



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ»

Υπολογιστική ανάλυση διαχωρισμού σπανίων
κυττάρων σε μικρορευστονική διάταξη με
ανάγλυφο ψαροκόκαλου στα τοιχώματα

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

ΝΙΚΟΛΑΟΥ ΤΑΒΑΝΤΖΟΠΟΥΛΟΥ

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

Επιβλέπων: Δρ. Κόκκορης Γεώργιος, Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης &
Νανοτεχνολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. 'Δημόκριτος'

Αθήνα, 2018



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ»

Υπολογιστική ανάλυση διαχωρισμού σπανίων
κυττάρων σε μικρορευστονική διάταξη με
ανάγλυφο ψαροκόκαλου στα τοιχώματα

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

ΝΙΚΟΛΑΟΥ ΤΑΒΑΝΤΖΟΠΟΥΛΟΥ

ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

Επιβλέπων: Δρ. Κόκκορης Γεώργιος, Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης &
Νανοτεχνολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. ‘Δημόκριτος’

Αθήνα, 2018

Πρόλογος - Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης & Νανοτεχνολογίας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος" στα πλαίσια του διατμηματικού μεταπτυχιακού προγράμματος "Μικροσυστήματα και Νανοδιατάξεις" της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Θετικών Επιστήμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Θεωρώ λοιπόν χρέος μου να εκφράσω τις ολόθερμες ευχαριστίες μου σε όλους αυτούς που με τη συμβολή τους πραγματοποιήθηκε αυτή η εργασία.

Ευχαριστώ τον επιβλέποντά μου, Δρ. Γεώργιο Κόκκορη του Ινστιτούτου Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος", για την καθοδήγηση, την κατανόηση, τη βοήθεια και τα όσα με δίδαξε.

Ευχαριστώ την Υποψήφια Διδάκτωρ Ιωάννα Κεφαλά του Ινστιτούτου Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος", για την υπομονή της, τη βοήθεια που μου προσέφερε, τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε και για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε.

Επιπλέον, ευχαριστώ τη Δρ. Αγγελική Τσερέπη Διευθύντρια Ερευνών στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. "Δημόκριτος" που με εισήγαγε στο κομμάτι των μικρορευστονικών διατάξεων.

Ευχαριστώ επίσης, τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Ράπτη της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Θετικών Επιστήμων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου και υπεύθυνο του μεταπτυχιακού προγράμματος "Μικροσυστήματα και Νανοδιατάξεις", για την κατανόησή του όταν χρειάστηκε να λάβω παράταση στις σπουδές μου λόγω εργασίας, για τις γνώσεις που μας παρείχε απλόχερα στο μάθημά του.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω ολόψυχα τους γονείς μου για την αμέριστη συμπαράστασή τους, καθώς και για το ήθος και την ανατροφή που μου προσέδωσαν.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τον αδερφό μου που αποτελεί ένα πρότυπο για μένα καθώς και για τη συμπαράσταση και την εμπιστοσύνη που μου υποδεικνύει.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τη σύντροφό μου στη ζωή για τη στήριξη, κατανόηση και εμπιστοσύνη που μου υποδεικνύει καθημερινά.

Περίληψη

Οι μέθοδοι διαχωρισμού σπανίων κυττάρων (π.χ. κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα, βακτήρια) βασίζονται στις μηχανικές ιδιότητες των κυττάρων (π.χ. μέγεθος), στην εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου και στην προσάρτηση μαγνητικών σωματιδίων στα κύτταρα ώστε να αποκτήσουν μαγνητικές ιδιότητες. Σημαντική κατηγορία μεθόδων διαχωρισμών είναι επίσης και οι ανοσοχημικές κατά τις οποίες τα τοιχώματα της διάταξης επικαλύπτονται με αντισώματα, στα οποία προσκολλώνται επιλεκτικά τα σπάνια κύτταρα. Το ζητούμενο σε αυτές τις μεθόδους και στις σχετικές μικρορευστονικές διατάξεις είναι η όσο το δυνατόν μεγαλύτερη αλληλεπίδραση των κυττάρων με τα τοιχώματα της διάταξης. Για το σκοπό αυτό έχει προταθεί η χρήση μικρορευστονικών διατάξεων οι οποίες αποτελούνται από ένα κύριο κανάλι ορθογωνικής διατομής με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα. Τέτοιου είδους κανάλια οδηγούν σε χαοτική συναγωγή και επομένως ανάπτυξη εγκάρσιας μεταφοράς μάζας με συνέπεια την αύξηση των αλληλεπιδράσεων των κυττάρων με τα τοιχώματα.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιείται υπολογιστική ανάλυση του προβλήματος διαχωρισμού σπανίων κυττάρων μέσω ανοσοχημικής μεθόδου σε μικρορευστονική διάταξη που αποτελείται από κανάλι με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα. Ο στόχος της ανάλυσης είναι ο υπολογισμός της απόδοσης διαχωρισμού, του λόγου του πλήθους των κυττάρων που προσκολλώνται στα τοιχώματα της διάταξης προς το συνολικό πλήθος κυττάρων που εισάγονται στη διάταξη. Το πρόβλημα προσεγγίζεται μέσω της μεθόδου ιχνηλασίας, όπου τα κύτταρα προσεγγίζονται ως σωματίδια που κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές του πεδίου ροής. Συνεπώς για τον υπολογισμό των τροχιών των κυττάρων στο κανάλι αρκούν η επίλυση της εξίσωσης συνέχειας και των εξισώσεων Navier – Stokes. Αφού υπολογιστούν οι τροχιές, ένα κύτταρο θεωρείται ότι προσκολλάται σε τοίχωμα της διάταξης αν κάποιο σημείο της τροχιάς του απέχει λιγότερο από την ακτίνα του από κάποιο τοίχωμα. Η απόσταση από τα τοιχώματα της διάταξης υπολογίζεται με την επίλυση της εξίσωσης Eikonal.

Πραγματοποιείται μελέτη της επίδρασης των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της διάταξης, του αριθμού Reynolds και της ακτίνας των υπό διαχωρισμό κυττάρων, στην απόδοση διαχωρισμού στη διάταξη, καθώς και σύγκριση με αντίστοιχη διάταξη χωρίς

ανάγλυφο πυθμένα. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το πλήθος των κυττάρων που προσκολλώνται στα τοιχώματα της διάταξης και άρα η απόδοση διαχωρισμού αυξάνεται όταν α) αυξάνεται το μέγεθος (ακτίνα) των σωματιδίων, β) μειώνεται το ύψος του κύριου καναλιού και γ) αυξάνεται το βάθος των αυλακιών του ανάγλυφου ψαροκόκαλου στον πυθμένα της διάταξης. Επίσης, η επίδραση του αριθμού Re στην απόδοση διαχωρισμού είναι αμελητέα για εύρος τιμών από 0.1 έως και 10. Τέλος, η διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα, οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης του διαχωρισμού 4 με 6 φορές σε σύγκριση με τη διάταξη χωρίς ανάγλυφο στον πυθμένα.

Abstract

The methods of separation of rare cells (e.g. circulating tumor cells, bacteria) rely either on the mechanical properties of the cells (e.g. size), or on the application of an electric field, or on the attachment of magnetic particles to the cells. An important category of separation methods is the immunochemical methods where the walls of the microfluidic device are coated with antibodies, to which rare cells selectively adhere (stick). The objective of these methods and the pertinent microfluidic devices is to increase the interaction of the cells with the walls of the device and consequently enhance their adhesion to the walls. A microfluidic device consisting of a main channel with a patterned bottom with herringbone grooves has been proposed to achieve the objective. The herringbone grooves induce chaotic advection, and thus development of transverse mass transport, resulting to increased cell interactions with the walls.

In this thesis, a computational analysis of the problem of the separation of rare cells by means of an immunochemical method is carried out, in a channel with a patterned bottom with herringbone grooves. The purpose of the analysis is to calculate the separation efficiency, i.e. the ratio of the number of cells adhering to the walls of the device to the total number of cells introduced into the device. The analysis is realized with the particle tracing method, where the cells are approximated as particles moving on the streamlines of the flow field. Therefore, to calculate the trajectories of the cells in the channel, it is sufficient to solve the continuity equation and the Navier-Stokes equations. Once the trajectories are calculated, a cell is considered to stick on a wall of the channel if a point of its trajectory is at a distance smaller than the cell radius to the walls. The distance from the walls of the channel is calculated by solving the Eikonal equation.

The effect of the geometric characteristics of the channel, the Reynolds number, and the radius of the cells on the separation efficiency of the device is investigated and also a comparison with a device without a patterned bottom is carried out. The results show that the number of cells adhering to the walls of the device, and thus the separation efficiency, is increased when a) the cell size is increased, b) the height of the main channel is decreased, and c) the depth of the grooves of the herringbone pattern is increased. Also, the effect of

the Re number on the separation efficiency is negligible for a range of values from 0.1 to 10. Finally, the device with a patterned bottom with herringbone grooves, leads to an increase in separation performance of 4 to 6 times compared to the device without patterned bottom.

Λίστα Σχημάτων

Σχήμα 1.1: LOVE FOOD LOC. (A, B) 2 micro - PCR, (C) αισθητήρας ανίχνευσης DNA	19
Σχήμα 1.2: Διαδικασία διήθησης και δυνάμεις σε ένα εγκλωβισμένο κύτταρο [14]	24
Σχήμα 1.3: Διάταξη με οδοντωτή δομή για διαχωρισμό κυττάρων. (Αριστερή εικόνα) Μικρότερα κύτταρα και περισσότερο παραμορφώσιμα περνούν από τα κενά κατά την κατεύθυνση της ροής, ενώ τα μεγαλύτερα ή/και λιγότερο παραμορφώσιμα δεν μπορούν να περάσουν. (Δεξιά εικόνα) Μικρότερα κύτταρα και περισσότερο παραμορφώσιμα, δεν περνούν από τα κενά κατά τη διάρκειας της αντίστροφης της κατεύθυνση της ροής με σκοπό τον καθαρισμό του φίλτρου [13].....	24
Σχήμα 1.4: Διαχωρισμός καρκινικών κυττάρων στο αίμα με DLD συστοιχία [15]	25
Σχήμα 1.5: Συσκευή διαχωρισμού λευκών - ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων με DLD συστοιχία [16]	26
Σχήμα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση της αρχής διαχωρισμού για απομόνωση υψηλής απόδοσης καρκινικών κυττάρων με τη χρήση του Dean Flow Fractionation [17]..	27
Σχήμα 1.7: Η αρχή μίας διάταξης στροβιλισμού (vortex chip) που βασίζεται σε αδρανειακές δυνάμεις [10].....	28
Σχήμα 1.8: Σχέδιο μιας νανοτοπογραφίας που παράγεται από την RIE σε μια γυάλινη επιφάνεια [18].....	29
Σχήμα 1.9: Θάλαμος συνεχούς ροής βασισμένος στη μέθοδο DEP-FFF [19].....	30
Σχήμα 1.10: Σχηματικό διάγραμμα μικρορευστονικής διάταξης για το διαχωρισμό καρκινικών κυττάρων με τη μέθοδο MOFF [20]	31
Σχήμα 1.11: Μικρορευστονική διάταξη που χρησιμοποιεί οπτικά επαγόμενη διηλεκτρική (ODEP) δύναμη για την απομόνωση καρκινικών κυττάρων [21].....	32
Σχήμα 1.12: Σχηματική αναπαράσταση μίας μαγνητοφορητικής διάταξης με δύο εισόδους και δύο εξόδους [22]	33
Σχήμα 1.13: Αρχή αιχμαλώτισης μαγνητικού κόσκινου [23]	34
Σχήμα 1.14: Αρχή λειτουργίας και πρακτική εφαρμογή του συστήματος Ephesia [8]	34

Σχήμα 1.15: Απομόνωση καρκινικών κυττάρων από πλήρες αίμα μέσω ανοσοχημικής διαδικασίας [24]	37
Σχήμα 1.16: Σχηματική απεικόνιση της χημείας συζεύξεως μεταξύ λειτουργικών νανοφίλτρων οξειδίου του γραφενίου και αντισωμάτων EpCAM [25]	38
Σχήμα 1.17: (A) Ενισχυμένη μεταφορά κυττάρων σε μία πορώδη διαπερατή επιφάνεια με συγκλίνουσες γραμμές ροής. (B) Η ομαλή κύλιση και η αιχμαλώτιση των κυττάρων στην επιφάνεια συμβαίνουν λόγω μειωμένης διάτμησης και αυξημένων αλληλεπιδράσεων του κυττάρου με την επιφάνεια [26].	39
Σχήμα 1.18: Απομόνωση και ανίχνευση καρκινικών κυττάρων σε πλήρες αίμα με τη χρήση μακράς, πολυσθενούς (multivalent) απταμερούς DNA [27].....	40
Σχήμα 1.19: Διάταξη με ανάγλυφο πυθμένα τύπου ψαροκόκκαλο (herringbone) για διαχωρισμό κυττάρων [27].....	41
Σχήμα 2.1: Αλγόριθμος επίλυσης με τη μέθοδο της ιχνηλασίας.....	53
Σχήμα 3.1: α) Γεωμετρία της διάταξης με ανάγλυφο πυθμένα με γεωμετρία ψαροκόκαλου. β) Πρόσοψη διάταξης (L μήκος κύριου καναλιού, w πλάτος κύριου καναλιού, S μήκος ομάδας 6 αυλακιών, L_e μήκος εισόδου, w_e πλάτος εισόδου, θ γωνία αυλακιού με τον άξονα x). γ) Πρόσθια όψη διάταξης (h ύψος διάταξης, d βάθος κάθε αυλακιού).....	56
Σχήμα 3.2 Αναπαράσταση υπολογιστικού πλέγματος α) για ένα αραιό (40 k στοιχεία) και β) ένα πυκνό πλέγμα (522 k στοιχεία).....	57
Σχήμα 3.3: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι κάθετη στη ροή, με αρχή το σημείο ($L/3, w/2, -1$) και τέλος το ($L/3, w/2, 1$) για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος (40 k, 110 k, 199 k, 375 k, 522 k, 890 k και 1739 k στοιχεία), όταν ο αριθμός $Re=1$. α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής. Προφίλ της β) x -συνιστώσας, γ) της y -συνιστώσας και δ) της z -συνιστώσας της ταχύτητας	59
Σχήμα 3.4: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι κάθετη στη ροή, με αρχή το σημείο ($L/3, w/2, -1$) και τέλος το ($L/3, w/2, 1$) για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος (40 k, 110 k, 199 k, 375 k, 522 k, 890 k και 1739 k στοιχεία), όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής. Προφίλ της β) x -συνιστώσας, γ) της y -συνιστώσας και δ) της z -συνιστώσας της ταχύτητας	60
Σχήμα 3.5: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι παράλληλη στη ροή, με αρχή το σημείο με συντεταγμένες ($L/3, 0, h/2$) και τέλος ($L/3, 1, h/2$), για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=1$. (α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής, (β)	

Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας, (γ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας και (δ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας 62

Σχήμα 3.6: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι παράλληλη στη ροή, με αρχή το σημείο με συντεταγμένες $(L/3, 0, h/2)$ και τέλος $(L/3, 1, h/2)$, για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής, β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας, γ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας και δ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας 63

Σχήμα 3.7: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας σε σημείο εντός του αυλακιού, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, -d/2)$, για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=1$. (α) Γραφική απεικόνιση του σημείου, (β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας, (γ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας (δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας, (ε) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας, (στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας και (ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας..... 65

Σχήμα 3.8: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας σε σημείο εντός του αυλακιού, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, -d/2)$, για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση του σημείου. β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας. γ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας. δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας. ε) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας. στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας. ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας. 66

Σχήμα 3.9: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας στο σημείο τομής των γραμμών, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, 0.000045-d)$, για διαφορετική πύκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=1$. α) Γραφική απεικόνιση του σημείου. β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας. γ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας. δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας. ε) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας. στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας. ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας. 68

Σχήμα 3.10: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας στο σημείο τομής των γραμμών, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, 0.000045-d)$, για διαφορετική πύκνωση του

πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση του σημείου. β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας. γ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας. δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας. ε) % Σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας. στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας. ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας 69

Σχήμα 3.11: Ισοϋψείς της απόστασης σε τμήμα μία διατομή xz του καναλιού όπως υπολογίζεται από την επίλυση της εξίσωσης $Eikonal$ για α) $\varepsilon = 10^{-4}$ και β) $\varepsilon = 10^{-6}$ 70

Σχήμα 3.12: Απεικόνιση των σημείων προσκόλλησης σωματιδίων με ακτίνα $5 \mu m$ που με πλήθος ροϊκών γραμμών / σωματιδίων: α) $50 / 236$, β) $150 / 1.5 k$, γ) $300 / 4.8 k$, δ) $500 / 13.5 k$, (ε) $1000 / 48.5 k$, (στ) $2000 / 215 k$, (ζ) $5000 / 1359 k$ και (η) $10000 / 2377 k$ 74

Σχήμα 3.13: Ποσοστό προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά δεξιά και αριστερά τοιχώματα και στα αυλάκια, καθώς και στο σύνολο των τοιχωμάτων της διάταξης για διαφορετικό πλήθος σωματιδίων για αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με $5 \mu m$ 74

Σχήμα 3.14: Απεικόνιση σημείων προσκόλλησης σωματιδίων για ακτίνα: α) $5 \mu m$, β) $7.5 \mu m$ και γ) $10 \mu m$ 75

Σχήμα 3.15: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετική ακτίνα ($5 \mu m$, $7.5 \mu m$, $10 \mu m$) και Re ίσο με 1. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για $5000/1349k$ ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 76

Σχήμα 3.16: Απεικόνιση σημείων προσκόλλησης σωματιδίων ακτίνας $5 \mu m$, για αριθμούς Re α) 0.1 , β) 1 και γ) 10 77

Σχήμα 3.17: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό αριθμό Re (0.1 , 1 , 10) και ακτίνα $5 \mu m$. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για $5000/1349k$ ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 77

Σχήμα 3.18: Απεικόνιση σημείων προσκόλλησης σωματιδίων ακτίνας $5 \mu m$, με αριθμού Re ίσο με 1 και βάθος αυλακιού: (α) αρχικό βάθος, (β) μισό του αρχικού και (γ) διπλάσιο του αρχικού. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για $5000/1349k$ ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 78

Σχήμα 3.19: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και

στα αυλάκια, για διαφορετικό βάθος αυλακιού ($d, d/2, 2d$, όπου d το βάθος του αυλακιού της βασικής περίπτωσης), πλήθος ροϊκών γραμμών 300, Reynolds 1 και ακτίνα 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 79

Σχήμα 3.20: Απεικόνιση σημείων σωματιδίων ακτίνας 5 μm , για αριθμό Re ίσο με 1 και ύψος καναλιού: (α) αρχικό ύψος, (β) μισό ύψος του αρχικού και (γ) διπλάσιο ύψος του αρχικού 80

Σχήμα 3.21: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό ύψους καναλιού ($h_i, h_i/2, 2h_i$, όπου h_i το ύψος του καναλιού). Ο αριθμός Re είναι ίσος με 1 και η ακτίνα είναι 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 80

Σχήμα 3.22: Απεικόνιση σημείων σωματιδίων ακτίνας 5 μm , για αριθμό Re ίσο με 1 και ισότροπη αλλαγή αναλογιών στις διαστάσεις της διάταξης: α) αρχικές διαστάσεις, β) διπλασιασμός, γ) τετραπλασιασμός 82

Σχήμα 3.23: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικές αναλογίες καναλιού (x_1, x_2, x_4), αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα ίση με 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 82

Σχήμα 3.24: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλόμενων σωματιδίων στα τοιχώματα σε διάταξη με ανάγλυφο πυθμένα τύπου ψαροκόκκαλο (συμπαγείς ράβδοι) και σε διάταξη χωρίς αυλάκια (ράβδοι με μοτίβο) (α) για διαφορετικό μήκος ακτίνας σωματιδίων (5 μm , 7.5 μm , 10 μm) και αριθμό Reynolds 1, (β) διαφορετικό αριθμό Reynolds (0.1, 1, 10) και ακτίνα σωματιδίων μήκους 5 μm , (γ) διαφορετικό ύψος κυρίως καναλιού ($h_i, h_i/2, 2h_i$, όπου h_i το ύψος του καναλιού), αριθμό Reynolds 1 και ακτίνα σωματιδίων μήκους 5 μm και (δ) ισότροπη αύξηση των διαστάσεων και αριθμό Reynolds 1 και ακτίνα σωματιδίων μήκους 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια..... 83

Σχήμα B.5.1: Διάγραμμα της συσκευής (οι διαστάσεις σε μέτρα). 92

Σχήμα B.5.2: Γεωμετρία της διάταξης 93

Σχήμα B.5.3: Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων του Πίνακα B.2. 101

Σχήμα B.5.4: Διαγράμματα ποσοστών αρνητικών συγκεντρώσεων ανάλογα με την πύκνωση του πλέγματος για συντελεστή διάχυσης $D=10^{-11} \text{m}^2 / \text{s}$ 101

Σχήμα B.5.5: Διαγράμματα ποσοστών αρνητικών συγκεντρώσεων ανάλογα με την πύκνωση του πλέγματος για συντελεστή διάχυσης $D=10^{-12} \text{ m}^2 / \text{s}$ 102

Σχήμα 5.6: Ποσοστό προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά δεξιά και αριστερά τοιχώματα και στα αυλάκια, καθώς και στο σύνολο των τοιχωμάτων της διάταξης για διαφορετικό πλήθος ροϊκών γραμμών για αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm 103

Σχήμα 5.7: 103

Σχήμα 5.8: 104

Σχήμα 5.9: 104

Σχήμα 5.10: 105

Σχήμα 5.11: 105

Πίνακας 1: Βιβλιογραφική ανασκόπηση διατάξεων διαχωρισμού με επισήμανση .. 89

Πίνακας 2: Τιμές των αρνητικών συγκεντρώσεων και ποσοτική σχέση των αρνητικών συγκεντρώσεων ως προς το συνολικό όγκο, για συντελεστή διάχυσης $D= 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$, $D= 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ 95

Πίνακας περιεχομένων

1	Εισαγωγή.....	18
1.1	Μικρορευστονικές διατάξεις και μικροεργαστήρια σε ψηφίδα	18
1.2	Τρόποι και διατάξεις διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων	21
1.2.1	Υδροδυναμικές μέθοδοι.....	22
1.2.2	Διηλεκτροφορητικές μέθοδοι.....	29
1.2.3	Μαγνητοφορητικές μέθοδοι.....	32
1.2.4	Ανοσοχημικές μέθοδοι.....	35
1.3	Βιβλιογραφική ανασκόπηση διατάξεων διαχωρισμού που χρειάζονται επισήμανση	36
1.4	Η διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκκαλου στα τοιχώματα	40
1.5	Σκοπός της εργασίας	42
2	Μαθηματικό Μοντέλο	43
2.1	Εισαγωγή.....	43
2.2	Προσέγγιση των κυττάρων ως διαλυμένη ουσία	44
2.3	Προσέγγιση κυττάρων ως σωματίδια.....	45
2.3.1	Μέθοδος ιχνηλασίας σωματιδίων (<i>particle tracing</i>).....	46
2.3.2	Η εξίσωση <i>Eikonal</i>	49
2.4	Αλγόριθμος και μέθοδος επίλυσης.....	51
3	Αποτελέσματα	55
3.1	Εισαγωγή.....	55
3.2	Υπολογισμός του πεδίου ταχύτητας και πίεσης.....	55
3.2.1	Μελέτη ανεξαρτησίας της αριθμητικής λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα	57
3.3	Υπολογισμός της απόστασης από τα τοιχώματα του καναλιού.....	70
3.4	Ποσοστό προσκολλόμενων σωματιδίων - απόδοση διαχωρισμού... 71	
3.4.1	Ανεξαρτησία του ποσοστού των προσκολλημένων σωματιδίων από το πλήθος των σωματιδίων.....	72

3.4.2	<i>Επίδραση ακτίνας σωματιδίου στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων</i>	74
3.4.3	<i>Επίδραση αριθμού Reynolds στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων</i>	76
3.4.4	<i>Επίδραση βάθους αυλακιού στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων</i>	78
3.4.5	<i>Επίδραση ύψους κύριου καναλιού στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων.....</i>	79
3.4.6	<i>Επίδραση ισότροπης αλλαγής διαστάσεων στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων.....</i>	81
4	Συμπεράσματα	84
5	Βιβλιογραφία.....	86
	Παράρτημα Α	89
	Παράρτημα Β.....	92
	Παράρτημα Γ	103

1

Εισαγωγή

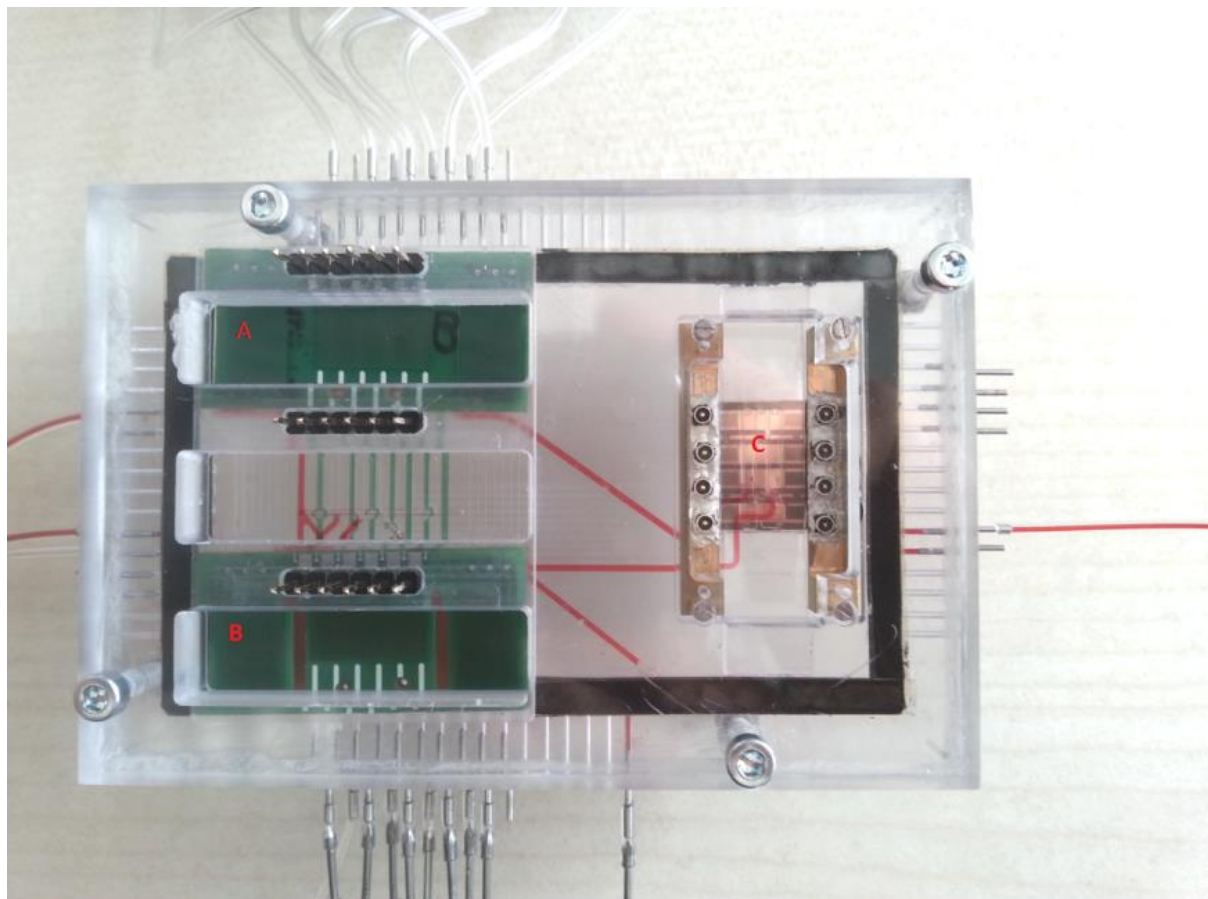
1.1 Μικρορρευστονικές διατάξεις και μικροεργαστήρια σε ψηφίδα

Η σμίκρυνση των συμβατικών εργαστηριακών διεργασιών σε *μικρορρευστονικές διατάξεις*, δηλαδή σε διατάξεις που ελέγχουν τη ροή υγρών ή αερίων κινούμενων μέσα σε κανάλια διαστάσεων της τάξης μερικών δεκάδων μm, χρησιμοποιώντας τις καθιερωμένες διαδικασίες μικροτεχνολογίας έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον και έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα (Lab-on-a-chip, LoC). Τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα ενσωματώνουν πολλαπλές αναλυτικές διαδικασίες σε συστήματα ροής υγρών, όπου μικροκανάλια και αντλίες αντικαθιστούν το ανθρώπινο χέρι στη μεταφορά και διαχείριση των δειγμάτων [1, 2]. Ένα μικροεργαστήριο σε ψηφίδα στο οποίο λαμβάνει χώρα κάποια βιοχημική ανάλυση συνδυάζει μεταφορά των ρευστών, ανάμιξη διαλυμάτων, χημικές αντιδράσεις, διαχωρισμούς (φυσικούς και χημικούς) και ανίχνευση σε κατάλληλους αισθητήρες. Επομένως, τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα δεν είναι απλές διατάξεις δικτύων μικροκαναλιών και ο σχεδιασμός τους εξαρτάται και από την εκάστοτε εφαρμογή τους [3].

Ένα παράδειγμα μικροεργαστηρίου σε ψηφίδα, είναι το παράδειγμα του έργου LoveFOOD,¹ το οποίο αποτελεί ένα ολοκληρωμένο σύστημα για τον ταχύ και αξιόπιστο εντοπισμό παθογόνων οργανισμών σε δείγματα γάλακτος. Το συγκεκριμένο μικροεργαστήριο σε ψηφίδα (Σχήμα 1.1) αποτελείται από α) τη δομική μονάδα προετοιμασίας του δείγματος, όπου πραγματοποιείται ο διαχωρισμός των παθογόνων βακτηρίων, η λύση των κυττάρων τους και η εξαγωγή του

¹“Love-wave fully integrated Lab-on-a-chip platform for food pathogen – LOVE-FOOD”, <http://love-food-project.eu/doku.php>

δεσοξυριβονουκλεϊνικού οξέος (Deoxyribonucleic acid, DNA) από αυτά, β) τη δομική μονάδα του μικροαντιδραστήρα πολλαπλασιασμού του DNA με βάση την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) και τέλος γ) τη δομική μονάδα της ανίχνευσης του ενισχυμένου DNA (αισθητήρας). Η ολοκλήρωση αυτών των δομικών μονάδων γίνεται μέσω μικρορευστονικού δικτύου.



Σχήμα 1.1: LOVE FOOD LOC. (A, B) 2 micro - PCR, (C) αισθητήρας ανίχνευσης DNA

Τα συστήματα LoC μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορες διαδικασίες όπως στην προετοιμασία του δείγματος και την ανάλυσή του καθώς και στο διαχωρισμό κυττάρων και την ανίχνευσή τους. Επομένως, έχουν εφαρμογές σε πολλά επιστημονικά πεδία, όπως στη βιοτεχνολογία, στην ασφάλεια τροφίμων, στη διαγνωστική ιατρική και στην περιβαλλοντική παρακολούθηση [3, 4]. Πολλά μικροεργαστήρια σε ψηφίδα έχουν σχεδιαστεί για την ενίσχυση και την ανίχνευση DNA και RNA [5, 6]. Ένας παράγοντας κλειδί σε αυτές τις εφαρμογές είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), η οποία αντιγράφει και πολλαπλασιάζει συγκεκριμένο τμήμα του DNA. Αυτή η διαδικασία απαιτεί πλήθος (περίπου 30)

θερμικών κύκλων μετά την προετοιμασία του δείγματος. Έχουν αναπτυχθεί επίσης, εφαρμογές οι οποίες έχουν στόχο στην ανάλυση πρωτεϊνών, ολοκληρώνοντας στη διάταξη όλα τα βήματα της ανάλυσης που απαιτούνται: εξαγωγή της πρωτεΐνης από το κύτταρο, διαχωρισμός μέσω της ηλεκτροφόρησης, πέψη (digestion) και ανάλυση χρησιμοποιώντας φασματομετρία μάζας [7]. Με αυτή τη διαδικασία, ο χρόνος της ανάλυσης που θα πραγματοποιούταν σε ώρες μακροσκοπικά, μειώνεται σημαντικά σε ένα σύστημα LoC σε λίγα μόλις λεπτά. Επίσης, μέσω των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα, μπορεί να πραγματοποιηθεί η κρυστάλλωση των πρωτεϊνών (η κρυστάλλωση είναι ένα σημαντικό πεδίο έρευνας επειδή αποκαλύπτει την τριδιάστατη δομή μιας πρωτεΐνης) [3]. Οι ερευνητές είναι σε θέση να ελέγχουν ταυτόχρονα και με τον ταχύτερο δυνατό τρόπο όλες τις παραμέτρους που επιτρέπουν την κρυστάλλωση μιας δεδομένης πρωτεΐνης. Τέλος, μέσω των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα μπορεί να επιτευχθεί διαχωρισμός καρκινικών κυττάρων [8-10].

Οι μικρορευστονικές διατάξεις και γενικά τα μικροσυστήματα σε ψηφίδα προσφέρουν διάφορα **πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών μεθόδων ανάλυσης**. Λόγω του μεγέθους τους, έχουν χαμηλό κόστος κατασκευής. Τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα επιτρέπουν πολλαπλές αναλύσεις να γίνονται ταυτόχρονα σε ψηφίδα. Δεν απαιτούν εξειδικευμένες γνώσεις για τη χρήση τους, μιας και όλες οι διεργασίες που πραγματοποιούνται σε ένα εργαστήριο, συμπυκνώνονται σε μία ψηφίδα. Επομένως, μειώνεται η εξάρτηση των διεργασιών από τον άνθρωπο με αποτέλεσμα να μειώνεται το ανθρώπινο σφάλμα. Ακόμα, δεν απαιτούνται μεγάλες ποσότητες δείγματος για την ανάλυση και ο χρόνος της διάγνωσης ελαττώνεται σημαντικά.

Παρόλο όμως τα πλεονεκτήματα των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα έναντι των συμβατικών μεθόδων και των αναρίθμητων εφαρμογών τους, υπάρχουν αρκετά εμπόδια που πρέπει να υπερκεραστούν για να μπορεί η χρήση τους να μεταβεί σε εμπορικό επίπεδο. Οι προκλήσεις που έχουν να αντιμετωπίσουν σήμερα τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα αφορούν τη συμβατότητα και την αποτελεσματικότητα αυτών των διατάξεων σε πραγματικές αναλύσεις. Για να ληφθεί απάντηση από το δείγμα μέσω των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα, θα πρέπει να υπάρχει ένας υψηλός βαθμός ολοκλήρωσης (προετοιμασία δειγμάτων, χειρισμός αντιδραστηρίων, βιοχημικές αντιδράσεις και μονάδες ποσοτικής ανίχνευσης σε μια ενιαία διάταξη). Ακόμα, για να μπορέσει να χρησιμοποιηθεί μαζικά, θα πρέπει να είναι εφικτή μια οικονομικά αποδοτική και μαζική παραγωγή. Επίσης, έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες εφαρμογές, ότι όσο μικραίνουν οι διαστάσεις, τόσο αυξάνεται ο θόρυβος των

αποτελεσμάτων που λαμβάνονται [1, 3, 11]. Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι συμβατικές μέθοδοι είναι καταλληλότερες σε σχέση με τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα.

1.2 Τρόποι και διατάξεις διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων

Κύτταρα που βρίσκονται σε πληθυσμό μικρότερο από 1000 σε ένα δείγμα ενός χιλιοστολίτρου (<1000 κύτταρα/mL) θεωρούνται σπάνια [9, 12]. Τα σπάνια κύτταρα είναι εξαιρετικά σημαντικά για διάφορες εφαρμογές όπως η διάγνωση και η πρόγνωση πολλών καρκίνων, η προγεννητική διάγνωση και η διάγνωση λοιμώξεων. Τυπικά σπάνια κύτταρα σε δείγματα αίματος είναι τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (Circulating Tumor Cells, CTCs), τα κυκλοφορούντα εμβρυϊκά κύτταρα (Circulating Fetal Cells, CFCs), τα βλαστικά κύτταρα και κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό ή παράσιτο [12]. Τα σπάνια κύτταρα σε δείγματα νερού περιλαμβάνουν διάφορα παθογόνα βακτήρια που έχουν μολυνθεί από ιούς. Οι τεχνικές προετοιμασίας για την απομόνωση των σπανίων κυττάρων εξαρτώνται από την πηγή από την οποία λαμβάνονται τα δείγματα.

Με τη βοήθεια της μικρορευστονικής μπορεί να πραγματοποιηθεί απομόνωση, εμπλουτισμός και ανάλυση σπανίων κυττάρων. Η απομόνωσή τους από ένα μεγάλο πλήθος κυττάρων διαφορετικού τύπου, βασίζεται σε μία ή σε μερικές μοναδικές ιδιότητές τους. Η απόδοση της απομόνωσης των κυττάρων εξαρτάται πιθανόν από την αρχή διαχωρισμού που χρησιμοποιείται σε κάθε μέθοδο. Οι μέθοδοι διαχωρισμού κατηγοριοποιούνται σε αυτές που απαιτείται επισήμανση (label methods) και σε αυτές που δεν απαιτείται (label-free methods). Οι υδροδυναμικές (hydrodynamic) και οι διηλεκτροφορητικές (dielectrophoretic, DEP) δεν απαιτούν επισήμανση, ενώ οι ανοσοχημικές (immunochemical) μέθοδοι και μαγνητοφορητικές (magnetophoretic, MAP) χρειάζονται επισήμανση.

Η διαδικασία του σχεδιασμού μίας διάταξης για την απομόνωση σπάνιων κυττάρων, εξαρτάται από τον καθορισμό των βασικών παραμέτρων, όπως το μέγεθος του δείγματος, την ταχύτητα, το χρόνο διαχωρισμού και τη σπανιότητα. Αυτές οι παράμετροι καθορίζουν τις διαστάσεις των καναλιών, καθώς και την ταχύτητα της διαδικασίας του διαχωρισμού. Έπειτα, επιλέγεται μία από τις μεθόδους απομόνωσης που βασίζονται στις αρχές διαχωρισμού που προαναφέρθηκαν.

Πέρα όμως από την επιλογή της αρχής του διαχωρισμού που θα επιλεγεί και των φυσικών παραμέτρων για μία μικρορευστονική διάταξη, πρέπει να υπάρχουν και μέτρα που θα αξιολογούν την εκτέλεση των λειτουργιών της. **Τα μέτρα αξιολόγησης** είναι τα εξής [12]: **απόδοση** (efficiency), **εμπλουτισμός** (enrichment), **καθαρότητα** (purity) και **βιωσιμότητα** (viability).

Η απόδοση (efficiency) ή αλλιώς ρυθμός ανάκτησης (recovery rate) είναι ο λόγος του πλήθους των απομονωμένων κυττάρων στην έξοδο της διάταξης προς το πλήθος των κυττάρων στην είσοδο. Ο εμπλουτισμός είναι ο λόγος της ογκομετρικής συγκέντρωσης των απομονωμένων κυττάρων σε σχέση με τον αρχικό όγκο του δείγματος. Επίσης, η καθαρότητα είναι η αναλογία του πλήθους των απομονωμένων κυττάρων - στόχων προς το συνολικό πλήθος των διαχωρισμένων κυττάρων. Τέλος, η βιωσιμότητα είναι το ποσοστό των κυττάρων που επιζούν από τη διαδικασία του διαχωρισμού ως προς το συνολικό πλήθος των κυττάρων - στόχων.

