VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

ŘÍZENÍ A MONITOROVÁNÍ PARAMETRŮ PRO MIKROFLUIDNÍ SYSTÉMY
CONTROL AND MONITORING OF PARAMETERS IN MICROFLUIDIC SYSTEMS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE — Jan Meloun
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.
SUPERVISOR

BRNO 2018

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor **Biomedicínská technika a bioinformatika**
Ústav biomedicínského inženýrství

Student: Jan Meloun ***ID:*** 186676
Ročník: 3 ***Akademický rok:*** 2017/18

NÁZEV TÉMATU:

Řízení a monitorování parametrů pro mikrofluidní systémy

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Proveďte literární rešerši v oblasti mikrofluidních systémů pro buněčné inženýrství. Zaměřte se na konstrukci mikrofluidních systémů vhodných pro spolupráci s mikroskopickými technikami a na fyzikální zákony uplatněné v těchto systémech. 2) Seznamte s platformou Arduino a jejího využití v řízení průtokového systému pomocí peristaltické pumpy a pro monitorování pH a teploty v uzavřeném systému. 3) Seznamte se s metodami optického měření pH kolorimetrickou metodou s využitím fenolové červeni. 4) Zkonstruujte zařízení založené na platformě Arduino zajišťující plynulý průtok tekutiny, monitorování pH optickou metodou a měření teploty. Ověřte jeho funkčnost. 5) Zařízení doplňte o Bluetooth modul. V programovém prostředí MIT App Inventor 2 navrhněte a vytvořte aplikaci pro nastavení parametrů průtoku v systému. Zařízení opatřete vizualizací nastavených a měřených parametrů. 6) Zařízení optimalizujte a otestujte. Proveďte diskusi nad dosaženými výsledky.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] Evans, B. Beginning arduino programming, New York :Apress, 2011. 252 s. ISBN 978-1-4302-3777-8.

[2] Magnusson, E. B., Halldorsson, S., Fleming, R. M. T., & Leosson, K. (2013). Real-time optical pH measurement in a standard microfluidic cell culture system. Biomedical Optics Express, 4(9), 1749–1758. http://doi.org/10.1364/BOE.4.001749.

Termín zadání: 5.2.2018 ***Termín odevzdání:*** 25.5.2018

Vedoucí práce: Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.
Konzultant:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:
Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Abstrakt

Tato bakalářská práce pojednává o konstrukci mikrofluidního systému pro mikroskopování. Teoretické část se věnuje buňce a jejímu přežití v různých prostředích. Dále se věnuje světlu, jeho vlastnostem a optické spektrální analýze popsané několika metodami. Je zmíněno využití vývojové platformy Arduino s bezdrátovým přenosem dat pro vizualizaci v mobilní aplikaci. Též je zmíněno, jakými metodami je měřeno pH látek. Praktická část se věnuje samotné konstrukci mikrofluidního systému s využitím Arduina, chytrého mobilního telefonu a vyvinuté aplikace zahrnující řízení průtoku kapaliny a vizualizaci měřených veličin.

Klíčová slova

Buňka, světlo a jeho spektrální analýza, spektrofotometrie, kolorimetrie, mikrofluidní systémy, Arduino, optické měření pH, LED dioda, fotodioda, Bluetooth, Mit App Inventor 2, Android

Abstract

This thesis discusses the construction of Microfluidic systems for microscope. The theoretical part of this thesis deals with cell and its survival in the environment. Furthermore light, light's behaviour and optical spectral analysis in some methods is discussed. Also, the use of the development platform Arduino with wireless data transfer for data visualization is mentioned. Methods for measuring pH are mentioned as well. The practical part is dedicated to construction of the Microfluidic system with the use of Arduino, smart mobile devices and a developed mobile application including controlling liquid flow with the measured data visualization.

Key words

Cell, Light and it's spectral analysis, spectrophotometry, colorimetry, microfluidic systems, Arduino, optical analysis of pH, LED, photodiode, Bluetooth, Mit App Inventor 2, Android

Bibliografická citace

MELOUN, J. *Řízení a monitorování parametrů pro mikrofluidní systémy.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2018. 38 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že svou závěrečnou práci na téma Řízení a monitorování parametrů pro mikrofluidní systémy jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího semestrální práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené závěrečné práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne **25. května 2018** .....

podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu bakalářské práce Ing. Vratislavu Čmielovi, PhD. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé semestrální práce.

V Brně dne **25. května 2018** .....

