Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας Τομέας Μηχανολογικών Κατάσκευων και Αυτομάτου Ελεγχου

Σχολή Μηχανολογών Μηχανικών

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Διατάξεις & Βαλβίδες Μικροροϊκών Συστημάτων

Παππάς Ιωάννης

Επιβλέπων: Επίκουρος Καθηγητής Λεωνίδας Αλεξόπουλος



AOHNA 2017

Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας Τομέας Μηχανολογικών Κατάσκευων και Αυτομάτου Ελεγχου

Σχολή Μηχανολογών Μηχανικών

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Διατάξεις & Βαλβίδες Μικροροϊκών Συστημάτων

Παππάς Ιωάννης

Επιβλέπων: Επίκουρος Καθηγητής Λεωνίδας Αλεξόπουλος

Εγκρίθηκε την 3^η Μαρτίου 2017 από την τριμελή επιτροπή:

Αλεξόπουλος Λεωνίδας Επ. Καθηγητής ΕΜΠ

Προβατίδης Χριστόφορος Καθηγητής ΕΜΠ

.....

Σπιτάς Βασίλειος Επ. Καθηγητής ΕΜΠ

......

AOHNA 2017

Copyright © Παππάς Ιωάννης, 2017

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. 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 τον συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Εμβιομηχανικής και Συστημικής Βιολογίας, της σχολής Μηχανολόγων Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, υπό την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή κ. Λεωνίδα Αλεξόπουλου.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Αλεξόπουλο που δέχτηκε να πραγματοποιήσω τη διπλωματική μου εργασία στο εργαστήριο του. Τον ευχαριστώ για την καθοδήγηση και την υποστήριξη που μου έδωσε, καθώς και για όλα τα μέσα που μου προσφέρθηκαν για την εκπόνηση της διπλωματικής μου. Μου δόθηκε η ευκαιρία να συμμετάσχω και να εργαστώ σε μια διεπιστημονική ομάδα με ανθρώπους πλήρως καταρτισμένους στο αντικείμενο τους. Οι πολύτιμες για τη μελλοντική μου σταδιοδρομία εμπειρίες και γνώσεις που απέκτησα στο εργαστήριο είναι πολύ περισσότερες από αυτές που μπορούν να αποτυπωθούν σε μια διπλωματική εργασία.

Θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα Γεώργιο Κανακάρη για την καθοδήγηση και την υποστήριξη που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια της διπλωματικής μου, χωρίς τη βοήθεια του οποίου δε θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα Θεόδωρο Σακελλαρόπουλο για την πολύτιμη συμβολή του στο κομμάτι της ανάπτυξης του λογισμικού της διάταξης. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά κάθε ένα από τα μέλη του εργαστηρίου για το υπέροχο καθημερινό κλίμα, καθώς και το συνάδελφο Σπύρο Δαλλά για την αδιάκοπη στήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου για την υποστήριξη, την εμπιστοσύνη, την υπομονή και την αγάπη τους.

Περιεχόμενα

Περ	Περίληψη1				
Abs	tract			2	
Πίνα	ακας	Εικόν	ων	3	
1.	Εισο	ιγωγή]	5	
1	1 Microfluidics				
1	.2	Cent	rifugal Microfluidics	6	
1	.3	Micr	ovalves	8	
1	.4	Beac	ls	12	
	1.4.	1	Bead – Based Sandwich Elisa	12	
	1.4.2	2	Bead Trapping	13	
1	.5	Στόχ	οι της Διπλωματικής	16	
2.	Πειρ	οαματ	α κές Μέθοδοι & Κατασκευή	17	
2	.1	Παρ	ασκευή Φίλτρων	17	
2	2.2 Κατασκευή Πειραματικών Διάτάξεων18				
	2.2.	1	Διάταξη Αντλίας Πίεσης	18	
	2.2.2	2	Φυγοκεντρική Διάταξη	22	
2	.3	Στοιγ	κεία Ελέγχου της Φυγοκεντρικής Διάταξης	37	
3.	3. Αποτελέσματα Πειραμάτων				
3	3.1 Αποτελέσματα Γεωμετρικών Βαλβίδων44				
3	.2	Αποτ	τελέσματα Φυγοκεντρικής Διάταξης (Φίλτρα)	46	
4.	. Συμπεράσματα & Μελλοντική Εργασία51				
4	4.1 Χαρακτηρισμός Φυγοκεντρικής Πειραματικής Διάταξης51				
4	4.2 Χαρακτηρισμός Τεχνολογίας Υδροφοβικών Φίλτρων/Βαλβίδων52				
5.	Βιβλ	ιογρα	χφία	53	
6.	δ. Παραρτήματα			55	
6	.1	Παρ	άρτημα Α: Κατασκευαστικά Σχέδια	55	
6	.2	Παρ	άρτημα Β: Κώδικας Λογισμικού	70	
	6.2.	1	Κώδικας Arduino	70	
	6.2.2	2	Κώδικας MATLAB	75	

Περίληψη

Η βιολογική ανάλυση δειγμάτων είναι ένας επιστημονικός κλάδος που αναπτύσσεται ταχύτατα την τελευταία δεκαετία. Η μέτρηση βιο-δεικτών, η διάγνωση και η παρακολούθηση ασθενειών είναι μερικές μόνο από τις εφαρμογές αυτού του κλάδου. Συνεπώς, καθίσταται αναγκαία η άμεση και οικονομική πρόσβαση των ασθενών σε συστήματα ικανά για ανάλυση δειγμάτων. Μέχρι στιγμής, η πολυπλοκότητα των βιολογικών πρωτοκόλλων περιορίζει τον αριθμό των εφαρμογών με αποτέλεσμα να υπάρχουν λίγα εμπορικά καταναλωτικά προϊόντα (π.χ. για μέτρηση σακχάρου) για χρήση στο σημείο ενδιαφέροντος (προσωπική χρήση). Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ο ενδιαφερόμενος πρέπει να επισκεφθεί διαγνωστικό κέντρο ή μικροβιολογικό εργαστήριο για την ανάλυση κάποιου δείγματος, ωστόσο υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον από την επιστημονική κοινότητα για την αλλαγή αυτού. Ένα από τα σημαντικότερα ζητήματα μιας τέτοιας ανάλυσης είναι η επαναλήψιμη και αποτελεσματική διαχείριση μικρών όγκων ρευστών. Όταν λοιπόν απαιτούνται πολύπλοκες διαδικασίες γι' αυτούς τους όγκους καθίσταται αναγκαίος ο έλεγχος της ροής μέσω μικρο-βαλβίδων.

Στην παρούσα διπλωματική περιγράφεται ο σχεδιασμός και η κατασκευή πειραματικών διατάξεων για τον έλεγχο μικρο-βαλβίδων. Πιο συγκεκριμένα, η παρούσα εργασία επικεντρώνεται σε μικρο-βαλβίδες ικανές να ενταχθούν σε Φυγοκεντρικά Μικροροϊκά Συστήματα (Centrifugal Microfluidic Systems).

Εκτός αυτού, ερευνήθηκε και ελέγχθηκε πειραματικά μια καινοτόμος βαλβίδα. Πρόκειται περί ενός υβριδικού φίλτου/βαλβίδας, ικανού να αναστείλει τη ροή του ρευστού μεχρι την ανάπτυξη μιας δεδομένης πίεσης καθώς και να στραγγαλίσει τη ροή, ρυθμίζοντας έτσι την παροχή. Η εύρωστη και επαναλήψιμη λειτουργία μιας τέτοιας βαλβίδας μπορεί να απλοποιήσει σημαντικά τις λειτουργίες ενός τέτοιου Διαγνωστικού Συστήματος.

Τέλος, παρουσιάζονται τα πειραματικά αποτελέσματα της συγκεκριμένης μικρο-βαλβίδας στη διάταξη που αναφέραμε.

Abstract

Biological sample analysis is a scientific discipline that has developed rapidly over the last decade. Measuring bio-markers, diagnosing and disease monitoring are only some of the applications of this industry. Therefore, it is necessary for consumers to have fast, easy and affordable access to systems capable of analyzing samples. So far, the complexity of biological protocols limits the number of applications and as a result, there are only a few commercial products available (e.g. sugar measurement) for point of care use. In most cases one has to visit a diagnostic center/microbiological lab in order to be provided with such services, but the scientific community is interested in changing that. The aforementioned sample analysis requires reproducible and effective management of small volumes of fluids and therefore the development of micro-valves.

In this thesis, we describe the design and construction process of an experimental device for micro-valves. More specifically, this paper focuses on micro-valves for Centrifugal Microfluidic Systems.

Furthermore, a novel type of valve was manufactured and tested. This is a hybrid filter/valve able to stop the fluid flow until pressure reaches a certain level as well as regulating the flow when it opens. The robust operation of such a valve can significantly simplify the operations of a Diagnostic/Measuring System.

Finally, we present and analyse the experimental results of this type of micro-valve in the setup we manufactured.

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1: Σχέση Κλίμακας με κυριαρχούντα φαινόμενα [2]	5
Εικόνα 2: Δυνάμεις στήλης ρευστού σε Περιστρεφόμενο Δίσκο [3]	6
Εικόνα 3: Ετήσιος Αριθμός Δημοσιεύσεων για Centrifugal Microfluidics [6]	7
Εικόνα 4: Κατηγοριοποίηση μικρο-Βαλβίδων [7]	8
Εικόνα 5: Σύνοψη Χαρακτηριστικών Βαλβίδων από Review Paper [8]	9
Εικόνα 6: Τριχοειδής Γεωμετρικές Βαλβίδες [4, 8]	9
Εικόνα 7: Τριχοειδής Υδροφοβικές Βαλβίδες [4]	10
Εικόνα 8: Siphoning Valve Operation [9]	10
Εικόνα 9: Flyball Valve – Working Principle	11
Εικόνα 10: Flyball Valve – Flow Path	11
Εικόνα 11: Βήματα Bead - Based Sandwich Elisa	12
Εικόνα 12: Διαμορφώσεις Παγίδευσης Beads [12]	13
Εικόνα 13: Παγίδα Μικροσφαιριδίων με Κοιλότητα [13]	13
Εικόνα 14: Φυγοκεντρικό Φίλτρο [14]	14
Εικόνα 15: Κλουβί Παγίδευσης Μικροσφαιριδίων [15]	14
Εικόνα 16: Πορώδες Φίλτρο [16]	15
Εικόνα 17: Μαγνητική Παγίδευση Μικροσφαιριδίων	15
Εικόνα 18: Υδροφοβοποίηση μέσω εναπώθεσης Νανοσωματιδίων [17]	17
Εικόνα 19: Κομμάτι Φίλτρου, Υδροφοβικό Spray & Biopsy Punch	18
Εικόνα 20: Σχέδιο Διάταξης Γεωμετρικών Βαλβίδες	19
Εικόνα 21: Κατασκευή Διάαξης Γεωμετρικών Βαλβίδων	20
Εικόνα 22: Πειραματικό Chip	21
Εικόνα 23: Concept Φυγοκεντρικής Διάταξης	22
Εικόνα 24: Assembly CAD Φυγοκεντρικής Διάταξης	23
Εικόνα 25: Chip 1 (Normal Flow)	24
Εικόνα 26: Σχέδιο Chip 2 (Lateral Flow)	26
Εικόνα 27: Υλοποίηση Chip 2 (Lateral Flow)	27
Εικόνα 28: Σχέδιο Κοπής σε Laser Cut 1: Waste Chamber 2: Inlet Chamber	27
Εικόνα 29: Σχέδιο Κοπής σε CNC Φρέζα (HAAS) 1: Ποκέτα Φίλτρου 2: Κανάλι Ρευστού	28
Εικόνα 30: Διαστάσεις Καναλιού προς Φρεζάρισμα	29
Εικόνα 31: Τοποθέτηση Καλίμπρας (αριστερά) & Τοποθέτηση τεμαχίου (δεξιά) στη CNC Φρέζα	29
Εικόνα 32: Προσομοίωση Διαδρομής Εργαλείου σε SolidCAM	30
Εικόνα 33: Μέτρηση πάχους Chip (αριστερά), Βάθους Ποκέτας (μέση) & Πάχους Φίλτρου (δεξιά)	30
Εικόνα 34: Μέθοδος Μέτρησης Βάθους Ποκέτας Φίλτρων	31
Εικόνα 35: Πρέσσα BOSE για μέτρηση πάχους φίλτρου	32
Εικόνα 36: Πρόβλημα Στεγάνωσης Chip 2 (Lateral Flow)	33
Εικόνα 37: CAD Στρατζωτού Πλαισίου	34
Εικόνα 38: Κατασκευή Πλαισίου στη Στράτζα	35
Εικόνα 39: Ενσωμάτωση Διάταξης στο Πλαίσιο	36
Εικόνα 40: Schematic Wiring Diagram	37
Εικόνα 41: Electrical Diagram	38
Εικόνα 42: Σύνδεση Optocoupler (LED ON/Unblocked = Output HIGH) [24]	39
Εικόνα 43: Μέτρηση Στροφών - Πρόβλημα Θορύβου	40
Εικόνα 44: Σήμα Μέτρησης Στροφών χωρίς Θόρυβο	41
Εικόνα 45: Πειραματικές & Θεωρητικές Τιμές για το χρόνο μιας πλήρους περιστροφής	42

Εικόνα 46: Πίεση Κατάρρευσης Γεωμετρικών Βαλβίδων	44
Εικόνα 47: Πίεση Κατάρρευσης Υδροφοβικών Βαλβίδων (Φυγοκεντρική Διάταξη)	46
Εικόνα 48: Απόκριση Στήλης Ρευστού Βαλβίδα - Χ	47
Εικόνα 49: Απόκριση Στήλης Ρευστού Βαλβίδας – V	48
Εικόνα 50: Ποσοτικοποίηση Σφάλματος Πειραμάτων σειράς –d–	49
Εικόνα 51: Προφίλ Ταχύτητας κατά τη διάρκεια του Πειράματος	50
Εικόνα 52: Πειραματικά Αποτελέσματα Chip02	50
Εικόνα 48: Απόκριση Στήλης Ρευστού Βαλβίδα - Χ Εικόνα 49: Απόκριση Στήλης Ρευστού Βαλβίδας – V Εικόνα 50: Ποσοτικοποίηση Σφάλματος Πειραμάτων σειράς –d– Εικόνα 51: Προφίλ Ταχύτητας κατά τη διάρκεια του Πειράματος Εικόνα 52: Πειραματικά Αποτελέσματα ChipO2	47 48 49 50 50

1. Εισαγωγή

1.1 Microfluidics

Ο όρος Microfluidics αναφέρεται σε ένα διεπιστημονικό πεδίο που συνδυάζει τομείς όπως μηχανική, φυσική, χημεία, νανοτεχνολογία, βιοτεχνολογία, με πρακτικές εφαρμογές στο σχεδιασμό συστημάτων στα οποία μικροί όγκοι υγρών υφίστανται επεξεργασία για να επιτευχθεί multiplexing, αυτοματοποίηση και highthroughput screening. Άρχισε ν' αναπτύσσεται τη δεκαετία του 1980 και χρησιμοποιείται σε κεφαλές εκτύπωσης inkjet, DNA Chips, τεχνολογίες Lab on Chip, κλπ. Ασχολείται με τη συμπεριφορά και τον έλεγχο της ροής του ρευστού που περιορίζεται γεωμετρικά στην κλίμακα του υπο-χιλιοστού. Συνήθως, ο όρος micro συνεπάγεται τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- Μικροί Όγκοι Ρευστού [μL, nL]
- Μικρό Μέγεθος Διάταξης
- Χαμηλή Κατανάλωση Ενέργειας
- Δίκτυο μικρο-καναλιών
- Φαινόμενα της μικρο-κλίμακας (π.χ. επιφανειακές τάσεις λόγω διαμοριακών δυνάμεων)

Συνεπώς, για τον επαναλήψιμο χειρισμό μικρών όγκων ρευστού, είναι απαραίτητη η κατανόηση των φαινομένων που κυριαρχούν σε αυτό το πλαίσιο. Στη μικρο-κλίμακα, όπου ο αριθμός Reynolds είναι πολύ χαμηλός και η ροή στρωτή, η συμπεριφορά της ροής του ρευστού κυριαρχείται από φαινόμενα όπως:

- Επιφανειακή Τάση
- Αντίσταση Ροής
- Διάχυση Ενέργειας

Αυτό σημαίνει ότι πρέπει να υπάρχει αξιόπιστος έλεγχος σε φυσικές και χημικές ιδιότητες (συγκέντρωση, pH, θερμοκρασία, διάτμητική τάση, κλπ) του ρευστού [1].