1.2.1 Υδροδυναμικές μέθοδοι

Οι υδροδυναμικές μέθοδοι διαχωρισμού βασίζονται στις φυσικές ιδιότητες των σπανίων κυττάρων όπως είναι το μέγεθος, η πυκνότητα, η παραμορφωσιμότητα και η μορφολογία τους. Το μέγεθος των σπάνιων κυττάρων είναι δυναμικό, αφού έχει τη δυνατότητα να αλλάζει ακόμα και σε κύτταρα ίδιου τύπου, ως προς το χρόνο ή τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

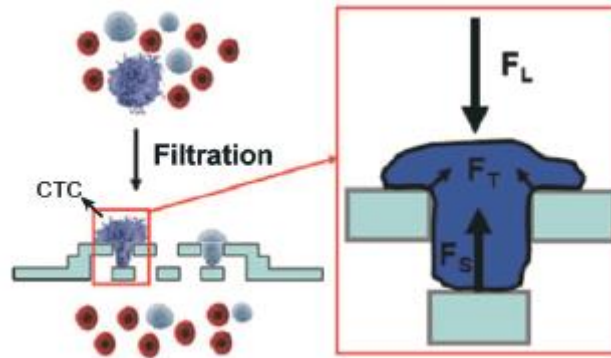
Ο διαχωρισμός δεν απαιτεί ανοσοχημική διεργασία ή επισήμανση με αντίσωμα (immunostaining or antibody labeling). Ακριβά χημικά αντιδραστήρια δεν είναι απαραίτητα, μειώνοντας έτσι το χρόνο προετοιμασίας του δείγματος, καθώς και την πιθανότητα καταστροφής των κυττάρων. Επίσης, είναι δυνατή μια υψηλή απόδοση διαχωρισμού κυττάρων βασισμένη στα φυσικά χαρακτηριστικά. Αυτή η μέθοδος διαχωρισμού είναι σε θέση να χειριστεί μια μεγάλη ποσότητα κυτταρικών δειγμάτων σε σύντομο χρονικό διάστημα, ενώ ταυτόχρονα ως μέθοδος είναι απλή και αρκετά επαναλήψιμη [12]. Η ογκομετρική παροχή, η συγκέντρωση του δείγματος και η γεωμετρία της διάταξης είναι συνήθως οι παράγοντες κλειδιά για τον επιτυχή διαχωρισμό συγκεκριμένων κυτταρικών τύπων. Όταν η διαδικασία του διαχωρισμού βελτιστοποιηθεί για ένα κυτταρικό δείγμα, το πρωτόκολλο θα μπορούσε να επικυρωθεί για πολλές κλινικές εφαρμογές. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν περιορισμοί στην επιλεκτικότητα λόγω της επικάλυψης των φυσικών ιδιοτήτων των κυττάρων-στόχων από αυτές των υπολοίπων κυττάρων. Επιπλέον, εξωτερικοί

παράγοντες όπως το ιξώδες του μέσου (π.χ. πλάσμα με τα διαχωρισμένα κύτταρα αίματος) και οι αλληλεπιδράσεις κυττάρου-κυττάρου σε υψηλή συγκέντρωση, μπορεί να υπονομεύσουν την απόδοση διαχωρισμού. Έχουν αναπτυχθεί τρεις μέθοδοι διαχωρισμού που εστιάζουν στο μέγεθος και την παραμόρφωση των κυττάρων: η διήθηση (filtration) [12-14], η ντετερμινιστική πλευρική μετατόπιση (Deterministic Lateral Displacement, DLD) [12, 15, 16] και μέθοδοι που βασίζονται στην αδρανειακή ροή (inertial-flow-based methods) [10, 12, 17, 18].

1.2.1.1 Διήθηση

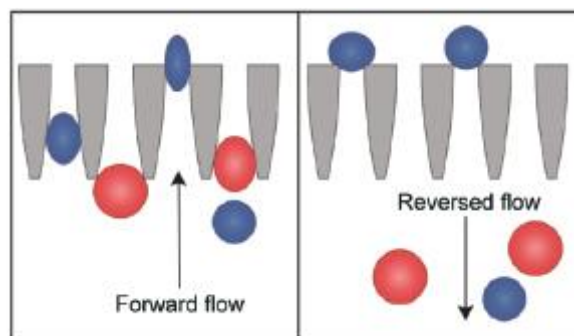
Η διήθηση διαχωρίζει τα κύτταρα με βάση τις παραλλαγές τόσο στο μέγεθος όσο και στην ικανότητα παραμόρφωσης [12]. Το κυτταρικό δείγμα ρέει μέσω φίλτρων που κατασκευάζονται με μικροκολόνες, πορώδεις μεμβράνες ή μικροφράγματα [12]. Κύτταρα μεγαλύτερα από ένα κρίσιμο μέγεθος ή με χαμηλότερη παραμόρφωση παγιδεύονται στην πλευρά εισόδου των φίλτρων ή συγκρατούνται στις συστοιχίες φίλτρων. Μικρότερα κύτταρα ή εκείνα με μεγαλύτερη ικανότητα παραμόρφωσης μπορούν να περάσουν από το φίλτρο και να συλλεχθούν στην έξοδο. Τα βασικά πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι η ικανότητα κλιμάκωσης για υψηλή απόδοση αυξάνοντας τον αριθμό των μονάδων διήθησης και η απλή γεωμετρία σχεδιασμού για τον διαχωρισμό διαφορετικών κυτταρικών τύπων. Όμως η διήθηση καλείται να ξεπεράσει μία πρόκληση. Τα κύρια προβλήματα της διήθησης είναι ο κίνδυνος της απώλειας της ακεραιότητας των κυττάρων που συμπιέζονται μέσω των πόρων του φιλτραρίσματος και η απόφραξη και ο κορεσμός των πόρων που οδηγεί στη μείωση της απόδοσης της μεθόδου. Η διαδικασία φιλτραρίσματος οδηγεί συχνά σε αλλαγές στον κυτταροσκελετό και σε κυτταρικές βλάβες.

Ένα παράδειγμα διήθησης είναι αυτό των Zheng et al. [14] οι οποίοι ανέπτυξαν ένα τριδιάστατο σύστημα διήθησης που μπορεί να εμπλουτίσει βιώσιμα CTCs σε δείγμα αίματος. Η διάταξη αποτελείται από δύο στρώματα πολυμερούς Πολυδιμεθυλοξάνης (Polydimethylsiloxane, PDMS). Η μεμβράνη του πυθμένα συντηρεί τα κύτταρα που έχουν αιχμαλωτιστεί και ελαχιστοποιεί τη ανάπτυξη τάσης επί της κυτταρικής μεμβράνης διατηρώντας έτσι την κυτταρική βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια της διήθησης (Σχήμα 1.2).



Σχήμα 1.2: Διαδικασία διήθησης και δυνάμεις σε ένα εγκλωβισμένο κύτταρο [14]

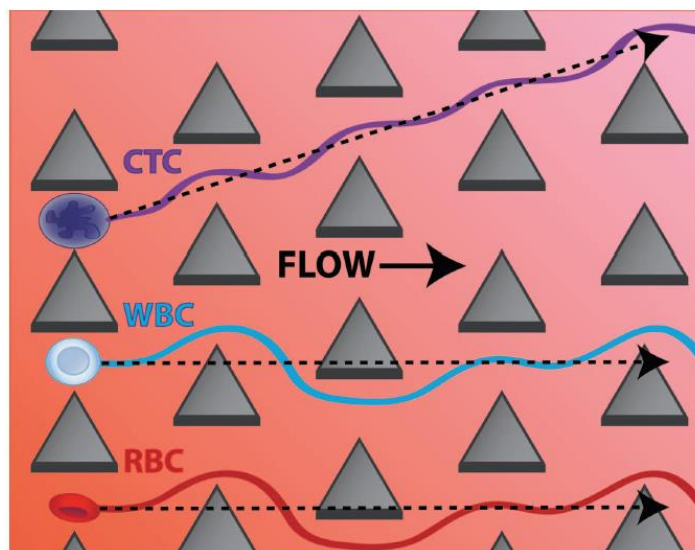
Ένα άλλο παράδειγμα διήθησης, είναι αυτό των McFaul et al. [13], όπου παρουσιάζεται μία διάταξη με οδοντωτή δομή (structural ratchet device). Η διαδικασία που ακολουθείται για το διαχωρισμό των κυττάρων βασίζεται στην ταλαντούμενη ροή του δείγματος (oscillatory flow). Μικρά σε μέγεθος και περισσότερο παραμορφώσιμα κύτταρα περνούν με την κατεύθυνση της ροής από τους πόρους, ενώ τα πιο μεγάλα κύτταρα ακινητοποιούνται μεταξύ των πόρων. Όταν η ροή αντιστρέφεται με στόχο τον καθαρισμό των φίλτρων, τα μικρά κύτταρα δε μπορούν να περάσουν προς τα πίσω. Σε αυτή τη διάταξη ο διαχωρισμός γίνεται με βάση το μέγεθος και την παραμορφωσιμότητα των κυττάρων. Αποδεικνύεται μέσα από την εφαρμογή ότι η χωρική κατανομή των κυττάρων μετά το διαχωρισμό είναι επαναλαμβανόμενη και η διαδικασία μη αναστρέψιμη. Επομένως, η διάταξη αυτή μπορεί να απομονώσει διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους με βάση το μέγεθος και την παραμορφωσιμότητα (Σχήμα 1.3).



Σχήμα 1.3: Διάταξη με οδοντωτή δομή για διαχωρισμό κυττάρων. (Αριστερή εικόνα) Μικρότερα κύτταρα και περισσότερο παραμορφώσιμα περνούν από τα κενά κατά την κατεύθυνση της ροής, ενώ τα μεγαλύτερα ή/και λιγότερο παραμορφώσιμα δεν μπορούν να περάσουν. (Δεξιά εικόνα) Μικρότερα κύτταρα και περισσότερο παραμορφώσιμα, δεν περνούν από τα κενά κατά τη διάρκεια της αντίστροφης της κατεύθυνση της ροής με σκοπό τον καθαρισμό του φίλτρου [13].

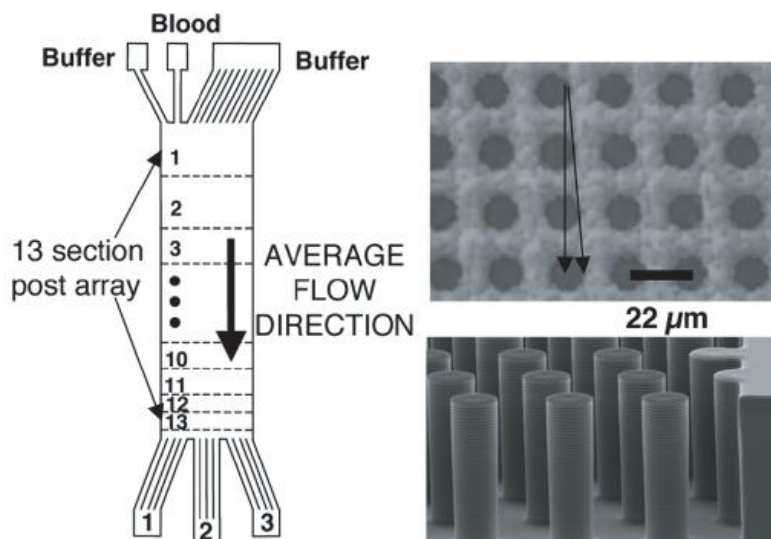
1.2.1.1 Ντετερμινιστική πλευρική μετατόπιση (DLD)

Στη μέθοδο DLD, το ρευστό περνά μέσα από ένα μοτίβο από σειρές από μικροκολόνες (microposts). Κάθε σειρά από μικροκολόνες έχει πλευρική μετατόπιση από την προηγούμενη. Σωματίδια με μέγεθος μικρότερο από μια κρίσιμη υδροδυναμική διάμετρο ακολουθούν τις ροϊκές γραμμές διαμέσου των κενών και είναι σε θέση να πλοηγηθούν πέρα από τις μικροκολόνες. Τα σωματίδια μεγέθους άνω της κρίσιμης υδροδυναμικής διαμέτρου δεν μπορούν να ακολουθήσουν μια ροϊκή γραμμή, αλλά συγκρούονται με τις μικροκολόνες και μετατοπίζονται πλευρικά αντί να εισχωρούν μέσα από τις μικροκολόνες. Ως εκ τούτου, σωματίδια με διαφορετικές διαμέτρους μπορούν να διαχωρίζονται συνεχώς και να συλλέγονται σε διαφορετικές εξόδους. Η μέθοδος DLD μπορεί να διαχωρίσει αποτελεσματικά τα κύτταρα με διαφορετικά μεγέθη, καθώς και τα κύτταρα με διαφορετικά σχήματα και παραμορφώσεις. Επιπλέον, μέσω της DLD δίδεται η δυνατότητα να διαχωριστούν ταυτόχρονα κύτταρα πολλαπλών τύπων χρησιμοποιώντας έναν απλό σχεδιασμό συστοιχιών από μικροκολόνες. Οι Louterback et al. [15] έδειξαν ότι μια συσκευή συστοιχίας DLD μπορεί να απομονώσει καρκινικά κύτταρα που κυκλοφορούν στο αίμα με απόδοση μεγαλύτερη από 85% σε ογκομετρικές ροές μέχρι 10 mL / min χωρίς να επηρεάζει τη βιωσιμότητα των κυττάρων (Σχήμα 1.4).



Σχήμα 1.4: Διαχωρισμός καρκινικών κυττάρων στο αίμα με DLD συστοιχία [15]

Ακόμα, οι Davis et al. [16] παρουσίασαν μία διάταξη με συστοιχία DLD με την οποία διαχώρισαν τα λευκά αιμοσφαίρια, τα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια από το πλάσμα του αίματος με ταχύτητα 1000 $\mu\text{m/s}$ και ογκομετρική παροχή έως 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ (Σχήμα 1.5).



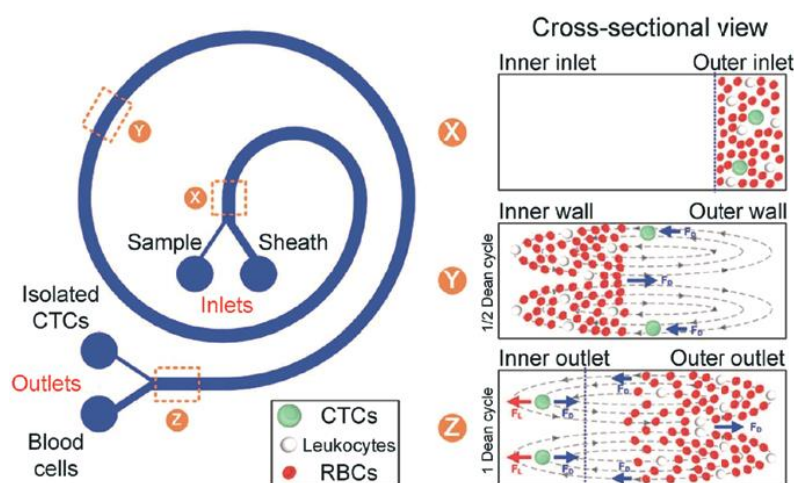
Σχήμα 1.5: Συσκευή διαχωρισμού λευκών - ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων με DLD συστοιχία [16]

1.2.1.3 Μέθοδοι βασισμένες στις αδρανειακές δυνάμεις

Ο διαχωρισμός των σπάνιων κυττάρων μπορεί να επιτευχθεί με τη μέθοδο της αδρανειακής δύναμης ανύψωσης (inertial lift force), η οποία σχετίζεται με την ταχύτητα των σωματιδίων σε ένα μικροκανάλι. Δεδομένου ότι το μέγεθος των σωματιδίων καθορίζει το μέγεθος της δύναμης ανύψωσης, χρησιμοποιούνται μικρορευστονικές διατάξεις ειδικά σχεδιασμένες για την πρόκληση αδρανειακών δυνάμεων σε κύτταρα με διαφορετικό μέγεθος και παραμορφωσιμότητα.

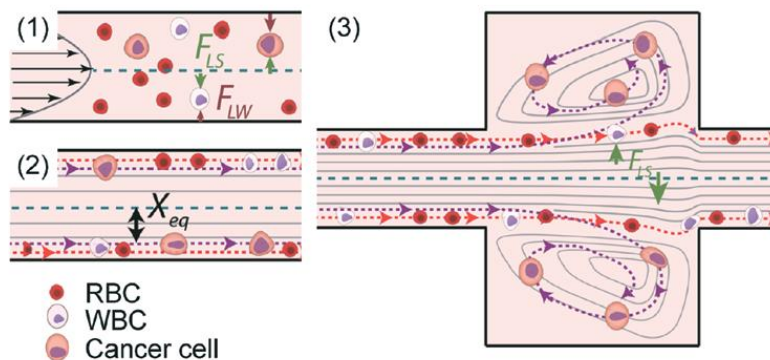
Ο αδρανειακός διαχωρισμός πραγματοποιείται είτε με το συνεχή διαχωρισμό διαφορετικού τύπου κυττάρων είτε με εμπλουτισμό ενός συγκεκριμένου κυτταρικού τύπου. Σε σύγκριση με τις άλλες δύο υδροδυναμικές μεθόδους διαχωρισμού, η ταξινόμηση με βάση την αδράνεια είναι μια προσέγγιση χωρίς επαφή με τις επιφάνειες του καναλιού. Κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού, τα κύτταρα αιωρούνται στο υγρό και δεν έρχονται σε επαφή με οποιαδήποτε στερεά επιφάνεια, ελαχιστοποιώντας έτσι τη βλάβη των κυττάρων. Από την άλλη πλευρά, το μέγεθος και η κατεύθυνση της δύναμης ανύψωσης στο διαχωρισμό κυττάρων μέσω αδρανειακών δυνάμεων, επηρεάζονται από πολλαπλές παραμέτρους που

περιλαμβάνουν τις διαστάσεις καναλιού, το λόγο των διαστάσεων της διατομής του καναλιού, τη διάμετρο των σωματιδίων, την ταχύτητα ροής και τις αλληλεπιδράσεις σωματιδίων-σωματιδίων. Έτσι, ο σχεδιασμός και η λειτουργία μικρορευστονικών διατάξεων για το διαχωρισμό σπάνιων κυττάρων με βάση τις αδρανειακές δυνάμεις, απαιτεί λεπτομερές θεωρητικό υπόβαθρο και πρακτική εμπειρία. Οι Hou et al. [17], παρουσίασαν ένα σπειροειδές μικροκανάλι με εγγενείς φυγόκεντρες δυνάμεις (Dean Flow Fractionation, DFF) με σκοπό το συνεχή διαχωρισμό καρκινικών κυττάρων από το αίμα (Σχήμα 1.6).



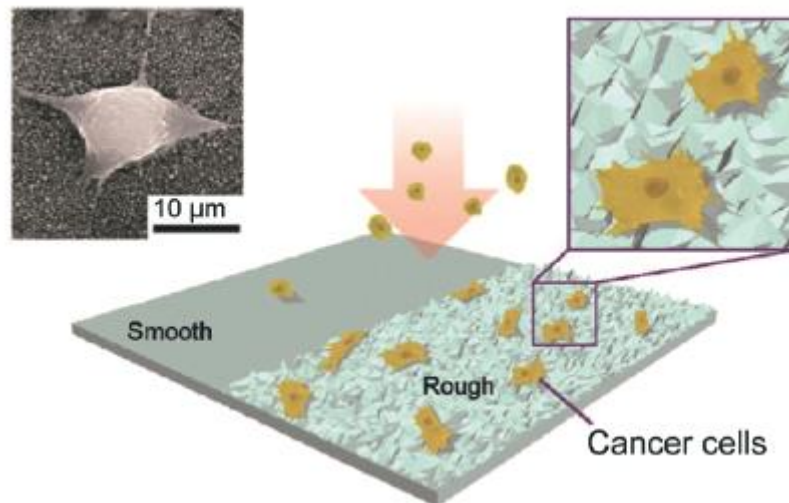
Σχήμα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση της αρχής διαχωρισμού για απομόνωση υψηλής απόδοσης καρκινικών κυττάρων με τη χρήση του Dean Flow Fractionation [17]

Επίσης, οι Sollier et al. [10] σχεδίασαν μία διάταξη με πολλαπλές δεξαμενές συστολής - διαστολής, οι οποίες είχαν τοποθετηθεί παράλληλα σε ένα ευθύ κανάλι. Στο Σχήμα 1.7 φαίνεται η γεωμετρία της διάταξης καθώς και η αρχή λειτουργίας της. Για υψηλούς αριθμούς Reynolds (Re), κύτταρα με διάμετρο μεγαλύτερη από μία κρίσιμη διάμετρο απομονώνονται στις δεξαμενές, ενώ κύτταρα που έχουν μικρότερη από την κρίσιμη διάμετρο, οδηγούνται έξω από το κανάλι. Με αυτή τη διάταξη απομονώθηκαν επιτυχώς καρκινικά κύτταρα από το αίμα ασθενών με καρκίνο του μαστού και του πνεύμονα, παρουσιάζοντας υψηλό εμπλουτισμό και υψηλή καθαρότητα με περιορισμένη μόλυνση από λευκοκύτταρα (Σχήμα 1.7).



Σχήμα 1.7: Η αρχή μίας διάταξης στροβιλισμού (vortex chip) που βασίζεται σε αδρανειακές δυνάμεις [10].

Επίσης, οι Fu et al. [18] πρότειναν μια απλή αλλά αποτελεσματική μέθοδο για την απομόνωση καρκινικών κυττάρων χωρίς τη χρήση αντισωμάτων δέσμευσης. Ο διαχωρισμός των καρκινικών κυττάρων γίνεται με βάση τη διαφορική πρόσφυση (differential adhesion) των κυττάρων και την προτίμηση των καρκινικών κυττάρων σε τραχείες νανοδομές, σε σχέση με τα κύτταρα του αίματος. Τα καρκινικά κύτταρα είναι πιο πιθανό να προσκολληθούν στην τραχιά επιφάνεια του γυαλιού που παράγεται μέσω της ιοντικής εγχάραξης (Reactive-ion etching, RIE). Σε σύγκριση με άλλες μεθόδους λήψης κυττάρων με βάση την επιφάνεια, αυτή η μέθοδος είναι μοναδική επειδή δεν απαιτεί ειδικά μόρια αναγνώρισης (Σχήμα 1.8). Η μέθοδος έχει τη δυνατότητα να γίνει μια σημαντική συμπληρωματική προσέγγιση στις υπάρχουσες μεθόδους δέσμευσης επιφανειακών αντισωμάτων. Χρησιμοποιώντας υπόστρωμα PDMS, οι Fu et al. [18] κατασκεύασαν επιφάνειες με νανοτραχύτητα, μέσω φωτολιθογραφίας σε φωτοευαίσθητο υλικό (Borofloat 33). Στην εφαρμογή αυτή δε χρησιμοποιήθηκε επισήμανση με αντισώματα αλλά ο διαχωρισμός έγινε μέσω της προσκόλλησης των κυττάρων στις τραχιές επιφάνειες. Στόχος ήταν ο διαχωρισμός CTCs από το αίμα. Η απόδοση ήταν μεγαλύτερη από 88%, η επιλεκτικότητα κυμαινόταν μεταξύ 95.2% και 96.1% και η καθαρότητα ήταν ~84%.



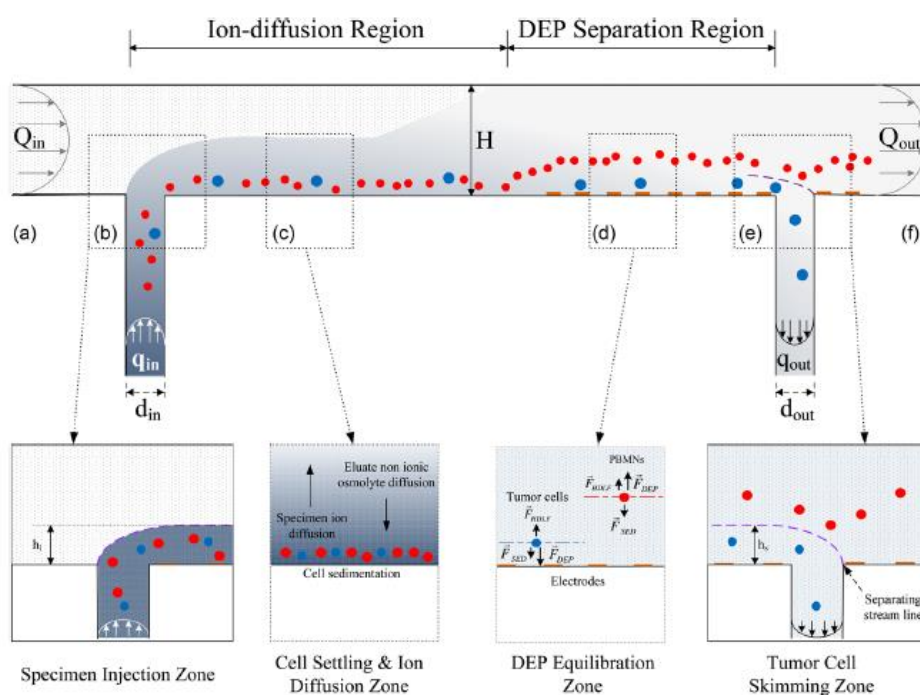
Σχήμα 1.8: Σχέδιο μιας νανοτοπογραφίας που παράγεται από την RIE σε μια γυάλινη επιφάνεια [18].

1.2.2 Διηλεκτροφορητικές μέθοδοι

Οι διηλεκτροφορητικές μέθοδοι διαχωρισμού στηρίζονται στην επαγόμενη διηλεκτροφορητική δύναμη που ασκείται στα κύτταρα μέσω ενός μη ομοιόμορφου ηλεκτρικού πεδίου, η οποία δεν είναι ίδια για όλα τα κύτταρα. Η δύναμη της διηλεκτροφόρησης εφαρμόζεται με τη μεταβολή στην ισχύ του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου και τη συχνότητα του εναλλασσόμενου ρεύματος. Η μέθοδος της διηλεκτροφόρησης (DEP) έχει αποδειχθεί ότι είναι ικανή να διαχωρίζει τα κύτταρα με βάση τις μεταβολές στις διηλεκτρικές ιδιότητες διαφορετικών κυτταρικών τύπων. Χρησιμοποιώντας μια τεχνική διηλεκτροφόρησης, μπορεί να επιτευχθεί υψηλό ποσοστό ανάκτησης και καθαρότητας με βέλτιστο ρυθμό ροής, όπου η δύναμη της διηλεκτροφόρησης που δρα σε ένα κύτταρο στόχο είναι μεγαλύτερη από την οπισθέλκουσα δύναμη του ρευστού. Η κυρίαρχη δύναμη διηλεκτροφόρησης επιτρέπει στα κύτταρα του δείγματος να κινηθούν προς ή μακριά από τα ηλεκτρόδια, που δημιουργούν το ηλεκτρικό πεδίο, αντί να ακολουθήσουν την κύρια ροή του δείγματος.

Για να ληφθεί ένας σημαντικός αριθμός σπάνιων κυττάρων για ανάλυση, ο ελάχιστος όγκος ενός δείγματος που χρειάζεται να υποβληθεί σε επεξεργασία είναι συνήθως περίπου 5-10 mL [12]. Επομένως, ο σχεδιασμός της διάταξης και της διαδικασίας είναι πολύ σημαντικός. Ορισμένοι ερευνητές με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης της διαδικασίας διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων, έχουν προτείνει συνδυασμό δύο ή και παραπάνω μεθόδων.

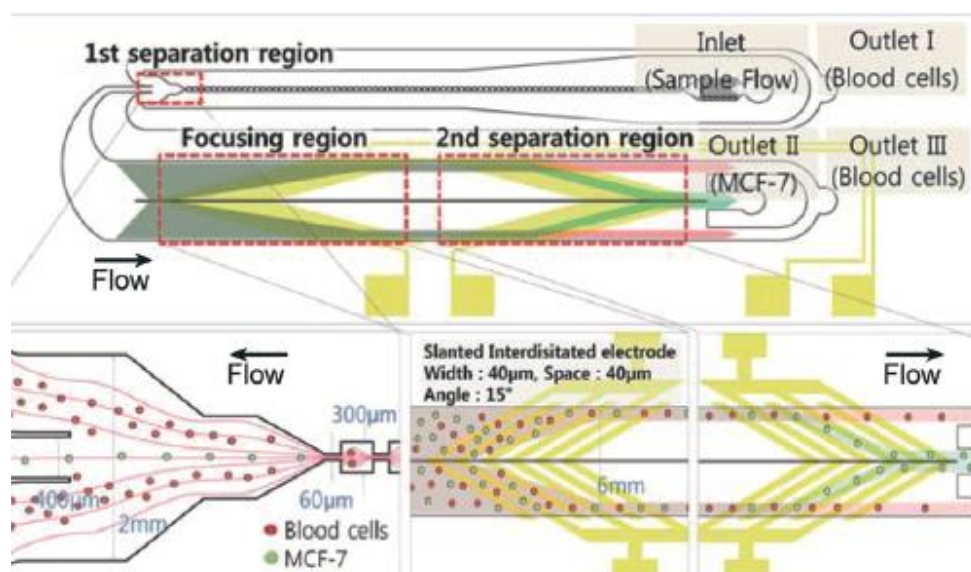
Οι Shim et al. [19] ανέφεραν μια τεχνική συνεχούς ροής συνδυάζοντας τις μεθόδους της διηλεκτροφόρησης και της μεθόδου field-flow-fractionation (continuous flow-based dielectrophoretic - field-flow-fractionation, DEP-FFF). Αυτή η τεχνική είναι ικανή να επεξεργαστεί 10 mL του δείγματος σε λιγότερο από 1 ώρα (Σχήμα 1.9). Καθώς τα κύτταρα περνούν από τα ηλεκτρόδια, τα κύτταρα-στόχοι προσελκύνονται προς τον πυθμένα του καναλιού λόγω της θετικής δύναμης DEP, ενώ τα υπόλοιπα κύτταρα απωθούνται μακριά από τον πυθμένα λόγω της αρνητικής δύναμης DEP. Έτσι, οι δύο τύποι κυττάρων μεταφέρονται σε διαφορετικά ύψη στο κανάλι και τελικά διαχωρίζονται λόγω της ισορροπίας μεταξύ καθίζησης, υδροδυναμικής ανύψωσης και δυνάμεων DEP. Τα κύτταρα στόχοι, αφού αποκατασταθούν σε ύψος ισορροπίας, συλλέγονται τελικά από μία έξοδο.



Σχήμα 1.9: Θάλαμος συνεχούς ροής βασισμένος στη μέθοδο DEP-FFF [19]

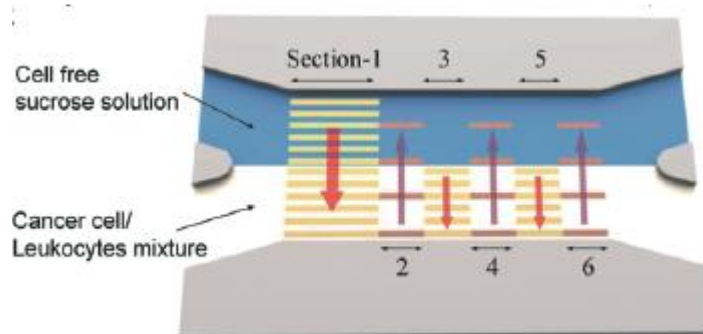
Μία άλλη στρατηγική για τη βελτίωση της απόδοσης των μεθόδων DEP είναι η χρήση ενός βήματος προ-διαχωρισμού πριν από την απομόνωση με τη μέθοδο της διηλεκτροφόρησης. Για παράδειγμα, οι Moon et al. [20] έκαναν χρήση της μεθόδου της διηλεκτροφόρησης σε συνδυασμό με τη μέθοδο διαχωρισμού μέσω πολλαπλών οπών (multi-orifice flow fractionation, MOFF) και κατάφεραν να διαχωρίσουν ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα μαστού από αραιωμένο αίμα (Σχήμα 1.10). Ωστόσο,

όταν υιοθετείται μια μέθοδος διαχωρισμού πολλαπλών βημάτων, η συσσωρευμένη απώλεια των κυττάρων-στόχων σε κάθε στάδιο μπορεί να καταστεί σημαντική και πρέπει να ληφθεί υπόψη.



Σχήμα 1.10: Σχηματικό διάγραμμα μικρορευστονικής διάταξης για το διαχωρισμό καρκινικών κυττάρων με τη μέθοδο MOFF [20]

Εκτός από τα φυσικά ηλεκτρόδια, οι Huang et al. [21] πρότειναν μια τεχνική οπτικά διεγερόμενης διηλεκτροφόρησης (optically-induced-dielectrophoretic, ODEP), η οποία επιτρέπει την συντονισμένη και δυναμική σχεδίαση ηλεκτροδίων σε πραγματικό χρόνο. Η εφαρμογή αυτή, κατάφερε να διαχωρίσει καρκινικά κύτταρα από λευκοκύτταρα. Έξι κινούμενες οθόνες οριοθετούν την περιοχή του διαχωρισμού, οι οποίες χωρίζονται σε δύο ομάδες (Σχήμα 1.11). Η καινοτομία αυτού του σχεδιασμού είναι η παραγωγή μιας σειράς ανεξάρτητων και εντοπισμένων ηλεκτροδίων ODEP. Αυτό επιτρέπει την εισαγωγή εναλλασσόμενων, αντίθετων δυνάμεων στην περιοχή διαχωρισμού για τη βελτίωση της ευαισθησίας επιλογής, η οποία σπάνια αναφέρθηκε σε προηγούμενες μελέτες. Παρόλο που η τεχνική αυτή επιδέχεται βελτιώσεων προτού εφαρμοστεί για τον χειρισμό μεγαλύτερων όγκων δειγμάτων, αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω.



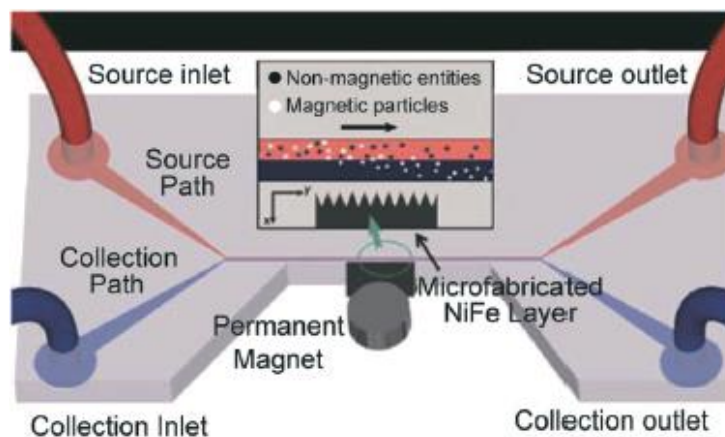
Σχήμα 1.11: Μικρορευστονική διάταξη που χρησιμοποιεί οπτικά επαγόμενη διηλεκτρική (ODEP) δύναμη για την απομόνωση καρκινικών κυττάρων [21].

1.2.3 Μαγνητοφορητικές μέθοδοι

Η μαγνητοφορητική αρχή διαχωρισμού βασίζεται στην κίνηση ενός διαμαγνητικού σωματιδίου σε ένα μαγνητικό μέσο ή αντίστροφα ενός μαγνητικού σωματιδίου σε ένα διαμαγνητικό μέσο. Για να αποκτήσουν τα κύτταρα μαγνητικές ιδιότητες, επικαλύπτονται με μαγνητικά σωματίδια που έχουν ειδικά αντισώματα με σκοπό να προσκολληθούν σε ένα συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο. Η μέθοδος αυτή έχει αναπτυχθεί εδώ και χρόνια και θεωρείται ως μια σχετικά ώριμη και αξιόπιστη τεχνική για την απομόνωση σπάνιων κυττάρων μέσω μικρορευστονικών διατάξεων. Σε σύγκριση με τις παθητικές υδροδυναμικές μεθόδους, όπως της αδρανειακής ροής και της DLD, ο διαχωρισμός με βάση τη μαγνητοφορητική αρχή διαχωρισμού, ο οποίος εφαρμόζει ενεργά μια ισχυρή μαγνητική δύναμη για την εξαγωγή των επισημασμένων με μαγνητικά σωματίδια κυττάρων, εξαρτάται λιγότερο από τις συνθήκες ροής και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σωματιδίων. Επομένως, αυτή η μέθοδος είναι ικανή να επιτύχει υψηλότερη εξειδίκευση και να επεξεργαστεί μη αραιωμένο αίμα με υψηλή απόδοση. Επιπλέον, η μαγνητοφορητική αρχή είναι μια βιοσυμβατή προσέγγιση με χαμηλό κίνδυνο βλάβης στα κύτταρα. Αν και χρησιμοποιείται ένα μαγνητικό πεδίο υψηλής κλίσης, οι δυνάμεις δεν εφαρμόζονται απευθείας στα κύτταρα. Έχει αναφερθεί ότι μπορεί να επιτευχθεί σχεδόν 100% βιωσιμότητα με αυτή τη μέθοδο. Ο πιο προφανής περιορισμός αυτής της τεχνικής είναι η απαίτηση επισήμανσης και, επομένως, απαιτούνται επιπλέον βήματα προετοιμασίας του δείγματος.

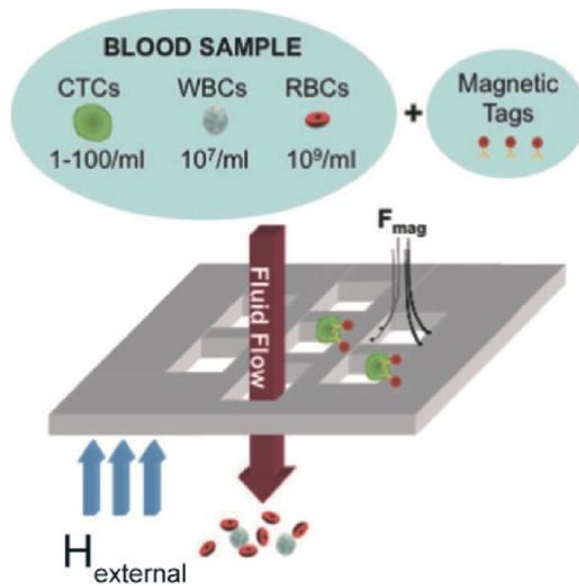
Μεταξύ των μαγνητοφορητικών προσεγγίσεων, η πλευρική μετατόπιση των κυττάρων μέσω του μαγνητικού πεδίου είναι μια κοινή μέθοδος διαχωρισμού των κυττάρων [12]. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί ένα μαγνητικό πεδίο, παράλληλο στη

ροή, με σκοπό να έλξει τα επισημασμένα κύτταρα στόχους και να τα διαχωρίσει από το δείγμα. Η παράλληλη μαγνητοφόρηση είναι μέθοδος διαχωρισμού κυττάρων με υψηλή απόδοση και υψηλό ποσοστό ανάκτησης. Ο μηχανισμός αυτής της μεθόδου είναι παρόμοιος με την απομόνωση κυττάρων που βασίζεται στις ανοσοχημικές μεθόδους που αναλύονται στην επόμενη παράγραφο. Ωστόσο, η ανωτερότητα αυτής της μεθόδου έγκειται στη δυναμική συσσωμάτωση μαγνητικών μικροσφαιριδίων, επιτρέποντας ελεγχόμενη δέσμευση και απελευθέρωση των κυττάρων μέσω εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Για να επιτευχθεί η υψηλή απόδοση της απομόνωσης των σπάνιων κυττάρων, οι μαγνητικές δυνάμεις πρέπει να είναι αρκετά ισχυρές ώστε να ξεπερνούν αυτές που δημιουργούνται από την υψηλή ταχύτητα ροής. Για παράδειγμα οι Xia et al. [22], χρησιμοποίησαν μια τέτοια διάταξη και απομάκρυναν αποτελεσματικά ζωντανά βακτήρια E. Coli, που είχαν συνδεθεί με μαγνητικά νανοσωματίδια, από διαλύματα με πυκνότητες σε ερυθρά αιμοσφαίρια παρόμοιες με αυτές του αίματος (Σχήμα 1.12).



