccm σε θερμοκρασία $0^\circ C$. Η διαδικασία εφαρμόστηκε για 3 περίπου λεπτά με μέσο ρυθμό απόθεσης 40nm/min.

Στο δεύτερο στάδιο υλοποιήθηκε επίστρωση δια περιστροφής διαλύματος Teflon 1% (0.178gr Teflon σε 10ml διαλύτη) για 30 δευτερόλεπτα στις 4500rpm. Το συνολικό πάχος του αντικολλητικού στρώματος μετρήθηκε με ελλειψομετρία περίπου ίσο με 197nm. Συνεπώς το πάχος του αντικολλητικού στρώματος διά περιστροφής εκτιμάται σε 77-80nm. Για τη σταθεροποίηση της επίστρωσης ακολούθησε “ψήσιμο” για 10 λεπτά στους $95^\circ C$ και κατόπιν για 15 λεπτά στους $160^\circ C$.

Σε αντίθεση με άλλες τεχνικές απόθεσης του αντικολλητικού στρώματος, όπως απόθεση με εμβάπτιση ή αέρια εναπόθεση PFOTS εν κενώ, όπου έχουμε το σχηματισμό μονοστρώματος με χημική σύνδεση των αλκυλοομάδων στην επιφάνεια του πυριτίου, με την ανωτέρω διαδικασία απόθεσης το αντικολλητικό στρώμα συνδέεται μηχανικά με την επιφάνεια της σφραγίδας. Ως συνέπεια, ποσοστό του επιστρώματος μεταφέρεται στο πολυμερές σε κάθε αποτύπωση. Ωστόσο μετά από μερικές αποτυπώσεις (περίπου 3 με 4) η μεταφορά θεωρείται αμελητέα ώστε να έχουμε χημική τροποποίηση της επιφάνειας της ψηφίδας. Παράλληλα ο καθαρισμός των ψηφίδων πολυμερούς COP πριν από την περαιτέρω χρήση τους εξασφαλίζει την καθαρότητά τους. Αξίζει δε να σημειωθεί ότι με τη συγκεκριμένη διαδικασία εφαρμογής του αντικολλητικού επιστρώματος κάθε σφραγίδα μπορούσε να δώσει περισσότερα από 50 αντίγραφα.

3.6 Αποτύπωση Δομημένου Καναλιού σε Πολυμερές

Έχοντας ολοκληρώσει την κατασκευή του πρωτοτύπου (*master*) ως “αρνητικό” σε δισκίδιο Si με τη διαδικασία της παραγράφου 3.5, αυτό επικολλάται με χρήση PDMS σε πλακίδιο αλουμινίου. Η χρήση του πλακιδίου, που είναι καλός αγωγός της θερμότητας, αποσκοπεί στην προστασία του πρωτοτύπου κατά την εφαρμογή πίεσης στη διαδικασία της αποτύπωσης. Το PDMS αποτίθεται ως λεπτό στρώμα κόλλας και εξυπηρετεί στην απόσβεση, λόγω ελαστικότητας, της διαφοράς στο συντελεστή θερμικής διαστολής μεταξύ Si και Al κατά την εφαρμογή των κύκλων θέρμανσης-ψύξης.

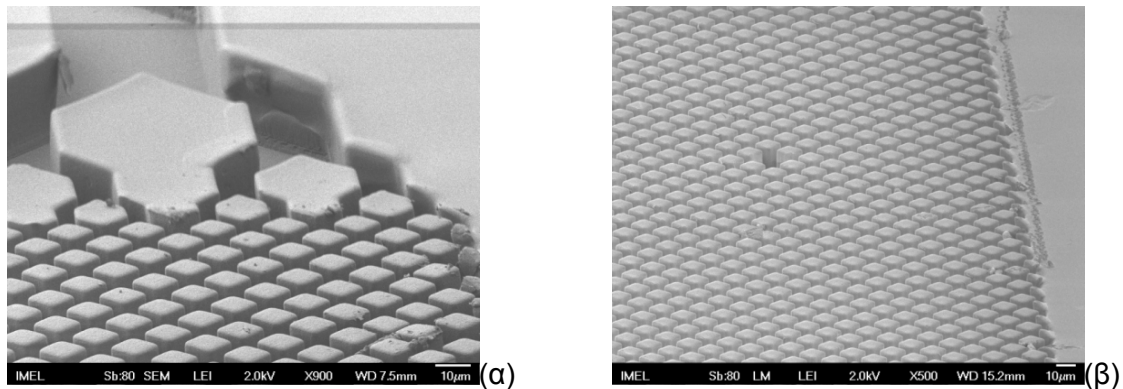
3.6.1 Διαδικασία Αποτύπωσης

Τα δισκίδια του COP κόπηκαν στις επιθυμητές διαστάσεις, ουσιαστικά στις διαστάσεις των πλαισίων της κάθε ψηφίδας (Εικ. 27.α). Μετά από καθαρισμό με ισοπροπανόλη το πολυμερές τοποθετήθηκε μεταξύ του πρωτοτύπου και ενός

δεύτερου δισκιδίου Si, προς αποφυγή συγκόλλησης με τις πλάκες της πρέσσας. Το όλο σύστημα, πρωτότυπο-πολυμερές, έρχεται σε επαφή με τα δύο πλά της πρέσσας χωρίς εφαρμογή πίεσης και ορίζεται η επιθυμητή θερμοκρασία. Με την επίτευξή της εφαρμόζεται η πίεση και διατηρούμε το σύστημα στην μέγιστη θερμοκρασία για ορισμένο χρόνο. Μετά την παρέλευση του χρόνου αφήνουμε το σύστημα να ψυχθεί σε $T < T_g$ οπότε και γίνεται η αφαίρεση της ψηφίδας.

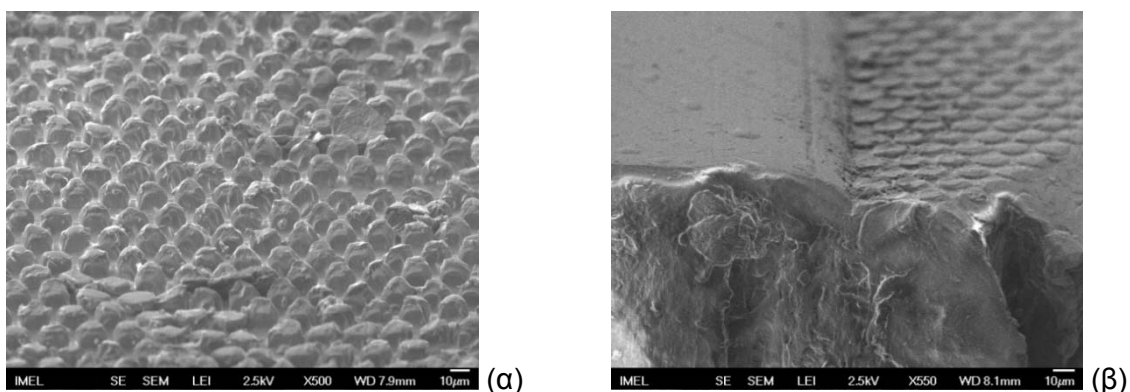
3.6.2 Βελτιστοποίηση Παραμέτρων

Εφαρμόζοντας την ίδια τεχνική και εξοπλισμό η Τσουγένη²⁸ το 2015 πέτυχε την αποτύπωση ρομβοειδών κίωνων ακμής 10 μ m και βάθους 15 και 28 μ m σε υπόστρωμα φύλλου COP πάχους 188 μ m (Εικόνα 32), εφαρμόζοντας πίεση 3.28MPa για 15 λεπτά στους 170°C και απομάκρυνση του δοκιμίου στους 90°C.



Εικόνα 32: Αποτύπωση δομής ρομβοειδών κίωνων σε φύλλο COP 188 μ m στις βέλτιστες συνθήκες

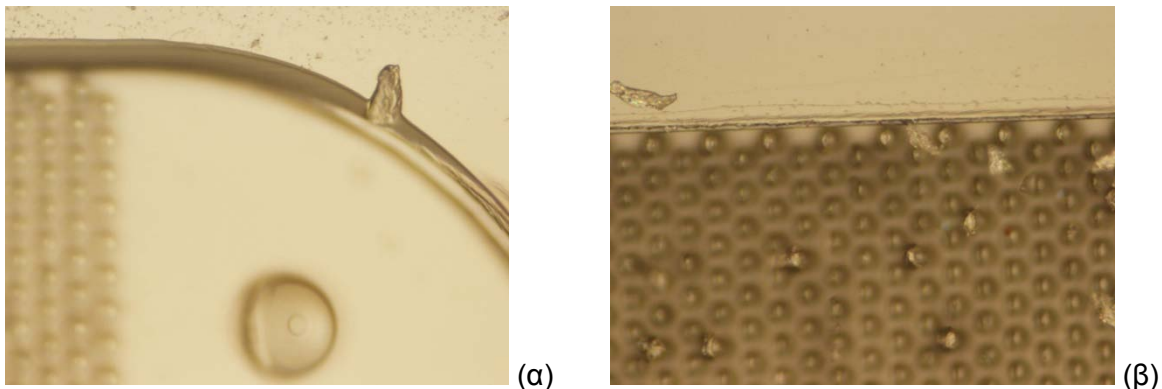
Λαμβάνοντας υπόψη τις αναφορές της βιβλιογραφίας ($T_{emb} = T_g + 20^\circ\text{C}$) και με ανώτατο όριο, για αποφυγή καταπόνησης του πολυμερούς, τις βέλτιστες συνθήκες που είχε εφαρμόσει η Τσουγένη, επιχειρήθηκε αρχικά η δοκιμή εφαρμογής τεσσάρων τιμών θερμοκρασίας ως $T_{emb} = 156, 161, 166$ και 171°C ($T_{emb} = T_g + 20, +25, +30, +35^\circ\text{C}$). Διατηρώντας τη μέγιστη θερμοκρασία για 5 λεπτά και εφαρμόζοντας πίεση $P_{max} = 2.5\text{MPa}$ δεν είχαμε σχηματισμό ούτε των κίωνων ούτε του περιγράμματος (Εικόνα 33).



Εικόνα 33: (α) $T_{emb} = 166^\circ\text{C}$, (β) $T_{emb} = 156^\circ\text{C}$, $P_{max} = 2.5\text{MPa}$, $t_{emb} = 5\text{min}$

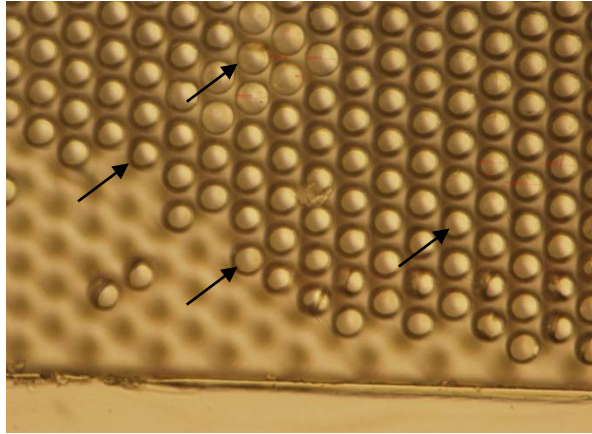
Όπως φαίνεται στην φωτογραφία της Εικόνας 33.α είχαμε μερική μόνο πλήρωση των φρεατίων και συνεπώς σχηματισμό ελλειματικών κίωνων. Η πλήρωση της δομής από το κέρο και όχι από τα τοιχώματα της σφραγίδας είναι χαρακτηριστική για δομές μικρών διαστάσεων. Για αύξηση του ποσοστού πλήρωσης απαιτείται αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης⁷⁸. Αντίστοιχα η κλίση των πλευρικών τοιχωμάτων (Εικόνα 33.β) παραπέμπει σε μη ικανοποιητικό χρόνο επαναφοράς (*relaxation time*) του πολυμερούς μετά από την εισχώρηση της σφραγίδας⁷⁷. Οι παρατηρήσεις αυτές οδήγησαν σε τροποποίηση αρχικά των παραμέτρων πίεση και χρόνος, αντίθετα με την προτεινόμενη σειρά (θερμοκρασία-πίεση-χρόνος)⁶⁹.

Διπλασιάζοντας τον χρόνο και εφαρμόζοντας πίεση $P_{max}=5.5\text{MPa}$ είχαμε καλύτερο σχηματισμό των πλαϊνών τοιχωμάτων χωρίς ωστόσο σημαντική βελτίωση στην πλήρωση των φρεατίων του πρωτοτύπου για σχηματισμό των κίωνων. Σε μεγαλύτερη θερμοκρασία είχαμε μεγαλύτερο ποσοστό πλήρωσης (Εικόνα 34). Από παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο η διαφορά του ύψους μεταξύ πλαϊνών τοιχωμάτων και κίωνων δύναται να εκτιμηθεί έμμεσα μετρώντας το ύψος του επιπέδου εστίασης.



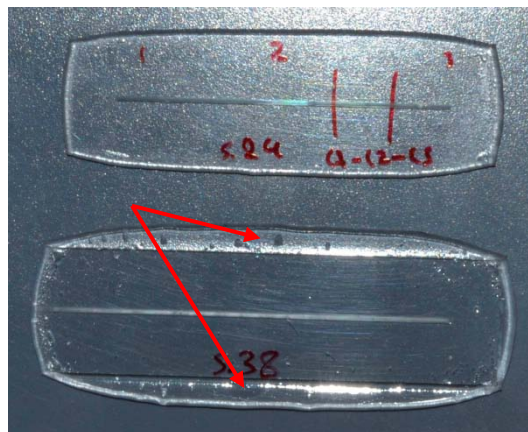
Εικόνα 34: Παρατήρηση ψηφίδων στο οπτικό μικροσκόπιο: (α) $T_{emb}=161^{\circ}\text{C}$, (β) $T_{emb}=171^{\circ}\text{C}$, $P_{max}=5.5\text{MPa}$, $t_{emb}=10\text{min}$

Δοκιμάζοντας αρκετά μεγαλύτερες τιμές πίεσης $P_{max}=10$ & 14MPa είχαμε σχηματισμό ψηλότερων κίωνων με την αύξηση της θερμοκρασίας και επίτευξη του μέγιστου ύψους για $T_{emb}=166^{\circ}\text{C}$ & 171°C σε μερικά σημεία χωρίς ωστόσο πλήρη μορφοποίηση. Στην Εικόνα 35 δίνεται στιγμιότυπο από το κανάλι. Με μαύρα βέλη επισημαίνονται μερικοί από τους κίονες οι οποίοι έχουν αποκτήσει πλήρες ύψος χωρίς πλάγες γύρισμα. Έχοντας εστίασει στην επιφάνεια της ψηφίδας, που αντιστοιχεί στο ύψος του περιγράμματος, οι ανοιχτόχρωμοι κύκλοι αντιστοιχούν σε σημεία όπου το πολυμερές εισήλθε μέχρι τον πάτο των φρεατίων της σφραγίδας. Οι σκουρόχρωμοι δακτύλιοι αντιστοιχούν σε μερική πλήρωση των φρεατίων στο περίγραμμα του πάτου αυτών.



Εικόνα 35: Επίτευξη μέγιστου ύψους κiónων με μερική όμως πλήρωση ($T_{emb}=166^{\circ}\text{C}$, $P_{max}=14\text{MPa}$, $t_{emb}=10\text{min}$)

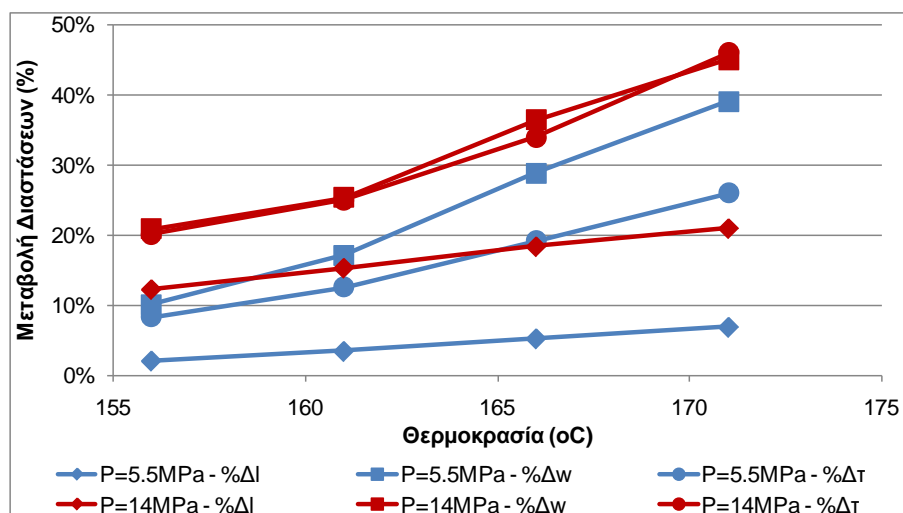
Ωστόσο σημαντική συνέπεια της αύξησης της πίεσης ήταν η παραμόρφωση των διαστάσεων της ψηφίδας. Στην Εικόνα 36 δίνεται φωτογραφία δύο δοκιμίων που αποτυπώθηκαν σε διαφορετικές συνθήκες πίεσης. Στη μεγαλύτερη πίεση, το πολυμερές εμφανίζει σημαντική παραμόρφωση (κόκκινα βέλη) κατά μήκος και των δύο πλευρών καθώς “ξεχειλίζει” από το πλαίσιο της σφραγίδας. Στο Διάγραμμα 1 δίνεται το ποσοστό της παραμόρφωσης στο μήκος (Δl), πλάτος (Δw) και πάχος (Δt) του πολυμερούς συναρτήσει της θερμοκρασίας αποτύπωσης για δύο διαφορετικές πιέσεις. Το ποσοστό της μεταβολής ισούται με την αύξηση του μήκους και του πλάτους αλλά με την μείωση του πάχους. Η απόδοση στο θετικό τμήμα του άξονα των τετμημένων γίνεται χάριν ευκολίας για ταυτόχρονη σύγκριση της μεταβολής και στις τρεις διαστάσεις.



Εικόνα 36: Παραμόρφωση δοκιμίων (bulging) με την αποτύπωση εν θερμώ. Πάνω $P_{max}=5.5\text{MPa}$, κάτω $P_{max}=14\text{MPa}$, για $T_{emb}=166^{\circ}\text{C}$ & $t=10\text{min}$

Λόγω της ομοιόμορφης θέρμανσης του πολυμερούς σε $T_{emb} > T_g$, ολόκληρη η μάζα του μεταβαίνει σε ρευστή κατάσταση. Με την άσκηση της πίεσης το υλικό ρέει σε διεύθυνση κάθετη προς τη διεύθυνση εφαρμογής της πίεσης. Υψηλότερη T_{emb} και υψηλότερη P_{max} συνεπάγεται εντονότερη παραμόρφωση. Είναι αυτονόητο ότι τόσο έντονη παραμόρφωση πέραν του ότι θα δυσκολέψει τη διαδικασία στεγανοποίησης,

ξεφεύγει και από τον στόχο κατασκευής μίας ψηφίδας για χρήση σε χρωματογραφική ανάλυση.



Διάγραμμα 1: Διάγραμμα της μεταβολής των εξωτερικών διαστάσεων δύο δοκιμών COP για διαφορετικές συνθήκες Αποτύπωσης εν Θερμώ (l: μήκος, w: πλάτος, t: πάχος).

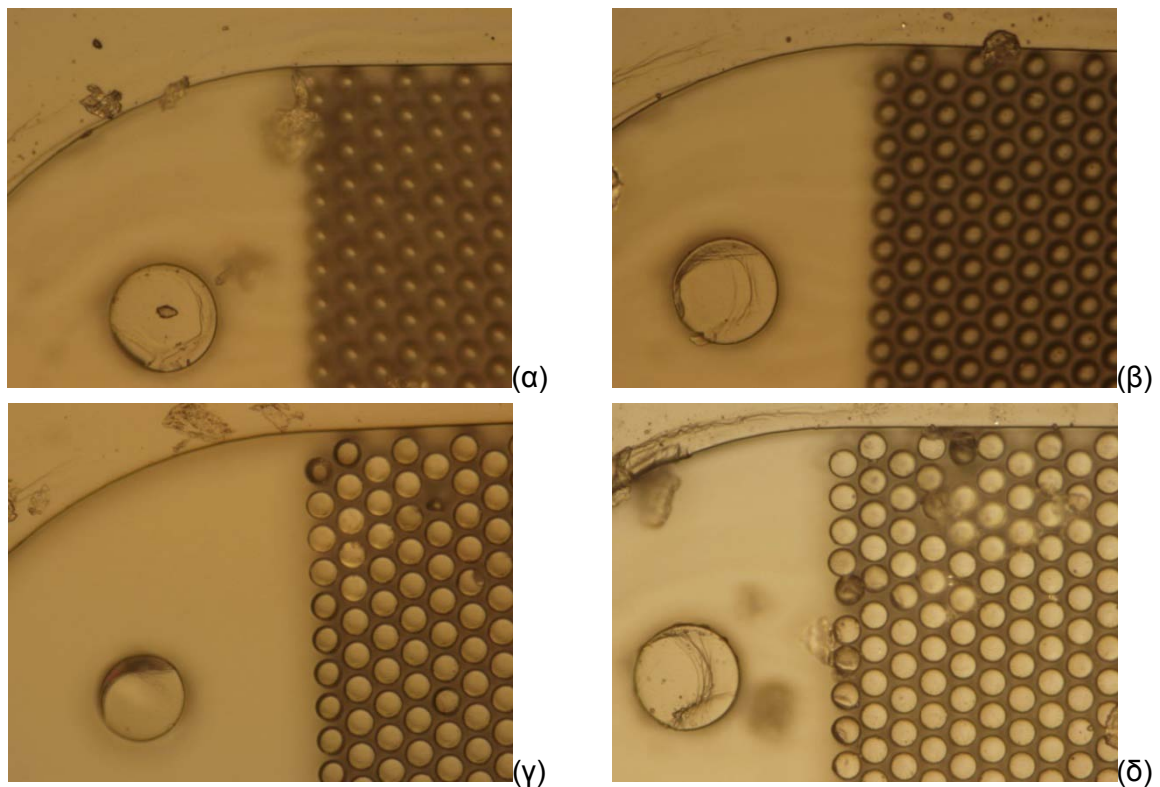
Επιπρόσθετα υπάρχει μια επίσης σημαντική συνέπεια. Ροή του υλικού και απομείωση του πάχους του δοκιμίου οδηγεί και σε μείωση της πίεσης της πρέσσας με τον χρόνο.

Προς αποφυγή των ανωτέρω παρατηρήσεων έγινε δοκιμή εφαρμογής διαφορετικής θερμοκρασίας μεταξύ των δύο πλακών της πρέσσας¹⁰⁹ και συγκεκριμένα θερμοκρασίας $T_{flat-side} < T_g$ στο πάνω πλατώ το οποίο έρχεται σε επαφή μέσω ενός δισκιδίου Si με το πολυμερές και $T_{master-side} > T_g$ στο κάτω πλατώ όπου τοποθετείται το πρωτότυπο (*master*).

Με τον τρόπο αυτό επιδιώκεται η θέρμανση της επιφάνειας του πολυμερούς που έρχεται σε επαφή με τη σφραγίδα σε θερμοκρασία μεγαλύτερη της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης ώστε με την εφαρμογή της πίεσης να έχουμε πλήρωση των φρεατίων της σφραγίδας και μορφοποίηση της επιθυμητής δομής. Παράλληλα, η απέναντι επιφάνεια του δοκιμίου του πολυμερούς, καθώς δεν αλλάζει κατάσταση, δεν παραμορφώνεται διατηρώντας τις εξωτερικές διαστάσεις σταθερές.

Η επιλογή της $T_{flat-side}$ θα πρέπει να συμβαδίζει με την θερμοκρασία αφαίρεσης του δοκιμίου $T_{deemboss}$, καθώς η βαθμίδα της θερμοκρασίας κατά το πάχος συνεπάγεται και κύρτωση του δοκιμίου ως αποτέλεσμα της θερμικής διαστολής. Η κύρτωση του δοκιμίου έχει σαν συνέπεια την μηχανική αγκύρωση των σχηματισμένων δομών του πολυμερούς εντός των φρεατίων της σφραγίδας καθώς και την ανάπτυξη τάσεων, παράγοντες οι οποίοι μπορούν να οδηγήσουν είτε σε φθορά των κίωνων κατά την αφαίρεση του δοκιμίου είτε και σε σπάσιμο αυτών εντός των φρεατίων⁶⁶.

Θέτοντας αρχικά $T_{flat-side}=120^{\circ}\text{C}$ και διατηρώντας $P_{max}=14\text{MPa}$ και $t=10\text{min}$ εξετάστηκε η επίδραση της T_{emb} ως $T_{master-side}$ για τα τέσσερα επίπεδα τιμών. Από την παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο προέκυψε ότι σε όλες τις περιπτώσεις είχαμε ικανοποιητικό σχηματισμό περιγράμματος. Ωστόσο μόνο για $T_{master-side}=166^{\circ}\text{C}$ και 171°C είχαμε πλήρη σχηματισμό των μικροκίωνων (Εικόνα 37). Παράλληλα, μακροσκοπικά η ψηφίδα εμφανίζει πολύ μικρότερη παραμόρφωση η οποία μάλιστα περιορίζεται μόνο στην πλευρά επαφής με την σφραγίδα.



Εικόνα 37: Παρατήρηση δοκιμίων στο οπτικό μικροσκόπιο (α) $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, (β) $T_{master-side}=161^{\circ}\text{C}$, (γ) $T_{master-side}=166^{\circ}\text{C}$, (δ) $T_{master-side}=171^{\circ}\text{C}$

Εφαρμόζοντας διαφορετική θερμοκρασία μεταξύ των δύο πλατών ο ρυθμός μείωσης της πίεσης με τον χρόνο μειώθηκε σημαντικά. Για τον λόγο αυτό επιδιώχθηκε δοκιμή αποτύπωσης σε χαμηλότερες τιμές πίεσης διατηρώντας όμως την τιμή της σταθερή για το χρονικό διάστημα των $t=10\text{min}$. Δοκιμάστηκαν τέσσερις τιμές $P_{max}=5, 7.5, 10, 12.5\text{MPa}$ για $T_{master-side}=156, 161, 166^{\circ}\text{C}$. Η θερμοκρασία των 171°C δεν δοκιμάστηκε καθώς δεν έχουμε διαφοροποίηση σε σχέση με τους 166°C , ενώ χρήση υψηλότερης θερμοκρασίας συνεπάγεται και μεγαλύτερη καταπόνηση του πολυμερούς.

Για $T_{master-side}=156$ και 161°C δεν είχαμε πλήρη σχηματισμό μικροκίωνων για καμία τιμή της P_{max} . Ωστόσο με την αύξηση της πίεσης παρατηρήθηκε αύξηση του ύψους των σχηματιζόμενων δομών. Για $P_{max}=12.5\text{MPa}$ είχαμε πλήρη σχηματισμό των μικροκίωνων αλλά όχι σε όλη την έκταση της στήλης. Επομένως οι δύο αυτές

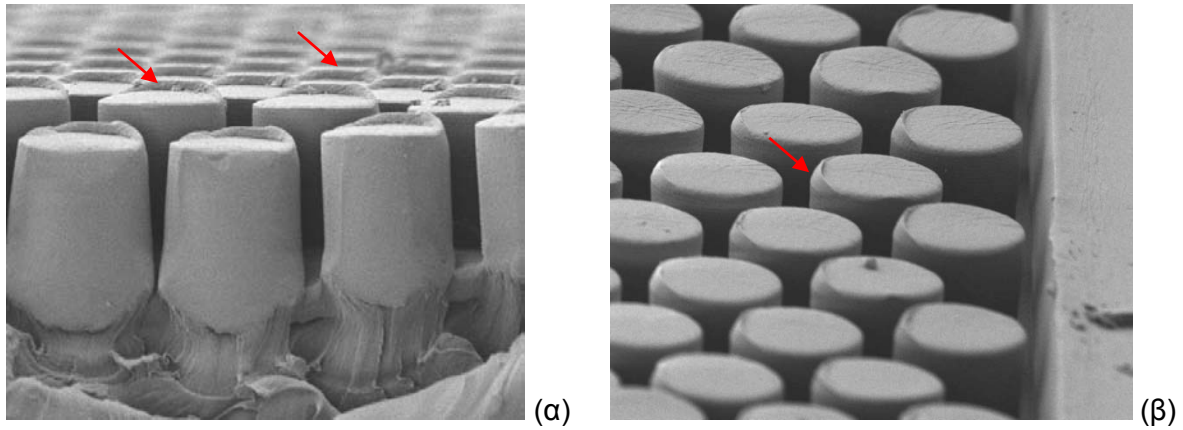
τιμές θερμοκρασίας 156 και 161°C δεν μπορούν να δώσουν πλήρη σχηματισμό της δομής της συγκεκριμένης στήλης.

Αντίθετα για $T_{lower}=166^{\circ}\text{C}$ είχαμε ικανοποιητικό αποτέλεσμα αποτύπωσης εκτός από την περίπτωση της $P_{max}=5\text{MPa}$ όπου παρατηρήθηκε μερική πλήρωση των φρεατίων της σφραγίδας στις πρώτες σειρές κίωνων στα άκρα της στήλης. Επομένως η θερμοκρασία αυτή επιλέχθηκε για την εφαρμογή όλων των υπόλοιπων δοκιμών στα πλαίσια της παραμετροποίησης. Αναλυτικότερα τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης διαδικασίας δίνονται στο Παράρτημα Α.

Καθώς όμως η διατήρηση σταθερής πίεσης χωρίς ύπαρξη αυτόματου συστήματος (π.χ. θερμική πρέσσα με ατέρμονα) κρίθηκε μη αποδοτική, δοκιμάστηκε η επίδραση της τιμής P_{max} αποδεχόμενοι τη σταδιακή απομείωσή της και αυξάνοντας παράλληλα τον χρόνο παραμονής στη μέγιστη θερμοκρασία. Εξαιτίας της σταδιακής απομείωσης η τιμή των 5MPa απορρίφθηκε καθώς δεν είχε δώσει ικανοποιητικό αποτέλεσμα. Απορρίφθηκε επίσης η τιμή $P_{max}=7.5\text{MPa}$ οπότε οι δοκιμές περιορίστηκαν στις τιμές των 10 και 12.5MPa, αρχικά για χρόνο $t=15\text{min}$.

Παρατηρώντας τα δοκίμια στο οπτικό μικροσκόπιο, διαπιστώθηκε πλήρης σχηματισμός των μικρο-κίωνων και στις δύο περιπτώσεις. Καθώς όμως για $P_{max}=10\text{MPa}$ δεν είχαμε επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων, αλλά υπήρχαν δοκίμια με σημειακά ελαττώματα, προτιμήθηκε η περαιτέρω χρήση της τιμής των $P_{max}=12.5\text{MPa}$. Όσον αφορά τον χρόνο t παραμονής στη μέγιστη θερμοκρασία, αυξάνοντάς τον ανά 5 λεπτά παρατηρήθηκε ότι άριστα αποτελέσματα σε όλο το μήκος της στήλης είχαμε για χρόνο $t\approx 25-30\text{min}$. Τελικά επιλέχθηκε ως χρόνος παραμονής t τα 30 λεπτά ως χρόνος με αυξημένη βεβαιότητα επιτυχούς αποτελέσματος.

Ενώ με τις συγκεκριμένες συνθήκες $T_{master-side}$ και P_{max} είχαμε ικανοποιητικό αποτέλεσμα ως προς την αποτύπωση της επιθυμητής δομής, παρατηρήθηκαν στις κορυφές των κίωνων ελαττώματα ως προεξοχές (Εικόνα 38). Οι προεξοχές αυτές είχαν κοινό προσανατολισμό κατά περιοχές κατά μήκος της στήλης χωρίς όμως σε πρώτη φάση να υπάρχει κάποια λογική σύνδεση μεταξύ τους. Παρατηρώντας τη διεύθυνση κατά την οποία γινόταν η αφαίρεση των δοκιμών από τη σφραγίδα, διαπιστώθηκε ότι ο προσανατολισμός αυτός ακολουθούσε την ανωτέρω διεύθυνση, γεγονός που αποδόθηκε στο ότι πιθανόν η θερμοκρασία $T_{deemboss}$ ήταν σχετικά υψηλή με αποτέλεσμα την αλλοίωση των ακμών των κίωνων κατά την αλληλεπίδραση με την σφραγίδα⁷².



Εικόνα 38: Δημιουργία ελαττωμάτων στις κορυφές των κίωνων

Αν και η θερμοκρασία $T_{deemboss}=T_{flat-side}=120^{\circ}\text{C}$ είναι 16°C μικρότερη της T_g , η παρατήρηση των προεξοχών αυτών οδήγησε σε διερεύνηση της επίδρασης της $T_{deemboss}$ με δοκιμές σε χαμηλότερες θερμοκρασίες με σκοπό την καλύτερη σταθεροποίηση του πολυμερούς.

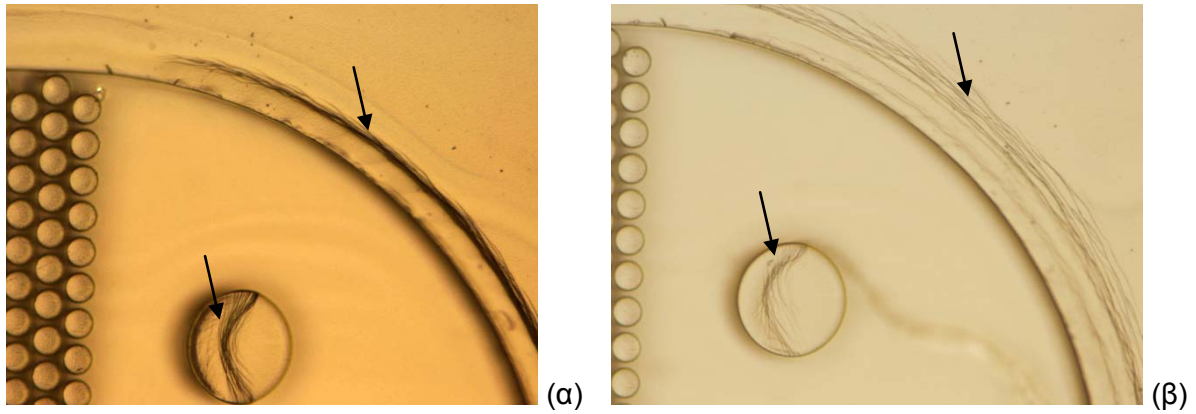
Ωστόσο μειώνοντας την θερμοκρασία αφαίρεσης υπεισέρχεται ο παράγοντας της διαφοράς στους συντελεστές θερμικής διαστολής (CTE) των δύο υλικών COP – Si. Το COP έχει $CTE_{COP}\approx 70\text{ppm/K}$ και το Si $CTE_S\approx 3\text{ppm/K}^{79}$. Επομένως για κάθε βαθμό $^{\circ}\text{C}$ (ή K) κάτω από το T_g και ανά τρέχων cm δοκιμίου το πολυμερές τείνει να συρρικνωθεί με την μείωση της θερμοκρασίας κατά $0.67\mu\text{m}$ περισσότερο από τη σφραγίδα Si. Στον Πίνακα 2 δίνεται συγκριτικά η επιπλέον συρρίκνωση του πολυμερούς για τις περιπτώσεις των δύο δοκιμίων (4 και 6 cm) και για αφαίρεση σε δύο θερμοκρασίες 126°C ($T_g-10^{\circ}\text{C}$) και 116°C ($T_g-20^{\circ}\text{C}$).

Πίνακας 2: Ενδεικτική διαφορά στη συρρίκνωση του COP έναντι του Si κατά τη διαδικασία ψύξης

$T_g=136^{\circ}\text{C}$	$T_{deemboss}=126^{\circ}\text{C}$	$T_{deemboss}=116^{\circ}\text{C}$
Στήλη 4cm	26 μm	52 μm
Στήλη 6cm	40 μm	80 μm

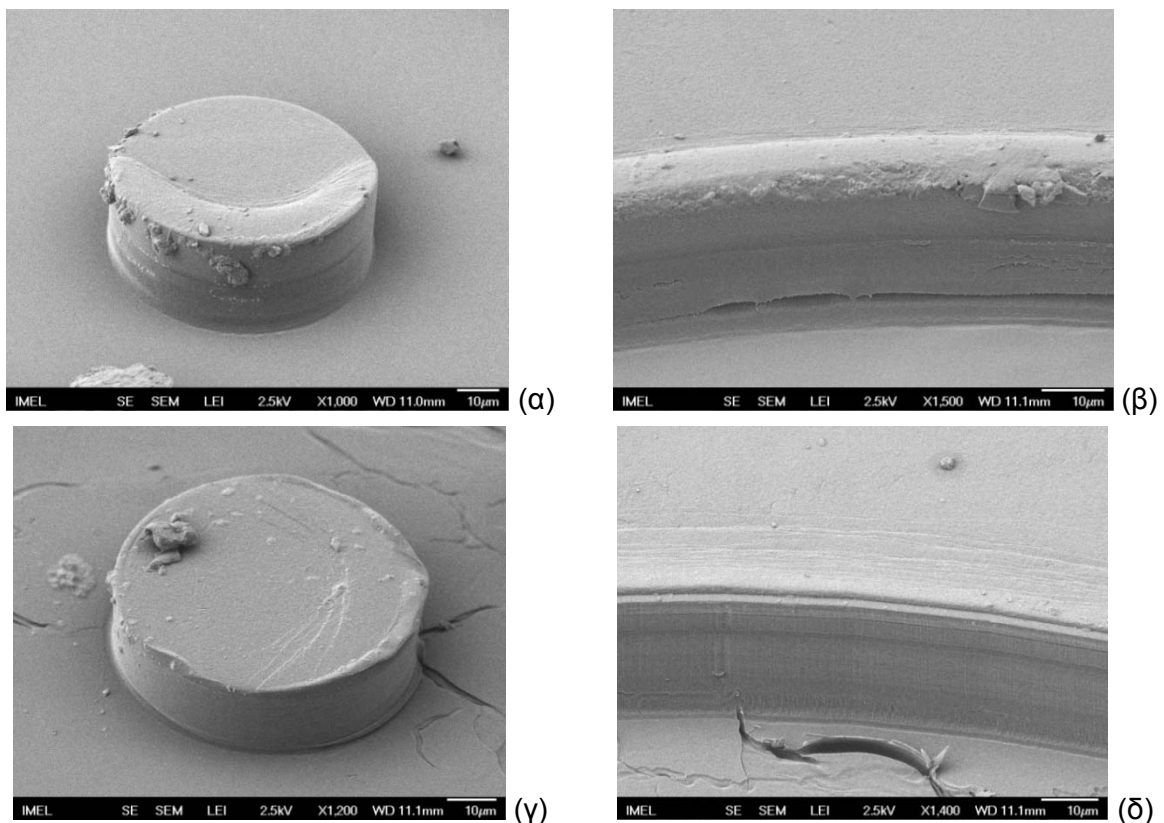
Οι τιμές αυτές είναι ενδεικτικές και όχι απόλυτες των υφιστάμενων παραμορφώσεων και κατ' επέκταση των τάσεων που αναπτύσσονται στο πολυμερές. Όπως είναι φυσικό το φαινόμενο είναι εντονότερο στα άκρα των καναλιών και ειδικότερα για το πιο μακρύ από τα δύο κανάλια, γεγονός που επιτρέπει για το κοντό κανάλι τη δυνατότητα αφαίρεσης σε μικρότερη $T_{deemboss}$.