Εικόνα 1: Σχέση Κλίμακας με κυριαρχούντα φαινόμενα [2]

Όπως σε κάθε υδραυλικό κύκλωμα, είναι απαραίτητη η ενεργειακή ανύψωση του ρευστού για την ανάπτυξη πίεσης και τη δημιουργία παροχής. Αυτό, σε μεγαλύτερη κλίμακα, συνήθως επιτυγχάνεται με αντλίες κινούμενες από ηλεκτροκινητήρες. Συνέπεια αυτού είναι η αύξηση του όγκου και της πολυπλοκότητας της κατασκευής, γεγονός που οδήγησε στην αναζήτηση νέων μεθόδων ενεργειακής ανύψωσης του ρευστού σε ότι αφορά τα Microfluidics. Υπάρχουν διάφορες ιδέες για την ανάπτυξη πίεσης σε αυτές τις διαστάσεις, ωστόσο στο παρόν εκπόνημα θα εστιάσουμε στην ιδέα του Centrifugal Microfluidics.

1.2 Centrifugal Microfluidics

Η βασική αρχή πάνω στην οποία στηρίζεται αυτή η ιδέα είναι η ανάπτυξη φυγόκεντρου δύναμης σε περιστρεφόμενες μάζες. Έστω ένας δίσκος με δεξαμενές ρευστού και κανάλια που περιστρέφεται με γωνιακή ταχύτητα ω [r/s] (Εικόνα 2). Η φυγόκεντρος δύναμη που αναπτύσσεται στη στήλη του ρευστού λειτουργεί σαν τεχνητό βαρυτικό πεδίο ωθώντας το ρευστό ακτινικά προς τα έξω. Όπως φαίνεται στον τύπο (I), το σημαντικό σημείο εδώ είναι ότι η «βαρυτική δύναμη» είναι ανάλογη του τετραγώνου της γωνιακής ταχύτητας, γεγονός που επιτρέπει την ανάπτυξη κάθε επιθυμητής (θετικής) πίεσης εντός ορισμένων περιορισμών.

$$f_{\omega} = -\rho \cdot \omega \times (\omega \times r) \tag{1}$$

Όπου ω = γωνιακή ταχύτητα

ρ = πυκνότητα ρευστού

- r = μέση ακτίνα από άξονα περιστροφής
- f_{ω} = φυγόκεντρος δύναμη



Εικόνα 2: Δυνάμεις στήλης ρευστού σε Περιστρεφόμενο Δίσκο [3]

Η φυγόκεντρος δύναμη ασκείται στο στοιχειώδες στοιχείο ρευστού που φαίνεται στην Εικόνα 2 με συνέπεια την ανάπτυξη φυγοκεντρικής πίεσης στο ακτινικό κανάλι. Η πίεση αυτή δίνεται από τον τύπο (*II*)

$$\Delta P_c = \frac{1}{2} \cdot \rho \cdot \omega^2 \cdot \left(r_{out}^2 - r_{in}^2 \right) \tag{II}$$

Οι δυνάμεις Coriolis και Euler υπό συνθήκες παίζουν σημαντικό ρόλο σε ένα φυγοκεντρικό σύστημα, η ανάλυσή τους όμως ξεφεύγει από τα πλαίσια του παρόντος και θα μπερδέψει τον αναγνώστη.

Η μεγάλη απήχηση της ιδέας αυτής στην επιστημονική κοινότητα οφείλεται στα εξής σημεία [4]:

- Απουσία Αντλίας
- Απουσία Επενεργητών
- Δυνατότητα Παράλληλης Επεξεργασίας & Υλοποίησης Περίπλοκων Βιολογικών Πρωτοκόλλων
- Διακίνηση Ικανοποιητικού Εύρους Παροχών $\left(1\left[\frac{nL}{s}\right] 100\left[\frac{mL}{s}\right]\right)$
- Ανάπτυξη Πίεσης ανεξάρτητα από χημική σύσταση
- Χαμηλό Κόστος
- Απλό Design
- Δυνατότητα Σμίκρυνσης των Διαστάσεων



Εικόνα 3: Ετήσιος Αριθμός Δημοσιεύσεων για Centrifugal Microfluidics [6]

Το ενδιαφέρον της Εμβιομηχανικής κοινότητας για τέτοια συστήματα (Centrifugal Microfluidics) είναι εμφανές από το πλήθος των επιστημονικών δημοσιεύσεων στον τομέα της έρευνας (Εικόνα 3). Ο στόχος είναι να κατασκευαστούν μικρού μεγέθους και χαμηλού κόστους διαγνωστικά μηχανήματα, κατάλληλα να πραγματοποιούν βιολογικές αναλύσεις, τα οποία ο καταναλωτής θα μπορεί να προμηθευτεί και να χρησιμοποιεί από το σπίτι του (π.χ. μέτρητης σακχάρου). Παρ' όλα αυτά, μέχρι τώρα λίγες εταιρίες έχουν καταφέρει να δημιουργήσουν έτοιμα προϊόντα και να τα διαθέσουν στην αγορά [5]. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα βιολογικά πρωτόκολλα που απαιτούνται για τη διάγνωση κάποιας ασθένειας συχνά είναι περίπλοκα και οι απαιτούμενες διαδικασίες σε ένα Φυγοκεντρικό Σύστημα δεν είναι επαναλήψιμες. Παρακάτω, αναφέρονται οι βασικές λειτουργίες που πρέπει να πραγματοποιούνται σε ένα τέτοιο σύστημα:

- Παροχή δείγματος και αντιδραστηρίων
- Ογκομέτρηση
- Διάσπαση/Καταμερισμός Δείγματος
- Μεταφορά Ρευστού
- Έλεγχος Διόδων (Βαλβίδες)
- Ανάμειξη Ροών
- Διαχωρισμός μειγμάτων
- Οπτική Ανίχνευση σωματιδίων (beads)

Από αυτές τις απαραίτητες διεργασίες εμείς ασχοληθήκαμε με το κομμάτι των μικρο-βαλβίδων. Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, οι βαλβίδες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε 2 μεγάλες ομάδες ανάλογα με το πώς ανοίγουν:

- Active Valves: Το άνοιγμα της βαλβίδας πυροδοτείται από το χειριστή
- Passive Valves: Το άνοιγμα της βαλβίδας εξαρτάται μόνο από τις συνθήκες της ροής

1.3 Microvalves

Όπως φαίνεται στην (Εικόνα 4) οι ερευνητές [7] έχουν ταξινομήσει τις βαλβίδες ανάλογα με τη φυσική του μηχανισμού τους (π.χ. Capillary, Pneumatic, Electric, Magnetic, κλπ). Στο παρόν εκπόνημα, επικεντρωθήκαμε στη μελέτη των Passive Valves.

Categories Section				
Active	Mechanical	Magnetic	External magnetic fields	2.1.1
			Integrated magnetic inductors	2.1.2
		Electric	Electrostatic	2.2.1
			Electrokinetic	2.2.2
		Piezoelectric		2.3
		Thermal	Bimetallic	2.4.1
			Thermopneumatic	2.4.2
			Shape memory alloy	2.4.3
		Bistable	1 2 2	2.5
	Non-mechanical	Electrochemical		3.1
		Phase change	Hydrogel	3.2.1
		e.	Sol-gel	3.2.2
			Paraffin	3.2.3
		Rheological	Electro-rheological	3.3.1
			Ferrofluids	3.3.2
	External	Modular	Built-in	4.1.1
			Rotary	4.1.2
		Pneumatic	Membrane	4.2.1
			In-line .	4.2.2
Passive	Mechanical	Check valve	Flap	5.1
			Membrane	5.2
			Ball	5.3
			In-line mobile structure	5.4
	Non-mechanical		Diffuser	6.1
		Capillary	Abrupt	6.2
			Liquid triggered	6.2
			Burst	6.2
			Hydrophobic valve	6.2

Εικόνα 4: Κατηγοριοποίηση μικρο-Βαλβίδων [7]

Πρέπει να σημειωθεί πως ο όρος βαλβίδα σε αυτές τις διαστάσεις **διαφέρει από τις συνήθεις βαλβίδες** υδραυλικών κυκλωμάτων. Αυτό συμβαίνει αφενός διότι η φυσική που κυριαρχεί τη ροή στη μικρο-κλίμακα είναι διαφορετική απ' αυτή που επικρατεί στη μακρο-κλίμακα (Εικόνα 1) και αφετέρου, διότι το μέγεθος μιας τέτοιας διάταξης δεν επιτρέπει τη μεταφορά της υπάρχουσας τεχνολογίας στη μικρο-κλίμακα. Συνεπώς, ακολουθεί μια σύντομη ανάλυση σε ό,τι αφορά τους βασικότερους τύπους Παθητικών Βαλβίδων (Passive Valves) που έχουν μελετηθεί για συστήματα Microfluidics. **Table 3** Overview of implementations of passive and active valves in centrifugal microfluidics. NC = normally closed; NO = normally open; Δp_c = centrifugal pressure (eqn (4)); Δp_{cap} = capillary pressure (eqn (7)); $\Delta p_{cap hydrophobic}$ = counter pressure of hydrophobic capillary (eqn (7)), and Δp_{pneu} = pneumatic counter pressure (eqn (6))

Ref.	External means	Actuation principle	Mode	Vapor-tight
Lai S. et al. ⁵⁹	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm cap}$	NC	_
Duffy D. C. <i>et al.</i> ⁵⁸	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm cap}$	NC	_
Gorkin R. et al. ⁷⁴	_	Integrated film dissolves when brought into contact with liquid. Fluidic pathway is opened.	NC	-
Mark D. et al. ⁷³	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm cap} + \Delta p_{\rm pneu}$	NC	_
Andersson P. et al.69	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm cap}$ hydrophobic	NC	_
Siegrist J. et al. ⁸¹	_	$\Delta p_{\rm cap} > \Delta p_{\rm c}$	NC	_
Gorkin R. et al. ⁵⁴	_	Pressure drop at T-junction caused by auxiliary liquid pulls sample liquid over siphon crest.	NC	—
Hwang H. et al. ⁷⁹	_	Integrated membrane valve opens above critical centrifugal pressure. Fluidic pathway is opened.	NC	
Gorkin R. et al. ⁵²	_	$\Delta p_{\rm pneu} > \Delta p_{\rm c}$	NC	_
LaCroix-Fralish A. et al.66	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm cap}$	NC	_
Hoffmann J. <i>et al.</i> ⁷⁸	—	Delamination of weakly bonded interface by exceeding critical centrifugal pressure. Fluidic pathway is opened.	NC	~
Ukita Y. <i>et al.</i> ⁵⁷	_	Time-dependent decrease of fill level opens connection to venting. ^a	NC	_
Zhang H. et al. ⁶⁵	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm cap}$ hydrophobic	NC	_
Kinahan D. J. <i>et al.</i> ⁵⁶	_	Integrated film dissolves when brought into contact with liquid on paper strip. Air yent is opened. ^a	NC	
Kinahan D. J. <i>et al.</i> ⁸⁶	_	First liquid dissolves a film to trigger valving of the a next liquid	NC	
Siegrist J. et al. ⁷⁶	_	$\Delta p_{\rm c} > \Delta p_{\rm pneu}$	NC	—
Abi-Samra K. <i>et al.</i> ³⁵	Active: stationary halogen lamp	Integrated wax valves melted by infrared heating. Fluidic pathway is opened.	NC	
Park J. M. <i>et al.</i> ⁸⁷	Active: mobile laser diode	Integrated ferrowax valves are melted by laser. Fluidic nathway is opened or closed.	NO/NC/reversible	
Amasia M. et al. ⁹⁰	Active: thermo- electric module	Freezing of a liquid plug blocks fluidic pathway.	NO	
Garcia-Cordero J. L. et al. ³³	Active: laser	Laser melts orifices in polymer separation layer. Fluidic pathway is opened.	NC	
Al-Faqheri W. et al. ⁵⁵	Active: hot air gun	Integrated wax valves are melted by heat gun. Connection to venting is opened. ^{<i>a</i>}	NO/NC	
^{<i>a</i>} Valving principle based on valve is expected to be vapor	reduction of under -tight.	pressure after defined opening of air vents. ^b Vapor-tightness	s has not been demo	onstrated, but

Εικόνα 5: Σύνοψη Χαρακτηριστικών Βαλβίδων από Review Paper [8]

<u>Geometric (Capillary) Valves</u>. Βασίζονται στον ανταγωνισμό μεταξύ 2 δυνάμεων: Την αναπτυσσόμενη στατική πίεση (π.χ. λόγω φυγοκέντρισης) και την τριχοειδή δύναμη (capillary force). Όσο η αναπτυσσόμενη πίεση είναι μικρότερη από από το φράγμα λόγω τριχοειδούς δύναμης, η βαλβίδα παραμένει κλειστή. Οι παράμετροι που μπορούν να ρυθμιστούν ώστε να μεταβάλλουμε την πίεση κατάρρευσης της βαλβίδας είναι οι διαστάσεις του καναλιού, το σχήμα της διατομής του καναλιού και η γωνία της απότομης αύξησης της διατομής (Εικόνα 6, γωνία β)



Εικόνα 6: Τριχοειδής Γεωμετρικές Βαλβίδες [4, 8]

<u>Hydrophobic Valves</u>. Αυτές οι βαλβίδες βασίζονται στην τοπική επίστρωση υδροφοβικής επένδυσης που μεταβάλλει το ρυθμό σχηματισμού χημικών δεσμών μεταξύ του ρευστού και του υποστρώματος.
 Όταν το μέτωπο του ρευστού φτάσει στην υδρόφοβη περιοχή, σταματά μέχρι η αναπτυσσόμενη πίεση να ξεπεράσει μια τιμή όπου η επιφάνεια λέμε ότι «βρέχεται» και η βαλβίδα ανοίγει.