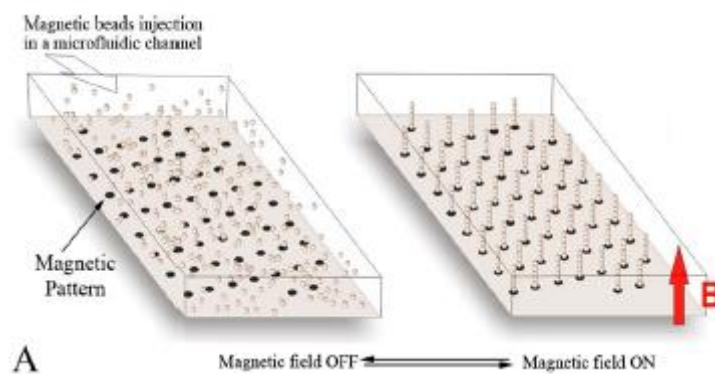
Σχήμα 1.12: Σχηματική αναπαράσταση μίας μαγνητοφορητικής διάταξης με δύο εισόδους και δύο εξόδους [22]

Επίσης, οι Earhart et al. [23] πρόσφατα ανέπτυξαν ένα μαγνητικό κόσκινο για ολοκληρωμένο διαχωρισμό, απεικόνιση και ανάλυση σπάνιων κυττάρων σε μικροεργαστήριο σε ψηφίδα (Σχήμα 1.13). Η απομόνωση σπάνιων κυττάρων πραγματοποιήθηκε απλά με τη διέλευση του δείγματος στο μαγνητικό κόσκινο. Κατά την εφαρμογή ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, τα καρκινικά επισημασμένα κύτταρα με μαγνητικά σφαιρίδια παγιδεύτηκαν στις άκρες των πόρων, ενώ τα μη επισημασμένα κύτταρα αίματος έφευγαν με τη ροή.



Σχήμα 1.13: Αρχή αιχμαλώτισης μαγνητικού κόσκινου [23]

Με βάση την προετοιμασία που χρειάζεται το δείγμα ώστε να επισημανθεί, οι Viovy et al. [8], πρότειναν μια μοναδική μέθοδο για την απομόνωση κυττάρων, την οποία ονόμασαν "Ephesia". Οι Viovy et al. [8] χρησιμοποίησαν στήλες βιοπαρασκευασμένων υπερπαραμαγνητικών σφαιριδίων οι οποίες αυτό-τοποθετούνται στον πάτο ενός μικροκαναλιού πάνω από μια σειρά μαγνητικών παγίδων που κατασκευάζονται με εκτύπωση μικροσυστοιχιών (Σχήμα 1.14). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, όταν το δείγμα ρέει στο κανάλι, τα κύτταρα με συγκεκριμένους βιοδείκτες να αιχμαλωτίζονται από τα συναρμολογημένα μαγνητικά σφαιρίδια.



Σχήμα 1.14: Αρχή λειτουργίας και πρακτική εφαρμογή του συστήματος Ephesia [8]

1.2.4 *Ανοσοχημικές μέθοδοι*

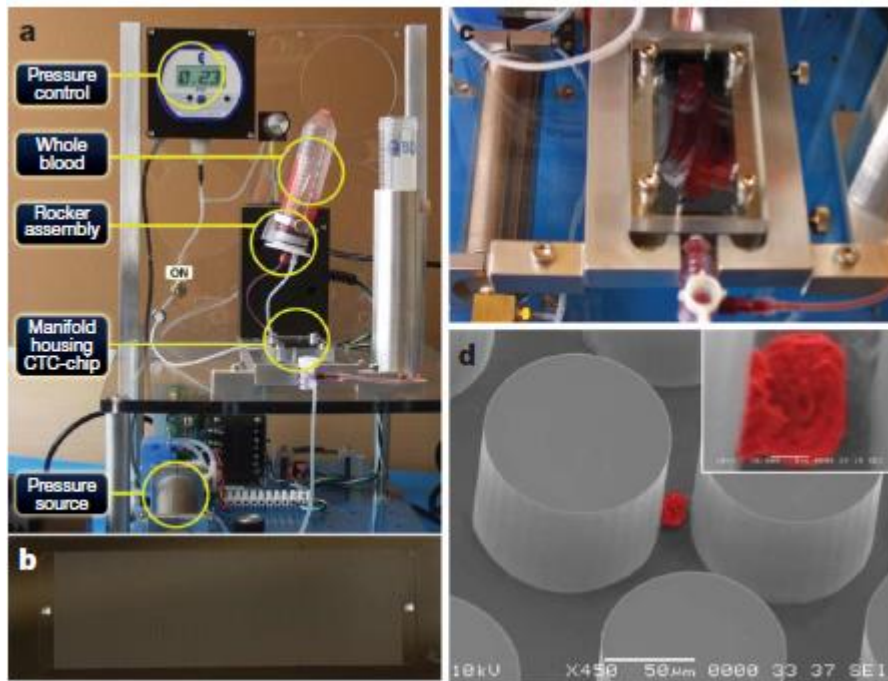
Η ανοσοχημική αρχή διαχωρισμού βασίζεται στην ελκτική δύναμη που υπάρχει μεταξύ των κυττάρων και των επικαλυμμένων με αντισώματα επιφανειών. Οι μέθοδοι διαχωρισμού βασισμένες στην ανοσοχημική αρχή διαχωρισμού διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, θετική και αρνητική απομόνωση. Θετική καλείται όταν τα κύτταρα-στόχοι παραμένουν εντός της διάταξης, ενώ αρνητική όταν όλα τα κύτταρα εκτός των κυττάρων-στόχων μένουν εντός της διάταξης και μόνο τα κύτταρα-στόχοι οδηγούνται στην έξοδο.

Η αλληλεπίδραση μεταξύ μιας στερεής επιφάνειας και των κυττάρων αποτελεί μια άλλη επιτυχημένη στρατηγική για απομόνωση σπάνιων κυττάρων [12]. Η υιοθέτηση αυτής της στρατηγικής επιταχύνθηκε από την πρόσφατη ανάπτυξη των τεχνολογιών μικρορευστονικής. **Η μεγάλη αναλογία της επιφάνειας προς τον όγκο των μικροκαναλιών αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα αλληλεπιδράσεων μεταξύ κυττάρων και επιφανειών και οδηγεί σε καλύτερη απόδοση απομόνωσης.** Σε σχέση με άλλες ανοσοχημικές μεθόδους, ο διαχωρισμός που βασίζεται στη χημική επεξεργασία της επιφάνειας (και όχι του κυττάρου) απαιτεί λιγότερα ή καθόλου βήματα προετοιμασίας του δείγματος. Η επισήμανση και η τροποποίηση εμφανίζονται στην επιφάνεια της διάταξης αντί της επιφάνειας των κυττάρων. Αυτή η προσέγγιση μειώνει το συνολικό χρόνο ανάλυσης και απλοποιεί το γενικό πρωτόκολλο απομόνωσης. Απαιτεί λιγότερα βήματα προετοιμασίας του δείγματος, που είναι πολύ κρίσιμο για πρακτικές εφαρμογές, καθώς η απώλεια των πολύτιμων σπάνιων κυττάρων μπορεί με αυτό τον τρόπο να ελαχιστοποιηθεί. Γενικά, οι διαχωρισμοί που βασίζονται στη χημική επεξεργασία των επιφανειών εξαρτώνται από το διαφορικό δυναμικό προσκόλλησης (differential adhesion potential) μεταξύ των κυττάρων-στόχων και των υπολοίπων κυττάρων. Η απομόνωση των κυττάρων μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της προσκόλλησής τους είτε σε χημικά επεξεργασμένη επιφάνεια είτε σε επιφάνεια στην οποία υπάρχει συγκεκριμένη μικροδομή. Για την απομόνωση σπάνιων κυττάρων, η εύρεση όλων των σπάνιων κυττάρων είναι πάντα η υψηλότερη προτεραιότητα, επομένως η απόδοση διαχωρισμού είναι πιο σημαντική από την καθαρότητα. **Οι ανοσοχημικές μέθοδοι ανήκουν στο πεδίο ενδιαφέροντος της παρούσας εργασίας και αναλύονται εκτενώς παρακάτω.**

1.3 Βιβλιογραφική ανασκόπηση διατάξεων διαχωρισμού που χρειάζονται επισημάνση

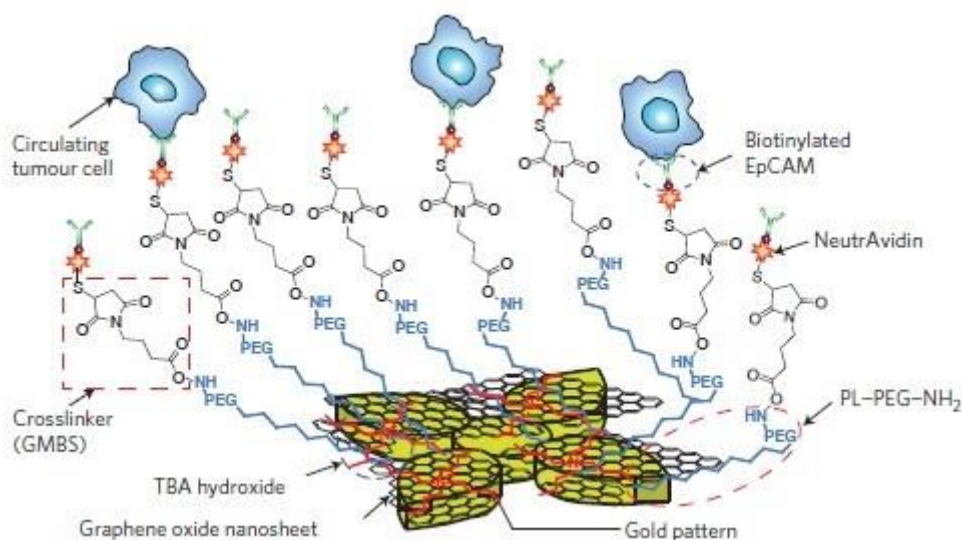
Όπως αναφέρθηκε και στην προηγούμενη παράγραφο, οι ανοσοχημικές μέθοδοι διαχωρισμού χρειάζονται την επισημάνση. Η επισημάνση αυτή γίνεται με την επικάλυψη των επιφανειών με συγκεκριμένου τύπου αντισώματα, τα οποία εξαρτώνται από τον τύπο των κυττάρων στόχων που μελετάει κάθε εφαρμογή. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η απόδοση μίας μικρορευστονικής διάταξης δεν εξαρτάται μόνο από τον τρόπο επισημάνσης αλλά και από την ίδια τη διάταξη, δηλαδή τη γεωμετρία που έχει και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της. Επίσης, ένας άλλος παράγοντας είναι και το δείγμα το οποίο χρησιμοποιείται και απαιτείται να γίνει ο διαχωρισμός. Αυτοί λοιπόν, είναι οι βασικοί παράγοντες που βοηθούν στην κατασκευή μιας μικρορευστονικής διάταξης με στόχο το διαχωρισμό σπανίων κυττάρων μέσω των ανοσοχημικών μεθόδων.

Τα κύτταρα που κινούνται εντός πεδίου στρωτής ροής, τείνουν να κινηθούν πάνω στις ροϊκές γραμμές. Επειδή το πεδίο ροής όμως, δεν ευνοεί την αλληλεπίδραση των κυττάρων με τις επιφάνειες, μελέτες είχαν ως στόχο την ενίσχυση αυτών των αλληλεπιδράσεων. Οι Nagrath et al. [24] πρότειναν μία διάταξη πυριτίου, η οποία αποτελείται από τη μονάδα διαχωρισμού και μία πνευματική αντλία. Η μονάδα διαχωρισμού περιέχει 78.000 μικροκολόνες σε επιφάνεια 970 mm². Οι μικροκολόνες τοποθετούνται σε μία ισόπλευρη τριγωνική συστοιχία. Το ύψος καθεμιάς είναι 100 μm και η διάμετρος 100 μm, ενώ το κενό μεταξύ τους είναι 50 μm (Σχήμα 1.15). Με τη διάταξη αυτή, προσπάθησαν να διαχωρίσουν CTCs από δείγμα αίματος. Οι επιφάνειες επικαλύφθηκαν με αντίσωμα EpCam. Αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι η απόδοση ήταν της τάξης 99% (115 στα 116 δείγματα), η καθαρότητα ήταν σε ποσοστό 50%, ενώ η βιωσιμότητα των διαχωρισμένων κυττάρων κυμαινόταν σε υψηλό ποσοστό της τάξης 98%.



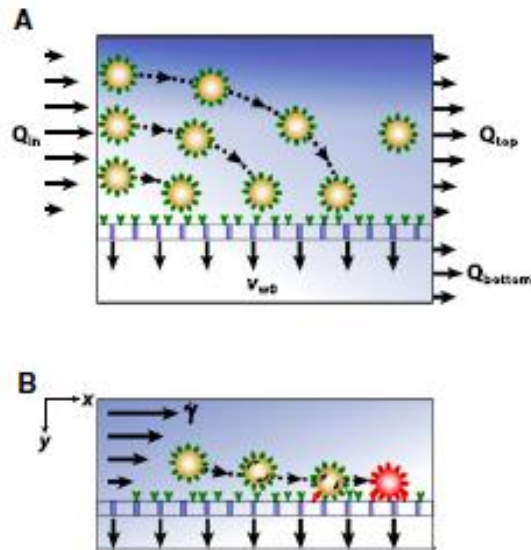
Σχήμα 1.15: Απομόνωση καρκινικών κυττάρων από πλήρες αίμα μέσω ανοσοχημικής διαδικασίας [24]

Εφόσον η ειδική σύνδεση των κυττάρων στόχων συμβαίνει μόνο στην επιφάνεια, η τροποποίηση της επιφάνειας είναι σημαντική και ο στόχος είναι η βελτίωση της απομόνωσης των κυττάρων στόχων μέσω της αύξησης των επιφανειακών αλληλεπιδράσεων. Με την ίδια λογική, οι Yoon et al. [25] κατασκεύασαν μία διάταξη πυριτίου εμβαδού 4410 mm^2 σε ένα στρώμα PDMS που σχηματίζει ένα θάλαμο ύψους 50 μm και συνολικού όγκου 45 μL . Στο υπόστρωμα πυριτίου κατασκευάστηκαν 58.957 χρυσές διατάξεις σχήματος λουλουδιού με διαστάσεις 100 μm μήκος και 100 μm πλάτος. Η απόσταση μεταξύ των διατάξεων είναι 150 μm (Σχήμα 1.16). Νανοφίλτρα οξειδίου του γραφενίου αφομοιώθηκαν από τις διατάξεις χρυσού. Τέλος, οι συνολικές διαστάσεις της διάταξης είναι: 24.5 mm μήκος, 60 mm πλάτος και 3 mm ύψος. Οι επιφάνειες επικαλύφθηκαν με αντίσωμα EpCam και NeutrAvidin. Η απόδοση διαχωρισμού αυτής της διάταξης ήταν 82.3% .



Σχήμα 1.16: Σχηματική απεικόνιση της χημείας συζεύξεως μεταξύ λειτουργικών νανοφίλτρων οξειδίου του γραφενίου και αντισωμάτων EpCAM [25]

Ακόμα, οι Mittal et al. [26] έδειξαν ότι μια πορώδης, διαπερατή από το ρευστό, επιφάνεια, που λειτουργεί με αντισώματα, ενισχύει την αποτελεσματική και επιλεκτική δέσμευση κυττάρων *in vitro*. Κατασκεύασαν μία πολυκαρβονική (πολυκαρβονικά είναι ομάδα θερμοπλαστικών πολυμερών που περιέχουν ανθρακικές ομάδες στις χημικές τους δομές) μεμβράνη (polycarbonate membrane) η οποία τοποθετείται ανάμεσα σε δύο στρώματα PDMS. Κάθε στρώμα περιέχει μία ανεξάρτητη είσοδο και έξοδο, συνδεδεμένες με ένα ορθογώνιο κανάλι ύψους 100-250 μm , πλάτους 2 mm και μήκους 4 cm. Η μεμβράνη αποτελείται από πόρους 200 nm με πάχος 10 μm . Οι επιφάνειες επικαλύφθηκαν με αντισώματα EpCam ή IgC. Στόχος ήταν ο διαχωρισμός λευκοκυττάρων (τα οποία σχετίζονται με διάφορες μορφές καρκίνου) από δείγμα αίματος. Η απόδοση αυτής της διάταξης ήταν της τάξης του 70%.

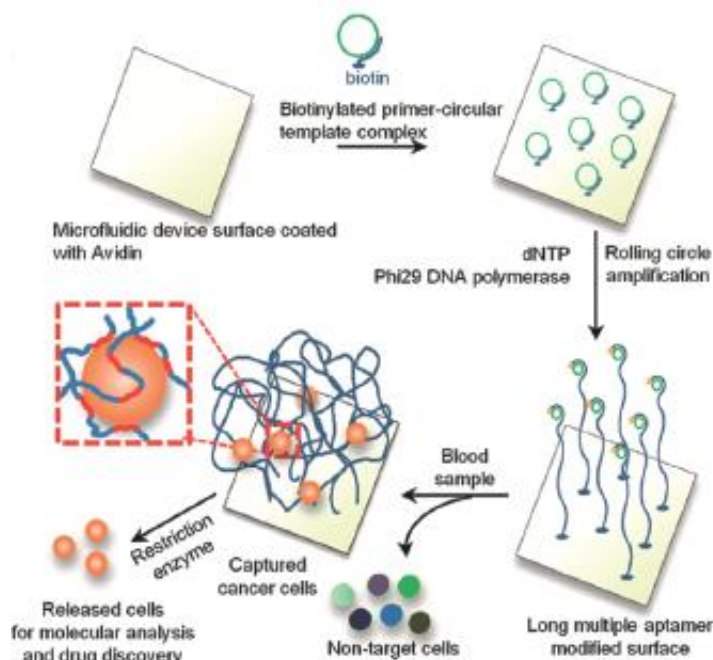


Σχήμα 1.17: (A) Ενισχυμένη μεταφορά κυττάρων σε μία πορώδη διαπερατή επιφάνεια με συγκλίνουσες γραμμές ροής. (B) Η ομαλή κύλιση και η αιχμαλώτιση των κυττάρων στην επιφάνεια συμβαίνουν λόγω μειωμένης διάτμησης και αυξημένων αλληλεπιδράσεων του κυττάρου με την επιφάνεια [26].

Επίσης, οι Zhao et al. [27] αντλώντας έμπνευση από θαλάσσια πλάσματα που διαθέτουν μακριά πλοκάμια με πολλαπλές περιοχές συγκόλλησης για την αποτελεσματική σύλληψη των ρεόντων σωματιδίων τροφίμων, ανέπτυξαν μια διάταξη που χρησιμοποιεί ένα τρισδιάστατο δίκτυο DNA που περιλαμβάνει επαναλαμβανόμενες περιοχές συγκολλητικού απταμερούς² (adhesive aptamer) που εκτείνονται σε δεκάδες μικρόμετρα μέσα στο διάλυμα. Τα μόρια DNA περιέχουν επαναλαμβανόμενες ειδικές αλληλουχίες απταμερούς για την αναγνώριση των κυττάρων-στόχων. Τα μόρια DNA μακριάς αλυσίδας εκτείνονται στη ροή και αυξάνουν την προσβασιμότητα του απταμερούς στα κύτταρα, αποφεύγοντας τις επιζήμιες οριακές επιδράσεις στην επιφάνεια. Ανέπτυξαν λοιπόν μία διάταξη ενός καναλιού σε υπόστρωμα PDMS με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλου στο ένα τοίχωμα. Οι διαστάσεις του κυρίως καναλιού της διάταξης είναι 38 mm μήκος, 800 μm πλάτος και ύψος 45 μm με βάθος των επαναλαμβανόμενων αυλακιών ίσο με 40 μm. Στις επιφάνειες δεν χρησιμοποιήθηκε επικάλυψη αντισωμάτων αλλά επικάλυψη με

² Απταμερή είναι ακολουθίες ολιγονουκλεοτιδίων ή πεπτιδίων που μπορούν να δεσμευθούν, αναγνωρίσουν και συλλάβουν συγκεκριμένους στόχους, συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών και πεπτιδίων με υψηλή συγγένεια και εξειδίκευση.

απταμερή (RCA-aptamer). Στόχος ήταν ο διαχωρισμός καρκινικών κυττάρων από το αίμα. Η απόδοση αυτής τη διάταξης ήταν της τάξης του 80%, η καθαρότητα που επιτεύχθηκε ήταν 38% ενώ η βιωσιμότητα των κυττάρων στόχων ήταν ~87%.



Σχήμα 1.18: Απομόνωση και ανίχνευση καρκινικών κυττάρων σε πλήρες αίμα με τη χρήση μακράς, πολυσθενούς (multivalent) απταμερούς DNA [27]

Στο Παράρτημα Α, περιλαμβάνεται πίνακας με σημειώσεις για τα κύρια στοιχεία εργασιών από τη βιβλιογραφία για διατάξεις μικρορευστονικής που βασίζονται σε ανοσοχημικές μεθόδους.

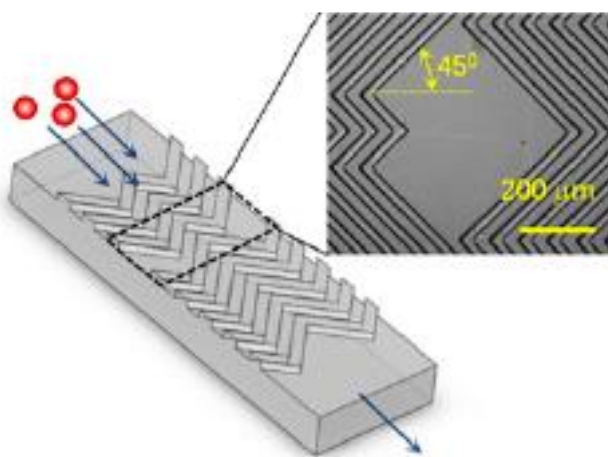
1.4 Η διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στα τοιχώματα

Αρκετές ερευνητικές ομάδες [27-29] που ασχολούνται με διατάξεις διαχωρισμού που βασίζονται στις ανοσοχημικές μεθόδους, ενσωματώνουν στα τοιχώματα ανάγλυφα αυλάκια με γεωμετρία ψαροκόκαλου με σκοπό τη βέλτιστη απόδοση διαχωρισμού κυττάρων. Το ανάγλυφο αυτό δημιουργεί χαοτική συναγωγή, η οποία οδηγεί στην ενίσχυση των αλληλεπιδράσεων των κυττάρων με τα τοιχώματα. Οι διατάξεις αυτές βασίζονται στην εργασία των Stroock et al. [30]. Οι τελευταίοι πρότειναν ένα σχέδιο διάταξης με ανάγλυφα αυλάκια με γεωμετρία ψαροκόκαλου στον πυθμένα του κύριου καναλιού. Τα αυλάκια αποτελούνται από δύο μπράτσα, το ένα πιο επίμηκες από το άλλο (Σχήμα 1.19). Ο πυθμένας περιλαμβάνει δύο σειρές

αυλακιών. Κάθε σειρά αυλακιών με την επόμενη της είναι συμμετρική ως προς τη κέντρο του καναλιού. Παρακάτω θα αναλυθούν ορισμένες από τις προσπάθειες ανοσοχημικού διαχωρισμού σε διατάξεις με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στα τοιχώματα.

Μία από τις πρώτες προσπάθειες είναι η μελέτη των Stott et. al. [29] οι οποίοι ανέπτυξαν διάταξη με στόχο το διαχωρισμό κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων στο αίμα. Και διαπίστωσαν ότι η χρήση καναλιών με ανάγλυφο ψαροκόκαλου ενισχύει την απόδοση και την καθαρότητα του διαχωρισμού.

Στην προσπάθειά τους να διαχωρίσουν κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα με τη βοήθεια απταμερών, οι Zhao et.al. [27] κατασκεύασαν ένα κανάλι το οποίο είχε ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα ώστε να βελτιώσουν την απόδοση του διαχωρισμού (Σχήμα 1.19). Το κανάλι είχε 38 mm μήκος, 800 μm πλάτος, 45 μm ύψος, ενώ το βάθος του κάθε αυλακιού ήταν 40 μm. Παρατήρησαν ότι σε συγκέντρωση περίπου 1000 κυττάρων/mL με ογκομετρική παροχή 0.6 mL/h, η απόδοση διαχωρισμού ήταν 80%. Η απόδοση σε κανάλι χωρίς το ψαροκόκαλο ήταν 20%. Συμπεράναν ότι ο συνδυασμός της συγκεκριμένης διάταξης με τη χρήση των απταμερών για το διαχωρισμό των κυττάρων, οδηγεί στη διατήρηση μίας σταθερής, υψηλής απόδοσης για εύρος ογκομετρικών παροχών.



Σχήμα 1.19: Διάταξη με ανάγλυφο πυθμένα τύπου ψαροκόκαλο (herringbone) για διαχωρισμό κυττάρων [27]

Σε μία αντίστοιχη μελέτη, οι Sheng et. al. [28] προσπάθησαν να διαχωρίσουν καρκινικά κύτταρα (από καρκίνο στο πάγκρεας) σε δείγματα αίματος. Ανέπτυξαν μία διάταξη που αποτελούνταν από 8 παράλληλα κανάλια μήκους 50 mm, πλάτους 2.1 mm και ύψος 50 μm. Κάθε κανάλι είχε ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα, με

το κάθε αυλάκι να έχει 50 μm βάθος. Κατά τη διάρκεια των δοκιμών, παρατήρησαν ότι πέρα από τα καρκινικά κύτταρα, μεγάλος αριθμός άλλων κυττάρων επίσης προσδένονταν στα τοιχώματα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η καθαρότητα του δείγματος. Έτσι έφτιαξαν δύο νέα σχέδια όπου η παράμετρος που άλλαζε ήταν το πλάτος των αυλακιών. Τα δύο νέα σχέδια είχαν πλάτος αυλακιών 80 μm και 120 μm αντίστοιχα και διαπίστωσαν ότι όσο πιο πλατύ είναι το κανάλι, τόσο μεγαλύτερη καθαρότητα έχει το δείγμα χωρίς να επηρεάζεται αρνητικά η απόδοση.

1.5 Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η υπολογιστική μελέτη διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων μέσω προσκόλλησής τους στα τοιχώματα μικρορευστονικής διάταξης. Η διάταξη αποτελείται από κανάλι με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλου στα τοιχώματα. Ο στόχος είναι η αξιολόγησή της σε ανοσοχημικό διαχωρισμό σπάνιων κυττάρων. Για τη μελέτη υπολογίζεται αρχικά το πεδίο ροής μέσω αριθμητικής επίλυσης της εξίσωσης συνέχειας και των εξισώσεων Navier-Stokes. Στη συνέχεια χρησιμοποιείται η μέθοδος ιχνηλασίας σωματιδίων (particle tracing) και υπολογίζονται οι τροχιές σωματιδίων, που παίζουν το ρόλο των κυττάρων-στόχων, καθώς και το πλήθος των σωματιδίων που προσκολλώνται στα τοιχώματα. Γίνεται διερεύνηση της επίδρασης α) της γεωμετρίας της διάταξης (βάθος των αυλακιών του ανάγλυφου, πλάτος και ύψους του κύριου καναλιού), β) του αριθμού Reynolds και γ) της διάστασης των σωματιδίων στην απόδοση του διαχωρισμού.

Το υπόλοιπο της εργασίας περιλαμβάνει τα ακόλουθα: Στο κεφάλαιο 2 αναλύεται το μαθηματικό μοντέλο το οποίο χρησιμοποιήθηκε για την υπολογιστική μελέτη. Στο κεφάλαιο 3 περιλαμβάνονται τα αποτελέσματα ενώ στο κεφάλαιο 4 συνοψίζονται τα συμπεράσματα.

2

Μαθηματικό Μοντέλο

2.1 Εισαγωγή

Το μαθηματικό μοντέλο για το διαχωρισμό σπανίων κυττάρων σε κανάλι με ανάγλυφο πυθμένα τύπου ψαροκόκαλου μπορεί να προσεγγιστεί με δύο μεθόδους. Στην πρώτη μέθοδο επιλύεται η εξίσωση συνέχειας και η εξίσωση διατήρησης της ορμής [η οποία κάτω από ορισμένες συνθήκες (νευτωνικό ρευστό, ασυμπίεστη ροή και σταθερό ιξώδες) μετασχηματίζεται στις εξισώσεις Navier – Stokes], καθώς και το ισοζύγιο μάζας της διαλυμένης ουσίας. Τα αποτελέσματα χρησιμοποιώντας το ισοζύγιο μάζας έδωσαν αριθμητικές αστάθειες και συγκεντρώσεις εκτός ορίων (π.χ. αρνητικές συγκεντρώσεις) για τους χαμηλούς συντελεστές διάχυσης των βιομορίων (υψηλούς αριθμούς Peclet). Για να αντιμετωπιστούν αυτές οι αριθμητικές αστάθειες χρειάζεται υψηλή πύκνωση του πλέγματος με πολύ υψηλό υπολογιστικό κόστος [31, 32]. Ενδεικτικά πρώτα αποτελέσματα από τη χρήση αυτής της μεθόδου υπάρχουν στο Παράρτημα Β. Η δεύτερη μέθοδος είναι η μέθοδος ιχνηλασίας (ιχνηθεσίας) σωματιδίων (particle tracing). Με τη μέθοδο αυτή, δεν επιλύονται οι εξισώσεις διατήρησης μάζας των συστατικών, αλλά υπολογίζονται οι τροχιές σωματιδίων (κυττάρων) στο πεδίο ροής. Στην παρούσα εργασία τα κύτταρα-στόχοι δεν προσεγγίζονται σαν διαλυμένη ουσία αλλά ως σωματίδια των οποίων χρειάζεται να υπολογιστούν οι τροχιές τους, δίχως να επιλυθεί το ισοζύγιο μάζας διαλυμένης ουσίας. Αν κάποιο σωματίδιο πλησιάσει σε τοίχωμα σε απόσταση μικρότερη ή ίση με την ακτίνα του, τότε θεωρούμε ότι προσκολλάται σε αυτό. Για αυτό τον έλεγχο είναι απαραίτητο να υπολογιστεί η απόσταση από τα τοιχώματα του καναλιού της διάταξης το οποίο και υλοποιείται με την επίλυση της εξίσωσης Eikonal.

2.2 Προσέγγιση των κυττάρων ως διαλυμένη ουσία

Το πρόβλημα διαχωρισμού όταν τα κύτταρα – στόχοι προσεγγίζονται ως μία διαλυμένη ουσία βασίζεται στις εξισώσεις συνέχειας (εξίσωση 2.1), Navier – Stokes (2.2 – 2.4), και το ισοζύγιο μάζας για τα κύτταρα στόχους (2.5). Τα κύτταρα θεωρούνται ως μία διαλυμένη ουσία στο νερό και η αλληλεπίδραση με τα τοιχώματα καθορίζεται από επιφανειακές αντιδράσεις.

Η εξίσωση συνέχειας διατυπώνεται ως

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot \rho \mathbf{u} = 0, \quad (2.1)$$

όπου ρ η πυκνότητα του ρευστού και \mathbf{u} το διάνυσμα της ταχύτητας του ρευστού.

Οι εξισώσεις Navier – Stokes, οι οποίες εκφράζουν τη διατήρηση της ορμής σε νευτωνικό ρευστό με σταθερό ιξώδες υπό συνθήκες ασυμπίεστης ροής, διατυπώνονται ως εξής (βασικές έννοιες μηχανικής ρευστών υπάρχουν στο Παράρτημα Δ)

$$\rho \left(\frac{\partial u_x}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_x}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_x}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_x}{\partial z} \right) = -\frac{\partial p}{\partial x} + \rho g_x + \mu \left(\frac{\partial^2 u_x}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_x}{\partial z^2} \right) \quad (2.2)$$

$$\rho \left(\frac{\partial u_y}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_y}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_y}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_y}{\partial z} \right) = -\frac{\partial p}{\partial y} + \rho g_y + \mu \left(\frac{\partial^2 u_y}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_y}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_y}{\partial z^2} \right) \quad (2.3)$$

$$\rho \left(\frac{\partial u_z}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_z}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_z}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_z}{\partial z} \right) = -\frac{\partial p}{\partial z} + \rho g_z + \mu \left(\frac{\partial^2 u_z}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_z}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_z}{\partial z^2} \right) \quad (2.4)$$

Το ισοζύγιο μάζας για την διαλυμένη ένωση διατυπώνεται ως εξής:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla c = \nabla \cdot (D \nabla c) + R, \quad (2.5)$$

όπου \mathbf{u} η ταχύτητα του ρευστού, c η συγκέντρωση της διαλυμένης ένωσης, D ο συντελεστής διάχυσης και R ο καθαρός ρυθμός παραγωγής της ένωσης μέσω χημικών αντιδράσεων στο κύριο της διάταξης.

Η αλληλεπίδραση της διαλυμένης ένωσης (κύτταρα) με τα τοιχώματα της διάταξης καθορίζεται από τις επιφανειακές αντιδράσεις οι οποίες επηρεάζουν το ισοζύγιο μάζας: Καθορίζουν το ρυθμό κατανάλωσης της ένωσης στις εσωτερικές επιφάνειες της διάταξης ο οποίος είναι συνοριακή συνθήκη του ισοζυγίου μάζας.

2.3 Προσέγγιση κυττάρων ως σωματίδια

Το πρόβλημα διαχωρισμού όταν τα κύτταρα θεωρούνται σωματίδια βασίζεται όπως και στην προηγούμενη προσέγγιση (παρ. 2.2) στις εξισώσεις συνέχειας (Εξίσωση 2.1) και Navier – Stokes (Εξισώσεις 2.2 – 2.4) για τον υπολογισμό του πεδίου ροής. Έπειτα, υπολογίζονται οι τροχιές των σωματιδίων που παίζουν το ρόλο των κυττάρων - στόχων μέσω της μεθόδου της ιχνηλασίας [33]. Από την τροχιά του μέσα στη διάταξη προκύπτει αν ένα σωματίδιο έχει πιθανότητες να κολλήσει ή όχι στις εσωτερικές επιφάνειες της διάταξης.

Στην παρούσα εργασία, τα σωματίδια (κύτταρα) θεωρήθηκε ότι είναι ουδέτερης πλευστότητας, δηλαδή έχουν την ίδια πυκνότητα με αυτή του ρευστού μέσα στο οποίο κινούνται, και επομένως κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές του πεδίου ροής [34]. Η θεώρηση αυτή απλουστεύει το μαθηματικό μοντέλο και ταυτόχρονα δεν απέχει πολύ από την πραγματικότητα αφού η πυκνότητα των βιομορίων³ κυμαίνεται μεταξύ 1030 και 1100 kg / m³ [35].

Επομένως, η εξίσωση της κίνησης των σωματιδίων είναι:

$$\frac{d\mathbf{x}}{dt} = \mathbf{u}(\mathbf{x}). \quad (2.6)$$

³ Ενδεικτικές τιμές πυκνότητας για βιομόρια: 1030 kg / m³ για το πλάσμα του αίματος, 1100 kg / m³ για τα ερυθρά κύτταρα, 1050–1090 kg / m³ για τα λευκά κύτταρα, 1080 – 1100 kg / m³ για το βακτήριο *Escherichia Coli* και 1040 – 1080 kg / m³ για τα καρκινικά κύτταρα HELA

Εάν κατά την κίνησή τους το κέντρο των σωματιδίων πλησιάσει σε απόσταση μικρότερη από την ακτίνα του κάποια εσωτερική επιφάνεια (τοιχώμα) της διάταξης, τότε θεωρείται ότι το σωματίδιο κολλά στην επιφάνεια.

Έτσι, εκτός από τις ροϊκές γραμμές για να εκτιμηθεί αν ένα σωματίδιο κολλά σε εσωτερική επιφάνεια χρειάζεται να υπολογιστεί και η (ελάχιστη) απόσταση όλων των σημείων στο εσωτερικό της διάταξης από τα τοιχώματά της. Η απόσταση υπολογίζεται με την επίλυση της εξίσωσης Eikonal [36].

Η απόδοση του διαχωρισμού προσδιορίζεται από το κλάσμα των προσκολλημένων κυττάρων στα τοιχώματα. Όσο περισσότερα κύτταρα, από αυτά που εισάγονται στην είσοδο της διάταξης, προσκολλώνται στις επιφάνειες, τόσο πιο αποδοτικός είναι ο διαχωρισμός. Το πλήθος των κυττάρων που προσκολλώνται είναι ίσο με το πλήθος των ροϊκών γραμμών που έχουν σημεία με απόσταση μικρότερη από την ακτίνα των σωματιδίων από τα εσωτερικά τοιχώματα της διάταξης.

Παρακάτω αναλύονται οι μέθοδοι της ιχνηλασίας και η εξίσωση Eikonal.

2.3.1 Μέθοδος ιχνηλασίας σωματιδίων (*particle tracing*)

Με τη μέθοδο ιχνηλασίας (ιχνηθεσίας) σωματιδίων επιλύονται οι εξισώσεις των τροχιών των σωματιδίων αφού πρώτα έχει επιλυθεί το πρόβλημα του πεδίου ροής. Το πλεονέκτημα της έναντι της προσέγγισης που χρησιμοποιεί το ισοζύγιο μάζας είναι ότι δεν εμφανίζονται αριθμητικές αστάθειες λόγω μεγάλου αριθμού Peclet.

Η κίνηση σωματιδίων μικροσκοπικού και μακροσκοπικού μεγέθους μέσα σε ρευστό τυπικά κυριαρχείται από την οπισθέλκουσα δύναμη που επενεργεί επί σωματιδίων βυθισμένων σε υγρό. Υπάρχουν δύο φάσεις στο σύστημα: μια διακριτή φάση που αποτελείται από φυσαλίδες, σωματίδια ή σταγονίδια και μια συνεχή φάση στην οποία τα σωματίδια βυθίζονται. Προκειμένου η μέθοδος ιχνηλασίας σωματιδίων να είναι έγκυρη, το σύστημα θα πρέπει να είναι μια αραιή ή διασκορπισμένη ροή. Αυτό σημαίνει ότι το κλάσμα όγκου της διακεκριμένης φάσης θα πρέπει να είναι πολύ μικρότερο από το κλάσμα όγκου της συνεχούς φάσης (γενικά λιγότερο από 1%). Όταν το κλάσμα όγκου των σωματιδίων δεν είναι μικρό, το σύστημα υγρών χαρακτηρίζεται ως μια πυκνή ροή και πρέπει να ακολουθηθεί μια διαφορετική προσέγγιση μοντελοποίησης. Θα πρέπει να τονιστεί ότι τα σωματίδια δεν

μετατοπίζουν το υγρό που καταλαμβάνουν [37]. Στο πρόβλημα που αντιμετωπίζεται στην παρούσα εργασία τα σωματίδια (κύτταρα) είναι σπάνια (<1000 κύτταρα/ml).

Η βάση της μεθόδου ιχνηλασίας σωματιδίων είναι ότι ο δεύτερος νόμος του Νεύτωνα που καθορίζει την τροχιά σωματιδίου,

$$m \frac{d^2 \mathbf{x}}{dt^2} = \mathbf{F} \left(t, \mathbf{x}, \frac{d\mathbf{x}}{dt} \right), \quad (2.7)$$

όπου \mathbf{x} είναι η θέση του σωματιδίου, m η μάζα του σωματιδίου και \mathbf{F} η συνισταμένη των δυνάμεων που ασκούνται στο σωματίδιο. Οι δυνάμεις που μπορούν να ασκούνται σε ένα σωματίδιο σε ρευστό είναι η οπισθέλκουσα δύναμη (drag force), η δύναμη της πλευστότητας (buoyancy force) και η δύναμη της βαρύτητας (gravity force). Η οπισθέλκουσα δύναμη εξαρτάται από το ιξώδες, την προστιθέμενη μάζα και τον όρο προΐστορίας Basset. Διάφορες εμπειρικές εκφράσεις έχουν προταθεί, ένας από τους οποίους είναι και αυτή των Khan – Richardson η οποία ισχύει για σφαιρικά σωματίδια για ένα εύρος αριθμών Reynolds ($0.01 < Re < 10^5$). Η εμπειρική έκφραση της οπισθέλκουσας δύναμης σύμφωνα με τους Khan και Richardson είναι [38]

$$\mathbf{F} = \pi r^2 \rho \left| \mathbf{u} - \mathbf{u}_p \right| \left(\mathbf{u} - \mathbf{u}_p \right) \left[1.84 Re_p^{-0.31} + 0.293 Re_p^{0.06} \right]^{3.45} \quad (2.8)$$

όπου \mathbf{u} η ταχύτητα του ρευστού, \mathbf{u}_p η ταχύτητα του σωματιδίου, r η ακτίνα του σωματιδίου, ρ η πυκνότητα του ρευστού και Re_p ο αριθμός Reynolds για τα σωματίδια ο οποίος ορίζεται ως εξής

$$Re_p = \frac{\left| \mathbf{u} - \mathbf{u}_p \right| 2r \rho}{\mu}, \quad (2.9)$$

όπου μ είναι το ιξώδες του ρευστού.