Η παραμόρφωση των δομών λόγω της διαφοράς στον συντελεστή CTE μεταξύ Si και COP είναι εμφανής κυρίως στους μεγάλους κίονες στα άκρα του καναλιού και στο περίγραμμά του στην ίδια περιοχή. Αυτή έχει την μορφή “αναχώματος” στην πλευρά των δομών που “κοιτάζει” προς το κέντρο της χρωματογραφικής στήλης. Όψη της παραμόρφωσης αυτής όπως παρατηρείται στο οπτικό μικροσκόπιο δίνεται στην Εικόνα 39. Πιο αχνές σκιάσεις αντιστοιχούν σε ηπιότερη παραμόρφωση.



Εικόνα 39: Παραμόρφωση μεγάλων κιώνων και περιγράμματος στο άκρο χρωματογραφικής στήλης μήκους 6cm για (α) $T_{deemboss}=105^{\circ}\text{C}$ και (β) $T_{deemboss}=115^{\circ}\text{C}$

Η παραμόρφωση αυτή αποτυπώνεται καλύτερα σε παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 40). Λόγω της τρισδιάστατης προοπτικής παρατηρούμε ότι το ύψος του “αναχώματος” είναι ελαφρώς μεγαλύτερο για αφαίρεση δοκιμίου σε μικρότερη θερμοκρασία ($T_{deemboss}=110^{\circ}\text{C}$). Σε υψηλότερη θερμοκρασία αφαίρεσης ($T_{deemboss}=120^{\circ}\text{C}$) το φαινόμενο δεν εξαλείφεται εντελώς, ωστόσο η ανομοιομορφία στο ύψος των δομών είναι αισθητά μικρότερη.



Εικόνα 40: Παραμόρφωση μεγάλων κιώνων και περιγράμματος στο άκρο χρωματογραφικής στήλης μήκους 6cm για (α-β) $T_{deemboss}=110^{\circ}\text{C}$ και (γ-δ) $T_{deemboss}=120^{\circ}\text{C}$

Συμψηφίζοντας τα ανωτέρω ευρήματα και δοκιμάζοντας διάφορες $T_{deemboss}$, σε συνάρτηση και με την αίσθηση ευκολίας αφαίρεσης του πολυμερούς από τη σφραγίδα, επιλέχθηκε ως βέλτιστη θερμοκρασία για το κοντό κανάλι (4cm) η

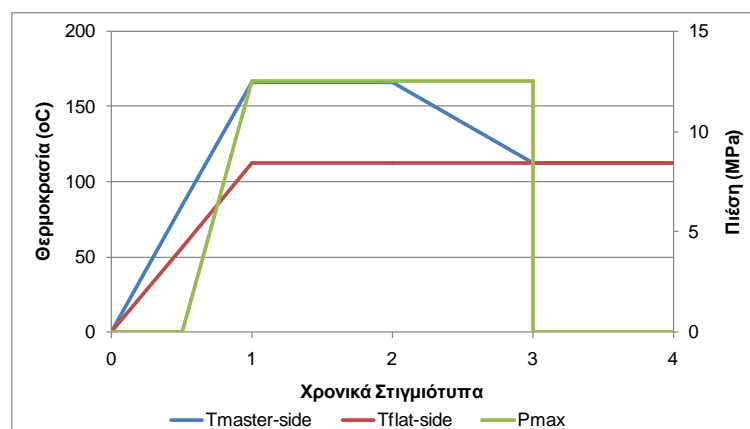
$T_{deemboss}=110\text{oC}$ και το πιο μακρύ (6cm) η $T_{deemboss}=115\text{oC}$. Για το κοντό κανάλι η επιλογή αυτή έδωσε σχεδόν μηδενική παραμόρφωση των κίωνων. Για το μακρύ κανάλι οδηγηθήκαμε περισσότερο σε συμβιβασμό μεταξύ των παρατηρήσεων καθώς η όποια μικρή παραμόρφωση στην κορυφή των κίωνων θα αποσβεστεί στο επόμενο στάδιο της στεγανοποίησης.

Ανακεφαλαιώνοντας, οι συνθήκες αποτύπωσης εν θερμώ χρωματογραφικής ψηφίδας σε πολυμερές COP με χρήση σφραγίδας από Si συνοψίζονται στον Πίνακα 3. Οι συνθήκες αυτές αφορούν και τις δύο μορφές ψηφίδων (με και χωρίς κανάλι εισαγωγής).

Πίνακας 3: Συνθήκες Αποτύπωσης εν Θερμώ COP με σφραγίδα Si

	Στήλη μήκους 4cm	Στήλη μήκους 6cm
$T_{emboss}=T_{master-side}$	166°C	166°C
$T_{deemboss}=T_{flat-side}$	110°C	115°C
P_{max}	12.5MPa	12.5MPa
t	30min	30min

Στο Διάγραμμα 2 δίνεται ο κύκλος θερμοκρασίας και πίεσης που εφαρμόστηκε για τις ανωτέρω συνθήκες. Σε χρόνο t_0 εισάγουμε την σφραγίδα με το πολυμερές στην θερμική πρέσσα και αυξάνουμε σταδιακά τη θερμοκρασία στις δύο πλάκες. Περίπου 1 λεπτό πριν την επίτευξη της μέγιστης θερμοκρασίας ($T_{emboss}=T_{master-side}=166\text{oC}$) αυξάνουμε σταδιακά την πίεση μέχρι επίτευξης της μέγιστης τιμής (P_{max}). Για χρονικό διάστημα $t=t_2-t_1=30$ λεπτά, διατηρούμε το σύστημα στη μέγιστη θερμοκρασία, με την παραδοχή ότι έχουμε απώλεια στην παραμένουσα πίεση. Σε χρόνο t_2 αφήνουμε τη θερμοκρασία να μειωθεί σε $T_{deemboss}$. Μόλις οι θερμοκρασίες των δύο πλατών της πρέσσας εξισωθούν, αποτονώνουμε την παραμένουσα πίεση και αφαιρούμε το κομμάτι.



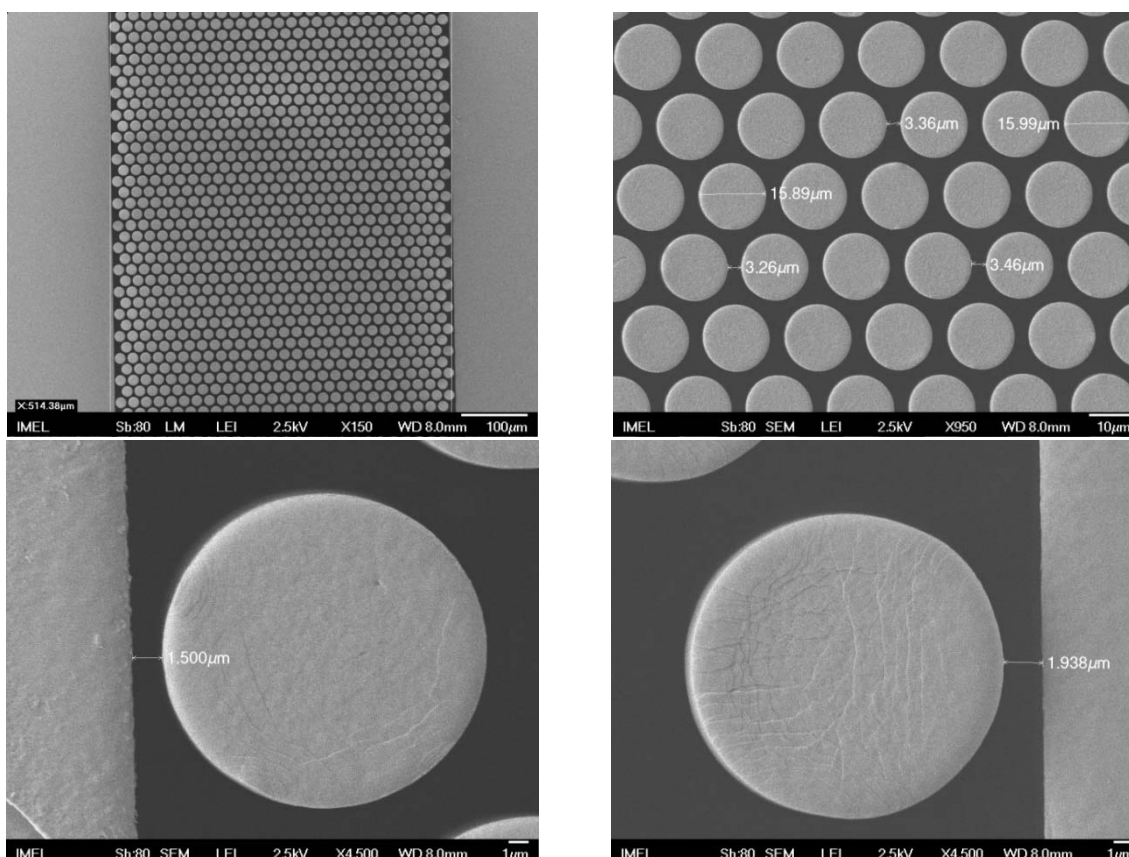
Διάγραμμα 2: Κύκλος εφαρμογής θερμοκρασίας και πίεσης

Εφαρμόζοντας τον ανωτέρω κύκλο διαδικασίας οι επιτευχθείσες διαστάσεις των δομών του καναλιού δίνονται στον Πίνακα 4, όπου φαίνονται οι ονομαστικές τιμές της μάσκας και οι επιτευχθείσες τιμές σε σφραγίδα Si και σε ψηφίδα COP.

Πίνακας 4: Κρίσιμες διαστάσεις δομών ψηφίδας ανά κατασκευαστικό στάδιο

	d_p	d_i	d_{sw}	w
Ονομαστικές Διαστάσεις Μάσκας	15 μ m	4 μ m	2.25 μ m	514 μ m
Διαστάσεις Σφραγίδας Si	15.84 μ m	3.16 μ m	1.83 μ m	514 μ m
Διαστάσεις Ψηφίδας COP	15.91 μ m	3.09 μ m	1.78 μ m	514 μ m

Πρόκειται για τις μέσες τιμές μετρήσεων που ελήφθησαν σε διάφορα σημεία της χρωματογραφικής στήλης. Στην Εικόνα 41 δίνονται μερικά στιγμιότυπα από παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Παρατηρούμε ότι στις δύο πλευρές της στήλης υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση ως προς την απόσταση της τελευταίας σειράς κιώνων ενώ σε καμία περίπτωση δεν έχει επιτευχθεί η ιδανική απόσταση της τάξης των $0.15 \cdot d_p$. Επισημαίνεται ότι ως ένα βαθμό οι αποκλίσεις των μετρήσεων οφείλονται σε σφάλμα των τεχνικών μέτρησης. Κυριώς όμως οφείλονται σε κατασκευαστικές ανοχές με σημαντικότερες αυτές των σταδίων κατασκευής της σφραγίδας.



Εικόνα 41: Μετρήσεις χαρακτηριστικών μεγεθών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο για χρωματογραφική στήλη υπό κατασκευή στις βέλτιστες συνθήκες

3.7 Στεγανοποίηση Δομημένων Καναλιών

Για την στεγανοποίηση των ψηφίδων εφαρμόστηκε η θερμική μέθοδος. Λόγω ευαισθησίας της μεθόδου ως προς την ομοιόμορφη εφαρμογή πίεσης σε όλη την έκταση της ψηφίδας για επίτευξη ομοιόμορφης συγκόλλησης δεν χρησιμοποιήθηκε η θερμική πρέσσα, καθώς θα απαιτείτο απόλυτη ευθυγράμμιση μεταξύ των πλακών και πιθανόν μικρή απόκλιση να οδηγούσε σε μη καλή στεγανοποίηση. Αντιθέτως προτιμήθηκε η χρήση της συσκευής πλαστικοποίησης φωτοπολυμερούς Laminator Mega Model 305.

Η συσκευή πλαστικοποίησης υστερεί ένταντι της θερμικής πρέσσας καθώς δεν μπορεί να δώσει θερμοκρασία μεγαλύτερη των 130°C ($T_g=136^{\circ}\text{C}$). Καθώς όμως κατά τη διαδικασία συγκόλλησης τηρείται η εφαρμογή θερμοκρασίας μικρότερης της T_g με σκοπό την αποφυγή παραμόρφωσης των δομών της χρωματογραφικής στήλης, το ανωτέρο γεγονός δεν αποτέλεσε ανασταλτικό παράγοντα.

Αντίθετα πλεονεκτεί στο ότι η ελαστικότητα των τυμπάνων και η συνεχής πρόωση των δειγμάτων διαμέσου αυτών μπορούν να αποσβέσουν τις όποιες διακυμάνσεις στο πάχος των ψηφίδων. Διακυμάνσεις της τάξης των λίγων μικρών που θα διαδραμάτιζαν σημαντικό ρόλο στην επίτευξη ομοιόμορφης πίεσης μεταξύ των άκαμπτων πλακών της πρέσσας αποσβένονται λόγω της ελαστικότητας των τυμπάνων του ελασματοποιητή.

3.7.1 Βελτιστοποίηση Παραμέτρων

Όπως και στην Αποτύπωση εν Θερμώ (Hot Embossing), έτσι και στην Θερμική Στεγανοποίηση οι βασικές παράμετροι είναι η θερμοκρασία, η εφαρμοζόμενη πίεση και ο χρόνος εφαρμογής πίεσης και θερμοκρασίας. Πέραν όμως από την θερμοκρασία, η οποία ρυθμίζεται στο βαθμό που η ακρίβεια της συσκευής το επιτρέπει, οι υπόλοιποι παράγοντες δεν μπορούν να ελεγχθούν άμεσα με χρήση του συγκεκριμένου εξοπλισμού.

Η εφαρμοζόμενη πίεση ως παράμετρος ελέγχεται έμμεσα μέσω της θέσης ενός μοχλού που καθορίζει την απόσταση των τυμπάνων, μεγαλύτερος αριθμός θέσης συνεπάγεται μικρότερη απόσταση άρα και μεγαλύτερη πίεση. Για τον ορισμό του χρόνου επιδιώκεται μια διαφορετική προσέγγιση. Καθώς η μέγιστη θερμοκρασία των 130°C είναι μικρότερη του T_g , είναι λογικό να μην επιτυγχάνεται συγκόλληση για το σύντομο χρονικό διάστημα που διαρκεί η επαφή των μερών του συστήματος σε μία μόνο διέλευση. Με σκοπό την αύξηση του χρονικού αυτού διαστήματος επιλέγουμε το πρώτο στάδιο ως προς τον έλ ϑ χ της ταχύτητας (πιο αργή ή ταχύτητα) που αντιστοιχεί περίπου σε 4mm/sec και εκτελούμε περισσότερα του ενός περάσματα.

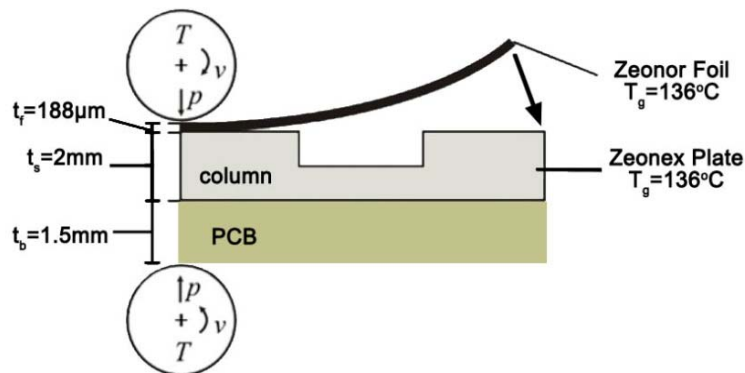
Οπότε ο χρόνος δηλώνεται έμμεσα μέσω του αριθμού των περασμάτων της ψηφίδας από τα θερμαινόμενα τύμπανα.

Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 3.2, ως υλικό για το καπάκι των ψηφίδων επιλέχθηκε φιλμ COP πάχους 188μm. Το φιλμ αυτό παρελήφθη σε φύλλα διαστάσεων A4, τα οποία έφεραν στη μία πλευρά προστατευτικό υμένιο ηλεκτροστατικά κολλημένο στο φιλμ. Το πλεονέκτημα της προστασίας αυτής είναι η ύπαρξη μιας καθαρής επιφάνειας χωρίς την ύπαρξη κάποιου είδους κόλλας που θα απαιτούσε πρόσθετο στάδιο καθαρισμού.

Για τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων συγκόλλησης επιλέχθηκε αρχικά η χρήση μόνο των κοντών ψηφίδων συνολικών διαστάσεων 15x52 mm. Πριν από τις δοκιμές συγκόλλησης τα δοκίμια καθαρίστηκαν για 10 λεπτά σε λουτρό υπερήχων σε διάλυμα ισοπροπανόλης. Με ορίζοντα χρήσης των δοκιμίων σε χρωματογραφικές αναλύσεις, προηγήθηκε του καθαρισμού τους η διάνοιξη οπών διαμέτρου, αρχικά 0.5mm, σε κάθε ένα από τα δύο άκρα της στήλης. Σε δεύτερο χρόνο επιδιώχθηκε διάνοιξη οπών διαμέτρου $\approx 360\mu\text{m}$ με σκοπό την προσέγγιση της διαμέτρου των χρησιμοποιούμενων σωληνώσεων διασύνδεσης για ελαχιστοποίηση των «νεκρών όγκων» κατά τη διάρκεια των πειραμάτων χρωματογραφίας. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων που παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 5 προέκυψαν από χρήση χρωματογραφικών στηλών με οπές διαμέτρου $\approx 360\mu\text{m}$. Για τα καπάκια, κόπηκαν τεμάχια διαστάσεων 15x52 mm από το φιλμ του COP πριν από την αφαίρεση του προστατευτικού υμενίου.

Έχοντας συγκεντρώσει τα απαραίτητα μέσα για την εκτέλεση των πειραμάτων στεγανοποίησης, έγιναν κάποιες δοκιμαστικές εφαρμογές με σκοπό την εξοικίωση με τον εξοπλισμό αλλά και την εκτίμηση των εναρκτήριων τιμών των παραμέτρων. Από τις εφαρμογές αυτές διαπιστώθηκε ότι είναι πιθανόν η απευθείας επαφή της ψηφίδας με τα τύμπανα να οδηγήσει σε κύρτωσή της πριν από την επίτευξη συγκόλλησης.

Για το σκοπό αυτό αναζητήθηκε η χρήση πρόσθετης άκαμπτης βάσης η οποία μάλιστα θα έπρεπε να παρέχει και θερμική μόνωση με σκοπό την μικρότερη καταπόνηση και αλλοίωση των δομών της ψηφίδας. Ως τέτοια επιλέχθηκε φύλλο PCB διαστάσεων 10x16 cm με πάχος 1.5mm. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το πάχος των ψηφίδων είναι 2mm, η προσθήκη του φύλλου PCB συνεπάγεται σημαντική αύξηση του συνολικού πάχους του συστήματος (βάση-υπόστρωμα-καπάκι) άρα και αύξηση της εφαρμοζόμενης πίεσης για δεδομένη θέση των τυμπάνων (Εικόνα 42).



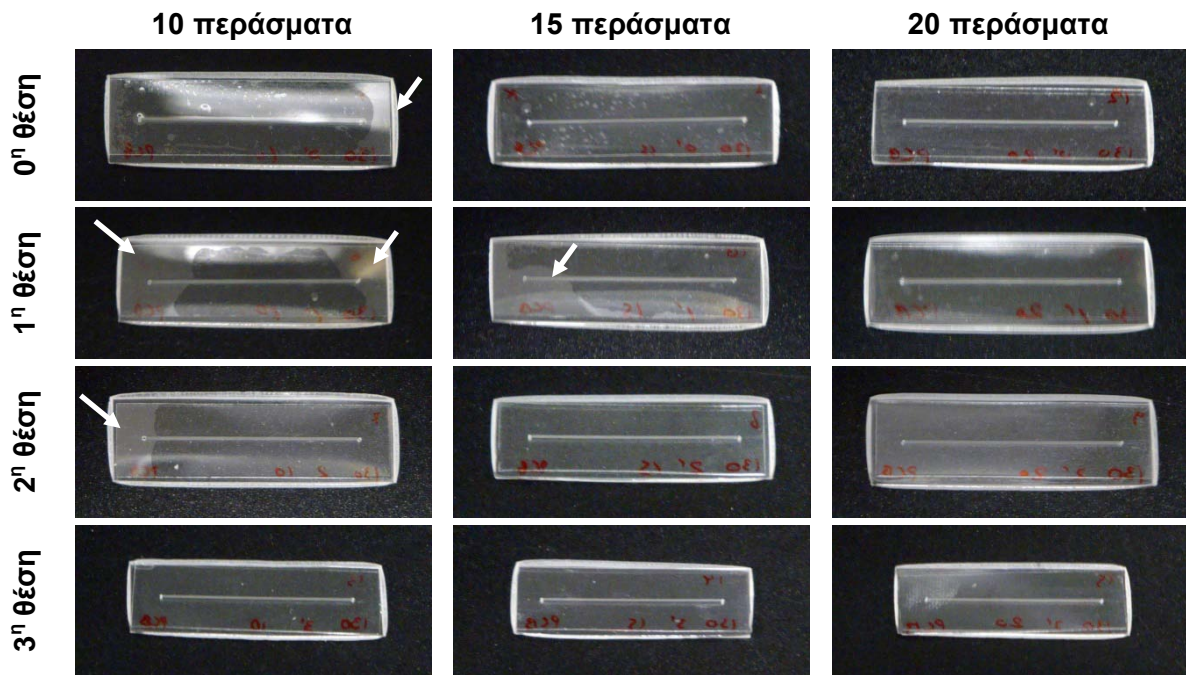
Εικόνα 42: Σχηματική αναπαράσταση της τελικής διάταξης για στεγανοποίηση των δομημένων καναλιών

Κατόπιν της αρχικής προσέγγισης οι τιμές των τριών παραμέτρων για την εκτέλεση των πειραμάτων καθορίστηκαν ως εξής:

- α. Θερμοκρασία: επιλογή μόνο της μέγιστης τιμής των 130°C
- β. Πίεση: επιλογή μεταξύ τεσσάρων θέσεων του μοχλού – 0^η, 1^η, 2^η και 3^η
- γ. Χρόνος: εκτέλεση συγκεκριμένου αριθμού διαδοχικών περασμάτων – 10, 15 και 20

Λαμβάνοντας υπόψη ότι η γραμμική ταχύτητα του τυμπάνου είχε ρυθμιστεί στην πρώτη βαθμίδα που αντιστοιχεί περίπου σε 4mm/sec, για κάθε πέρασμα ψηφίδας συνολικού μήκους 55mm (χρωματογραφική στήλη και πλαίσιο) απαιτείται περίπου χρόνος $13.5 \times 2 = 27$ δευτερολέπτων. Σε κάθε πέρασμα θεωρούμε περιστροφή των τυμπάνων, άρα και κίνηση της ψηφίδας, και προς τις δύο κατευθύνσεις. Μεταξύ των περασμάτων μεσολαβεί μηδενικός χρόνος οπότε για την δοκιμή των 10 περασμάτων απαιτείται συνολικά χρόνος περίπου 5 λεπτών. Το χρονικό αυτό διάστημα κρίνεται αρκετά πιο σύντομο από χρόνους συγκόλλησης σε θερμική πρέσσα²⁸. Επιπρόσθετα υπάρχει η δυνατότητα ταυτόχρονης στεγανοποίησης περισσότερων του ενός δοκιμίου, με παράλληλες διελεύσεις αυτών από τα τύμπανα του ελασματοποιητή.

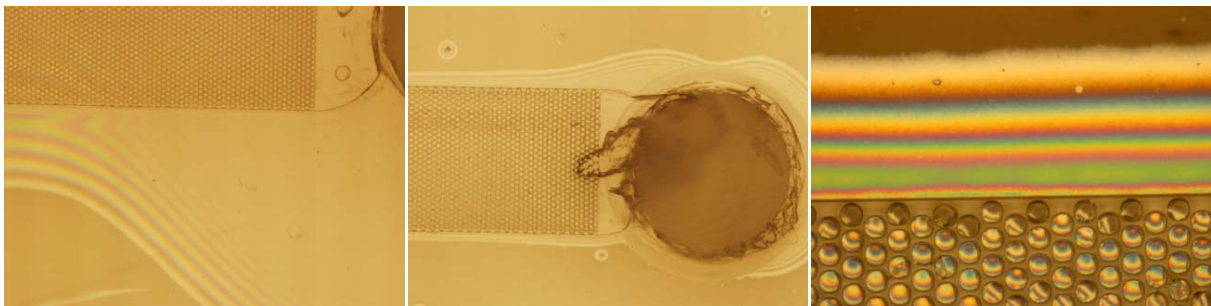
Στην Εικόνα 43 δίνονται φωτογραφίες των δοκιμίων στεγανοποίησης για όλους τους συνδυασμούς παραμέτρων. Από αριστερά προς τα δεξιά αυξάνει ο αριθμός των περασμάτων από 10 σε 15 και 20, δηλαδή ο χρόνος. Η ίδια θεώρηση τηρείται και στις επόμενες φωτογραφίες από παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο για κάθε θέση των τυμπάνων χωριστά. Από πάνω προς τα κάτω αυξάνει η εφαρμοζόμενη πίεση μέσω μετακίνησης του μοχλού στην 0^η, την 1^η, την 2^η και 3^η θέση. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι περιοχές μη στεγανοποίησης είναι ορατές και μακροσκοπικά (λευκά βέλη) λόγω της διαφορετικής απόχρωσης.



Εικόνα 43: Φωτογραφίες δοκιμών πειραμάτων στεγανοποίησης

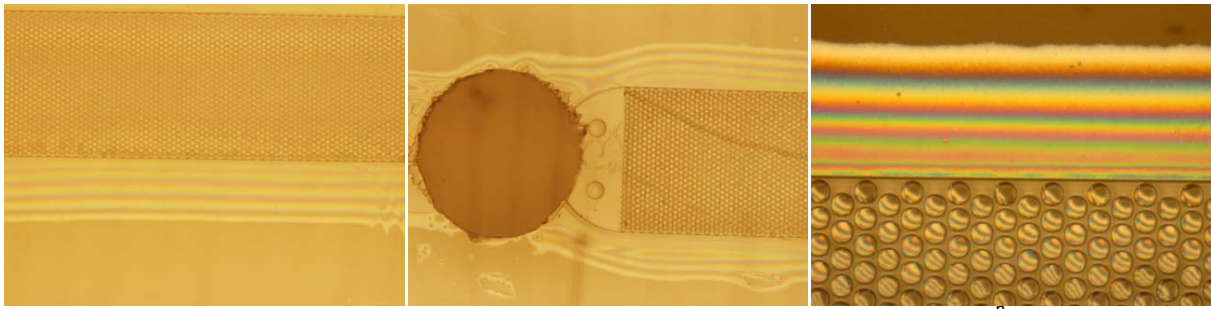
Στις φωτογραφίες από το οπτικό μικροσκόπιο που παρατίθενται στη συνέχεια η σκούρα απόχρωση υποδηλώνει συγκόλληση ενώ οι ανοιχτές αποχρώσεις ή οι ιριδισμοί αντιστοιχούν σε περιοχές με μη ικανοποιητική κόλληση.

Για τη 0^η θέση του μοχλού, δεν είχαμε ικανοποιητική στεγανοποίηση σε καμία περίπτωση. Για την περίπτωση των 20 περασμάτων, ενώ μακροσκοπικά φαινόταν επίτευξη συγκόλλησης, από εξέταση στο οπτικό μικροσκόπιο φάνηκε ότι περιμετρικά της στήλης και επί των κιώνων, καπάκι και υπόστρωμα δεν είχαν ενωθεί (Εικόνα 44).



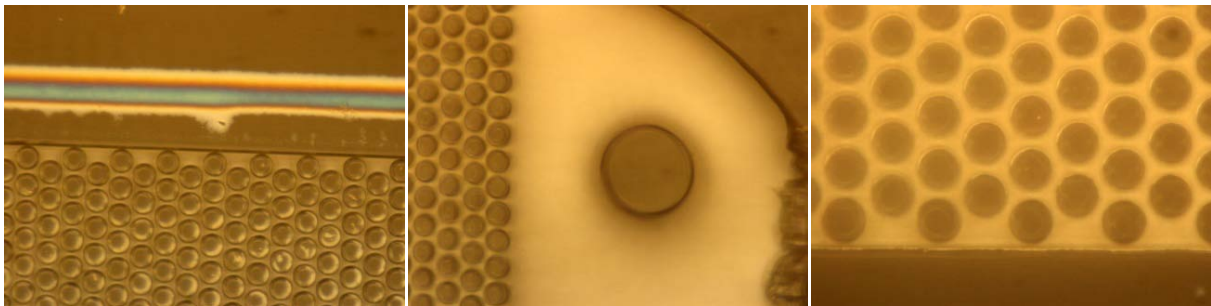
Εικόνα 44: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (0^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20)

Αντίστοιχες παρατηρήσεις σημειώθηκαν και για τις δοκιμές στην 1^η θέση του μοχλού. Σε όλες τις περιπτώσεις δεν είχαμε συγκόλληση περιμετρικά του καναλιού ενώ μόνο για την περίπτωση των 20 περασμάτων είχε επιτευχθεί συγκόλληση σε ολόκληρη την επιφάνεια της ψηφίδας (Εικόνα 45).



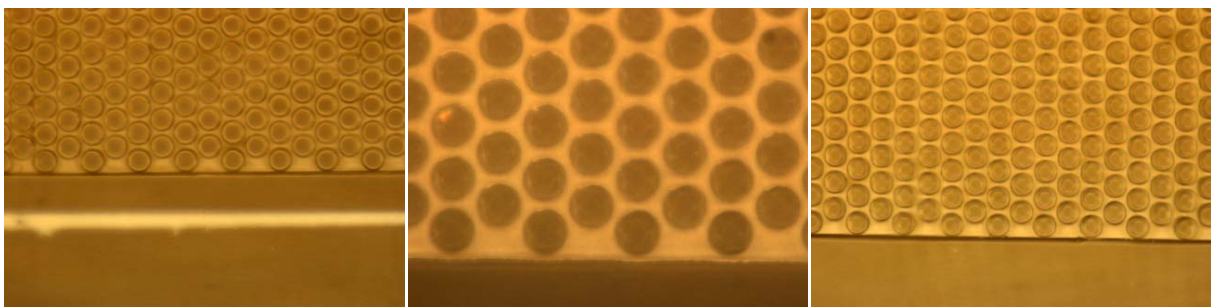
Εικόνα 45: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (1^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20)

Τοποθετώντας τον μοχλό στη 2^η θέση επιτεύχθη ικανοποιητική στεγανοποίηση για τις περιπτώσεις των 15 και 20 περασμάτων. Για μικρότερο χρονικό διάστημα (10 περάσματα) δεν είχαμε καλή συγκόλληση στο ένα άκρο. Επίσης σε μερικά σημεία παρατηρήθηκε μία μικρή περιοχή στη γειτονιά του περιγράμματος της στήλης χωρίς να έχει επιτευχθεί ένωση κατακτιού με υπόστρωμα (Εικόνα 46).



Εικόνα 46: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (2^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20)

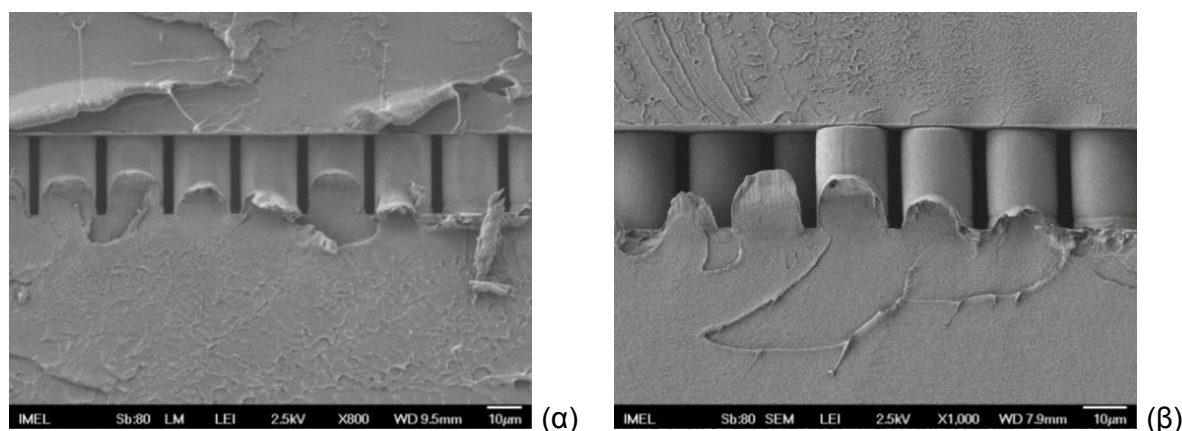
Καλύτερα αποτελέσματα έδωσε η τοποθέτηση του μοχλού στην 3^η θέση καθώς είχαμε συγκόλληση σε όλες τις περιπτώσεις ενώ οι περιοχές με ένδειξη μη ικανοποιητικής κόλλησης στη γειτονιά του περιγράμματος ήταν πιο ισχνές και αρκετά εντοπισμένες (Εικόνα 47).



Εικόνα 47: Λεπτομέρειες από οπτικό μικροσκόπιο για δοκίμια στεγανοποίησης (3^η θέση μοχλού, αριθμός περασμάτων από αριστερά προς τα δεξιά 10 – 15 – 20)

Από παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 48) προέκυψε ότι ακόμα και στις “δυσμενέστερες” συνθήκες (ανώτερη θέση μοχλού, περισσότερα περάσματα) δεν είχαμε σημαντική παραμόρφωση των κίωνων. Τα τοιχώματά τους παραμένουν κάθετα χωρίς ενδείξεις λυγισμού (*buckling*). Η πρόσφυση του φιλμ

στους κίονες κρίνεται ικανοποιητική. Επισημαίνεται ότι η παρατήρηση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έγινε μετά από δοκιμή των στεγανοποιημένων καναλιών υπό καθεστώς ροής, όπως αναλύεται στην παράγραφο 3.7.2 κατωτέρω, και επίτευξης πίεσης έως και 20 bar.



Εικόνα 48: Τομή στεγανοποιημένης διάταξης. Συνθήκες $T=130^{\circ}\text{C}$, 3^η θέση μοχλού, (α) 15 περάσματα και (β) 20 περάσματα

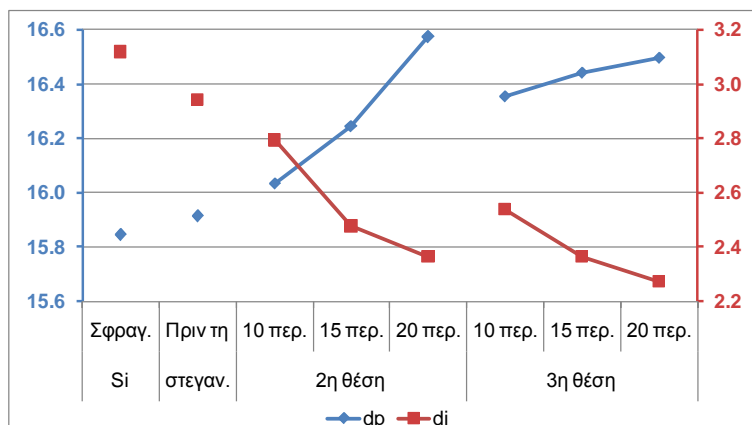
Με σκοπό την αξιολόγηση της επίδρασης των συνθηκών στεγανοποίησης στη δομή των κονιών, οι χρωτογραφικές στήλες, μετά από τις δοκιμές υπό καθεστώς ροής που αναλύονται κατωτέρω, αποκαλύφθηκαν με αφαίρεση του καπακιού, με σκοπό την μέτρηση των βασικών διαστάσεων της δομής, δηλαδή της διαμέτρου των κονιών d_p και της μεταξύ τους απόστασης d_i . Οι τιμές των δύο διαστάσεων για τις 6 συνθήκες στεγανοποίησης που έδωσαν επιτυχή αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 5. Στον ίδιο πίνακα δίνονται οι ίδιες διαστάσεις για χρωματογραφική στήλη πριν από τη στεγανοποίηση καθώς και για τη σφραγίδα Si που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των δοκιμίων.