podpis autora

Obsah

Obsah i

Seznam obrázků iv

Seznam tabulek v

Úvod 1

1. Buňka 2

1.1. Srovnání prokaryotické a eukaryotické buňky 2

1.2. Přežití buňky 3

2. Světlo a jeho analýza 5

2.1. Světlo 5

2.1.1. Elektromagnetické záření 5

2.1.2. Zákony popisující světlo 6

2.1.3. Spektrum elektromagnetického záření 7

2.2. Spektrální analýza 8

2.2.1. Typy a původ spekter 8

2.2.2. Absorpční spektrální analýza 9

2.2.3. Emisní spektrální analýza 11

3. Mikrofluidní systémy 12

3.1. Výhody MS 12

3.2. Základy mechaniky kapalin 12

3.2.1. Zákony zachování 12

3.2.2. Předpoklady 13

3.2.3. Kapaliny 13

3.2.4. Proudění 13

3.3. Speciální jevy spojené s MS 14

3.3.1. Laminární proudění 14

3.3.2. Difuze 15

3.3.3. Povrchové napětí 15

3.3.4. Kapilarita 15

3.3.5. EOF 16

3.4. Konstrukce MS 16

3.5. Využití MS 16
3.5.1. Mikroskopické techniky 17
4. Elektronická platforma Arduino 18
4.1. Vývojová deska Arduino UNO R3 18
4.1.1. Technické parametry Arduina UNO 19
4.1.2. Programovací jazyk 19
4.2. Komunikace Arduina s ostatními zařízeními 19
4.2.1. Základní komunikace 20
4.2.2. Komunikace s pomocí shieldů 20
4.3. Arduino IDE 20
5. Měření pH 22
5.1. Definice pH 22
5.2. Elektrické metody 22
5.3. Optické metody 22
5.3.1. Acidobazické papírky 23
5.3.2. Spektrofotometrie 23
6. Návrh systému 24
6.1. Pohonná jednotka 24
6.1.1. Motor 24
6.1.2. Řadič 24
6.1.3. Pumpa 25
6.1.4. Kód 26
6.2. Optický sensor 26
6.2.1. Světelný zdroj 26
6.2.2. Fotodioda 27
6.2.3. Univerzální plošný spoj 28
6.3. Teploměr 28
6.4. Bluetooth modul 29
6.5. Displej 29
6.6. Univerzální plošný spoj 30
6.7. Řídící kód 30
7. Bezdrátová komunikace 31
7.1. Komunikace Arduino – aplikace 31

7.2. Komunikace aplikace – Arduino 32
7.3. Mobilní aplikace 33
8. Optimalizace a testování 36
8.1. Průtok 36
8.2. pH 36
Závěr 38
Literatura v
Seznam symbolů, veličin a zkratek viii
Přílohy ix
Seznam příloh na CD xi

Seznam obrázků

Obrázek 3.1 6
Obrázek 3.2 8
Obrázek 3.3 9
Obrázek 3.4 10
Obrázek 5.1 18
Obrázek 6.1 24
Obrázek 6.2 25
Obrázek 6.3 26
Obrázek 6.4 27
Obrázek 6.5 27
Obrázek 6.6 28
Obrázek 6.7 28
Obrázek 6.8 28
Obrázek 6.9 29
Obrázek 6.10 29
Obrázek 6.11 30
Obrázek 6.12 31
Obrázek 7.1 32
Obrázek 7.2 32
Obrázek 7.3 33
Obrázek 7.4 33
Obrázek 7.5 33
Obrázek 7.6 34
Obrázek 7.7 34
Obrázek 7.8 35
Obrázek 8.1 37

Seznam tabulek

Tabulka 1.1 2
Tabulka 5.1 18
Tabulka 5.2 19
Tabulka 6.1 24

Úvod

Mikrofluidní systémy jsou novým, rychle se vyvíjecím oborem mechaniky tekutin. Zabývají se prouděním kapalin o velmi malých objemech, nebo v zařízeních s velmi malými energetickými nároky. Tyto systémy nachází uplatnění nejen v laboratořích, tak ale i v praktických použitích jako jsou například palivové články, nebo biosenzory. V laboratorní mikroskopické praxi umožňují sledování změny pH v reálném čase, což při sledování růstu buněčné kontroly je důležité.

Vývojový platforma Arduino je celosvětově populární. Umožnuje bez větších znalostí konstrukci složitějších zařízení zvládající komplexní úlohy. V této práci je potřeba současně řídit otáčky motoru a zároveň opticky měřit pH a teplotu. Vzhledem k výpočetní náročnosti celého úkolu je vhodné zvolit adekvátní model Arduina, a to Arduino UNO, které z nabízených produktů je nejlepší. Celý MS musí být co nejjednodušší. Zadání bylo doplněno o OLED displej, na který budou též zobrazeny naměřené hodnoty.

Cílem bakalářské práce je zkonstruovat komplexní mikrofluidní systém, který dokáže měřit pH protékající kapaliny uvnitř uzavřeného systému, Též dokáže měřit teplotu kapaliny a měnit průtok kapaliny na základě změně rychlosti otáčení peristaltické pumpy z důvodů změny rychlosti otáčení hřídele motoru. Řízení motoru je vyřešeno použitím řadiče umožňující mikrostepování.

V dalším kroku bude systém doplněn o Bluetooth modul a řídící aplikaci pro chytrý telefon. Tato soustava usnadní práci cílovému uživateli, protože místo nastavování parametrů uvnitř kódu a jejich následné přehrávání do paměti Arduina, budou data bezdrátově posílána se stejným účinkem.

1. Buňka

Buňka je základní stavební a funkční jednotkou všech živých organismů. Jedná se o nejmenší objekt, který je schopen samostatné existence. Buňka zabezpečuje všechny základní životní funkce, ať samostatně u jednobuněčných organismů, nebo s dalšími buňkami mnohobuněčného organismu. [1], [4]

Mezi základní životní funkce patří příjem látek a energií a jejich metabolismus, rozmnožování, uchování genetické informace o vnitřní stavbě a funkci buňky a dále je to reakce na podněty a přizpůsobení se okolním podmínkám. [2], [3]

Buňka jakožto systém je otevřený systém, který je regulován mnohačetnými regulačními mechanismy. [2], [3]

Jak vyplývá z výše zmíněného, tak buňka je dále nedělitelná, což znamená, že pokud bychom narušili její integritu a samostatně oddělili jednotlivé buněčné organely, tak je experimentálně zjištěno, že by tyto organely vykazovaly metabolickou činnost z počátku beze změny. [2], [3]

Z hlediska laboratorní praxe je dále nutné provést dělení buněk z hlediska složitosti stavby a zaměřit se metody segregace buněk. [1], [2], [3]

1.1. Srovnání prokaryotické a eukaryotické buňky

V současné době jsou vědecky dokázány existence 2 hlavních, strukturně velice odlišné typů buněk – prokaryotické a eukaryotické. Toto dělení vzniklo na základě studia jádra těchto typů buněk.