Μία άλλη εμπειρική εξίσωση για την οπισθέλκουσα δύναμη είναι ο νόμος του Stokes [39]

$$\mathbf{F} = \frac{1}{\tau_p} m(\mathbf{u} - \mathbf{u}_p), \quad (2.10)$$

όπου τ_p είναι ο χρόνος απόκρισης της ταχύτητας του σωματιδίου (particle velocity response time, μέτρο απόκρισης του σωματιδίου στην αλλαγή της ταχύτητας του ρευστού)

$$\tau_p = \frac{\rho_p d_p^2}{18\mu}, \quad (2.11)$$

όπου ρ_p η πυκνότητα του σωματιδίου και d_p η διάμετρος του σωματιδίου.

Ένα άλλο μοντέλο για τη δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο προκύπτει από το συνδυασμό της δύναμης Brown (διάχυση σωματιδίων από περιοχές υψηλής συγκέντρωσης σε περιοχές χαμηλής συγκέντρωσης) και της οπισθέλκουσας δύναμης,

$$\mathbf{F} = \mathbf{F}_D + \mathbf{F}_b \quad (2.12)$$

όπου η οπισθέλκουσα δύναμη προέρχεται από την εξίσωση 2.11 και η δύναμη Brown διατυπώνεται ως εξής

$$\mathbf{F}_b = \zeta \sqrt{\frac{12\pi k_B m T r_p}{\Delta t}}, \quad (2.13)$$

όπου k_B η σταθερά Boltzmann, Δt το χρονικό βήμα που χρησιμοποιεί ο επιλύτης, ζ είναι ένα διάνυσμα ανεξάρτητα, κανονικά κατανομημένων αριθμών με μηδενική μέση τιμή και μοναδιαία τυπική απόκλιση. Διαφορετική τιμή του ζ δημιουργείται για κάθε σωματίδιο σε κάθε χρονικό βήμα, για κάθε συστατικό της δύναμης Brown [40].

Οι τρεις παραπάνω προσεγγίσεις της δύναμης που ασκούνται στα σωματίδια αφορούν σωματίδια των οποίων η μάζα δε θεωρείται αμελητέα. Εάν θεωρηθεί ότι τα σωματίδια έχουν αμελητέα μάζα ή είναι ουδέτερης πλευστότητας, οι τροχιές των σωματιδίων μπορούν να υπολογιστούν από την επίλυση της διανυσματικής εξίσωσης της κίνησης για κάθε σωματίδιο

$$\frac{d\mathbf{x}}{dt} = \mathbf{u}(\mathbf{x}) , \quad (2.14)$$

Εάν στην παραπάνω εξίσωση, εισαχθεί ένας όρος τυχαίου βήματος εξαρτώμενο από τη διάχυση, τότε η διαφορική εξίσωση της κίνησης που πρέπει να επιλυθεί γίνεται

$$d\mathbf{x} = \mathbf{u}dt + \sqrt{2Ddt}\xi , \quad (2.15)$$

όπου D ο συντελεστής διάχυσης και ξ είναι ένα διάνυσμα ανεξάρτητα, κανονικά κατανεμημένων αριθμών με μηδενική μέση τιμή και μοναδιαία τυπική απόκλιση. Το σωματίδιο λοιπόν μπορεί να μεταπηδήσει σε άλλες γειτονικές ροϊκές γραμμές κατά τη διάρκεια της κίνησής του [41].

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιείται η εξίσωση (2.14) αφού τα σωματίδια θεωρήθηκαν ουδέτερης πλευστότητας, ενώ η πιθανότητα μεταπήδησης ενός σωματιδίου σε γειτονικές ροϊκές γραμμές θεωρήθηκε αμελητέα.

2.3.2 Η εξίσωση Eikonal

Η εξίσωση Eikonal χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της απόστασης από τα τοιχώματα του καναλιού με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκκαλου στον πυθμένα. Η γενική μορφή της εξίσωσης Eikonal διατυπώνεται ως εξής:

$$\begin{cases} |\nabla u(\mathbf{x})| - f(\mathbf{x}) = 0, \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}) = g(\mathbf{x}), \mathbf{x} \in \partial\Omega \end{cases} , \quad (2.16)$$

όπου $g(\mathbf{x})$ είναι μία γνωστή συνάρτηση. Η εξίσωση αυτή ανήκει στις στατικές εξισώσεις Hamilton - Jacobi.

Αν $g(\mathbf{x})=0$, τότε η εξίσωση Eikonal περιγράφει την εξέλιξη του συνόρου με ταχύτητα η οποία είναι κάθετη στο σύνορο και είναι της μορφής $F(\mathbf{x})=1/f(\mathbf{x})$. Η συνάρτηση $u(\mathbf{x})$ σε αυτή την περίπτωση δίνει το χρόνο κατά τον οποίο το σύνορο βρίσκεται στη θέση \mathbf{x} .

Επιπλέον, εάν $F(\mathbf{x}) = 1$ και $g(\mathbf{x})=0$, η αρχική διατύπωση της εξίσωσης Eikonal λαμβάνει τη μορφή

$$\begin{cases} |\nabla u(\mathbf{x})| - 1 = 0, \mathbf{x} \in \Omega \\ u(\mathbf{x}) = 0, \mathbf{x} \in \partial\Omega \end{cases}, \quad (2.17)$$

όπου το $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ [36, 42]. **Η εξίσωση αυτή, εκφράζει την απόσταση από το σύνορο της καμπύλης ή της επιφάνειας αντίστοιχα.**

Η επίλυση της εξίσωσης Eikonal εξαρτάται από τρία χαρακτηριστικά που είναι η εκλογή της σωστής ασθενούς λύσης, τη μέθοδο διακριτοποίησης, καθώς και την επίλυση του συστήματος των μη γραμμικών εξισώσεων [36]. Οι τρεις μέθοδοι με την οποία επιλύεται η Eikonal είναι:

- i. Με τη μέθοδο εξάλειψης ιξώδους όρου (vanishing viscosity method) για την εκλογή της ασθενούς λύσης, με τη μέθοδο Galerkin - πεπερασμένων στοιχείων για τη διακριτοποίηση του συστήματος και τέλος, το διακριτοποιημένο σύστημα επιλύεται με την επαναληπτική μέθοδο Newton - Raphson.
- ii. Με τη μέθοδο Godunov για τη διακριτοποίηση μέσω των πεπερασμένων διαφορών κατά την κατεύθυνση διάδοσης της πληροφορίας (upwind). Η ασθενής λύση εκλέγεται από τη συνθήκη εντροπίας που περιέχεται στη διακριτοποίηση. Τέλος, το σύστημα επιλύεται, όπως και στην πρώτη περίπτωση, με τη μέθοδο Newton - Raphson.
- iii. Με τη μέθοδο Godunov, όπως και στην περίπτωση (ii), για τη διακριτοποίηση. Ο τρόπος επίλυσης γίνεται με τη μέθοδο ταχυβηματισμού (fast marching method FMM) [43]. Είναι διαδικασία άμεσης επίλυσης του μη γραμμικού προβλήματος, όπου αξιοποιείται η μονοτονία της λύσης κατά μήκος των προβολών των χαρακτηριστικών.

Στο πρόβλημα της παρούσας εργασίας, ο τρόπος με τον οποίο επιλύεται η εξίσωση Eikonal, είναι αυτός που περιγράφεται στην περίπτωση (i). Επειδή λοιπόν, η εξίσωση δεν έχει κλασική λύση, είναι αναγκαίο να οριστούν ασθενείς λύσεις. Η μέθοδος με την οποία ορίζονται αυτές οι λύσεις, καλείται μέθοδος εξάλειψης ιξώδους όρου (vanishing viscosity method). Η ιδέα είναι να μετασχηματιστεί το αρχικό πρόβλημα σε ένα ημιγραμμικό πρόβλημα, όπου ο μετασχηματισμός ελέγχεται από μία παράμετρο $\varepsilon > 0$. Προστίθεται λοιπόν, ένας όρος που εξαρτάται από την

παράμετρο ε και καλείται ιξώδης όρος. Το ιξώδες πρόβλημα που προκύπτει λοιπόν, είναι

$$\begin{cases} |\nabla u_\varepsilon(x)| + \varepsilon \nabla^2 u_\varepsilon(x) - 1 = 0, x \in \Omega \\ u(x) \equiv 0, x \in \partial\Omega \end{cases} \quad (2.18)$$

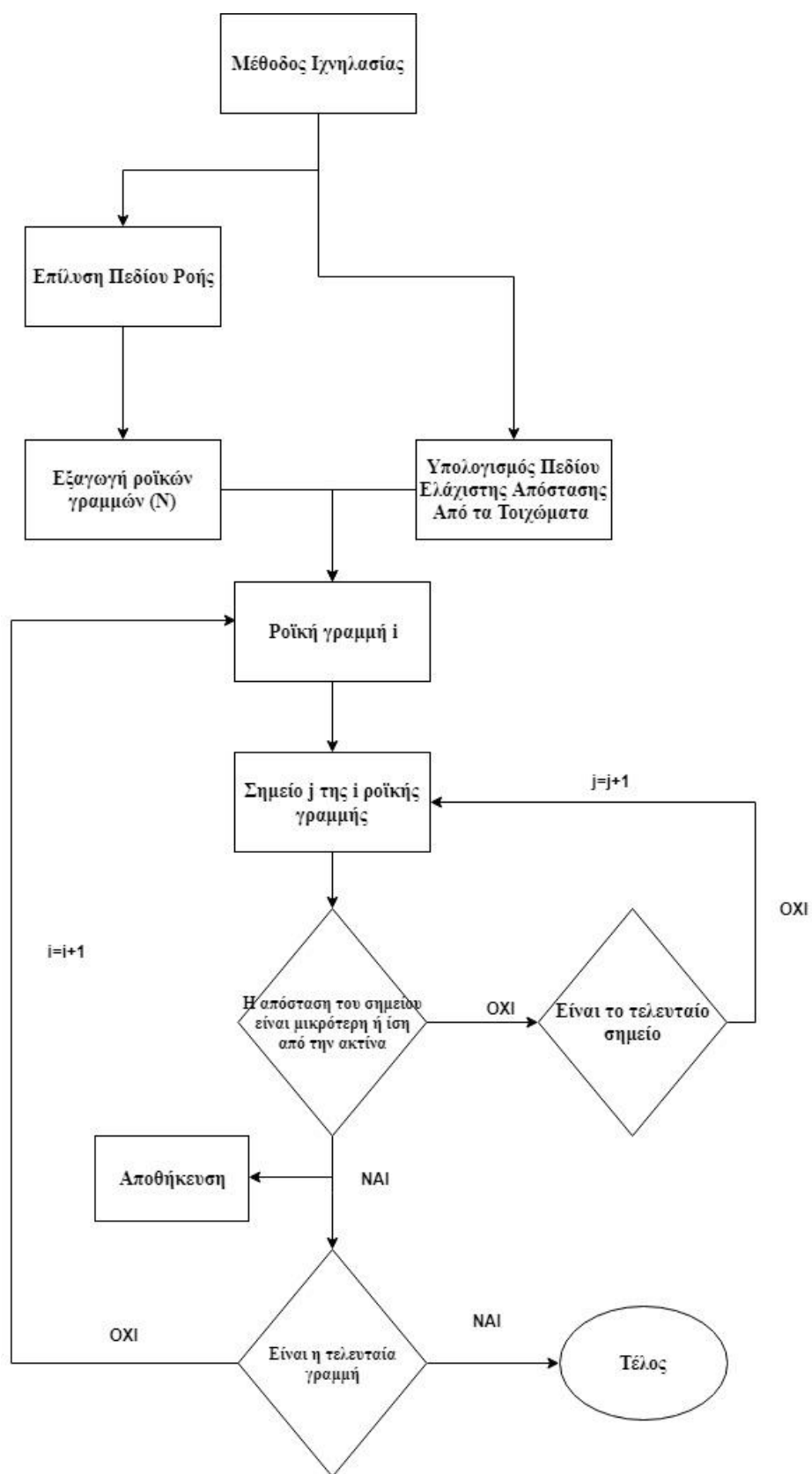
Για κάθε $\varepsilon > 0$, θα υπάρχει μοναδική λύση u_ε . Η λύση αυτή θα συγκλίνει στη λύση της αρχικής εξίσωσης καθώς η παράμετρος $\varepsilon \rightarrow 0$, εξαλείφοντας τον ιξώδη όρο.

Η διαδικασία που ακολουθείται στη μέθοδο εξάλειψης ιξώδους όρου είναι η ακόλουθη: αρχικά λαμβάνεται μια σχετικά μεγάλη τιμή για τη σταθερά ε με σκοπό την εξασφάλιση της σύγκλισης της μεθόδου Newton - Raphson. Έπειτα, η λύση που προκύπτει θεωρείται ως αρχική εκτίμηση για τη λύση u_ε και γίνεται εκ νέου υπολογισμός για μικρότερη τιμή του ε . Η διαδικασία συνεχίζεται καθαυτό τον τρόπο με σκοπό να προσεγγίσει σταδιακά τη λύση της εξίσωσης για $\varepsilon = 0$.

2.4 Αλγόριθμος και μέθοδος επίλυσης

Στην παρούσα εργασία η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την επίλυση του προβλήματος του διαχωρισμού σπανίων κυττάρων είναι η μέθοδος της ιχνηλασίας. Στο διάγραμμα ροής του Σχήμα 2.1 παρουσιάζεται ο αλγόριθμος που χρησιμοποιήθηκε. Αρχικά επιλύονται η εξίσωση συνέχειας (Εξίσωση 2.1) και οι εξισώσεις Navier - Stokes (Εξισώσεις 2.2 – 2.4) από τις οποίες εξάγονται οι ροϊκές γραμμές, καθώς και η εξίσωση Eikonal (Εξίσωση 2.18) που δίνει το πεδίο της (ελάχιστης) απόστασης από όλα τα τοιχώματα της γεωμετρίας της διάταξης. Τα δύο αυτά προβλήματα επιλύθηκαν με τη χρήση του υπολογιστικού πακέτου του λογισμικού COMSOL [44]. Έπειτα, θεωρώντας ότι τα σωματίδια κινούνται κατά μήκος των ροϊκών γραμμών, ελέγχεται εάν η απόστασή τους από τα τοιχώματα είναι μικρότερη από την ακτίνα τους. Τέλος, όσα σωματίδια πληρούν το παραπάνω κριτήριο χαρακτηρίζονται ως σωματίδια που αιχμαλωτίστηκαν στα τοιχώματα της διάταξης και επομένως απομονώθηκαν. Για την τελευταία διαδικασία αναπτύχθηκε κώδικας σε Matlab [45]. Πρέπει να σημειωθεί ότι επειδή το προφίλ της ταχύτητας δεν είναι επίπεδο ο αριθμός των σωματιδίων που εισάγονται στην είσοδο του καναλιού είναι αναλογικός της ταχύτητας [41]. Έτσι στο κέντρο του καναλιού που η ταχύτητα

είναι μεγαλύτερη εισάγονται περισσότερα σωματίδια σε αντίθεση με τα σημεία που είναι κοντά στα τοιχώματα και έχουν μικρότερη ταχύτητα.



Σχήμα 2.1: Αλγόριθμος επίλυσης με τη μέθοδο της ιχνηλασίας

Η επίλυση του πεδίου ροής του παρόντος προβλήματος έγινε μέσω του λογισμικού COMSOL. Η γεωμετρία είναι βασισμένη σε αυτή των Stroock et al. [30]. Το πλέγμα είναι δομημένο και αποτελείται από εξαεδρικά ορθογώνια στοιχεία με 8 κόμβους το καθένα. Η ροή θεωρείται ασυμπίεστη και στρωτή. Η διακριτοποίηση είναι πρώτης τάξης για την ταχύτητα και την πίεση, επομένως οι συναρτήσεις βάσης είναι γραμμικές. Κατάλληλες μέθοδοι σταθεροποίησης χρησιμοποιούνται για την αποφυγή αριθμητικών ασταθειών. Στα τοιχώματα επιβάλλεται η συνθήκη μη ολίσθησης. Από την επίλυση των εξισώσεων συνέχειας και Navier – Stokes (Εξισώσεις 2.1 – 2.4) εξάγονται οι ροϊκές γραμμές. Τα σωματίδια θεωρούνται σωματίδια ουδέτερης πλευστότητας (πυκνότητα σωματιδίου ίση με την πυκνότητα του ρευστού), επομένως κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές δίχως να μεταπηδούν σε γειτονικές. Η θεώρηση ότι τα σωματίδια κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές είναι συνήθης στη βιβλιογραφία [46-49]. Το κριτήριο προσκόλλησης ενός σωματιδίου σε κάποιο τοίχωμα του καναλιού είναι η επαφή του με αυτό. Όταν το κέντρο του είναι σε απόσταση μικρότερη ή ίση από την ακτίνα του, τότε το σωματίδιο θεωρείται ότι προσκολλάται. Στην πραγματικότητα η επαφή ενός κυττάρου με το τοίχωμα μίας διάταξης διαχωρισμού δεν είναι από μόνη της ικανή συνθήκη για την προσκόλλησή του. Η προσκόλληση ενός κυττάρου με τα τοιχώματα εξαρτάται από παράγοντες όπως η ελκτική δύναμη που αναπτύσσεται μεταξύ των κυττάρων και των επικαλυμμένων με αντισώματα τοιχωμάτων όταν τα κύτταρα πλησιάζουν στα τοιχώματα, καθώς και η τοπική διατμητική τάση του ρευστού που αναπτύσσεται λόγω της συνθήκης μη ολίσθησης στα τοιχώματα. Η τοπική διατμητική τάση παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της προσκόλλησης λειτουργώντας είτε αρνητικά είτε θετικά [50]. Παρόλο αυτά, η θεώρηση ότι ένα σωματίδιο προσκολλάται όταν ακουμπά το τοίχωμα οδηγεί σε χρήσιμα και ρεαλιστικά συμπεράσματα, αφού η αύξηση της αλληλεπίδρασης των σωματιδίων σημαίνει και αύξηση της προσκόλλησης τους και γενικά αύξηση της απόδοσης της διάταξης. Η απόσταση του σωματιδίου από τα τοιχώματα της διάταξης υπολογίστηκε από την εξίσωση 2.18 (με παράμετρο $\varepsilon = 10^{-6}$).

Αρχικά στον κώδικα Matlab, που αναπτύχθηκε για τον υπολογισμό του πλήθους των σωματιδίων που προσκολλώνται στα τοιχώματα, καταχωρούνται οι βασικές πληροφορίες που χρειάζονται δηλαδή οι συντεταγμένες των ροϊκών

γραμμών, το πεδίο της απόστασης όπως προκύπτει από την εξίσωση Eikonal, ο αριθμός Reynolds, η ακτίνα των σωματιδίων και η γεωμετρία του καναλιού (Σχήμα 3.1). Έπειτα δημιουργείται ένας πίνακας όπου θα καταγράφεται κάθε σωματίδιο το οποίο προσκολλάται σε τοίχωμα. Εάν ικανοποιείται το κριτήριο για την προσκόλληση, τότε καταχωρούνται οι πληροφορίες του σωματιδίου στον πίνακα, αυξάνεται ο αριθμός των προσκολλημένων σωματιδίων στο τοίχωμα και ο κώδικας μεταβαίνει σε άλλη ροϊκή γραμμή και επαναλαμβάνει τη διαδικασία. Εάν δεν ικανοποιείται το κριτήριο, τότε δεν καταχωρεί καμία πληροφορία στον πίνακα και επαναλαμβάνει τη διαδικασία για την επόμενη ροϊκή γραμμή. Ο κώδικας δε δίνει μόνο τις συντεταγμένες του σημείου αλλά δίνει και σε ποιο τοίχωμα έχει προσκολληθεί το σωματίδιο. Είναι σημαντική αυτή η πληροφορία διότι κατευθύνει το πώς θα πρέπει να κατασκευασθεί η διάταξη. Έτσι, όσον αφορά τις ανοσοχημικές μεθόδους διαχωρισμού, θα πρέπει να επικαλυφθούν με κατάλληλα αντισώματα τα αντίστοιχα τοιχώματα όπου φαίνεται να έχουν μεγαλύτερο ποσοστό προσκόλλησης σωματιδίων.

3

Αποτελέσματα

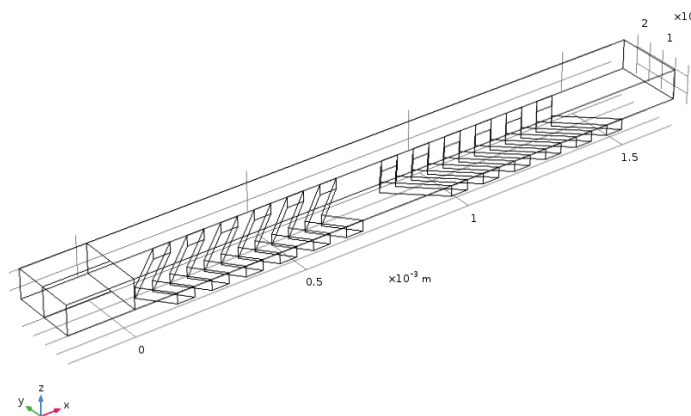
3.1 Εισαγωγή

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζεται το πρόβλημα που μελετήθηκε με βάση τη μέθοδο της ιχνηλασίας σωματιδίων σύμφωνα με την οποία τα κύτταρα αντιμετωπίζονται ως σωματίδια. Αρχικά (παράγραφος 3.2) παρουσιάζονται τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της μελετούμενης διάταξης καθώς και αποτελέσματα για το πεδίο ταχύτητας και πίεσης μαζί με μελέτη για την ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα. Στη συνέχεια (παράγραφος 3.3), παρουσιάζεται η επίλυση της εξίσωσης Eikonal για την εύρεση του πεδίου (ελάχιστης) απόστασης από τα τοιχώματα της διάταξης. Τέλος (παράγραφος 3.4), αφού εξεταστεί η επίδραση του πλήθους των σωματιδίων στην είσοδο της διάταξης στην απόδοση του διαχωρισμού (ποσοστό σωματιδίων που προσκολλώνται), διερευνάται η επίδραση του αριθμού Re , της ακτίνας των σωματιδίων που εισέρχονται στη διάταξη, του βάθους του αυλακιού στο ανάγλυφο ψαροκόκαλου, του ύψους του κύριου καναλιού και της ισότροπης αλλαγής όλων των διαστάσεων της διάταξης στην απόδοση του διαχωρισμού. Τέλος, πραγματοποιείται σύγκριση με αντίστοιχη διάταξη χωρίς ανάγλυφο στον πυθμένα.

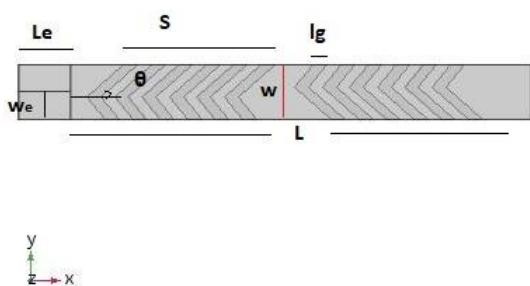
3.2 Υπολογισμός του πεδίου ταχύτητας και πίεσης

Η γεωμετρία της διάταξης (Σχήμα 3.1α) είναι αυτή των Stroock et al. [51]. Οι διαστάσεις του κύριου καναλιού είναι $L = 1516 \mu\text{m}$, το μήκος είναι $w = 200 \mu\text{m}$, το πλάτος και $h = 85 \mu\text{m}$ το ύψος (Σχήμα 3.1β,γ). Μελετάται μία δομική μονάδα του καναλιού στον πυθμένα του οποίου υπάρχουν δύο ομάδες των 6 αυλακίων με γεωμετρία ψαροκόκαλου. Κάθε ομάδα έχει μήκος $S = 600 \mu\text{m}$. Τα αυλάκια έχουν τοποθετηθεί έτσι ώστε να σχηματίζουν με τον άξονα x γωνία $\theta = 45^\circ$. Το βάθος κάθε αυλακιού είναι $d = 30.6 \mu\text{m}$. Επίσης, η διάταξη έχει δύο εισόδους με μήκος $L_e = 189.5$

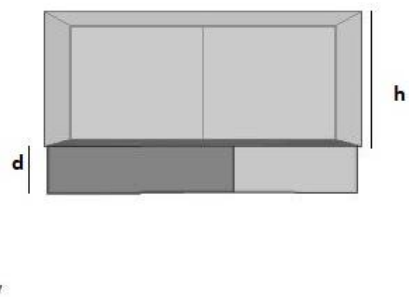
μm, πλάτος $w_e = 100$ μm και ύψος 85 μm και μία έξοδο με μήκος 151.6 μm, πλάτος 200 μm και ύψος 85 μm.



(α)



(β)



(γ)

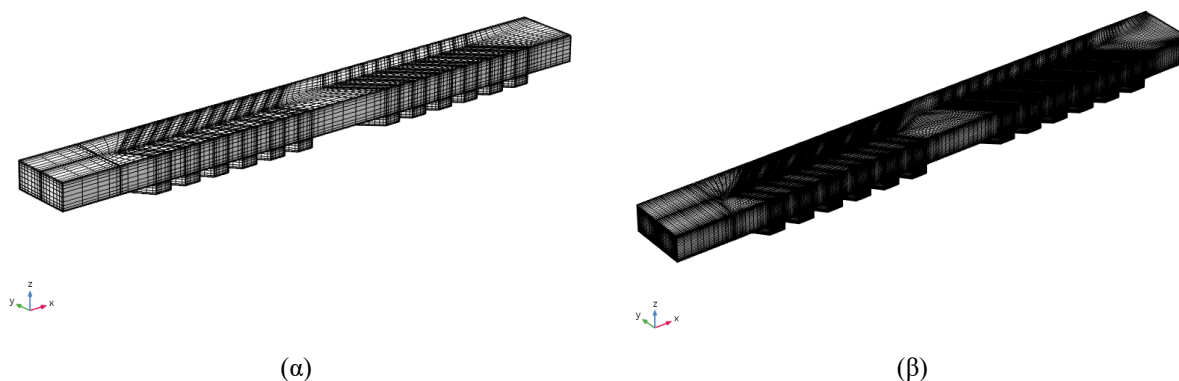
Σχήμα 3.1: α) Γεωμετρία της διάταξης με ανάγλυφο πυθμένα με γεωμετρία ψαροκόκαλου. β) Πρόσωση διάταξης (L μήκος κύριου καναλιού, w πλάτος κύριου καναλιού, S μήκος ομάδας 6 αυλακιών, L_e μήκος εισόδου, w_e πλάτος εισόδου, θ γωνία αυλακιού με τον άξονα x). γ) Πρόσθια όψη διάταξης (h ύψος διάταξης, d βάθος κάθε αυλακιού)

Η ροή είναι στρωτή και επιλύθηκαν η εξίσωση συνέχειας και οι εξισώσεις Navier - Stokes για ασυμπιεστή ροή. Η συνθήκη μη ολίσθησης έχει εφαρμοσθεί σε όλα τα σύνορα του καναλιού. Το πρόβλημα μελετήθηκε για τιμές του αριθμού Re 0.1, 1 και 10. Οι μέθοδοι σταθεροποίησης που χρησιμοποιήθηκαν αφορούν σχήματα καθ' ομορροή (streamline) και πλευρικής σταθεροποίησης (crosswind) για τις εξισώσεις Navier - Stokes και συνέχειας. Η διακριτοποίηση των μεταβλητών της ταχύτητας και της πίεσης έγινε με γραμμικές συναρτήσεις βάσης. Οι υπολογισμοί έγιναν μέσω του λογισμικού COMSOL.

3.2.1 Μελέτη ανεξαρτησίας της αριθμητικής λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα

Η αριθμητική λύση ενός υπολογιστικού προβλήματος είναι μία προσέγγιση της πραγματικής λύσης και εξαρτάται από το υπολογιστικό πλέγμα. Η αριθμητική λύση πλησιάζει την πραγματική όσο το αριθμητικό πλέγμα πυκνώνει. Συνήθως μία μελέτη ξεκινά με υπολογισμούς σε ένα αραιό πλέγμα και έπειτα γίνονται εκ νέου υπολογισμοί σε πυκνότερο πλέγμα. Οι λύσεις αυτών των αριθμητικών πλεγμάτων συγκρίνονται και εάν διαφέρουν αρκετά τότε πραγματοποιούνται νέοι υπολογισμοί με ακόμα πιο πυκνό πλέγμα και γίνεται πάλι σύγκριση. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται με συνεχή πύκνωση του πλέγματος. Όμως υπάρχει ένα όριο όσον αφορά την πύκνωση σε σχέση με τα αποτελέσματα. Μετά από αυτό το όριο της πύκνωσης, οι διαφορές που παρατηρούνται στα αποτελέσματα εξαλείφονται. Τότε, υπάρχει η λεγόμενη ανεξαρτησία της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα.

Για το πρόβλημα που περιγράφεται στην παράγραφο 3.2, η μελέτη της ανεξαρτησίας της αριθμητικής λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα, πραγματοποιήθηκε για δύο αριθμούς Reynolds ίσους με 1 και 10 και χρησιμοποιήθηκαν επτά αριθμητικά πλέγματα με πλήθος στοιχείων ίσο με περίπου 40 χιλιάδες (40 k), 110 k, 199 k, 375 k, 522 k, 890 k και 1739 k (Σχήμα 3.2). Το πλέγμα αποτελείται από εξαεδρικά ορθογωνικά στοιχεία. Η κατασκευή του έγινε με σκοπό να είναι πιο πυκνό κοντά στα τοιχώματα όπου αναμένεται να υπάρχουν μεγάλες βαθμίδες των μεγεθών της ροής.



Σχήμα 3.2 Αναπαράσταση υπολογιστικού πλέγματος α) για ένα αραιό (40 k στοιχεία) και β) ένα πυκνό πλέγμα (522 k στοιχεία)

Τα αποτελέσματα των υπολογισμών αξιολογήθηκαν μέσω των τριών συνιστωσών της ταχύτητας του πεδίου, παρατηρώντας τα αντίστοιχα προφίλ σε δύο ευθύγραμμα τμήματα στο πεδίο ροής και τις τιμές αυτών σε δύο σημεία του πεδίου.

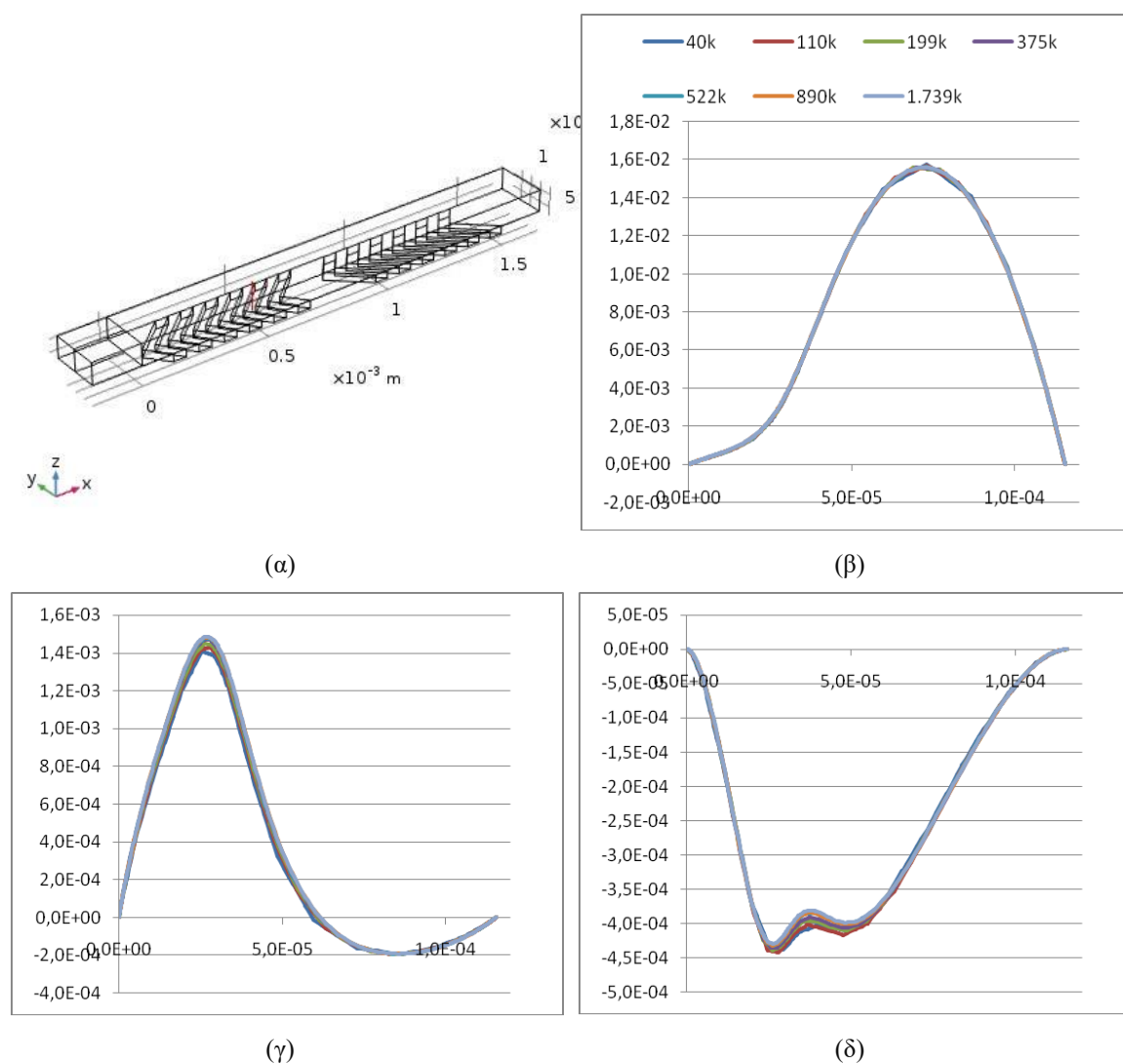
Τα ευθύγραμμα τμήματα καθώς και τα σημεία αυτά επιλέχθηκαν έτσι ώστε να παρουσιάζουν έντονες διακυμάνσεις στις βαθμίδες των μελετώμενων μεγεθών και επομένως η εξάρτησή τους από το υπολογιστικό πλέγμα να είναι πιο έντονη. Στα Σχήμα 3.3α και Σχήμα 3.5α φαίνονται τα ευθύγραμμα αυτά τμήματα, τα οποία είναι στο επίπεδο της κάθετης διατομής του καναλιού στην κατεύθυνση της κύριας ροής και το ένα είναι κάθετο στο κάτω τοίχωμα του καναλιού, ενώ το άλλο παράλληλο. Όσον αφορά τα σημεία, το ένα βρίσκεται πάνω στο πρώτο ευθύγραμμο τμήμα και εντός του αυλακιού (Σχήμα 3.7α), ενώ το άλλο σημείο είναι το σημείο τομής μεταξύ των δύο ευθύγραμμων τμημάτων (Σχήμα 3.9α). Τέλος, ενώ για τα προφίλ των ταχυτήτων πάνω στα ευθύγραμμα τμήματα η αξιολόγηση είναι ποιοτική μέσω των αντίστοιχων διαγραμμάτων, για τις τιμές στα δύο σημεία η αξιολόγηση είναι ποσοτική μέσω του υπολογισμού της απόλυτης τιμής της σχετικής διαφοράς της λύσης από την ακριβέστερη λύση δηλαδή της λύση που αντιστοιχεί στο πυκνότερο πλέγμα.

3.2.1.1 Συνιστώσες ταχύτητας πάνω σε γραμμή παράλληλη στον άξονα z

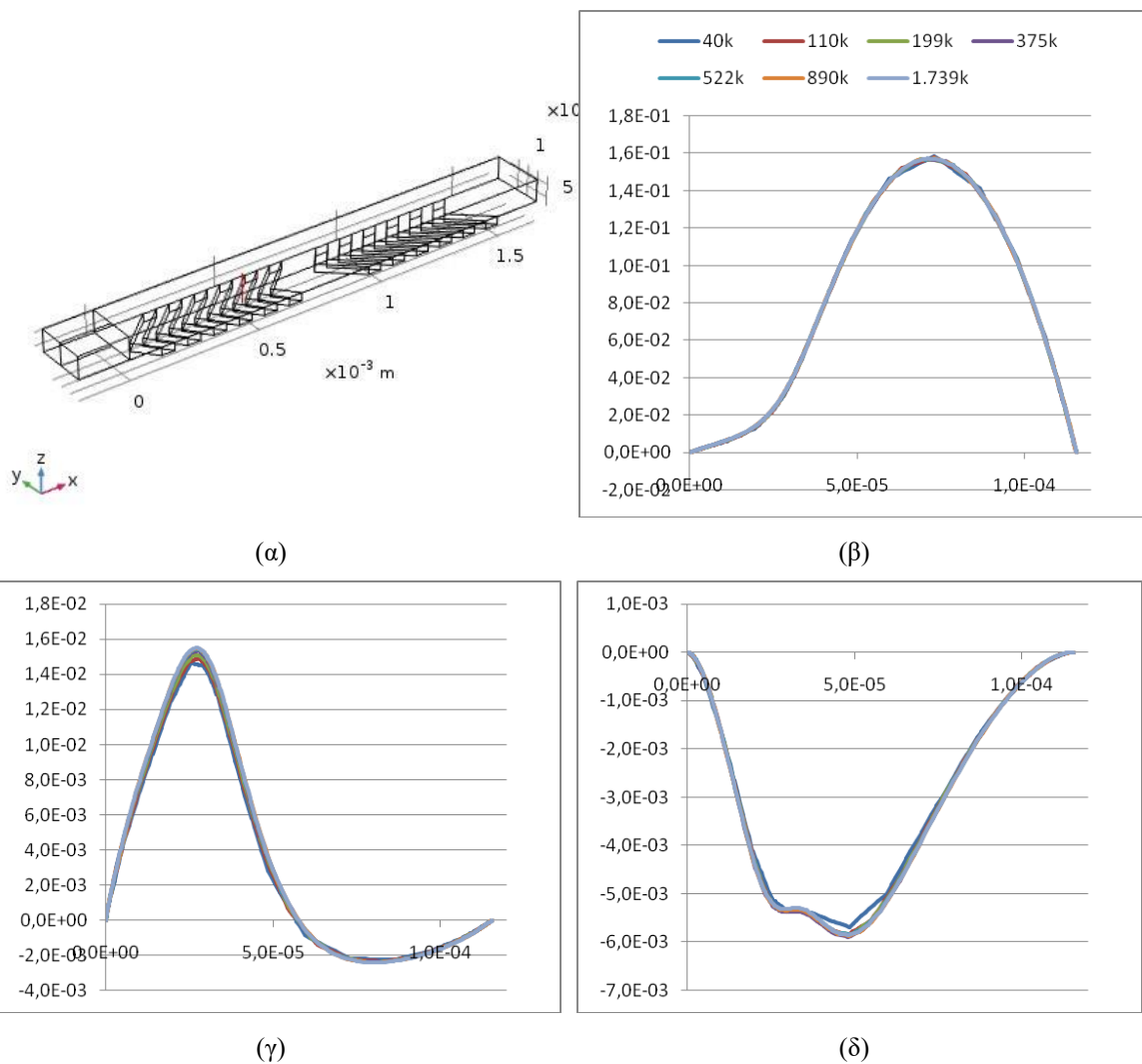
Αναλύοντας τα αποτελέσματα των υπολογισμών που διεξήχθησαν, παρατηρούνται τα εξής για τα διαγράμματα της ταχύτητας σε γραμμή που είναι παράλληλη στον άξονα z (Σχήμα 3.3α) και κάθετη στη ροή. Στο Σχήμα 3.3β αναπαρίσταται το προφίλ της x-συνιστώσας της ταχύτητας, που είναι παράλληλη στη ροή, για διαφορετικό πλήθος στοιχείων πλέγματος όταν η τιμή του Re είναι 1. Στον άξονα x του σχήματος 3.3β και όλων των διαγραμμάτων του Σχήμα 3.3 είναι το μήκος τόξου που ξεκινά από το κάτω τοίχωμα του αυλακιού (0 μm) και φτάνει στο πάνω τοίχωμα του καναλιού (115.6 μm). Οι τιμές της ταχύτητας είναι όλες θετικές και η μορφή της είναι παραβολική με μία μετατόπιση της μέγιστης ταχύτητας προς το επάνω τοίχωμα της διάταξης, ενώ το τμήμα της καμπύλης που αντιστοιχεί στο εσωτερικό του αυλακιού είναι σχεδόν γραμμικό. Παρατηρείται ότι με αραιά πλέγματα η καμπύλη της ταχύτητας δεν είναι πολύ ομαλή, ιδιαίτερα στο τμήμα που εμφανίζεται η μέγιστη ταχύτητα, όσο όμως το πλέγμα γίνεται πυκνότερο, το προφίλ της ταχύτητας αποκτά πιο ομαλή μορφή και σταθεροποιείται για τα τρία τελευταία πλέγματα (με 522 k, 890 k και 1739 k στοιχεία). Το προφίλ της y-συνιστώσας της ταχύτητας αναπαρίσταται στο Σχήμα 3.3γ. Το πρόσημο της ταχύτητας μεταβάλλεται, με μέγιστη τιμή 1.49×10^{-3} m/s και αρνητικές τιμές κοντά στο επάνω τοίχωμα. Από το διάγραμμα

αυτό παρατηρείται ότι η λύση δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές σε πλέγματα πυκνότερα από 522 k στοιχεία. Τέλος, στο Σχήμα 3.3δ αναπαρίσταται το προφίλ της ταχύτητας της z-συνιστώσας της ταχύτητας. Και αυτό το διάγραμμα δίνει σταθεροποίηση της λύσης από το πλέγμα των 522 k στοιχείων.