Πίνακας 5: Τιμές χαρακτηριστικών διαστάσεων για σφραγίδα Si και για χρωματογραφικές στήλες πριν και μετά τη διαδικασία στεγανοποίησης, για τις συνθήκες επιτυχούς στεγανοποίησης

	Σφραγίδα Si	Πριν τη Στεγανοποίηση	2η θέση			3η θέση		
			10 Περάσμ.	15 Περάσμ.	20 Περάσμ.	10 Περάσμ.	15 Περάσμ.	20 Περάσμ.
d_p	15.844	15.912	16.035	16.246	16.572	16.354	16.443	16.497
d_i	3.118	2.710	2.792	2.476	2.363	2.537	2.363	2.272

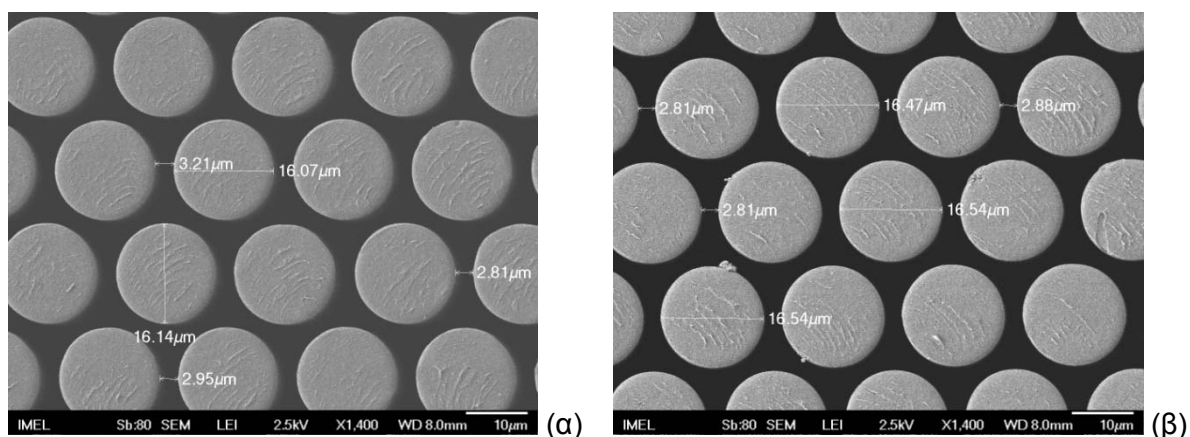
Πιο παραστατικά η απεικόνιση των τιμών του πίνακα αποδίδονται στο Διάγραμμα 3. Παρατηρούμε ότι η εφαρμογή πίεσης και θερμοκρασίας για επίτευξη της στεγανοποίησης συνεπάγεται αύξηση της διαμέτρου των κονιών d_p και αντίστοιχη μείωση της απόστασης d_i . Μεγαλύτερη πίεση (από 2^η στη 3^η θέση του μοχλού που καθορίζει την απόσταση των τυμπάνων) οδηγεί σε εντονότερη μεταβολή της διαμέτρου d_p . Αντίστοιχο αποτέλεσμα έχουν και τα περισσότερα περάσματα δηλαδή ο μεγαλύτερος χρόνος. Ωστόσο υπάρχει μία αλληλεπικάλυψη μεταξύ των 15 και 20

περασμάτων με τον μοχλό στη 2η θέση και των 10 και 15 περασμάτων με τον μοχλό στην 3η θέση.



Διάγραμμα 3: Τιμές χαρακτηριστικών διαστάσεων για σφραγίδα Si και για χρωματογραφικές στήλες πριν και μετά τη διαδικασία στεγανοποίησης, για τις συνθήκες επιτυχούς στεγανοποίησης

Στην Εικόνα 49 δίνονται φωτογραφίες από τις μετρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Συγκρίνοντας τις φωτογραφίες αυτές, που αφορούν στεγανοποιημένα δοκίμια μετά την αφαίρεση του καπακιού, και τις φωτογραφίες της Εικόνας 40 παρατηρούμε ότι στην κορυφή των κονίων υπάρχουν πτυχώσεις οι οποίες ουσιαστικά προέκυψαν κατά την αποκόλληση του καπακιού, ένδειξη της πλήρους συγκόλλησης μεταξύ των δύο σωμάτων, υποστρώματος και καπακιού.



Εικόνα 49: Κατόψεις στηλών μετά από την αφαίρεση του καπακιού: (α) 2η θέση μοχλού 15 περάσματα και (β) 3η θέση μοχλού 20 περάσματα

3.7.2 Δοκιμές Στεγανοποιημένων Καναλιών

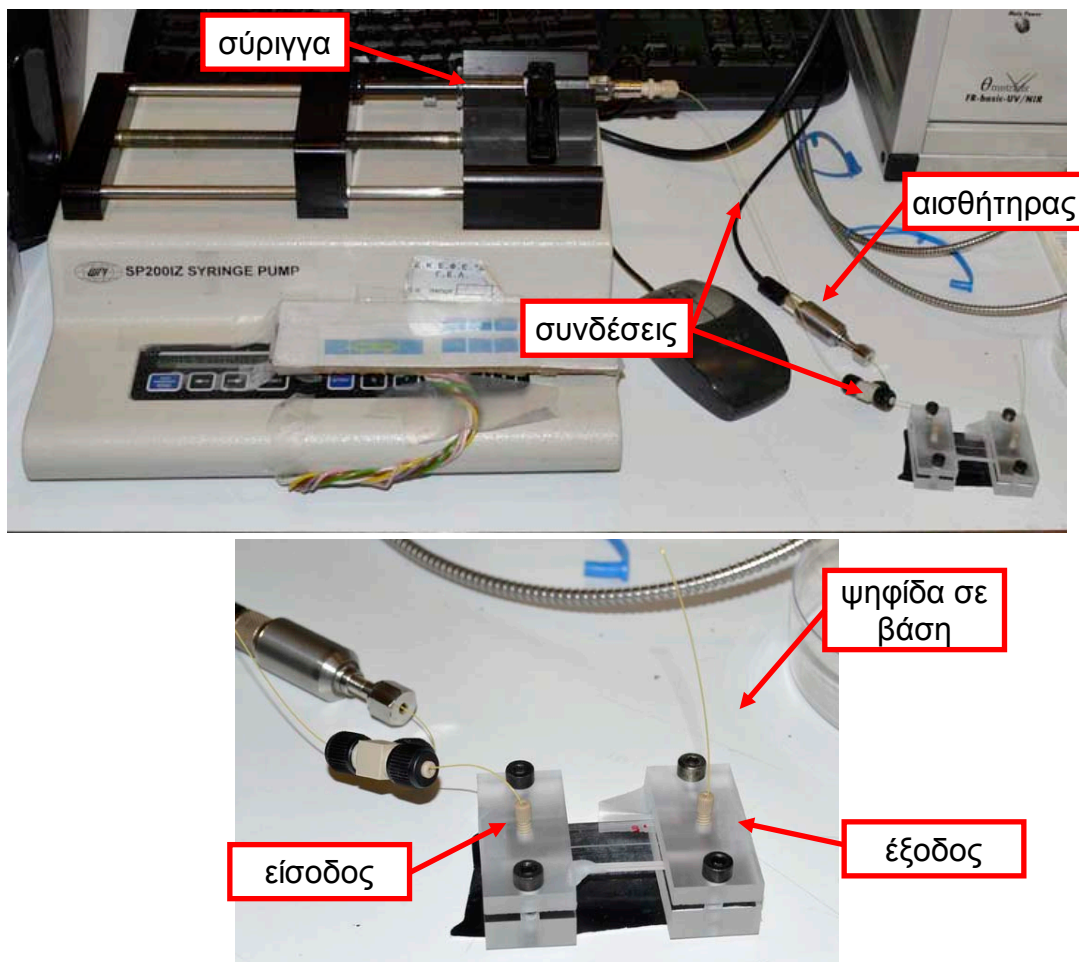
Μετά την παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο και πριν από τον τεμαχισμό των δοκιμίων για εξέταση στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, έγινε έλεγχος των καναλιών για έλεγχο της αντοχής τους σε πίεση υπό συνθήκες κανονικής λειτουργίας.

Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό κατάλληλο για χρήση σε Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC). Η συνδεσμολογία που

χρησιμοποιήθηκε εικονίζεται στην Εικόνα 50. Σύριγγα με το αποιονισμένο νερό τοποθετήθηκε σε αντλία SP200IZ η οποία θα παρείχε την απαιτούμενη ροή.

Η σύνδεση της σύριγγας με την ψηφίδα έγινε με χρήση σωληνώσεων από PEEK με εσωτερική διάμετρο I.D.=150 μ m και εξωτερική O.D.=360 μ m. Η προσαρμογή των σωληνώσεων στη σύριγγα έγινε με κατάλληλους συνδέσμους από την Urchurch Scientific Company. Ομοίως και στην πλευρά της ψηφίδας κάνοντας χρήση των οπών που είχαν διανοιχτεί πριν από τη στεγανοποίηση των καναλιών.

Μεταξύ σύριγγας και ψηφίδας παρεμβλήθηκε αισθητήρας πίεσης από την SMD Sensors UK διακριβωμένος για μέτρηση στην κλίμακα 1-20 bar. Στο άλλο άκρο της ψηφίδας προσαρμόστηκε απλά μία σωλήνωση μικρού μήκους για επαλήθευση της ροής της κινητής φάσης. Η συνδεσμολογία αυτή επιτρέπει την μέτρηση της πτώσης πίεσης ΔP κατά μήκος της στήλης.



Εικόνα 50: Διάταξη για μέτρηση της αντοχής των στεγανοποιημένων καναλιών υπό συνθήκες λειτουργίας

Ξεκινώντας από μικρές τιμές ροής, της τάξης των 0.5 μ L/min, μέχρι δημιουργίας συνέχειας εντός της όλης συνδεσμολογίας, έγινε σταδιακή αύξηση μέχρι και την τιμή των 10 μ L/min. Στον έλεγχο ροής εξετάστηκαν τα πέντε δοκίμια στα οποία είχε επιτευχθεί ικανοποιητική στεγανοποίηση. Σε όλες τις περιπτώσεις δεν παρατηρήθηκε

καμμία διαρροή από την διεπιφάνεια υποστρώματος-φιλμ μέχρι και επίτευξης $\Delta P=20\text{bar}$, όσο δηλαδή και η κλίμακα του αισθητήρα, γεγονός που υποδηλώνει την πολύ καλή συνάφεια μεταξύ των δύο υλικών για τις δεδομένες συνθήκες στεγανοποίησης.

Αντιθέτως, πραγματοποιώντας τον ίδιο έλεγχο σε δοκίμιο που δεν είχε επιτευχθεί πλήρη στεγανοποίηση ($T=130^{\circ}\text{C}$, 1η θέση, 15 περάσματα), παρατήρηθηκε διαρροή στη διεπιφάνεια σε πίεση μικρότερη των 2 bar.

Αξιολογώντας τις ανωτέρω παρατηρήσεις – μετρήσεις, οι συνθήκες για τη στεγανοποίηση των καναλιών ορίστηκαν ως: $T=130^{\circ}\text{C}$, 2^η θέση μοχλού και 15 περάσματα. Πρόκειται δηλαδή για τις ηπιότερες, ως προς την καταπόνηση των δομών του καναλιού συνθήκες, για τις οποίες είχαμε ικανοποιητική στεγανοποίηση σε συνθήκες κανονικής λειτουργίας με σκοπό την περαιτέρω διεξαγωγή χρωματογραφικών αναλύσεων.

4 Προσομοίωση Ροής σε Χρωματογραφική Διάταξη

4.1 Εισαγωγή

Στο παρόν κεφάλαιο επιδιώκεται η μελέτη της συμπεριφοράς της χρωματογραφικής διάταξης, που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της παρούσης εργασίας, με χρήση υπολογιστικού προγράμματος Πεπερασμένων Στοιχείων. Συγκεκριμένα επιδιώκεται η πρόβλεψη της ικανότητας διαχωρισμού συγκεκριμένων ουσιών μέσω εξαγωγής βασικών παραμέτρων (χρόνος έκλουσης - t_R). Για την εκτίμηση της αλληλεπίδρασης των αναλυτών με τις δύο φάσεις, κινητή και σταθερή, γίνεται χρήση πειραματικών αποτελεσμάτων από ανάλυση των ίδιων ουσιών σε διάταξη κατασκευασμένη ομοίως από πολυμερές COP αλλά με διαφορετική γεωμετρία δομών²⁸.

Για την εκτέλεση των προσομοιώσεων έγινε χρήση του λογισμικού COMSOL Multiphysics™ v.4.3b. Η δημιουργία της γεωμετρίας, η διαμέριση και η επίλυση των επιμέρους προβλημάτων-περιπτώσεων ανάλυσης υλοποιήθηκε μέσω του γραφικού περιβάλλοντος του λογισμικού. Για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, εκτός των γραφικών απεικονίσεων, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Matlab R2009b με συγγραφή σχετικού κώδικα.

4.2 Μαθηματική Διατύπωση Φαινομένων

Όπως αναλύθηκε και στο κεφάλαιο 2, στη χρωματογραφία λαμβάνουν χώρα τρία διαφορετικά φαινόμενα μεταφοράς μάζας: μεταφορά λόγω ροής, μεταφορά λόγω διάχυσης και ανταλλαγή μαζών μεταξύ κινητής και σταθερής φάσης.

4.2.1 Ροή Κινητής Φάσης

Οι αναλύτες μεταφέρονται κατά μήκος της χρωματογραφικής στήλης με την ροή της κινητής φάσης. Το διάλυμα που αποτελεί την κινητή φάση είναι ένα συνεχές μέσο οπότε ισχύει η αρχή διατήρησης της μάζας, η οποία για ασυμπίεστα ρευστά δίνεται από την εξίσωση:

$$\vartheta_t \rho + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \Rightarrow \nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (22)$$

Από την αρχή διατήρησης της ορμής προκύπτει η εξίσωση κίνησης του ρευστού, η οποία είναι γνωστή και ως εξίσωση Navier-Stokes και για ασυμπίεστα ρευστά περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\rho[\vartheta_t \mathbf{u} + (\mathbf{u} \cdot \nabla)\mathbf{u}] = -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} + \rho g \quad (23)$$

Όπου ρ η πυκνότητα σε kg/m^3 , \mathbf{u} το πεδίο της ταχύτητας σε m/sec , p η πίεση σε Pa, η το ιξώδες του ρευστού σε $\text{Pa}\cdot\text{sec}$ και g η επιτάχυνση της βαρύτητας.

Για ροή σε μικρορρευστονικό κανάλι, η επίδραση των βαρυτικών δυνάμεων είναι αμελητέα και οι ιξώδεις δυνάμεις είναι πολύ μεγαλύτερες από τις δυνάμεις αδράνειας οπότε ο τελευταίος όρος της εξίσωσης (23) δύναται να παραληφθεί. Ομοίως μπορεί να παραληφθεί και ο μη-γραμμικός όρος $(\mathbf{u} \cdot \nabla)\mathbf{u}$, καθώς λόγω των μικρών διαστάσεων των δομών και των χαμηλών ταχυτήτων, η ροή είναι στρωτή χωρίς την δημιουργία τύρβων.

Στην περίπτωση χρωματογραφικής ανάλυσης υπό πίεση (PD), το ρευστό εισέρχεται στην εισόδο με πίεση που δημιουργείται από μία αντλία και εξέρχεται στην έξοδο με μηδενική πίεση. Η διαφορά αυτή αποτελεί και το αίτιο της ροής. Η επίλυση του συστήματος των δύο ανωτέρω εξισώσεων είναι ικανή να περιγράψει πλήρως το ροϊκό πεδίο μέσω προσδιορισμού των μεταβλητών ταχύτητας (\mathbf{u}) και πίεσης (p)³³.

4.2.2 Μεταφορά Χημικών Ουσιών

Η εξίσωση της συνέχειας ισχύει τόσο για ομογενή ρευστά όσο και για ετερογενή διαλύματα. Με την εισαγωγή του μείγματος των χημικών ουσιών στην κινητή φάση, τα μόριά τους κινούνται κατά μήκος της στήλης παρασυρόμενα από την κινητή φάση και προς όλες τις κατευθύνσεις λόγω βάρθρωσης της συγκέντρωσής τους. Για μία ουσία i η πυκνότητα ροής J_i μπορεί να αναλυθεί σε δύο συνιστώσες, σε πυκνότητα λόγω συναγωγής (*convection*) J_i^{conv} και πυκνότητα λόγω διάχυσης (*diffusion*) J_i^{diff} . Εφαρμόζοντας την εξίσωση συνέχειας για την ουσία i προκύπτει ότι:

$$\vartheta_t c_i + \mathbf{u} \cdot \nabla c_i - D_i \nabla^2 c_i = 0 \quad (24)$$

Όπου c_i η συγκέντρωση της ουσίας i σε mol/m^3 και D_i ο συντελεστής διάχυσής της στο διάλυμα της κινητής φάσης σε m^2/sec .

Ο δεύτερος όρος εκφράζει την μεταβολή της συγκέντρωσης λόγω συναγωγής. Η ταχύτητα \mathbf{u} είναι η ταχύτητα που έχει υπολογιστεί από την επίλυση του συστήματος των εξισώσεων (22) και (23). Ο τρίτος όρος εκφράζει την μεταβολή της συγκέντρωσης λόγω της διάχυσης. Επιλύοντας την εξίσωση (24) προσδιορίζεται χωρικά (∇) και χρονικά (ϑ_t) η συγκέντρωση των αναλυτών c_i εντός του όγκου της κινητής φάσης³³. Μέχρι τώρα δεν έχουμε λάβει υπόψη μας την αλληλεπίδραση των ουσιών με την κινητή και τη στάσιμη φάση, που αποτελεί και το αίτιο του μηχανισμού συγκράτησης των διαφόρων ουσιών άρα και του διαχωρισμού τους.

4.2.3 Αντιδράσεις Προσρόφησης και Εκροφής

Τα μόρια των αναλυτών που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης προσροφούνται σε αυτή. Με την ροή της κινητής φάσης, προσροφημένα μόρια εκροφούνται και επιστρέφουν στο διάλυμα. Η κίνηση αυτή περιγράφεται από την αντίδραση (25) όπου οι δείκτες M και S υποδεικνύουν τη συγκέντρωση του αναλύτη σε κινητή και σταθερή φάση αντίστοιχα:



Η μεταβολή της επιφανειακής συγκέντρωσης c_s των προσροφημένων μορίων με τον χρόνο δίνεται από την εξίσωση:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = k_{ads} C_{Mw} (1 - \theta) - k_{des} C_S \quad (26)$$

Η επιφανειακή συγκέντρωση αυξάνει καθώς μόρια του αναλύτη που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης αντιδρούν με ρυθμό k_{ads} με τις ελεύθερες θέσεις $(1-\theta)$. Αντίστοιχα μειώνεται καθώς τα προσροφημένα μόρια απομακρύνονται με ρυθμό k_{des} από την στάσιμη φάση.

Εφαρμόζοντας μια πιο απλουστευμένη προσέγγιση οι αντιδράσεις προσρόφησης και εκρόφησης μπορούν να αποδοθούν ως ροή μορίων από και προς την ενεργή επιφάνεια της στάσιμης φάσης ως:

$$N = k_a c_m - k_d c_s \quad (27)$$

(η ροή συμβολίζεται με N κατά σύμβαση λόγω χρήσης της ίδιας ορολογίας και από το λογισμικό COMSOL για την κάθετη σε μία επιφάνεια ροή)

Όπου k_a και k_d οι σταθερές αντιδράσεων πρώτης τάξεως προσρόφησης και εκρόφησης αντίστοιχα σε sec^{-1} , c_m η συγκέντρωση ενός αναλύτη στην κινητή φάση σε mol/m^2 και c_s η συγκέντρωσή του στην επιφάνεια σε mol/m^2 . Καθώς η συγκέντρωση στην κινητή φάση c_i εκφράζεται ως λόγος γραμμομορίων ανά όγκο ενώ η c_m έχει μονάδες γραμμομορίων ανά επιφάνεια, η τελευταία προκύπτει από την συγκέντρωση c_i μέσω της μετατροπής:

$$c_m = \varphi \cdot c_i \quad (28)$$

Όπου φ είναι η αναλογία φάσεων μεταξύ της κινητής και της στάσιμης φάσης και ισούται με τον όγκο της κινητής προς την ενεργό επιφάνεια της στάσιμης¹⁹.

Εξαιτίας των αντιδράσεων αυτών, ο μηχανισμός συγκράτησης των ουσιών μπορεί να εκφραστεί μέσω του συστήματος εξισώσεων:

$$\vartheta_t c_s = k_a \varphi c_i - k_d c_s \quad (29)$$

$$\vartheta_t c_i = -\nabla_{\mathbf{n}}(k_a c_m - k_d c_s)$$

Με n το κάθετο στην ενεργό επιφάνεια διάνυσμα. Η συγκέντρωση του αναλύτη στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης ισούται με το ισοζύγιο των προσροφημένων μείον τα εκροφημένα μόρια. Αντίστοιχα η συγκέντρωση του αναλύτη στην κινητή φάση πλησίον των τοιχωμάτων της στάσιμης φάσης μεταβάλλεται συμπληρωματικά της συγκέντρωσης στη στάσιμη φάση.

4.3 Προσομοίωση Φαινομένων στο COMSOL

Βασική αρχή των προγραμμάτων πεπερασμένων στοιχείων είναι η διαμέριση του χώρου-περιοχής προσομοίωσης σε επιμέρους στοιχεία (*elements*) τριγωνικού ή τετραγωνικού σχήματος, προκειμένου για δισδιάστατες περιοχές και σχήματος πυραμίδας, σφήνας ή παραλληλεπίπεδου προκειμένου για τρισδιάστατες περιοχές προσομοίωσης.

Κατόπιν, οι αναλυτικές εξισώσεις που περιγράφουν τα προς μελέτη φαινόμενα επιλύονται αριθμητικά με σκοπό την εξαγωγή των τιμών βασικών μεγεθών στις κορυφές των στοιχείων που ονομάζονται κόμβοι. Με τον όρο αριθμητικά εννοούμε την αντιστοίχιση των μεταβολών ως πεπερασμένες διαφορές. Σαν συνέπεια μικρές διακυμάνσεις των μεγεθών επιτρέπουν τη διαμέριση του χώρου σε μεγαλύτερα στοιχεία ενώ “απότομες” μεταβολές επιβάλουν τη διαμέριση του χώρου σε μικρότερα στοιχεία αυξάνοντας τον αριθμό των κόμβων άρα και των υπολογιζόμενων τιμών.

Προκειμένου για συγκεκριμένα φυσικά φαινόμενα το COMSOL διαθέτει ενότητες (*modules*), καθεμία από τις οποίες εξειδικεύεται στην επίλυση συγκεκριμένων εξισώσεων που περιγράφουν τα φαινόμενα αυτά. Ειδικότερα για την προσομοίωση χρωματογραφικής ανάλυσης γίνεται χρήση των κάτωθι ενοτήτων.

Creeping Flow (spf)

Με την ενότητα αυτή γίνεται προσομοίωση της ροής της κινητής φάσης. Η συγκεκριμένη ενότητα περιλαμβάνει τον κώδικα για επίλυση μαθηματικών εξισώσεων που διέπουν στρωτή ροή (*laminar flow*) ενός ρευστού και συγκεκριμένα των εξισώσεων (22) και (23) ανωτέρω, οπότε γίνεται υπολογισμός της ταχύτητας και της πίεσης του ρευστού που αντιστοιχεί στην κινητή φάση. Καθώς τα μεγέθη αυτά παραμένουν αμετάβλητα στον χρόνο, η επίλυση των εξισώσεων της ενότητας αυτής υλοποιείται σε στάσιμο χρόνο (*stationary study*).

Transport of Diluted Species (chds)

Με την ενότητα αυτή γίνεται προσομοίωση της μεταφοράς των χημικών ουσιών λόγω συναγωγής και διάχυσης καθώς περιλαμβάνει κώδικα για την επίλυση της εξίσωσης (24). Καθώς η χρωματογραφική διάταξη προσομοιώνεται και σε συνθήκες συγκράτησης ουσιών από την στάσιμη φάση και όχι απλά ροής, υπάρχει δυνατότητα επίλυσης συστήματος με τις εξισώσεις (29). Η ενότητα αυτή υπολογίζει την

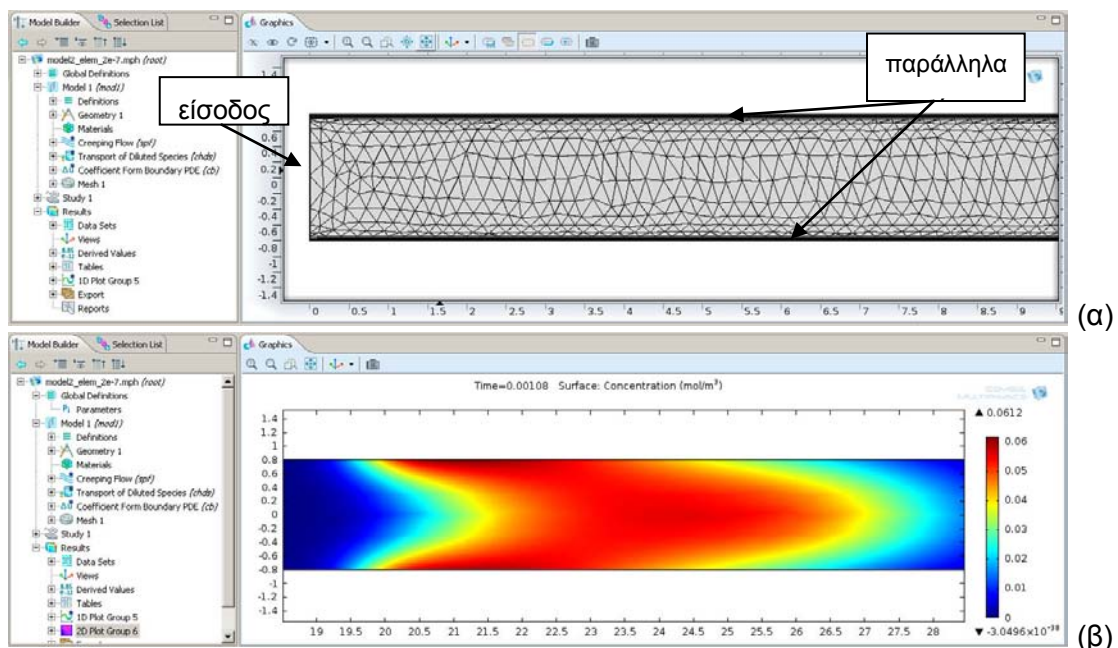
συγκέντρωση των αναλυτών συναρτήσει του χρόνου, οπότε η επίλυση των εξισώσεων υλοποιείται σε μεταβλητό χρόνο (*time-dependent study*).

Coefficient Form Boundary PDE (cb)

Η ενότητα αυτή επιτρέπει τον ορισμό μερικής διαφορικής εξίσωσης μέσω επιλογής κατάλληλων συντελεστών, ώστε να σχηματισθεί η εξίσωση που περιγράφει ένα φυσικό φαινόμενο. Καθώς για την προσομοίωση του φαινομένου μεταφοράς μάζας από την κινητή προς την στάσιμη φάση και αντίστροφα έγινε επιλογή απλουστευμένης προσέγγισης όπως περιγράφεται από την εξίσωση (27) ανωτέρω, χρησιμοποιήθηκε η συγκεκριμένη ενότητα του COMSOL προκειμένου να γίνει επίλυση της εξίσωσης (29) σε μεταβλητό χρόνο (*time-dependent study*) και να υπολογισθεί η ποσότητα του αναλύτη που προσροφάται και εκροφάται από τα τοιχώματα της στάσιμης φάσης.

4.4 Αναλυτική Επαλήθευση Μοντέλου

Βασικό βήμα στην χρήση υπολογιστικών προγραμμάτων στην προσομοίωση σύνθετων μηχανισμών, όπως η χρωματογραφική ανάλυση, αποτελεί η πιστοποίηση των χρησιμοποιούμενων μοντέλων. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω προσομοίωσης των μηχανισμών σε απλούστερη γεωμετρία για την οποία υπάρχει δυνατότητα αναλυτικής επίλυσης και σύγκρισης των αποτελεσμάτων. Για την πιστοποίηση του μοντέλου που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, έγινε προσομοίωση ροής σε ευθύγραμμο κανάλι μεταξύ δύο παράλληλων πλακών (Εικόνα 51.α) και σύγκριση των αποτελεσμάτων ως προς το ισοδύναμο ύψος H .



Εικόνα 51: (α) Ευθύγραμμο κανάλι και διαμέριση με τριγωνικά στοιχεία για πιστοποίηση προσομοίωσης ροής, (β) Παλμός αναλύτη σε χρόνο $t=0.002$ δευτερόλεπτα από την εισαγωγή του στο κανάλι

Θεωρούμε ευθύγραμμο κανάλι συνολικού μήκους L_{sep} με πλάτος d . Ο αναλύτης εισάγεται στην είσοδο με την μορφή τετραγωνικού παλμού μήκους l_{inj} . Όταν τα μόρια του αναλύτη προσροφούνται στα πλευρικά τοιχώματα με ρυθμό k_a και εκροφώνται με ρυθμό k_d , ορίζουμε τον λόγο $k=k_a/k_d$. Αν u είναι η ταχύτητα της κινητής φάσης σε χρωματογραφική ανάλυση υπό πίεση (PD), το ισοδύναμο ύψος H , για την περίπτωση που οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης χωρίς την ύπαρξη εσωτερικού πορώδους, δίνεται από την σχέση^{36,19}:

$$H_{PD} = \frac{l_{inj}^2}{12L_{sep}} + \frac{2D_m}{u} + \frac{2}{210} \frac{1+9k+25.5k^2}{(1+k)^2} \frac{d^2}{D_m} u + \frac{2k}{(1+k)^2} \frac{1}{k_d} u \quad (30)$$

Ο πρώτος ορος αντιστοιχεί στην διεύρυνση παλμού λόγω της διάχυσης δίνης και ο δεύτερος λόγω της μοριακής διάχυσης. Οι δύο τελευταίοι όροι αντιστοιχούν στη συνεισφορά των φαινομένων μεταφοράς μάζας μεταξύ των δύο φάσεων. Ο τρίτος όρος αντιστοιχεί στην “αντίσταση” στην μετακίνηση αναλυτών από την κινητή στην στάσιμη φάση και ο τελευταίος όρος στην “αντίσταση” κατά την αντίστροφη φορά.

4.4.1 Ανεξαρτησία Λύσης από το Υπολογιστικό Πλέγμα

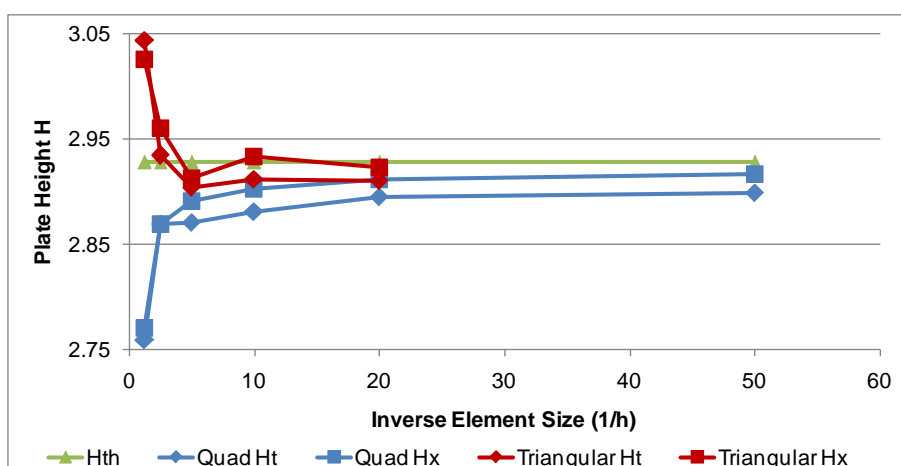
Όσο πιο πυκνή είναι η διαμέριση της περιοχής προσομοίωσης τόσο πιο ακριβής γίνεται η επίλυση ενός προβλήματος. Ωστόσο με την μείωση του μεγέθους των στοιχειωδών κελιών (*elements*) αυξάνει ο αριθμός των κ άμβων άρα και των υπολογιζόμενων μεταβλητών, με συνέπεια την αύξηση του χρόνου υπολογισμών και των απαιτήσεων σε υπολογιστική ισχύς.

Με σκοπό την μελέτη της επίδρασης του μεγέθους του πλέγματος διαμέρισης εκτελέστηκαν διαδοχικές προσομοιώσεις στο ευθύγραμμο κανάλι της Εικόνας 51 ξεκινώντας από χαρακτηριστικό μέγεθος κελιού (μήκος πλευράς) $h=0.8\mu\text{m}$ και υποδιπλασιάζοντάς το σε κάθε προσομοίωση. Η μελέτη αφορά δύο είδη στοιχείων τετραγωνικά (*quad*) και τριγωνικά (*triangular*). Οι παράμετροι των προσομοιώσεων είχαν ως εξής: $L_{sep}=100\mu\text{m}$, $d=1.6\mu\text{m}$, $u=5\text{mm/sec}$, $D_m=10^{-9}\text{m}^2/\text{sec}$, $k=2$, $k_d=2500\text{sec}^{-1}$.

Στο Διάγραμμα 4 δίνεται το θεωρητικό και το υπολογισμένο H συναρτήσει του αντιστρόφου του χαρακτηριστικού μεγέθους στοιχείου ($1/h$). Ο υπολογισμός του H υλοποιήθηκε με χρήση τόσο χωρικών (*spatial* - εξίσωση 31) όσο και χρονικών (*temporal* - εξίσωση 32) συντεταγμένων.

$$H = \frac{\sigma_{x2}^2 - \sigma_{x1}^2}{\mu_2 - \mu_1} = \frac{\Delta\sigma_x^2}{\Delta x} \quad (31)$$

$$H = \left(\frac{\Delta\sigma_t}{\Delta t} \right)^2 \Delta x \quad (32)$$



Διάγραμμα 4: Σύγκριση μεταξύ θεωρητικού (H_{th}) και υπολογισμένου ισοδύναμου ύψους για διαφορετική πύκνωση πλέγματος

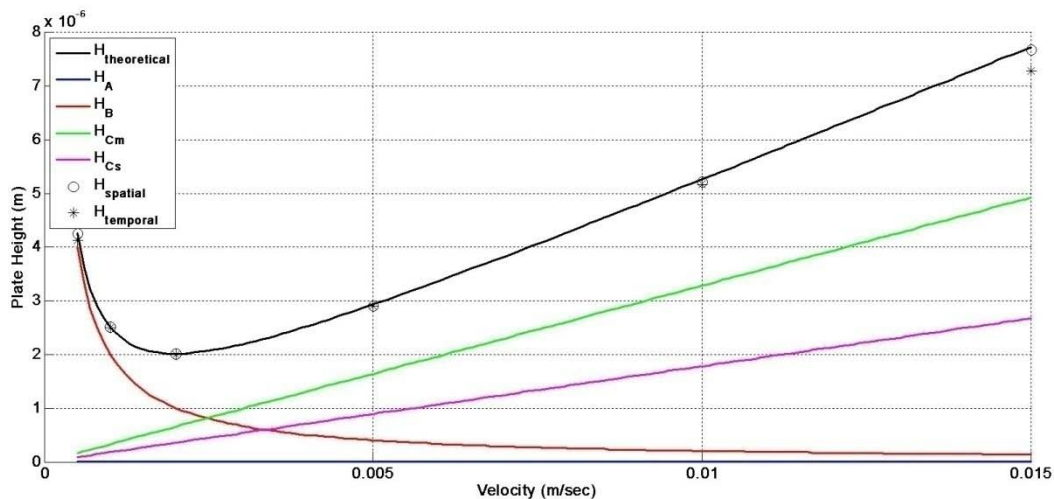
Στον Πίνακα 6 δίνεται το ποσοστό σφάλματος ($error - \%$) μεταξύ θεωρητικής και υπολογισμένης τιμής για κάθε περίπτωση. Παρατηρούμε ότι η επιλογή τριγωνικών στοιχείων οδηγεί σε ταχύτερη σύγκλιση προς την θεωρητική τιμή δίνοντας πολύ καλό ποσοστό σφάλματος για $h \leq 0.2 \mu m$. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο καθώς τα τριγωνικά στοιχεία επιλέγονται κυρίως για προσομοιώσεις προβλημάτων ρευστοδυναμικής ενώ τα τετραγωνικά στοιχεία προτιμούνται για προσομοιώσεις προβλημάτων μηχανικής αντοχής (*structural*).

Πίνακας 6: Ποσοστό σφάλματος μεταξύ υπολογισμών και αναλυτικής επίλυσης για διαφορετική πύκνωση πλέγματος

$error$ $\%$	h (μm)	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05	0.02
	$1/h$	1.25	2.5	5	10	20	50
quad	H_t	5.78%	1.98%	1.96%	1.59%	1.12%	0.99%
	H_x	5.39%	1.98%	1.26%	0.86%	0.55%	0.36%
triangular	H_t	3.98%	0.22%	0.81%	0.58%	0.52%	
	H_x	3.35%	1.09%	0.51%	0.20%	0.17%	

Επιλέγοντας την χρήση τριγωνικών στοιχείων με χαρακτηριστικό μέγεθος $h=0.2 \mu m$ εκτελέστηκαν προσομοιώσεις με τις ίδιες παραμέτρους προβλήματος για ταχύτητες κινητής φάσης από 0.5 μέχρι και 15mm/sec, προκειμένου να εξαχθούν οι καμπύλες van Deemter.

Στο Διάγραμμα 5 δίνονται καμπύλες της συνεισφοράς των όρων A , B και C και το συνολικό ισοδύναμο ύψος H βάσει της εξίσωσης (30) συναρτήσει της ταχύτητας της κινητής φάσης u , καθώς και το υπολογισμένο ισοδύναμο ύψος για τις ανωτέρω συνθήκες. Παρατηρούμε ότι για σχεδόν ολόκληρο το εύρος ταχυτήτων υπάρχει πολύ καλή σύγκλιση μεταξύ θεωρητικών και υπολογισμένων τιμών.



Διάγραμμα 5: Διάγραμμα θεωρητικού και υπολογισμένου ισοδύναμου ύψους H συναρτήσει της ταχύτητας u (διάγραμμα van Deemter). Απεικόνιση της συνεισφοράς των όρων A, B, C .