Εικόνα 7: Τριχοειδής Υδροφοβικές Βαλβίδες [4]

<u>Siphoning Valves</u>. Η βαλβίδα σιφονισμού λειτουργεί με υδρόφιλα κανάλια μιας και απαιτείται πλήρωση θαλάμου με υγρό μέσω τριχοειδούς δύναμης. Το φυγοκεντρικό σύστημα (Εικόνα 8) περιστρέφεται σε υψηλή ταχύτητα ώστε η πίεση που αναπτύσσεται λόγω φυγοκέντρισης να αποτρέπει την πλήρωση του – ακτινικά εσωτερικού – θαλάμου. Όταν η ταχύτητα περιστροφής μειωθεί κατάλληλα, η τριχοειδής δύναμη ξεπερνά την (αντίρροπη) φυγόκεντρο και το ρευστό περνά το σημείο κορυφής (crest point) του σιφονιού και η βαλβίδα ανοίγει. Δυστυχώς, αυτού του είδους οι βαλβίδες συνήθως απαιτούν την επιβράδυνση από υψηλές σε χαμηλές ταχύτητες για να λειτουργήσουν.



Εικόνα 8: Siphoning Valve Operation [9]

<u>Flyball Valve</u>. Η τεχνολογία αυτή προτάθηκε [20] το 2016 και βασίζεται στην ανάπτυξη φυγοκεντρικής δύναμης από 2 κυκλικά βαράκια (flyballs). Όταν ο δίσκος φτάσει σε μια κρίσιμη γωνιακή ταχύτητα, τα βαράκια τείνουν να απομακρυνθούν ακτινικά από τον άξονα περιστροφής, συμπιέζοντας το ελατήριο και κατεβάζοντας το Actuator Disc (Εικόνα 9). Αποτέλεσμα της κίνησης αυτής είναι η ανακούφιση της πίεσης στη στεγανωτική μεμβράνη και το άνοιγμα της διόδου για τη ροή του ρευστού (Εικόνα 10). Μειονέκτημα της βαλβίδας αυτής είναι η πολυπλοκότητα και ο αριθμός των κινούμενων μερών.







Εικόνα 10: Flyball Valve – Flow Path

Έχουν προταθεί αρκετοί τύποι βαλβίδων (Active & Passive) από ερευνητές που δεν αναφέρονται διότι είτε είναι αρκετά πολύπλοκοι (π.χ. Εικόνα 9) είτε δεν εφαρμόζονται σε φυγοκεντρικά Point of Care συστήματα (φορητές συσκευές, για προσωπική χρήση).

1.4 Beads

Όπως αναφέραμε παραπάνω, ακόμη ένα σημαντικό σημείο στην εκτέλεση αρκετών βιολογικών πρωτοκόλλων είναι η οπτική ανίχνευση μικρο-σφαιριδίων (micro-beads). Αυτό δημιουργεί την ανάγκη διαχείρισης και αποθήκευσης μικροσφαιριδίων ($d \cong 6 \ [\mu m]$) με ελάχιστα σφάλματα και ικανοποιητική επαναληψιμότητα. Με σκοπό την κατανόηση της χρησιμότητας των micro-beads λοιπόν, αξίζει να δούμε συνοπτικά ένα παράδειγμα χρήσης τους.

1.4.1 Bead – Based Sandwich Elisa

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 11, τα 4 βήματα που απαιτεί το <u>πρωτόκολλο Bead Based Sandwich Elisa</u> είναι τα ακόλουθα:

- <u>Βήμα 1</u>: Μικροσφαιρίδια διαμέτρου d ≅ 6 [μm] με χαρακτηριστικό κωδικό χρώματος και ειδικά (για την ανίχνευση του μορίου ενδιαφέροντος) προσκολλημένα αντισώματα προστίθονται στο διάλυμα. Τα ειδικά αντισώματα των beads προσκολλούνται στο μόριο ενδιαφέροντος (π.χ. Πρωτεΐνη).
- <u>Βήμα 2</u>: Προστίθονται στο διάλυμμα επιπλέον αντισώματα ανίχνευσης (με Βιοτίνη) με σκοπό να σχηματισθεί ένα Sandwich αντισώματος αντιγόνου αντισώματος.
- <u>Βήμα 3</u>: Προστίθεται φυκοερυθρίνη (PE), με προσκολλημένη Streptavidin ώστε να κολλάει με τη Βιοτίνη.
- <u>Βήμα 4</u>: Η ανάγνωση ενός κάθε φορά bead γίνεται μέσω 2 δεσμών laser. Η μία κατηγοριοποιεί το bead (π.χ. για την περίπτωση που θέλουμε να εντοπίσουμε πολλές πρωτεΐνες ταυτόχρονα, άρα χρειαζόμαστε διαφορετικά beads) και η δεύτερη καθορίζει την ποσότητα της Φυκοερυθρίνης (δηλαδή πόσο πολύ πρωτεΐνη έχουμε).



Εικόνα 11: Βήματα Bead - Based Sandwich Elisa

Υπάρχουν πολλές άλλες βιολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιούν μικροσφαιρίδια, ωστόσο η ανάλυσή τους ξεφεύγει από τα πλαίσια του παρόντος.

1.4.2 Bead Trapping

Έγινε έρευνα στη διεθνή βιβλιογραφία με σκοπό την εύρεση και κατανόηση των επικρατέστερων μεθόδων παγίδευσης μικροσφαιριδίων (State of the Art Technology) σε ότι αφορά Microfluidic Point of Care Συστήματα. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας συνοψίζονται παρακάτω:

<u>Cup Structures</u>. Η τεχνολογία αυτή παρουσιάστηκε από το group [11] και αναφέρεται σε έναν περιστρεφόμενο δίσκο από PDMS ο οποίος περιέχει θαλάμους με διαμορφώσεις σχήματος U (Εικόνα 12). Όταν ο δίσκος περιστρέφεται και το ρευστό φυγοκεντρίζεται, η διάταξη των διαμορφώσεων αυτών οδηγεί στην παγίδευση ενός μικροσφαιριδίου μέσα στο κάθε U, σαν καθίζηση.



Εικόνα 12: Διαμορφώσεις Παγίδευσης Beads [12]

 <u>Cavity Trap</u>. Παρουσιάστηκε από το group [13] το 2000 και λειτουργεί όπως φαίνεται στην Εικόνα 13. Περιλαμβάνει 2 κομμάτια γυαλιού τα οποία σχηματίζουν ένα κανάλι και μία κοιλότητα της οποίας τα διάκενα είναι μικρότερα από τη διάμετρο των μικροσφαιριδίων που θέλουμε να παγιδέψουμε (d = 1.5 – 4 [μm]).



Εικόνα 13: Παγίδα Μικροσφαιριδίων με Κοιλότητα [13]

 <u>Centrifugal Filter</u>. Το group [14] παρουσίασε ένα φυγοκεντρικό φίλτρο με ομόκεντρα τμήματα. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 14, ο εσωτερικός δακτύλιος συγκρατεί σωματίδια > 20 [μm] και ο εξωτερικός συγκρατεί σωματίδια > 10 [μm].



Εικόνα 14: Φυγοκεντρικό Φίλτρο [14]

<u>Filter Cell-Chamber</u>. Οι ερευνητές [15] μελέτησαν τη συμπεριφορά ενός «κλουβιού» παγίδευσης μικροσφαιριδίων εντός μικροροϊκού καναλιού. Η γεωμετρική διαμόρφωση του «κλουβιού» συγκρατεί όλα τα σωματίδια μεγαλύτερα από κάποια δεδομένη διάμετρο (Εικόνα 15). Παρά το γεγονός ότι η διάταξη αυτή δίνει επαναλήψιμα αποτελέσματα, η μέθοδος κατασκευής της δεν ενδείκνυται για μαζική παραγωγή και χαμηλό κόστος (απαραίτητα για την επί τόπου διάγνωση).



Εικόνα 15: Κλουβί Παγίδευσης Μικροσφαιριδίων [15]

<u>Πορώδες Φίλτρο</u>. Το group [19] χρησιμοποίησε ένα πορώδες φίλτρο (GE Osmonics, Minnetonka, MN, USA) με πορώδες 8 [μm] για την παγίδευση μικροσφαιριδίων αγαρόζης. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 16, η ροή είναι κάθετη στο φίλτρο (Normal Flow).



Εικόνα 16: Πορώδες Φίλτρο [16]

 <u>Magnetic Separation of Beads</u>. Η δημοσίευση [21] καλύπτει εκτενώς την τεχνολογία της μαγνητικής διαχείρισης μικροσφαιριδίων στον τομέα των microfluidics. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 17, μόνιμοι μαγνήτες (ή ηλεκτρομαγνήτες) χρησιμοποιούνται για να αποκλίνουν τα μαγνητικά μικροσφαιρίδια από τη ροή. Η ιδέα αυτή είναι ευρέως διαδεδομένη λόγω της απλότητας και της επαναληψιμότητάς της. Οι ερευνητές αναφέρουν πλήρη παγίδευση μιρκοσφαιριδίων για παροχές ~5 [nL/s] (όπου, *F_{mag}* » *F_{drag}*).





Figure 5.4: Principle of the bead capture with the viscous drag force \vec{F}_d and the magnetic force \vec{F}_{mag} acting on the bead. (a) Beads are deviated by the magnetic force and captured towards the tips. (b) Due to the symmetric field configuration, beads close to the middle of the channel experience only a weak F_{magx} (in y-direction). Upstream of the magnetic tips F_{magx} and F_{dx} are positive, whereas downstream of the tips, the magnetic force F_{magx} becomes negative and has to overcome the drag force to retain the beads.

Εικόνα 17: Μαγνητική Παγίδευση Μικροσφαιριδίων

Υπάρχουν κι άλλες τεχνολογίες σε ότι αφορά το φιλτράρισμα σωματιδίων και την παγίδευση μικροσφαιριδίων, ωστόσο η ανάλυσή τους ξεφεύγει από τα πλαίσια του παρόντος. Μετά από εκτενή βιβλιογραφική έρευνα, καταλήξαμε στο ότι ενώ έχει γίνει πολλή δουλειά τόσο στον τομέα των μικροβαλβίδων όσο και στην παγίδευση μικρο-σφαιριδίων (με σκοπό την περαιτέρω ανάλυσή τους), οι λειτουργίες αυτές γίνονται πάντα ανεξάρτητα. Η καινοτομία λοιπόν της παρούσας διπλωματικής οφείλεται στην εισαγωγή μιας <u>υβριδικής (υδροφοβικής) βαλβίδας που λειτουργεί και ως φίλτρο για τη συγκράτηση μικροσφαιριδίων</u>. Στο Κεφάλαιο 2 αναλύεται η ιδέα αυτή.

1.5 Στόχοι της Διπλωματικής

Οι στόχοι της παρούσας διπλωματικής εργασίας συνοψίζονται στα ακόλουθα:

- i. <u>Κατασκευή υβριδικών μικρο-βαλβίδων</u>: Πρόκειται για εμπορικά διαθέσιμα φίλτρα από ίνες γυαλιού, με πορώδες 220 [nm] τα οποία υφίστανται επεξεργασία υδροφοβοποίησης με εναπόθεση νανοσωματιδίων. Αυτό γίνεται με ειδικό Spray νανοσωματιδίων SiO₂ το οποίο μεταβάλλει το ρυθμό σχηματισμού χημικών δεσμών μεταξύ των μορίων του φίλτρου και του δοκιμαστικού ρευστού.
- ii. <u>Κατασκευή Πειραματικών Διατάξεων</u>: Το στάδιο αυτό αναφέρεται στην κατασκευή των πειραματικών διατάξεων για τον έλεγχο μικρο-βαλβίδων. Κατασκευάστηκαν 2 διατάξεις (Αντλίας Πίεσης και Φυγοκεντρική) με σκοπό τον έλεγχο τόσο των Γεωμετρικών (λειτουργούν σε χαμηλές πιέσεις) όσο και των Υδροφοβικών βαλβίδων (λειτουργούν σε υψηλότερες πιέσεις).
- iii. <u>Χαρακτηρισμός της τεχνολογίας</u>: Εδώ γίνεται η διεξαγωγή και η ανάλυση πειραμάτων υπό συγκεκριμένες συνθήκες με σκοπό την κατανόηση της συμπεριφοράς της βαλβίδας/φίλτρου. Τυχόν ατέλειες και σφάλματα των ανωτέρω βημάτων διορθώνονται ώστε τα πειραματικά αποτελέσματα να γίνουν κατά το δυνατόν επαναλήψιμα.

2. Πειραματικές Μέθοδοι & Κατασκευή

2.1 Παρασκευή Φίλτρων

Πρόκειται για φίλτρα Whatman κυκλικού σχήματος με αρχική διάμετρο 150 [mm] και πορώδες 220 [nm] της εταιρίας General Electric. Η διαδικασία προετοιμασίας τους περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια (Εικόνα 19):

• Κόβουμε με το biopsy punch κυκλικά φίλτρα διαμέτρου 3 [mm]

Η μέθοδος αυτή επιλέχθηκε λόγω απλότητας και ευκολίας. Ωστόσο, η ακρίβεια που δίνει στη διάσταση και η επιφάνεια που αφήνει δεν είναι η βέλτιστη.