Στο Σχήμα 3.4 παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα με το Σχήμα 3.3 αλλά για αριθμό Re ίσο με 10. Από τα διαγράμματα αυτά παρόλο που ο αριθμός Re είναι δεκαπλάσιος, και επομένως και η μέση ταχύτητα του ρευστού, τα συμπεράσματα όσον αφορά την ανεξαρτησία του πλέγματος παραμένουν ίδια.



Σχήμα 3.3: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι κάθετη στη ροή, με αρχή το σημείο $(L/3, w/2, -1)$ και τέλος το $(L/3, w/2, 1)$ για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος (40 k, 110 k, 199 k, 375 k, 522 k, 890 k και 1739 k στοιχεία), όταν ο αριθμός $Re=1$. α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής. Προφίλ της β) x-συνιστώσας, γ) της y-συνιστώσας και δ) της z-συνιστώσας της ταχύτητας



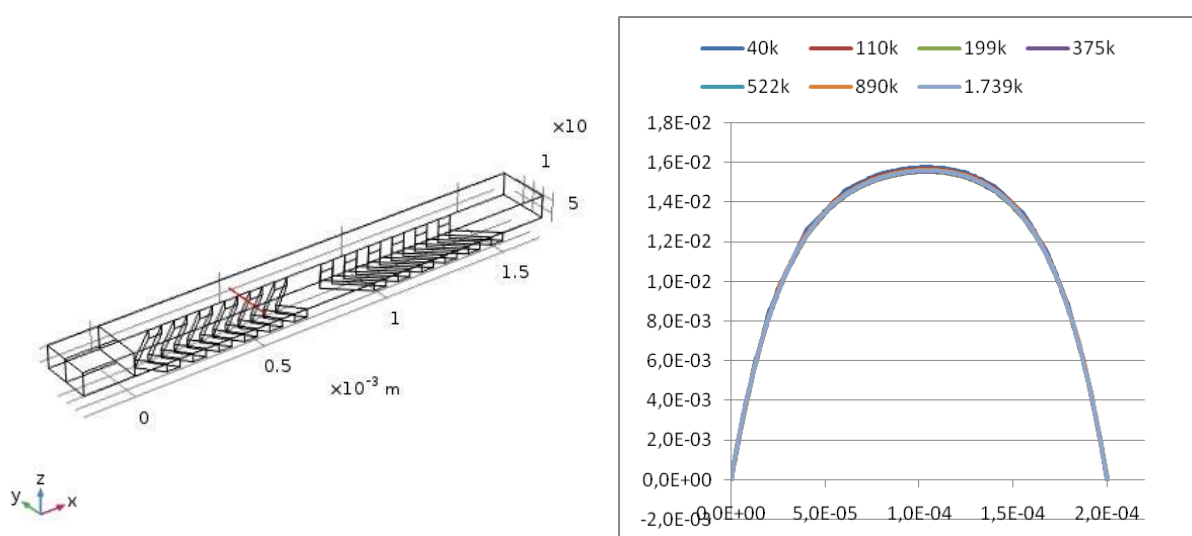
Σχήμα 3.4: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι κάθετη στη ροή, με αρχή το σημείο $(L/3, w/2, -1)$ και τέλος το $(L/3, w/2, 1)$ για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος (40 k, 110 k, 199 k, 375 k, 522 k, 890 k και 1739 k στοιχεία), όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής. Προφίλ της β) x -συνιστώσας, γ) της y -συνιστώσας και δ) της z -συνιστώσας της ταχύτητας

3.2.1.2 Συνιστώσες ταχύτητας πάνω σε γραμμή παράλληλη στον άξονα y

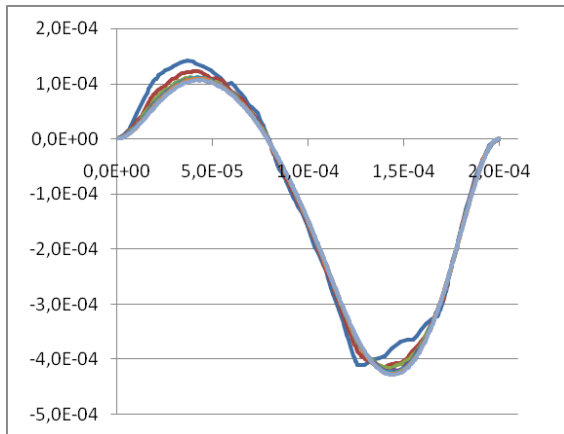
Αναλύοντας τα αποτελέσματα των υπολογισμών που διεξήχθησαν, παρατηρούνται τα εξής για τα διαγράμματα της ταχύτητας σε γραμμή που είναι παράλληλη στον άξονα y (Σχήμα 3.5α). Στο Σχήμα 3.5β αναπαρίσταται το προφίλ της x -συνιστώσας ταχύτητας, για διαφορετικό πλήθος στοιχείων του υπολογιστικού πλέγματος και για Re ίσο με 1. Το προφίλ της είναι παραβολικό. Παρατηρείται ότι στα αραιά πλέγματα η καμπύλη δεν είναι πολύ ομαλή, ειδικότερα το τμήμα όπου εμφανίζεται η μέγιστη τιμή. Όμως, όσο το πλέγμα γίνεται πυκνότερο, παρατηρείται ομαλοποίηση της καμπύλης αυτής και ειδικότερα στα τρία τελευταία πλέγματα (522 k, 890 k και 1739 k). Το προφίλ της y -συνιστώσας της ταχύτητας αναπαρίσταται στο

Σχήμα 3.5γ, όπου παρατηρείται ότι το πρόσημο της ταχύτητας μεταβάλλεται. Και εδώ, παρατηρείται ότι στα πιο αραιά πλέγματα η καμπύλη της ταχύτητας δεν είναι ομαλή, ενώ όταν το πλέγμα πάρει τιμές από 522 k και άνω, η καμπύλη είναι πιο ομαλή και δεν παρουσιάζονται μεγάλες διαφορές. Τέλος, στο Σχήμα 3.5δ αναπαρίσταται το προφίλ της z-συνιστώσας της ταχύτητας. Και σε αυτό το διάγραμμα παρατηρείται ότι το πρόσημο της ταχύτητας μεταβάλλεται. Επίσης, όπως και στα δύο προηγούμενα διαγράμματα, η ομαλοποίηση της καμπύλης παρατηρείται στα τρία πυκνότερα υπολογιστικά πλέγματα (522 k, 890 k, 1739 k). Για πλήθος στοιχείων μεγαλύτερο από 522 k δεν παρατηρούνται ιδιαίτερες διαφορές στις τιμές της ταχύτητας.

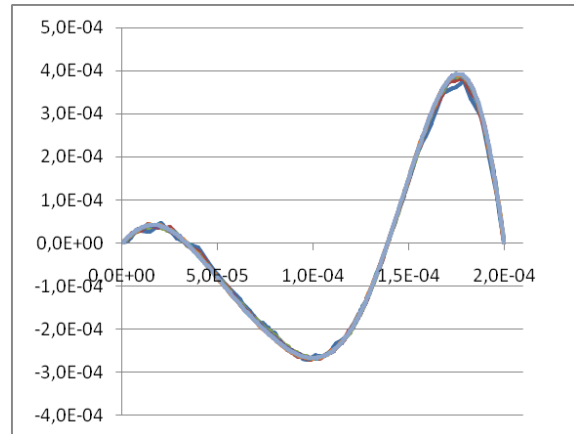
Στο Σχήμα 3.6 παρουσιάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα με το Σχήμα 3.5 αλλά για αριθμό Re ίσο με 10. Από τα διαγράμματα αυτά παρόλο που ο αριθμός Re είναι δεκαπλάσιος, και επομένως και η μέση ταχύτητα του ρευστού, τα συμπεράσματα όσον αφορά την ανεξαρτησία της λύσης από το πλέγμα παραμένουν ίδια.



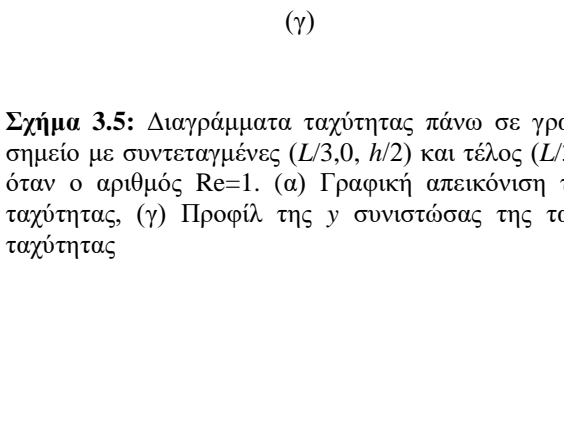
(α)



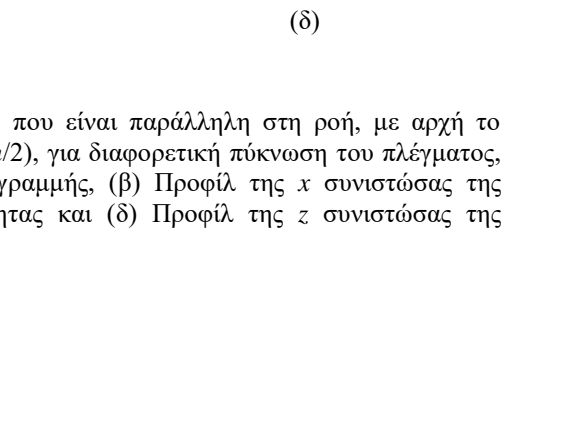
(β)



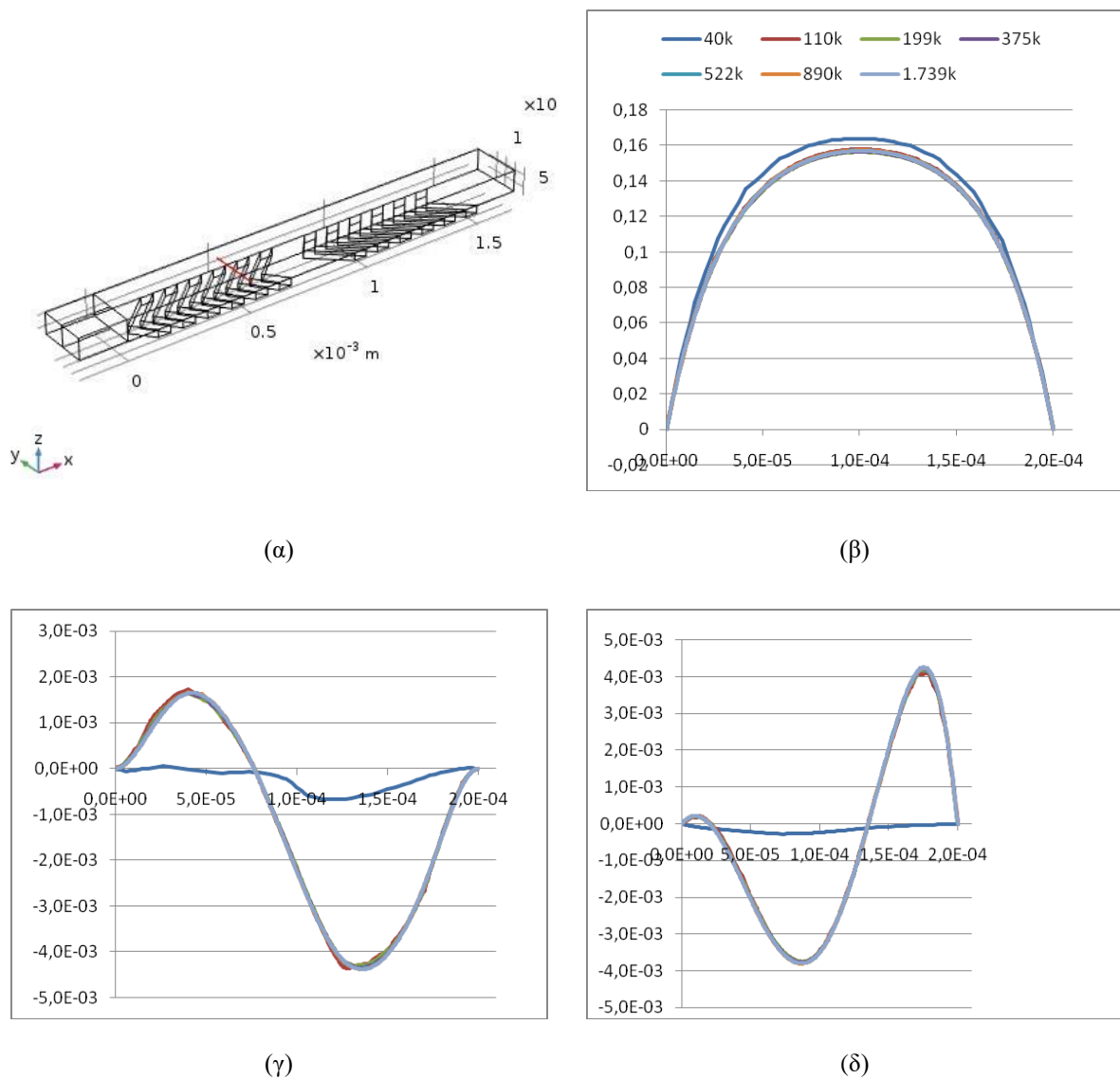
(γ)



(δ)



Σχήμα 3.5: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι παράλληλη στη ροή, με αρχή το σημείο με συντεταγμένες $(L/3, 0, h/2)$ και τέλος $(L/3, 1, h/2)$, για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=1$. (α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής, (β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας, (γ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας και (δ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας



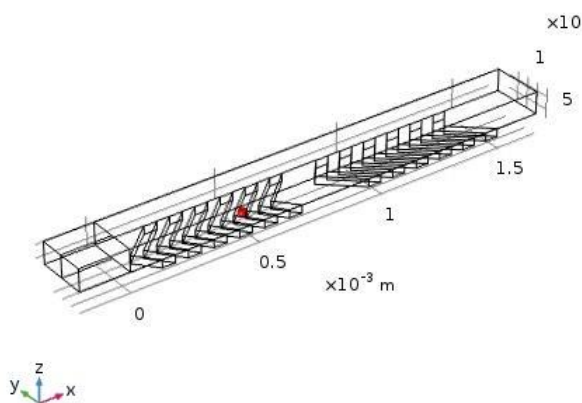
Σχήμα 3.6: Διαγράμματα ταχύτητας πάνω σε γραμμή που είναι παράλληλη στη ροή, με αρχή το σημείο με συντεταγμένες $(L/3, 0, h/2)$ και τέλος $(L/3, 1, h/2)$, για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση της γραμμής, β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας, γ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας και δ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας

3.2.1.3 Συνιστώσες της ταχύτητας σε σημείο στο εσωτερικό των αυλακιών και μελέτη ανεξαρτησίας της λύσης από το πλέγμα

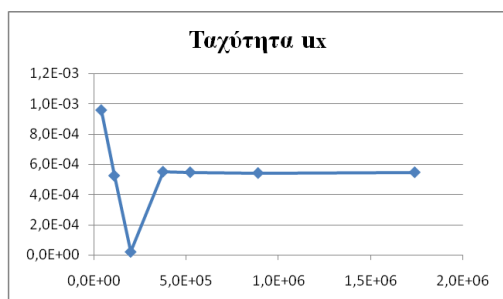
Στο Σχήμα 3.7 παρουσιάζονται οι συνιστώσες της ταχύτητας και οι απόλυτες τιμές της % σχετικής διαφοράς τους λύσης από την ακριβέστερη δυνατή λύση δηλαδή από τη λύση που αντιστοιχεί στο πυκνότερο πλέγμα για ένα σημείο εντός ενός αυλακιού (Σχήμα 3.7α). Η απόλυτη τιμή της % σχετικής διαφοράς της λύσης από την ακριβέστερη ορίζεται ως η απόλυτη τιμή του λόγου της διαφοράς της λύσης από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα προς τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα πολλαπλασιασμένη με το 100. Από τα διαγράμματα αυτά παρατηρείται ότι οι y - και z -συνιστώσες της

ταχύτητας, οι δύο κάθετες στη ροή συνιστώσες, σταθεροποιούν την τιμή τους από το τρίτο πυκνότερο πλέγμα (199 k στοιχεία) με σχετικές διαφορές 2.72% και 1.82%, αντίστοιχα. Στο πλέγμα αυτό όμως η x-συνιστώσα, η οποία είναι κατά μήκος της ροής, παρουσιάζει μεγάλη απόκλιση (96.4%). Όμως από το τέταρτο κατά σειρά πλέγμα, δηλαδή από πλήθος στοιχείων 375 k και έπειτα, η ταχύτητα σταθεροποιείται και για τις τρεις συνιστώσες (x-, y- και z-) με την σχετική διαφορά να είναι ίση με 0.75%, 0.59% και 0.34%, αντίστοιχα.

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρούνται και όταν ο αριθμός Re έχει τιμή 10, με τα αντίστοιχα διαγράμματα στο Σχήμα 3.8 για ένα σημείο που βρίσκεται εντός του αυλακιού και στο μέσο ύψος του αυλακιού (Σχήμα 3.8α). Συγκεκριμένα, η κρίσιμη πύκνωση όπου παρουσιάζεται η σταθεροποίηση και σε αυτή την περίπτωση είναι η πύκνωση των 375 k στοιχείων με τιμές αποκλίσεως για της ταχύτητας για τις x-, y- και z-συνιστώσες να είναι ίσες με 0.82%, 0.68% και 0.51%, αντίστοιχα.



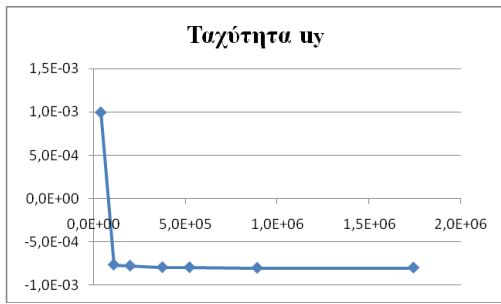
(α)



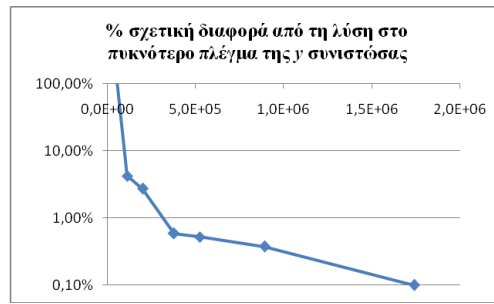
(β)



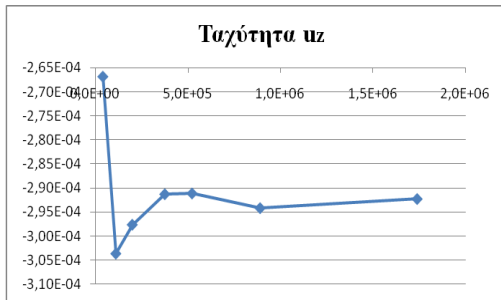
(γ)



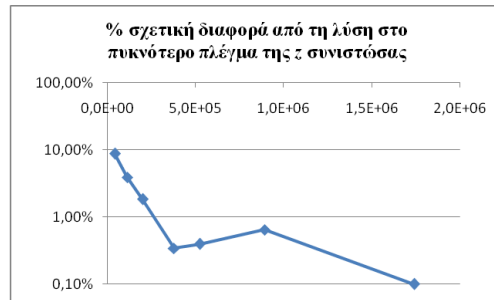
(δ)



(ε)

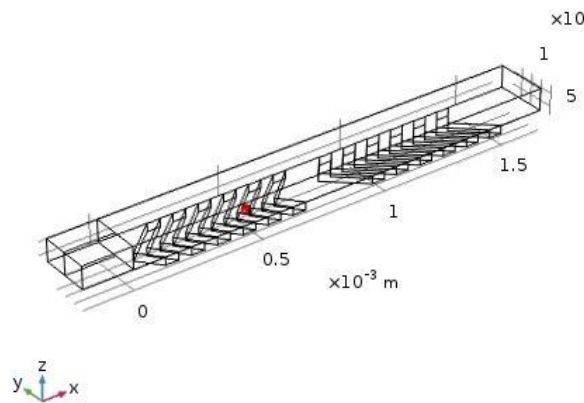


(στ)

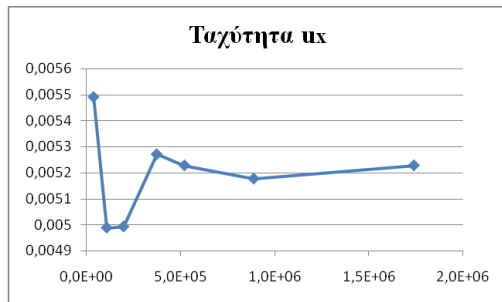


(ζ)

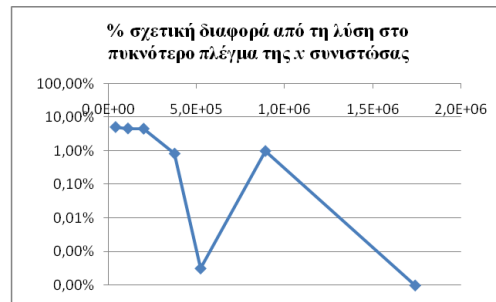
Σχήμα 3.7: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας σε σημείο εντός του αυλακιού, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, -d/2)$, για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=1$. (α) Γραφική απεικόνιση του σημείου, (β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας, (γ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας (δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας, (ε) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας, (στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας και (ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας



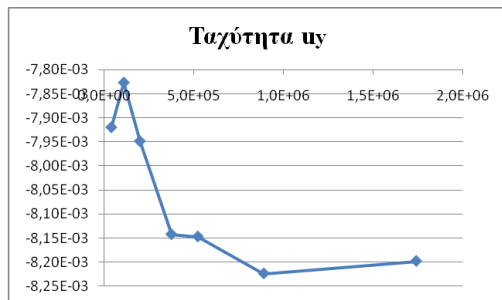
(α)



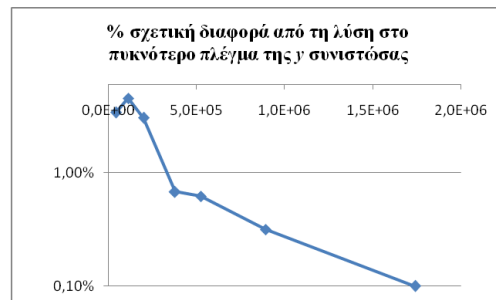
(β)



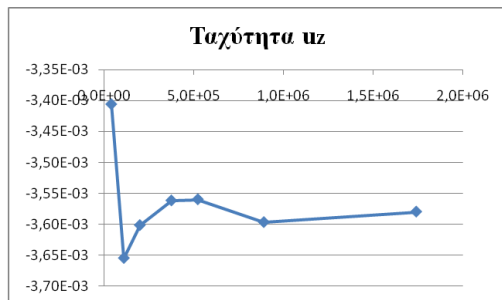
(γ)



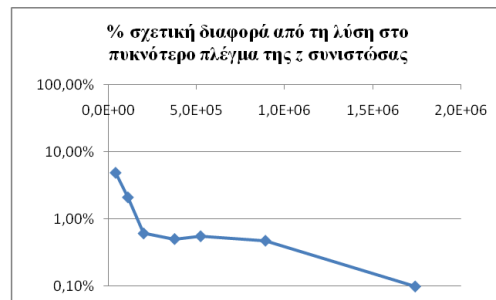
(δ)



(ε)



(στ)



(ζ)

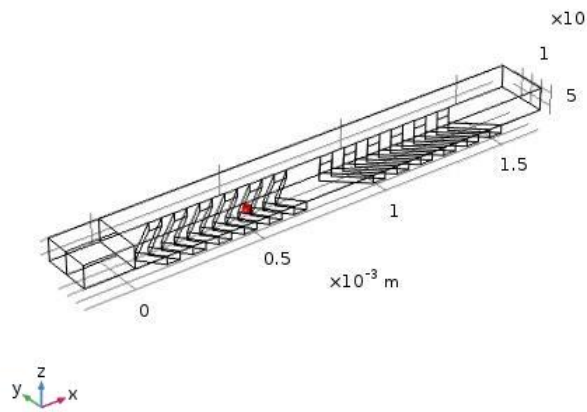
Σχήμα 3.8: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας σε σημείο εντός του αυλακιού, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, -d/2)$, για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση του σημείου. β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας. γ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας. δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας. ε) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας. στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας. ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας.

3.2.1.4 Συνιστώσες της ταχύτητας στο σημείο τομής των γραμμών και μελέτη ανεξαρτησίας της λύσης από το πλέγμα

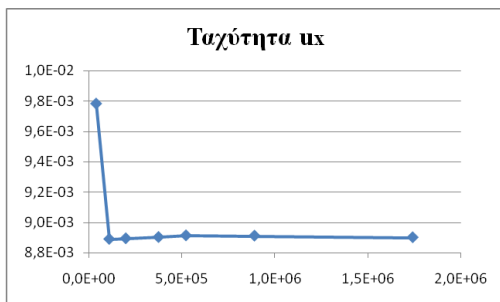
Τέλος, στο Σχήμα 3.9 παρουσιάζονται τα διαγράμματα της ταχύτητας και της απόκλισης της για το σημείο τομής των δύο προαναφερθέντων γραμμών, το οποίο σε αυτή την περίπτωση βρίσκεται επάνω από αυλάκι. Σε αντίθεση με την προηγούμενη παράγραφο, όπου η x συνιστώσα της ταχύτητας ήταν πιο απαιτητική σε υπολογιστικό

πλέγμα, στο σημείο αυτό φαίνεται η τιμή της να σταθεροποιείται από το δεύτερο κιάλας πυκνότερο πλέγμα (110 K). Όμως σε αυτό το υπολογιστικό πλέγμα οι συνιστώσες y και z της ταχύτητας παρουσιάζουν μεγάλες αποκλίσεις (8.94% και 50.37%, αντίστοιχα). Γενικά από αυτά τα διαγράμματα φαίνεται πως η z συνιστώσα της ταχύτητας είναι η πιο απαιτητική σε υπολογιστικό πλέγμα και επομένως αυτή θα καθορίσει και τον απαραίτητο αριθμό στοιχείων του πλέγματος έτσι ώστε να θεωρηθεί το πλέγμα ανεξάρτητο της αριθμητικής λύσης. Η μικρότερη απόκλιση στις τιμές της συνιστώσας z της ταχύτητας παρατηρείται στο δεύτερο πιο πυκνό πλέγμα, των 890 K στοιχείων που είναι ίση με 3.65%. Η απόκλιση αυτή είναι αρκετά ικανοποιητική σε αριθμητική ακρίβεια, ενώ ταυτόχρονα διατηρεί το υπολογιστικό κόστος, σε μνήμη και χρόνο, σχετικά χαμηλά. Συγκεκριμένα για το υπολογιστικό κόστος να σημειωθεί ότι για το υπολογιστικό πλέγμα των 890 K απαιτούνται 30 GB RAM και χρόνος επίλυσης 25 λεπτά σε έναν υπολογιστή που διαθέτει μία CPU (Intel® Core™ i7-3930K CPU @ 3.20GHz) με 12 cores, ενώ για το υπολογιστικό πλέγμα των 1739 K στοιχείων απαιτούνται 67 GB RAM και 14 ώρες και 38 λεπτά, αντίστοιχα.

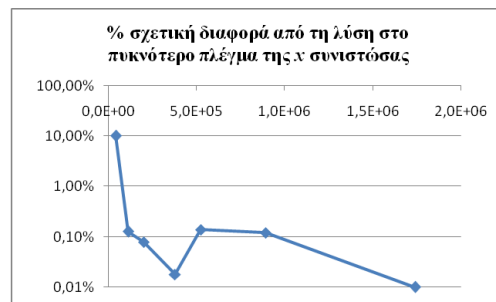
Η παραπάνω μελέτη ανεξαρτησίας της λύσης από το υπολογιστικό πλέγμα υπαγορεύει τη χρήση 890 k στοιχείων για τον υπολογισμό του πεδίου ροής.



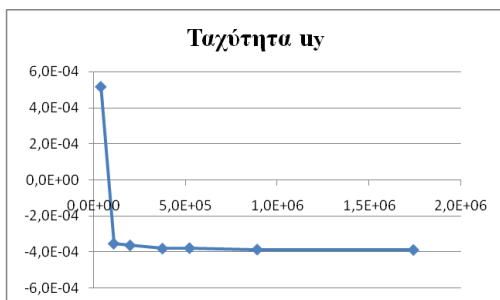
(α)



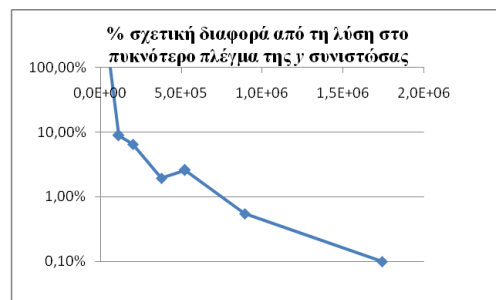
(β)



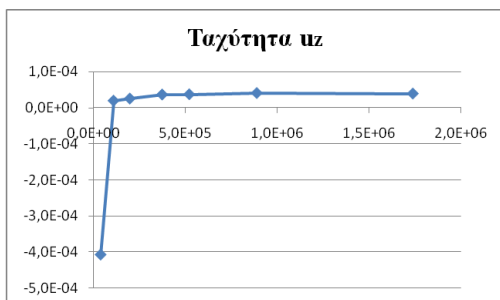
(γ)



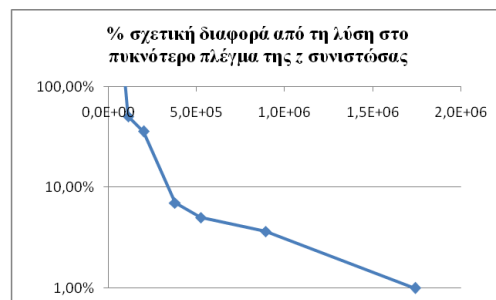
(δ)



(ε)



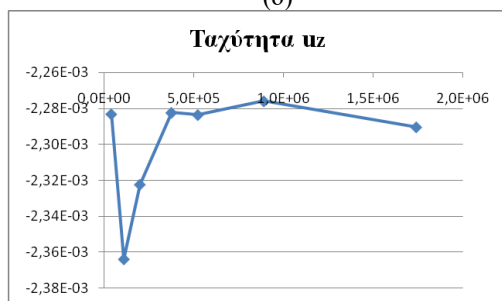
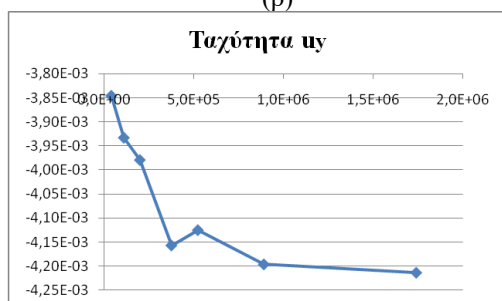
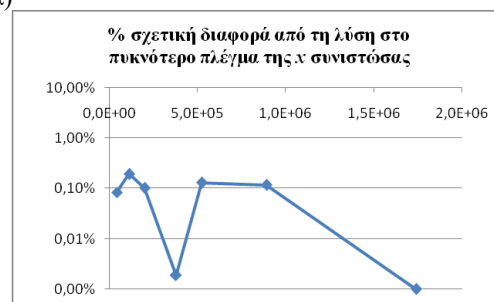
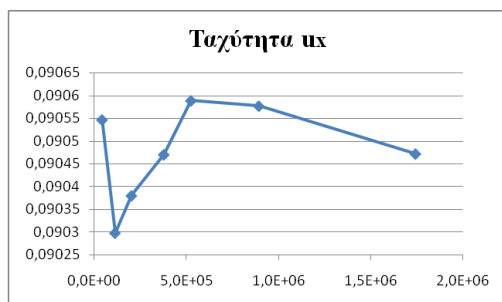
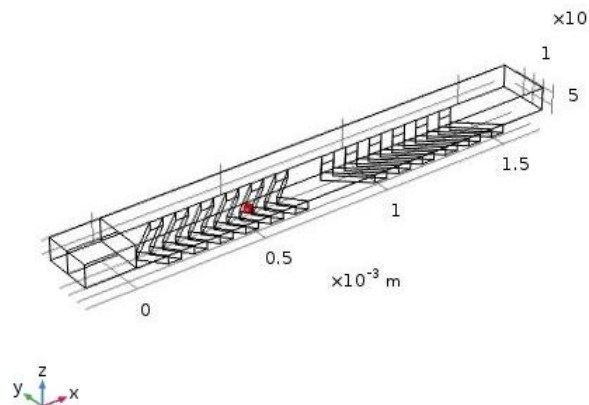
(στ)



(ζ)

Σχήμα 3.9: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας στο σημείο τομής των γραμμών, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, 0.000045-d)$, για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=1$. α) Γραφική απεικόνιση του σημείου. β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας. γ) % σχετική

διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας. δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας. ε) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας. στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας. ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας.

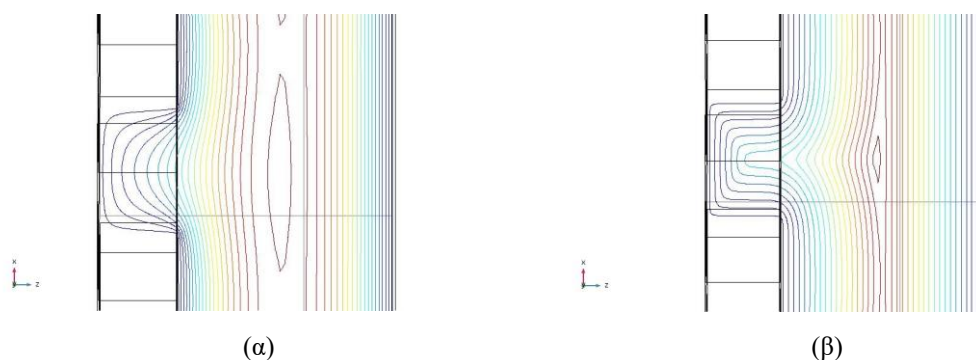


Σχήμα 3.10: Διαγράμματα ταχύτητας και απόκλισης της ταχύτητας στο σημείο τομής των γραμμών, με συντεταγμένες $(L/3, w/2, 0.000045-d)$, για διαφορετική πυκνωση του πλέγματος, όταν ο αριθμός $Re=10$. α) Γραφική απεικόνιση του σημείου. β) Προφίλ της x συνιστώσας της ταχύτητας. γ) % σχετική

διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της x συνιστώσας της ταχύτητας. δ) Προφίλ της y συνιστώσας της ταχύτητας. ε) % Σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της y συνιστώσας της ταχύτητας. στ) Προφίλ της z συνιστώσας της ταχύτητας. ζ) % σχετική διαφορά από τη λύση στο πυκνότερο πλέγμα της z συνιστώσας της ταχύτητας

3.3 Υπολογισμός της απόστασης από τα τοιχώματα του καναλιού

Η επίλυση της εξίσωσης Eikonal έγινε με τη μέθοδο εξάλειψης του ιξώδους όρου (βλ. παράγραφο 2.3.2), στην οποία η ακρίβεια της λύσης αυξάνεται όσο η παράμετρος ε τείνει στο μηδέν. Η επιλογή όμως πολύ μικρών τιμών της παραμέτρου ε οδηγεί σε μη σύγκλιση της λύσης. Επομένως, αρχικά υπολογίστηκε μία λύση με παράμετρο ε ίση με 10^{-4} , αρκετά μεγάλη για να οδηγήσει σε σύγκλιση. Έπειτα η λύση αυτή θεωρήθηκε ως αρχική εκτίμηση για ένα επόμενο υπολογισμό με μικρότερο ε . Η διαδικασία αυτή συνεχίστηκε μέχρι η παράμετρος ε πάρει την τιμή 10^{-6} , δίνοντας ικανοποιητική ακρίβεια. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μελέτη ανεξαρτησίας της λύσης από το αριθμητικό πλέγμα και βρέθηκε ότι η λύση θεωρείται ανεξάρτητη με χρήση 522 k στοιχείων.



Σχήμα 3.11: Ισοϋψείς της απόστασης σε τμήμα μία διατομή xz του καναλιού όπως υπολογίζεται από την επίλυση της εξίσωσης Eikonal για α) $\varepsilon = 10^{-4}$ και β) $\varepsilon = 10^{-6}$

Στο Σχήμα 3.11 παρουσιάζονται οι ισοϋψείς του πεδίου της λύσης της Eikonal, σε τμήμα διατομής xz της διάταξης που περιλαμβάνει ένα αυλάκι, για δύο υπολογισμούς με διαφορετικό ε (10^{-4} και 10^{-6}). Σύμφωνα με τις ισοϋψείς για μικρότερη παράμετρο ε , υπάρχει μία ομαλοποίηση η οποία παρατηρείται στις γωνίες

του αυλακιού, ενώ αυτό δε συμβαίνει για μικρότερο ε όπου η λύση είναι πιο απότομη και ακολουθεί καλύτερα τα τοιχώματα του αυλακιού.

3.4 Ποσοστό προσκολλόμενων σωματιδίων - απόδοση διαχωρισμού

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 2.3, με βάση την απόσταση από τα τοιχώματα (παράγραφος 3.3) και τις ροϊκές γραμμές, υπολογίστηκε με χρήση κώδικα στο λογισμικό Matlab το ποσοστό των σωματιδίων που θα προσκολληθούν στα τοιχώματα της διάταξης. Θεωρείται ότι αν κάποια ροϊκή γραμμή πλησιάσει εγγύτερα της ακτίνας του σωματιδίου τα τοιχώματα, το σωματίδιο θα προσκολληθεί δηλαδή ο συντελεστής (πιθανότητα) προσκόλλησης είναι 1.