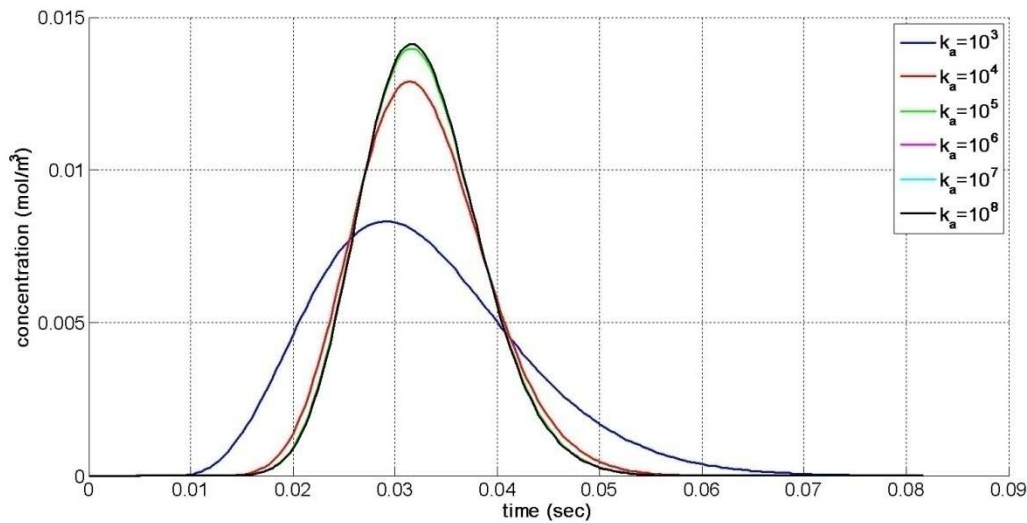
Επομένως, για το σύνολο των προσομοιώσεων για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας έγινε χρήση τριγωνικών στοιχείων με χαρακτηριστικό μέγεθος $h=0.2\mu\text{m}$.

4.4.2 Μελέτη Ρυθμών Αντιδράσεων Προσρόφησης και Εκρόφησης

Σημαντικό ρόλο στην προσομοίωση της χρωματογραφίας παίζει και η επιλογή των σταθερών k_a και k_d , καθώς μικρές τιμές οδηγούν σε πολύ αργή εξέλιξη του φαινομένου της προσρόφησης. Στην περίπτωση αυτή είναι πολύ δύσκολο να επιτευχθεί σύγκλιση με την λύση της εξίσωσης (28), καθώς αυτή έχει προκύψει με την παραδοχή γρήγορου ρυθμού προσρόφησης. Αντίστοιχα η επιλογή πολύ υψηλών τιμών είναι πιθανόν να προκαλέσει προβλήματα σύγκλισης των αριθμητικών υπολογισμών και να οδηγήσει σε αύξηση του χρόνου υπολογισμού¹⁶.

Για την επιλογή των βέλτιστων τιμών των σταθερών αντίδρασης έγιναν διαδοχικές προσομοιώσεις με σταδιακή αύξηση των σταθερών κατά μία τάξη μεγέθους. Συγκεκριμένα κρατώντας τον λόγο k ίσο με $5/3$ εξετάστηκε η επίδραση του k_a για τιμές από 10^3 έως 10^8 sec^{-1} . Στο Διάγραμμα 6 δίνεται η εξέλιξη της συγκέντρωσης του αναλύτη c_i στο μέσο του καναλιού συναρτήσει του χρόνου.

Παρατηρούμε ότι για $k_a \geq 10^6 \text{ sec}^{-1}$ το προφίλ της συγκέντρωσης παραμένει αμετάβλητο. Επιπρόσθετα συγκρίνοντας την τιμή του H όπως υπολογίζεται από την εξίσωση (28) με αυτήν που προκύπτει από τους αριθμητικούς υπολογισμούς για όλες τις περιπτώσεις τιμών k_a , το σφάλμα περιορίζεται κάτω από 1%. Αντίστοιχη διαδικασία ακολουθήθηκε και για την περίπτωση χρωματογραφικής στήλης με κυλινδρικούς κίονες για διάφορες τιμές του λόγου K . Οπότε η τιμή $k_a=10^6 \text{ sec}^{-1}$ χρησιμοποιήθηκε για την εκτέλεση των περαιτέρω υπολογισμών.



Διάγραμμα 6: Γραφική παράσταση συγκέντρωσης αναλύτη c_i συναρτήσει του χρόνου για διαφορετικές τιμές ρυθμού k_a

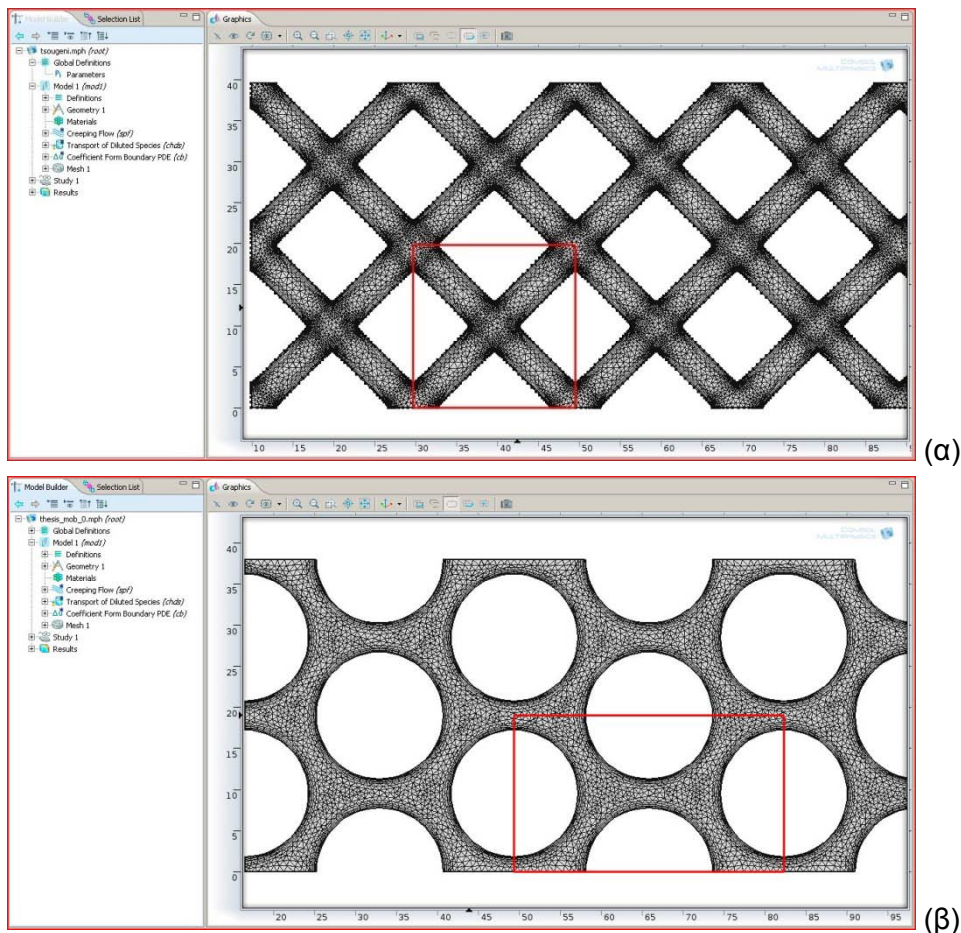
4.5 Μοντελοποίηση Προβλήματος

4.5.1 Ορισμός Προβλήματος

Το 2015 η Τσουγένη²⁸ εκτέλεσε χρωματογραφική ανάλυση τεσσάρων χημικών ουσιών σε διάταξη που κατασκεύασε σε πολυμερές COP με αποτύπωση εν θερμώ. Πρόκειται για στήλη μήκους 4cm και πλάτους 320μm, από ρομβοειδής κίονες ακμής 10μm με μεταξύ τους απόσταση 4μm και ύψος 15μm. Μέσω προσομοίωσης ροής στη συγκεκριμένη διάταξη και σύγκρισης με τα πειραματικά αποτελέσματα έγινε εκτίμηση των παραμέτρων αλληλεπίδρασης των ουσιών με κινητή και σταθερή φάση και συγκεκριμένα της σταθεράς ισορροπίας K της σχετικής αντίδρασης (σε όλες τις προσομοιώσεις θεωρούμε k_a σταθερό και ίσο με 10^6sec^{-1}). Η γεωμετρία της διάταξης αυτής στο γραφικό περιβάλλον του COMSOL δίνεται στην Εικόνα 52.α.

$$K = \frac{k_a}{k_d} \quad (33)$$

Οι ανωτέρω παράμετροι (σταθερά K) χρησιμοποιήθηκαν για την προσομοίωση ροής των ίδιων ουσιών μέσω του ίδιου διαλύματος κινητής φάσης, αλλά με στάσιμη φάση την χρωματογραφική διάταξη που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της παρούσης εργασίας, με σκοπό την πρόβλεψη του χρόνου έκλουσης t_R . Η γεωμετρία που χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια των προσομοιώσεων, λεπτομέρειες της οποίας έχουν αναλυθεί στην παράγραφο 3.4, δίνεται στην Εικόνα 52.β.



Εικόνα 52: Γεωμετρία χρωματογραφικών διατάξεων στο COMSOL. (α) δομή διάταξης με ρομβοειδής κίονες, (β) δομή διάταξης παρουσίασης εργασίας

Εντός κόκκινου πλαισίου περιλαμβάνεται στοιχειώδες κελί, επανάληψη του οποίου στις δύο διαστάσεις δίνει το σύνολο της χρωματογραφικής διάταξης. Για τις ανάγκες της υπολογιστικής μελέτης έγινε προσομοίωση της ροής σε περιοχή 2 κελιών στο πλάτος και 10 κελιών κατά μήκος της στήλης. Για την περίπτωση της γεωμετρίας με τους ρομβοειδής κίονες η περιοχή προσομοίωσης αντιστοιχεί στο 1/8 της χρωματογραφικής στήλης κατά την κάθετη διεύθυνση και στο 1/202 κατά την παράλληλη με την ροή διεύθυνση. Για την περίπτωση της γεωμετρίας με τους κυλινδρικούς κίονες οι αντίστοιχες αναλογίες είναι 1/13.5 και 1/121.5.

4.5.2 Προσομοίωση Φαινομένων

Ροή Κινητής Φάσης

Η προσομοίωση της ροής της κινητής φάσης έγινε με χρήση της ενότητας *Creeping Flow (spf)*. Η κινητή φάση ορίζεται μέσω δύο παραμέτρων, της πυκνότητας ρ και του ιξώδους η του διαλύματος. Στην είσοδο του μοντέλου το ρευστό δηλώνεται μέσω του ρυθμού ροής Q_d σε m^3/sec . Καθώς γνωρίζουμε την ροή για το σύνολο της διάταξης, για την περιοχή προσομοίωσης αυτή ορίζεται ως $Q_d/8$ και $Q_d/13,5$ αντίστοιχα για τις δύο περιπτώσεις γεωμετρίας. Στην έξοδο οι συνοριακές συνθήκες

προσομοιώνονται μέσω της πίεσης η οποία εξισώνεται με την ατμοσφαιρική. Οι κίονες συμπεριφέρονται ως τοιχώματα (“walls”) θεωρώντας ως συνοριακή συνθήκη στην επιφάνειά τους μηδενική ταχύτητα ρευστού (“no slip”). Τέλος στις δύο πλευρές θεωρούμε συνθήκες συμμετρίας. Η παραδοχή αυτή αντιστοιχεί σε προσομοίωση χρωματογραφικής στήλης με άπειρο πλάτος χωρίς την συνεισφορά πλευρικών τοιχωμάτων. Η παραδοχή αυτή μπορεί να θεωρηθεί ορθή στην περίπτωση σχεδίασης βάσει των εκτιμήσεων του Vervoort¹⁷ καθώς και στην περίπτωση που θεωρούμε προσομοίωση μόνο της κεντρικής ζώνης της στήλης όπου ουσιαστικά η επίδραση των πλευρικών τοιχωμάτων είναι πάρα πολύ μικρή⁴. Στο στάδιο αυτό γίνεται επίλυση σε στατικό χρόνο των εξισώσεων (22) κ α (23) με σκοπό τον προσδιορισμό του ροϊκού πεδίου (ταχύτητα, πίεση) εντός της στήλης.

Μεταφορά Χημικών Ουσιών

Η μεταφορά των χημικών ουσιών λόγω συναγωγής και διάχυσης προσομοιώθηκε με χρήση της ενότητας *Transport of Diluted Species (chds)*. Για την εισαγωγή των ουσιών γίνεται χρήση ενσωματωμένης συνάρτησης, οπότε αυτές εισάγονται ως παλμός με μορφή κατανομής Gauss (τυπική απόκλιση παλμού $\sigma=3\mu\text{m}$) στην είσοδο της προσομοιούμενης περιοχής. Για την επίλυση των εξισώσεων απαιτείται ο ορισμός του συντελεστή διάχυσης, που δηλώνεται ως παράμετρος, και της ταχύτητα της κινητής φάσης η οποία λαμβάνεται από το αποτέλεσμα της επίλυσης της προσομοίωσης της ροής ανωτέρω. Στις πλευρές του μοντέλου θεωρούμε και σε αυτήν την περίπτωση συνθήκες συμμετρίας.

Όσον αφορά την προσομοίωση της αμφίδρομης αντίδρασης προσρόφησης-εκρόφησης:

$$C_M \rightleftharpoons C_S \quad (34)$$

αυτή δηλώνεται ως ροή (“flux”) από κ α προς την επιφάνεια των κίωνων σύμφωνα με την εξίσωση (27) δηλώνοντας τις σταθερές k_a και k_d ως παραμέτρους.

Αντιδράσεις Προσρόφησης-Εκρόφησης

Η προσομοίωση του συγκεκριμένου φαινομένου υλοποιήθηκε με χρήση γενικής ενότητας Μερικών Διαφορικών Εξισώσεων (cb) μέσω ορισμού των αντίστοιχων συντελεστών ώστε να επιτυγχάνεται επίλυση της εξίσωσης (29). Για τον υπολογισμό της ποσότητας του αναλύτη που προσροφάται στην επιφάνεια της στάσιμης φάσης ορίστηκε βοηθητική μεταβλητή c_s με μονάδες σε mol/m^2 .

Ουσιαστικά τα δύο τελευταία φαινόμενα είναι αλληλένδετα και επιλύονται ταυτόχρονα. Λόγω της χρονικής εξέλιξής των, η επίλυσή τους υλοποιείται σε δεύτερο στάδιο ως χρονικά εξαρτώμενη σε διάστημα $(0, t_{sim})$. Με τον τρόπο αυτό προσδιορίζεται χωρικά και χρονικά η εξέλιξη των μεταβλητών c_s στην επιφάνεια των κίωνων και c_i στον όγκο της κινητής φάσης.

4.5.3 Παραδοχές

Όλες οι προσομοιώσεις έχουν εκτελεστεί σε γεωμετρία 2-D. Η χρήση γεωμετρίας 3-D θα απαιτούσε πολύ περισσότερη υπολογιστική ισχύς καθώς και σημαντικά αυξημένο χρόνο προσομοίωσης. Μεταξύ των δύο καταστάσεων υπάρχει διαφοροποίηση ως προς την εκτίμηση της επίδρασης των άνω και κάτω τοιχωμάτων στη διεύρυνση του παλμού H , εξαιτίας της διαφοροποίησης του προφίλ της ταχύτητας ροής. Ωστόσο η επίδραση αυτή μπορεί να εκφραστεί ως πρόσθετος όρος που αθροίζεται στα αποτελέσματα των υπολογισμών για 2-D γεωμετρία¹⁰².

Καθώς τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα²⁸ αφορούσαν μόνο σε χρόνους έκλουσης t_R , η ίδια παράμετρος εκτιμήθηκε και για την δομή της παρούσας εργασίας. Ωστόσο για τον υπολογισμό της σταθεράς ϕ της εξίσωσης (26) που χρειάζεται για την προσομοίωση των αντιδράσεων, συνυπολογίστηκε η συνεισφορά των επιφανειών των άνω και κάτω τοιχωμάτων κάντοντας χρήση της αντίστοιχης σταθεράς 3-D γεωμετρίας (Πίνακας 7).

Πίνακας 7: Σταθερά ϕ για τις δύο περιπτώσεις προσομοιούμενων διατάξεων. Τιμές για 2-D και 3-D γεωμετρίας (χρήση των τιμών 3-D γεωμετρίας)

ϕ (μm)	2-D	3-D
ρομβοειδής κίονες	2.40	1.82
κυλινδρικοί κίονες	2.88	2.24

Η κινητή φάση είναι διάλυμα $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$. Στα πειράματα διαχωρισμού έχουν χρησιμοποιηθεί δύο αναλογίες 90/10 και 80/20. Η προσθήκη του ACN διαφοροποιεί ελαφρά τις ιδιότητες πυκνότητα (ρ) και ιξώδες (η) του νερού. Στον Πίνακα 8 δίνονται οι ιδιότητες του νερού και του διαλύματος για 4 διαφορετικές συστάσεις βάσει της εξίσωσης Lobe¹¹⁰.

$$\eta_m = \phi_{org} \eta_{org} e^{(\phi_{water} \alpha_{water})} + \phi_{water} \eta_{water} e^{(\phi_{org} \alpha_{org})} \quad (35)$$

Όπου η_{water} , η_{org} το ιξώδες του νερού και του οργανικού διαλύτη, ϕ_{water} , ϕ_{org} η κατ' όγκον αναλογία και α_{water} , α_{org} εμπειρικές παράμετροι.

Πίνακας 8: Ιδιότητες κινητής φάσης $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ για διαφορετικές συστάσεις

$\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$	100/0	90/10	80/20	70/30	60/40
πυκνότητα ρ (kg/m^3)	1000	978.6	957.2	935.8	914.4
ιξώδες η ($10^{-3}\text{Pa}\cdot\text{sec}$)	1	0.9897	1.0065	0.9694	0.8991

Εκτελώντας προσομοιώσεις ροής σε περιοχή 1×10 στοιχειωδών κελιών θεωρώντας κυλινδρικούς κίονες προέκυψε ότι η διαφοροποίηση στην ταχύτητα u του πεδίου, λόγω των διαφορετικών τιμών πυκνότητας και ιξώδους για κάθε σύσταση κινητής φάσης, είναι αμελητέα, οπότε σε όλες τις προσομοιώσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για την κινητή φάση, ανεξαρτήτως σύστασης, οι τιμές: πυκνότητα $\rho=10^3 \text{kg/m}^3$ και $\eta=10^{-3} \text{Pa}\cdot\text{sec}$.

Οι τέσσερις αναλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είναι: α) Sodium Benzoate (SB), β) Acetaminophen (AMP), γ) Propylparaben (PP) και δ) Napthalene (NL). Οι συντελεστές μοριακής διάχυσης D_M για τις δύο συστάσεις κινητών φάσεων όπως υπολογίστηκαν βάσει της εξίσωσης Wilke-Chang¹¹⁰ δίνονται στον Πίνακα 9.

$$D_{A,B} (\text{cm}^2/\text{sec}) = 7.4 \times 10^{-8} \frac{\sqrt{\psi_B MW_B T}}{\eta_B V_A^{0.6}} \quad (36)$$

Όπου $D_{A,B}$ ο συντελεστής διάχυσης της ουσίας B στον διαλύτη A, MW_B το μοριακό βάρος της ουσίας B, T η θερμοκρασία, V_A ο μοριακός όγκος του διαλύτη A και ψ_B μία σταθερά που εκφράζει την αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων A και B.

Λόγω της πολύ μικρής διαφοράς μεταξύ των τιμών για τις δύο συστάσεις διαλύματος, στις προσομοιώσεις έχει χρησιμοποιηθεί, χάριν απλοστευσης, ο μέσος όρος των δύο τιμών (κοινή τιμή για κάθε σύσταση κινητής φάσης).

Πίνακας 9: Συντελεστής Μοριακής Διάχυσης των 4 αναλυτών για τις δύο συστάσεις κινητής φάσης

D_M (m^2/sec)	Sodium Benzoate	Acetaminophen	Propylparaben	Napthalene
H₂O/ACN:90/10	$9.96 \cdot 10^{-10}$	$8.74 \cdot 10^{-10}$	$7.09 \cdot 10^{-10}$	$9.18 \cdot 10^{-10}$
H₂O/ACN:80/20	$9.91 \cdot 10^{-10}$	$8.70 \cdot 10^{-10}$	$7.06 \cdot 10^{-10}$	$9.13 \cdot 10^{-10}$
Μέσος Όρος	$9.94 \cdot 10^{-10}$	$8.72 \cdot 10^{-10}$	$7.08 \cdot 10^{-10}$	$9.16 \cdot 10^{-10}$

Τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα αφορούν σε χρόνους έκλουσης των 4 αναλυτών. Για την προσομοίωση των αντιδράσεων προσρόφησης-εκρόφησης δεν έχει χρησιμοποιηθεί η εξίσωση (3) αλλά μια πιο απλουστευμένη μορφή αυτής (εξίσωση 27). Για την εξαγωγή των σταθερών K ($:=k_a/k_d$) όσο και για την πρόβλεψη των χρόνων t_R , ο κάθε αναλύτης προσομοιώνεται ξεχωριστά από τους άλλους.

Βάσει της μελέτης της επίδρασης της απόλυτης τιμής των σταθερών k_a και k_d , όπως αναλύθηκε στην παράγραφο 4.4.2, σε όλες τις προσομοιώσεις έχει χρησιμοποιηθεί η τιμή $k_a=10^6 \text{sec}^{-1}$. Η σταθερά k_d υπολογίζεται έμμεσα από την εκτίμηση της σταθεράς αντίδρασης K ($:=k_a/k_d$). Η σταθερά K αποτελεί και την βασική παράμετρο στα πλαίσια του πρώτου κύκλου προσομοιώσεων. Στον δεύτερο κύκλο προσομοιώσεων γίνεται χρήση αυτών των τιμών της σταθεράς K για την εξαγωγή των χρόνων t_R .

4.6 Αποτελέσματα Προσομοιώσεων

4.6.1 Επίλυση Αντίστροφου Προβλήματος για Εξαγωγή Σταθερών Αντιδράσεων

Από τα πειράματα χρωματογραφίας 4 αναλυτών σε διάλυμα κινητής φάσης H₂O/ACN δύο διαφορετικών συστάσεων σε στήλη με ρομβοειδής κίονες που είχαν εκτελεστεί από την Τσουγένη²⁸, οι χρόνοι έκλουσης των ουσιών συνοψίζονται στον Πίνακα 10 κατωτέρω.

Πίνακας 10: Αποτελέσματα πειραμάτων χρωματογραφίας²⁸

Elution Time (sec)	90/10			80/20		
Flow Rate (μL/min)	0.5	1	2	0.5	1	2
Mobile Phase	606	292	140	606	292	140
Sodium Benzoate	996	495	156	654	328	147
Acetaminophen	1406	710	342	785	416	
Propylparaben	1725	880	456	1062	627	248
Napthalene	3258	2506	826	2085	1083	510

Οι τιμές αυτές αφορούν στον χρόνο έκλουσης για το σύνολο της χρησιμοποιούμενης διάταξης και όχι μόνο της υπό εξέταση ψηφίδας. Ωστόσο οι μηχανισμοί, που αφορούν στην συγκράτηση των ουσιών από τη στάσιμη φάση λαμβάνουν χώρα μόνο εντός της ψηφίδας και όχι εντός των σωληνώσεων της χρησιμοποιούμενης συνδεσμολογίας.

Με σκοπό την εκτίμηση του χρόνου κίνησης εντός της ψηφίδας, έγινε προσομοίωση ροής για τις 3 τιμές αυτής, θεωρώντας μηδενικές συνθήκες συγκράτησης ($k_a=k_d=0$), στη γεωμετρία της ψηφίδας (Εικόνα 52.α) και σε γεωμετρία (παραπλήσια με αυτήν που χρησιμοποιήθηκε για την αναλυτική επαλήθευση του μοντέλου – Εικόνα 51) που αντιστοιχεί στις χρησιμοποιούμενες σωληνώσεις.

Από τις προσομοιώσεις αυτές εξήχθη η ταχύτητα κίνησης της κινητής φάσης εντός της ψηφίδας και κατά μήκος σωληνώσεων εσωτερικής διαμέτρου 200μm²⁸. Αφαιρώντας από τον συνολικό χρόνο έκλουσης της κινητής φάσης (1η σειρά Πίνακα 10) τον χρόνο παραμονής εντός της ψηφίδας προέκυψε ο χρόνος κίνησης εντός των σωληνώσεων της χρησιμοποιούμενης συνδεσμολογίας²⁸.

Καθώς κατά μήκος των σωληνώσεων δεν έχουμε αντιδράσεις προσρόφησης-εκρόφησης, οι χρόνοι παραμονής όλων των ουσιών θα είναι ίδιοι. Με το σκεπτικό αυτό, οι τιμές του Πίνακα 10 είναι δυνατόν να αναλυθούν περαιτέρω ως εξής:

Πίνακας 11: Αποτελέσματα πειραμάτων χρωματογραφίας $t_R=t_{tubes}+t_{chip}$ ²⁸

Elution Time (sec)	90/10						80/20					
	0.5		1		2		0.5		1		2	
Mobile Phase		12		6		3		12		6		3
Sodium Benzoate		402		209		19		60		42		10
Acetaminophen	594+	812	286+	424	137+	205	594+	191	286+	130	137+	
Propylparaben		1131		594		319		468		341		111
Napthalene		2664		2220		689		1491		797		373

Ουσιαστικά οι τιμές του Πίνακα 10 έχουν αναλυθεί ως αθροίσματα του χρόνου παραμονής εντός των σωληνώσεων και του χρόνου παραμονής εντός της ψηφίδας. Εντός των σωληνώσεων δεν έχουμε αλληλεπίδραση των αναλυτών με τα τοιχώματα, οπότε ο χρόνος παραμονής είναι κοινός για όλες τις ουσίες και ανεξάρτητος της σύστασης της κινητής φάσης. Εξαρτάται όμως από την τιμή της ροής. Όπως προκύπτει και από τον Πίνακα 11 για ροές 0.5, 1 και 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ ο χρόνος παραμονής εντός των σωληνώσεων εκτιμάται ότι είναι ίσος με 594, 286 και 137 sec αντίστοιχα. Ο δεύτερος όρος των αθροισμάτων του Πίνακα 11 αποτελεί τον εκτιμώμενο χρόνο παραμονής εντός της ψηφίδας για κάθε σύσταση κινητής φάσης, κάθε τιμή ροής και κάθε αναλύτη.

Απομονώνοντας την ροή της κινητής φάσης και των αναλυτών μόνο εντός της ψηφίδας η σταθερά συγκράτησης k' υπολογίζεται, βάσει της εξίσωσης (37):

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (37)$$

Για παράδειγμα για αναλύτη την Acetaminophen σε κινητή φάση σύστασης $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:90/10$ και ροή $1\mu\text{L}/\text{min}$ η σταθερά συγκράτησης ισούται με:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{424 - 6}{6} \left(= \frac{423.67 - 5.67}{5.67} \right) = \frac{418}{6} \approx 73.65$$

Ακολουθώντας την ίδια διαδικασία για όλες τις ουσίες, για κάθε ροή και σύσταση κινητής φάσης προκύπτουν οι τιμές του Πίνακα 12 κατωτέρω. Επισημαίνεται ότι στους Πίνακες 10 και 11 δίνονται στρογγυλοποιημένοι οι χρόνοι στον πλησιέστερο ακέραιο. Στον Πίνακα 12 οι τιμές του k' έχουν προκύψει χρησιμοποιώντας τις ακριβείς τιμές με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων.

Πίνακας 12: Αποτελέσματα πειραμάτων χρωματογραφίας k'

Retention Factor k'	90/10			80/20		
	0.5	1	2	0.5	1	2
Mobile Phase	0	0	0	0	0	0
Sodium Benzoate	33.85	35.77	5.83	4.17	6.34	2.55
Acetaminophen	69.44	73.65	73.59	15.54	21.85	
Propylparaben	97.13	103.61	115.11	39.58	59.03	39.34
Napthalene	230.20	390.12	249.90	128.38	139.38	134.79

Παρατηρούμε ότι η σταθερά k' έχει παραπλήσιες τιμές για κάθε ουσία και σύσταση κινητής φάσης ανεξαρτήτως της ροής. Ωστόσο υπάρχουν κάποιες αποκλίσεις, οι οποίες επισημαίνονται με σκίαση στον Πίνακα 12 και δύναται να αποδοθούν σε αστάθμητους παράγοντες κατά την εκτέλεση των πειραμάτων.

Για παράδειγμα για κινητή φάση σύστασης H₂O/ACN:90/10 και αναλύτη την ουσία Sodium Benzoate, η τιμή $k'=5.83$ για ροή 2 μL/min διαφέρει σημαντικά από τις τιμές 33.85 και 35.77 για ροές 0.5 και 1 μL/min αντίστοιχα. Ομοίως για κινητή φάση σύστασης H₂O/ACN:80/20 και αναλύτη την ουσία Propylparaben η τιμή $k'=59.03$ για ροή 1μL/min αποκλίνει σημαντικά από τις τιμές της k' για τις άλλες δύο ροές. Οι τιμές αυτές που παρουσιάζουν τέτοια απόκλιση δεν λαμβάνονται υπόψη στα πλαίσια εξαγωγής των σταθερών αντίδρασης K μέσω προσομοιώσεων, όπως αναλύεται κατωτέρω.

Έχοντας ορίσει τις ιδιότητες της κινητής φάσης (πυκνότητα - ρ , ιξώδες - η) βάσει του Πίνακα 8 και των αναλυτών (συντελεστής διάχυσης - D) βάσει του Πίνακα 9, οι μόνες παράμετροι που απομένει να ορισθούν για την προσομοίωση των τεσσάρων αναλυτών είναι οι σταθερές k_a και k_d . Όπως είδαμε και στην παράγραφο 4.5.3, η σταθερά k_a ορίζεται ίση με 10^6 sec^{-1} , ενώ η σταθερά k_d ορίζεται μέσω της σταθεράς αντίδρασης K . Επομένως προκειμένου να επιτύχουμε προσομοίωση των πειραμάτων χρωματογραφίας των αναλυτών, αναζητούμε τις τιμές της σταθεράς K για τις οποίες ο υπολογιστικός χρόνος έκλουσης προσεγγίζει ικανοποιητικά τον πειραματικό χρόνο έκλουσης.

Εκτελώντας διαδοχικές προσομοιώσεις για διάφορες τιμές της σταθεράς αντίδρασης K σε περιοχή 2×10 στοιχειωδών κελιών έγινε υπολογισμός της ταχύτητας κίνησης u_{comp} του κάθε αναλύτη, μέσω της ταχύτητας κίνησης ενός παλμού κατανομής Gauss που προσομοιώνει την εκάστοτε ουσία. Μολονότι η περιοχή προσομοίωσης είναι 202 φορές μικρότερη του συνολικού μήκους της χρωματογραφικής στήλης στη διεύθυνση της ροής (§4.4.1 ανωτέρω), η ταχύτητα κίνησης του αναλύτη παραμένει σταθερή κατά μήκος της στήλης οπότε ο συνολικός χρόνος παραμονής εντός της ψηφίδας υπολογίζεται ως:

$$t_{chip} = \frac{l_{column}}{u_{comp}} = \frac{40\text{mm}}{u_{comp}}$$

Προσθέτοντας τον χρόνο κίνησης εντός των σωληνώσεων t_{tubes} προκύπτει ο συνολικός χρόνος έκλουσης βάσει υπολογισμών, που θα συμβολίζουμε ως t_{comp_R} . Συγκρίνοντας τους συνολικούς χρόνους, πειραματικούς t_{exp_R} και υπολογιστικούς t_{comp_R} , έγινε επιλογή των τιμών της σταθεράς K για τις οποίες το ποσοστό σφάλματος μεταξύ t_{comp_R} και t_{exp_R} γίνεται ελάχιστο. Αναλυτικά τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων για εξαγωγή των σταθερών K δίνονται στο Παράρτημα Β.

Μέρος των αναλυτικών αποτελεσμάτων του Παραρτήματος Β δίνεται στη συνέχεια ως παράδειγμα. Συγκεκριμένα πρόκειται για συνθήκες που προσομοιώνουν κινητή φάση σύστασης H₂O/ACN:90/10 και αναλύτη Sodium Benzoate.

Ορίζοντας στην προσομοίωση σταθερά $K=20$ το ποσοστό σφάλματος για ροή 0.5μL/min είναι αρκετά υψηλό (κατά απόλυτη τιμή). Αυξάνοντας διαδοχικά με βήμα 2.5 μονάδων και επαναλαμβάνοντας την προσομοίωση, παρατηρούμε ότι για $K=47.5$ το σφάλμα γίνεται αμελητέο ($\varepsilon=0.2\%$), ενώ αυξάνει για ακόμη μεγαλύτερες τιμές της σταθεράς αντίδρασης. Εκτελώντας προσομοιώσεις για ροή 1μL/min, για $K=47.5$ είναι $\varepsilon=-2.8\%<3\%$ και για $K=50$ είναι $\varepsilon=-1.2\%$. Για προσομοιώσεις ροής 2μL/min, για τιμές σταθεράς K από 45 έως 50, το ποσοστό σφάλματος κρίνεται ως μη αποδεκτό. Ωστόσο όπως είδαμε ανωτέρω η πειραματική τιμή k' (Πίνακας 12) αποκλίνει σημαντικά για τις συγκεκριμένες συνθήκες, οπότε επιλέγουμε να μην λάβουμε υπόψη τις συγκεκριμένες τιμές.

Ως βέλτιστη τιμή σταθεράς για την προσομοίωση του αναλύτη Sodium Benzoate σε κινητή φάση H₂O/ACN:90/10 επιλέγουμε το 47.5, καθώς για τις ροές 0.5 και 1 μL/min το σφάλμα κρίνεται ως αποδεκτό ($\varepsilon<3\%$) και μικρότερο κατά μέσο όρο απόλυτης τιμής ($\varepsilon_{\text{average}}=1.5\%$) από τις αντίστοιχες τιμές σφάλματος ορίζοντας σταθερά $K=50$ (όπου $\varepsilon_{\text{average}}=1.75\%$).

Κινητή Φάση	Ροή (μL/min)	Αναλύτης	Σταθερά	U_{comp} (mm/sec)	t_{chip} (sec)	t_{tubes} (sec)	t_{comp_R} (sec)	t_{exp_R} (sec)	σφάλμα (%)
90/10	0.5	SB	20	0.226	177	594	771	996	-22.6%
90/10	0.5	SB	22.5	0.2023	198	594	792	996	-20.5%
90/10	0.5	SB	25	0.1829	219	594	813	996	-18.4%
90/10	0.5	SB	32.5	0.1427	280	594	874	996	-12.2%
90/10	0.5	SB	35	0.1329	301	594	895	996	-10.1%
90/10	0.5	SB	37.5	0.1244	322	594	916	996	-8.1%
90/10	0.5	SB	45	0.1042	384	594	978	996	-1.8%
90/10	0.5	SB	47.5	0.0989	404	594	998	996	0.2%
90/10	0.5	SB	50	0.0941	425	594	1019	996	2.3%
90/10	1	SB	45	0.2102	190	286	476	495	-3.8%
90/10	1	SB	47.5	0.2049	195	286	481	495	-2.8%
90/10	1	SB	50	0.1968	203	286	489	495	-1.2%
90/10	2	SB	45	0.4297	93	137	230	156	47.5%
90/10	2	SB	47.5	0.4124	97	137	234	156	50.0%
90/10	2	SB	50	0.3975	101	137	238	156	52.3%

Με αντίστοιχο τρόπο έγινε η επιλογή των τιμών των σταθερών K για κάθε αναλύτη και σύσταση κινητής φάσης. Οι επιλεχθείσες τιμές δίνονται στον Πίνακα 13. Στον ίδιο πίνακα δίνεται η εκτιμώμενη μέση σταθερά συγκράτησης k' . Πρόκειται για τον μέσο όρο των σταθερών συγκράτησης του Πίνακα 12 εξαιρώντας τις τιμές υπό σκίαση. Για κάθε σύσταση κινητής φάσης δίνεται ο λόγος μεταξύ των δύο σταθερών. Παρατηρούμε ότι ο λόγος K/k' ισούται κατά μέσο όρο με 1.41.