U prokaryotických buněk je jádro někdy označovaný jako *nukleoid* nebo bakteriální chromozom tvořeno jedním chromozomem volně loženým v cytoplazmě. U eukaryotických buněk je jádro označováno jako *nukleus* nebo *karyon* a je výrazně složitější. Zpravidla tvoří samostatnou jednotku, která je od cytoplazmy oddělena membránou s jadernými póry. Uvnitř této jednotky je polotekutá hmota – *karyoplazma*, v níž jsou chromozomy s DNA. [2], [3]

Dalším výrazným rozdílem je velikost buněk. Prokaryotické buňky jsou zpravidla menší buňky eukaryotické. [2], [3]

Následným výzkumem se podařilo objevit další rozdíly. Veškeré tyto rozdíly jsou shrnuty do tabulky **Tabulka 1.1**. [1], [3]

Tabulka 1.1 – Srovnání hlavních rozdílů mezi prokaryotickou a eukaryotickou buňkou.

	Prokaryotická buňka	Eukaryotická buňka
DNA	Cirkulární molekula volně v cytoplazmě	Dlouhá, lineární, organizovaná, uzavřena v jaderném obale
RNA a proteiny	Syntéza ve stejné části	RNA je syntetizováno a upraveno v jádře, proteiny v cytoplazmě

	Prokaryotická buňka	Eukaryotická buňka
Velikost	1–10 μm	10–100 μm
Organismy	Bakterie a cyanobakterie	Prvoci, rostliny, houby a živočichové
Strukturní složitost	Většinou jednobuněčné	Mnohobuněčné (diferencované buňky)
Metabolismus	Anaerobní i aerobní	Aerobní
Organely	Zřídka	Jádro, mitochondrie, endoplazmatické retikulum, …
Cytoplazma	Není cytoskelet a chybí exo- i endocytóza	Přítomen cytoskelet, exo- i endocytóza
Buněčné dělení	Binární	Mitóza

1.2. Přežití buňky

Při pozorování buňky v laboratorních podmínkách hovoříme o 3 stavech, které jsou v následujících odstavcích popsány. V rámci mého semestrálního projektu je nejdůležitější stav *in vitro*. [4]

- *In vivo*

Jedná se o stav, kdy organismus, popřípadě jeho orgány či jednodušší struktury jsou pozorovány v jeho přirozených podmínkách. Jako přirozené podmínky se rozumí orgány, pletiva či buňky. [4]

- *Ex vivo*

Tento stav popisuje situaci, kdy pozorovaný objekt je vyjmut z živého organismu. Ve vědecké praxi se jedná o to, že objekt pozorování je chirurgicky vyjmut a umístěn do vnějšího prostředí, kde je na něm proveden výzkum. [2], [3]

Jednou z hlavních výhod metody *ex vivo* je fakt, že výzkum na objektu je eticky dovolen, zatímco výzkum na celém živém organismu není. [4]

- *In vitro*

Tento termín v doslovné překladu z latiny znamená: „ve skle“, což dává jasné informace o tomto stavu. Zde je pozorovaný objekt umístěn do laboratorních zkumavek, ať už právě ze skla či plastu. [4]

Ve zkumavce se kromě pozorovaného objektu nachází také roztok prostředí. Roztok je natolik důležitý, že je mu věnována samostatná kapitola.

Pokud jsou objekty nejčastěji samostatné buňky umístěny do zkumavky lze s nimi provádět nejrůznější aktivity. V laboratorní praxi se nejčastěji jedná o kultivaci – děj, při kterém je z jediné buňky při ideálních podmínkách zajištěných okolním médiem vypěstována celá kultura. [4]

- Podmínky přežití – roztok

Buňky umístěné mimo in vivo jsou velice rychle ničeny nepříznivým okolním prostředím, proto je nutné je co nejrychleji umístit do in vitro podmínek. Zde jsou obklopeny roztokem někdy nazývaným médium. Na tento roztok jsou kladeny vysoké požadavky.

V prvé řadě se musí jednat o roztok, který se svými chemickými a fyzikálními vlastnostmi co nejvíce blíží přirozenému prostředí. Zde je nutné důsledně sledovat hodnoty koncentrace solí, živin, pH a teploty. [4], [4]

Před vznikem mikrofluidních systémů se ty hodnoty zjišťovali běžným pohledem, kdy se roztoku živného média měnila barva v závislosti na úbytku živin, s nimiž je spojena změna pH. Další možností bylo odebrat roztok, což značně zvyšovalo pravděpodobnost kontaminace. [4]

2. Světlo a jeho analýza

Tato kapitola je věnována světlu a jeho vlastnostem, které jsou poté následně vysvětleny, proč jsou využívány u optických metod, použitých pro měření pH.

2.1. Světlo

Z biologického hlediska je světlo nezbytnou podmínkou přežití drtivého množství života na Zemi zejména rostlin.

Mimo to světlo bylo objektem fyzikálního zkoumání, a proto je poměrně přesně popsáno jeho chování především na rozhraní dvou opticky rozdílných prostředí či průchodu látkou. Důsledkem je to, že světlo je hojně využíváno jako analytický prostředek.