Οι υπολογισμοί αυτοί έγιναν με μεταβολή μίας παραμέτρου κάθε φορά. Οι πρώτοι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν με μεταβολή του πλήθους των ροϊκών γραμμών και κατ' επέκταση του πλήθους των σωματιδίων, ξεκινώντας από ένα σχετικά μικρό πλήθος 50 ροϊκών γραμμών που αντιστοιχούν, στην περίπτωση της αρχικής γεωμετρίας και για αριθμό Re ίσο με 1, σε 236 εισερχόμενα σωματίδια, και καταλήγοντας βαθμιαία σε ένα μεγάλο πλήθος 10000 ροϊκών γραμμών που αντιστοιχούν σε 2377 k σωματίδια αντίστοιχα (παράγραφος 3.4.1). Αυτή η διαδικασία έγινε με σκοπό να την ανεξαρτησία της υπολογιστικής λύσης από το πλήθος των σωματιδίων. Σε αυτούς τους υπολογισμούς τα σωματίδια που εισέρχονται στο κανάλι έχουν ακτίνα 5 μm . Στους υπολογισμούς που ακολουθούν, το πλήθος των ροϊκών γραμμών είναι 5000 και το πλήθος των σωματιδίων είναι 1350 k. Σημειώνεται ότι τα σημεία εκκίνησης των ροϊκών γραμμών κατανέμονται ομοιόμορφα στην είσοδο της διάταξης.

Έπειτα, μελετήθηκε η επίδραση της ακτίνας των σωματιδίων και συγκεκριμένα έγιναν υπολογισμοί για σωματίδια ακτίνας 5 μm , 7.5 μm και 10 μm (παράγραφος 3.4.2). Οι παραπάνω υπολογισμοί έγιναν με σταθερό αριθμό Re ίσο με 1. Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση του πεδίου ροής κάνοντας υπολογισμούς για τρεις αριθμούς Re 0.1, 1 και 10, και ακτίνα σωματιδίου 5 μm (παράγραφος 3.4.3). Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση των διαστάσεων της γεωμετρίας μεταβάλλοντας α) μόνο το βάθος των αυλακιών (παράγραφος 3.4.4), β) μόνο το ύψος του κύριου καναλιού

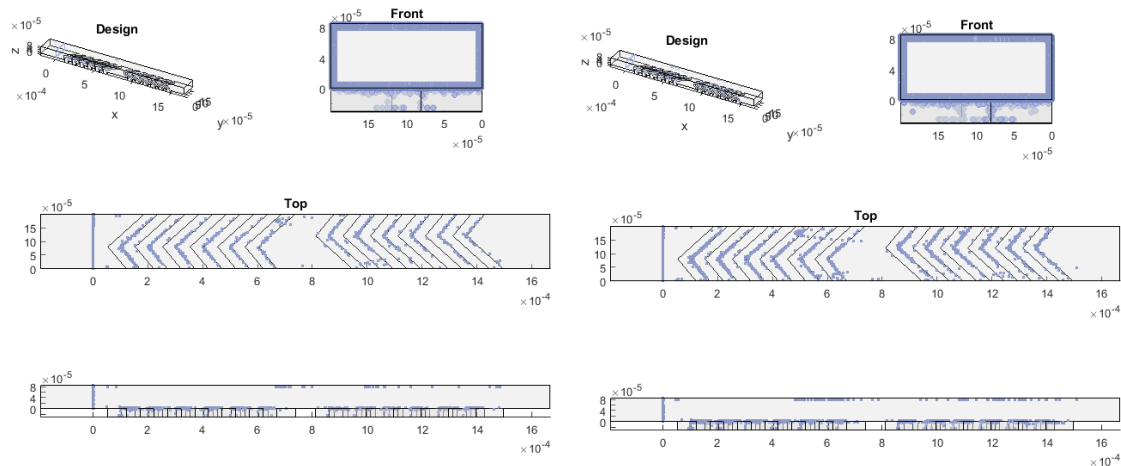
(παράγραφος 3.4.5) και (γ) ισότροπα όλες τις διαστάσεις της διάταξης (παράγραφος 3.4.6). Οι τελευταίοι υπολογισμοί έγιναν με αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm.

Στο παράρτημα Γ παρουσιάζονται τα αντίστοιχα αποτελέσματα αυτή της ενότητας, όπου το πλήθος των ροϊκών γραμμών είναι ίσο με το πλήθος των σωματιδίων.

3.4.1 *Ανεξαρτησία του ποσοστού των προσκολλημένων σωματιδίων από το πλήθος των σωματιδίων*

Πραγματοποιήθηκαν οκτώ υπολογισμοί για διαφορετικό πλήθος ροϊκών γραμμών / αριθμό σωματιδίων (50, 150, 300, 500, 1000, 2000, 5000, 10000 / 236, 1.5 k, 4.8 k, 13.5 k, 48.5 k, 215 k, 1359 k, 2377 k), με σταθερή ακτίνα σωματιδίου 5 μm και αριθμό Re ίσο με 1. Στο Σχήμα 3.12 φαίνονται τα σημεία στα τοιχώματα της διάταξης στα οποία προσκόλλησαν τα σωματίδια για τους οκτώ αυτούς διαφορετικούς υπολογισμούς, ενώ στο Σχήμα 3.13 τα ποσοστά προσκόλλησης σε όλα τα τοιχώματα της διάταξης καθώς και ξεχωριστά σε κάθε τοίχωμα (επάνω, κάτω, δεξιά πλαϊνά, αριστερά πλαϊνά και αυλάκια). Το κάτω τοίχωμα αφορά τον πυθμένα του κυρίως καναλιού ενώ τα αυλάκια βρίσκονται κάτω από το επίπεδο του πυθμένα. Από τα σχήματα αυτά φαίνεται ότι για αριθμό σωματιδίων 1359 k και πάνω τα ποσοστά προσκόλλησης δεν μεταβάλλονται πολύ και συγκεκριμένα για το σύνολο των προσκολλημένων σωματιδίων η λύση αυτή διαφέρει από την επόμενη (2377 k σωματίδια) κατά 1.4% (από 17.94% σε 17.69%). Οι υπολογισμοί που ακολουθούν (παράγραφοι 3.4.3 - 3.4.6) πραγματοποιούνται με τον συγκεκριμένο αριθμό ροϊκών γραμμών / σωματιδίων.

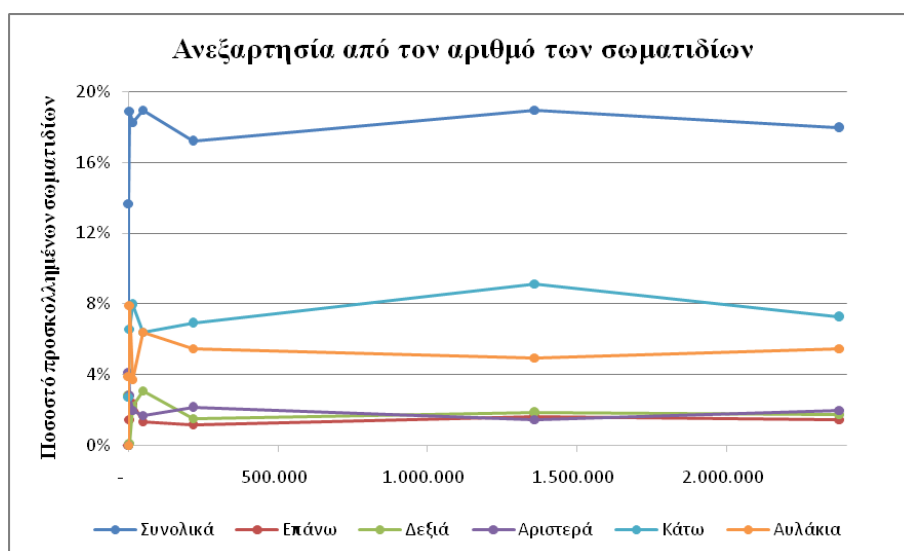
Όσον αφορά την προσκόλληση των σωματιδίων, περίπου το 17.9% των συνολικών σωματιδίων προσκολλάται στα τοιχώματα της δομικής μονάδας της διάταξης, ενώ αυξημένη προτίμηση προσκόλλησης υπάρχει στο κάτω τοίχωμα του καναλιού με ποσοστό 7.3% και μετά στα αυλάκια με ποσοστό 5.5%. Τα χαμηλότερα ποσοστά προσκόλλησης παρατηρούνται στο άνω τοίχωμα (1.5%), καθώς και στα πλαϊνά τοιχώματα (1.8 % δεξιά + 2% αριστερά = 3.8%).



(ζ)

(η)

Σχήμα 3.12: Απεικόνιση των σημείων προσκόλλησης σωματιδίων με ακτίνα 5 μm που με πλήθος ροϊκών γραμμών / σωματιδίων: α) 50 / 236 , β) 150 / 1.5 k, γ) 300 / 4.8 k, δ) 500 / 13.5 k, (ε) 1000 / 48.5 k, (στ) 2000 / 215 k, (ζ) 5000 / 1359 k και (η) 10000 / 2377 k

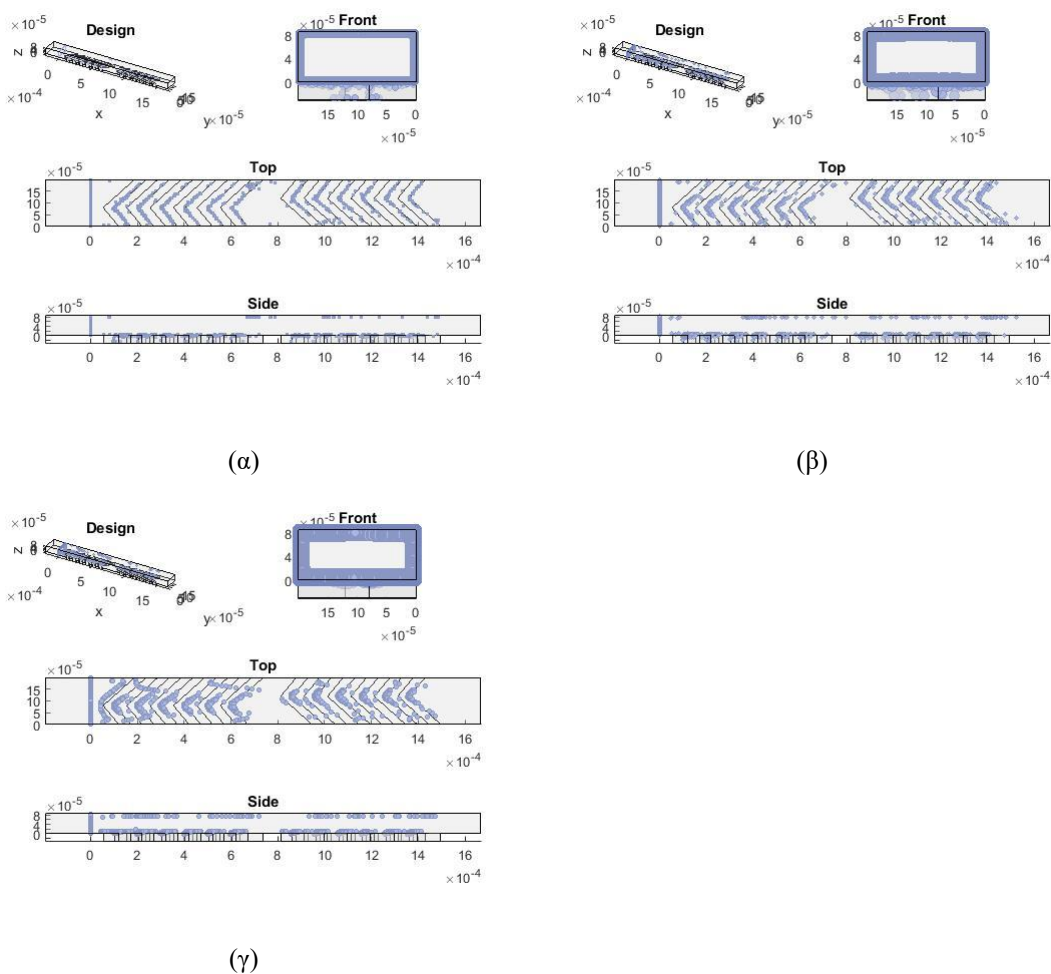


Σχήμα 3.13: Ποσοστό προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά δεξιά και αριστερά τοιχώματα και στα αυλάκια, καθώς και στο σύνολο των τοιχωμάτων της διάταξης για διαφορετικό πλήθος σωματιδίων για αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm

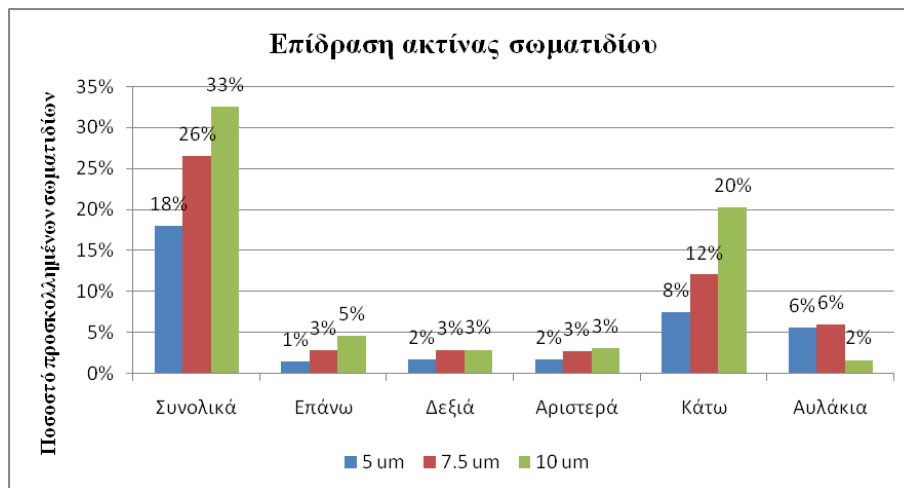
3.4.2 Επίδραση ακτίνας σωματιδίου στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων

Για την επίδραση της ακτίνας των σωματιδίου πραγματοποιήθηκαν υπολογισμοί με αριθμό Re ίσο με 1 και τρεις διαφορετικές τιμές ακτίνας, 5 μm, 7.5

μm και 10 μm. Σύμφωνα με το Σχήμα 3.14 και Σχήμα 3.15, παρατηρείται ότι η αύξηση του μήκους της ακτίνας του σωματιδίου, αυξάνει και το πλήθος των προσκολλημένων σωματιδίων στα τοιχώματα. Συγκεκριμένα, όταν η ακτίνα είναι 5 μm το συνολικό ποσοστό προσκόλλησης είναι 18%, ενώ όταν είναι 10 μm είναι 33%. Υπάρχει δηλαδή μία διαφορά της τάξης των 15 ποσοστιαίων μονάδων. Όπως και στις προηγούμενες παραγράφους, παρατηρείται προτίμηση στο κάτω τοίχωμα (8% - 20%) για όλες τις τιμές της ακτίνας. Όταν η ακτίνα είναι 5 μm και 7.5 μm τότε τα σωματίδια μετά το κάτω τοίχωμα προτιμούν να προσκολληθούν στα αυλάκια (6%), ενώ όταν η ακτίνα είναι 10 μm η αντίστοιχη προτίμηση είναι στο άνω τοίχωμα (5%).



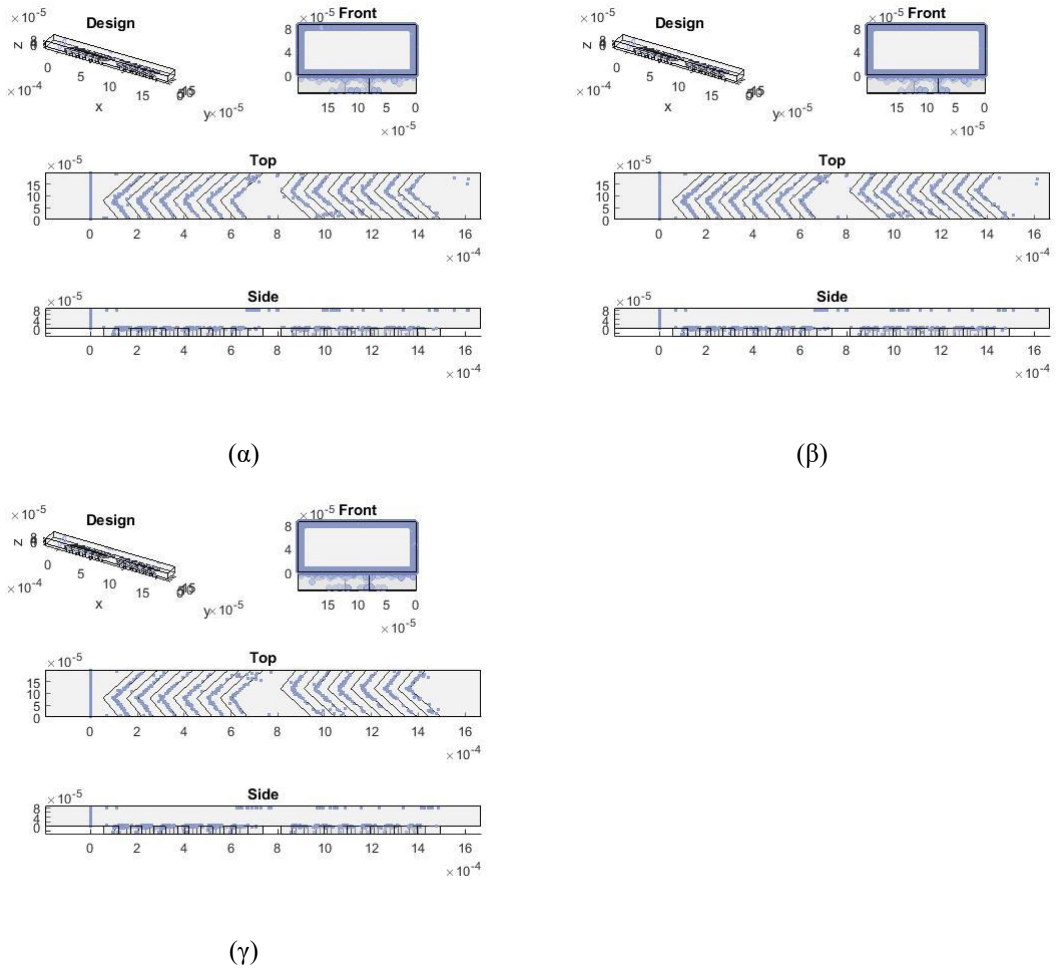
Σχήμα 3.14: Απεικόνιση σημείων προσκόλλησης σωματιδίων για ακτίνα: α) 5 μm, β) 7.5 μm και γ) 10μm



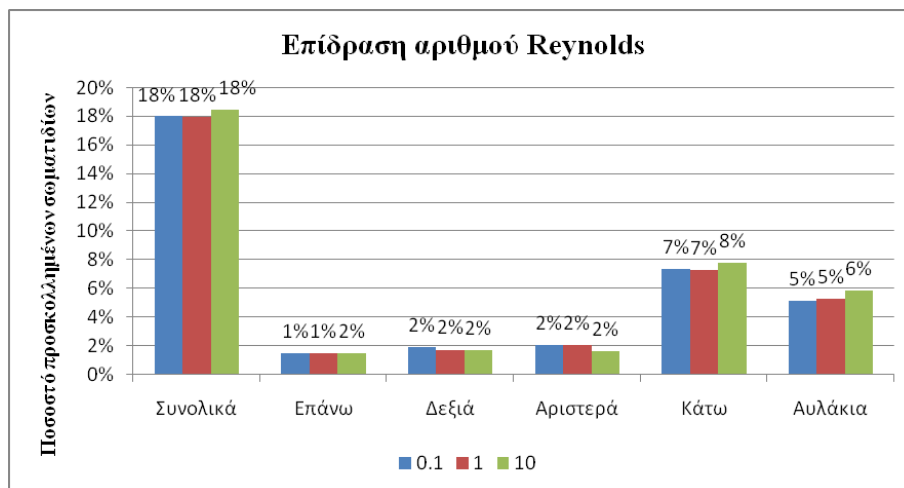
Σχήμα 3.15: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετική ακτίνα (5 μm, 7.5 μm, 10 μm) και Re ίσο με 1. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια

3.4.3 Επίδραση αριθμού Reynolds στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων

Η επίδραση του αριθμού Re μελετάται για τρεις αριθμούς Re ίσους με 0.1, 1 και 10 και θεωρώντας ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm. Σύμφωνα με το Σχήμα 3.16 και Σχήμα 3.17, δεν παρατηρείται μεταβολή στο ποσοστό του πλήθους των σωματιδίων που προσκολλώνται στα τοιχώματα για τις διάφορες τιμές του αριθμού Re. Συγκεκριμένα, για Reynolds 0.1, 1 και 10 το ποσοστό προσκόλλησης είναι 18%. Όπως και στην παράγραφο 3.4.2, παρατηρείται προτίμηση προσκόλλησης στο κάτω τοίχωμα (7% - 8%) και στα αυλάκια (5% - 6%) ενώ στα πλαϊνά τοιχώματα και στο άνω τοίχωμα παρατηρούνται τα χαμηλότερα ποσοστά (1% και 4%).



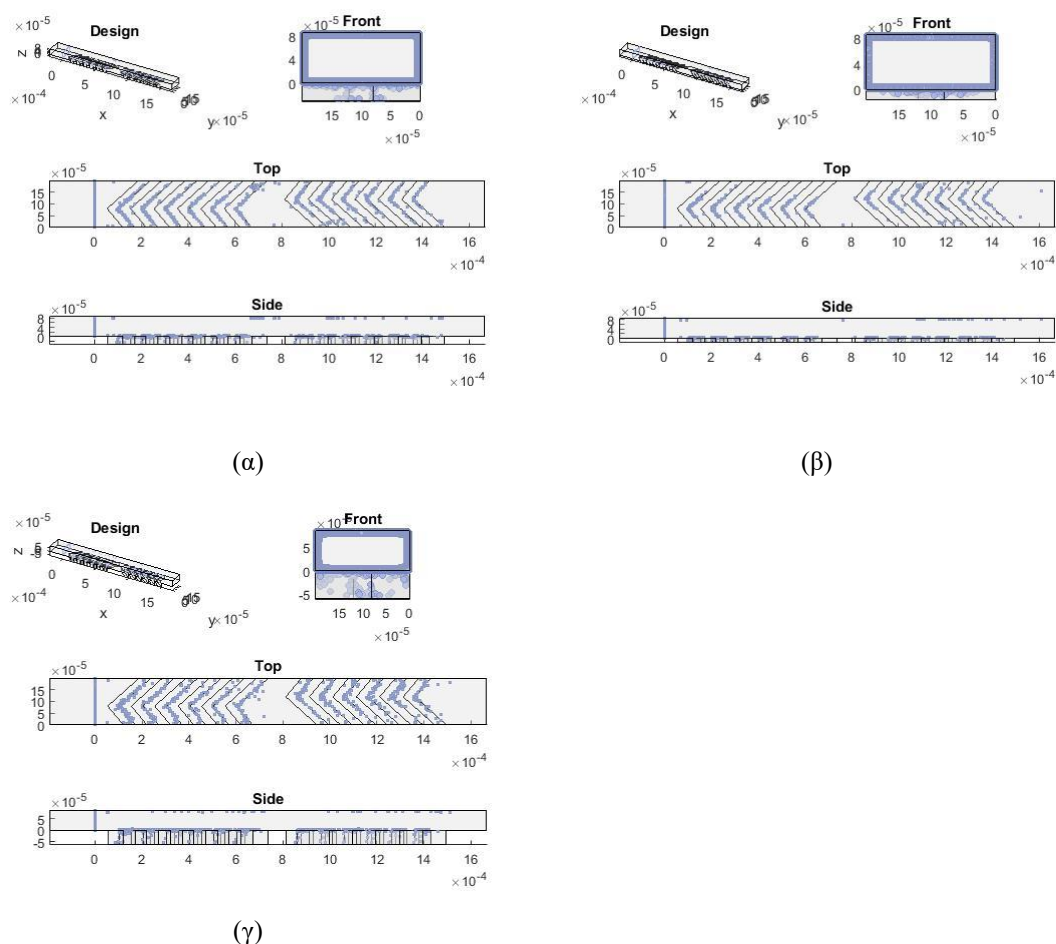
Σχήμα 3.16: Απεικόνιση σημείων προσκόλλησης σωματιδίων ακτίνας 5 μm, για αριθμούς Re α) 0.1, β) 1 και γ) 10.



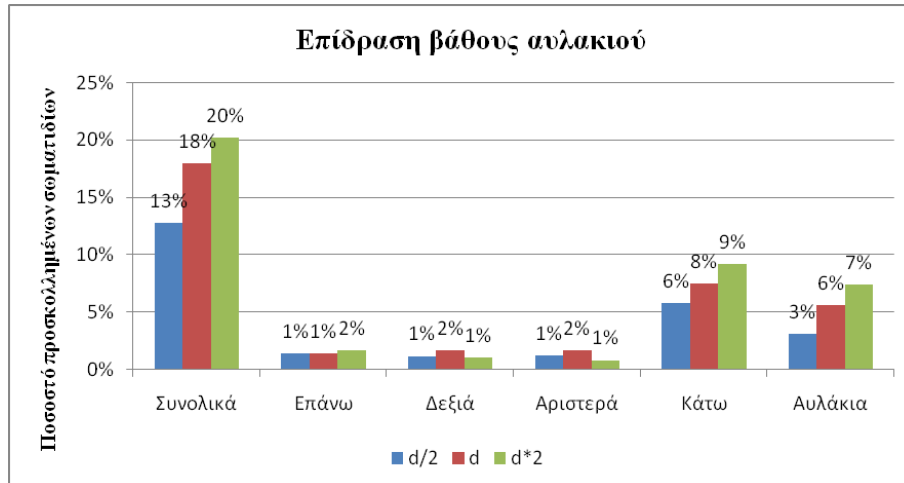
Σχήμα 3.17: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό αριθμό Re (0.1, 1, 10) και ακτίνα 5 μm. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια.

3.4.4 Επίδραση βάθους αυλακιού στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων

Στην παράγραφο αυτή μελετάται η επίδραση του βάθους των αυλακιών στο ποσοστό προσκόλλησης των σωματιδίων. Οι υπολογισμοί έγιναν με αριθμό Re ίσο με 1, ακτίνα σωματιδίων 5 μm και για τρία διαφορετικά βάθη αυλακιών (αρχικό βάθος d , μισό βάθος $d/2$, διπλάσιο βάθος $2d$). Σύμφωνα με το Σχήμα 3.18 και Σχήμα 3.19, όσο αυξάνεται το βάθος των αυλακιών, τόσο αυξάνεται και το ποσοστό του πλήθους των προσκολλημένων σωματιδίων. Ειδικότερα, όταν το βάθος είναι στην αρχική του τιμή ή ελαττωθεί στο μισό, το ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων είναι 13% και 18% αντίστοιχα ενώ όταν διπλασιαστεί το βάθος, τότε το ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων αυξάνεται κατά 2 ποσοστιαίες μονάδες σε σχέση με το αρχικό βάθος, δηλαδή 20%. Οι προτιμήσεις προσκόλλησης ως προς τα τοιχώματα είναι παρόμοιες με τις προηγούμενες παραγράφους, δηλαδή υπάρχει προτίμηση προσκόλλησης στο κάτω τοίχωμα (6% - 9%) καθώς και στα αυλάκια (3% - 7%).



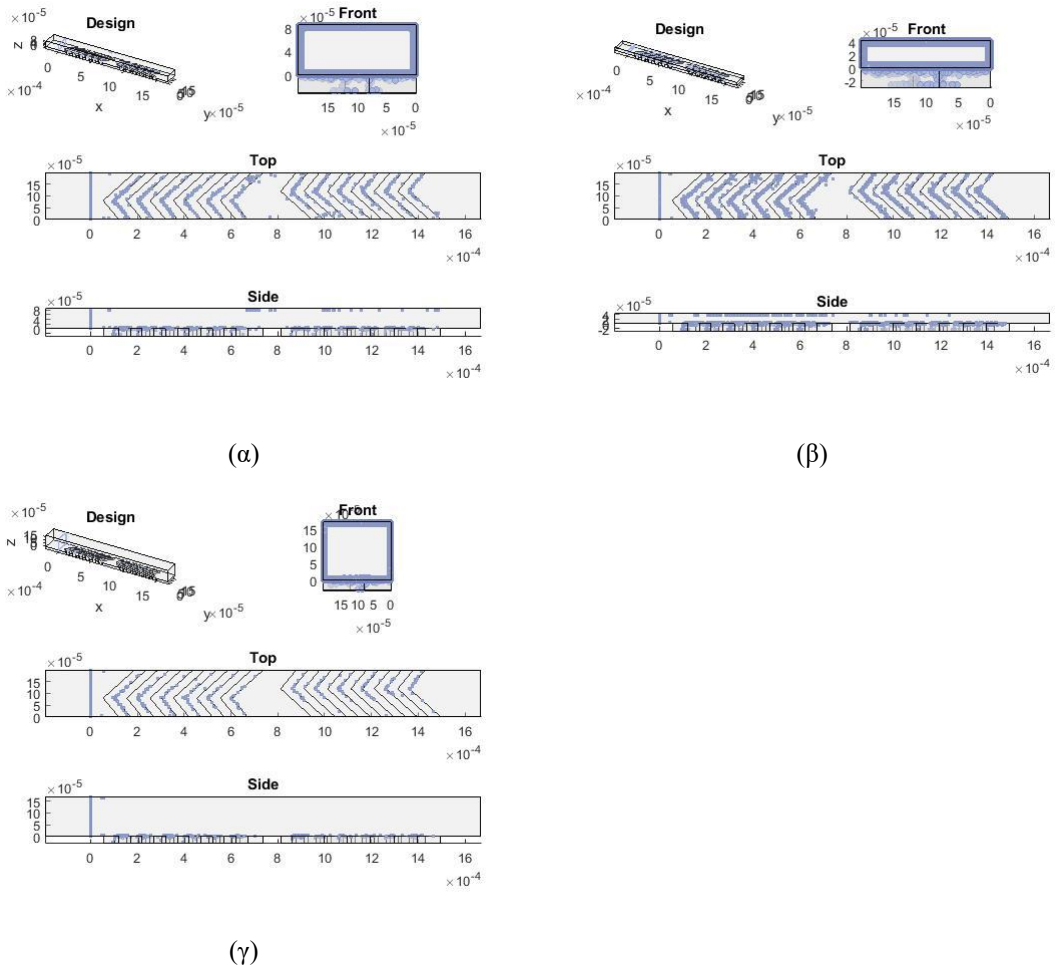
Σχήμα 3.18: Απεικόνιση σημείων προσκόλλησης σωματιδίων ακτίνας 5 μm , με αριθμού Re ίσο με 1 και βάθος αυλακιού: (α) αρχικό βάθος, (β) μισό του αρχικού και (γ) διπλάσιο του αρχικού. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια.



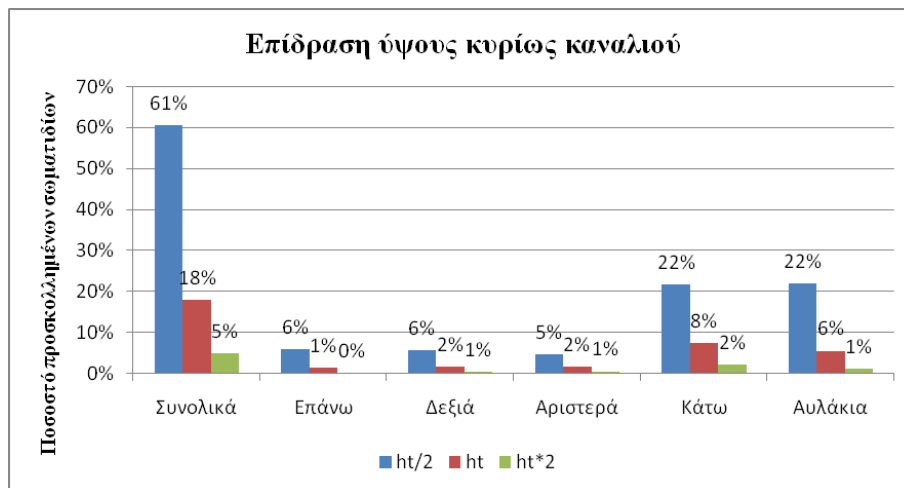
Σχήμα 3.19: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό βάθος αυλακιού (d , $d/2$, $2d$, όπου d το βάθος του αυλακιού της βασικής περίπτωσης), Reynolds 1 και ακτίνα 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια.

3.4.5 Επίδραση ύψους κύριου καναλιού στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων

Για να μελετηθεί η επίδραση του ύψους του κυρίως καναλιού έγιναν υπολογισμοί με αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm για ύψος καναλιού μισό του αρχικού και διπλάσιο του αρχικού (μισό ύψος $ht/2$, διπλάσιο ύψος $2ht$, όπου ht το αρχικό ύψος) και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα αυτά του αρχικού ύψους. Σύμφωνα με το Σχήμα 3.20 και Σχήμα 3.21, παρατηρείται αύξηση στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων όσο μειώνεται το ύψος. Ειδικότερα, ενώ στο αρχικό ύψος το ποσοστό προσκόλλησης είναι 18%, όταν υποδιπλασιαστεί το ύψος, το ποσοστό προσκόλλησης σχεδόν τριπλασιάζεται, είναι δηλαδή 61%. Από την άλλη πλευρά ο διπλασιασμός του ύψους του κυρίως καναλιού οδηγεί σε μείωση 72% του ποσοστού προσκόλλησης (από 18% σε 5%) Ακόμα, παρατηρείται προτίμηση προσκόλλησης στα αυλάκια (22%) και κάτω (22%) τοίχωμα του καναλιού όσο μειώνεται το ύψος.



Σχήμα 3.20: Απεικόνιση σημείων σωματιδίων ακτίνας 5 μm, για αριθμό Re ίσο με 1 και ύψος καναλιού: (α) αρχικό ύψος, (β) μισό ύψος του αρχικού και (γ) διπλάσιο ύψος του αρχικού

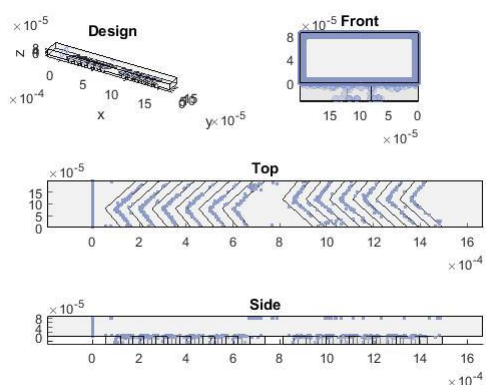


Σχήμα 3.21: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό ύψους καναλιού (h , $h/2$, $2h$, όπου h το ύψος του καναλιού). Ο αριθμός Re είναι ίσος με 1 και η ακτίνα είναι 5 μm. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια.

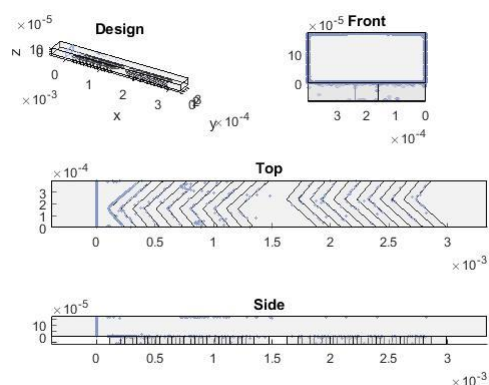
3.4.6 Επίδραση ισότροπης αλλαγής διαστάσεων στο ποσοστό των προσκολλημένων σωματιδίων

Η επίδραση της αλλαγής των διαστάσεων της γεωμετρίας της βασικής περίπτωσης (Σχήμα 3.1) ισότροπα είναι πολύ σημαντική όσον αφορά την κατασκευή μίας τέτοιας διάταξης. Μία τεχνολογία κατασκευής μπορεί να έχει ελάχιστο περιορισμό ως προς τις διαστάσεις, να μην μπορεί για παράδειγμα να φτιάξει αυλάκια κάτω από 50 μm ή πλάτος κύριου καναλιού κάτω από 500 μm . Επομένως, η μελέτη αυτή θέλει να απαντήσει στο ερώτημα εάν το βασικό σχέδιο της διάταξης (Σχήμα 3.1) ικανοποιεί μία συγκεκριμένη εφαρμογή, η ισότροπη αύξηση των διαστάσεων της θα δώσει επίσης ικανοποιητικά αποτελέσματα.

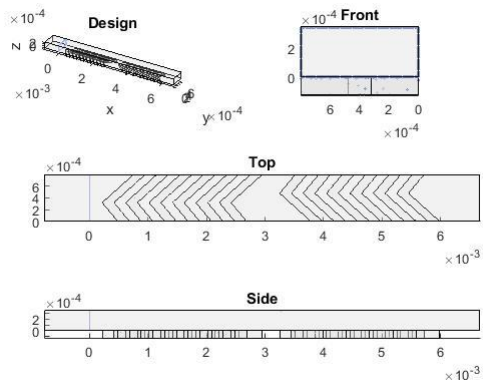
Μελετήθηκαν δύο ισότροπες αλλαγές διαστάσεων, η μία διπλασίασε τις αρχικές διαστάσεις της διάταξης και η άλλη τις τετραπλασίασε. Οι υπολογισμοί έγιναν για αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm . Σύμφωνα με το Σχήμα 3.22 και Σχήμα 3.23, παρατηρείται ότι η αύξηση των διαστάσεων οδηγεί σε ραγδαία μείωση του ποσοστού των προσκολλημένων σωματιδίων. Συγκεκριμένα, στις αρχικές διαστάσεις το ποσοστό προσκόλλησης είναι 18%, στις διπλάσιες διαστάσεις είναι 6% και στις τετραπλάσιες διαστάσεις είναι μόλις 2%. Επίσης, όσο αυξάνονται οι διαστάσεις ισότροπα, δεν παρατηρείται αλλαγή στην προτίμηση προσκόλλησης σε κάποιο τοίχωμα.



(a)

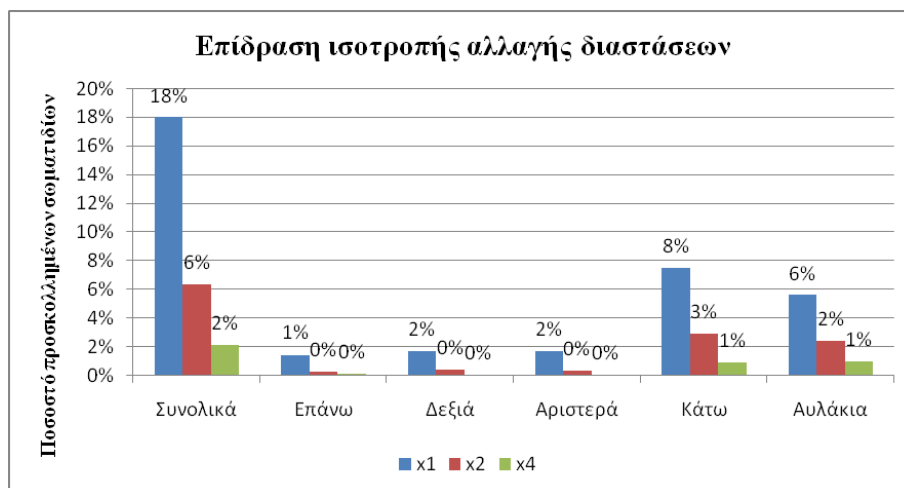


(β)



(γ)

Σχήμα 3.22: Απεικόνιση σημείων σωματιδίων ακτίνας 5 μm, για αριθμό Re ίσο με 1 και ισότροπη αλλαγή αναλογιών στις διαστάσεις της διάταξης: α) αρχικές διαστάσεις, β) διπλασιασμός, γ) τετραπλασιασμός

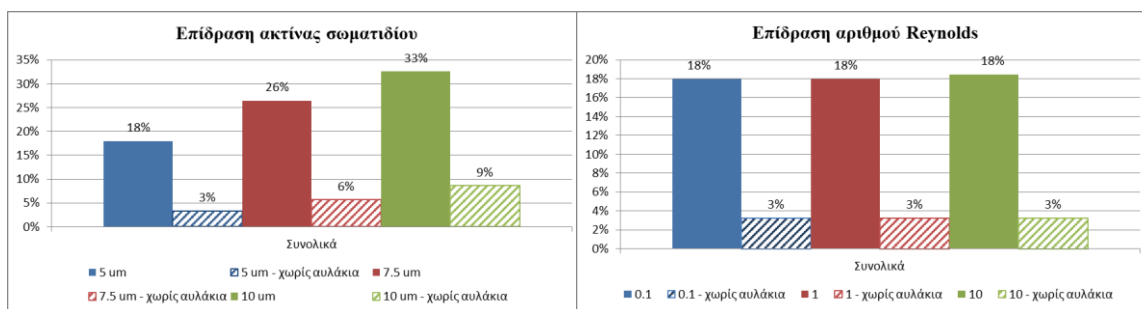


Σχήμα 3.23: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικές αναλογίες καναλιού (x1, x2, x4), αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα ίση με 5 μm. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια.