• Τοποθετούμε τα φίλτρα για 24 [h] σε διάλυμα υδροφοβοποίησης

Πρόκειται για διάλυμα της εταιρίας NANOPROM. Για τη βέλτιστη λειτουργία του διαλύματος απαιτείται απορρόφηση της τάξης των 25 – 100 $[\mu L/m^2]$. Η χρήση ενός τέτοιου προϊόντος εναποθέτει στην επιφάνεια που τοποθετείται νανοσωματίδια SiO_2 . Κατ' αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται μια επιφανειακή μικροτραχύτητα η οποία, όταν έρχεται σε επαφή με υγρό, παγιδεύει αέρα και μειώνει το ρυθμό σχηματισμού δεσμών μεταξύ υγρού – στερεού. Έτσι, η επιφάνεια γίνεται υπερυδρόφοβη. Στην Εικόνα 19 φαίνεται η αρχή λειτουργίας ενός τέτοιου προϊόντος.



Εικόνα 18: Υδροφοβοποίηση μέσω εναπώθεσης Νανοσωματιδίων [17]

• Τα αφήνουμε να στεγνώσουν σε 40°C για 24 [h]

Αφού στεγνώσουν τελειως, τα φίλτρα πλέον είναι υπερυδρόφοβα και έτοιμα προς χρήση.



Εικόνα 19: Κομμάτι Φίλτρου, Υδροφοβικό Spray & Biopsy Punch

2.2 Κατασκευή Πειραματικών Διάτάξεων

Στο Κεφάλαιο αυτό θα εξετάσουμε τις Πειραματικές Διατάξεις που κατασκευάστηκαν και θα αναλύσουμε τα προβλήματα που αντιμετωπίσαμε. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο της Εισαγωγής, <u>οι κύριες</u> παθητικές <u>βαλβίδες</u> που ερευνά η διεθνής επιστημονική κοινότητα <u>είναι γεωμετρικές και υδροφοβικές</u>. Η αρχική σκέψη λοιπόν ήταν η μελέτη και των 2 κατηγοριών. Ωστόσο, η κατασκευαστική ακρίβεια των μηχανημάτων και τα εργαλεία που είχαμε στη διάθεσή μας, δε μας το επέτρεψαν. Η ειδοποιός διαφορά των 2 διατάξεων που κατασκευάστηκαν βρίσκεται στη μέθοδο ανύψωσης της πίεσης του εργαζόμενου μέσου. Η 1^η διάταξη χρησιμοποιεί μια μικρο-αντλία αέρα για το σκοπό αυτό, ενώ η 2^η έναν κινητήρα DC και τη φυγόκεντρο δύναμη που αναπτύσσεται λόγω της περιστρεφόμενης μάζας. Παρακάτω λοιπόν αναλύονται οι 2 αυτές διατάξεις που κατασκευάστηκαν in-house:

2.2.1 Διάταξη Αντλίας Πίεσης

Η διάταξη της Εικόνας 20 αυτή αποτελείται από τα εξής στοιχεία:

- Βάση Αλουμινίου
- Κάτω πλάκα ΡΜΜΑ
- Άνω πλάκα PMMA
- Σωληνάκι Παροχής Αέρα (Φ0.5)
- 2 Οδηγούς Ευθυγράμμισης πλακών ανοχής h7 (μπλέ, Εικόνα 20)
- 4 βίδες M4
- Το Πειραματικό Chip
- Στεγανωτική ταινία
- Αντλία αέρα (μαύρο κουτί, Εικόνα 21)



Εικόνα 20: Σχέδιο Διάταξης Γεωμετρικών Βαλβίδες



Εικόνα 21: Κατασκευή Διάαξης Γεωμετρικών Βαλβίδων

Η κατανόηση της λειτουργίας της διάταξης απαιτεί τη λεπτομερή επεξήγηση της λειτουργίας του πειραματικού Chip (Εικόνα 22).



Εικόνα 22: Πειραματικό Chip

1	Άνω Στεγανωτική Ταινία
2	Σωληνάκι Παροχής Αέρα
3	Κανάλι Ρευστού
4	Waste Chamber
5	Γεωμετρική Βαλβίδα
6	Fluid Inlet Chamber
7	Κανάλι Παροχής Αέρα
8	Οπές Ευθυγράμμισης
9	Κάτω Στεγανωτική Ταινία
10	Πίρος Ευθυγράμμισης
11	Στεγανωτική Τσιμούχα

Η πειραματική διαδικασία σε αυτή τη διάταξη αποτελείται από τα εξής βήματα:

- Βάζουμε στεγανωτική ταινία στις διαμπερείς οπές (Inlet & Waste Chambers)
- Βάζουμε το Chip στην κατάλληλη θέση με τους πίρους ευθυγράμμισης (10)
- Γεμίζουμε με ρευστό το Inlet Chamber (6)
- Συνδέουμε την αντλία με το κανάλι στην κατάλληλη οπή (π.χ. 7)
- Η αντλία αυξάνει την πίεση στο Inlet Chamber και το ρευστό οδηγείται προς τη βαλβίδα (5)
- Όταν η πίεση φτάσει κάποια τιμή, το ρευστό περνά από τη βαλβίδα και οδηγείται στο Waste Chamber
 (4)
- Επαναλαμβάνουμε τα παραπάνω βήματα για την επόμενη βαλβίδα

Σύμφωνα με την προαναφερθείσα διαδικασία, κάθε set πειραμάτων περιλαμβάνει 14 βαλβίδες. Μετά το πέρας των πειραμάτων απαιτείται έλεγχος του Chip, καθαρισμός με αιθανόλη και το Chip μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί.

Τα **προβλήματα** που αντιμετωπίσαμε κατά τη διεξαγωγή αυτής της σειράς πειραμάτων είναι τα ακόλουθα:

Κακή ποιότητα στα φρεζαριστά κανάλια & τις βαλβίδες:

Τα κανάλια παροχής ρευστού και τα ανοίγματα των βαλβίδων έγιναν με CNC Micromilling σε εργαλειομηχανή της εταιρίας LPKF. Ωστόσο, τόσο η ακρίβεια στις διαστάσεις, όσο και η τραχύτητα που άφηνε το κονδύλι του φρεζαρίσματος ήταν κάθε άλλο παρά ικανοποιητικές. Επειδή η λειτουργία μιας τέτοιας βαλβίδας βασίζεται στην ανάπτυξη δύναμης λόγω επιφανειακής τάσης, τα παραπάνω προβλήματα οδήγησαν σε μη συστηματικά πειραματικά αποτελέσματα.

Για να παρακάμψουμε τα παραπάνω προβλήματα αλλά και για να μπορέσουμε να ελέγξουμε βαλβίδες των οποίων η πίεση λειτουργίας είναι μεγαλύτερη από αυτήν που μπορούσαμε να αναπτύξουμε με την αντλία πίεσης, οδηγηθήκαμε στη μελέτη υδροφοβικών μικρο-βαλβίδων και στην ανάπτυξη μιας νέας διάταξης που αναπτύσσει πίεση φυγοκεντρικά, όπως επιβάλλει η υπάρχουσα τεχνολογία του τομέα ενδιαφέροντος (Centrifugal Microfluidics).

2.2.2 Φυγοκεντρική Διάταξη

Η διάταξη αυτή λόγω πολυπλοκότητας και αριθμού εξαρτημάτων είχε μεγαλύτερες κατασκευαστικές απαιτήσεις. Παρακάτω λοιπόν αναλύονται οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν, τα αποτελέσματα που προέκυψαν καθώς και τα προβλήματα που κληθήκαμε να αντιμετωπίσουμε. Σχηματικά, η βασική ιδέα της διάταξης που κατασκευάσθηκε φαίνεται στην Εικόνα 23.



Εικόνα 23: Concept Φυγοκεντρικής Διάταξης



Παρακάτω, γίνεται μια επισκόπιση στο τελικό 3D - Design της διάταξης που κατασκευάστηκε.

Εικόνα 24: Assembly CAD Φυγοκεντρικής Διάταξης

1	Βάση Στήριξης
2	Κολώνες
3	Κόπλερ
4	Βάση Chip
5	Πειραματικό Chip
6	Βάση Στήριξης Chip
7	Optocoupler
8	Βάση Στήριξης Κινητήρα
9	Κινητήρας DC
10	Optocoupler Disc
11	Άξονας

Ο σκοπός της διάταξης αυτής είναι η διεξαγωγή πειραμάτων για το χαρακτηρισμό του φίλτρου/βαλβίδας. Το 1° βήμα λοιπόν ήταν η απόδειξη της λειτουργικότητας της νέας αυτής τεχνολογίας (proof of concept). Η διαδικασία αυτή απαιτεί μια σύντομη σειρά πειραμάτων με ένα απλό πειραματικό Chip και συνθήκες κατάλληλες ώστε να αποδειχθεί ότι όταν το φίλτρο γίνει υδρόφοβο, μπορεί να λειτουργήσει επαναλήψιμα ως βαλβίδα. Συνεπώς, κατασκευάσθηκε σε χειροκίνητη φρέζα & τόρνο το ακόλουθο Chip κάθετης (στο φίλτρο) ροής (Normal Flow):



Εικόνα 25: Chip 1 (Normal Flow)

1	Chip 1
2	Βίδα Μ4Χ6 με Οπή
3	Οπή M4X6
4	Οπή για σύσφιξη με βάση
5	Inlet Chamber
6	Υδρόφοβο Φίλτρο

Ωστόσο, η μέθοδος κατασκευής του παραπάνω Chip δημιουργεί τα κόλουθα προβλήματα:

• Δε συμβαδίζει με τις μεθόδους που χρησιμοποιεί η επιστημονική κοινότητα:

Τα Chips που χρησιμοποιούνται σε παρεμφερή μηχανήματα κατασκευάζονται με injection molding ή με stamping ώστε να μπορούν να μπουν σε μια γραμμή παραγωγής και να παράγονται οικονομικά και μαζικά. Η κατασκευή του Chip 1 απαιτεί βίδες, φρεζάρισμα, γύρισμα του τεμαχίου, διάτρηση και σπειρωτόμηση. Οι κατεργασίες αυτές αποκλίνουν από τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους της υπάρχουσας τεχνολογίας.

<u>Δε γίνεται scale-up</u>:

Ο σκοπός ενός Centrifugal Microfluidic Chip είναι η παράλληλη επεξεργασία αντιδραστηρίων και δειγμάτων ελαχιστοποιώντας τις διαστάσεις και τους όγκους. Αυτό δε συνάδει με το design του παραπάνω Chip (βίδες, τοποθέτηση φίλτρων στη διάταξη).

Για το λόγο αυτό, κληθήκαμε να σχεδιάσουμε και να δοκιμάσουμε ένα νέο Chip (Chip 2, Lateral Flow) το οποίο να συμβαδίζει με τις επιστημονικά αποδεκτές μεθόδους (2D - Manufacturing):



Εικόνα 26: Σχέδιο Chip 2 (Lateral Flow)

1	Inlet Chamber
2	Οπή Σύσφιξης με Βάση
3	Waste Chamber
4	Ποκέτα Φίλτρου
5	Κανάλι Παροχής Ρευστού
6	Chip 2



Εικόνα 27: Υλοποίηση Chip 2 (Lateral Flow)

To Chip 2 (Εικόνα 27), κατασκευάστηκε σε 2 εργαλειομηχανές:

• Όλες οι διαμπερείς οπές και η εξωτερική διάσταση έγιναν σε μηχανή κοπής Laser (Εικόνα 28)



Εικόνα 28: Σχέδιο Κοπής σε Laser Cut 1: Waste Chamber 2: Inlet Chamber

Τα κανάλια και οι ποκέτες των φίλτρων έγιναν σε CNC φρέζα (Εικόνα 29)



Εικόνα 29: Σχέδιο Κοπής σε CNC Φρέζα (HAAS) 1: Ποκέτα Φίλτρου 2: Κανάλι Ρευστού

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί η δυσκολία που αντιμετωπίσαμε στο φρεζάρισμα αυτής της γεωμετρίας. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 30, το βάθος κοπής που απαιτείται είναι γύρω στα 300 - 350 [μm]. Η διάσταση αυτή είναι πολύ μικρή και για να επιτευχθεί με τη μέγιστη δυνατή ακρίβεια που διαθέτει η εργαλειομηχανή απαιτείται η χρήση καλίμπρας για τη σωστή τοποθέτιση του τεμαχίου στο φρεζάρισμα. Η διαδικασία ευθυγράμμισης λοιπόν περιγράφεται από τα ακόλουθα βήματα:





Εικόνα 30: Διαστάσεις Καναλιού προς Φρεζάρισμα

- <u>Βήμα 1</u>: Τοποθετούμε την καλίμπρα στο χώρο εργασίας της φρέζας, χωρίς να τη δέσουμε σφιχτά
- <u>Βήμα 2</u>: Τοποθετούμε το μετρητικό ρολόι ως εργαλείο στην κεφαλή της φρέζας, μετράμε επιπεδότητα και παραλληλότητα και αφού ευθυγραμμιστεί τέλεια η καλίμπρα, σφίγγουμε τους σφικτήρες στη θέση αυτή (Εικόνα 31).
- <u>Βήμα 3</u>: Βιδώνουμε το δοκίμιο στην καλίμπρα και ξαναμετράμε με το ρολόι. Έτσι, μπορούμε να γνωρίζουμε και την παραλληλότητα των 2 προσώπων του δοκιμίου (Εικόνα 31).



Εικόνα 31: Τοποθέτηση Καλίμπρας (αριστερά) & Τοποθέτηση τεμαχίου (δεξιά) στη CNC Φρέζα

Παρακάτω φαίνεται η διαδρομή του εργαλείου στο πρόγραμμα προσομοίωσης SolidCAM (Εικόνα 32). Οι συνθήκες κοπής (Στροφές, Πρόωση, Βάθος Κοπής) βελτιστοποιήθηκαν με δοκιμές και έλεγχο στην ποιότητα επιφανείας. Το πρόγραμμα δημιουργεί αυτοματοποιημένα G – κώδικα και μέσω προγράμματος οδήγησης (driver) γίνεται η επικοινωνία με την εργαλειομηχανή (HAAS).



Εικόνα 32: Προσομοίωση Διαδρομής Εργαλείου σε SolidCAM

Το αποτέλεσμα της παραπάνω κατεργασίας φρεζαρίσματος είναι το πειραματικό Chip 2 (Εικόνα 27). Στο σημείο αυτό πρέπει να γίνει μια αξιολόγηση της μεθόδου κατεργασίας ώστε:

- Να εντοπισθούν οι ατέλειες του τεμαχίου
- Να αποδοθούν στις αντίστοιχες αιτίες
- Να βρεθεί τρόπος αντιμετώπισής τους, αν είναι δυνατόν

Συνεπώς, η διαδικασία ποιοτικού ελέγχου που ακολουθήσαμε αναφέρεται παρακάτω. Αρχικά, μετρήσαμε το πάχος του Chip 2 σε 8 (αντιδιαμετρικά ανά 2) διαφορετικά σημεία με το μικρόμετρο. Στη συνέχεια, μετρήσαμε το βάθος της ποκέτας του φίλτρου (Εικόνα 29). Σχηματικά, τα σημεία μέτρησης και οι τιμές τους φαίνονται στην Εικόνα 33.