2.1.1. Elektromagnetické záření

Elektromagnetické záření je forma energie, jejíž chování je definováno vlastnostmi vln a částic tvořící tuto energii. Vlnový charakter značí optické vlastnosti. Vědecky je dokázána interakce mezi látkou a vlněním, čímž se dokázala přítomnost částic a fotonů. [5]

Z tohoto faktu vyplývají 2 vztahy popisující energii fotonu z pohledu částicového a vlnového. Vztah **(3.1)** popisuje pohled částicový, zatímco vztah **(3.2)** pohled vlnový. [5]

$$E = h \cdot f \tag{3.1}$$

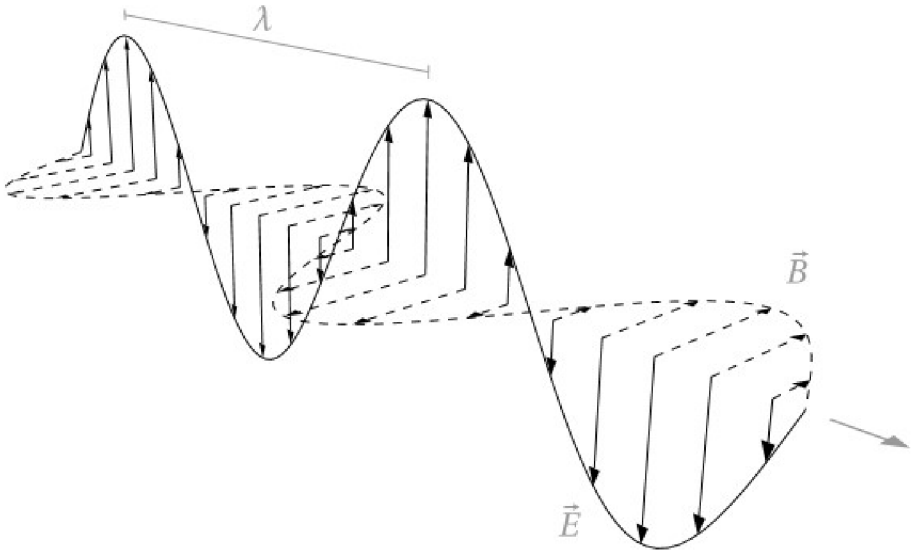
kde E je energie v J, h je Planckova konstanta rovna $h = 6{,}626 \cdot 10^{34}\ J \cdot s$ a f je frekvence v Hz. [5]

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda} \tag{3.2}$$

kde E je energie v J, h je Planckova konstanta rovna $h = 6{,}626 \cdot 10^{34}\ J \cdot s$ a c je rychlost světla ve vakuu, jenž je rovna $c = 299.792.458\ m \cdot s^{-1}$ a λ je vlnová délka v m. Pro potřeby některých problémů je definována i jiná jednotka energie E a to eV. Převodní vztah mezi jednotkami je vyjádřen vztahem **(3.3)**. [5]

$$1\ eV \doteq 1{,}602 \cdot 10^{-19}\ J \tag{3.3}$$

Každý objekt s nenulovou hmotností je zdrojem elektromagnetického záření. Zahřátá tělesa vyzařují okem viditelné záření, zatímco tělesa chladná naopak vyzařují infračervené záření, které je okem nepozorovatelné. Elektromagnetické záření je tvořeno oscilacemi elektrické a magnetické složky, jež se šíří kolmo ke směru šíření v prostoru po lineární dráze s konstantní rychlostí. Tento fakt je graficky znázorněn v **Obrázku 3.1**. [5], [6]



Obrázek 3.1 – Grafické znázornění závislosti, kde λ je vlnová délka v m, $\vec{E}$ je vektor intenzity elektrického pole a $\vec{B}$ je vektor magnetické indukce. [7]

2.1.2. Zákony popisující světlo

Pro chování světla platí několik základní zákonů. Jejich základní definici a význam je uveden v následující podkapitole.

- Odraz světla

Odraz neboli reflexe popisuje chování světelného paprsku na rozhraní dvou opticky rozdílných prostředí, kdy jedno prostředí je natolik rozdílné, že dopadající paprsek se odrazí. Tento vztah je definován je vyjádřen vztahem **(3.4)**,

$$\alpha = \alpha' \tag{3.4}$$

kde α je úhel dopadu světla v ° a α' je úhel odrazu světla v °. [11]

- Lom světla

Lom světla neboli refrakce popisuje chování paprsku světla, který z optického prostředí popsaného indexem lomu n_1 prochází do prostředí popsaného indexem lomu n_2. Snellův zákon popsaný vztahem **(3.5)** se přímo vyjadřuje k této problematice. [11]

$$\frac{\sin(\alpha)}{\sin(\beta)} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{n_2}{n_1} \tag{3.5}$$

kde α je úhel dopadajícího paprsku ve °, β je úhel lomu ve °, v_1 a v_n je rychlost šíření paprsku a n_1 a n_2 jsou indexy lomu. [11]

Index lomu n udává poměr mezi rychlostí světla ve vakuu oproti rychlosti světla v daném optickém prostředí. Vyplývá, že se blíží k 1 u prostředí blížících se vakuu. Vztah **(3.6)** udává výpočet. Mimo jiné jsou tyto hodnoty tabelovány. [11]

$$n = \frac{c}{v} \tag{3.6}$$

kde n je index lomu, c je rychlost světla ve vakuu (hodnota uvedena výše) a v je rychlost světla v daném optickém prostředí, jejíž jednotkou jsou $m \cdot s^{-1}$. [11]

Šíří-li se paprsek z opticky hustšího prostředí do prostředí řidšího hovoříme o lomu ke kolmici, u něhož platí vztahy **(3.7)**. [5], [6]

$$n_2 > n_1;\ \alpha > \beta \tag{3.7}$$

Pokud však je tomu naopak – paprsek se šíří z opticky řidšího prostředí do prostředí hustšího, hovoříme o lomu od kolmice popsaného vztahem **(3.8)**. [5], [6], [11]

$$n_2 < n_1;\ \alpha < \beta \tag{3.8}$$

- Absorpce světla

Jedná se o fyzikální jev, při němž dochází k zeslabování intenzity světla procházejícího prostorem – látkou, dochází tedy k pohlcení a zeslabení záření. Tohoto jevu využívá především spektrofotometrie. [8]