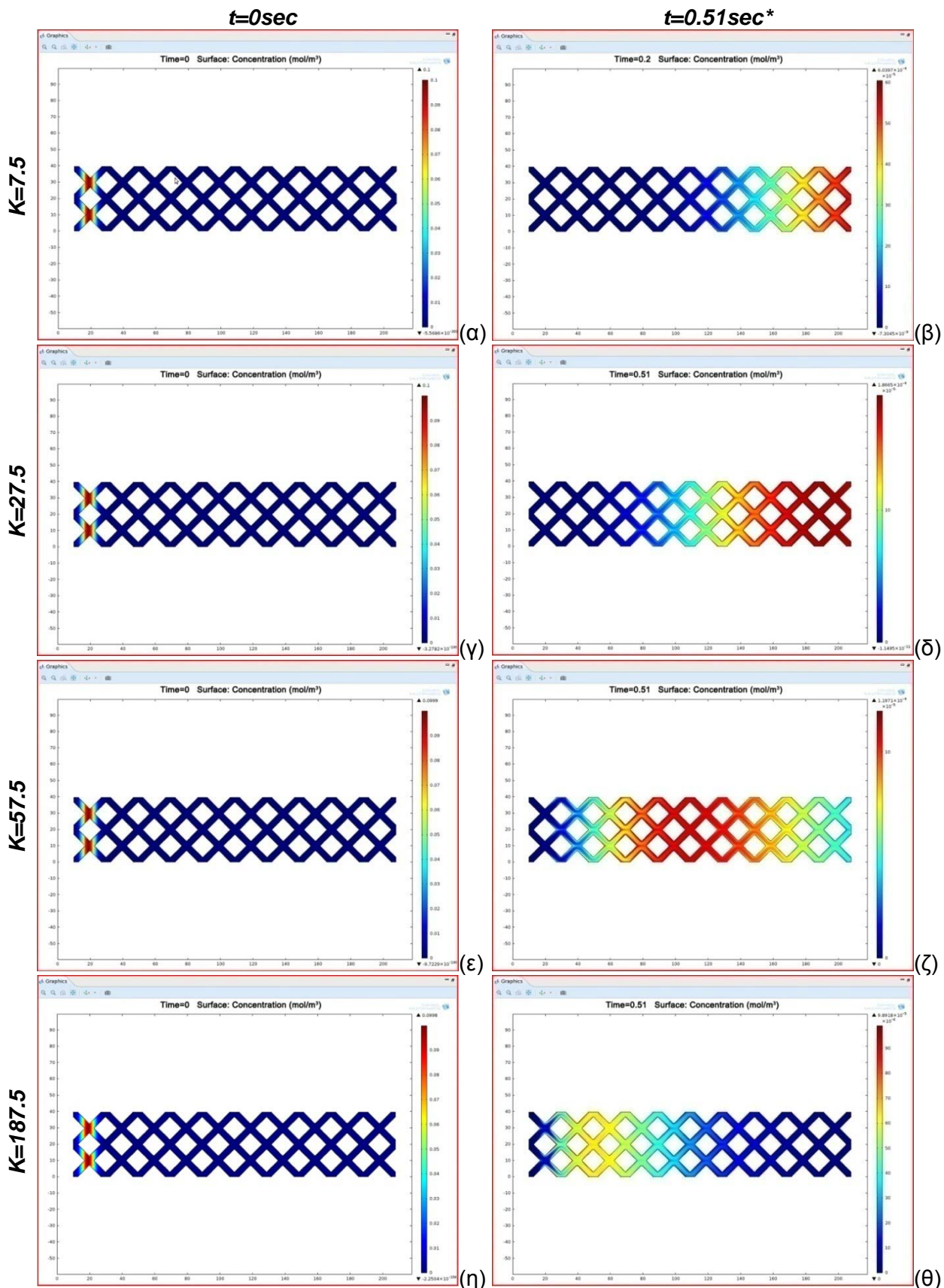
Πίνακας 13: Σύγκριση εκτιμώμενων σταθερών αντίδρασης K και πειραματικών σταθερών συγκράτησης k'

	90/10			80/20		
	K	k'	K/k'	K	k'	K/k'
Sodium Benzoate	47.5	34.8	1.36	7.5	5.3	1.43
Acetaminophen	102.5	72.2	1.42	27.5	18.7	1.47
Propylparaben	142.5	105.3	1.38	57.5	39.5	1.46
Napthalene	335	240.1	1.40	187.5	134.2	1.40

Στην Εικόνα 53 δίνονται στιγμιότυπα από τις προσομοιώσεις. Οι παράμετροι αντιστοιχούν σε συνθήκες ροής $Q_s=1\mu\text{L}/\text{min}$ και διάλυμα κινητής φάσης $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:80/20$. Κινώμεν ϕ από την πρώτη σειρά προς τα κάτω οι σταθερές αντίδρασης αντιστοιχούν σε τιμές $K=7.5, 27.5, 57.5$ και 187.5 , προσομοιώνοντας αντίστοιχα τις ουσίες Sodium Benzoate, Acetaminophen, Propylparaben και Napthalene. Στην αριστερή στήλη όλα τα στιγμιότυπα αντιστοιχούν σε χρονική στιγμή $t=0\text{sec}$ (εισαγωγή του παλμού του αναλύτη). Στη δεξιά στήλη αντιστοιχούν σε χρονική στιγμή $t=0.51\text{sec}$ εκτός από την πρώτη σειρά όπου ισχύει $t=0.2\text{sec}$, καθώς σε υψηλότερη τιμή ο παλμός θα είχε απομακρυνθεί από την περιοχή προσομοίωσης.

Καθώς κινούμαστε προς τα κάτω παρατηρούμε ότι μετά από χρόνο t η θέση του παλμού παρουσιάζει μεγαλύτερη υστέρηση, δηλαδή η ταχύτητα κίνησης είναι μικρότερη δίνοντας δηλαδή μεγαλύτερο χρόνο έκλουσης t_{chip} , παρατήρηση που ποιοτικά ταυτίζεται με τα πειραματικά δεδομένα.

Επισημαίνεται ότι για τις ανάγκες της προσομοίωσης, η εισαγωγή του αναλύτη στην περιοχή προσομοίωσης (άρα και την χρωματογραφική στήλη) γίνεται με την χρήση παλμού κατανομής Gauss με τυπική απόκλιση $3\mu\text{m}$. Επομένως η προσομοιούμενη ποσότητα είναι πολύ μικρότερη των 300nL που είχε αναφερθεί πειραματικά²⁸. Η ποσότητα των 300nL είναι μεγαλύτερη του συνολικού όγκου της πειραματικά χρησιμοποιούμενης χρωματογραφικής στήλης (260 nL) γεγονός που συνεπάγεται πιθανή *υπερφόρτωση* του συστήματος. Παρόλα αυτά η εφαρμοζόμενη μεθοδολογία προσομοίωσης αποτελεί συνήθης τακτική (κατά την βιβλιογραφία) καθώς και αναγκαία πρακτική για την εκτίμηση της ταχύτητας κίνησης του αναλύτη εντός της προσομοιούμενης περιοχής.



Εικόνα 53: Στιγμιότυπα προσομοιώσεων για $Q_c=1\mu\text{L}/\text{min}$ και διάλυμα $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:80/20$. (α)-(β) προσομοίωση Sodium Benzoate, (γ)-(δ) προσομοίωση Acetaminophen, (ε)-(ζ) προσομοίωση Propylparaben και (η)-(θ) προσομοίωση Naphthalene (*για $K=7.5$ είναι $t=0.2 \text{ sec}$)

4.6.2 Χρήση Εξαγόμενων Σταθερών για Εκτίμηση Αποτελεσμάτων Αναλύσεων

Έχοντας εξάγει τις σταθερές αντιδράσεις K , προσομοιώνοντας τις πειραματικές συνθήκες χρωματογραφίας 4 αναλυτών σε διάλυμα H_2O/ACN δύο διαφορετικών συστάσεων σε στήλη από πολυμερές COP με ρομβοειδής μικρο-κίονες, εκτελέστηκαν νέες προσομοιώσεις με χρήση των σταθερών αυτών για πρόβλεψη της συμπεριφοράς χρωματογραφικών διατάξεων από COP με κυλινδρικούς όμως μικρο-κίονες, που κατασκευάστηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας

Θεωρώντας τη γεωμετρία της Εικόνας 52.β και τηρώντας τις παραδοχές της παραγράφου 4.5.3 εκτελέστηκαν προσομοιώσεις κίνησης των 4 αναλυτών εντός της χρωματογραφικής στήλης για 2 διαφορετικές συστάσεις κινητής φάσης και 3 τιμές ροής.

Βάσει των αποτελεσμάτων, υπολογίστηκε αρχικά η ταχύτητα κίνησης U_{comp} των αναλυτών εντός της περιοχής προσομοίωσης. Με αναγωγή στο συνολικό μήκος της στήλης (4cm) έγινε εκτίμηση του χρόνου έκλουσης της κάθε ουσίας t_{chip} . Στον Πίνακα 14 δίνονται οι χρόνοι παραμονής των αναλυτών εντός της ψηφίδας.

Πίνακας 14: Εκτιμώμενος χρόνος παραμονής αναλυτών εντός της ψηφίδας t_{chip}

Chip Time (sec)	90/10			80/20		
Flow Rate ($\mu L/min$)	0.5	1	2	0.5	1	2
Mobile Phase	21	11	5	21	11	5
Sodium Benzoate	810	404	202	146	73	37
Acetaminophen	1717	849	429	478	239	120
Propylparaben	2410	1212	606	976	488	244
Napthalene	5556	2759	1356	3125	1544	762

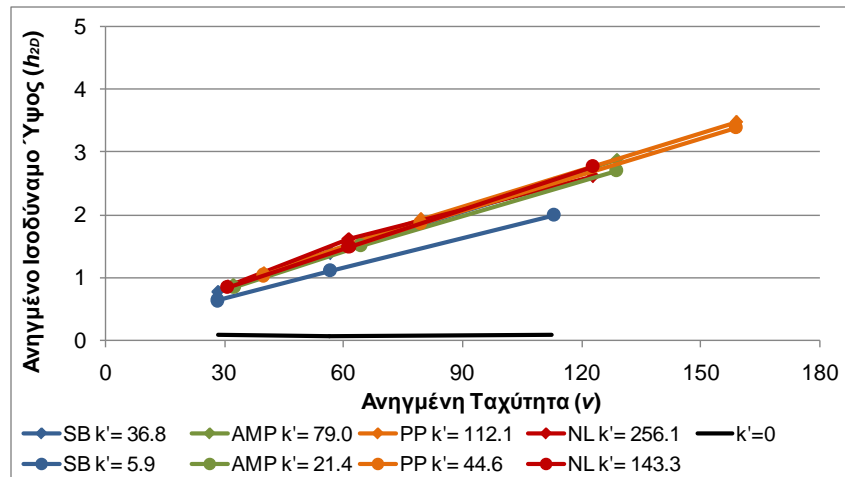
Βάσει των τιμών αυτών είναι δυνατόν να υπολογιστεί από την εξίσωση (6) η σταθερά συγκράτησης k'_{comp} . Η τιμή της σταθεράς αυτής και η συσχέτισή της με τις χρησιμοποιούμενες σταθερές αντίδρασης K δίνονται στον Πίνακα 15. Παρατηρούμε ότι ο λόγος K/k' μειώθηκε τώρα (κατά μέσο όρο) στο 1.29.

Πίνακας 15: Σύγκριση εκτιμώμενων σταθερών αντίδρασης K και υπολογισμένων σταθερών συγκράτησης k'

	90/10			80/20		
	K	k'	K/k'	K	k'	K/k'
Sodium Benzoate	47.50	36.81	1.29	7.5	5.86	1.28
Acetaminophen	102.50	78.98	1.30	27.5	21.37	1.29
Propylparaben	142.50	112.12	1.27	57.5	44.60	1.29
Napthalene	335.00	256.09	1.31	187.5	143.34	1.31

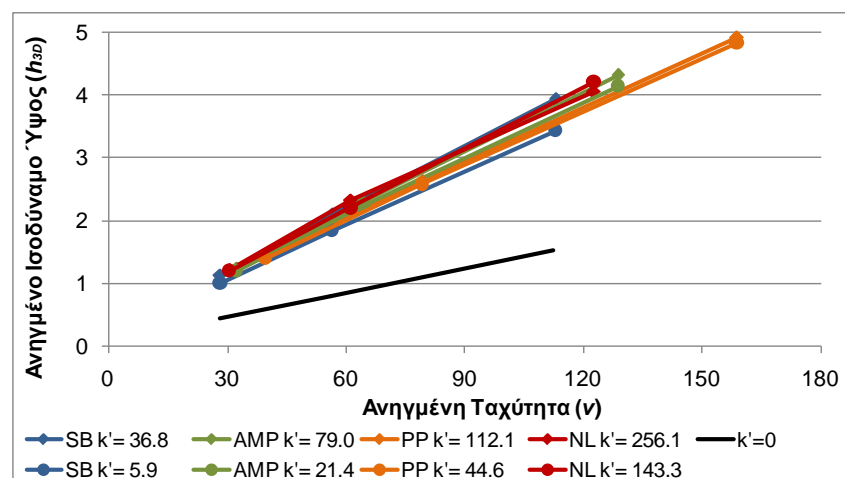
Μέσω των προσομοιώσεων υπολογίστηκε και το ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h_{2D} , χρησιμοποιώντας ως χαρακτηριστικό μήκος την ονομαστική διάμετρο των

κίωνων $d_p=15\mu\text{m}$. Στο Διάγραμμα 7 δίνεται γραφική παράσταση των ανηγμένων μεγεθών ισοδύναμο ύψος h_{2D} προς ταχύτητα v . Από την κλίση των καμπύλων προκύπτει ότι για τις 3 ροές κινητής φάσης βρισκόμαστε στην περιοχή των καμπύλων van Deemter όπου επικρατεί η συναγωγή (επικράτηση όρου C). Από συνθήκες μηδενικής συγκράτησης $k'=0$ μέχρι και $k'=21.4$, το ισοδύναμο ύψος, για την ίδια ταχύτητα v , αυξάνει. Για μεγαλύτερες τιμές σταθεράς k' , το h δείχνει να είναι ανεξάρτητο της σταθεράς αυτής.



Διάγραμμα 7: Γραφική παράσταση ανηγμένου ισοδύναμου ύψους h_{2D} προς ανηγμένη ταχύτητα v για διάφορες τιμές σταθεράς συγκράτησης k'

Κατόπιν προσθήκης του όρου $H_{tb}=(2K_{aris}d^2/D_M)u$ στο ισοδύναμο ύψος H όπως το τελευταίο προέκυψε από τις προσομοιώσεις σε περιβάλλον 2-D, είναι δυνατόν να υπολογισθεί το ισοδύναμο ύψος H_{3D} το οποίο κατόπιν αναγωγής σε h_{3D} δίνει τις γραφικές παραστάσεις του Διαγράμματος 8 συναρτήσει της ανηγμένης ταχύτητας v . Όπως προκύπτει από το διάγραμμα, για τις τιμές της σταθεράς k' για τους συγκεκριμένους αναλύτες όλες οι καμπύλες βρίσκονται πάρα πολύ κοντά, σχεδόν συμπίπτουν.

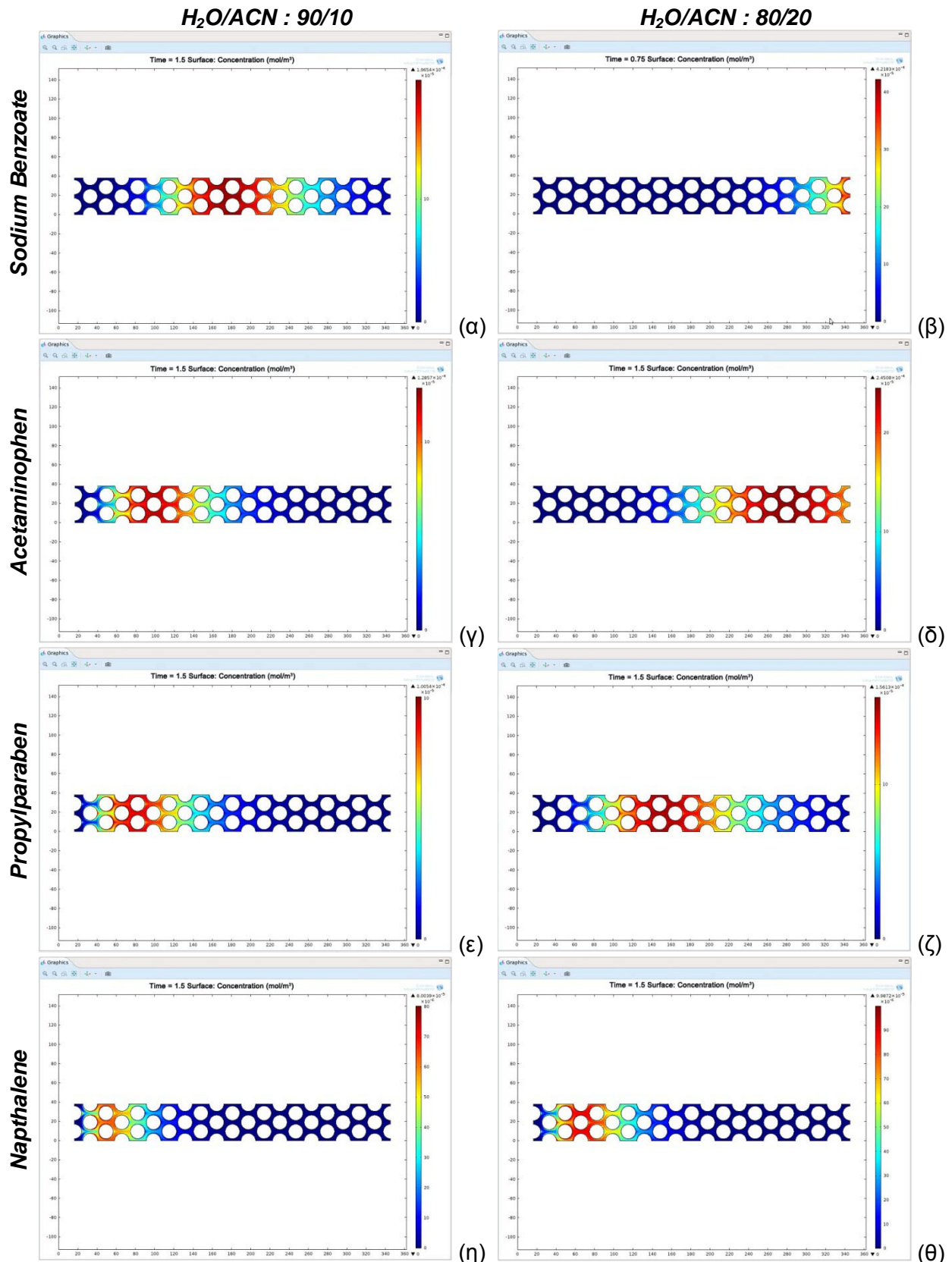


Διάγραμμα 8: Γραφική παράσταση ανηγμένου ισοδύναμου ύψους h_{3D} προς ανηγμένη ταχύτητα v για διάφορες τιμές σταθεράς συγκράτησης k'

Από τις γραφικές παραστάσεις είτε για γεωμετρία 2-D είτε κατόπιν αναγωγής σε τιμές 3-D γεωμετρίας, η βέλτιστη ταχύτητα u για την οποία έχουμε την μικρότερη δυνατή διεύρυνση παλμού H φαίνεται να προκύπτει για τιμές ροής μικρότερες των 0.5μL/min.

Στην Εικόνα 54 δίνονται στιγμιότυπα από τις προσομοιώσεις. Οι παράμετροι προσομοίωσης αντιστοιχούν σε συνθήκες ροής $Q_0=1\mu\text{L}/\text{min}$ στα δύο διαλύματα της κινητής φάσης. Κινούμενοι από πάνω προς τα κάτω προσομοιώνονται οι ουσίες Sodium Benzoate, Acetaminophen, Propylparaben και Naphthalene. Όλα τα στιγμιότυπα αντιστοιχούν σε χρόνο $t=1.5\text{sec}$ εκτός από την περίπτωση του Sodium Benzoate για διάλυμα 80/20 όπου είναι $t=0.75\text{sec}$ καθώς σε μεγαλύτερο χρόνο ο αναλύτης θα έχει εξέλθει του προσομοιούμενου πεδίου.

Στον ίδιο χρόνο οι πιο πολικές ουσίες (Sodium Benzoate) κινούνται με μεγαλύτερη ταχύτητα καθώς ο παλμός βρίσκεται πιο δεξιά των αντίστοιχων λιγότερο πολικών ουσιών. Παράλληλα συγκρίνοντας τα δύο διαλύματα, παρατηρούμε ότι αυξάνοντας την οργανική ένωση έχουμε ταχύτερη έκλυση.



Εικόνα 54: Στιγμιότυπα προσομοιώσεων για $Q_d=1\mu L/min$ (α)-(β) προσομοίωση Sodium Benzoate, (γ)-(δ) προσομοίωση Acetaminophen, (ε)-(ζ) προσομοίωση Propylparaben και (η)-(θ) προσομοίωση Napthalene (σε όλες τις περιπτώσεις $t=1.5sec$, για Sodium Benzoate σε $H_2O/ACN:80/20$ είναι $t=0.75sec$)

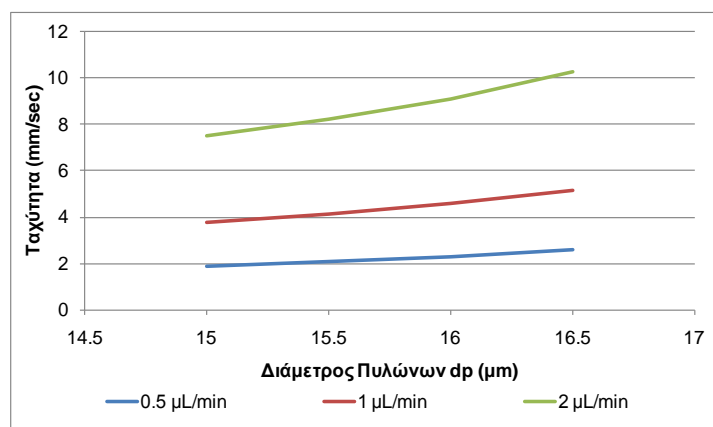
Μελέτη Επίδρασης της Διαμέτρου d_p

Καθώς όπως είδαμε και στην παράγραφο 3.6, η διάμετρος των μικρο-κίωνων στην τελική διάταξη διαφέρει από την ονομαστική τιμή των $d_p=15\mu\text{m}$, όλες οι προσομοιώσεις επαναλήφθησαν για 4 διαφορετικές τιμές διαμέτρου ($d_p=15, 15.5, 16, 16.5 \mu\text{m}$). Κατέστη έτσι δυνατό να μελετηθεί η επίδραση της απόκλισης των διαστάσεων των δομών που προκύπτει από τις κατασκευαστικές ανοχές.

Πίνακας 16: Χαρακτηριστικές Διαστάσεις Προσομοιούμενων Χρωματογραφικών Στηλών

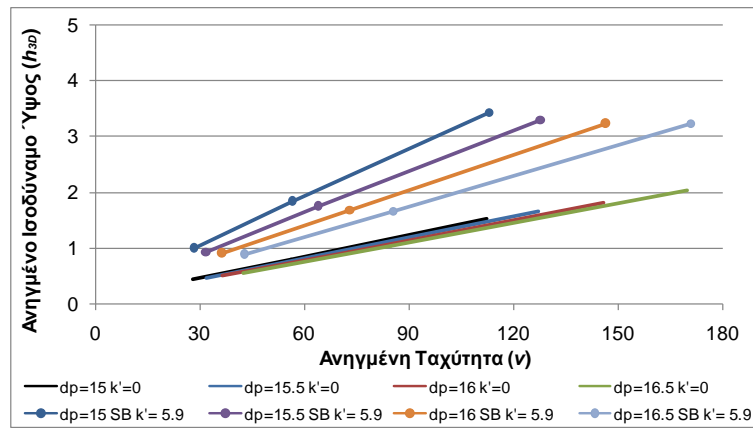
d_p (μm)	15	15.5	16	16.5
d_i (μm)	4	3.5	3	2.5

Στο Διάγραμμα 9 δίνεται η μεταβολή της ταχύτητας της κινητής φάσης συναρτήσει της διαμέτρου των πυλώνων d_p για τις 3 τιμές ροής. Καθώς αυξάνει η διάμετρος d_p , μειώνεται αντίστοιχα η απόσταση d_i , οπότε σύμφωνα και με την αρχή διατήρησης της μάζας η ταχύτητα αυξάνει. Σε υψηλότερες τιμές ροής ο ρυθμός αύξησης είναι επίσης μεγαλύτερος



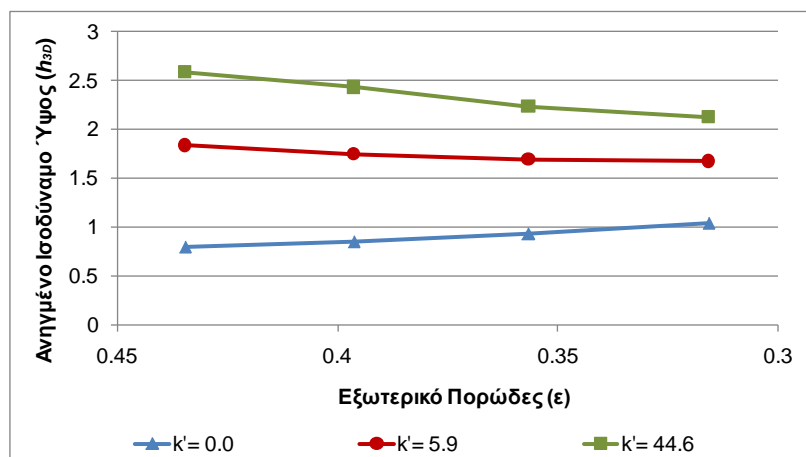
Διάγραμμα 9: Μεταβολή της ταχύτητας κινητής φάσης

Το ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h συναρτήσει της διαμέτρου d_p παρουσιάζεται για τις περιπτώσεις με $k'=0$ και $k'=5.9$ που αντιστοιχεί στην περίπτωση της αλληλεπίδρασης αναλύτη Sodium Benzoate σε διάλυμα $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}:80/20$ (Διάγραμμα 10). Παρατηρούμε ότι για συνθήκες μη συγκράτησης η μεταβολή της διαμέτρου των κίωνων έχει ανεπαίσθητη επίδραση στη διεύρυνση του προσομοιούμενου παλμού. Αντίθετα για συνθήκες όπου $k'>0$, με αύξηση της διαμέτρου d_p έχουμε μετατόπιση προς τα δεξιά καθώς έχουμε αύξηση της ταχύτητας. Παράλληλα όμως έχουμε και μικρή μείωση του ισοδύναμου ύψους h .



Διάγραμμα 10: Ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h_{3D} προς ανηγμένη ταχύτητα v για διάφορες τιμές διαμέτρου d_p

Η μεταβολή του ισοδύναμου ύψους h αποδίδεται συναρτήσει του εξωτερικού πορώδους ϵ στο Διάγραμμα 11. Καθώς αύξηση της διαμέτρου d_p συνεπάγεται μείωση του πορώδους, ο άξονας των τεταγμένων του διαγράμματος δίνεται σε αντίστροφη σειρά (φθίνουσα) για το πορώδες για να συμφωνεί με την αύξουσα σειρά της διαμέτρου d_p . Καθώς μειώνεται το πορώδες από 0.43 σε 0.31 το ισοδύναμο ύψος σε συνθήκες μηδενικής συγκράτησης αυξάνεται. Σε συνθήκες όπου $k' > 0$ παρουσιάζει μικρή μείωση γεγονός που συνάδει και με προηγούμενες πειραματικές παρατηρήσεις⁵¹.



Διάγραμμα 11: Ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h_{3D} συναρτήσει του εξωτερικού πορώδους ϵ

Αναλυτικά τα αποτελέσματα για το σύνολο των προσομοιώσεων όσον αφορά τους χρόνους έκλουσης σε επίπεδο ψηφίδας και σε επίπεδο συνολικής διάταξης δίνονται στο Παράρτημα Γ.

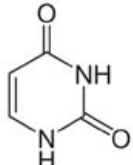
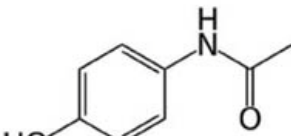
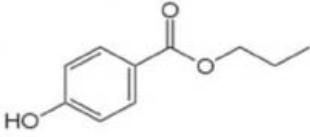
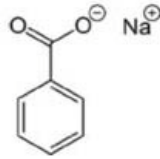
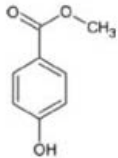
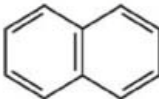
5 Χρωματογραφικοί Διαχωρισμοί

5.1 Εισαγωγή

Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφεται η διαδικασία χρωματογραφικής ανάλυσης με χρήση της ψηφίδας που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της παρούσης εργασίας. Σκοπός της ανάλυσης αυτής είναι η πιστοποίηση της διαχωριστικής ικανότητας της συγκεκριμένης ψηφίδας και κυριότερα η επαλήθευση των προβλέψεων των υπολογισμών του προηγούμενου κεφαλαίου ως προς τους χρόνους έκλουσης. Για τον σκοπό αυτό ως αναλύτες χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες ουσίες που είχαν χρησιμοποιηθεί και από την Τσουγένη²⁸ καθώς και το ίδιο μείγμα και σύσταση κινητής φάσης.

5.2 Χρησιμοποιούμενα Αναλώσιμα

Οι χημικές ουσίες δίνονται στον πίνακα της Εικόνας 55. Στον ίδιο πίνακα δίνεται και χαρακτηρισμός της πολικότητας της κάθε ουσίας. Η ουσία Methylparaben δεν έχει χρησιμοποιηθεί στα πλαίσια των υπολογιστικών προσομοιώσεων καθώς δεν υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία λόγω του ότι υπήρχε αλληλεπικάλυψή της με την Acetaminophen για την χρωματογραφική στήλη που είχε χρησιμοποιήσει η Τσουγένη²⁸. Η ουσία Uracil, καθώς δεν αλληλεπιδρά με την συγκεκριμένη στάσιμη φάση, χρησιμοποιήθηκε ως αναλύτης για τον προσδιορισμό του χρόνου αναφοράς (t_0) και τον υπολογισμό των σταθερών συγκράτησης (k').

Non-Retained	Polar	Medium polarity
 Uracil	 2. Acetaminophen	 4. Propylparaben
Polar	Medium polarity	Non-polar
 1. Sodium benzoate	 3. Methylparaben	 5. Naphthalene

Εικόνα 55: Χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση χρωματογραφικής ανάλυσης.

Σε πρώτο χρόνο όλες οι ουσίες διαλύθηκαν σε καθαρό ακετονιτρίλιο μέχρι επίτευξης συγκέντρωσης 10^{-2} M. Αναλυτικά οι διαλυόμενες ποσότητες δίνονται στον

Πίνακα 17. Για επίτευξη συγκέντρωσης 100μM έγινε περαιτέρω αραιώση των διαλυμάτων σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο σχηματίστηκε διάλυμα από 90μL κινητής φάσης, όπως δίνεται κατωτέρω, και 10μL διαλύματος συγκέντρωσης 10⁻²M προς επίτευξη συγκέντρωσης 10⁻³M. Με προσθήκη 10μL του τελευταίου διαλύματος, επίσης, σε 90μL κινητής φάσης είχαμε σχηματισμό διαλύματος συγκέντρωσης 10⁻⁴M.

Πίνακας 17: Χρησιμοποιούμενες ποσότητες αναλυτών

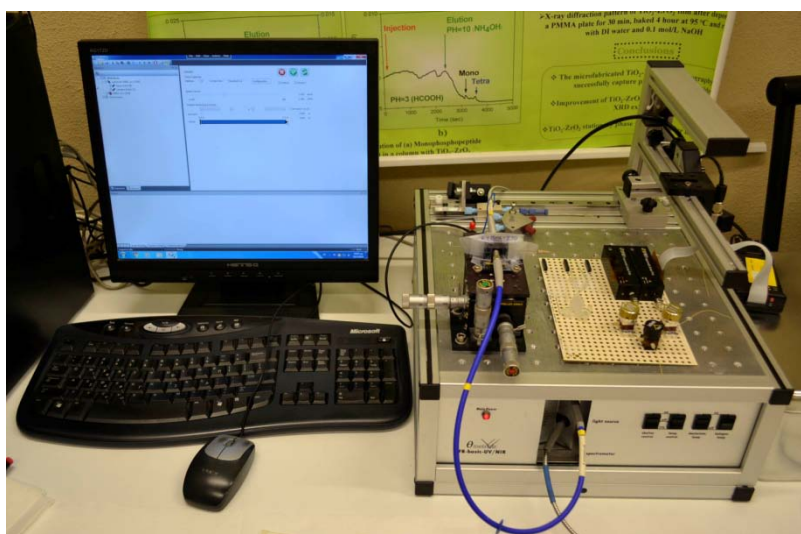
Ουσία	mgr σε 5mL ACN
Uracil	5.6
Sodium Benzoate	7.2
Acetaminophen	7.56
Methylparaben	7.6
Propylparaben	9.0
Napthalene	6.4

Για την κινητή φάση έγινε ανάμειξη ακετονιτριλίου και απιονισμένου νερού για HPLC, προμήθειας από την Sigma-Aldrich. Συγκεκριμένα έγινε ανάμειξη 36mL H₂O με 4mL ACN για σχηματισμό 40mL κινητής φάσης H₂O/ACN:90/10 και 32mL H₂O με 8mL ACN για σχηματισμό 40mL κινητής φάσης H₂O/ACN:80/20.

5.3 Εκτέλεση Πειραμάτων Χρωματογραφίας

5.3.1 Περιγραφή Διάταξης

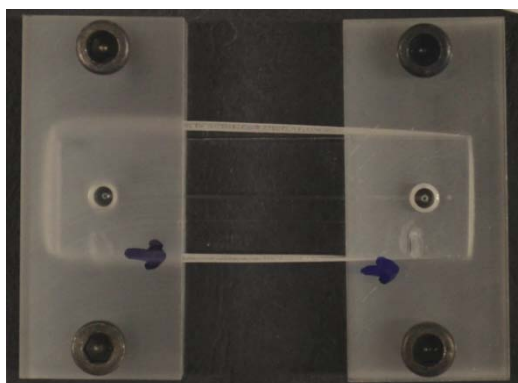
Για την εκτέλεση των πειραμάτων χρωματογραφίας χρησιμοποιήθηκε η διάταξη που εικονίζεται στην Εικόνα 56. Δύο μικροαντλίες της Labsmith Inc. δημιουργούν την απαραίτητη ροή κινητής φάσης και αναλυτών. Μέσω βαλβίδων ελέγχεται η εισαγωγή του παλμού του αναλύτη στην ροή της κινητής φάσης.



Εικόνα 56: Χρησιμοποιούμενος εξοπλισμός για εκτέλεση πειραμάτων χρωματογραφίας

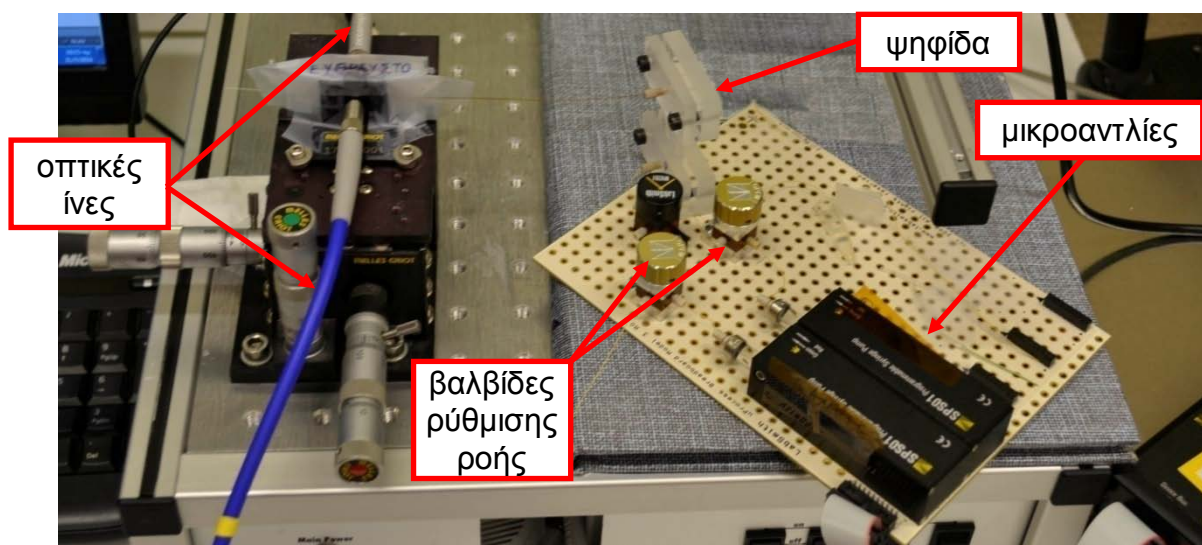
Δύο οπτικές ίνες σε ευθυγράμμιση χρησιμοποιούνται για την μεταφορά του παραγόμενου φωτός (λάμπα δευτερίου) και την ανίχνευση της μη απορροφούμενης ποσότητας. Τόσο η κίνηση των μικροαντλιών για τη δημιουργία της ροής όσο και ο υπολογισμός της απορρόφησης γίνεται μέσω λογισμικού σε Η/Υ.

Η ψηφίδα της χρωματογραφικής στήλης τοποθετήθηκε μεταξύ πλακιδίων από PMMA με σκοπό την στήριξη των σωληνώσεων της συνδεσμολογίας για την είσοδο και έξοδο του ρευστού από αυτήν (Εικόνα 57).



Εικόνα 57: Συγκράτηση της ψηφίδας COP μεταξύ πλακιδίων PMMA

Συνολικά η χρησιμοποιούμενη διάταξη και η εφαρμοζόμενη συνδεσμολογία δίνονται στην Εικόνα 58. Κάθε μικροαντλία είναι συνδεδεμένη με μία βαλβίδα ρύθμισης ροής (χρυσάφι χρώμα κεφαλής στην Εικόνα 58). Η βαλβίδα αυτή χρησιμοποιείται για την επιλογή μεταξύ πλήρωσης-εκκένωσης της μικροαντλίας και προώθησης του ρευστού στην κεντρική βαλβίδα (μαύρο χρώμα κεφαλής στην Εικόνα 58). Η μία μικροαντλία περιέχει τον αναλύτη στην επιθυμητή συγκέντρωση και η άλλη την κινητή φάση.



Εικόνα 58: Χρησιμοποιούμενη διάταξη για εκτέλεση πειραμάτων χρωματογραφίας

Κατά τη διάρκεια εκτέλεσης των αναλύσεων οι βαλβίδες που είναι συνδεδεμένες με τις μικροαντλίες κατευθύνουν την ροή προς την κεντρική βαλβίδα. Η τελευταία έχει

δύο εισόδους και μία έξοδο, οπότε γίνεται επιλογή είτε του αναλύτη είτε της κινητής φάσης. Η έξοδος της κεντρικής βαλβίδας συνδέεται στην είσοδο της ψηφίδας. Σε όλες τις ανωτέρω συνδέσεις έχουν χρησιμοποιηθεί σωληνώσεις από PEEK εξωτερικής διαμέτρου 360μm και εσωτερικής διαμέτρου 150μm.

Στην έξοδο της ψηφίδας συνδέεται σωλήνωση από quartz, η οποία διέρχεται μεταξύ των οπτικών ινών μεταφοράς και ανίχνευσης του φωτός. Η επιλογή της συγκεκριμένης σωληνωσης έγινε λόγω της οπτικής καθαρότητας του υλικού με σκοπό την μείωση των απωλαών κατά την ανίχνευση. Η εξωτερική διάμετρος της είναι 360μm και η εσωτερική διάμετρος 250μm ενώ το μήκος από την έξοδο της ψηφίδας μέχρι το σημείο ανίχνευσης είναι 15cm.

5.3.2 Διαδικασία Εκτέλεσης Πειραμάτων

Αρχικά εκτελέστηκαν διαδοχικές διελεύσεις κινητής φάσης και παλμών όλων των αναλυτών χωρίς την παρεμβολή της χρωματογραφικής στήλης στην συνδεσμολογία. Το στάδιο αυτό αποσκοπεί στην μέτρηση του χρόνου έκλουσης για την χρησιμοποιούμενη διάταξη.

Κατόπιν εκτελέστηκαν διελεύσεις κινητής φάσης και παλμών όλων των αναλυτών με χρήση της χρωματογραφικής στήλης. Με τον τρόπο αυτόν υπολογίστηκε ο συνολικός χρόνος έκλουσης. Αφαιρώντας τους δύο αυτούς χρόνους είναι δυνατό να προκύψει ο χρόνος έκλουσης t_R για την χρησιμοποιούμενη χρωματογραφική στήλη. Οι μετρηθείσες τιμές αποτέλεσαν την βάση για την αξιολόγηση της διαχωριστικής ικανότητας της στήλης καθώς και των αποτελεσμάτων της υπολογιστικής μελέτης.

Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση του χρόνου είναι η ακόλουθη:

α. διέλευση κινητής φάσης από την όλη συνδεσμολογία μέχρι ομαλοποίησης της ροής

β. στιγμιαία παύση της ροής κινητής φάσης, αλλαγή θέσης της κεντρικής βαλβίδας και εισαγωγή του παλμού του αναλύτη στην ίδια τιμή ροής

γ. ταυτόχρονος ορισμός του εναρκτήριου χρόνου εισόδου του παλμού

δ. αλλαγή θέσης της κεντρικής βαλβίδας και επανεκκίνηση της ροής της κινητής φάσης με το πέρασμα εισόδου του παλμού του αναλύτη

ε. καταγραφή του φάσματος έντασης φωτός και μετατροπή σε χρωματογράμμα (απορρόφηση συναρτήσει του χρόνου)

στ. υπολογισμός του χρόνου έκλουσης t_R ως ο χρόνος που μεσολάβησε μεταξύ της κορυφής της κατανομής του αναλύτη, όπως προκύπτει από το

χρωματογράμμα, και του μέσου χρόνου που απαιτήθηκε για την εισαγωγή του παλμού στην ροή.

5.3.3 Αποτελέσματα Πειραμάτων Χρωματογραφίας

Εφαρμόζοντας τη διαδικασία που περιγράφεται στην προηγούμενη παράγραφο, προέκυψε ότι ο χρόνος που απαιτείται για έναν παλμό να διασχίσει τη χρησιμοποιούμενη διάταξη χωρίς παρεμβολή στήλης από την κεντρική βαλβίδα μέχρι το σημείο ανίχνευσης είναι κατά μέσο όρο ίσος με 243sec. Αναλυτικά οι χρόνοι για κάθε ουσία, για διάφορους όγκους παλμού αναλύτη δίνονται στον Πίνακα 18. Οι χρόνοι αυτοί αφορούν σε διελεύσεις ουσιών με χρήση κινητής φάσης H₂O/ACN:90/10 και ροή 2μL/min. Αναλυτικότερα τα χρωματογράμματα δίνονται στο Παράρτημα Δ.

Πίνακας 18: Χρόνος διέλευσης παλμών αναλυτών από τη διάταξη χωρίς παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης

Αναλύτης	Όγκος Παλμού (nL)					
	50	100	150	200	350	500
Uracil	246	240	245		243	
Sodium Benzoate	235	239	244	242	246	
AcetaMinoPhen	239	242	239		245	
PropylParaben	239	239	252		244	
Napthalene						252

Παρατηρούμε ότι ο χρόνος είναι ίδιος για όλες τις ουσίες, κάτι που είναι λογικό καθώς δεν αναμένουμε συγκράτηση των ουσιών κατά τη διέλευσή τους από τις χρησιμοποιούμενες σωληνώσεις. Ομοίως οι χρόνοι είναι ανεξάρτητοι από τον όγκο των παλμών. Οι όποιες διαφοροποιήσεις δύναται να αποδοθούν στην εκτελούμενη διαδικασία η οποία δεν εκτελείται αυτοματοποιημένα.

Εφαρμόζοντας την ίδια διαδικασία για το σύνολο των ουσιών, εκτελέστηκαν πειράματα με σκοπό την μέτρηση του χρόνου διέλευσης αυτών από την διάταξη παρεμβάλλοντας την χρωματογραφική στήλη που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της παρούσης εργασίας. Αναλυτικά οι χρόνοι διέλευσης και τα χρωματογράμματα δίνονται στο Παράρτημα Δ.

Για τις μετρήσεις αυτές εκλέχθηκαν διελεύσεις όλων των ουσιών για διαφορετικούς όγκους παλμών. Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε είναι η ίδια σε όλες τις περιπτώσεις και αφορά σε σύσταση H₂O/ACN:90/10. Η ροή της κινητής φάσης ισούται με 2μL/min.

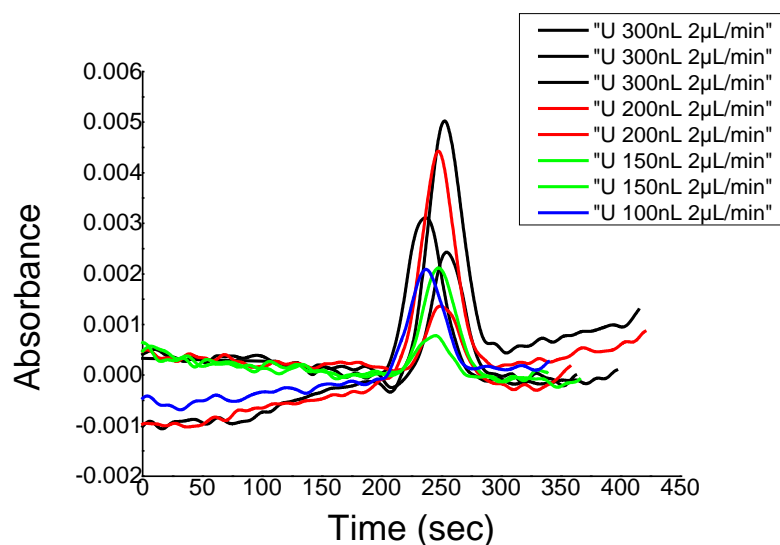
Οι Μέσοι Όροι των χρόνων διέλευσης για το σύνολο της διάταξης δίνονται στον Πίνακα 19. Στον πίνακα δίνονται για κάθε ουσία ο Μέσος Όρος των χρόνων διέλευσης για συγκεκριμένο όγκο παλμού αναλύτη ενώ στην τελευταία στήλη δίνεται ο Μέσος Όρος για το σύνολο των πειραμάτων ανά χρησιμοποιούμενη ουσία.

Πίνακας 19: Χρόνοι διέλευσης ουσιών για την χρησιμοποιούμενη πειραματική διάταξη με παρεμβολή της χρωματογραφικής στήλης.

Αναλύτης	Όγκος Αναλύτη (nL)				chip A	chip B	M.O.
	100	150	200	300			
Uracil	241	245	243	243	243	242	243
Sodium Benzoate	250		234	256		248	248
AcetaMinoPhen	242	241	241	245	244	240	243
MethylParaben	297	316	292	281	318	265	291
PropylParaben	294	245	314	251	320	243	286
Napthalene		408	308	303	362	242	322

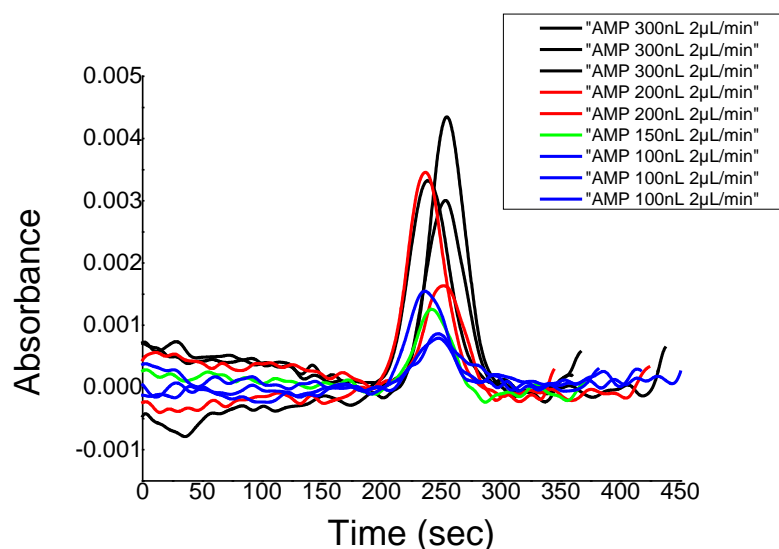
Τα ανωτέρω αποτελέσματα αφορούν σε διελεύσεις διαμέσου 2 διαφορετικών χρωματογραφικών στηλών. Όπως προκύπτει από τον ανωτέρω πίνακα οι χρόνοι έκλουσης των έξι ουσιών βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους. Ειδικότερα για τις ουσίες Uracil, Sodium Benzoate και Acetaminophen οι μέσοι όροι των χρόνων σχεδόν ταυτίζονται μεταξύ τους.

Στην Εικόνα 59 δίνονται τα χρωματογράμματα για τις διελεύσεις της ουσίας Uracil διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών. Παρατηρούμε ότι οι χρόνοι έκλουσης είναι ανεξάρτητοι του όγκου του αναλύτη.



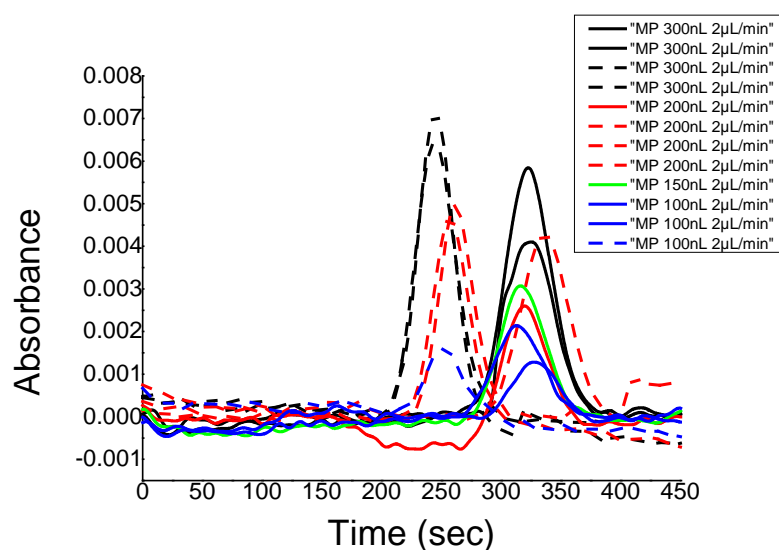
Εικόνα 59: Χρωματογράμματα διέλευσης Uracil διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση H₂O/ACN:90/10, ροή 2μL/min)

Στην Εικόνα 60 δίνεται το αντίστοιχο χρωματογράμμα για την ουσία Acetaminophen. Παρατηρούμε ότι ομοίως οι χρόνοι έκλουσης είναι ανεξάρτητοι του όγκου του αναλύτη. Ωστόσο δεν παρατηρείται διαφοροποίηση των χρόνων αυτών σε σχέση με τους αντίστοιχους χρόνους της Uracil.



Εικόνα 60: Χρωματογράμματα διέλευσης Acetaminophen διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση H₂O/ACN:90/10, ροή 2μL/min)

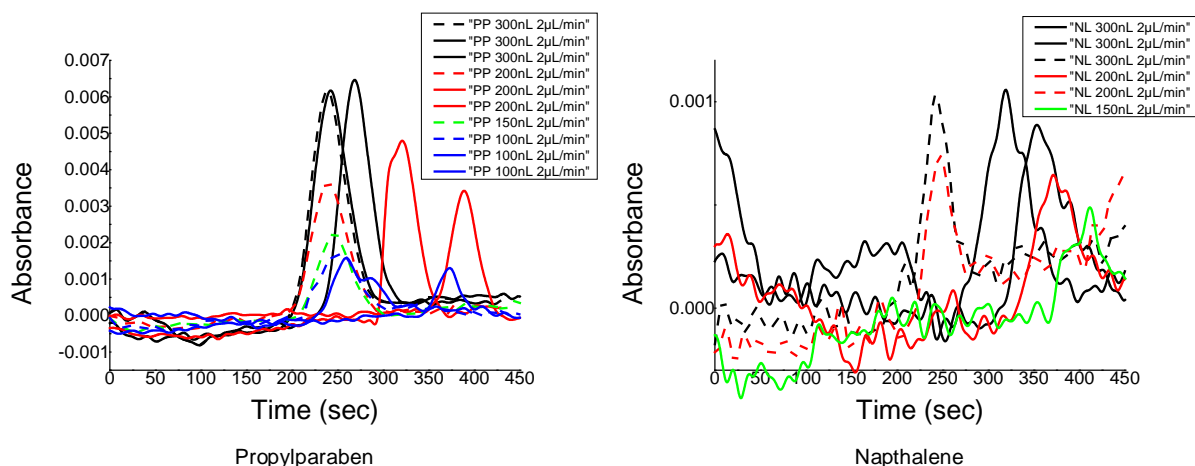
Στην Εικόνα 61 δίνονται ομοίως χρωματογράμματα για την ουσία Methylparaben. Παρατηρούμε ότι οι καμπύλες των παλμών παρουσιάζουν συγκέντρωση γύρω από δύο διαφορετικές τιμές χρόνων έκλουσης. Η πρώτη τιμή βρίσκεται κοντά στην τιμή των 250sec, τιμή που βρίσκεται πολύ κοντά στους χρόνους των Uracil, Sodium Benzoate και Acetaminophen.



Εικόνα 61: Χρωματογράμματα διέλευσης Methylparaben διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση H₂O/ACN:90/10, ροή 2μL/min). Διακεκομμένες γραμμές: chip A, κανονικές γραμμές: chip B.

Η δεύτερη τιμή βρίσκεται κοντά στα 320sec και παρατηρείται για το σύνολο των διελεύσεων διαμέσου της μίας εκ των δύο στηλών. Το γεγονός αυτό επιδεικνύει ότι

για τη συγκεκριμένη στήλη ο διαχωρισμός μεταξύ της ουσίας Methylparaben και π.χ. της Uracil είναι εφικτός.



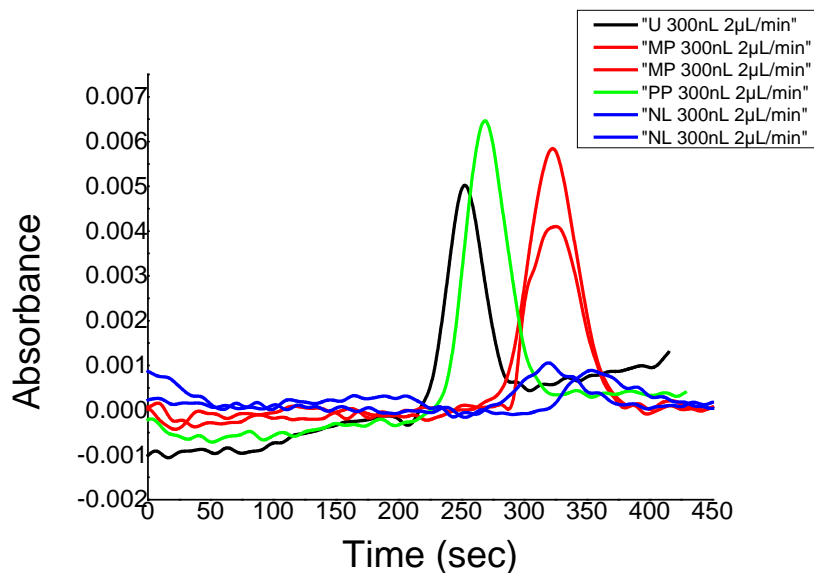
Εικόνα 62: Χρωματογράμματα διέλευσης Propylparaben και Napthalene διαμέσου των χρωματογραφικών στηλών (κινητή φάση H₂O/ACN:90/10, ροή 2μL/min). Διακεκομμένες γραμμές: chip A, κανονικές γραμμές: chip B.

Αντίστοιχες παρατηρήσεις μπορούν να γίνουν στα χρωματογράμματα των ουσιών Propylparaben και Napthalene. Και στις δύο ουσίες υπάρχουν παλμοί που απαντούν σε διελεύσεις διαμέσου της μίας εκ των δύο ψηφίδων (διακεκομμένες γραμμές) οι οποίες βρίσκονται πολύ κοντά στην τιμή των 250sec.

Ωστόσο οι διελεύσεις διαμέσου της έτερης ψηφίδας να μην δεν παρουσιάζουν ικανοποιητική σύγκλιση γύρω από μία τιμή αλλά παράλληλα επιδεικνύουν την τάση για έκλυση σε διαφορετικούς χρόνους από την τιμή των 250sec άρα και την τάση για διαχωρισμό από τις προαναφερθείσες ουσίες (Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen).

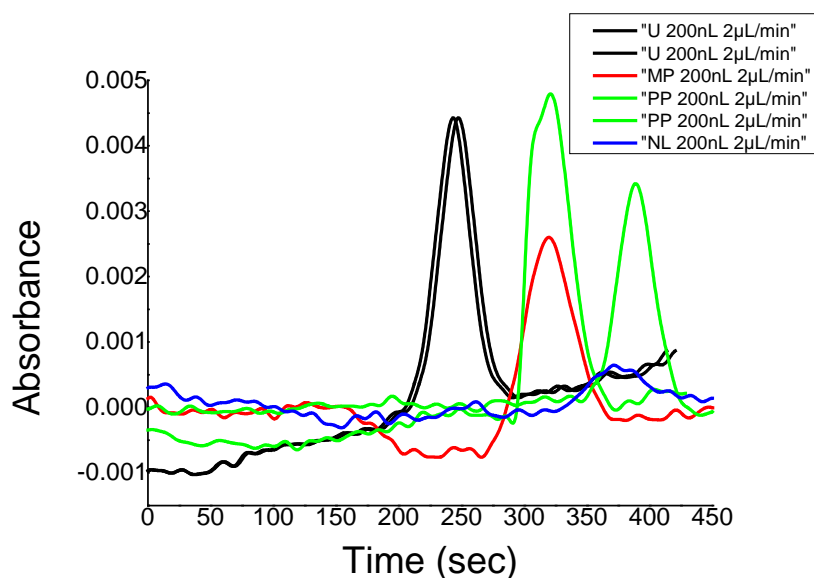
Στις Εικόνες 63 έως 65 δίνονται χρωματογράμματα των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Napthalene για όγκους αναλύτη 300nL, 200nL και 100nL αντίστοιχα. Ουσιαστικά πρόκειται για υπέρθεση των αντίστοιχων χρωματογραμμάτων της εκάστοτε ουσίας για διελεύσεις της ίδιας ποσότητας αναλύτη.

Για ποσότητες αναλύτη ίσες με 300nL (Εικόνα 63) παρατηρούμε ότι οι χρόνοι έκλυσης των ουσιών Uracil και Propylparaben βρίσκονται πολύ κοντά μεταξύ τους όπως επίσης και οι χρόνοι έκλυσης των ουσιών Methylparaben και Napthalene. Η κορυφή του Napthalene δεν είναι ευδιάκριτη. Ωστόσο οι ουσίες Uracil και Methylparaben παρουσιάζουν κορυφές οι οποίες είναι διακριτές μεταξύ τους, γεγονός που επιδεικνύει τη δυναμική για διαχωρισμό των δύο αυτών ουσιών στις δεδομένες συνθήκες.



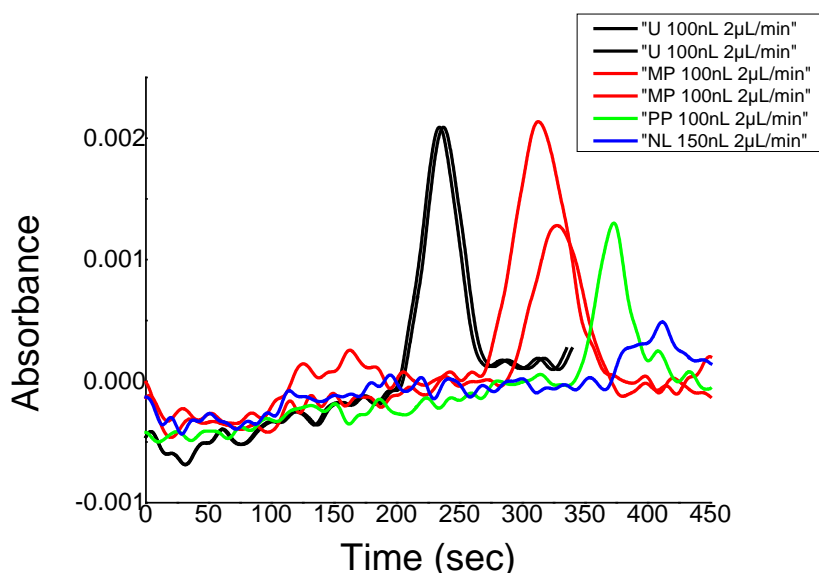
Εικόνα 63: Υπέρθεση χρωματογραμμάτων των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Naphthalene για παλμούς όγκου 300nL ($H_2O/ACN:90/10$, $2\mu L/min$).

Για ποσότητα παλμού αναλύτη ίση με 200nL, οι ουσίες Uracil και Methylparaben εμφανίζουν και πάλι σαφή τάση διαχωρισμού. Ο παλμός της ουσίας Naphthalene εμφανίζεται επίσης να ξεχωρίζει από την καταγραφή της Methylparaben. Ωστόσο ο διαχωρισμός της ουσίας Propylparaben και πάλι δεν είναι εφικτός.



Εικόνα 64: Υπέρθεση χρωματογραμμάτων των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Naphthalene για παλμούς όγκου 200nL ($H_2O/ACN:90/10$, $2\mu L/min$).

Τέλος για ποσότητες παλμού αναλύτη της τάξης των 100nL, αρχίζει να διαφαίνεται δυνατότητα σαφούς διαχωρισμού και των τεσσάρων προβαλλόμενων ουσιών.



Εικόνα 65: Υπέρθυση χρωματογραμμάτων των ουσιών Uracil, Methylparaben, Propylparaben και Naphthalene για παλμούς όγκου 100nL (H₂O/ACN:90/10, 2μL/min).

Παρατηρούμε επομένως ότι καθώς μικραίνει ο όγκος του εκχυόμενου εντός της στήλης αναλύτη, η αλληλεπίδραση αυτού με την σταθερή φάση είναι πιο «αποτελεσματική» καθώς διαφορετικές ουσίες εμφανίζουν χρόνους έκλουσης ώστε να είναι εφικτός ο μεταξύ τους διαχωρισμός.

Τα ανωτέρω αποτελέσματα επιδεικνύουν τη δυνατότητα χρήσης της κατασκευασθείσας στήλης ως στήλης για εκτέλεση χρωματογραφικών αναλύσεων ανάστροφης φάσης (Reversed Phase Liquid Chromatography).

Ωστόσο η μη ικανοποιητική επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων καθιστά αναγκαία την περαιτέρω διερεύνηση πιθανών αιτιών στην όλη κατασκευαστική διαδικασία με σκοπό την εξάλειψη των παραμέτρων που έχουν σαν συνέπεια αποκλίνουσες τάσεις των μετρούμενων μεγεθών (χρόνους έκλουσης). Για τον λόγο αυτό τα πειράματα των αναλύσεων περιορίστηκαν σε μία μόνο σύσταση κινητής φάσης και μία τιμή ροής αυτής, με αποτέλεσμα την έλλειψη ικανού αριθμού τιμών για αξιολόγηση των συμπερασμάτων της υπολογιστικής μελέτης.

6 Σχολιασμός

6.1 Κατασκευή Καναλιού

Στα πλαίσια της παρούσης διπλωματικής εργασίας επιδιώχθηκε η κατασκευή μικροχρωματογραφικής στήλης σε υπόστρωμα πολυμερούς COP πάχους 2mm με χρήση της τεχνικής της αποτύπωσης εν Θερμώ (Hot Embossing). Η τεχνική αυτή έχει εφαρμοστεί εκτενώς για κατασκευή μικρορευστονικών καναλιών τετραγωνικής διατομής σε υποστρώματα διαφόρων τάξεων (από μερικές εκατοντάδες μm σε μερικά χιλιοστά) καθώς και για αποτύπωση μικροδομών σε υποστρώματα πάχους μικρότερου του 0.5mm. Ωστόσο είναι η πρώτη φορά που επιτυγχάνεται αποτύπωση μικροδομών σε παχύ υπόστρωμα.

Καθοριστικός παράγοντας στη διαδικασία της αποτύπωσης ήταν η εφαρμογή διαφορετικής θερμοκρασίας μεταξύ των δύο επιφανειών του υποστρώματος και συγκεκριμένα εφαρμογή θερμοκρασίας $T > T_g$ στην πλευρά όπου επιθυμούμε να σχηματίσουμε τις δομές. Με τον τρόπο αυτό ήταν εφικτή η μετάβαση του πολυμερούς σε πιο ρευστή κατάσταση με σκοπό την πλήρωση των κενών της σφραγίδας. Στην αντίθετη πλευρά εφαρμόστηκε θερμοκρασία $T < T_g$.

Με τον τρόπο αυτό επετεύχθη ο περιορισμός της παραμόρφωσης του δοκιμίου στο ελάχιστο δυνατό, γεγονός που καθιστά δυνατή την περαιτέρω χρήση του για χρωματογραφική ανάλυση κατόπιν στεγανοποίησής του, αλλά και ο πλήρης σχηματισμός των επιθυμητών δομών.

Η ανωτέρω τεχνική αποδείχθηκε επιτυχής για το σύνολο των καναλιών όπως παρουσιάζονται στις Εικόνες 27 και 28. Μέσω βελτιστοποίησης των συνθηκών αποτύπωσης για τον χρησιμοποιούμενο εξοπλισμό αυτές συνοψίζονται στον κάτωθι πίνακα.

Πίνακας 20: Συνθήκες Αποτύπωσης εν Θερμώ COP με σφραγίδα Si

	Στήλη μήκους 4cm	Στήλη μήκους 6cm
$T_{emboss}=T_{master-side}$	166°C	166°C
$T_{deemboss}=T_{flat-side}$	110°C	115°C
P_{max}	12.5MPa	12.5MPa
t	30min	30min

Εξίσου σημαντική παράμετρος ήταν και η θερμοκρασία απομάκρυνσης του δοκιμίου από την σφραγίδα. Λόγω της μηχανικής αλληλεπίδρασης δύο υλικών με πολύ μεγάλη διαφορά στον Συντελεστή Θερμικής Διαστολή (CTE) η επιλογή χαμηλής θερμοκρασίας οδηγούσε σε ανάπτυξη τάσεων τόσο στις δομές του καναλιού όσο και στα τοιχώματα των δύο άκρων με συνέπεια το σπάσιμο των δομών εντός της

σφραγίδας. Αντίθετα η επιλογή υψηλότερης θερμοκρασίας (κοντά στο T_g) οδηγούσε σε παραμόρφωση των ακμών των δομών στο στάδιο της απομάκρυνσης του δοκιμίου από την σφραγίδα. Μέσω βελτιστοποίησης της συγκεκριμένης παραμέτρου αυτή επελέχθη να είναι ίση με 110°C για τα κανάλια μήκους 4cm και 115°C για τα κανάλια μήκους 6cm.

Έχοντας ολοκληρώσει το στάδιο της κατασκευής της χρωματογραφικής στήλης, για την στεγανοποίησή της έγινε χρήση λεπτού φύλλου (πάχους $188\mu\text{m}$) από το ίδιο υλικό με χρήση της θερμικής μεθόδου. Προς αποφυγή τυχόν προβλημάτων επιπεδότητας αντί της θερμικής πρέσας έγινε χρήση συσκευής πλαστικοποίησης φωτοπολυμερούς. Το κυριότερο πλεονέκτημα της συγκεκριμένης συσκευής είναι η συνδυασμένη εφαρμογή της θερμοκρασίας και της πίεσης μέσω τυμπάνων από ελαστική σιλικόνη. Καθώς όμως η επαφή του δοκιμίου με τα τύμπανα είναι γραμμική, όπως αυτό κινείται διαμέσου των τυμπάνων, απαιτήθηκε η εφαρμογή διαδικασίας πολλαπλών περασμάτων με σκοπό του να προσδωθεί ο απαιτούμενος χρόνος για την επίτευξη συγκόλλησης και ικανοποιητικής στεγανοποίησης. Επισημαίνεται ότι με την τεχνική των πολλαπλών περασμάτων επετεύχθη συγκόλληση των δύο μερών, φιλμ και υποστρώματος, σε θερμοκρασία 130°C μικρότερη της T_g ($=136^\circ\text{C}$), γεγονός που οδήγησε σε ελαχιστοποίηση της παραμόρφωσης των δομών της στήλης κατά τη διαδικασία της στεγανοποίησης.

6.2 Υπολογιστική Μελέτη της Χρωματογραφικής Στήλης

Για την μελέτη της συμπεριφοράς της κατασκευασθείσας στήλης έγινε προσομοίωση της ροής με χρήση προγράμματος πεπερασμένων στοιχείων. Για την εκτίμηση της αλληλεπίδρασης της στάσιμης φάσης με συγκεκριμένες χημικές ουσίες χρησιμοποιήθηκαν πειραματικά αποτελέσματα χρωματογραφικών αναλύσεων σε ψηφίδα κατασκευασμένη από το ίδιο υλικό υποστρώματος²⁸ που ήταν διαθέσιμα στη βιβλιογραφία.

Έχοντας πιστοποιήσει την καταλληλότητα του λογισμικού και του χρησιμοποιούμενου μοντέλου μέσω συγκρίσεων με αναλυτικές λύσεις, εκτελέστηκαν διαδοχικές προσομοιώσεις ροής κινητής φάσης και αναλυτών διαμέσου της γεωμετρίας στάσιμης φάσης που είχε χρησιμοποιηθεί στα πειράματα χρωματογραφίας από τα οποία αντλήθηκαν τα δεδομένα. Μοναδική παράμετρος ήταν η σταθερά αλληλεπίδρασης K_D των αναλυτών με την κινητή και την στάσιμη φάση. Για τον ορισμό των τιμών της σταθεράς αλληλεπίδρασης K_D έγινε επιλογή των τιμών εκείνων για τις οποίες οι υπολογισμένοι χρόνοι έκλουσης t_R εμφάνιζαν το μικρότερο σφάλμα απόκλισης από τους πειραματικούς χρόνους.

Έχοντας εξάγει τις σταθερές αντίδρασης K_D εκτελέστηκαν προσομοιώσεις ροής κινητής φάσης και των ίδιων αναλυτών διαμέσου της γεωμετρίας της στάσιμης φάσης

προκειμένου για την στήλη που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της παρούσης εργασίας. Οι προσομοιώσεις αυτές εκτελέστηκαν για διάφορες τιμές διαμέτρου των μικροκίωνων καθώς λόγω κατασκευαστικών ανοχών η μετρηθείσα διάμετρος των κίωνων των δοκιμών εμφάνιζε μικρή απόκλιση από την ονομαστική τιμή $d_p=15\mu\text{m}$.

Υπολογίζοντας το ισοδύναμο ύψος H για τις τρεις προσομοιούμενες τιμές ροής (0.5, 1 και 2 $\mu\text{L}/\text{min}$) προέκυψε ότι αυτό είναι παραπλήσιο για το σύνολο των χρησιμοποιούμενων ουσιών. Σχεδιάζοντας τις καμπύλες van Deemter προέκυψε επίσης ότι αυτές οι τιμές ροής απέχουν αρκετά από τις βέλτιστες συνθήκες ροής για επίτευξη του ελάχιστου H και κατά συνέπεια την ελαχιστοποίηση της διεύρυνσης παλμού.

Μελετώντας την επίδραση της διαμέτρου των μικροκίωνων για τιμές d_p από 15 μm μέχρι 16.5 μm παρατηρήθηκε η μεταβολή της ταχύτητας αλλά και του ανηγμένου ύψους με την μείωση του εξωτερικού πορώδους ϵ . Όπως είναι αναμενόμενο μεγαλύτερη διάμετρος d_p , άρα και μικρότερο πορώδες, συνεπάγονται αύξηση της ταχύτητας της κινητής φάσης η οποία είναι εντονότερη για μεγαλύτερες τιμές ροής.

Για συνθήκες μηδενικής συγκράτησης η μεταβολή της διαμέτρου d_p φαίνεται να μην επηρεάζει το ανηγμένο ισοδύναμο ύψος h . Ωστόσο στις περιπτώσεις όπου $k' > 0$ αύξηση της διαμέτρου συνεπάγεται αύξηση της ταχύτητας ροής συνοδευόμενη από μικρή μείωση του h , παρατήρηση που επαληθεύεται και βιβλιογραφικά⁵¹.

6.3 Πειραματική Μελέτη της Χρωματογραφικής Στήλης

Έχοντας ολοκληρώσει το στάδιο της κατασκευής της χρωματογραφικής στήλης εκτελέστηκαν πειράματα αναλύσεων με χρήση των ίδιων ουσιών-αναλυτών αλλά και των ίδιων συνθηκών που χρησιμοποιήθηκαν στο στάδιο της υπολογιστικής μελέτης με σκοπό την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της τελευταίας.

Κατά την εκτέλεση των πειραμάτων παρατηρήθηκε ότι μικραίνοντας τον όγκο του παλμού του αναλύτη που διοχετεύεται εντός της στήλης οδηγούμαστε σε χρόνους έκλουσης που επιτρέπουν τον σαφή διαχωρισμό μεταξύ των ουσιών. Το γεγονός αυτό επιδεικνύει την καταλληλότητα της κατασκευασθείσας χρωματογραφικής στήλης για χρήση σε Υγρή Χρωματογραφία Ανάστροφης Φάσης.

Ωστόσο απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση των συνθηκών των διαφόρων φάσεων στην κατασκευή της στήλης με σκοπό την επίτευξη πλήρους επαναλήψιμων αποτελεσμάτων και την μετέπειτα αξιολόγηση των υπολογιστικών προβλέψεων.

7 Συμπεράσματα

- Με την εφαρμογή διαφορετικής θερμοκρασίας μεταξύ των δύο επιφανειών δοκιμίου πολυμερούς είναι εφικτή η αποτύπωση εν Θερμώ (Hot Embossing) χρωματογραφικής στήλης με μικροδομές σε υπόστρωμα πάχους 2mm.
- Η στεγανοποίηση της χρωματογραφικής στήλης είναι δυνατή σε θερμοκρασίες μικρότερες της θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης με την εφαρμογή πολλαπλών περασμάτων σε συσκευή πλαστικοποίησης φωτοπολυμερούς (Laminator).
- Το πολυμερές COP μπορεί να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την κατασκευή χρωματογραφικής στήλης για χρήση σε αναλύσεις Υγρής Χρωματογραφίας Ανάστροφης Φάσης.

8 Βιβλιογραφία

1. He, B.; Tait, N.; Regnier, F., Fabrication of Nanocolumns for Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry* **1998**, *70* (18), 3790-3797.
2. Regnier, F. E., Microfabricated Monolith Columns for Liquid Chromatography. Sculpting Supports for Liquid Chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography* **2000**, *23* (1), 19-26.
3. Knox, J. H., Band dispersion in chromatography – a new view of A-term dispersion. *Journal of Chromatography A* **1999**, *831* (1), 3-15.
4. De Pra, M.; Kok, W. T.; Gardeniers, J. G. E.; Desmet, G.; Eeltink, S.; van Nieuwkastele, J. W.; Schoenmakers, P. J., Experimental Study on Band Dispersion in Channels Structured with Micropillars. *Analytical Chemistry* **2006**, *78* (18), 6519-6525.
5. Eghbali, H.; De Malsche, W.; De Smet, J.; Billen, J.; De Pra, M.; Kok, W. T.; Schoenmakers, P. J.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Experimental investigation of the band broadening originating from the top and bottom walls in micromachined nonporous pillar array columns. *Journal of separation science* **2007**, *30* (16), 2605-2613.
6. De Malsche, W.; Eghbali, H.; Clicq, D.; Vangelooen, J.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Pressure-Driven Reverse-Phase Liquid Chromatography Separations in Ordered Nonporous Pillar Array Columns. *Analytical Chemistry* **2007**, *79* (15), 5915-5926.
7. De Malsche, W.; Clicq, D.; Verdoold, V.; Gzil, P.; Desmet, G.; Gardeniers, H., Integration of porous layers in ordered pillar arrays for liquid chromatography. *Lab on a chip* **2007**, *7* (12), 1705-11.
8. Detobel, F.; De Bruyne, S.; Vangelooen, J.; De Malsche, W.; Aerts, T.; Terryn, H.; Gardeniers, H.; Eeltink, S.; Desmet, G., Fabrication and Chromatographic Performance of Porous-Shell Pillar-Array Columns. *Analytical Chemistry* **2010**, *82* (17), 7208-7217.
9. Fonverne, A.; Ricoul, F.; Demesmay, C.; Delattre, C.; Fournier, A.; Dijon, J.; Vinet, F., In situ synthesized carbon nanotubes as a new nanostructured stationary phase for microfabricated liquid chromatographic column. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2008**, *129* (2), 510-517.
10. De Malsche, W.; Op De Beeck, J.; De Bruyne, S.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Realization of 1 x 10(6) theoretical plates in liquid chromatography using very long pillar array columns. *Anal Chem* **2012**, *84* (3), 1214-9.
11. Eijkel, J., Chip-based HPLC: the quest for the perfect column. *Lab on a chip* **2007**, *7* (7), 815-7.
12. Gritti, F.; Guiochon, G., General HETP Equation for the Study of Mass-Transfer Mechanisms in RPLC. *Analytical Chemistry* **2006**, *78* (15), 5329-5347.
13. Desmet, G.; Broeckhoven, K., Equivalence of the Different Cm- and Cs-Term Expressions Used in Liquid Chromatography and a Geometrical Model Uniting Them. *Analytical Chemistry* **2008**, *80* (21), 8076-8088.
14. Miyabe, K., Evaluation of chromatographic performance of various packing materials having different structural characteristics as stationary phase for fast high performance liquid chromatography by new moment equations. *Journal of chromatography. A* **2008**, *1183* (1-2), 49-64.
15. Desmet, G.; Deridder, S., Effective medium theory expressions for the effective diffusion in chromatographic beds filled with porous, non-porous and porous-shell particles and cylinders. Part I: Theory. *Journal of chromatography. A* **2011**, *1218* (1), 32-45.
16. Gzil, P.; Vervoort, N.; Baron, G. V.; Desmet, G., Advantages of Perfectly Ordered 2-D Porous Pillar Arrays over Packed Bed Columns for LC Separations: A Theoretical Analysis. *Analytical Chemistry* **2003**, *75* (22), 6244-6250.