Εικόνα 33: Μέτρηση πάχους Chip (αριστερά), Βάθους Ποκέτας (μέση) & Πάχους Φίλτρου (δεξιά)
Η μέτρηση του βάθους των ποκετών των φίλτρων έγινε σε επίπεδη επιφάνεια με μετρητικό ρολόι ακριβείας 10 [μm] (Εικόνα 34).



Εικόνα 34: Μέθοδος Μέτρησης Βάθους Ποκέτας Φίλτρων

Η παραπάνω διαδικασία έγινε για 2 διαφορετικά Chips και για 2 διαφορετικά βάθη κοπής. Κατέστη σαφές ότι λόγω της ανισοκατανομής του πάχους του δοκιμίου ανά την επιφάνειά του (Εικόνα 33), η επαναληψιμότητα που μπορούμε να επιτύχουμε στη διάσταση του βάθους της ποκέτας των φίλτρων είναι της τάξης των 30 [μm]. Αυτό συμβαίνει διότι στο πρόγραμμα προσομοίωσης πρέπει να δώσουμε ένα αρχικό πάχος δοκιμίου. Αυτό μετράται όπως αναφέρθηκε παραπάνω, δηλαδή προκύπτει από τη μέση τιμή των επί μέρους μετρήσεων ως εξής:

$$t_0 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i = 2.875 \ [mm]$$

Έτσι δημιουργείται σφάλμα στο βάθος της ποκέτας το οποίο αυξάνεται όσο το αρχικό πάχος τοπικά γύρω από την εκάστοτε ποκέτα απέχει από τη μέση τιμή αυτή. Ακόμη μια σημαντική λεπτομέρια για την εύρωστη λειτουργία του πειραματικού Chip είναι η επιλογή του βάθους κοπής της ποκέτας για το φίλτρο (Εικόνα 29). Λόγω της συμπιέσιμης μορφής του φίλτρου (αποτελείται από ίνες γυαλιού) για να εξαναγκάσουμε τη ροή να περάσει μέσα από το φίλτρο και όχι γύρω από αυτό (πρόβλημα στεγάνωσης) θα πρέπει το φίλτρο, συμπιεζόμενο ελάχιστα, να καλύπτει ολόκληρο τον όγκο μέσα στην ποκέτα. Μιας και το παραπάνω πρόβλημα μεταφράζεται στη συνεργασία μιας αρσενικής και μιας θηλυκής κυλινδρικής γεωμετρίας μπορεί να διασπαστεί σε 2 υποπροβλήματα:

- Δημιουργία διάστασης διαμέτρου ποκέτας και συμβατότητα με διάμετρο φίλτρου
- Δημιουργία διάστασης βάθους ποκέτας και συμβατότητα με πάχος φίλτρου

Το 1° υποπρόβλημα επιδέχεται βελτιστοποίησης μόνο σε ότι αφορά την κοπή του φίλτρου με το biopsy punch (Εικόνα 19). Ωστόσο, με τα μέσα που διαθέτουμε και λαμβάνοντας υπόψην πόσο εύθραυστο είναι το φίλτρο, η μόνη εφικτή λύση είναι η κατασκευή ενός εργαλείου κοπής διαφορετικού σχήματος. Κάτι τέτοιο κρίθηκε πολύ χρονοβόρο για τα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής. Το 2° υποπρόβλημα αντιμετωπίστηκε ως εξής: Μετρήσαμε με την πρέσσα ακριβείας BOSE το πάχος που θέλουμε να έχει η ποκέτα του φίλτρου. Αυτό προέκυψε μετρόντας το πάχος του φίλτρου, συμπιέζοντας το μέχρι την **ανάπτυξη δύναμης F = 0.1 [N]**. Έτσι, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 35, βρήκαμε ότι το **ιδανικό βάθος ποκέτας για το φίλτρο** είναι **h = 340 - 360** [μm].



Εικόνα 35: Πρέσσα BOSE για μέτρηση πάχους φίλτρου

Όπως είναι προφανές, για να δουλέψει σωστά η διάταξη και να έχουμε συστηματικά πειρματικά αποτελέσματα θα πρέπει να μην υπάρχουν διαρροές ανάμεσα στην ποκέτα και το φίλτρο (Εικόνα 36). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τα πειράματα αυτά θα συζητηθούν στο Κεφάλαιο 3.



Εικόνα 36: Πρόβλημα Στεγάνωσης Chip 2 (Lateral Flow)

Ένα ακόμη σημαντικό ζήτημα στην κατασκευή της πειραματικής αυτής διάταξης είναι αυτό της ασφάλειας. Η Φυγοκεντρική Διάταξη που αναλύεται παραπάνω όταν λειτουργεί σε υψηλό φορτίο περιστρέφει μάζες της τάξης των 100 [gr] σε στροφές μέχρι 9000 [RPM]. Η ζημιά που μπορεί να προκαλέσει στον χειριστή της διάταξης μία μάζα με τέτοια ορμή μπορεί να είναι μη αντιστρέψιμη. Για το λόγο αυτό, αποφασίστηκε η κατασκευή ενός – οικονομικού – στρατζαριστού πλαισίου το οποίο θα εξυπηρετεί τους εξής σκοπούς:

- Απομόνωση περιστρεφόμενων μαζών από το περιβάλλον
- Απομόνωση διάταξης από το φως του περιβάλλοντος για την καλύτερη λειτουργία του στροβοσκοπίου (σύστημα που κάνει κινούμενα αντικείμενα να φαίνονται ακίνητα)



Εικόνα 37: CAD Στρατζωτού Πλαισίου

1	Ceiling
2	Right Wall
3	Door
4	Base
5	Hinge
6	Left Wall
7	Γωνιά

Επειδή κατασκευάστηκε in-house στη στράτζα του εργαστηρίου, υπήρξαν μερικές απλοποιητικές αλλαγές που φαίνονται στην υλοποίησή του (Εικόνα 38):



Εικόνα 38: Κατασκευή Πλαισίου στη Στράτζα

Μετά την κατασκευή του πλαισίου, επόμενο στάδιο ήταν η κατασκευή του <u>στροβοσκοπικού υποσυστήματος</u>. Ως γνωστόν, ο σκοπός ενός στροβοσκοπίου είναι να κάνει περιστρεφόμενα αντικείμενα να φαίνονται ακίνητα [18]. Αυτό επιτυγχάνεται αναβοσβήνοντας ένα φως στη συχνότητα περιστροφής του αντικειμένου που θέλουμε να δούμε ως ακίνητο. Στο πείραμά μας, αυτό το υποσύστημα είναι απαραίτητο δίοτι μόνο μέσω αυτού θα μπορούμε να δούμε πώς συμπεριφέρεται η βαλβίδα/φίλτρο (εν κινήσει) και συνεπώς να τη χαρακτηρίσουμε. Η υλοποίηση του στροβοσκοπίου μπορεί να διαχωριστεί σε Hardware & Software. Από Hardware, (Εικόνα 39) τα εξαρτήματα που χρειάστηκαν ήταν τα εξής:

- 6 X LED ισχύος ταχείας απόκρισης
- Γέφυρα Πλαίσιο (από προφίλ αλουμινίου) για στήριξη φώτων και κάμερας πάνω απ' το δοκίμιο
- Κάμερα
- Arduino για έλεγχο του κυκλώματος
- Ηλεκτρικό Κύκλωμα σε BreadBoard



Εικόνα 39: Ενσωμάτωση Διάταξης στο Πλαίσιο

Έχοντας λοιπόν έτοιμη όλη τη διάταξη μένει να δούμε αναλυτικότερα τη συνδεσμολογία του Hardware (Εικόνα 40, 41). Το Software που γράφτηκε σε Arduino βρίσκεται στο Παράρτημα Β.

2.3 Στοιχεία Ελέγχου της Φυγοκεντρικής Διάταξης

Εδώ θα εξετάσουμε τη συνδεσμολογία των ηλεκτρονικών εξαρτημάτων που απαιτήθηκαν για την κατασκευή της στροβοσκοπικής διάταξης και τον έλεγχο του κινητήρα. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 40, τα εξαρτήματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα ακόλουθα:

- Μικροελεγκτής Arduino Leonardo (@16MHz)
- Cytron DC Motor Driver [20]
- N-type MOSFET Transistor [21]
- ComoDrills DC Motor (@12V)
- 6 x Power LEDs [22]
- LED Star (6 LEDs)
- Optocoupler [23]
- Αντιστάσεις R1 = 180 [Ω], R2 = 10k [Ω]



Εικόνα 40: Schematic Wiring Diagram

Αξίζει να σημειωθεί το Cytron Driver Shield είναι stacked πάνω στο Arduino. Αυτό σημαίνει ότι όλα τα Pins του ενός, είναι βραχυκυκλωμένα με όλα τα Pins του άλλου. Επίσης έχουμε 3 παροχές ρεύματος στο κύκλωμα. Χρησιμοποιείται μία **παροχή υψηλής ισχύος** (V = 12[V], maxA = 4[A]) για τον κινητήρα, μία **μέσης ισχύος** (V = 14[V], maxA = 1.4 [A]) για τα LED καθώς και ένα **σήμα ελέγχου** που παίρνει το Arduino μέσω USB (V = 5[V]) από το Laptop. Παρακάτω, (Εικόνα 41) φαίνεται το ηλεκτρολογικό σχέδιο της διάταξης.



Εικόνα 41: Electrical Diagram

Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στην προσπάθεια το Στροβοσκόπιο να γίνει Hard-Coded. Αυτό σημαίνει ότι το πότε τα LED της Εικόνας 40 βλέπουν τάση (ON) και πότε όχι (OFF), θα πρέπει να εξαρτάται όσο το δυνατόν λιγότερο από το Arduino. Μόλις ο αναγνώστης κατανοήσει το πώς λειτουργεί ο κώδικας (interrupts), θα γίνει φανερό το πόσο σημαντικό είναι αυτό. Εν συντομία, αν τα LED ανάβουν κατόπιν αντίστοιχης εντολής του κώδικα (Soft-Coded), αυτό σημαίνει ότι οποιαδήποτε αστάθμητη καθυστέρηση (και συμβαίνουν πολλές τέτοιες) στο πρόγραμμα μπορεί να δώσει ετεροχρονισμένη έναυση των LED και κατά συνέπεια κακή εικόνα στο χειριστή. Εν αντιθέσει με την παραπάνω περίπτωση, όταν η εντολή έναυσης των LED γίνει μέσω Transistor (Hard-Coded), η απόκριση που λαμβάνουμε είναι πολύ πιο άμεση και οποιαδήποτε «ανωμαλία» στη ροή του προγράμματος (π.χ. interrupts) δε θα επηρεάσει την εικόνα που βλέπει και βιντεοσκοπεί ο χειριστής. Συνεπώς, οι παραπάνω λόγοι μας οδήγησαν στη σύνδεσμολογία [24] για τον αισθητήρα [23]. Οι παράμετροι (Εικόνα 42) υπολογίστηκαν ως ακολούθως:

Νόμος του Ohm για ηλεκτρικά στοιχεία:

$$R_{1} = \frac{V_{cc} - V_{F}}{I_{F}} \cong 180[\Omega]$$
$$R_{2} = \frac{V_{cc} - V_{CE,sat}}{I_{CON}} \cong 10k \ [\Omega]$$

<u>Τυπικές Συνθήκες Λειτουργίας</u>:

 $I_F=20\;[mA]$, $V_F=1.5\;[V]$, $V_{CE}=0.3[V]$



Εικόνα 42: Σύνδεση Optocoupler (LED ON/Unblocked = Output HIGH) [24]

Για την πλήρη κατανόηση της λειτουργίας του αισθητήρα (Optocoupler), πρέπει στο σημείο αυτό να αναφέρουμε το σκοπό του: Σκοπός του λοιπόν είναι αφενός η δημιουργία στροβοσκοπικού φαινομένου (άνοιγμα και κλείσιμο των LED ώστε ο περιστρεφόμενος πειραματικός δίσκος της Εικόνας 27 να φαίνεται ακίνητος) και αφετέρου η μέτρηση της ταχύτητας περιστροφής του κινητήρα. Σημαντικό επίσης είναι το εξάρτημα Optocoupler Disc (Εικόνα 24, Τεμάχιο 10 & Σχέδιο σελ. 61). Ο δίσκος αυτός είναι κολλημένος στον άξονα και συνεπώς περιστρέφεται με την ταχύτητα περιστροφής του κινητήρα. Όσο η σχισμή του δίσκου περνά από τον Optocoupler (Εικόνα 24, Τεμάχια 7 & 10), το Output του αισθητήρα είναι HIGH, ενώ καθόλη την υπόλοιπη διάρκεια μιας περιστροφής είναι LOW. Έτσι τα LED μένουν ανοιχτά μόνο για το χρονικό διάστημα που διαρκεί το πέρασμα της σχισμής του Optocoupler Disc από τον αισθητήρα. Επίσης, το λογισμικό που τρέχει στο Arduino κρατάει τον αριθμό των περιστροφών (μέσω interrupt function [25], βλ. 6.2.1) έτσι ώστε να μπορούμε να πετύχουμε τον προσεγγιστικό υπολογισμό της ταχύτητας περιστροφής του κινητήρα.

Ακόμη μια σημαντική δυσκολία που έπρεπε να λυθεί είναι η μέτρηση του χρόνου. Η διαδικασία υπολογισμού της ταχύτητας περιστροφής του κινητήρα γίνεται ως εξής:

$$N [RPM] = \frac{60}{2 \cdot \pi} \cdot \omega \left[\frac{r}{s}\right] = \frac{60}{2 \cdot \pi} \cdot \frac{\Delta \theta [rad]}{\Delta t [sec]} = \frac{60}{2 \cdot \pi} \cdot \frac{2 \cdot \pi}{\Delta t [sec]} \cdot counter = \frac{60}{\Delta t [sec]} \cdot counter$$

Όπου: counter = Αριθμός πλήρων περιστροφών δίσκου

Όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα, το αποτέλεσμα του προβλήματος ήταν η απότομη και εσφαλμένη αύξηση της μέτρησης των στροφών. Εάν η μέτρηση αυτή αντιστοιχούσε σε πραγματική μεταβολή της ταχύτητας περιστροφής του δρομέα του κινητήρα, θα συνοδευόταν από έντονη ηχητική μεταβολή. Επίσης, η μορφή των υπερακοντίσεων αυτών παραπέμπουν σε μετρητικό θόρυβο λόγω της μεγάλης παραγώγου της.