Principem je fakt, že foton s určitou energií je při průchodu zachycen látkou jejíž atomy mají valenční elektrony v přechodu mezi dvěma energetickými stavy. Díky tomuto fotonu postoupí do vyššího energetického stavu. Pohlcená energie fotonu je buď vyzářena jako tepelné nebo jako světelná energie. [8]

Existují různé druhy absorpcí: neutrální, selektivní, spojitá a čárová. Liší se mezi sebou pouze tím, jak velká část spektra je pohlcována. [8]

Absorpce je popsána Lambertovým zákonem vyjádřený vztahem **(3.9)**,

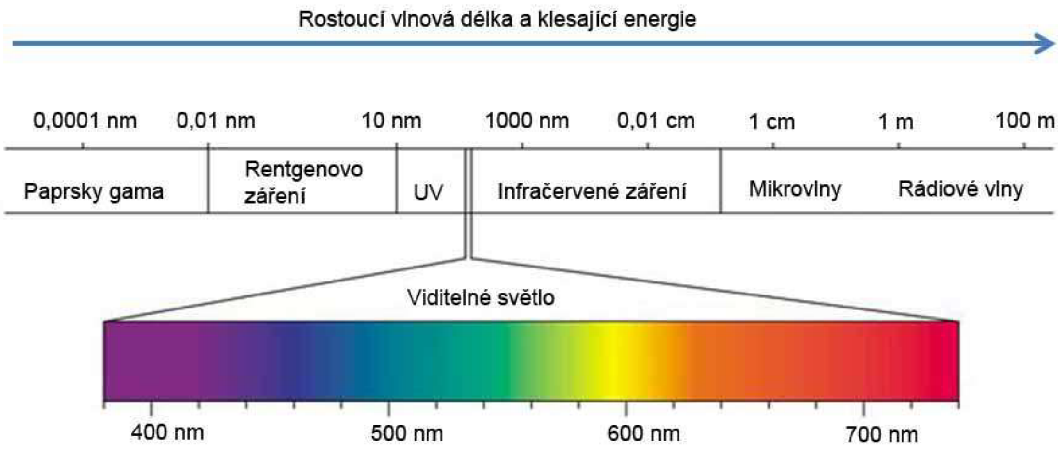
$$I = I_0 \cdot e^{-\mu \cdot d} \tag{3.9}$$

kde I je intenzita výsledného světla, I_0 je intenzita dopadajícího světla, μ je lineární součinitel zeslabení a d je tloušťka absorbující vrstvy. [8]

2.1.3. Spektrum elektromagnetického záření

Spektrum zahrnuje elektromagnetická záření všech vlnových délek, v některých zdrojích se lze setkat s označením Maxwellova duha.

Druhy záření se rozlišují podle vlnové délky λ a zdroje záření. Mezi jednotlivými druhy záření nejsou ostré hranice a často se stává, že jedno záření volně přechází v druhé.



Obrázek 3.2 – Spektrum elektromagnetického záření. [12]

Vztah pro výpočet rychlosti z frekvence a vlnové délky je uveden ve vztahu **(3.10)**

$$c = \lambda \cdot f \tag{3.10}$$

kde c je rychlost světla, λ je vlnová délka v m a f je frekvence v Hz. Z tohoto vztahu vyplývá, že čím má záření větší vlnovou délku, tím má menší frekvenci a naopak. [6]

Ve spektru se nachází významné druhy záření, jež jsou některými vlastnostmi důležité. Zde jsou vyjmenovány sestupně podle velikosti vlnové délky:

- Rádiové vlny
- Mikrovlny
- Infračervené záření
- Viditelné světlo
- Ultrafialové záření
- Rentgenové záření
- γ - záření

Z hlediska mé práce je důležité pásmo viditelného světla. [5], [6], [11]

2.2. Spektrální analýza

V této podkapitole jsou popsány druhy spekter a jakými metodami je lze analyzovat. Pro pozdější bakalářskou práci bude využita metoda spektrofotometrie.

2.2.1. Typy a původ spekter

Pokud záření necháme procházet přes štěrbinu a optický krystal vznikne spektrum. Každé spektrum je typické svým vzhledem i původem – zdrojem záření.

- Spojité spektrum

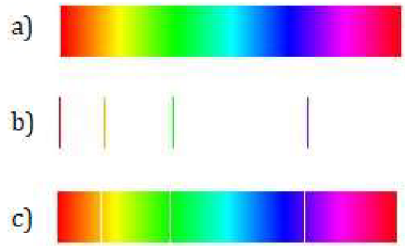
Pokud zdrojem záření je teplé, velmi husté těleso vzniká spojité spektrum. Jedná se o velmi známou „duhu“, která vzniká průchodem viditelného světla přes optický krystal. [11], [12]

- Emisní čárové spektrum

V tomto případě je zdrojem záření teplé těleso, avšak s menší hustotou než případě spojitého spektra. Nejčastěji se jedná o zahřátý plyn. Zde atomy díky zahřátí přejdou do vyššího energetického stavu a následně se vrátí do původního. Rozdíl energií mezi stavy je vyzářen jako světlo o určité vlnové délce, což se projeví na výsledném spektru, které je tvořeno pouze čarami vyzářeného světla na těch vlnových délkách. [11], [12]

- Absorpční čárové spektrum

Zde je vznik nejsložitější – teplý, velmi hustý zdroj ozařuje studené, méně husté těleso. Atomy plynu pohltí, absorbují určité vlnové délky, které se projeví vynechanými čarami ve spojitém spektru. [11], [12]