3.4.7 Σύγκριση με διάταξη χωρίς ανάγλυφο πυθμένα

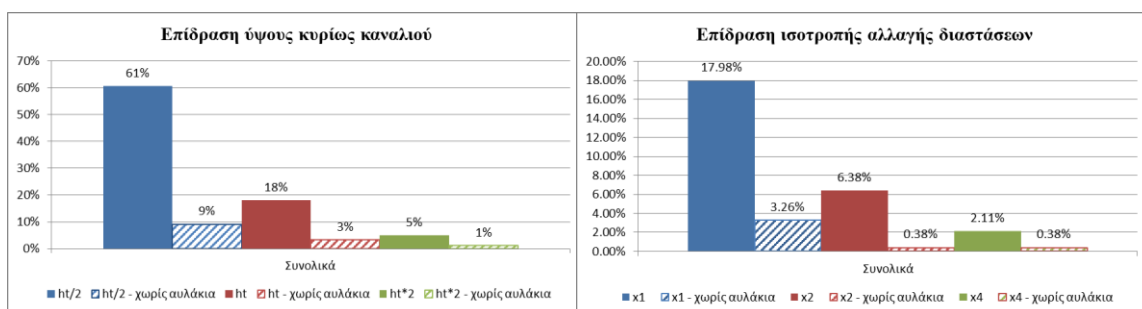
Τέλος, πραγματοποιήθηκε σύγκριση, ως προς την απόδοση διαχωρισμού, της διάταξης που μελετάται, με μία αντίστοιχη διάταξη η οποία δεν έχει ανάγλυφο πυθμένα. Η σύγκριση έγινε πρώτα με βάση τη μεταβολή του μήκους της ακτίνας των σωματιδίων (5 μm, 7.5 μm και 10 μm). Έπειτα εξετάστηκε με βάση τη μεταβολή του αριθμού Reynolds (0.1, 1, 10). Ακόμα, μελετήθηκε η επίδραση του ύψους του κυρίως καναλιού καθώς και η ισότροπη αύξηση των διαστάσεων. Σύμφωνα και με το Σχήμα 3.24, παρατηρείται ότι η διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα, οδηγεί

σε αύξηση της απόδοσης του διαχωρισμού 4 με 6 φορές σε σύγκριση με τη διάταξη χωρίς ανάγλυφο στον πυθμένα.



(α)

(β)



(γ)

(δ)

Σχήμα 3.24: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλώμενων σωματιδίων στα τοιχώματα σε διάταξη με ανάγλυφο πυθμένα τύπου ψαροκόκκαλο (συμπαγείς ράβδοι) και σε διάταξη χωρίς αυλάκια (ράβδοι με μοτίβο) (α) για διαφορετικό μήκος ακτίνας σωματιδίων (5 μm, 7.5 μm, 10 μm) και αριθμό Reynolds 1, (β) διαφορετικό αριθμό Reynolds (0.1, 1, 10) και ακτίνα σωματιδίων μήκους 5 μm, (γ) διαφορετικό ύψος κυρίως καναλιού (h_t , $h_t/2$, $2h_t$, όπου h_t το ύψος του καναλιού), αριθμό Reynolds 1 και ακτίνα σωματιδίων μήκους 5 μm και (δ) ισότροπη αύξηση των διαστάσεων και αριθμό Reynolds 1 και ακτίνα σωματιδίων μήκους 5 μm. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 5000/1349k ροϊκές γραμμές/σωματίδια.

4

Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε το πρόβλημα του διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων μέσω ανοσοχημικής μεθόδου σε μικρορευστονική διάταξη με κανάλι με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με την αριθμητική επίλυση της εξίσωσης συνέχειας και των εξισώσεων Navier-Stokes. Τα κύτταρα προσεγγίστηκαν ως σωματίδια που κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές του πεδίου ροής. Τα κύτταρα θεωρήθηκε ότι προσκολλώνται στα τοιχώματα του καναλιού όταν έρχονται σε επαφή με αυτά. Ο στόχος της μελέτης ήταν ο υπολογισμός της απόδοσης διαχωρισμού καθώς και η διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων γεωμετρικών και λειτουργικών παραμέτρων στην απόδοση.

Τα συμπεράσματα των υπολογισμών συνοψίζονται παρακάτω:

α) Η αύξηση του μεγέθους (ακτίνας) των σωματιδίων οδηγεί στην αύξηση του πλήθους των σωματιδίων που προσκολλώνται στα τοιχώματα. Εφόσον οι αποστάσεις των ροϊκών γραμμών από τα τοιχώματα δε μεταβάλλονται, όσο αυξάνεται το μήκος της ακτίνας του σωματιδίου, τόσο η απόσταση του σωματιδίου θα ελαττώνεται από τα τοιχώματα.

β) Η μείωση του ύψους του κύριου καναλιού επιφέρει αύξηση του πλήθους των προσκολλημένων σωματιδίων στα τοιχώματα.

γ) Το ίδιο αποτέλεσμα επιφέρει και η αύξηση του βάθους των αυλακιών του ανάγλυφου ψαροκόκαλου στον πυθμένα της διάταξης: Όσο πιο μεγάλο είναι το βάθος του αυλακιού τόσο πιο αποδοτική είναι η διάταξη διαχωρισμού σπάνιων κυττάρων.

δ) Η ισοτροπική αύξηση των διαστάσεων του καναλιού οδηγεί σε μείωση των προσκολλημένων σωματιδίων στα τοιχώματα.

ε) Η επίδραση του αριθμού Re στην απόδοση διαχωρισμού είναι αμελητέα για εύρος τιμών από 0.1 έως και 10.

στ) Τέλος, συγκριτικά με μία αντίστοιχη διάταξη η οποία δεν έχει ανάγλυφο πυθμένα, η διάταξη με ανάγλυφο ψαροκόκαλου στον πυθμένα, οδηγεί σε αύξηση της απόδοσης του διαχωρισμού 4 με 6 φορές.

Το θέμα που πραγματεύεται η παρούσα εργασία ενδιαφέρει ένα μεγάλο μέρος επιστημών που δραστηριοποιούνται σε διάφορα επιστημονικά πεδία όπως στη βιοτεχνολογία, στην ασφάλεια τροφίμων, στη διαγνωστική ιατρική και στην περιβαλλοντική παρακολούθηση. Για το λόγο αυτό θεωρείται σκόπιμο η παρουσίαση κάποιων προτάσεων για μελλοντικές ερευνητικές εργασίες.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αλληλεπίδραση των κυττάρων με τα τοιχώματα της διάταξης και πως αυτή επηρεάζεται με την αλλαγή των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της διάταξης, των συνθηκών της ροής καθώς και της ακτίνας του προς διαχωρισμού κυττάρου. Με αυτή τη λογική έγινε η θεώρηση ότι τα κύτταρα προσκολλώνται όταν ακουμπήσουν κάποιο τοίχωμα της διάταξης. Όμως στη διαδικασία της προσκόλλησης σημαντικό ρόλο παίζουν οι τοπικές διατμητικές τάσεις που αναπτύσσονται κοντά στα τοιχώματα εξαιτίας της συνθήκης μη ολίσθησης. Επομένως, θα ήταν εξαιρετικά ενδιαφέρον εάν η μελέτη συμπεριλάμβανε και την επίδραση των τοπικών διατμητικών τάσεων στη διαδικασία της προσκόλλησης των κυττάρων στα τοιχώματα της διάταξης.

Μία άλλη θεώρηση της παρούσας εργασίας είναι ότι τα κύτταρα κινούνται πάνω στις ροϊκές γραμμές και η πιθανότητα να μετακινηθούν σε γειτονική ροϊκή γραμμή είναι αμελητέα. Μία πιο ρεαλιστική προσέγγιση και αρκετά ενδιαφέρουσα θα ήταν η θεώρηση της τυχαία μετακίνηση των σωματιδίων από μία ροϊκή γραμμή σε άλλη.

Τέλος, ένα φαινόμενο το οποίο δεν λήφθηκε υπόψιν στην παρούσα εργασία και γενικά δεν έχει μελετηθεί τουλάχιστον σε υπολογιστικό επίπεδο στη βιβλιογραφία είναι η αλληλεπίδραση των κυττάρων μεταξύ τους. Η μελέτη αυτού του φαινομένου εμπεριέχει αρκετές υπολογιστικές προκλήσεις αλλά είναι αρκετά ενδιαφέρουσα.

5

Βιβλιογραφία

1. Moschou, D. and A. Tserepi, *The lab-on-PCB approach: tackling the μ TAS commercial upscaling bottleneck*. Lab on a Chip, 2017. **17**(8): p. 1388-1405.
2. Kaprou, G.D., et al., *Miniaturized devices for isothermal DNA amplification addressing DNA diagnostics*. Microsystem Technologies, 2016. **22**(7): p. 1529-1534.
3. Abgrall, P. and A.M. Gué, *Lab-on-chip technologies: Making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem - A review*. Journal of Micromechanics and Microengineering, 2007. **17**(5): p. R15-R49.
4. Nguyen, N.T. and Z. Wu, *Micromixers - A review*. Journal of Micromechanics and Microengineering, 2005. **15**(2): p. R1-R16.
5. Ahmad, F. and S.A. Hashsham, *Miniaturized nucleic acid amplification systems for rapid and point-of-care diagnostics: A review*. Analytica Chimica Acta, 2012. **733**: p. 1-15.
6. Moschou, D., et al. *Integrated biochip for PCR-based DNA amplification and detection on capacitive biosensors*. in *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE*. 2013.
7. Gao, J., et al., *Integrated microfluidic system enabling protein digestion, peptide separation, and protein identification*. Analytical Chemistry, 2001. **73**(11): p. 2648-2655.
8. Saliba, A.E., et al., *Microfluidic sorting and multimodal typing of cancer cells in self-assembled magnetic arrays*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010. **107**(33): p. 14524-14529.
9. Wyatt Shields Iv, C., C.D. Reyes, and G.P. López, *Microfluidic cell sorting: A review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation*. Lab on a Chip, 2015. **15**(5): p. 1230-1249.
10. Sollier, E., et al., *Size-selective collection of circulating tumor cells using Vortex technology*. Lab on a Chip, 2014. **14**(1): p. 63-77.
11. Conde, J.P., et al., *Lab-on-chip systems for integrated bioanalyses*. Essays in Biochemistry, 2016. **60**(1): p. 121-131.
12. Chen, Y., et al., *Rare cell isolation and analysis in microfluidics*. Lab on a Chip, 2014. **14**(4): p. 626-645.
13. McFaul, S.M., B.K. Lin, and H. Ma, *Cell separation based on size and deformability using microfluidic funnel ratchets*. Lab on a Chip, 2012. **12**(13): p. 2369-2376.
14. Zheng, S., et al., *3D microfilter device for viable circulating tumor cell (CTC) enrichment from blood*. Biomedical Microdevices, 2011. **13**(1): p. 203-213.
15. Louterback, K., et al., *Deterministic separation of cancer cells from blood at 10 mL/min*. AIP Advances, 2012. **2**(4).
16. Davis, J.A., et al., *Deterministic hydrodynamics: Taking blood apart*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006. **103**(40): p. 14779-14784.
17. Hou, H.W., et al., *Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces*. Scientific Reports, 2013. **3**.
18. Chen, W., et al., *Nanoroughened surfaces for efficient capture of circulating tumor cells without using capture antibodies*. ACS Nano, 2013. **7**(1): p. 566-575.
19. Shim, S., et al., *Antibody-independent isolation of circulating tumor cells by continuous-flow dielectrophoresis*. Biomicrofluidics, 2013. **7**(1).

20. Moon, H.S., et al., *Continuous separation of breast cancer cells from blood samples using multi-orifice flow fractionation (MOFF) and dielectrophoresis (DEP)*. Lab on a Chip, 2011. **11**(6): p. 1118-1125.
21. Huang, S.B., et al., *High-purity and label-free isolation of circulating tumor cells (CTCs) in a microfluidic platform by using optically-induced-dielectrophoretic (ODEP) force*. Lab on a Chip, 2013. **13**(7): p. 1371-1383.
22. Xia, N., et al., *Combined microfluidic-micromagnetic separation of living cells in continuous flow*. Biomedical Microdevices, 2006. **8**(4): p. 299-308.
23. Earhart, C.M., et al., *Isolation and mutational analysis of circulating tumor cells from lung cancer patients with magnetic sifters and biochips*. Lab on a Chip, 2014. **14**(1): p. 78-88.
24. Nagrath, S., et al., *Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology*. Nature, 2007. **450**(7173): p. 1235-1239.
25. Yoon, H.J., et al., *Sensitive capture of circulating tumour cells by functionalized graphene oxide nanosheets*. Nature Nanotechnology, 2013. **8**(10): p. 735-741.
26. Mittal, S., et al., *Antibody-functionalized fluid-permeable surfaces for rolling cell capture at high flow rates*. Biophysical Journal, 2012. **102**(4): p. 721-730.
27. Zhao, W., et al., *Bioinspired multivalent DNA network for capture and release of cells*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012. **109**(48): p. 19626-19631.
28. Sheng, W., et al., *Capture, release and culture of circulating tumor cells from pancreatic cancer patients using an enhanced mixing chip*. Lab on a Chip, 2014. **14**(1): p. 89-98.
29. Stott, S.L., et al., *Isolation of circulating tumor cells using a microvortex-generating herringbone-chip*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010. **107**(43): p. 18392-18397.
30. Stroock, A.D., et al., *Chaotic mixer for microchannels*. Science, 2002. **295**(5555): p. 647-651.
31. Kee, S.P. and A. Gavriilidis, *Design and characterisation of the staggered herringbone mixer*. Chemical Engineering Journal, 2008. **142**(1): p. 109-121.
32. Jiang, F., et al., *Helical flows and chaotic mixing in curved micro channels*. AIChE Journal, 2004. **50**(9): p. 2297-2305.
33. *Comsol Multiphysics Reference manual*. 2017.
34. Kerho, M.F. and M.B. Bragg, *Neutrally buoyant bubbles used as flow tracers in air*. Experiments in Fluids, 1994. **16**(6): p. 393-400.
35. Kersaudy-Kerhoas, M. and E. Sollier, *Micro-scale blood plasma separation: From acoustophoresis to egg-beaters*. Lab on a Chip, 2013. **13**(17): p. 3323-3346.
36. Κόκκορης, Γ.Π., *Ολοκληρωμένη προσομοίωση εξέλιξης τοπογραφίας κατά την εγχάραξη μικρο- και νάνο-δομών με πλάσμα*. 2005.
37. COMSOL, *COMSOL Multiphysics Reference Manual 5.3*. 1998–2017
38. Richardson, J.M.C.a.J.F., *Particle Technology and Separation Processes*. Chemical Engineering 2002. **Volume 2**(Butterworth-Heinemann).
39. Stokes, G.G., *On the effect of the internal friction of fluids on the motion of pendulums*. Trans. Camb. Phil. Soc., 1845. **8**: p. 287-305.
40. Zydney, M.K.a.A.L., *Effect of Electrostatic, Hydrodynamic, and Brownian Forces on Particle Trajectories and Sieving in Normal Flow Filtration*. J. Colloid and Interface Science, 2004. **269**: p. 425–431.
41. Cantu-Perez, A., S. Barrass, and A. Gavriilidis, *Hydrodynamics and reaction studies in a layered herringbone channel*. Chemical Engineering Journal, 2011. **167**(2-3): p. 657-665.
42. Schieborn, D., *Viscosity Solutions of Hamilton-Jacobi Equations of Eikonal Type on Ramified Spaces*. 2006.
43. Sethian, J.A., *Leel Set Methods and Fast Marching Methods*. 1999.
44. Inc., C. <https://www.comsol.com/>.

45. Mathworks. <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>.
46. Wang, M., et al., *A microfluidic chip with double-sided herringbone microstructures for enhanced capture of rare tumor cells*. Journal of Materials Chemistry B, 2017. **5**(46): p. 9114-9120.
47. Wang, S., et al., *Geometry design of herringbone structures for cancer cell capture in a microfluidic device*. Microfluidics and Nanofluidics, 2016. **20**(11).
48. Wang, H., et al., *Numerical investigation of mixing in microchannels with patterned grooves*. Journal Of Micromechanics And Microengineering, 2003. **13**(6): p. 801-808.
49. Aubin, J., D.F. Fletcher, and C. Xuereb, *Design of micromixers using CFD modelling*. Chemical Engineering Science, 2005. **60**(8-9 SPEC. ISS.): p. 2503-2516.
50. Furuichi, Y., K. Iwasaki, and K. Hori, *Cell behavior of the highly sticky bacterium Acinetobacter sp. Tol 5 during adhesion in laminar flows*. Scientific Reports, 2018. **8**(1).
51. Abraham D. Stroock, S.K.W.D., Armand Ajdari, Igor Mezic, Howard A. Stone, George M. Whitesides, *Chaotic Mixer for Microchannels*. Chaotic Mixer for Microchannels, 2002.
52. Sheng, W., et al., *Aptamer-enabled efficient isolation of cancer cells from whole blood using a microfluidic device*. Analytical Chemistry, 2012. **84**(9): p. 4199-4206.
53. Wang, S., et al., *Highly efficient capture of circulating tumor cells by using nanostructured silicon substrates with integrated chaotic micromixers*. Angewandte Chemie - International Edition, 2011. **50**(13): p. 3084-3088.
54. Gleghorn, J.P., et al., *Capture of circulating tumor cells from whole blood of prostate cancer patients using geometrically enhanced differential immunocapture (GEDI) and a prostate-specific antibody*. Lab on a Chip, 2010. **10**(1): p. 27-29.
55. Bianchi, E., et al., *Herringbone-like hydrodynamic structures in microchannels: A CFD model to evaluate the enhancement of surface binding*. Medical Engineering and Physics, 2017. **48**: p. 62-67.
56. Forbes, T.P. and J.G. Kralj, *Engineering and analysis of surface interactions in a microfluidic herringbone micromixer*. Lab on a Chip, 2012. **12**(15): p. 2634-2637.
57. Παπαϊωάννου, Α.Θ., *Μηχανική των Ρευστών*. Β' Έκδοση ed. Vol. Τόμος Ι. 2002: ΚΟΡΑΛΙ.

Παράρτημα Α

Πίνακας Α.1: Βιβλιογραφική ανασκόπηση διατάξεων διαχωρισμού με επισήμανση

Αναφορά	Εφαρμογή	Δείγμα	Διάταξη	Υλικά υποστρώματος	Τρόπος Επισήμανσης	Απόδοση	Επιλεκτικότητα	Καθαρότητα	Βιωσιμότητα	Ογκομετρική παροχή (mL/h)	Χρόνος Διαχωρισμού
Nagrath [24]	CTCs (πνεύμονες, πάγκρεας, στήθος, κόλον, προστάτης)	Phosphate Buffered Saline (PBS), Αίμα	78,000 μικρο-κολόνες συνολικού εμβαδού 970mm ² , ύψους 100μm, διαμέτρου 100μm και απόστασης 50μm. Διαστάσεις διάταξης: 25mm x 66mm.	Πυρίτιο	Επικάλυψη με αντίσωμα EpCam	99%	> 47%	Πνεύμονες: 52% Μεταστατικός προστάτης: 49% Προστάτης: 53% Πάγκρεας: 53% Στήθος: 60% Κόλον: 67%	98.3%	1–2	

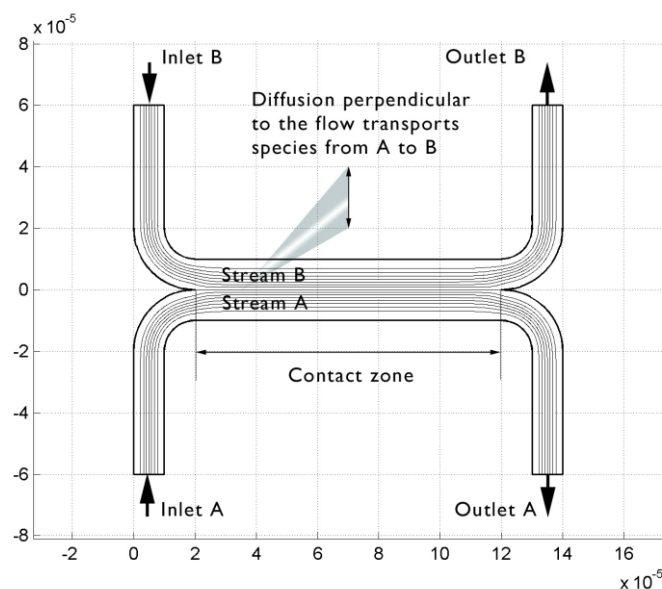
Yoon [25]	CTCs (πνεύμονες, πάγκρεας, στήθος)	Αίμα	Τροποποιημένα νανο-φύλλα οξειδίου του γραφενίου σε επιφάνεια χρυσού με μοτίβο 58,957 λουλουδιών διαστάσεων 100 μm x 100 μm και απόστασης 150 μm. Διαστάσεις διάταξης: 24.5 mm x 60 mm x 3 mm.	Πυρίτιο, PDMS, οξειδίου του γραφενίου	NeutrAvidin, EpCAM	82.30%					1–3
Mittal [26]	Λευκοκύτταρα	Αίμα	Πολυανθρακική μεμβράνη με πόρους 200 nm, διαπερατότητας 10% και πάχους 10 μm, ανάμεσα σε στρώματα πολυμερούς με ανεξάρτητη είσοδο και έξοδο που συνδέονται με ένα ορθογώνιο κανάλι διαστάσεων: 100 μm ή 250 μm ύψος, 2 mm πλάτος και 4 cm μήκος.	Πολυανθρακική μεμβράνη, PDMS	anti-EpCAM ή anti-IgG	70%					6
Zhao [27]	CTCs (Λευχαιμία, πνεύμονες, κόλον)	Αίμα	Κανάλι με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλο. Διαστάσεις ενός κύκλου: 800 μm πλάτος, 45 μm ύψος, 40 μm βάθος αυλακίων. Συνολικό μήκος καναλιού 38 mm.	PDMS	RCA-aptamer binds to protein tyrosine kinase-7 (PTK7)	80%	38%	87% ± 4%	0.06		100 κύτταρα /2 min
Sheng [28]	CTCs (πάγκρεας)	PBS, Αίμα	Κανάλι με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλο. Η διάταξη αποτελείται από ένα πλατύ και ένα στενό κανάλι. Ύψος καναλιού 50μm, βάθος αυλακίου 50μm. Στο πλατύ κανάλι: απόσταση μεταξύ των αυλακίων 120 μm, πλάτος αυλακίου 80μm. Στο στενό κανάλι: απόσταση μεταξύ των αυλακίων 50μm, πλάτος αυλακίου 50μm.	PDMS	anti-EpCAM						18
Sheng [52]	CTCs (λευχαιμία, λυμφώματα, κόλον)	Αίμα	8 παράλληλα κανάλια με 59,000 ιστροπικά ελλειπτικές μικρο-κολόνες	Γυαλί, PDMS	TAMRA-labeled sgc8 Aptamer, TD05 aptamer , KCHA10 aptamer	~95%	~81%	~93%	2.16		1 mL / 28 min

Wang[53]	CTCs (μαστοί, προστάτης)	Αίμα, PBS	Η συσκευή αποτελείται από δύο μέρη: α) το υπόστρωμα πυριτίου με νανοπολόνες επικαλυμμένο με anti-EpCAM και β) ένα κανάλι αναμείκτη χαοτικής συναγωγής μήκους 88cm	SiNP, PDMS	anti-EpCAM	>95%				1
Stott [29]	CTCs (προστάτης, μαστοί, κόλον)	Αίμα	8 κανάλια με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλο (2 σειρές των 10 αυλακιών) στο επάνω τοίχωμα του καναλιού.	Πυρίτιο, PDMS	anti-EpCAM	91.8%± 5.2%	93%		95%±0.6%	1.2
Gleghorn [54]	CTCs (προστάτης)	Αίμα, PBS	GEDI μικρο-τσιπ που αποτελείται από 5000 κυκλικής βάσης ή οκταγωνικής βάσης πολόνες διαμέτρου 80 μm. Διαστάσεις καναλιού: 100 μm βάθος, 8mm πλάτος και 25mm μήκος		J591, PSMA	97 ± 3% PBS, 85 ± 5% from blood		62 ± 2%		1
Wang [47]	CTCs (κόλον)	(PBS)	Κανάλι με 2 σειρές αυλακιών τύπου ψαροκόκαλο.	PDMS	anti-EpCAMs					3.5
Bianchi [55]	Πρωτεΐνη (streptavidin)	Υδατικό διάλυμα	Κανάλι με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλο (5 γεωμετρικές herringbone).							0.39
Forbes [56]	Άκαμπτες σφαίρες		Κανάλι με ανάγλυφο τύπου ψαροκόκαλο (2 σειρές των 6 αυλακιών). Πλάτος καναλιού 500μm, πλάτος αυλακιού 50μm, μήκος καναλιού 2075 mm, 45° γωνία αυλακιού με το τοίχωμα (κατά τη x κατεύθυνση).			~ 90%				

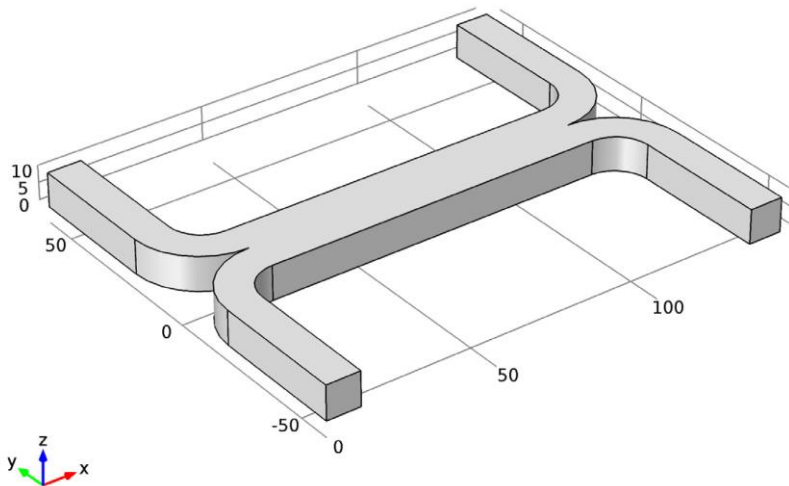
Παράρτημα Β

Στο παρόν παράδειγμα, έχει γίνει μελέτη της εμφάνισης των συγκεντρώσεων εκτός ορίων και ποσοτικοποίησής τους σε πρόβλημα ανάμειξης. Ο τύπος του μικροαναμείκτη είναι τύπου H (Σχήμα B.5.1). Στην είσοδο A εισήχθη διαλυμένη ουσία συγκέντρωσης $c_0 = 1 \text{ mol} / \text{m}^3$ ενώ στην είσοδο B δεν εισήχθη διαλυμένη ουσία [33]. Το πρόβλημα μελετήθηκε σύμφωνα με το πρόβλημα ροής (creeping flow). Τα αποτελέσματα μελετήθηκαν με βάση τις παρακάτω συνθήκες:

- μεταβάλλοντας τη μέθοδο σταθεροποίησης από τη μεταφορά (transport of diluted species) και κρατώντας σταθερό το πλέγμα και τη διακριτοποίηση,
- μεταβάλλοντας τη διακριτοποίηση και κρατώντας σταθερό το πλέγμα και τη μέθοδο σταθεροποίησης
- μεταβάλλοντας το πλέγμα και κρατώντας σταθερό τη διακριτοποίηση και τη μέθοδο σταθεροποίησης.



Σχήμα B.5.1: Διάγραμμα της συσκευής (οι διαστάσεις σε μέτρα).



Σχήμα B.5.2: Γεωμετρία της διάταξης

Ο ρυθμός ροής στην είσοδο είναι προσεγγιστικά 0.1mm/s. Ο αριθμός Reynolds δίνεται

$$\text{Re} = \frac{\rho UL}{\mu} = 0.001$$

όπου ρ η πυκνότητα του ρευστού (1000 kg/m³), U η χαρακτηριστική ταχύτητα του ρευστού (0.1 mm/s), μ το ιξώδες (1 mPa*s) και L η διάσταση του αναμείκτη (10 mm).

Οι συνοριακές συνθήκες που έχουμε, είναι οι εξής:

- Εξισώσεις Navier - Stokes για ασυμπίεστη ροή:

$$\nabla \cdot \left(-pI + \mu (\nabla u + (\nabla u)^T) \right) = 0$$

$$\nabla \cdot u = 0$$

όπου u η τοπική ταχύτητα (m/s) και p η πίεση (Pa).

- Εξίσωση ισοζυγίου μάζας:

$$-\nabla \cdot (-D\nabla c + cu) = 0,$$

όπου D ο συντελεστής διάχυσης (m²/s) και c η συγκέντρωση (mol/m³).

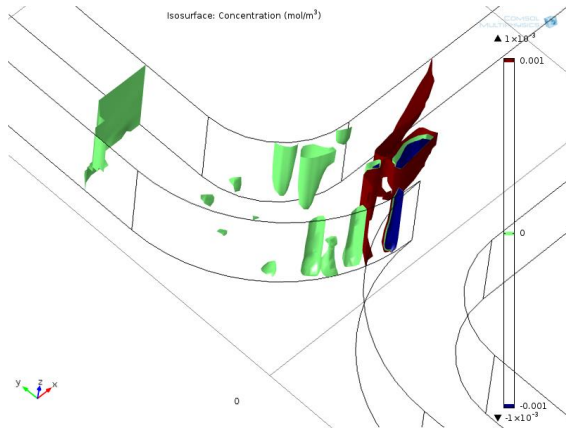
Στον Πίνακα A.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τους υπολογισμούς για τις τιμές του συντελεστή διάχυσης $D = 10^{-11} m^2 / s$ και $D = 10^{-12} m^2 / s$ καθώς μεταβάλλονται οι παράμετροι του πλέγματος, της διακριτοποίησης, της σταθεροποίησης και της σχετικής ανοχής. Στον πίνακα όπου V_0 είναι η χωρητικότητα του αναμείκτη, V_1 είναι ο όγκος στον οποίο παρατηρούνται οι αρνητικές συγκεντρώσεις και όπου V_2 είναι ο όγκος όπου παρατηρούνται οι συγκεντρώσεις που είναι μικρότερες του -10^{-6} . Ακόμα, στο Σχήμα B.5.3 αναπαριστώνται γραφικά μέσω του COMSOL, οι παραπάνω όγκοι. Στο Σχήμα B.5.4 και Σχήμα B.5.5, αναπαριστώνται γραφικά τα ποσοστά των αρνητικών συγκεντρώσεων σε σχέση με τον αρχικό όγκο (V_1/V_0) καθώς και το ποσοστό των συγκεντρώσεων που είναι μικρότερες από -10^{-6} (V_2/V_0) για τις δύο τιμές της διάχυσης που πραγματοποιήθηκαν οι υπολογισμοί.

Πίνακας Β.2: Τιμές των αρνητικών συγκεντρώσεων και ποσοτική σχέση των αρνητικών συγκεντρώσεων ως προς το συνολικό όγκο, για συντελεστή διάχυσης $D= 10^{-12}m^2/s$, $D= 10^{-11} m^2/s$.

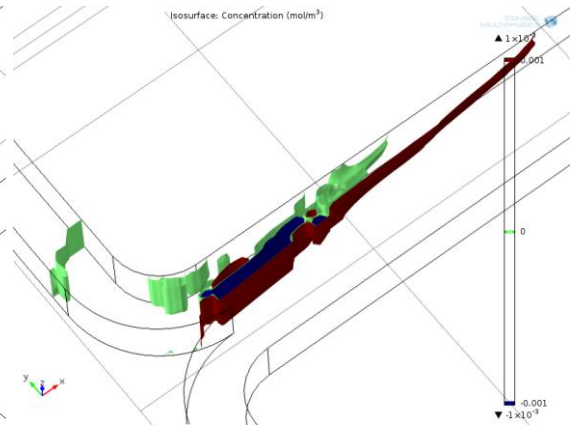
	$D=10^{-11} m^2/s$					$D=10^{-12} m^2/s$				Στοιχεία/Διακριτοποίηση	Σταθεροποίηση	Σχετική Ανοχή
	$V_0(\mu L)$	$V_1(c<0) (\mu L)$	$V_2(c<-10^{-6}) (\mu L)$	V_1/V_0	V_2/V_0	$V_1(c<0) (\mu L)$	$V_2(c<-10^{-6}) (\mu L)$	V_1/V_0	V_2/V_0			
1	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$1.38 \cdot 10^{-6}$	$6.88 \cdot 10^{-8}$	0.030	0.0015	$2.41 \cdot 10^{-6}$	$1.04 \cdot 10^{-6}$	0.053	0.022	4880/Γραμμική	Streamline, Crosswind	
2	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$3.8 \cdot 10^{-6}$	$1.27 \cdot 10^{-6}$	0.083	0.027	$9.74 \cdot 10^{-6}$	$7.04 \cdot 10^{-6}$	0.214	0.155	4880/Γραμμική	Streamline	
3	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$4.7 \cdot 10^{-6}$	0.11	0.103	$6.99 \cdot 10^{-6}$	$6.99 \cdot 10^{-6}$	0.153	0.153	4880/Γραμμική	Καμία	
4	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$3.51 \cdot 10^{-6}$	$5.21 \cdot 10^{-7}$	0.077	0.011	$5.61 \cdot 10^{-6}$	$2.74 \cdot 10^{-6}$	0.123	0.06	4880/Γραμμική	Streamline, Codina Crosswind	
5	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$6.37 \cdot 10^{-6}$	$9.08 \cdot 10^{-8}$	0.014	0.002	$7.30 \cdot 10^{-6}$	$3.81 \cdot 10^{-6}$	0.16	0.083	1224/Γραμμική	Streamline, Crosswind	
6	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$2.73 \cdot 10^{-6}$	$1.65 \cdot 10^{-7}$	0.06	0.003	$4.75 \cdot 10^{-6}$	$1.44 \cdot 10^{-6}$	0.104	0.031	9078/Γραμμική	Streamline, Crosswind	
7	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$1.86 \cdot 10^{-6}$	$1.24 \cdot 10^{-8}$	0.04	0.0002	$3.96 \cdot 10^{-6}$	$1.17 \cdot 10^{-6}$	0.087	0.0257	24536/Γραμμική	Streamline, Crosswind	
8	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$3.56 \cdot 10^{-6}$	$3.79 \cdot 10^{-7}$	0.078	0.0083	$1.05 \cdot 10^{-5}$	$1.04 \cdot 10^{-5}$	0.231	0.229	48270/Γραμμική	Streamline, Crosswind	
9	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$3.33 \cdot 10^{-6}$	$1.7 \cdot 10^{-7}$	0.07	0.0037	$6.39 \cdot 10^{-6}$	$4.56 \cdot 10^{-6}$	0.14	0.10	104065/Γραμμική	Streamline, Crosswind	
10	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$2.79 \cdot 10^{-6}$	$1.26 \cdot 10^{-7}$	0.061	0.0027	$5.62 \cdot 10^{-6}$	$4.23 \cdot 10^{-6}$	0.123	0.093	152505/Γραμμική	Streamline, Crosswind	

11	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$3.28 \cdot 10^{-6}$	$4.41 \cdot 10^{-7}$	0.072	0.0097	$6.06 \cdot 10^{-6}$	$8.82 \cdot 10^{-6}$	0.013	0.0019	4880/Τετραγωνική	Streamline, Crosswind	
12	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$3.25 \cdot 10^{-6}$	$2.72 \cdot 10^{-7}$	0.071	0.0059	$2.92 \cdot 10^{-6}$	$4.53 \cdot 10^{-6}$	0.064	0.0099	4880/Κοβική	Streamline, Crosswind	
13	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$6.88 \cdot 10^{-8}$	0.11	0.103	$6.99 \cdot 10^{-6}$	$6.99 \cdot 10^{-6}$	0.153	0.153	4880/Γραμμική	Streamline, Crosswind	10^{-4}
14	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$6.88 \cdot 10^{-8}$	0.11	0.103	$6.99 \cdot 10^{-6}$	$6.99 \cdot 10^{-6}$	0.153	0.153	4880/Γραμμική	Streamline, Crosswind	10^{-5}
15	$4.54 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$6.88 \cdot 10^{-8}$	0.11	0.103	$6.99 \cdot 10^{-6}$	$6.99 \cdot 10^{-6}$	0.153	0.153	4880/Γραμμική	Streamline, Crosswind	10^{-6}

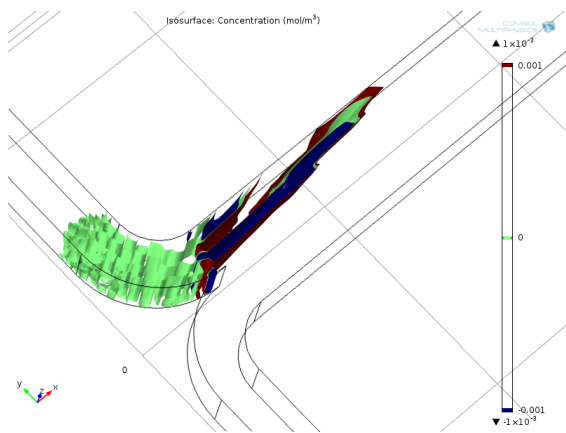
$D=10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$



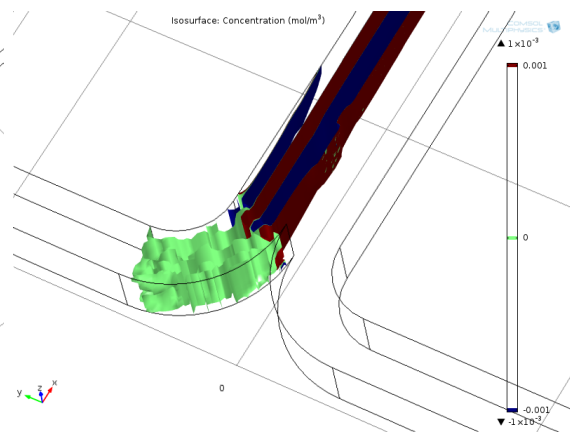
$D=10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$