Εικόνα 43: Μέτρηση Στροφών - Πρόβλημα Θορύβου

Σε όλους τους υπολογιστές υπάρχει ένα ηλεκτρονικό σύστημα χρονομέτρησης (Clock). Έτσι και στο Arduino της διάταξης αυτής υπάρχουν κάποιοι χρονομετρητές (Timers) που είναι υπεύθυνοι για τη μέτρηση του χρόνου σε [μs] ή [ms] από τη στιγμή εκκίνησης της συσκευής. Το πώς δουλεύει το σύστημα των Timers σε έναν μικροελεγκτή ξεφεύγει από τα πλαίσια του παρόντος. Συνεπώς, η μόνη γρήγορη και αποτελεσματική μέθοδος για τη λύση του προβλήματος των υπερακοντίσεων (Εικόνα 43) είναι μέσω Software Troubleshooting.

Λόγω της απλότητας του παραπάνω τύπου υπολογισμού της ταχύτητας, το Software Troubleshooting γρήγορα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο θόρυβος στις στροφές προερχόταν από αντίστοιχο θόρυβο στη χρονομέτρηση. Ο Timer του Arduino δηλαδή, μείωνε δραματικά το μετρούμενο χρόνο μεταξύ 2 διαδοχικών περιστροφών χωρίς να συμβαίνει το αντίστοιχο φυσικό φαινόμενο στη διάταξη. Η πιθανότερη αιτιολόγηση αυτού του φαινομένου είναι η <u>αλληλοεπικάλυψη interrupt functions</u> κατά τη ροή του προγράμματος. Θέλαμε λοιπόν να βρούμε έναν τρόπο οι υψηλές αυτές μετρήσεις θορύβου στο **Δt** να μην επηρεάζουν το σήμα μας. Ένας απλός, ευέλικτος και εύρωστος τρόπος να το πετύχουμε ήταν μέσω Software: <u>Υπολογίζοντας τη διάμεσο ενός δείγματος τιμών Δt</u>, μία τιμή του δείγματος (όσο υψηλή και να είναι) δε θα επηρεάσει την τιμή της διαμέσου που χρησιμοποιούμε στον υπολογισμό των στροφών. Τέλος, ακόμη μία βελτίωση στη μέτρηση των στροφών προέκυψε από την εισαγωγή φίλτρου μέσης τιμής με σκοπό την εξομάλυνση της ζητούμενης τιμής των στροφών [RPM]. Επειδή όμως αυτό απαιτεί την αναμονή ύπαρξης δείγματος (π.χ. 5 τιμών) για την εύρεση της μέσης τιμής τους, επιλέχθηκε η μέθοδος <u>Floating Average</u> κατά την οποία γίνεται «πλωτός» υπολογισμός της μέσης τιμής σε ένα δείγμα το οποίο κρατάει τις –N– τελευταίες διαθέσιμες τιμές. Κάθε φορά λοιπόν που



υπάρχει μία διαθέσιμη τιμή, υπολογίζεται μια νέα μέση τιμή. Στην Εικόνα 44 φαίνεται η συμβολή της μεθόδου αυτής στην εξομάλυνση του σήματος.

Εικόνα 44: Σήμα Μέτρησης Στροφών χωρίς Θόρυβο

Η ανωτέρω μέθοδος (με τη χρήση διαμέσου για το Δt) δουλεύει σωστά μέχρις ότου ο αριθμός των τιμών χρονομέτρησης Δt με θόρυβο γίνει μεγαλύτερος ή ίσος με το μισό δείγμα μας. Δηλαδή, όταν:

$$N_{noise} \geq \frac{N_{sample}}{2}$$

Τότε, η τιμή της διαμέσου θα περιέχει θόρυβο. Σε ποια περίπτωση όμως μπορεί να συμβεί κάτι τέτοιο? Η απάντηση προκύπτει από τη σύντομη ανάλυση που ακολουθεί:

Έστω για παράδειγμα ότι ο δίσκος περιστρέφεται με N[RPM]. Τότε, ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ 2 διαδοχικών παλμών θα είναι:

$$\omega = \frac{2\pi N}{60} \left[\frac{r}{s}\right]$$
$$\omega = \frac{\Delta\theta}{\Delta t} \xrightarrow{\text{yields}} \Delta t = \frac{2\pi [r]}{\frac{2\pi N}{60} [r/s]} \xrightarrow{\text{yields}} \Delta t \cong \frac{60000000}{N} [\mu s]$$

Πρέπει λοιπόν,

$$\Delta t_{median} @N[RPM] \cong \frac{60000000}{N} \ [\mu s]$$

Σε αντίθετη περίπτωση, θα συμβεί overflow στο Arduino και το πρόγραμμα θα σταματήσει. Στο παρακάτω γράφημα είναι φανερή η συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ των στροφών και του Δt_{median} . Η πορτοκαλί γραμμή δίνει τη θεωρητική τιμή του $\Delta t_{median} = 6000000/N$ στις εκάστοτε στροφές που καλείται φτάσει ο Arduino και η μπλέ την πραγματική της τιμή (μετρούμενη απ' το SoftWare). Είναι φανερό ότι η εντολή αύξησης ταχύτητας [RPM] οδηγεί σε μείωση του Δt_{median} μέχρι τη σταθεροποίηση στη θεωρητική τιμή (πορτοκαλί καμπύλη).



Εικόνα 45: Πειραματικές & Θεωρητικές Τιμές για το χρόνο μιας πλήρους περιστροφής

Aπό κάποια ταχύτητα περιστροφής και πάνω, ο Arduino δε μπορεί να δουλέψει σε αρκετά υψηλή συχνότητα ώστε να δίνει χρόνους αρκετά μικρούς ώστε: $\Delta t_{median} \approx \frac{6000000}{N} [\mu s]$. Τότε, οι τιμές του Δt_{median} θα περιέχουν θόρυβο (λόγω της αλληλοεπικάλυψης των interrupt functions), ο επεξεργαστής δε θα προλαβαίνει να κάνει τους απαραίτητους υπολογισμούς πριν ολοκληρωθεί μια περιστροφή (επόμενο interrupt) και το πρόγραμμα θα σταματήσει. Πειραματικά, αυτό συμβαίνει περί τις N = 8000 [RPM]. Μια πιθανή λύση στο ανωτέρω πρόβλημα είναι η χρήση ενός γρηγορότερου Arduino. Για παράδειγμα, το Arduino Due δουλεύει στα 84 [MHz] εν αντιθέσει με το Arduino Leonardo της διάταξης που δουλεύει στα 16 [MHz]. Αυτό σημαίνει ότι η ταχύτητα περιστροφής πέρα από την οποία η συχνότητα επεξεργασίας δεδομένων δεν είναι αρκετή θα 5-πλασιαστεί!

3. Αποτελέσματα Πειραμάτων

3.1 Αποτελέσματα Γεωμετρικών Βαλβίδων

Όπως αναφέραμε στο Κεφάλαιο 2.2.1, τα πειραματικά αποτελέσματα της Διάταξης Αντλίας Πίεσης για τις Γεωμετρικές Βαλβίδες δεν ήταν συστηματικά. Ενδεικτικά, στην Εικόνα 46 φαίνεται η μεγάλη μεταβλητότητα στις τιμές Πίεσης κατάρρευσης των βαλβίδων. Μετά από τον ποιοτικό έλεγχο του Πειραματικού Chip (Εικόνα 22), η κακή επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων αποδόθηκε στους εξής παράγοντες:

- Η τραχύτητα της επιφάνειας που άφηνε το κονδύλι του φρεζαρίσματος (LPKF) ήταν αρκετά κακή και τυχαία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εισαγωγή ενός αστάθμητου παράγοντα στα πειράματα (μιας και η τραχύτητα της επιφάνειας διαφέρει από σημείο σε σημείο). Πρέπει να σημειωθεί ότι στις διαστάσεις αυτές [μm] οι επιφανειακές τάσεις κυριαρχούν στη –στρωτή– ροή του ρευστού, πράγμα το οποίο μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ποιότητα επιφανείας παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην πίεση κατάρρευσης μιας γεωμετρικής μικρο-βαλβίδας, της οποίας η λειτουργία οφείλεται αποκλειστικά στην ισορροπία των επιφανειακών δυνάμεων.
- Μετρήθηκε (σε Οπτικό μικροσκόπιο και με τη βοήθεια μικρομέτρου) το βάθος των φρεζαριστών καναλιών που δημιουργήθηκαν και βρέθηκαν μεγάλες διαφορές από κανάλι σε κανάλι. Αυτό οφείλεται σε 2 παράγοντες: Ο 1^{ος} είναι η έλλειψη παραλληλίας της άνω με την κάτω έδρα. Όταν μας ενδιαφέρει ακρίβεια μερικών [μm] στο φρεζάρισμα, θα πρέπει να υπάρχει η αντίστοιχη ανοχή παραλληλίας μεταξύ των 2 πλευρών. Ο 2^{ος} οφείλεται στην ακρίβεια που μπορεί να πετύχει η συγκεκριμένη μηχανή.

Λόγω λοιπόν των προαναφερθέντων παραγόντων, το συμπέρασμα της πειραματικής αυτής διαδικασίας ήταν ότι με τα μέσα που διαθέτουμε δε μπορούμε να δημιουργήσουμε και να ελέγξουμε Γεωμετρικές Βαλβίδες. Αυτός ήταν ο λόγος που οδηγηθήκαμε στο σχεδιασμό της Φυγοκεντρικής Διάταξης (Εικόνα 24, Εικόνα 39).



Εικόνα 46: Πίεση Κατάρρευσης Γεωμετρικών Βαλβίδων

Η στατιστική ανάλυση της παραπάνω εικόνας δίνει τα εξής στοιχεία:

- Μέση Τιμή : x̄ = 1.9 [mbar]
 Τυπική Απόκλιση: s = 1.25
- Συντελεστής Μεταβλητότητας: $CV = s/\bar{x} = 65.8 \%$
- Eúpoç : $Range = x_{max} x_{min} = 4.7 \ [mbar]$

3.2 Αποτελέσματα Φυγοκεντρικής Διάταξης (Φίλτρα)

Εδώ πραγματοποιήθηκαν 4 set διαφορετικών πειραμάτων στο Chip 1 (Normal Flow, Εικόνα 25) με σκοπό το χαρακτηρισμό του φίλτρου/βαλβίδας και την απάντηση των εξής ερωτημάτων:

- a. Πώς συμπεριφέρεται το φίλτρο χωρίς να γίνει υδρόφοβο ?
- b. Σε ποιες στροφές (άρα και πίεση) «σπάει» η βαλβίδα ?
- c. Μπορεί το φίλτρο να ξαναχρησιμοποιηθεί ως βαλβίδα αφού «σπάσει» ?
- d. Υπό σταθερές στροφές, πόσο γρήγορα/επαναλήψιμα αδειάζει μια ποσότητα ρευστού?

Παρακάτω, φαίνονται τα αποτελέσματα για το κάθε set πειραμάτων:

- <u>Το υδρόφιλο φίλτρο δεν μπορεί να λειτουργήσει ως βαλβίδα</u>. Ακόμα και στις χαμηλότερες στροφές που μπορούμε να πετύχουμε με το συγκεκριμένο κινητήρα (N = 1500 [RPM]), το ρευστό δε σταματά στο φίλτρο και αδειάζει απότομα.
- b. Εδώ η πειραματική διαδικασία είναι η ακόλουθη:
 - Βάζω με πιπέτα 45[μL] στη δεξαμενή του Chip 1 (Εικόνα 25)
 - Ξεκινάω από N = 2200 [RPM] και κρατάω σταθερή ταχύτητα για 2 [min]
 - Μετά το πέρας των 2 [min], μηδενίζω την ταχύτητα και ελέγχω αν έχει περάσει ρευστό από το φίλτρο
 - Αν έχει περάσει, σταματάω και κρατάω την τιμή του Ν
 - Αν δεν έχει περάσει: $N_{i+1} = N_i + 35 [RPM]$ και επαναλαμβάνω τη διαδικασία



Εικόνα 47: Πίεση Κατάρρευσης Υδροφοβικών Βαλβίδων (Φυγοκεντρική Διάταξη)

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 41 (και σε αντίθεση με την Εικόνα 40), οι υδροφοβικές βαλβίδες «σπάνε» συστηματικά στις $N = 2900 \pm 200 [RPM]$. Αυτό σημαίνει ότι <u>υπάρχει ένα εύρος 400 [RPM] στο οποίο</u> είμαστε σχεδόν βέβαιοι ότι η βαλβίδα καταρρεύσει (ανοίξει) και το ρευστό θα περάσει. Με άλλα λόγια ο συντελεστής διασποράς δίνεται από τον τύπο:

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} = \frac{108}{2902} = 3.72\%$$

- c. Έγιναν 5 Πειράματα στα οποία:
 - Αδειάσαμε το Chip από το ρευστό που είχε
 - Βάλαμε εκ νέου 45 [μL] από το ίδιο δοκιμαστικό ρευστό
 - Ρυθμίσαμε την ταχύτητα στην χαμηλότερη δυνατή: N = 1500 [RPM] για 2 [min]

Και στα 5 Πειράματα, το επαναχρησιμοποιημένο φίλτρο δεν είχε τη συμπεριφορά βαλβίδας που είχε την 1^η φορά που χρησιμοποιήθηκε (πριν γίνει «wet»). Αυτό σημαίνει ότι <u>το υδρόφοβο φίλτρο μπορεί</u> <u>να λειτουργήσει ως βαλβίδα (να μην επιτρέπει τη διέλευση ρευστού μέχρι η πίεση να φτάσει κάποια</u> <u>τιμή) μόνο μέχρι να γίνει «wet»</u>.