Obrázek 3.3 – Grafické znázornění výše zmíněných typů spekter. Kde a) je spojité spektrum, b) je emisní čárové spektrum a c) je absorpční čárové spektrum. [13]

2.2.2. Absorpční spektrální analýza

Absorpční spektrální analýza zkoumá spektrum záření, které prošlo vzorkem. Nejčastějšími typy záření dopadající na vzorek je viditelné světlo, nebo UV záření. Výsledné absorpční spektrum obsahuje čáry přerušující spojité spektrum, které odpovídají zkoumanému vzorku. [15]

Tohoto se využívá při zjišťování koncentrace roztoku vzorku s pomocí Lambert – Beerova zákona, který je vyjádřen vztahem **(3.11)**:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) \qquad \textbf{(3.11)}$$

kde A je bezrozměrná absorbance, I_0 je intenzita dopadajícího světla o určité vlnové délce λ a I je intenzita prošlého světla.

Tento vztah lze vhodně upravit, kdy využijeme molární extinkční absorpční koeficient ε. Tento koeficient značí úměrnost, která je typická pro danou látku a vlnovou délku. Vztah po úpravě vyjádřen vztahem **(3.12)** může vypadat takto:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c \tag{3.12}$$

kde A je absorbance, ε je extinkční koeficient s jednotkou $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, l je šířka vzorku, kterým prochází světlo (nejčastěji $1\ cm$) a c je koncentrace roztoku. [26]

Pro světlo procházejí průhlednou kapalinou se kromě absorbance uplatní také transmitance. Taktéž známá jako propustnost, může být vypočítána s pomocí Lambert – Beerova zákona. Tvar výpočtu je vyjádřen vztahem **(3.13)**.

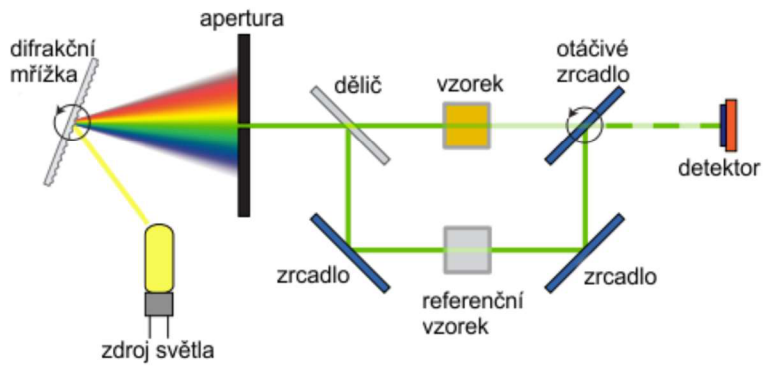
$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon \cdot l \cdot c} \tag{3.13}$$

kde T je transmitance, I_0 je intenzita dopadajícího světla, I je intenzita prošlého světla, ε je extinkční koeficient s jednotkou $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, l je šířka vzorku, kterým prochází světlo (nejčastěji $1\ cm$) a c je koncentrace roztoku. [6], [26], [27]

- Spektrofotometrie

Jedná se o analytickou metodu, která hodnotí vzorek na základě měření pohlcování odrazu a průchodu světla o různých vlnových délkách. Přístroje zvané spektrofotometry či spektrometry pracují se spektrem viditelného záření, ale mohou používat záření, které se svými hodnotami vlnové délky blíží UV či IR záření. [16], [17]

Přístroj se skládá ze zdroje bílého monochromatického záření, po něm následuje monochromátor (optický hranol nebo mřížka), který rozdělí světlo na jednotlivé složky a oddělí určitou vlnovou délku jenž projde vzorkem. Tento svazek dopadající na vzorek je rozdělen na dva, kdy jeden doopravdy dopadá na vzorek a druhý slouží jako referenční hodnota. Rozdíl intenzit mezi referenční hodnotou svazku a hodnotou prošlého svazku vyhodnotí fotosenzitivní detektor, který následně určí absorbanci. V dalším kroku měření je provedeno to samé je se světlem jiné barvy – vlnové délky. [16], [17]



Obrázek 3.4 – Schéma spektrální analýzy pomocí spektrofotometru. [15]

Samotné měření začíná sestavením kalibrační křivky, kdy jsou proměřeny známé roztoky a poté následně vyneseny do grafu. Zde je vynesena závislost absorbance A na koncentraci c roztoku. Koncentraci měřeného vzorku tudíž získáme, pokud vyneseme naměřenou hodnotu absorpce. [15]

- Fotometrie

Fotometrie je vlastně zjednodušená spektrofotometrie. Zde se místo proměření vzorku celým spektrem používá pouze světlo s jednou vlnovou délkou. [15]

- Kolorimetrie

Jedná se o optickou metodu založenou na porovnávání intenzity zabarveného roztoku o neznámé koncentraci s roztokem stejné látky o známé koncentraci. [15]

2.2.3. Emisní spektrální analýza

Podstatou této analýzy je vytvoření elektromagnetického záření ze vzorku, kdy elektrony vzorku přejdou do vyššího energetického stavu, který je ovšem nestabilní a dojde k vyzáření záření. Pokud toto záření necháme projít přes spektrální zařízení – například štěrbina a hranol, budeme detekovat emisní čárové spektrum. [16]

Tohoto jevu nejvíce využívá plamenná spektrofotometrie, kdy do plamene hořáku vložíme vzorek zkoumané látky, u níž se vlivem tepla excitují elektrony. Při následném návratu na nižší energetickou hladinu vyzáří světlo. Jelikož může být vzorek tvořen různými atomy s různým počtem elektronů, budou na spektru vznikat různé spektrální čáry. Zde může být spektrum zaznamenáno na fotografický papír, poté hovoříme o plamenné spektrografii. [16]

3. Mikrofluidní systémy

Co jsou to mikrofluidní systémy? Nejprve je nutné si uvědomit, co slovo „mikrofluidní“ znamená. Toto slovo vzniklo složení slov „mikro“ a „fluidní“. Poslední zmíněně slovo se odkazuje, že systém pracuje s fluidní – tekutou látkou. Může se tedy jednat o kapalnou nebo plynou látku, nejčastěji se však jedná o kapalinu.