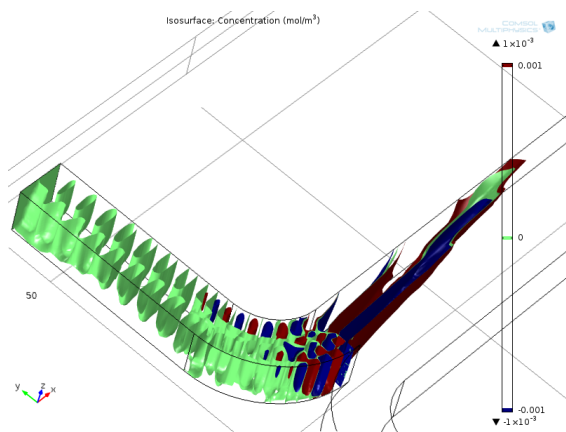
1 α



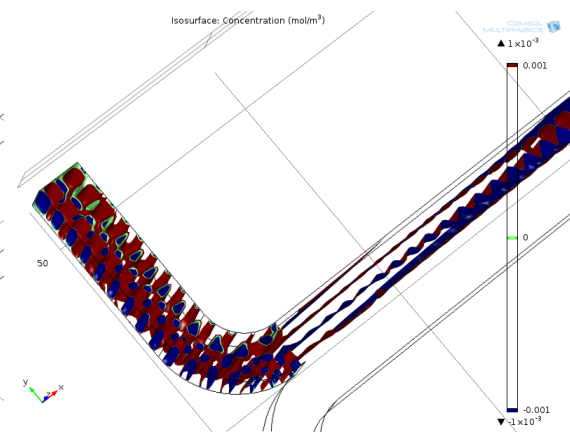
1 β



2 α



2 β

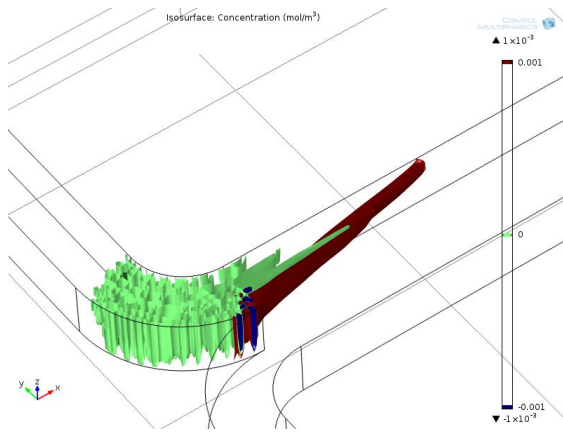


3 α

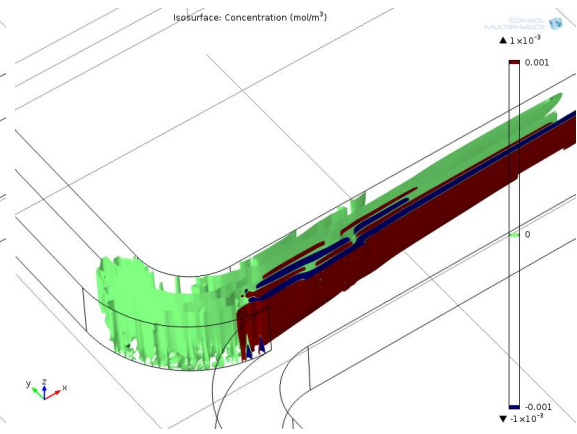


3 β





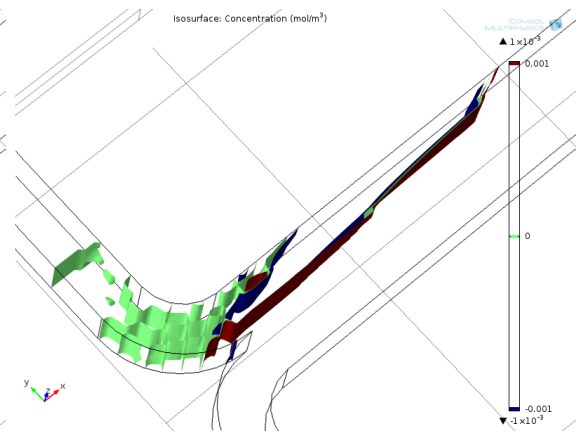
4a



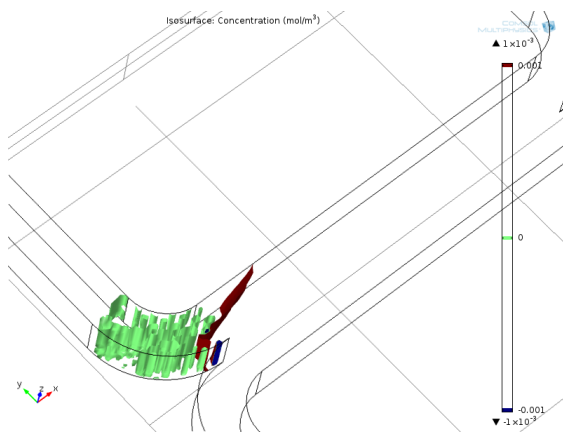
4b



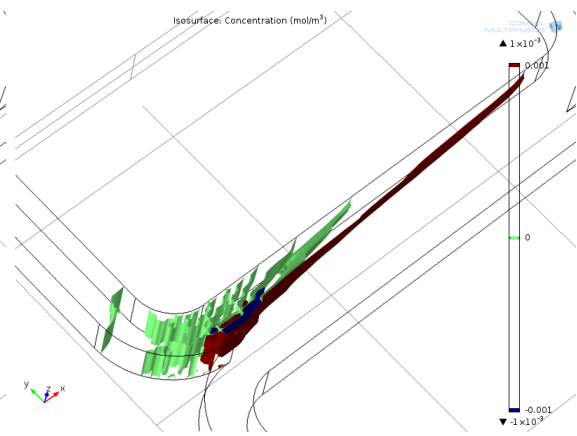
5a



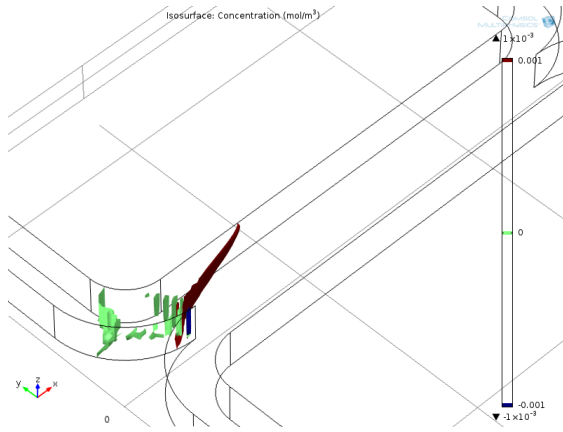
5b



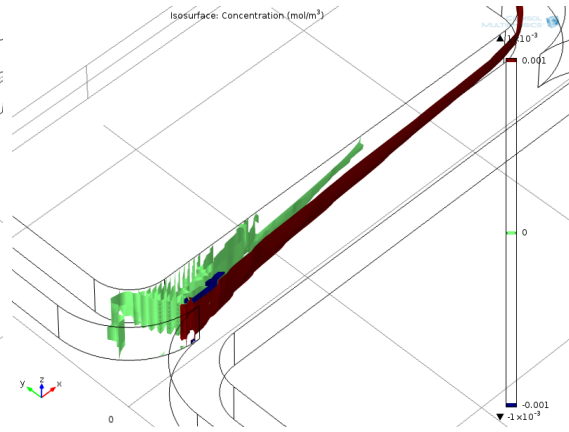
6a



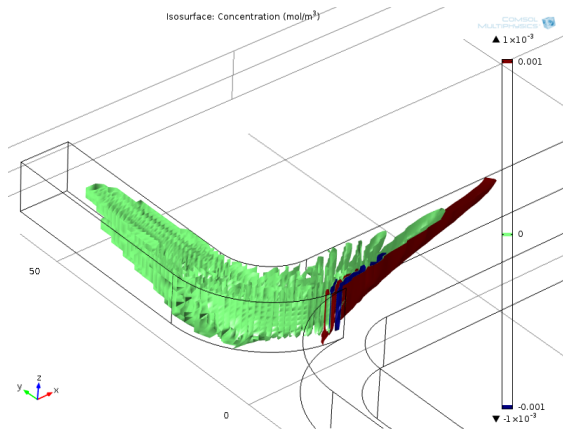
6b



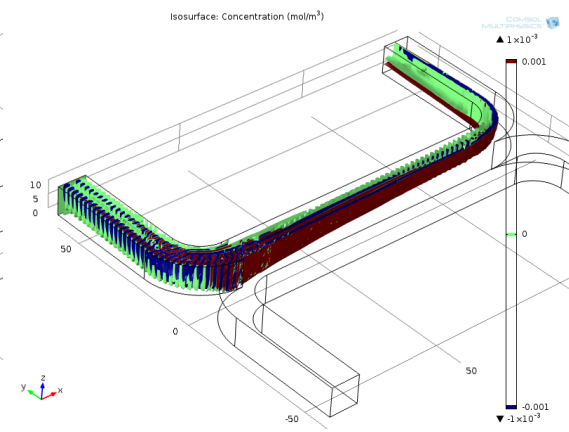
7a



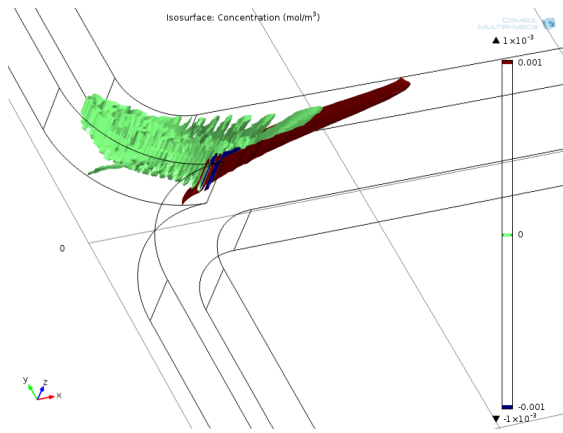
7b



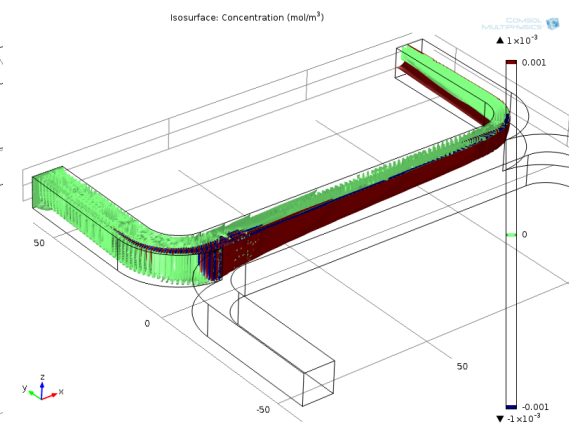
8a



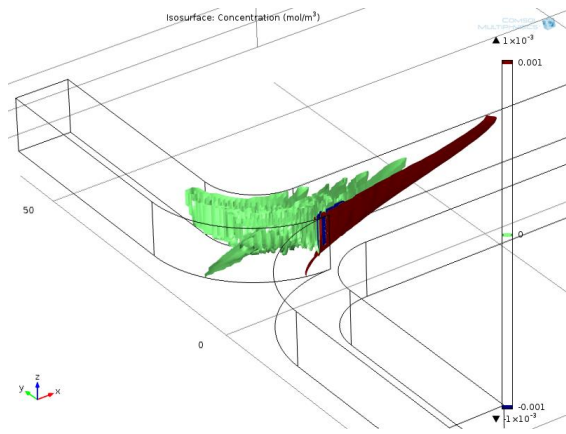
8b



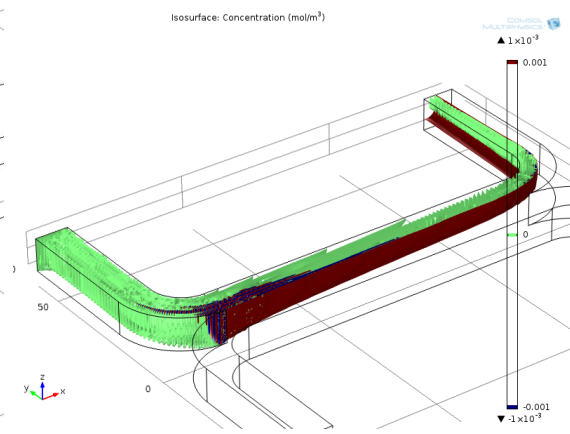
9a



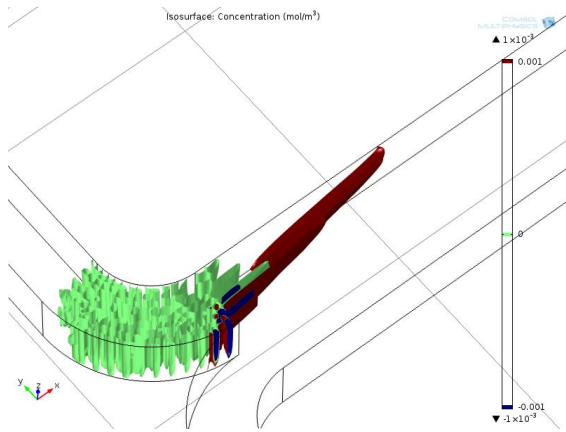
9b



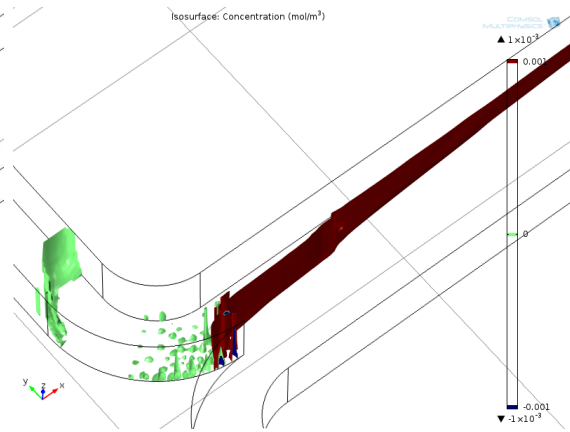
10 α



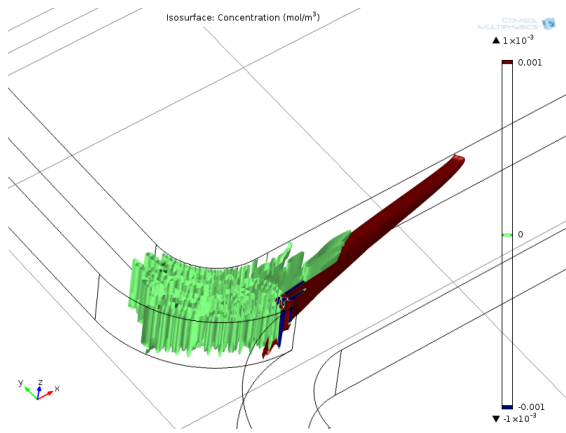
10 β



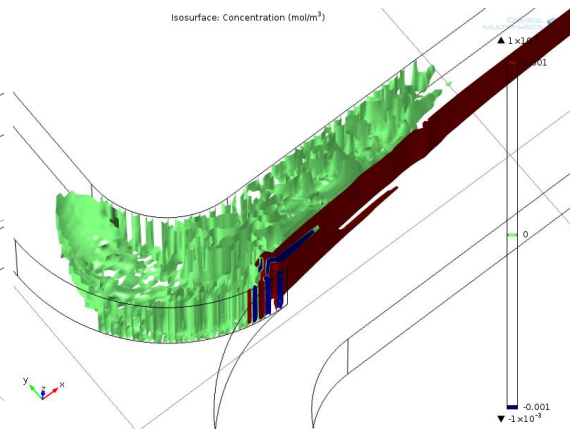
11 α



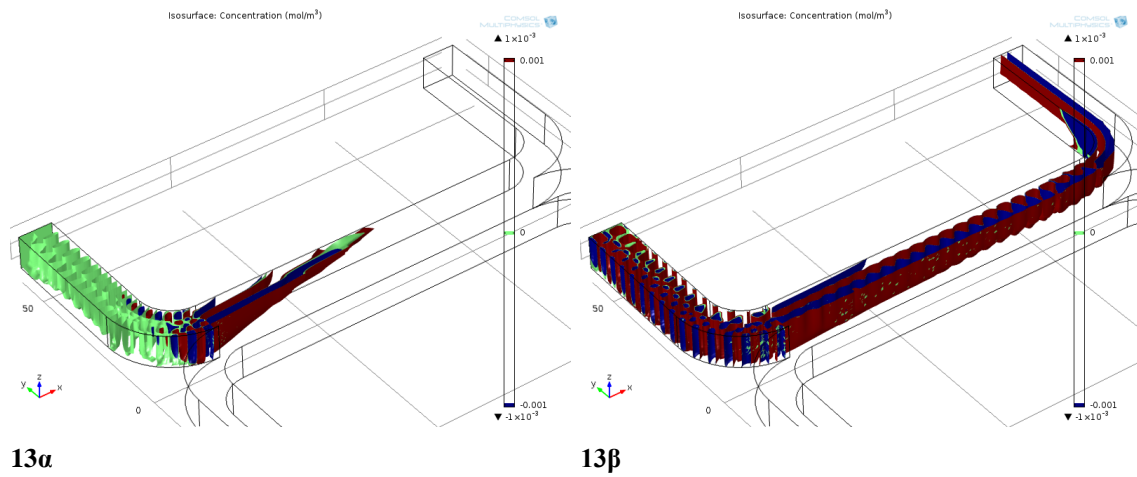
11 β



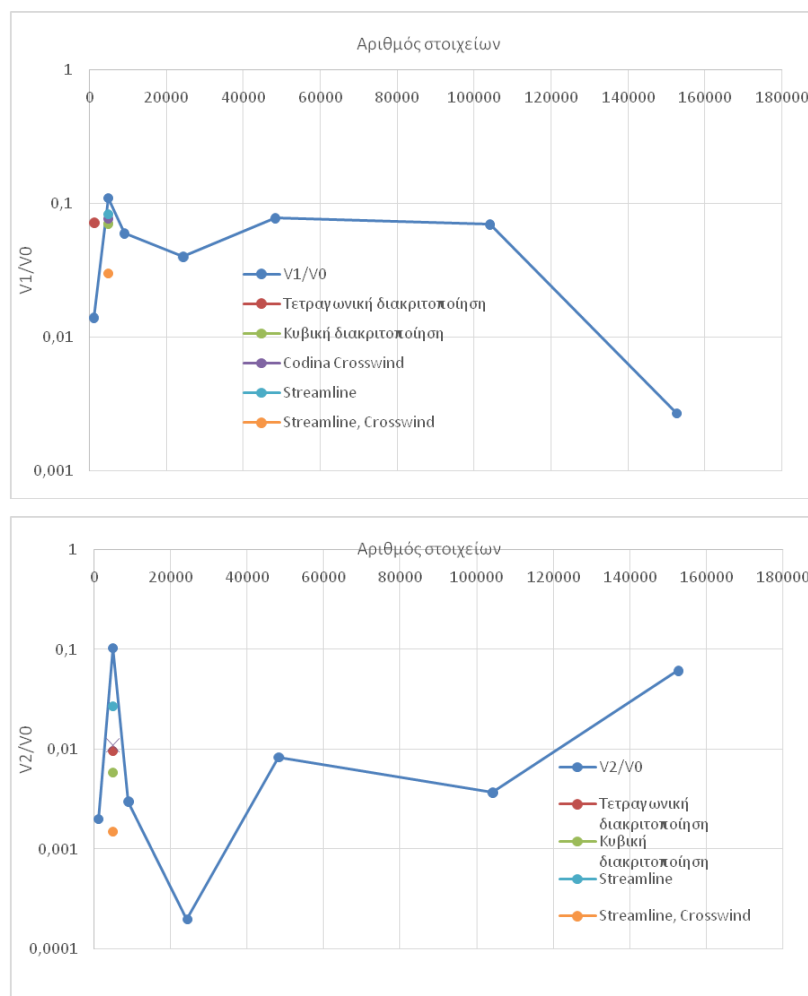
12 α



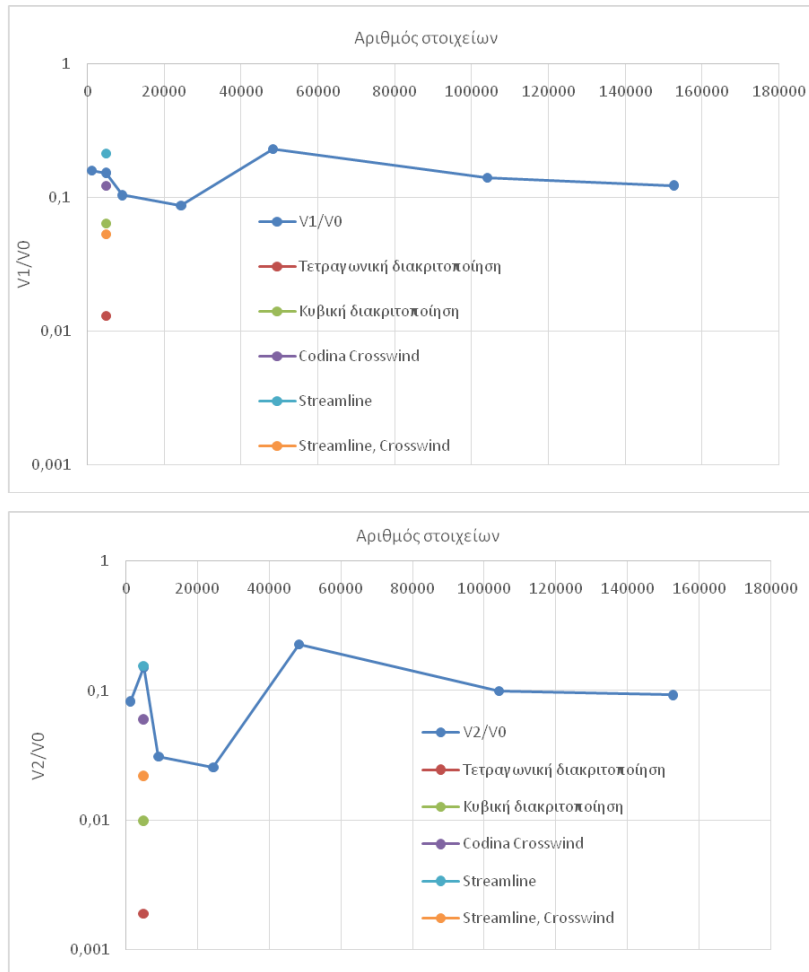
12 β



Σχήμα Β.5.3: Γραφική απεικόνιση των αποτελεσμάτων του Πίνακα Β.2.



Σχήμα Β.5.4: Διαγράμματα ποσοτών αρνητικών συγκεντρώσεων ανάλογα με την πύκνωση του πλέγματος για συντελεστή διάχυσης $D = 10^{-11} m^2 / s$

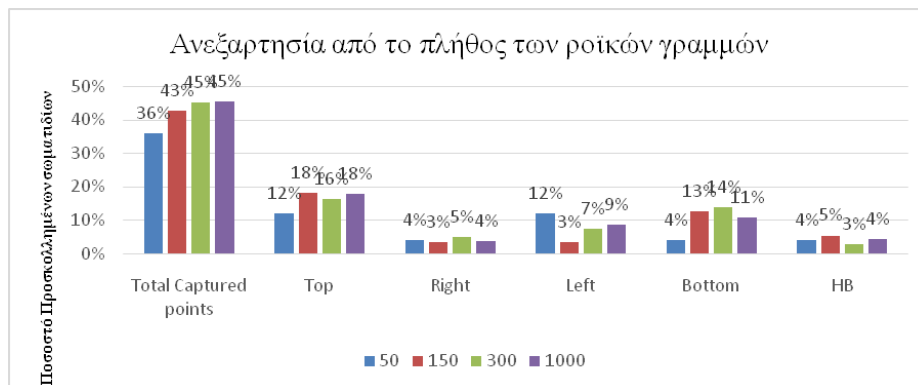


Σχήμα Β.5.5: Διαγράμματα ποσοστών αρνητικών συγκεντρώσεων ανάλογα με την πύκνωση του πλέγματος για συντελεστή διάχυσης $D = 10^{-12} m^2 / s$

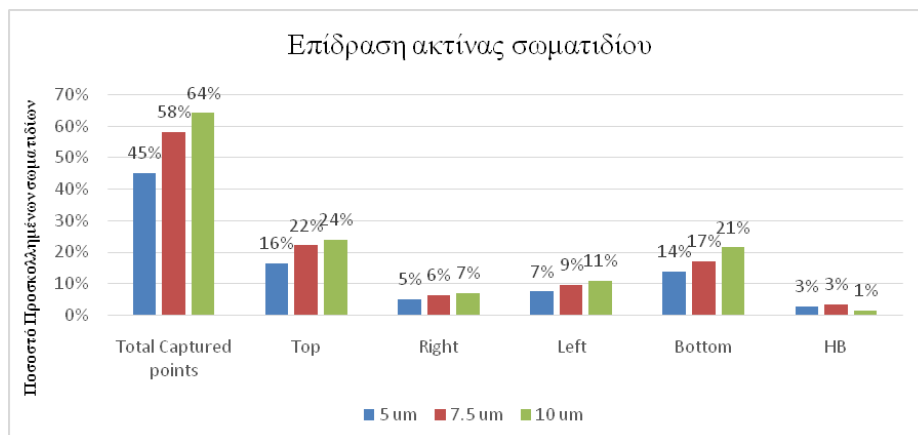
Αναλύοντας τα αποτελέσματα από τους υπολογισμούς που διεξήχθησαν, παρατηρούνται τα εξής. Παρατηρείται ότι το πλέγμα και οι αρνητικές συγκεντρώσεις είναι αντιστρόφως ανάλογα ποσά, δηλαδή όσο πυκνώνει το πλέγμα τόσο μειώνεται το ποσοστό των αρνητικών συγκεντρώσεων. Επίσης, η αλλαγή της σχετικής ανοχής δεν επηρεάζει καθόλου τα ποσοστά των αρνητικών συγκεντρώσεων. Ακόμα, όταν ο συντελεστής διάχυσης είναι $D = 10^{-12} m^2 / s$ και αλλάζει η διακριτοποίηση (τετραγωνική, κυβική) παρατηρείται μείωση των αρνητικών συγκεντρώσεων. Το αντίθετο συμβαίνει όταν ο συντελεστής διάχυσης είναι $D = 10^{-11} m^2 / s$. Τέλος, όταν χρησιμοποιούνται και οι δύο μέθοδοι σταθεροποίησης (streamline και crosswind) παρατηρούνται χαμηλότερα ποσοστά αρνητικών συγκεντρώσεων παρα όταν χρησιμοποιείται μόνο μία μέθοδος σταθεροποίησης ή καμία.

Παράρτημα Γ

Στα παρακάτω ραβδογράμματα, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της επίδρασης διάφορων παραμέτρων στο ποσοστό προσκόλλησης των σωματιδίων στα τοιχώματα, καθώς τα σωματίδια που εισέρχονται κατά την είσοδο δεν είναι ανάλογα της ταχύτητας, αλλά είναι ίσα με το πλήθος των ροϊκών γραμμών.

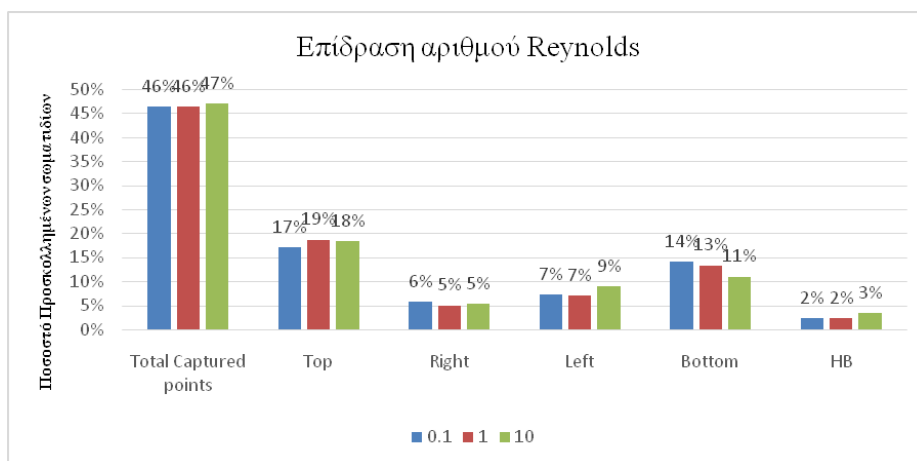


Σχήμα 5.6: Ποσοστό προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά δεξιά και αριστερά τοιχώματα και στα αυλάκια, καθώς και στο σύνολο των τοιχωμάτων της διάταξης για διαφορετικό πλήθος ροϊκών γραμμών για αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα σωματιδίου ίση με 5 μm

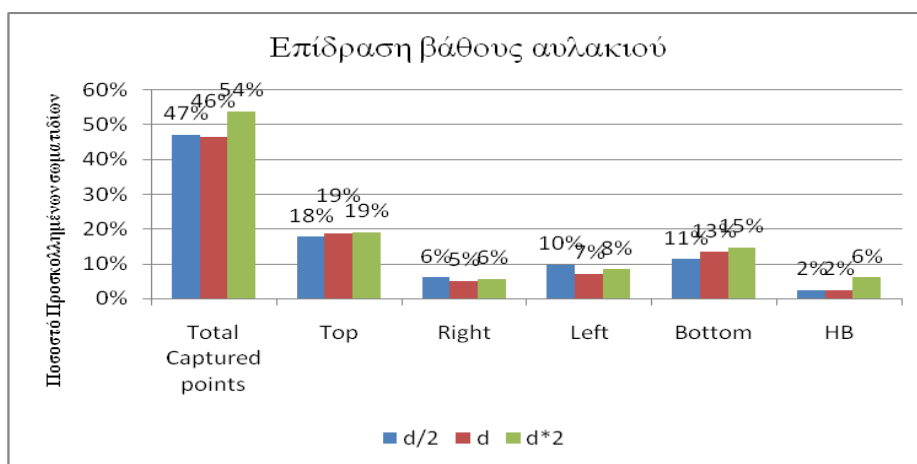


Σχήμα 5.7: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα

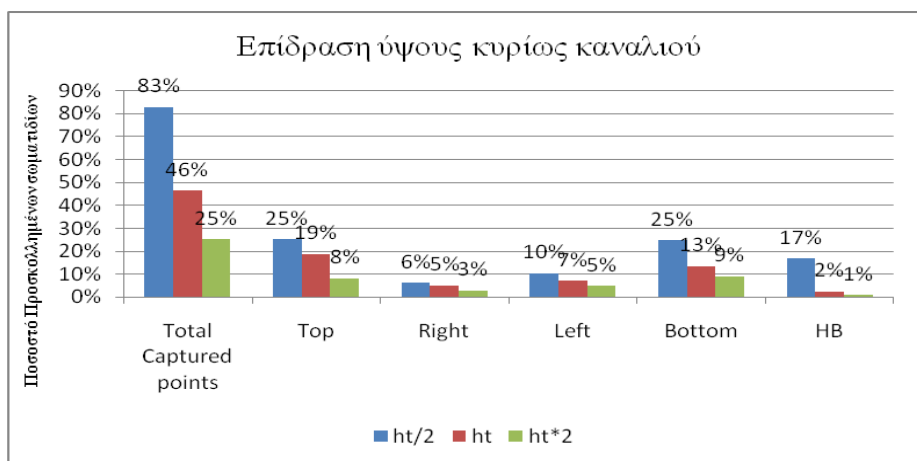
αυλάκια, για διαφορετική ακτίνα (5 μm , 7.5 μm , 10 μm) και Re ίσο με 1. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 300/300 ροϊκές γραμμές/σωματίδια.



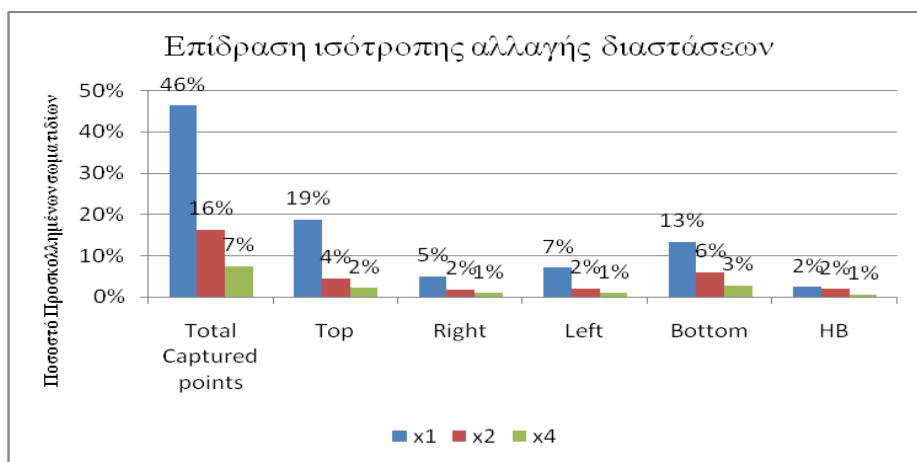
Σχήμα 5.8: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό αριθμό Re (0.1, 1, 10) και ακτίνα 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 300/300 ροϊκές γραμμές/σωματίδια.



Σχήμα 5.9: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό βάθος αυλακιού (d , $d/2$, $2d$, όπου d το βάθος του αυλακιού της βασικής περίπτωσης), Reynolds 1 και ακτίνα 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 300/300 ροϊκές γραμμές/σωματίδια.



Σχήμα 5.10: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικό ύψους καναλιού (h_i , $h_i/2$, $2h_i$, όπου h_i το ύψος του καναλιού). Ο αριθμός Re είναι ίσος με 1 και η ακτίνα είναι 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 300/300 ροϊκές γραμμές/σωματίδια.



Σχήμα 5.11: Ραβδόγραμμα συνολικού ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων, ποσοστού προσκολλημένων σωματιδίων στο άνω τοίχωμα, στον πυθμένα, στα πλαϊνά τοιχώματα και στα αυλάκια, για διαφορετικές αναλογίες καναλιού (x1, x2, x4), αριθμό Re ίσο με 1 και ακτίνα ίση με 5 μm . Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 300/300 ροϊκές γραμμές/σωματίδια.

Παράρτημα Δ

Στην ενότητα αυτή θα αναλυθούν βασικές έννοιες της μηχανικής των ρευστών [57].

Στρωτή ροή ονομάζεται η ιξώδης ροή κατά την οποία τα σωματίδια του ρευστού κινούνται ομαλώς και κατά στρώματα (ή στοιβάδες). Σε κάθε τέτοιο στρώμα, η κατανομή της ταχύτητας του ρευστού είναι ομοιόμορφη σε όλη την έκταση της εγκάρσιας (ως προς τη διεύθυνση της ροής) διατομής του στρώματος. Στη στρωτή ροή δε συμβαίνει μακροσκοπική ανάμειξη των γειτονικών στρωμάτων του ρευστού. Η επικοινωνία των στρωμάτων του ρευστού γίνεται μόνο σε μοριακό επίπεδο, λόγω της θερμικής κίνησης των μορίων [57].

Τυρβώδης ονομάζεται η ιξώδης ροή κατά την οποία τα σωματίδια του ρευστού κινούνται σε ακανόνιστες τροχιές προς όλες τις διευθύνσεις κατά εντελώς τυχαίο τρόπο [57].

Ασυμπιεστική ροή ονομάζεται η ροή ενός ρευστού (πραγματικού ή ιδανικού) κατά την οποία οι μεταβολές της πυκνότητας σε όλη την έκταση του πεδίου ροής είναι αμελητέες [57].

Ομοιόμορφη ροή ονομάζεται η ροή στην οποία το μέτρο και η διεύθυνση του άνυσματος της ταχύτητας είναι σταθερά κατά το μήκος οποιασδήποτε ροϊκής γραμμής του πεδίου ροής [57].

$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial s} = 0$ (Συνθήκη ομοιόμορφης ροής), όπου \mathbf{u} το άνυσμα της ολικής ταχύτητας του ρευστού σε ένα δεδομένο σημείο μιας ροϊκής γραμμής και s η απόσταση κατά μήκος της ροϊκής γραμμής από ένα, αυθαίρετα επιλεγμένο, σημείο της [57].

Μόνιμη ροή ονομάζεται η ροή στην οποία το μέτρο και η διεύθυνση του άνυσματος της ταχύτητας σε ένα δεδομένο σημείο του χώρου δε μεταβάλλονται ως προς το χρόνο [57].

$$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} = 0, \text{ όπου } \mathbf{u} \text{ το άνυσμα της ταχύτητας του ρευστού σε ένα δεδομένο}$$

σημείο του χώρου [57].

Νευτωνικά ρευστά ονομάζονται τα ρευστά εκείνα στα οποία η εξάρτηση της ιξώδους τάσης από το ρυθμό παραμόρφωσης του ρευστού είναι γραμμική. Η απλούστερη μορφή υλικής σχέσης στην οποία υπακούουν τα νευτωνικά ρευστά είναι ο νόμος του ιξώδους του Newton. Το χαρακτηριστικό των νευτωνικών ρευστών είναι ότι το ιξώδες αποτελεί για αυτά μία πραγματική ιδιότητα, η τιμή της οποίας εξαρτάται από τη μοριακή φύση και την κατάσταση (πίεση - θερμοκρασία) στην οποία βρίσκεται το ρευστό [57].

Τροχιά ονομάζεται η διαδρομή την οποία ακολουθεί ένα συγκεκριμένο σωματίδιο του ρευστού καθώς κινείται μέσα στο πεδίο ροής, για ένα δεδομένο χρονικό διάστημα, Δt [57].

Ροϊκή γραμμή ενός πεδίου ροής ονομάζεται κάθε γραμμή που έχει την ιδιότητα η εφαπτομένη σε κάθε σημείο της να συμπίπτει με τη διεύθυνση του ανύσματος της ταχύτητας του ρευστού σε εκείνο το σημείο, μια δεδομένη χρονική στιγμή t [57].

Ο αριθμός Reynolds εκφράζει το λόγο των δυνάμεων αδράνειας προς τις δυνάμεις ιξώδους. Είναι αδιάστατη ποσότητα και υπολογίζεται μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$Re = \frac{\rho \mathbf{u} D_h}{\mu}, \text{ όπου } D_h \text{ είναι η υδραυλική διάμετρος, } \rho \text{ η πυκνότητα, } \mu \text{ το}$$

δυναμικό ιξώδες και \mathbf{u} η μέση ταχύτητα του ρευστού. Στην περίπτωση που αναφέρεται σε κανάλι κυκλικής διατομής τότε η υδραυλική διάμετρος είναι ίση με την εσωτερική του διάμετρος. Η μετατροπή της ροής από στρωτή σε τυρβώδη εξαρτάται από τον αριθμό Reynolds, η οποία γίνεται όταν ο Re αποκτήσει μία κρίσιμη τιμή, Re_c που ονομάζεται κρίσιμος αριθμός Reynolds. Για ροή σε αγωγό αυτός ο αριθμός εξαρτάται από την εσωτερική τραχύτητα των εσωτερικών τοιχωμάτων και από τις αρχικές διαταραχές της ροής [57].

Υδραυλική διάμετρος του καναλιού είναι ένας χαρακτηριστικός αριθμός που εξαρτάται από τη γεωμετρική διατομή του καναλιού και ορίζεται ως:

$$D_h = 4 \frac{A}{P_{wet}}, \text{ όπου } A \text{ το εμβαδόν της διατομής και } P_{wet} \text{ η βρεγμένη περίμετρος}$$

του καναλιού [57].

Αριθμός Peclet είναι ένα μέτρο σχετικής σημασίας της μετατόπισης και της διάχυσης για την παροχή της μεταφοράς μάζας που σχετίζεται με την ανάμειξη. Είναι όπως και ο αριθμός Re, αδιάστατος χαρακτηριστικός αριθμός, και εκφράζει το λόγο της μεταφοράς μάζας μέσω συναγωγή προς τη μεταφορά μάζας μέσω διάχυσης. Ορίζεται ως:

$$Pe = \frac{\mathbf{u}L}{D}, \quad L \text{ χαρακτηριστικό μήκος, } D \text{ συντελεστής διάχυσης, } \mathbf{u} \text{ πεδίο}$$

ταχύτητας.

Οπισθέλκουσα δύναμη (drag force) είναι η δύναμη που δημιουργείται από την κίνηση ενός σώματος σε ένα ρευστό και έχει αντίθετη φορά από το πεδίο ταχύτητας του ρευστού. Η παρουσία της δύναμης αυτής οφείλεται στη διαφορετική πίεση που υπάρχει στις δύο πλευρές του σώματος.

$$D = \frac{1}{2} C \rho A \mathbf{u}^2, \quad \text{όπου } C \text{ σταθερά της αντίστασης, η οποία ποικίλει ανάλογα με}$$

την ταχύτητα του σώματος, ρ η πυκνότητα του ρευστού, \mathbf{u} η ταχύτητα του σώματος σύμφωνα με του ρευστού, A η μέγιστη μετωπική επιφάνεια του σώματος.