17. Vervoort, N.; Billen, J.; Gzil, P.; Baron, G. V.; Desmet, G., Importance and Reduction of the Sidewall-Induced Band-Broadening Effect in Pressure-Driven Microfabricated Columns. *Analytical Chemistry* **2004**, *76* (15), 4501-4507.
18. De Smet, J.; Gzil, P.; Vervoort, N.; Verelst, H.; Baron, G. V.; Desmet, G., Influence of the Pillar Shape on the Band Broadening and the Separation Impedance of Perfectly Ordered 2-D Porous Chromatographic Media. *Analytical Chemistry* **2004**, *76* (13), 3716-3726.
19. Sukas, S.; Desmet, G.; Gardeniers, H. J., Novel shape and placement definitions with retention modeling for solid microfabricated pillar columns for CEC and HPLC. *Electrophoresis* **2010**, *31* (22), 3681-90.
20. Becker, H.; Locascio, L. E., Polymer microfluidic devices. *Talanta* **2002**, *56* (2), 267-287.
21. Diaz-Quijada, G. A.; Peytavi, R.; Nantel, A.; Roy, E.; Bergeron, M. G.; Dumoulin, M. M.; Veres, T., Surface modification of thermoplastics--towards the plastic biochip for high throughput screening devices. *Lab on a chip* **2007**, *7* (7), 856-62.
22. Jonsson, C.; Aronsson, M.; Rundstrom, G.; Pettersson, C.; Mendel-Hartvig, I.; Bakker, J.; Martinsson, E.; Liedberg, B.; MacCraith, B.; Ohman, O.; Melin, J., Silane-dextran chemistry on lateral flow polymer chips for immunoassays. *Lab on a chip* **2008**, *8* (7), 1191-7.
23. Sung, D.; Shin, D. H.; Jon, S., Toward immunoassay chips: Facile immobilization of antibodies on cyclic olefin copolymer substrates through pre-activated polymer adlayers. *Biosensors & bioelectronics* **2011**, *26* (9), 3967-72.
24. Illa, X.; De Malsche, W.; Bomer, J.; Gardeniers, H.; Eijkel, J.; Morante, J. R.; Romano-Rodriguez, A.; Desmet, G., An array of ordered pillars with retentive properties for pressure-driven liquid chromatography fabricated directly from an unmodified cyclo olefin polymer. *Lab on a chip* **2009**, *9* (11), 1511-1516.
25. Tsougeni, K.; Papageorgiou, D.; Tserepi, A.; Gogolides, E., "Smart" polymeric microfluidics fabricated by plasma processing: controlled wetting, capillary filling and hydrophobic valving. *Lab on a chip* **2010**, *10* (4), 462-9.
26. Nunes, P. S.; Ohlsson, P. D.; Ordeig, O.; Kutter, J. P., Cyclic olefin polymers: emerging materials for lab-on-a-chip applications. *Microfluidics and Nanofluidics* **2010**, *9* (2-3), 145-161.
27. Gustafsson, O.; Mogensen, K. B.; Kutter, J. P., Underivatized cyclic olefin copolymer as substrate material and stationary phase for capillary and microchip electrochromatography. *Electrophoresis* **2008**, *29* (15), 3145-52.
28. Tsougeni, K.; Ellinas, K.; Archontaki, H.; Gogolides, E., A microfabricated cyclo-olefin polymer microcolumn used for reversed-phase chromatography. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2015**, *25* (1), 015005.
29. Poole, C. F., CHROMATOGRAPHY A2 - Wilson, Ian D. In *Encyclopedia of Separation Science*, Academic Press: Oxford, 2000; pp 40-64.
30. Meyer, V. R., CHROMATOGRAPHY | Overview A2 - Poole, Paul WorsfoldAlan TownshendColin. In *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*, Elsevier: Oxford, 2005; pp 89-98.
31. Palamareva, M. D., LIQUID CHROMATOGRAPHY | Overview A2 - Poole, Paul WorsfoldAlan TownshendColin. In *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*, Elsevier: Oxford, 2005; pp 106-112.
32. Kutter, J. P., Liquid phase chromatography on microchips. *Journal of chromatography. A* **2012**, *1221*, 72-82.
33. Bruus, H., *Theoretical Microfluidics*. Oxford, 2007; p 304.

34. Gervais, T., Mass transport and surface reactions in microfluidic systems. *Chemical Engineering Science* **2006**, *61*, 20.
35. Scott, R. P. W. Principles and Practices of Chromatography. <http://www.chromatography-online.org>.
36. Giddings, J. C., The role of lateral diffusion as a rate-controlling mechanism in chromatography. *Journal of Chromatography A* **1961**, *5*, 46-60.
37. Kenndler, E., Introduction to Chromatography. 2004. <http://www.chromatography-online.org> (accessed 19/01/2004).
38. Bristow, P. A.; Knox, J. H., Standardization of test conditions for high performance liquid chromatography columns. *Chromatographia* **1977**, *10* (6), 279-289.
39. van Deemter, J. J.; Zuiderweg, F. J.; Klinkenberg, A., Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. *Chemical Engineering Science* **1956**, *5* (6), 271-289.
40. Knox, J. H.; Scott, H. P., VII. International symposium on column liquid chromatography B and C terms in the Van Deemter equation for liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **1983**, *282*, 297-313.
41. Giddings, J. C., *Unified Separation Science*. 1991.
42. Yan, X.; Wang, Q.; Bau, H. H., Dispersion in retentive pillar array columns. *Journal of chromatography. A* **2010**, *1217* (8), 1332-42.
43. Miyabe, K.; Guiochon, G., Surface diffusion in reversed-phase liquid chromatography. *Journal of chromatography. A* **2010**, *1217* (11), 1713-34.
44. Miyabe, K.; Matsumoto, Y.; Guiochon, G., Peak parking-moment analysis. A strategy for the study of the mass-transfer kinetics in the stationary phase. *Analytical Chemistry* **2007**, *79* (5), 1970-1982.
45. Desmet, G.; Clicq, D.; Gzil, P., Geometry-Independent Plate Height Representation Methods for the Direct Comparison of the Kinetic Performance of LC Supports with a Different Size or Morphology. *Analytical Chemistry* **2005**, *77* (13), 4058-4070.
46. Lavrik, N. V.; Taylor, L. T.; Sepaniak, M. J., Nanotechnology and chip level systems for pressure driven liquid chromatography and emerging analytical separation techniques: a review. *Analytica chimica acta* **2011**, *694* (1-2), 6-20.
47. Gritti, F.; Guiochon, G., The current revolution in column technology: How it began, where is it going? *Journal of Chromatography A* **2012**, *1228*, 2-19.
48. Ehlert, S.; Trojer, L.; Vollmer, M.; van de Goor, T.; Tallarek, U., Performance of HPLC/MS microchips in isocratic and gradient elution modes. *Journal of Mass Spectrometry* **2010**, *45* (3), 313-320.
49. Ericson, C.; Holm, J.; Ericson, T.; Hjertén, S., Electroosmosis- and Pressure-Driven Chromatography in Chips Using Continuous Beds. *Analytical Chemistry* **2000**, *72* (1), 81-87.
50. Op de Beeck, J.; De Malsche, W.; De Moor, P.; Desmet, G., Hydrodynamic chromatography separations in micro- and nanopillar arrays produced using deep-UV lithography. *Journal of separation science* **2012**, *35* (15), 1877-83.
51. De Pra, M.; De Malsche, W.; Desmet, G.; Schoenmakers, P. J.; Kok, W. T., Pillar-structured microchannels for on-chip liquid chromatography: evaluation of the permeability and separation performance. *Journal of separation science* **2007**, *30* (10), 1453-60.

52. Malsche, W. D.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Experimental Study of Porous Silicon Shell Pillars under Retentive Conditions. *Analytical Chemistry* **2008**, *80* (14), 5391-5400.
53. Detobel, F.; Eghbali, H.; De Bruyne, S.; Terry, H.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Effect of the presence of an ordered micro-pillar array on the formation of silica monoliths. *Journal of chromatography. A* **2009**, *1216* (44), 7360-7.
54. Fonverne, A.; Demesmay, C.; Ricoul, F.; Rouvière, E.; Dijon, J.; Vinet, F., New carbon nanotubes growth process in a closed microfabricated channel for liquid chromatography application. *Sensors and Actuators A: Physical* **2011**, *167* (2), 517-523.
55. Lavrik, N. V.; Taylor, L. C.; Sepaniak, M. J., Enclosed pillar arrays integrated on a fluidic platform for on-chip separations and analysis. *Lab on a chip* **2010**, *10* (8), 1086-94.
56. Taylor, L. C.; Lavrik, N. V.; Sepaniak, M. J., High-Aspect-Ratio, Silicon Oxide-Enclosed Pillar Structures in Microfluidic Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry* **2010**, *82* (22), 9549-9556.
57. Op de Beeck, J.; De Malsche, W.; Tezcan, D. S.; De Moor, P.; Desmet, G., Impact of the limitations of state-of-the-art micro-fabrication processes on the performance of pillar array columns for liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **2012**, *1239*, 35-48.
58. Aoyama, C.; Saeki, A.; Noguchi, M.; Shirasaki, Y.; Shoji, S.; Funatsu, T.; Mizuno, J.; Tsunoda, M., Use of Folded Micromachined Pillar Array Column with Low-Dispersion Turns for Pressure-Driven Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry* **2010**, *82* (4), 1420-1426.
59. Vangelooven, J.; Schlautman, S.; Detobel, F.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Experimental Optimization of Flow Distributors for Pressure-Driven Separations and Reactions in Flat-Rectangular Microchannels. *Analytical Chemistry* **2011**, *83* (2), 467-477.
60. De Malsche, W.; De Bruyne, S.; Op De Beek, J.; Sandra, P.; Gardeniers, H.; Desmet, G.; Lynen, F., Capillary liquid chromatography separations using non-porous pillar array columns. *Journal of chromatography. A* **2012**, *1230*, 41-7.
61. Illa, X.; De Malsche, W.; Gardeniers, H.; Desmet, G.; Romano-Rodriguez, A., Experimental study of the depth influence on the band broadening effect in a cyclo-olefin polymer column containing an array of ordered pillars. *Journal of chromatography. A* **2010**, *1217* (37), 5817-21.
62. Poppe, H., Mass transfer in rectangular chromatographic channels. *Journal of Chromatography A* **2002**, *948* (1-2), 3-17.
63. Illa, X.; De Malsche, W.; Gardeniers, H.; Desmet, G.; Romano-Rodriguez, A., Experimental study of the retention properties of a cyclo olefin polymer pillar array column in reversed-phase mode. *Journal of separation science* **2010**, *33* (21), 3313-8.
64. Tsougeni, K.; Bourkoula, A.; Petrou, P.; Tserepi, A.; Kakabakos, S. E.; Gogolides, E., Photolithography and plasma processing of polymeric lab on chip for wetting and fouling control and cell patterning. *Microelectronic Engineering* **2014**, *124*, 47-52.
65. Amanat, N.; James, N. L.; McKenzie, D. R., Welding methods for joining thermoplastic polymers for the hermetic enclosure of medical devices. *Medical Engineering & Physics* **2010**, *32* (7), 690-699.
66. Becker, H.; Heim, U., Hot embossing as a method for the fabrication of polymer high aspect ratio structures. *Sensors and Actuators A: Physical* **2000**, *83* (1-3), 130-135.
67. Peng, L.; Deng, Y.; Yi, P.; Lai, X., Micro hot embossing of thermoplastic polymers: a review. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2014**, *24* (1), 013001.
68. Cameron, N. S.; Roberge, H.; Veres, T.; Jakeway, S. C.; John Crabtree, H., High fidelity, high yield production of microfluidic devices by hot embossing lithography: rheology and stiction. *Lab on a chip* **2006**, *6* (7), 936-941.

69. Li, J. M.; Liu, C.; Peng, J., Effect of hot embossing process parameters on polymer flow and microchannel accuracy produced without vacuum. *Journal of Materials Processing Technology* **2008**, *207* (1-3), 163-171.
70. Heyderman, L. J.; Schiff, H.; David, C.; Gobrecht, J.; Schweizer, T., Flow behaviour of thin polymer films used for hot embossing lithography. *Microelectronic Engineering* **2000**, *54* (3-4), 229-245.
71. Peng, B.-Y.; Wu, C.-W.; Shen, Y.-K.; Lin, Y., Microfluidic chip fabrication using hot embossing and thermal bonding of COP. *Polymers for Advanced Technologies* **2010**, *21* (7), 457-466.
72. Esch, M. B.; Kapur, S.; Irizarry, G.; Genova, V., Influence of master fabrication techniques on the characteristics of embossed microfluidic channels. *Lab on a chip* **2003**, *3* (2), 121-7.
73. Sahli, M.; Roques-Carmes, C.; Khan Malek, C.; Duffait, R. In *Study of the rheological properties of poly(methylmethacrylate) (PMMA) and cyclo-olefin-copolymer (COC) to optimize the hot-embossing process*, Int. Conf. on Multi-Material Micro Manufacture, France, 2005; Elsevier: France, 2005; pp 83-86.
74. Jena, R. K.; Chester, S. A.; Srivastava, V.; Yue, C. Y.; Anand, L.; Lam, Y. C., Large-strain thermo-mechanical behavior of cyclic olefin copolymers: Application to hot embossing and thermal bonding for the fabrication of microfluidic devices. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2011**, *155* (1), 93-105.
75. Steigert, J.; Haeberle, S.; Brenner, T.; Müller, C.; Steinert, C. P.; Koltay, P.; Gottschlich, N.; Reinecke, H.; Rühle, J.; Zengerle, R.; Ducrée, J., Rapid prototyping of microfluidic chips in COC. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2007**, *17* (2), 333-341.
76. Jena, R. K.; Yue, C. Y.; Lam, Y. C.; Wang, Z. Y., High fidelity hot-embossing of COC microdevices using a one-step process without pre-annealing of polymer substrate. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, *150* (2), 692-699.
77. Liu, C.; Li, J. M.; Liu, J. S.; Wang, L. D., Deformation behavior of solid polymer during hot embossing process. *Microelectronic Engineering* **2010**, *87* (2), 200-207.
78. Rowland, H. D.; King, W. P., Polymer deformation and filling modes during microembossing. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2004**, *14* (12), 1625-1632.
79. Liu, Y.; Cady, N. C.; Batt, C. A., A plastic microchip for nucleic acid purification. *Biomedical microdevices* **2007**, *9* (5), 769-76.
80. Worgull, M., Modeling and optimization of the hot embossing process for micro- and nanocomponent fabrication. *Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS* **2006**, *5* (1), 011005.
81. Illa, X.; Ordeig, O.; Snakenborg, D.; Romano-Rodriguez, A.; Compton, R. G.; Kutter, J. P., A cyclo olefin polymer microfluidic chip with integrated gold microelectrodes for aqueous and non-aqueous electrochemistry. *Lab on a chip* **2010**, *10* (10), 1254-61.
82. Leech, P. W., Hot embossing of cyclic olefin copolymers. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2009**, *19* (5), 055008.
83. Cheng, G.; Sahli, M.; Gelin, J.-C.; Barriere, T., Physical modelling, numerical simulation and experimental investigation of microfluidic devices with amorphous thermoplastic polymers using a hot embossing process. *Journal of Materials Processing Technology* **2016**, *229*, 36-53.
84. Fredrickson, C. K.; Xia, Z.; Das, C.; Ferguson, R.; Tavares, F. T.; Fan, Z. H., Effects of Fabrication Process Parameters on the Properties of Cyclic Olefin Copolymer Microfluidic Devices. *Journal of Microelectromechanical Systems* **2006**, *15* (5), 1060-1068.
85. Tsao, C.-W.; DeVoe, D. L., Bonding of thermoplastic polymer microfluidics. *Microfluidics and Nanofluidics* **2008**, *6* (1), 1-16.

86. Hwang, S.-J.; Tseng, M.-C.; Shu, J.-R.; Her Yu, H., Surface modification of cyclic olefin copolymer substrate by oxygen plasma treatment. *Surface and Coatings Technology* **2008**, *202* (15), 3669-3674.
87. Roy, S.; Yue, C. Y.; Lam, Y. C.; Wang, Z. Y.; Hu, H., Surface analysis, hydrophilic enhancement, ageing behavior and flow in plasma modified cyclic olefin copolymer (COC)-based microfluidic devices. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2010**, *150* (2), 537-549.
88. Roy, S.; Yue, C. Y.; Lam, Y. C., Influence of plasma surface treatment on thermal bonding and flow behavior in Cyclic Olefin Copolymer (COC) based microfluidic devices. *Vacuum* **2011**, *85* (12), 1102-1104.
89. Tsao, C. W.; Hromada, L.; Liu, J.; Kumar, P.; DeVoe, D. L., Low temperature bonding of PMMA and COC microfluidic substrates using UV/ozone surface treatment. *Lab on a chip* **2007**, *7* (4), 499-505.
90. Wallow, T. I.; Morales, A. M.; Simmons, B. A.; Hunter, M. C.; Krafcik, K. L.; Domeier, L. A.; Sickafoose, S. M.; Patel, K. D.; Gardea, A., Low-distortion, high-strength bonding of thermoplastic microfluidic devices employing case-II diffusion-mediated permeant activation. *Lab on a chip* **2007**, *7* (12), 1825-31.
91. Roy, S.; Yue, C. Y.; Wang, Z. Y.; Anand, L., Thermal bonding of microfluidic devices: Factors that affect interfacial strength of similar and dissimilar cyclic olefin copolymers. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2012**, *161* (1), 1067-1073.
92. Shin, J. Y.; Park, J. Y.; Liu, C.; He, J.; Kim, S. C., Chemical structure and physical properties of cyclic olefin copolymers (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **2005**, *77* (5).
93. Billen, J.; Gzil, P.; Desmet, G., Domain Size-Induced Heterogeneity as Performance Limitation of Small-Domain Monolithic Columns and Other LC Support Types. *Analytical Chemistry* **2006**, *78* (17), 6191-6201.
94. Billen, J.; Gzil, P.; Baron, G. V.; Desmet, G., A first principles explanation for the experimentally observed increase in A-term band broadening in small domain silica monoliths and other chromatographic supports. *Journal of Chromatography A* **2005**, *1077* (1), 28-36.
95. Gzil, P.; De Smet, J.; Vervoort, N.; Verelst, H.; Baron, G. V.; Desmet, G., Computational study of the band broadening in two-dimensional etched packed bed columns for on-chip high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **2004**, *1030* (1-2), 53-62.
96. De Smet, J.; Gzil, P.; Vervoort, N.; Verelst, H.; Baron, G. V.; Desmet, G., On the optimisation of the bed porosity and the particle shape of ordered chromatographic separation media. *Journal of Chromatography A* **2005**, *1073* (1-2), 43-51.
97. Vangelooven, J.; Desmet, G., Computer aided design optimisation of microfluidic flow distributors. *Journal of chromatography. A* **2010**, *1217* (43), 6724-32.
98. Vangelooven, J.; De Malsche, W.; Op De Beeck, J.; Eghbali, H.; Gardeniers, H.; Desmet, G., Design and evaluation of flow distributors for microfabricated pillar array columns. *Lab on a chip* **2010**, *10* (3), 349-56.
99. Vangelooven, J.; Desmet, G., Theoretical optimisation of the side-wall of micropillar array columns using computational fluid dynamics. *Journal of chromatography. A* **2010**, *1217* (52), 8121-6.
100. Op De Beeck, J.; Callewaert, M.; Ottevaere, H.; Gardeniers, H.; Desmet, G.; De Malsche, W., Suppression of the sidewall effect in pillar array columns with radially elongated pillars. *Journal of Chromatography A* **2014**, *1367*, 118-122.
101. Desmet, G.; Callewaert, M.; Ottevaere, H.; De Malsche, W., Merging Open-Tubular and Packed Bed Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry* **2015**, *87* (14), 7382-7388.

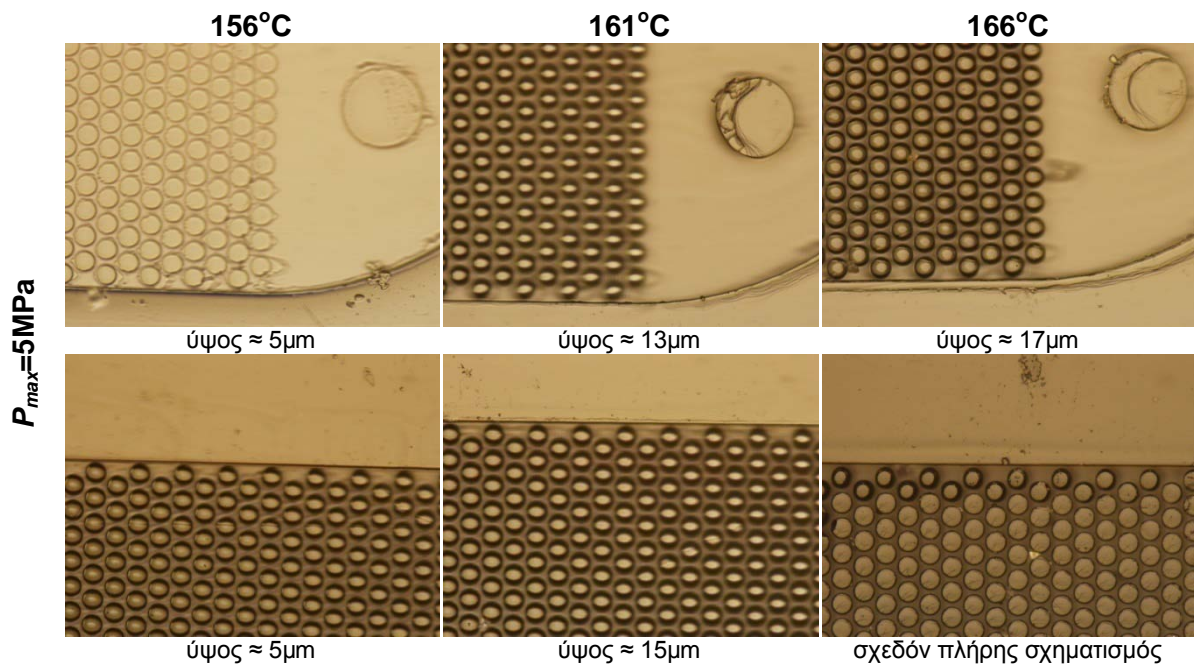
102. De Smet, J.; Gzil, P.; Baron, G. V.; Desmet, G., On the 3-dimensional effects in etched chips for high performance liquid chromatography-separations. *Journal of Chromatography A* **2007**, *1154* (1–2), 189-197.
103. Rafferty, J. L.; Siepmann, J. I.; Schure, M. R., Influence of bonded-phase coverage in reversed-phase liquid chromatography via molecular simulation I. Effects on chain conformation and interfacial properties. *Journal of chromatography. A* **2008**, *1204* (1), 11-9.
104. Rafferty, J. L.; Siepmann, J. I.; Schure, M. R., Influence of bonded-phase coverage in reversed-phase liquid chromatography via molecular simulation II. Effects on solute retention. *Journal of chromatography. A* **2008**, *1204* (1), 20-7.
105. Rafferty, J. L.; Siepmann, J. I.; Schure, M. R., Mobile phase effects in reversed-phase liquid chromatography: a comparison of acetonitrile/water and methanol/water solvents as studied by molecular simulation. *Journal of chromatography. A* **2011**, *1218* (16), 2203-13.
106. Rafferty, J. L.; Siepmann, J. I.; Schure, M. R., Retention mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons in reversed-phase liquid chromatography with monomeric stationary phases. *Journal of chromatography. A* **2011**, *1218* (51), 9183-93.
107. Rafferty, J. L.; Siepmann, J. I.; Schure, M. R., A molecular simulation study of the effects of stationary phase and solute chain length in reversed-phase liquid chromatography. *Journal of chromatography. A* **2012**, *1223*, 24-34.
108. Yamazaki, M., Industrialization and application development of cyclo-olefin polymer. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2004**, *213* (1), 81-87.
109. Lee, C.-S.; Kang, C.-G.; Youn, S.-W., Effect of forming conditions on linear patterning of polymer materials by hot embossing process. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing* **2010**, *11* (1), 119-127.
110. Li, J.; Carr, P. W., Accuracy of Empirical Correlations for Estimating Diffusion Coefficients in Aqueous Organic Mixtures. *Analytical Chemistry* **1997**, *69* (13), 2530-2536.

Παράρτημα Α

Βελτιστοποίηση Συνθηκών Αποτύπωσης εν Θερμώ

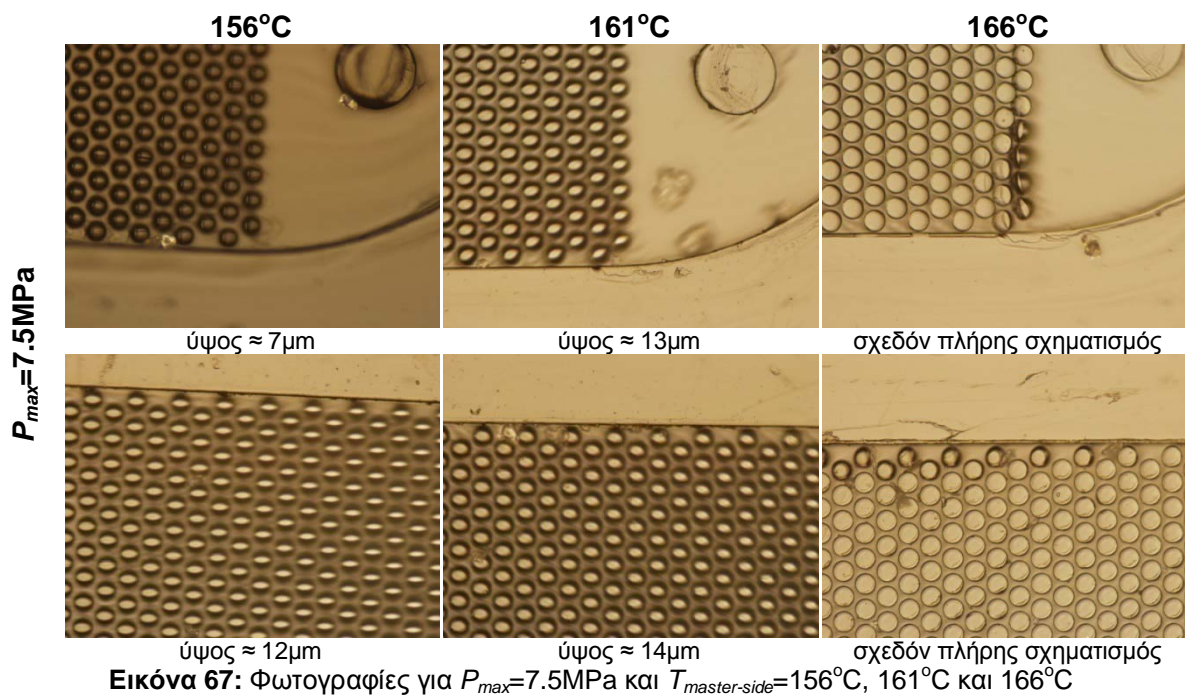
Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας $T_{master-side}$ και της εφαρμοζόμενης πίεσης P_{max} , για χρονικά διάστημα $t_{emb}=10min$ διατηρώντας σταθερή την πίεση. Στις κάτωθι εικόνες δίνονται στιγμιότυπα από δύο περιοχές της στήλης μία στο άκρο (φωτογραφία όπου εικονίζονται και τα μεγάλα κονία) και μία περίπου στο μέσο.

Στην Εικόνα 66 δίνονται στιγμιότυπα για $P_{max}=5MPa$. Παρατηρούμε ότι μόνο για $T_{master-side}=166^{\circ}C$ είχαμε σχεδόν πλήρη σχηματισμό των κονίων αλλά μόνο κοντά στο μέσο της στήλης.

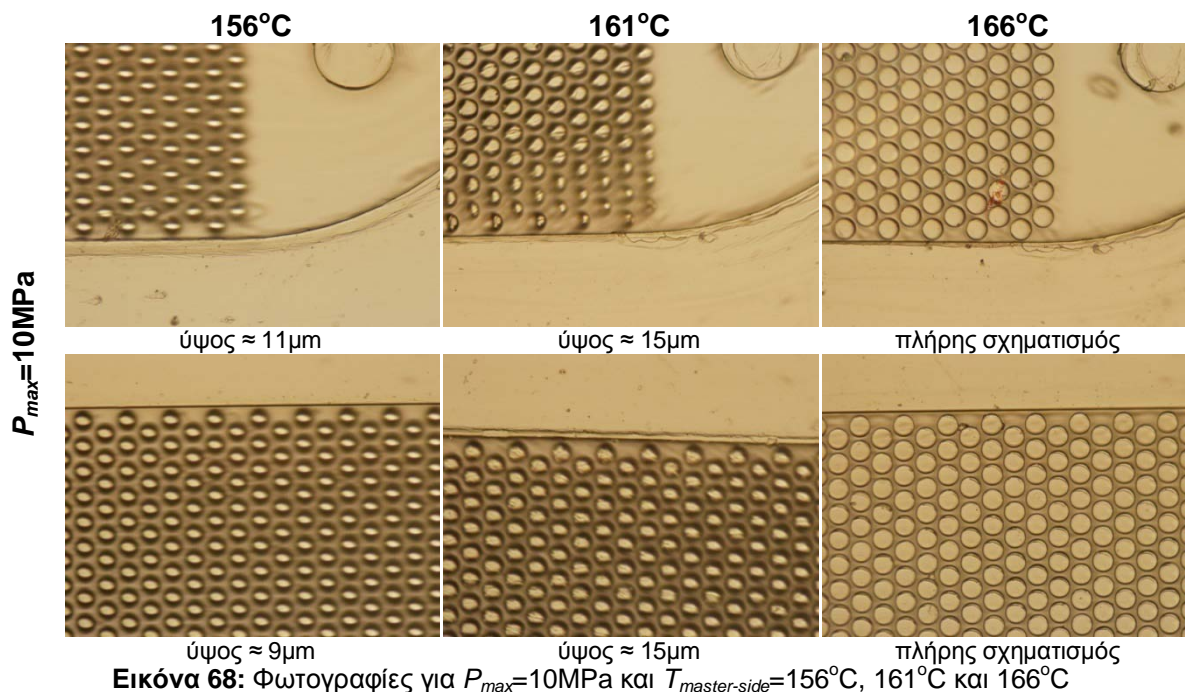


Εικόνα 66: Φωτογραφίες για $P_{max}=5MPa$ και $T_{master-side}=156^{\circ}C$, $161^{\circ}C$ και $166^{\circ}C$

Στην Εικόνα 67 δίνονται στιγμιότυπα για $P_{max}=7.5MPa$. Παρατηρούμε ότι για $T_{master-side}=156^{\circ}C$ είχαμε αύξηση του ύψους των σχηματιζόμενων κονίων ενώ για $T_{master-side}=166^{\circ}C$ είχαμε σχεδόν πλήρη σχηματισμό σε όλο το μήκος της στήλης. Για $T_{master-side}=161^{\circ}C$ δεν είχαμε σημαντική διαφοροποίηση ως προς το ύψος των μικρών κονίων αλλά επετεύχθη πλήρης σχηματισμός των μεγάλων κονίων.

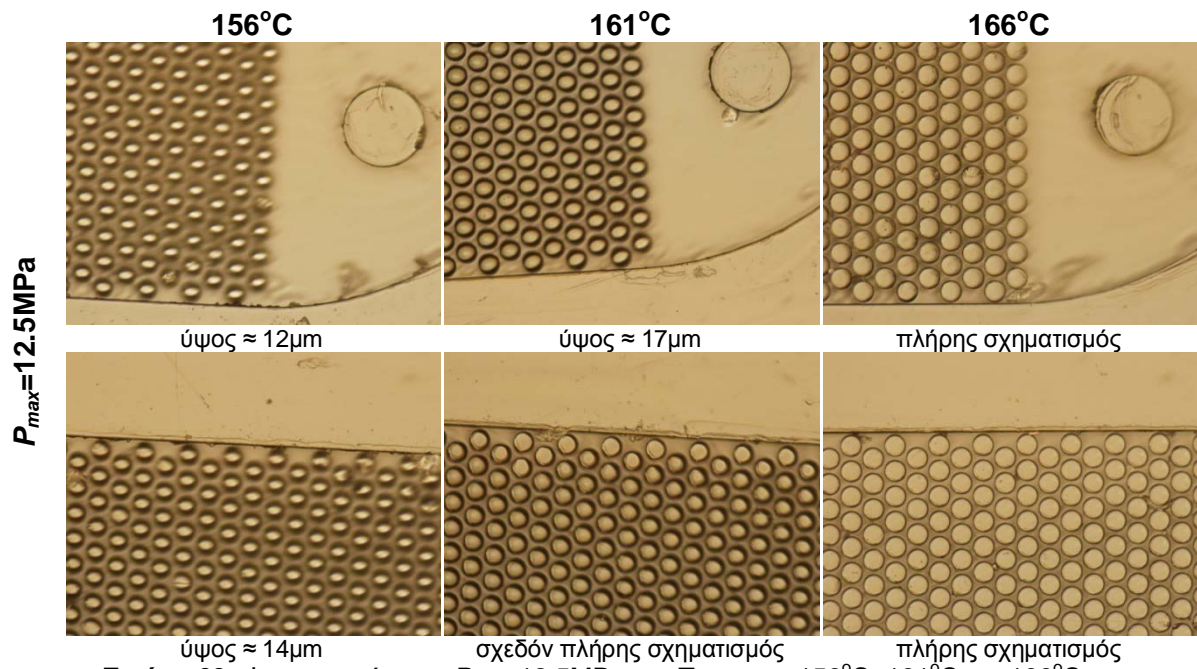


Στην Εικόνα 68 δίνονται στιγμιότυπα για $P_{max}=10\text{MPa}$. Παρατηρούμε ότι για $T_{master-side}=156^\circ\text{C}$ είχαμε αύξηση του ύψους των μικρών κονίων και σχηματισμό των μεγάλων κονίων. Για $T_{master-side}=161^\circ\text{C}$ είχαμε μικρή αύξηση του ύψους των κονίων. Για $T_{master-side}=166^\circ\text{C}$ είχαμε πλήρη σχηματισμό των κονίων σε όλο το μήκος της στήλης.



Στην Εικόνα 69 δίνονται στιγμιότυπα για $P_{max}=12.5\text{MPa}$. Παρατηρούμε ότι για $T_{master-side}=156^\circ\text{C}$ είχαμε αύξηση του ύψους των μικρών κονίων και σχηματισμό των μεγάλων κονίων. Για $T_{master-side}=161^\circ\text{C}$ είχαμε μικρή αύξηση του ύψους των κονίων

στο άκρο της στήλης και σχεδόν πλήρη σχηματισμό στο μέσο της. Για $T_{master-side}=166^{\circ}\text{C}$ είχαμε πλήρη σχηματισμό των κονίων σε όλο το μήκος της στήλης.



Εικόνα 69: Φωτογραφίες για $P_{max}=12.5\text{MPa}$ και $T_{master-side}=156^{\circ}\text{C}$, 161°C και 166°C

Παράρτημα Β

Αποτελέσματα Προσομοιώσεων Χρωματογραφικής Ανάλυσης σε Στήλης με Ρομβοειδής Μικρο-κίονες

Στον Πίνακα 20 δίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων με σκοπό την εξαγωγή των σταθερών αντιδράσεων. Συγκεκριμένα δίνεται η υπολογισμένη ταχύτητα του κάθε αναλύτη για διάφορες τιμές της σταθεράς του K. Βάσει της ταχύτητας υπολογίζεται ο χρόνος εντός της ψηφίδας. Σε αυτόν αθροίζεται ο εκτιμώμενος χρόνος εντός των σωληνώσεων με σκοπό την εξαγωγή του υπολογισμένου συνολικού χρόνου. Συγκρίνοντας τον υπολογισμένο χρόνο με τον πειραματικό υπολογίζουμε ποσοστιαία το σφάλμα. Οι τιμές της σταθεράς K που δίνουν μικρότερο σφάλμα αποτελούν και της εξαγόμενες σταθερές αντίδρασης που χρησιμοποιήθηκαν εν συνεχεία για την εκτίμηση της συμπεριφοράς της στήλης που κατασκευάστηκε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Πίνακας 21: Αναλυτικά αποτελέσματα προσομοιώσεων γεωμετρίας στήλης με ρομβοειδής μικρο-κίονες. Εκτίμηση υπολογισμένου χρόνου για διάφορες τιμές σταθεράς αντίδρασης K και σύγκριση με πειραματικό χρόνο.