Prvně zmíněné slovo znamená, že systém buď pracuje s malým objemem, nebo je konstrukčně velmi malý, či má nízkou energetickou náročnost. V neposlední řadě též může využívat speciálních jevů.

3.1. Výhody MS

Jednou z hlavních výhod je malá spotřeba vzorku a činidel pro pokus. Tato výhoda má nezastupitelné kvality ve forenzní vědě, kde je velmi omezené množství zkoumaného vzorku. [18]

S první výhodou souvisí i další výhoda – systém pracuje s velmi malým množstvím kapaliny. Řádově μl, nl, pl a dokonce i fl. [18]

V dnešní době je další nespornou výhodou fakt, že MS zanechávají malé fyzické i ekonomické stopy. [18]

Další výhodou je možnost paralelizace a automatizace. Jelikož systém pracuje s velmi malým objemem, tak lze při vhodné konstrukci čipu provádět více pokusů najednou. S tím přímo souvisí konstrukce čipů, na které jsou MS instalovány. Díky miniaturizaci součástek, lze postavit čip, jenž svojí funkcí může nahradit několik laboratorních pracovníků. Výsledkem tohoto je více relevantních výsledků postižených menší chybou lidského faktoru. [18]

3.2. Základy mechaniky kapalin

Pro MS platí několik fyzikálních zákonů a předpokladů, které popisují chování kapaliny v trubici. Je vhodné zmínit, že u mikrofluidních čipů jsou používány trubice o šířce lidského vlasu (70 μm). [18]

3.2.1. Zákony zachování

- Zákon zachování hmotnosti

Tento zákon říká, že v uzavřené soustavě součet hmotností látek, které vstupují do reakce se rovná součtu hmotností látek, které vystupují z reakce. [10]

- Zákon zachování hybnosti

Tento zákon říká, že celková hybnost izolované soustavy těles se nemění. [10]

3.2.2. Předpoklady

Pro práci s kapalinami v MS jsou brány následující předpoklady týkající se kapalin jako splněné podmínky.

- Nestlačitelnost

Tento předpoklad se týká objemu kapaliny. Říká, že zvýšením tlaku se nezmění objem kapaliny. [5]

- Rychlost

Druhý předpoklad se týká rychlosti proudění kapaliny v trubici a říká, že rychlost proudění kapaliny uprostřed trubice je maximální, zatímco rychlost proudění na okraji trubice je minimální – nulová. Pro pozdější výpočty se proto uvádí střední rychlost proudění, často uváděna pouze jen jako rychlost proudění. [5]

3.2.3. Kapaliny

Při práci s fluidikami se lze setkat s dvěma typy kapalin, jež jsou popsány v následující podkapitole.

- Newtonovské kapaliny

Jedná se o takové kapaliny, u nichž je lineární závislost mezi deformací a mechanickým napětím. Čili viskozita není závislá na mechanickém napětí a rychlosti. [18]

- Nenewtonovské kapaliny

Zde je nelineární vztah mezi smykovým napětím a deformací. Typickým příkladem těchto kapalin je krev. [18]

3.2.4. Proudění

Pokud hovoříme o kapalině proudící v trubici, tak je nutné definovat, jak tato kapalina může proudit a čím je kvalita proudění definována.

- Laminární proudění

Nejideálnější případ proudění. Hovoříme o něm při proudění kapalin při malých rychlostech. Zde též platí že vektory rychlosti v jednotlivých vrstvách kapaliny jsou rovnoběžné. [10]

Z hlediska proudění roztoků je nevhodné, neboť mezi vrstvami kapaliny nedochází k mísení, což může být žádané či nikoli. [10]

- Turbulentní proudění

Pokud zvýšíme u laminárního proudění rychlost proudění nad kritickou hodnotu, kterou lze stanovit skrze Reynoldsovo číslo, tak dojde ke změně proudění kapaliny na turbulentní. Při tomto typu proudění se proudnice – myšlené čáry, jejichž tečny sestrojené v libovolném bodě určují směr pohybující se částice kapaliny, se rozpadají a vznikají víry. [10]

Tohoto jevu lze využít pro míchání, kdy se vrstvy kapaliny s různou koncentrací budou mísit mezi sebou. [10]

- Reynoldsovo číslo

Tato bezrozměrná veličina stanovuje, zda je proudění v kapalině laminární či turbulentní.

Stanovení je buď prováděno experimentálně pro daný druh kapaliny a rychlosti, nebo je pro důležité kapaliny definováno. Nejdůležitější je zde stanovení kritické hodnoty, kde dochází k přeměně laminárního proudění na turbulentní. [6]

Vztah pro výpočet Reynoldsova čísla je uveden ve vztahu **(4.1)**.

$$Re = \frac{v_s \cdot d}{\upsilon} \tag{4.1}$$

kde Re je Reynoldsovo číslo, v_s je střední rychlost kapaliny v $m \cdot s^{-1}$, d je průměr trubice, kterou kapalina proudí v m a υ je kinematická viskozita v $m^2 \cdot s^{-1}$. [6], [10]

3.3. Speciální jevy spojené s MS

Pro práci s MS jsou typické speciální jevy vztahující se k proudění kapaliny.