- d. Εδώ έγιναν 10 Πειράματα σε 2 διαφορετικές βαλβίδες (Chip 1, Normal Flow). Οι πειραματικές συνθήκες ήταν οι εξής:
 - Βάζουμε 45 [μL] στην κάθε δεξαμενή του Chip 1 (Εικόνα 25)
 - Θέτουμε την ταχύτητα περιστροφής: N = 3425 [RPM] για 20 [min]
 - Μαγνητοσκοπούμε το πείραμα των 20 [min]
 - Γίνεται ανάλυση του βίντεο σε περιβάλλον MATLAB για την εύρεση της στάθμης του ρευστού κατά τη διάρκεια του πειράματος
 - Συγκρίνονται τα αποτελέσματα ως προς την επαναληψιμότητά τους



Εικόνα 48: Απόκριση Στήλης Ρευστού Βαλβίδα - Χ



Εικόνα 49: Απόκριση Στήλης Ρευστού Βαλβίδας – V

Όπως μπορούμε να διακρίνουμε στις Εικόνες 48 & 49, η απόκριση της στήλης ρευστού στο Chip 1 (Εικόνα 25), δεν είναι πολύ συστηματική. Αυτό πιθανώς να οφείλεται σε αρκετούς παράγοντες, μερικοί από τους οποίους αναφέρονται παρακάτω:

- Ένα φίλτρο Whatman παρουσιάζει <u>ανομοιογένειες στη διάταξη των ινών</u> του από σημείο σε σημείο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η μέθοδος κοπής τους σε φιλτράκια διαμέτρου 3 [mm] (Εικόνα 19) να δίνει ελαφρώς διαφορετικές βαλβίδες. Σε μερικές δηλαδή οι ίνες είναι περισσότερο πυκνές, ενώ σε άλλες λιγότερο. Αυτό σημαίνει ότι η ακτινική ροή του ρευστού συναντά διαφορετική αντίσταση από πείραμα σε πείραμα.
- Το <u>φίλτρο «σπάει» μερικώς</u>. Το αντίστοιχο φαινόμενο σε συνήθεις βαλβίδες υδραυλικών κυκλωμάτων θα ήταν η βαλβίδα να μην ανοίγει πλήρως. Αυτό συμβαίνει επειδή το ρευστό δεν κάνει «wet» όλη τη βρεχόμενη επιφάνεια, αλλά μια τοπική περιοχή. Το αποτέλεσμα αυτού είναι ότι η αντίσταση που συναντά η ακτινική ροή εξαρτάται από το μέγεθος της «wet» περιοχής που επιτρέπει τη διέλευση του ρευστού.
- Επειδή ο <u>έλεγχος της ταχύτητας περιστροφής είναι ανοιχτού βρόχου</u> με συνέπεια να μην μπορούμε να πετύχουμε ίδιες ακριβώς συνθήκες ταχύτητας περιστροφής (και άρα πίεσης) σε όλα τα πειράματα. Αυτό σημαίνει ότι ενώ η εντολή της ταχύτητας περιστροφής είναι η ίδια κάθε φορά, η πραγματική ταχύτητα όμως διαφέρει ελαφρά.



Εικόνα 50: Ποσοτικοποίηση Σφάλματος Πειραμάτων σειράς –d–

Η ποσοτικοποίηση του σφάλματος έγινε συγκρίνοντας το χρονικό διάστημα που έχει περάσει από την αρχή του πειράματος μέχρι το ύψος της στήλης ρευστού να φτάσει στο 60% του αρχικού της μήκους.

Αφού βεβαιωθήκαμε ότι όταν το ρευστό περνά μέσα από το υδρόφοβο φίλτρο η συμπεριφορά του είναι η αναμενόμενη (λειτουργεί επαναλήψιμα ως βαλβίδα), το επόμενο βήμα ήταν να γίνουν τα αντίστοιχα πειράματα στο Chip2 (Εικόνα 27) που συμβαδίζει με τις – 2D – μεθόδους κατεργασίας που χρησιμοποιεί η επιστημονική κοινότητα. Ωστόσο, το πρόβλημα στεγάνωσης της Εικόνας 36 δε καταφέραμε να το εξαλείψουμε μεταβάλλοντας το βάθος της ποκέτας υποδοχής του φίλτρου (Εικόνα 29, 1). Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 36, η έλλειψη στεγάνωσης στο σημείο του φίλτρου, επέτρεπε (ορισμένες φορές) στο ρευστό να διαφεύγει γύρω από το φίλτρο κατά τυχαίο τρόπο. Στο γεγονός αυτό οφείλεται η μεγάλη μεταβλητότητα των πειραματικών αποτελεσμάτων (Εικόνα 52).



Εικόνα 51: Προφίλ Ταχύτητας κατά τη διάρκεια του Πειράματος



Εικόνα 52: Πειραματικά Αποτελέσματα Chip02

- Μέση Τιμή : $\bar{x} = 1841 [RPM]$
- Τυπική Απόκλιση: s = 215
- Συντελεστής Μεταβλητότητας: $CV = s/\bar{x} = 11.7 \%$
- Eύρος : $Range = x_{max} x_{min} = 546 [RPM]$

4. Συμπεράσματα & Μελλοντική Εργασία

4.1 Χαρακτηρισμός Φυγοκεντρικής Πειραματικής Διάταξης

Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε ο σχεδιασμός και η κατασκευή μιας πειραματικής διάταξης για τον έλεγχο μικροβαλβίδων. Η εύρωστη λειτουργία των μικρο-βαλβίδων, όπως είδαμε στο Κεφάλαιο 1.2, είναι ένα από τα σημαντικότερα ζητήματα για τη διαχείριση ρευστών και συνεπώς για την ορθή λειτουργία ενός Φυγοκεντρικού Μικροροϊκού Συστήματος (Centrifugal Microfluidic System). Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων, η διάταξη μπορεί να προσφέρει ικανοποιητικά και επαναλήψιμα αποτελέσματα σε ό,τι αφορά:

- Την ανάπτυξη & μέτρηση της ταχύτητας περιστροφής του δοκιμίου (Open Loop & Closed Loop)
- Τη στροβοσκοπική μαγνητοσκόπιση του πειράματος
- Ασφάλεια έναντι κινδύνου τραυματισμού του χειριστή
- Ανάλυση Πειραματικών αποτελεσμάτων (Post Processing)

Όπως κάθε πρωτότυπη κατασκευή, έτσι και η συγκεκριμένη έχει πολλά περιθώρια βελτίωσης, τα βασικότερα από τα οποία παρουσίαζονται παρακάτω:

- Χρήση γρηγορότερου μικροελεγκτή (Arduino Due @84MHz) για δυνατότητα αξιοποίησης όλου του εύρους των στροφών που μπορεί να προσφέρει ο κινητήρας
- Υλοποίηση ελέγχου κλειστού βρόχου για την ταχύτητα περιστροφής του κινητήρα με σκοπό τη βελτίωση της επαναληψιμότητας των πειραματικών συνθηκών
- Χρήση καλύτερης κάμερας, με δυνατότητα ρύθμισης των frames per second για τη βελτίωση της ποιότητας των μαγνητοσκοπημένων πειραμάτων και ζωντανή σύνδεση με τον Η/Υ (real-time feed)
- Χρήση μίας πηγής ισχύος για το στροβοσκόπιο και τον κινητήρα, αντί για δύο
- Επανασχεδιασμός της διάταξης για μείωση μεγέθους

4.2 Χαρακτηρισμός Τεχνολογίας Υδροφοβικών Φίλτρων/Βαλβίδων

Η τεχνολογία αυτή έχει πολλές προοπτικές, ωστόσο υπάρχουν σημαντικά ζητήματα τα οποία δεν καταφέραμε να λύσουμε στο παρόν εκπόνημα. Θα δούμε λοιπόν αναλυτικότερα ποια είναι τα προτερήματα και ποια τα ελαττώματα αυτής της μεθόδου.

Τα βασικότερα **προτερήματα** είναι:

- Η διαδικασία παρασκευής τους (Κεφάλαιο 2.1) είναι αρκετά απλή και βιομηχανικά αξιοποιήσιμη.
 Υπάρχει η δυνατότητα ένταξης της διαδικασίας αυτής σε προϊόντα μαζικής παραγωγής
- Τα πειραματικά αποτελέσματα της συμπεριφοράς τους (Κεφάλαιο 3.2) είναι αρκετά επαναλήψιμα υπό τις κατάλληλες συνθήκες
- Μπορούν να ενταχθούν σε πολύ διαφορετικά προϊόντα με ελάχιστες αλλαγές
- Η τεχνολογία αυτή είναι συμβατή με τα μικροσφαιρίδια (απαραίτητα για αρκετά βιολογικά πρωτόκολλα)
- Η καινοτομία Στραγγαλισμού της ροής δίνει τη δυνατότητα επίτευξης πολύ μικρής & στρωτής ροής.
 Η σημασία αυτής της δυνατότητας οφείλεται στην επίτευξη συνθηκών Incubation (αργή παρέλευση ρευστού πάνω σε κάποιον αναλυτή) που χρειάζονται σε πληθώρα βιολογικών πρωτοκόλλων

Τα βασικότερα **ελαττώματα** είναι:

- Όπως φάνηκε από τα πειραματικά δεδομένα (Κεφάλαιο 3.2), η βαλβίδα αυτή είναι μιας χρήσης. Αυτό σημαίνει ότι την 1^η φορά που θα χρησιμοποιηθεί, θα λειτουργεί και ως φίλτρο και ως βαλβίδα μη επιτρέποντας τη διέλευση του ρευστού μέχρι την ανάπτυξη κάποιας πίεσης κατάρρευσης. Από τη 2^η φορά και μετά, ενώ το φίλτρο στραγγαλίζει τη ροή (λειτουργεί ως φίλτρο), δε μπορεί να επαναλειτουργήσει ως βαλβίδα, σταματώντας τη διέλευση του ρευστού όπως την 1^η φορά.
- Το κυριότερο ζήτημα όμως το οποίο πρέπει να λυθεί, είναι αυτό της στεγάνωσης (Εικόνα 36). Όπως αναφέραμε στο Κεφάλαιο 2.2.2, το Chip1 (Normal Flow, λειτουργεί όπως προβλέπεται) δε συμβαδίζει όμως με τις μεθόδους της επιστημονικής κοινότητας και στο Chip2 (Lateral Flow) που συμβαδίζει, υπάρχει πρόβλημα στεγάνωσης.

Είναι γεγονός πάντως πως αν ξεπεραστούν αυτά τα ζητήματα (ιδίως το 2°) η τεχνολογία αυτή μπορεί να λύσει το ζήτημα της διαχείρισης μικρών όγκων ρευστών σε ένα Μικροροϊκό Σύστημα και να αυτοματοποιήσει ορισμένες λειτουργίες (π.χ. Incubation) που μέχρι στιγμής γίνονται χειροκίνητα.

5. Βιβλιογραφία

[1] <u>https://en.wikipedia.org/wiki/Microfluidics</u>

[2] Introduction to Microfluidics, Turgut Fettah Kosar

[3] Ducree J. et al, 2007, The centrifugal microfluidic Bio-Disk platform

[4] http://web.eecs.utk.edu/~jaynewu/Teaching/Centrifugal%20Microfluidics.pdf

[5] http://www.gyros.com/wp-content/uploads/2012/07/PIS-Gyrolab-Bioaffy-CDs-and-Rexxip-Buffers.pdf

[6] Strohmeier O. et al, 2015, Centrifugal microfluidic platforms: advanced unit operations and applications

[7] Kwang W Oh, Chong H Ahn, 2006, A review of microvalves

[8] Thio et al, 2013, Theoretical development and critical analysis of burst frequency equations for passive valves on centrifugal microfluidic platforms

[9] Tang M et al, 2016, A Review of Biomedical Centrifugal Microfluidic Platforms

[10] Cai Z, Xiang J et al, 2016, Membrane-based valves and inward-pumping system for centrifugal microfluidic platforms

[11] https://www.rndsystems.com/resources/technical/luminex-bead-based-assay-principle

[12] Burger R, Reith P et al, 2011, MULTIPLEXING OF HIGHLY REPRODUCIBLE, BEAD-BASED IMMUNOASSAYS ON A CENTRIFUGAL MICROFLUIDIC PLATFORM

[13] Oleschuk R et al, 2000, Trapping of bead-based reagents within microfluidic systems: On-Chip Solid-Phase Extraction and Electrochromatography

[14] Chen C C, Chena Y A, Yao D J, 2014, Rare Cells Detection by Selective Enrichment with a Novel Multilayer Concentric Filter Device

[15] Andersson H, 2001, Microfluidic Devices for Biotechnology and Organic Chemical Applications

[16] Moorthy J et al, 2004, Microfluidic tectonics platform: A colorimetric disposable botulinum toxin enzymelinked immunosorbent assay system

[17]

https://www.biozid.info/fileadmin/Assets/download/2010 UBA Texte Nanos als Alternative zu biozidhal tigen_AF_PT21.pdf

- [18] <u>https://www.youtube.com/watch?v=KPrSPqfVJhA</u>
- [19] http://docs-europe.electrocomponents.com/webdocs/00aa/0900766b800aae87.pdf
- [20] <u>https://docs.google.com/document/d/1acVuzZKuqC_79RzD5BRT9IQ7ug63zG0wpf-bUgQ7QHY/view</u>
- [21] http://www.tme.eu/pt/Document/b1300325bd6a971aec89d37c391af9ff/FQP2N60C.pdf
- [22] http://grobotronics.com/high-power-led-3w-cold-white-emitter.html
- [23] http://optekinc.com/datasheets/OPB845A.PDF
- [24] http://optekinc.com/pdf/app%20bulletin%20213-opto%20assemblies.pdf

[25] <u>http://playground.arduino.cc/Code/Interrupts</u>

[26] https://arduino-info.wikispaces.com/Timers-Arduino

[27]

http://www.ba.duth.gr/ematerial/%CE%9C%CE%AD%CF%84%CF%81%CE%B1%20%CE%94%CE%B9%CE%B1 %CF%83%CF%80%CE%BF%CF%81%CE%AC%CF%82(measures%20of%20dispersion).pdf

6. Παραρτήματα

6.1 Παράρτημα Α: Κατασκευαστικά Σχέδια




























KINHTHPAΣ DC – 12V

MFA	/сомо	DRILLS										
RE - 8	50 (3	POLE)										
Weight 59	5g (app	rox)	A la		No. 457 R No. 719 R No. 1114/2	E 850 (with E 850 (with Motor Bra	n Bracke nout Bra acket (90	t) ccket) Do only) F G A B B				
DIMENSIONS	A	в	с	D	E	F	G	н	1	J		к
MILLIMETER	1:	3.2 20.5	69.0)	110.0	6.350	21.75	51.8	M5	32.0		
DECIMAL INCH	ES 0.	520 0.81	0 2.72	20	4.330	0.250	0.860	2.040)	1.26	0	
DECIMAL INCH	ES 0.	520 0.81	0 2.72	20	4.330	0.250	0.860	2.040		1.26	0	
DECIMAL INCH	ES 0. VOLT/	520 0.8 ⁴	0 2.72	NO LOAD	4.330	0.250 AT M	0.860	2.040	CY	1.26	0 ST/	ALL
MODEL	ES 0. VOLT/ OPERATING	520 0.8 ⁴	0 2.72	NO LOAD	4.330 ENT SPEED	0.250 AT M	0.860	2.040 EFFICIENC	CY OUTPUT	1.26 EFF	0 ST/ TOR	ALL QUE
MODEL	ES 0.	520 0.84 AGE NOMINAI	0 2.72 SPE . R.P.	NO LOAD EED CURR	4.330 ENT SPEED R.P.M.	0.250 AT M CURRENT A	0.860 AXIMUM I TOR oz - in	2.040 EFFICIEN QUE mN-m	CY OUTPUT W	1.26 EFF %	0 ST/ TOR oz - in	ALL QUE mN-m
MODEL RE - 850	ES 0. VOLT/ OPERATING RANGE	520 0.81 AGE NOMINAI 12.0v CONST	0 2.72 SPE . R.P. ANT 977	NO LOAD EED CURR IM. A 78 1.90	4.330 ENT SPEED R.P.M 8311	0.250 AT M CURRENT A 10.82	0.860 AXIMUM I TOR oz - in	2.040 EFFICIEN QUE mN-m 92.13	OUTPUT W 80.16	EFF % 61.74	0 ST/ TOR oz - in	ALL QUE mN-m 614
MODEL RE - 850	ES 0. VOLT/ OPERATING RANGE 12.0v	520 0.81 AGE NOMINAI 12.0v CONST	0 2.72 SPE . R.P. ANT 977 Stall	NO LOAD EED CURR M. A 78 1.90 Current RE85	4.330 ENT SPEED R.P.M 8311 50 at 12v =	0.250 AT M CURRENT A 10.82 61.34A	0.860 AXIMUM I TOR oz - in	2.040 EFFICIEN QUE mN-m 92.13	OUTPUT W 80.16	EFF % 61.74	0 ST/ TOR oz - in	ALL QUE mN-m 614