Κινητή Φάση	Ροή (μL/min)	Αναλύτης	Σταθέρα	u_{comp} (mm/sec)	t_{chip} (sec)	t_{tubes} (sec)	t_{comp_R} (sec)	t_{exp_R} (sec)	σφάλμα (%)
	0.5	Mob	0	3.5716	11	594	605	606	-0.1%
	1	Mob	0	7.1437	6	286	292	292	-0.1%
	2	Mob	0	14.2926	3	137	140	140	-0.1%
80/20	0.5	SB	7.5	0.5456	73	594	667	654	2.0%
80/20	0.5	SB	10	0.4254	94	594	688	654	5.2%
80/20	0.5	SB	12.5	0.3483	115	594	709	654	8.4%
80/20	1	SB	7.5	1.0939	37	286	323	328	-1.7%
80/20	1	SB	10	0.8537	47	286	333	328	1.5%
80/20	1	SB	12.5	0.7011	57	286	343	328	4.6%
80/20	2	SB	7.5	2.2018	18	137	155	147	5.6%
80/20	2	SB	10	1.7284	23	137	160	147	8.9%
80/20	2	SB	12.5	1.4237	28	137	165	147	12.3%
90/10	0.5	SB	20	0.226	177	594	771	996	-22.6%
90/10	0.5	SB	22.5	0.2023	198	594	792	996	-20.5%
90/10	0.5	SB	25	0.1829	219	594	813	996	-18.4%
90/10	0.5	SB	32.5	0.1427	280	594	874	996	-12.2%
90/10	0.5	SB	35	0.1329	301	594	895	996	-10.1%
90/10	0.5	SB	37.5	0.1244	322	594	916	996	-8.1%
90/10	0.5	SB	45	0.1042	384	594	978	996	-1.8%
90/10	0.5	SB	47.5	0.0989	404	594	998	996	0.2%
90/10	0.5	SB	50	0.0941	425	594	1019	996	2.3%
90/10	1	SB	45	0.2102	190	286	476	495	-3.8%
90/10	1	SB	47.5	0.2049	195	286	481	495	-2.8%
90/10	1	SB	50	0.1968	203	286	489	495	-1.2%
90/10	2	SB	45	0.4297	93	137	230	156	47.5%
90/10	2	SB	47.5	0.4124	97	137	234	156	50.0%
90/10	2	SB	50	0.3975	101	137	238	156	52.3%
80/20	0.5	AMP	25	0.1834	218	594	812	785	3.5%

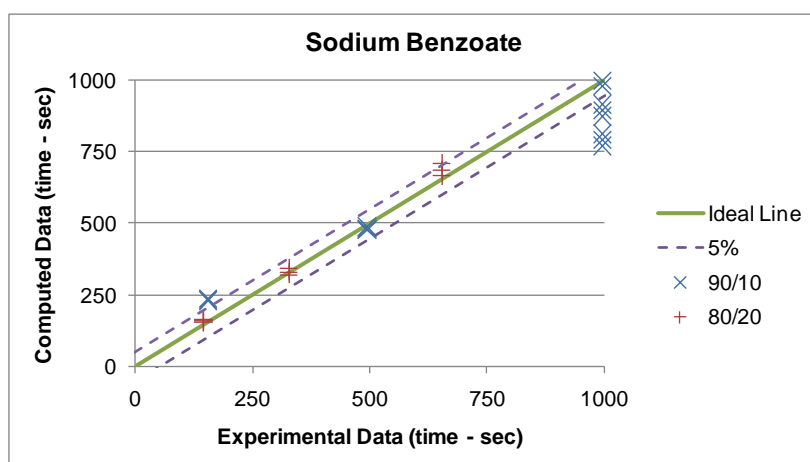
Κινητή Φάση	Ροή (μL/min)	Αναλύτης	Σταθέρα	u_{comp} (mm/sec)	t_{chip} (sec)	t_{tubes} (sec)	t_{comp_R} (sec)	t_{exp_R} (sec)	σφάλμα (%)
80/20	0.5	AMP	27.5	0.1675	239	594	833	785	6.1%
80/20	0.5	AMP	30	0.1546	259	594	853	785	8.6%
80/20	1	AMP	25	0.3664	109	286	395	416	-5.0%
80/20	1	AMP	27.5	0.3346	120	286	406	416	-2.5%
80/20	1	AMP	30	0.308	130	286	416	416	0.0%
90/10	0.5	AMP	45	0.1042	384	594	978	1406	-30.4%
90/10	0.5	AMP	47.5	0.0988	405	594	999	1406	-29.0%
90/10	0.5	AMP	70	0.0676	592	594	1186	1406	-15.7%
90/10	0.5	AMP	72.5	0.0656	610	594	1204	1406	-14.4%
90/10	0.5	AMP	75	0.0633	632	594	1226	1406	-12.8%
90/10	0.5	AMP	95	0.0506	791	594	1385	1406	-1.5%
90/10	0.5	AMP	100	0.0478	837	594	1431	1406	1.8%
90/10	0.5	AMP	105	0.0454	881	594	1475	1406	4.9%
90/10	1	AMP	95	0.1021	392	286	678	710	-4.5%
90/10	1	AMP	100	0.09784	409	286	695	710	-2.1%
90/10	1	AMP	105	0.09507	421	286	707	710	-0.5%
90/10	2	AMP	95	0.2138	187	137	324	342	-5.2%
90/10	2	AMP	100	0.2034	197	137	334	342	-2.4%
90/10	2	AMP	105	0.1937	207	137	344	342	0.4%
80/20	0.5	PP	52.5	0.0898	445	594	1039	1062	-2.1%
80/20	0.5	PP	55	0.0858	466	594	1060	1062	-0.2%
80/20	0.5	PP	57.5	0.0822	487	594	1081	1062	1.8%
80/20	1	PP	52.5	0.1813	221	286	507	627	-19.2%
80/20	1	PP	55	0.1735	231	286	517	627	-17.6%
80/20	1	PP	57.5	0.1661	241	286	527	627	-16.0%
80/20	2	PP	52.5	0.3887	103	137	240	248	-3.3%
80/20	2	PP	55	0.3716	108	137	245	248	-1.4%
80/20	2	PP	57.5	0.356	112	137	249	248	0.5%
90/10	0.5	PP	100	0.0479	835	594	1429	1725	-17.2%
90/10	0.5	PP	110	0.0435	920	594	1514	1725	-12.3%
90/10	0.5	PP	140	0.0346	1156	594	1750	1725	1.5%
90/10	0.5	PP	142.5	0.0341	1173	594	1767	1725	2.4%
90/10	0.5	PP	145	0.0332	1205	594	1799	1725	4.3%
90/10	0.5	PP	150	0.0322	1242	594	1836	1725	6.4%
90/10	0.5	PP	155	0.0313	1278	594	1872	1725	8.5%
90/10	1	PP	140	0.0734	545	286	831	880	-5.6%
90/10	1	PP	142.5	0.0723	553	286	839	880	-4.6%
90/10	1	PP	145	0.0714	560	286	846	880	-3.8%
90/10	2	PP	140	0.146	274	137	411	456	-9.9%
90/10	2	PP	142.5	0.1436	279	137	416	456	-8.9%
90/10	2	PP	145	0.1412	283	137	420	456	-7.8%
80/20	0.5	NL	182.5	0.0263	1521	594	2115	2085	1.4%
80/20	0.5	NL	185	0.0259	1544	594	2138	2085	2.6%
80/20	0.5	NL	187.5	0.0256	1563	594	2157	2085	3.4%
80/20	1	NL	182.5	0.053	755	286	1041	1083	-3.9%
80/20	1	NL	185	0.0524	763	286	1049	1083	-3.1%
80/20	1	NL	187.5	0.0517	774	286	1060	1083	-2.2%
80/20	2	NL	182.5	0.1139	351	137	488	510	-4.3%
80/20	2	NL	185	0.1126	355	137	492	510	-3.5%
80/20	2	NL	187.5	0.1121	357	137	494	510	-3.2%
90/10	0.5	NL	260	0.0186	2151	594	2745	3258	-15.8%
90/10	0.5	NL	310	0.0156	2564	594	3158	3258	-3.1%
90/10	0.5	NL	320	0.0151	2649	594	3243	3258	-0.5%
90/10	0.5	NL	330	0.0146	2740	594	3334	3258	2.3%
90/10	0.5	NL	370	0.013	3077	594	3671	3258	12.7%
90/10	0.5	NL	380	0.0128	3125	594	3719	3258	14.1%

Κινητή Φάση	Ροή (μL/min)	Αναλύτης	Σταθέρα	u_{comp} (mm/sec)	t_{chip} (sec)	t_{tubes} (sec)	t_{comp_R} (sec)	t_{exp_R} (sec)	σφάλμα (%)
90/10	1	NL	330	0.0297	1347	286	1633	2506	-34.8%
90/10	1	NL	335	0.0291	1375	286	1661	2506	-33.7%
90/10	1	NL	340	0.0287	1394	286	1680	2506	-33.0%
90/10	2	NL	330	0.0601	666	137	803	826	-2.8%
90/10	2	NL	335	0.0593	675	137	812	826	-1.8%
90/10	2	NL	340	0.0585	684	137	821	826	-0.6%

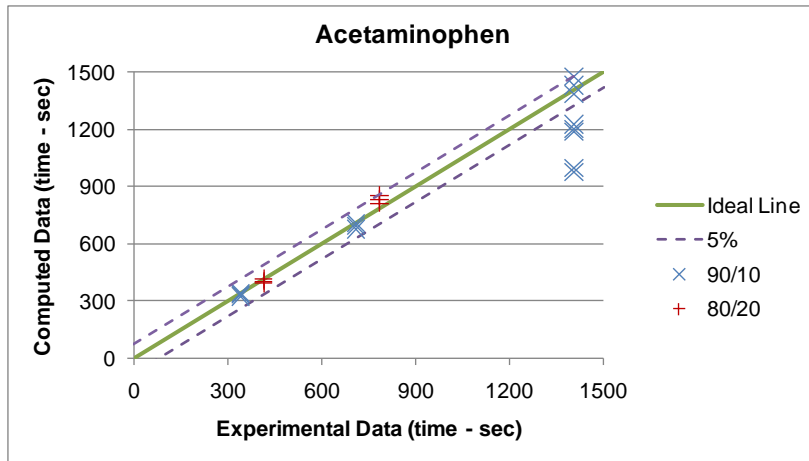
Καθώς στις πειραματικές μετρήσεις υπεισέρχονται και αστάθμητοι παράγοντες, η επιλογή των σταθερών K έγινε με κριτήριο την ελαχιστοποίηση του σφάλματος ανά αναλύτη και ανά μείγμα κινητής φάσης. Η αλληλεπίδραση των αναλυτών με την στάσιμη φάση δεν εξαρτάται από την ροή, επομένως και για τις τρεις τιμές ροών η σταθερά για κάθε αναλύτη και κάθε σύσταση κινητής φάσης πρέπει να είναι κοινή.

Εξάλλου, όπως ειπώθηκε και στο κυρίως κείμενο (παράγραφος 4.6.1) η σταθερά συγκράτησης k' εμφανίζει μια κανονικότητα η οποία ωστόσο παρουσιάζει υπό δεδομένες συνθήκες κάποιες αποκλίσεις (Πίνακας 12). Οι αποκλίσεις αυτές που στο κυρίως κείμενο επισημαίνονται με σκίαση, συνεπάγονται σημαντικό σφάλμα ως προς τις υπολογισμένες τιμές και επισημαίνονται επίσης με κόκκινο ή πορτοκαλί χρώμα γραμματοσειράς στον Πίνακα 20. Με πράσινη απόχρωση γραμματοσειράς επισημαίνονται οι σταθερές που δίνουν καλύτερη προσέγγιση της υπολογιστικής τιμής προς την πειραματική τιμή χρόνου έκλυσης.

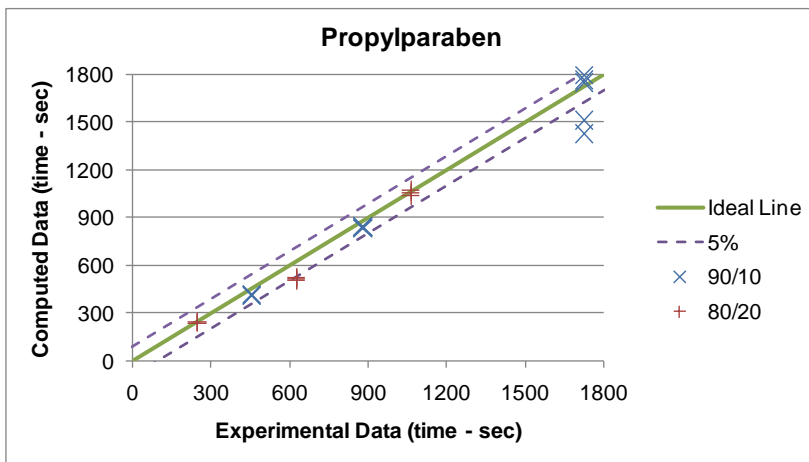
Στα Διαγράμματα 12 έως 15 δίνονται γραφήματα με τον υπολογισμένο χρόνο έκλυσης συναρτήσει του πειραματικού για κάθε αναλύτη. Η ιδεατή γραμμή αντιστοιχεί σε μηδενικό πόσοστο σφάλματος και παριστάνεται με πράσινη συνεχής γραμμή. Με μώβ διακεκομμένες γραμμές δίνεται ζώνη με ποσοστό σφάλματος $\pm 5\%$. Οι επιλεχθείσες τιμές των σταθερών αντίδρασης K αντιστοιχούν σε σημεία που βρίσκονται εντός της ζώνης σφάλματος $\pm 5\%$ και όσο το δυνατόν πλησιέστερα στην ιδεατή γραμμή.



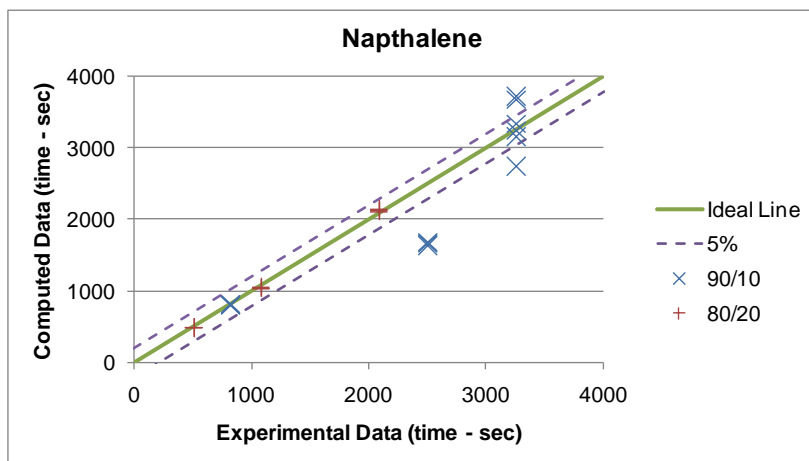
Διάγραμμα 12: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλυσης του αναλύτη Sodium Benzoate



Διάγραμμα 13: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλυσης του αναλύτη Acetaminophen



Διάγραμμα 14: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλυσης του αναλύτη Propylparaben



Διάγραμμα 15: Υπολογισμένες τιμές συναρτήσει πειραματικών για τον χρόνο έκλυσης του αναλύτη Napthalene

Παράρτημα Γ

Αποτελέσματα Προσομοιώσεων Χρωματογραφικής Ανάλυσης σε Στήλη με Κυλινδρικούς Μικρο-κίονες

Στον Πίνακα 21 δίνονται οι χρόνοι έκλουσης t_R ψηφίδας για την κινητή φάση και τους τέσσερις αναλύτες όπως υπολογίστηκαν από προσομοίωση σε περιοχή 2x10 στοιχειωδών κελιών και αναγωγή στο συνολικό μήκος της στήλης. Η σύσταση της κινητής φάσης είναι H₂O/ACN:90/10. Κάθε συστοιχία στηλών αντιστοιχεί σε διαφορετική διάμετρος μικρο-κίωνων d_p . Μαζί με τον χρόνο έκλουσης δίνονται και οι σταθερές συγκράτησης k' για όλες τις περιπτώσεις ροών κινητής φάσης. Στις τελευταίες σειρές του πίνακα δίνονται οι σταθερές αντίδρασης K ανά αναλύτη, ο μέσος όρος σταθεράς συγκράτησης (για όλες τις ροές) και η αναλογία μεταξύ των δύο σταθερών. Στον Πίνακα 22 δίνονται αντίστοιχα αποτελέσματα υπολογισμών για σύσταση κινητής φάσης H₂O/ACN:80/20.

Πίνακας 22: Αποτελέσματα προσομοιώσεων όσον αφορά τους χρόνους έκλουσης t_R σε επίπεδο ψηφίδας. Υπολογισμός σταθερών συγκράτησης k' και αντίδρασης K ανά αναλύτη και η μεταξύ τους συσχέτιση. (Σύσταση κινητής φάσης H₂O/ACN:90/10)

Διάμετρος Μικρο-κίωνων		15 μm			15.5 μm			16μm			16.5μm		
Πορώδες ε (%)		43.4			39.6			35.7			31.6		
Κινητή Φάση		90/10			90/10			90/10			90/10		
Ροή (μL/min)		0.5	1	2	0.5	1	2	0.5	1	2	0.5	1	2
t_R	mobile	21	11	5	20	10	5	18	9	4	16	8	4
	SB	810	404	202	755	379	190	701	350	175	635	318	159
	AMP	1717	849	429	1600	794	395	1493	743	373	1351	673	338
	PP	2410	1212	606	2273	1136	568	2105	1050	525	1914	955	477
	NL	5556	2759	1356	5195	2597	1299	4819	2410	1205	4396	2198	1096
k'	mobile	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	SB	36.86	36.76	36.80	36.74	36.91	36.95	38.87	38.87	38.87	39.81	39.90	39.88
	AMP	79.24	78.38	79.31	79.00	78.37	77.97	83.95	83.63	83.98	85.85	85.55	86.01
	PP	111.63	112.30	112.41	112.64	112.64	112.64	118.83	118.51	118.56	122.00	121.70	121.73
	NL	258.68	256.86	252.74	258.74	258.74	258.74	273.30	273.29	273.40	281.51	281.48	280.78
K/k'	SB	47.5	36.81	1.29	47.5	36.87	1.29	47.5	38.87	1.22	47.5	39.86	1.19
	AMP	102.5	78.98		102.5	78.45		102.5	83.86		102.5	85.81	
	PP	142.5	112.12		142.5	112.64		142.5	118.63		142.5	121.81	
	NL	335.0	256.09		335.0	258.74		335.0	273.33		335.0	281.26	

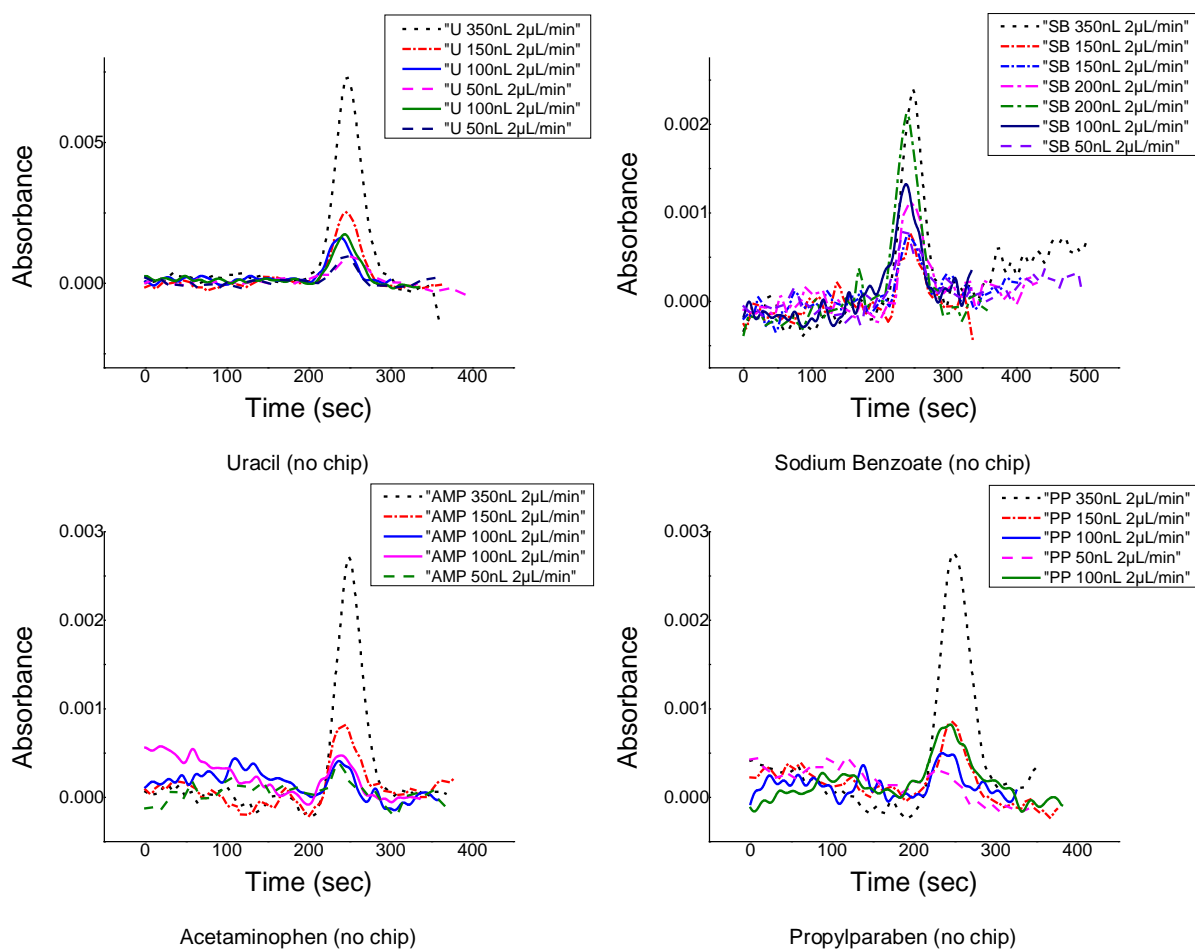
Πίνακας 23: Αποτελέσματα προσομοιώσεων όσον αφορά τους χρόνους έκλουσης t_R σε επίπεδο ψηφίδας. Υπολογισμός σταθερών συγκράτησης k' και αντίδρασης K ανά αναλύτη και η μεταξύ τους συσχέτιση. (Σύσταση κινητής φάσης H₂O/ACN:80/20)

Διάμετρος Μικρο-κίωνων		15 μm			15.5 μm			16μm			16.5μm		
Πορώδες ε (%)		43.4			39.6			35.7			31.6		
Κινητή Φάση		80/20			80/20			80/20			80/20		
Ροή (μL/min)		0.5	1	2	0.5	1	2	0.5	1	2	0.5	1	2
t_R	mobile	21	11	5	20	10	5	18	9	4	16	8	4
	SB	146	73	37	136	68	34	125	63	31	113	57	28
	AMP	478	239	120	447	224	112	413	207	103	375	187	94
	PP	976	488	244	907	457	228	844	422	211	768	384	192
	NL	3125	1544	762	2920	1449	729	2721	1351	673	2469	1231	616
k'	mobile	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	SB	5.82	5.82	5.92	5.80	5.81	5.81	6.12	6.14	6.14	6.29	6.30	6.30
	AMP	21.36	21.36	21.38	21.37	21.36	21.38	22.52	22.51	22.39	23.09	23.09	23.09
	PP	44.60	44.60	44.59	44.35	44.71	44.66	47.03	47.03	47.05	48.34	48.29	48.35
	NL	145.07	143.36	141.58	144.99	143.93	144.72	153.88	152.82	152.37	157.69	157.19	157.47
K/k'	SB	7.5	5.86	1.29	7.5	5.81	1.29	7.5	6.13	1.22	7.5	6.29	1.19
	AMP	27.5	21.37		27.5	21.37		27.5	22.47		27.5	23.09	
	PP	57.5	44.60		57.5	44.58		57.5	47.04		57.5	48.33	
	NL	187.5	143.34		187.5	144.54		187.5	153.02		187.5	157.45	

Παράρτημα Δ

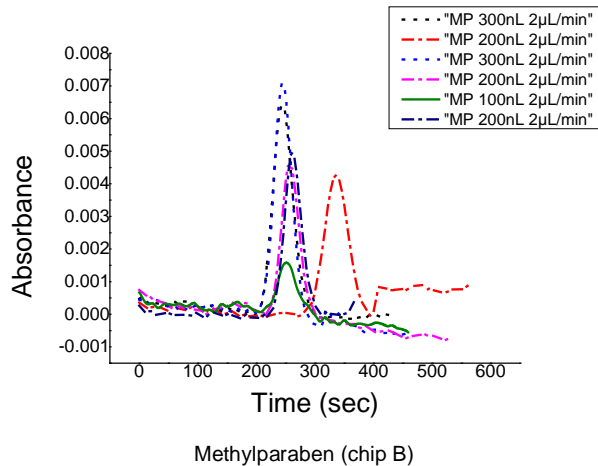
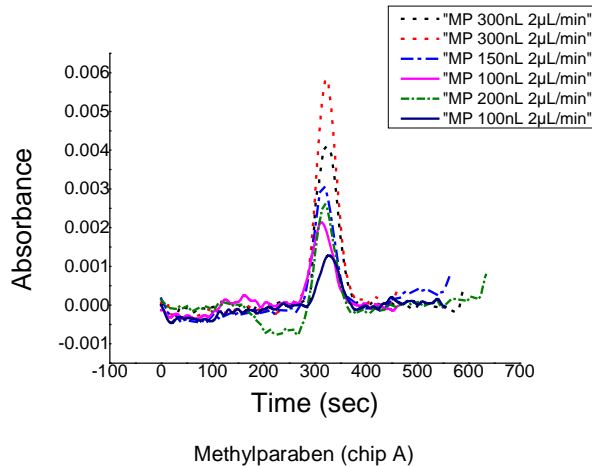
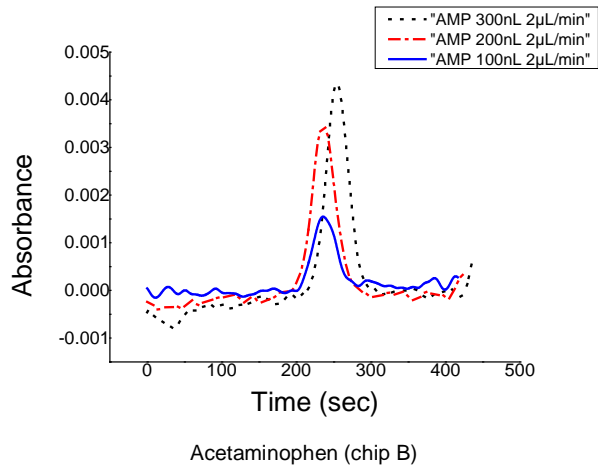
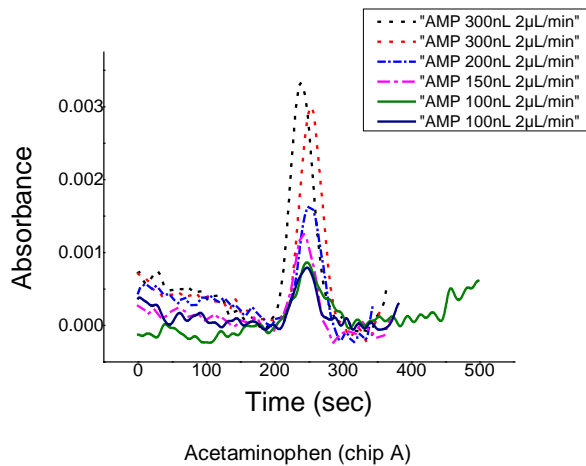
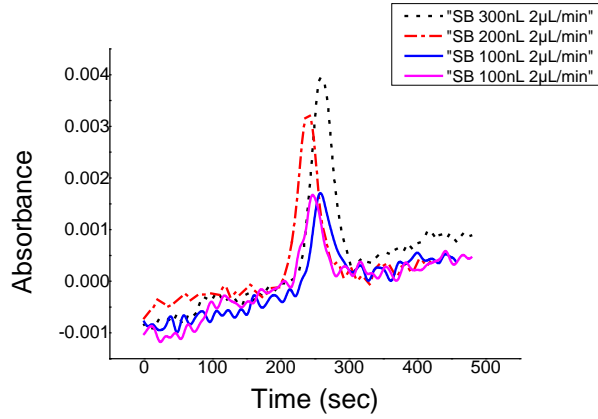
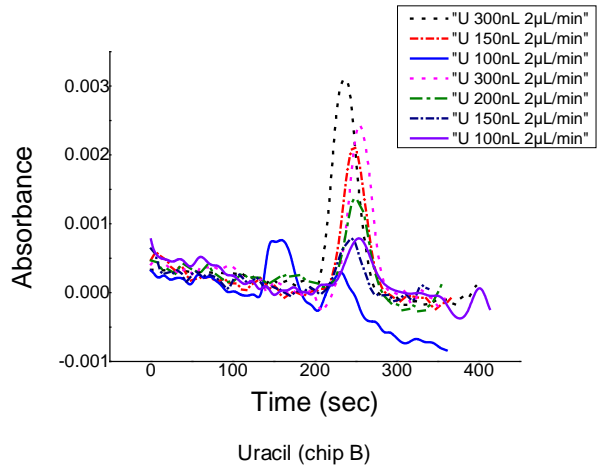
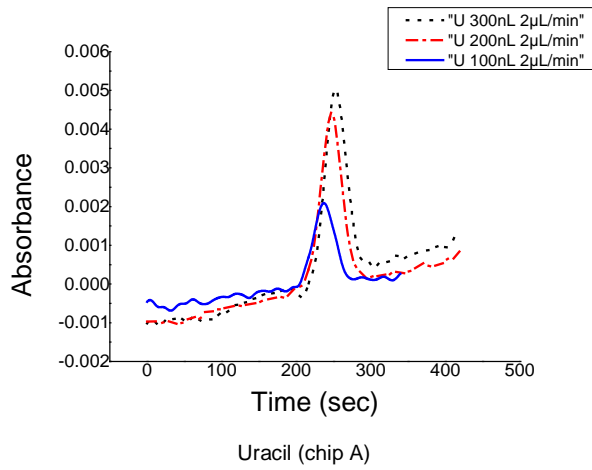
Αποτελέσματα Πειραμάτων Χρωματογραφίας

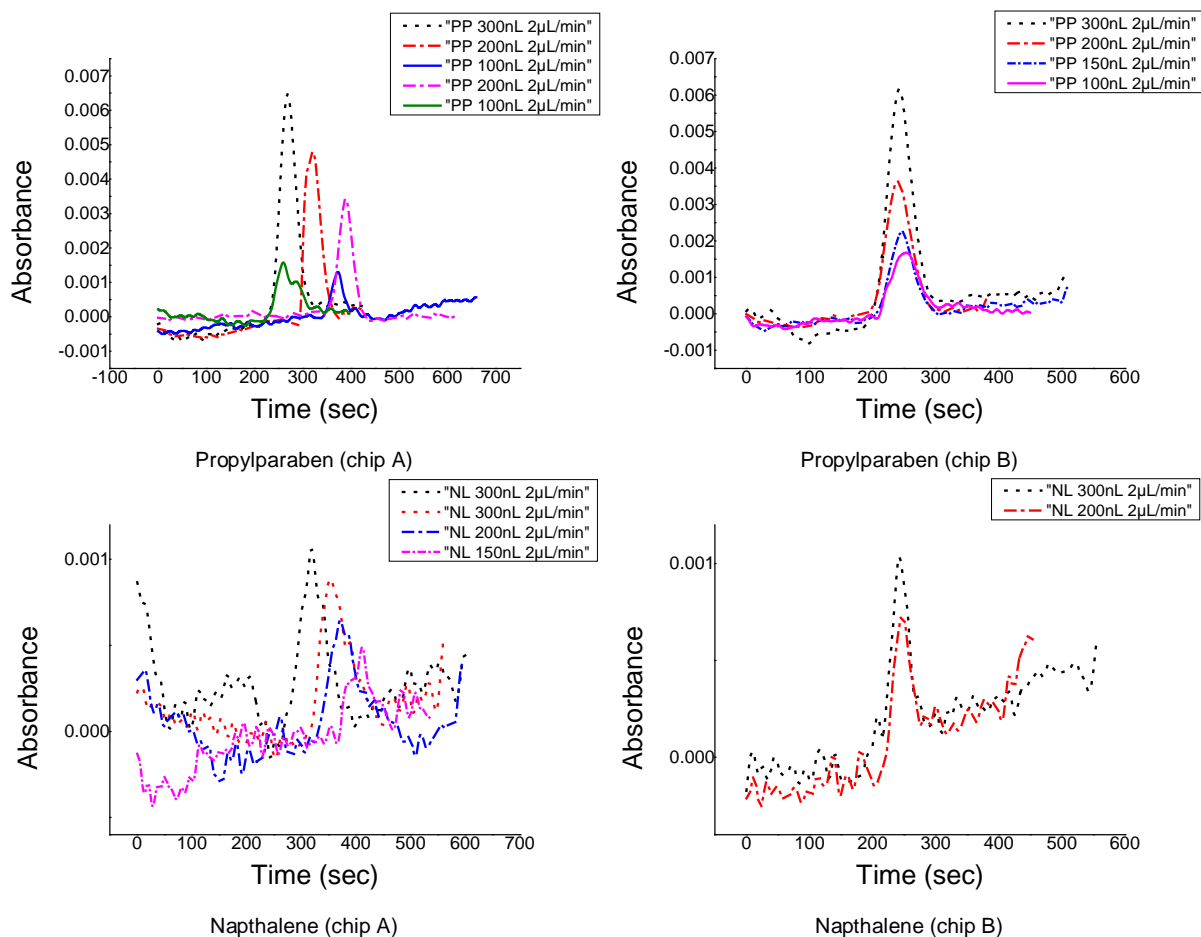
Στην Εικόνα 70 δίνονται χρωματογράμματα τεσσάρων ουσιών (Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen και Propylparaben) σε πειραματική διάταξη αναλύσεων χωρίς όμως παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης. Σε όλες τις περιπτώσεις η κινητή φάση είναι διάλυμα H₂O/ACN:90/10 ενώ η ροή ισούται με 2μl/min.



Εικόνα 70: Χρωματογράμματα διάταξης χωρίς παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης. Χρησιμοποιούμενες ουσίες Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen, Propylparaben

Στην Εικόνα 71 δίνονται χρωματογράμματα όλων των ουσιών (Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen, Methylparaben, Propylparaben και Napthalene) σε πειραματική διάταξη αναλύσεων παρεμβάλλοντας την κατασκευασθείσα χρωματογραφική στήλη. Σε όλες τις περιπτώσεις η κινητή φάση είναι διάλυμα H₂O/ACN:90/10 ενώ η ροή ισούται με 2μl/min.





Εικόνα 71: Χρωματογράμματα διάταξης με την παρεμβολή της χρωματογραφικής στήλης. Χρησιμοποιούμενες ουσίες Uracil, Sodium Benzoate, Acetaminophen, Methylparaben, Propylparaben, Napthalene

Στον Πίνακα 23 δίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των πειραμάτων χρωματογραφίας για το σύνολο των ουσιών. Σε όλες τις περιπτώσεις η κινητή φάση είναι διάλυμα $H_2O/ACN:90/10$ ενώ η ροή ισούται με $2\mu l/min$.

Πίνακας 24: Αναλυτικοί χρόνοι έκλουσης αναλυτών διαμέσου διάταξης με και χωρίς παρεμβολή χρωματογραφικής στήλης. Κινητή φάση $H_2O/ACN:90/10$, ροή $2\mu l/min$, σωλήνα quartz 15cm.

Αναλύτης	Διαμόρφωση Διάταξης	Κινητή Φάση	Όγκος (nL)	Ροή ($\mu L/min$)	Χρόνος (sec)
Uracil	tubes	90/10	350	2	242
Uracil	tubes	90/10	150	2	246
Uracil	tubes	90/10	100	2	237
Uracil	tubes	90/10	50	2	250
Uracil	tubes	90/10	100	2	243
Uracil	tubes	90/10	50	2	244
Uracil	tubes	90/10	350	2	243
Uracil	tubes	90/10	150	2	244
Uracil	tubes	90/10	100	2	248
Uracil	tubes	90/10	100	2	233
Uracil	tubes	90/10	50	2	242

Αναλύτης	Διαμόρφωση Διάταξης	Κινητή Φάση	Όγκος (nL)	Ροή (μL/min)	Χρόνος (sec)
Uracil	chip A	90/10	300	2	247
Uracil	chip A	90/10	200	2	244
Uracil	chip A	90/10	200	2	235
Uracil	chip B	90/10	300	2	232
Uracil	chip B	90/10	150	2	248
Uracil	chip B	90/10	100	2	228
Uracil	chip B	90/10	300	2	251
Uracil	chip B	90/10	200	2	249
Uracil	chip B	90/10	150	2	242
Uracil	chip B	90/10	100	2	254
Sodium Benzoate	tubes	90/10	350	2	246
Sodium Benzoate	tubes	90/10	150	2	243
Sodium Benzoate	tubes	90/10	150	2	245
Sodium Benzoate	tubes	90/10	200	2	245
Sodium Benzoate	tubes	90/10	200	2	238
Sodium Benzoate	tubes	90/10	100	2	239
Sodium Benzoate	tubes	90/10	50	2	235
Sodium Benzoate	chip B	90/10	300	2	256
Sodium Benzoate	chip B	90/10	200	2	234
Sodium Benzoate	chip B	90/10	100	2	253
Sodium Benzoate	chip B	90/10	100	2	248
AcetaMinoPhen	tubes	90/10	350	2	245
AcetaMinoPhen	tubes	90/10	150	2	239
AcetaMinoPhen	tubes	90/10	100	2	244
AcetaMinoPhen	tubes	90/10	100	2	241
AcetaMinoPhen	tubes	90/10	50	2	239
AcetaMinoPhen	chip A	90/10	300	2	235
AcetaMinoPhen	chip A	90/10	300	2	248
AcetaMinoPhen	chip A	90/10	200	2	249
AcetaMinoPhen	chip A	90/10	150	2	241
AcetaMinoPhen	chip A	90/10	100	2	243
AcetaMinoPhen	chip A	90/10	100	2	246
AcetaMinoPhen	chip B	90/10	300	2	252
AcetaMinoPhen	chip B	90/10	200	2	233
AcetaMinoPhen	chip B	90/10	100	2	236
MethylParaben	chip A	90/10	300	2	318
MethylParaben	chip A	90/10	300	2	319
MethylParaben	chip A	90/10	150	2	316
MethylParaben	chip A	90/10	100	2	313
MethylParaben	chip A	90/10	200	2	316
MethylParaben	chip A	90/10	100	2	325
MethylParaben	chip B	90/10	300	2	243
MethylParaben	chip B	90/10	200	2	337

Αναλύτης	Διαμόρφωση Διάταξης	Κινητή Φάση	Όγκος (nL)	Ροή (μL/min)	Χρόνος (sec)
MethylParaben	chip B	90/10	300	2	243
MethylParaben	chip B	90/10	200	2	254
MethylParaben	chip B	90/10	100	2	254
MethylParaben	chip B	90/10	200	2	259
PropylParaben	tubes	90/10	350	2	244
PropylParaben	tubes	90/10	150	2	252
PropylParaben	tubes	90/10	100	2	237
PropylParaben	tubes	90/10	50	2	239
PropylParaben	tubes	90/10	100	2	241
PropylParaben	chip A	90/10	300	2	237
PropylParaben	chip A	90/10	200	2	237
PropylParaben	chip A	90/10	150	2	245
PropylParaben	chip A	90/10	100	2	253
PropylParaben	chip A	90/10	300	2	265
PropylParaben	chip B	90/10	200	2	319
PropylParaben	chip B	90/10	100	2	370
PropylParaben	chip B	90/10	200	2	387
PropylParaben	chip B	90/10	100	2	259
Napthalene	chip A	90/10	500	2	252
Napthalene	chip A	90/10	300	2	316
Napthalene	chip A	90/10	300	2	353
Napthalene	chip A	90/10	200	2	372
Napthalene	chip A	90/10	150	2	408
Napthalene	chip B	90/10	300	2	240
Napthalene	chip B	90/10	200	2	244