6.2 Παράρτημα Β: Κώδικας Λογισμικού

Στο Παράρτημα Β παρατίθονται οι κώδικες λογισμικού που χρησιμοποιήθηκαν στο παρόν εκπόνημα για τη χρήση της κατασκευής (6.2.1) καθώς και για την ανάλυση των δεδομένων (6.2.2)

6.2.1 Κώδικας Arduino

```
// Variables Declared Here are GLOBAL
volatile byte counter;
double rpm;
unsigned long timeold;
unsigned long timenew;
unsigned long dt_array[11];
unsigned long median_dt;
unsigned long temp;
const int IR_DETECTOR_PIN = 3;
const int pinPwm = 9;
const int pinDir = 7;
int speed1;
```

// Define the number of samples to keep track of. The higher the number, // the more the readings will be smoothed, but the slower the output will // respond to the input. Using a constant rather than a normal variable lets // use this value to determine the size of the readings array. const int numReadings = 20; float readings[numReadings]; // the readings from the analog input int readIndex = 0; // the index of the current reading float total = 0; // the running total float average = 0; // the average int k;

```
void setup() //Run once
{
   Serial.begin(9600);
   attachInterrupt(digitalPinToInterrupt(3), rpm_fun, RISING);
   counter = 0;
   timeold = 0;
   pinMode(IR_DETECTOR_PIN, INPUT);
   pinMode(pinPwm, OUTPUT);
   pinMode(pinDir, OUTPUT);
```

```
//Floating Average Filter Array for RPM (Initialization)
for (int thisReading = 0; thisReading < numReadings; thisReading++) {
  readings[thisReading] = 0;
}</pre>
```

```
}
```

```
//Median Array for dt (Initialization)
for (int i = 0; i < 11; i++) {
    dt_array[i] = 0;
}</pre>
```

```
while (! Serial){
   Serial.println("Speed 0 to 255");
}
```

```
void loop() //Run repeatedly
```

{

//Input PWM Speed from Serial Port

```
if (Serial.available() > 0){
```

```
speed1 = Serial.parseInt();
```

```
// Positive speed value = CW,
// Negative speed value = CCW.
if (speed1 >= 0) {
    analogWrite(pinPwm, speed1);
    digitalWrite(pinDir, LOW);
}
else {
    speed1 = -speed1;
    analogWrite(pinPwm, speed1);
    digitalWrite(pinDir, HIGH);
```

```
}
```

```
//Change Floating Average Dimension According to Speed
```

```
if (speed1 <= 100){
 k = 10;
 for (int thisReading = k; thisReading < numReadings; thisReading++) {</pre>
  total = total - readings[thisReading];
  readings[thisReading] = 0;
}
}
else if (speed1 <= 200){
 k = 15;
 for (int thisReading = k; thisReading < numReadings; thisReading++) {</pre>
  total = total - readings[thisReading];
  readings[thisReading] = 0;
}
}
else {
k = 20;
}
```

```
while (Serial.available() > 0){
  Serial.read();
 }
}
```

```
//Update RPM every 11 counts
if (counter >= 11) {
 median_dt = sort(dt_array);
 rpm = 6000000.0/median_dt;
```

```
//Sensor Filter
```

total = total - readings[readIng	<pre>dex]; //subtract the last reading</pre>
readings[readIndex] = rpm;	//read from the sensor
total = total + readings[readIn	dex]; //add the reading to the total
readIndex++;	//advance to the next position in the array

```
// if we're at the end of the array
 if (readIndex >= k) {
  readIndex = 0;
 }
 average = total / k;
 //Serial.print(rpm);
 //Serial.print(" ");
 //Serial.println(median_dt);
 Serial.println(average);
 counter = 0;
}
```

}

```
//Each rotation, this interrupt function is run once
void rpm_fun()
{
  timenew = micros();
  dt_array[counter] = timenew - timeold;
  timeold = timenew;
  counter++;
```

```
}
```

// Sorts the dt_array and returns the Median

unsigned long sort(unsigned long dt_array[]) // Isws de xreiazetai na tou perasw ton pinaka gt einai global

```
{
```

```
for (int i = 0; i < 6; i++){
  for (int j = i+1; j < 11; j++){
    if ((dt_array[i] > dt_array[j])){
      temp = dt_array[i];
      dt_array[i] = dt_array[j];
      dt_array[j] = temp;
    }
  }
  return dt_array[5];
}
```

//----END OF PROGRAM-----//

6.2.2 Κώδικας MATLAB

track channel.m

```
%% Parameters
[videofile, videodir] = uigetfile({'*.mov', '*.avi'}, 'Select Video
File');
videofile = fullfile(videodir, videofile);
V = VideoReader(videofile);
%% All these must be made arguments at some point!
sampleSize = 15; % how many frame to average
redthres = 2; % ratio of red / max(green, blue) that is considered red
UXthres = 1; % threshold to call something an up-edge
DXthres = -.5; % threshold to call something a down-edge
UVthres = 1; % threshold to call something an up-edge
DVthres = -1; % threshold to call something a down-edge
cutoff = 1.5; % how close are neighbors
visualise = true;
%% Initialize Video
start = input('Give start time in sec: '); % starting second
V.CurrentTime = start;
frame = readFrame(V);
redrt = double(frame); % red ratio
redrt = redrt(:,:,1) ./ max(redrt(:,:,2), redrt(:,:,3));
%% Find Angle
waitfor(msgbox('Draw Line across Valves starting from bottom'));
imshow(redrt >= redthres)
h = imline(qca);
pause on % wait for user to press a button
pause
Axv = diff(getPosition(h));
Axv = 90 + rad2deg(atan2(Axv(2), Axv(1)));
frame = imrotate(frame, Axv);
%% Find Valves
[Wx, Hx] = find valve('X', frame);
[Wv, Hv] = find valve('V', frame);
%% Prepare Loop
NumFrames = ceil(V.FrameRate * (V.Duration - V.CurrentTime) /
sampleSize);
Lx = nan(NumFrames, 2);
                                  %(U, D)
Lv = nan(NumFrames, 2);
                                  %(U, D)
tp = 0; % time-point
colormap gray
%% Main Loop
while hasFrame(V)
    tp = tp + 1;
    try
```

```
V.CurrentTime = tp*10 + start; % Skip 10 [sec]
    catch
        display('End of File');
        break
    end
    curtime = V.CurrentTime;
    frameX = zeros([diff(Wx), diff(Hx)] + 1);
    frameV = zeros([diff(Wv), diff(Hv)] + 1);
    for n = 1:sampleSize
        try
            frame = readFrame(V);
        catch ME
            if strcmp (ME.identifier,
'MATLAB:audiovideo:VideoReader:EndOfFile')
                break
            end
        end
        frame = imrotate(frame, Axv);
        frame = double(frame); % red ratio
        redrt = frame(:,:,1) ./ max(frame(:,:,2), frame(:,:,3));
        redrt(isnan(redrt)) = 0;
        redrt = redrt > redthres;
        frameX = frameX + redrt(Wx(1):Wx(2), Hx(1):Hx(2));
        frameV = frameV + redrt(Wv(1):Wv(2), Hv(1):Hv(2));
    end
    frameX = frameX / n;
    [Lx(tp, 1), Lx(tp, 2)] = find border(frameX, UXthres, DXthres,
cutoff);
    frameV = frameV / n;
    [Lv(tp, 1), Lv(tp, 2)] = find border(frameV, UVthres, DVthres,
cutoff);
    if visualise
        subplot(2,2,1)
        imagesc(frameX)
        hold on
        plot([1, size(frameX, 2)], [Lx(tp, 1), Lx(tp,1)], 'r',
'LineWidth', 1)
        plot([1, size(frameX, 2)], [Lx(tp, 2), Lx(tp,2)], 'g',
'LineWidth', 1)
        hold off
        title('Valve-X')
        xlabel('Pixels')
        ylabel('Pixels')
        subplot(2,2,2)
        plot(1:tp, Lx(1:tp,1), 'r', 'LineWidth', 1)
        hold on
        plot(1:tp, Lx(1:tp,2), 'g', 'LineWidth', 1)
        hold off
        grid on
        title(sprintf('Time = %.2f', curtime))
        xlabel('tp')
        ylabel('Pixels')
```

```
subplot(2,2,3)
        imagesc(frameV)
        hold on
        plot([1, size(frameV, 2)], [Lv(tp, 1), Lv(tp,1)], 'r',
'LineWidth', 1)
        plot([1, size(frameV, 2)], [Lv(tp, 2), Lv(tp, 2)], 'g',
'LineWidth', 1)
       hold off
        title('Valve-V')
        xlabel('Pixels')
        ylabel('Pixels')
        subplot(2,2,4)
        plot(1:tp, Lv(1:tp,1), 'r', 'LineWidth', 1)
        hold on
        plot(1:tp, Lv(1:tp,2), 'g', 'LineWidth', 1)
        hold off
        grid on
        xlabel('tp')
        ylabel('Pixels')
        pause(0.01)
    end
end
%% Post Processing (might need tuning)
Outer X = nanmedian(Lx(:, 1));
Outer V = nanmedian(Lv(:, 2));
Dist = abs((Outer_V + Wv(1)) - (Outer_X + Wx(1)));
       = abs(Lx(:, \overline{2}) - Outer_X)/Dist;
DLx
       = abs(Lv(:, 1) - Outer V)/Dist;
DLv
%Plot Parameters
figure
plot(1:size(DLx, 1), DLx)
hold on
grid on
plot(1:size(DLv, 1), DLv)
title('Experiment 5')
xlabel('time')
ylabel('Liquid Level')
legend('X-valve', 'V-valve')
find valve.m
function [width, height] = find valve(name, frame)
close all
waitfor(msgbox(sprintf('Crop out Valve-%s', name)));
[~, valve] = imcrop(frame);
waitfor(valve);
valve = round(valve);
width = [valve(2), valve(2) + valve(4)];
height = [valve(1), valve(1) + valve(3)];
```

```
77
```

close all

end

find front.m

```
function front = find_front(I, cutoff)
[x, y] = find(I);
A = [x, y];
if size(A, 1) < 2;
    front = nan;
    return
end
dist = pdist(A);
link = linkage(dist);
C = cluster(link, 'Cutoff', cutoff, 'Criterion', 'distance');
A = A(C == mode(C),:);
front = mean(A(:,1));
end</pre>
```

find border.m

```
function [Up, Down] = find_border(frame, Uthres, Dthres, cutoff)
sobel = fspecial('sobel');
frame = imgaussfilt(frame, 1);
frame = imfilter(frame, sobel);
Up = find_front(frame >= Uthres, cutoff);
Down = find_front(frame <= Dthres, cutoff);
end</pre>
```

Save Data.m

```
%% Save Data Script
for i = 1:9
    load(sprintf('Exp 0%i skip10', i))
    eval(sprintf('Dist %d = Dist', i));
    eval(sprintf('DLx_%d = DLx', i));
    eval(sprintf('Wx%d = Wx', i));
    eval(sprintf('Wv%d = Wv', i));
    eval(sprintf('DLv %d = DLv', i));
    eval(sprintf('Lx_%d = Lx', i));
    eval(sprintf('Lv %d = Lv', i));
    eval(sprintf('Outer X%d = Outer X', i));
    eval(sprintf('Outer V%d = Outer V', i));
    save('Data.mat', sprintf('DLx_%d', i), sprintf('DLv %d', i),
sprintf('Dist_%d', i), sprintf('Lx_%d', i), sprintf('Lv_%d', i),
sprintf('Outer X%d', i), sprintf('Outer V%d', i), sprintf('Wv%d', i),
sprintf('Wx%d', i), '-append')
    clear
end
```

Plotting.m

```
%% Plotting Alltogether
close all
% Valve - X Plot
figure(1)
hold on
grid on
for i = 0:9
    dlx = eval(sprintf('DLx %d', i));
    dlx = dlx(dlx \le 0.25 | isnan(dlx));
    if (i == 2 | i == 4 | i == 9)
        for j = 2:length(dlx)
            if (abs(dlx(j) - dlx(j-1)) > 0.01)
                dlx(j) = NaN;
            end
        end
    end
    plot(dlx)
end
title('Valve - X')
xlabel('time')
ylabel('Liquid Level')
legend('Exp 1 0', 'Exp 1', 'Exp 2', 'Exp 3', 'Exp 4', 'Exp 5', 'Exp 6',
'Exp 7', 'Exp 8', 'Exp 9')
hold off
%Valve - V Plot
figure(2)
hold on
grid on
for i = 0:9
    dlv = eval(sprintf('DLv %d', i));
    dlv = dlv(dlv \le 0.25 | isnan(dlv));
    for j = 2:length(dlv)
        if (abs(dlv(j) - dlv(j-1)) > 0.01)
            dlv(j) = NaN;
        end
    end
    plot(dlv)
end
title('Valve - V')
xlabel('time')
ylabel('Liquid Level')
legend('Exp 1 0', 'Exp 1', 'Exp 2', 'Exp 3', 'Exp 4', 'Exp 5', 'Exp 6',
'Exp 7', 'Exp 8', 'Exp 9')
hold off
%Time Error Plot (Time up to 60% of Channel)
figure(3)
bar([10*t x/60;10*t v/60]')
title('Time up to 60% of Channel')
ylabel('time [min]')
xlabel('Experiment No')
legend('Valve-X', 'Valve-V')
```

grid on