3.3.1. Laminární proudění

Pro potřeby použití se při práci používají zvláštní typy proudění.

- Couetteovo proudění

Jako Couettův proud se označuje tok viskózní tekutiny mezi dvěma deskami, z nichž se jedna pohybuje oproti druhé. Typickými příklady řešení jsou dvě desky, mezi nimiž je mezera nebo dva soustředné válce. Průtok je poháněn vlivem viskózní tažné síly působící na tekutinu, ale může být dále motivován aplikovaným tlakovým gradientem ve směru proudění. [18]

- Poiseuilleovo proudění

Jedná se o typické proudění kapaliny ve válci popsáno Hagen – Poiseuilleův zákon vyjádřenou vztahem **(4.2)**:

$$\Delta p = \frac{8 \cdot \eta \cdot l \cdot Q}{\pi \cdot r^4} \tag{4.2}$$

kde Δp je rozdíl tlaků mezi oběma konci trubice v Pa, l je délka trubice v m, η je dynamická viskozita v$N \cdot s \cdot m^{-2}$ ekvivalent $Pa \cdot s$, Q je průtok v $m^3 \cdot s^{-1}$ a r je poloměr trubice v m. [5], [10]

H-P zákon lze odvodit z Navier – Stokesovi rovnice. Touto úpravou se dozvídáme, že pokud předpokládáme laminární proudění uvnitř trubice, tak právě laminární proudění předpokládá vzniku lamel – kruhové vrstvy kapaliny se stejnou rychlostí. Dále je předkládáno, že maximální rychlost proudění je ve středu trubice a minimální na okraji (= stav bez skluzu).

Hlavní důvodem, proč se využívá právě laminární proudění je ten, že nedochází ke vzniku vírů a mixování roztoku. Dalším důvodem je snadné ovládání rychlostí v trubici. Pokud máme mikrofluidní kanál tvořený více vstupy, tak je toto ideální řešení ovládání. [5], [10], [18]

3.3.2. Difuze

Difuze je děj, při němž dochází k samovolnému rozptylu částic. Máme-li dva roztoky o různé koncentraci téhož iontu oddělené membránou propustnou pouze pro tento iont, tak vlivem difuze se tyto koncentrace vyrovnají. [10]

Z hlediska MS jsou-li vedle sebe dva mikrofluidní proudy kapaliny o různé koncentraci, tak mezi nimi vznikne gradient. Tento gradient se bude snažit vyrovnat koncentrace, ale svojí činností též sníží rychlost průtoku v obou proudech. [5]

Difuzi lze popsat jednoduchou rovnicí vyjádřenou vztahem **(4.3)**:

$$X = \sqrt{2 \cdot D \cdot t} \tag{4.3}$$

kde X je délka difuze, D je konstanta difuze a t je čas. Pokud chceme urychlit difuzi, je vhodné použít speciální konfigurace proudů, kdy je jí do cesty vložena překážka, která způsobí mísení (Y – mixér, Tesla – mixér, obstrukční mixér). [18]

3.3.3. Povrchové napětí

Zvláštní jev, při němž se povrch kapaliny chová jako jakási elastická fólie je výsledkem povrchového napětí. Zde se kapalina snaží dosáhnout tvaru s co nejmenším obsahem, proto vznikají kulovité kapky. Povrchové napětí je výsledkem interakcí přitažlivých sil molekul kapaliny na povrchu. [18]

Povrchové napětí vypočítat pomocí vztahu **(4.4)**:

$$\sigma = \frac{F}{l} \tag{4.4}$$

kde σ je povrchové napětí v $N \cdot m^{-1}$, F je povrchová síla v N a l délka okraje povrchové blány v m. [18]

3.3.4. Kapilarita

Kapilární elevace a kapilární deprese souhrnně označované jako kapilarita jsou jevy vznikající ponoříme-li kapiláru jedním koncem do kapaliny a druhý bude volný. [18]

V případě kapilární elevace jsou molekulové interakce silnější mezi buňkami kapiláry než molekulové interakce v kapalině. Zde dojde ke vzlínání kapaliny směrem vzhůru, proto hovoříme o elevaci. Vztah pro výpočet výšky h o kterou vzroste hladina v kapiláře při zanedbání stykového úhlu α je vyjádřen vztahem **(4.5)**:

$$h = \frac{2 \cdot \sigma}{r \cdot \rho \cdot g} \tag{4.5}$$

kde h je změna výšky hladiny v m, σ je povrchové napětí v $N \cdot m^{-1}$, r je poloměr kapiláry v m, ρ je hustota kapaliny a g je tíhové zrychlení, pro něj platí vztah **(4.6)**:

$$g \cong 10 = 9{,}91275\, m \cdot s^{-2^*} \qquad \textbf{(4.6)}$$

* platí pro Brno. [5], [10], [18]

3.3.5. EOF

EOF neboli elektroosmotický průtok je pohyb kapaliny indukovaný přiloženým potenciálem na porézní materiál, kapilární trubici, membránu a další. Elektroosmotický průtok je nejvýznamnější v malých kanálech. Elektroosmotický průtok je základní složkou chemických separačních technik, zejména kapilární elektroforézy.

V MS systémech se jedná o významný děj, kdy v kapiláře je roztok obsahující sodný iont a mimo kapiláru je chloridový aniont. Pokud přiložíme záporné napětí mimo kapiláru, vznikne gradient, který uveden roztok do pohybu. [18]

3.4. Konstrukce MS

MS se vždy skládá z nečipové a čipové části. Za nečipovou část bereme například pumpu či ventily. Čipová část je tvořena mikrofluidními strukturami a samotným čipem provádějícím analýzu. [18]

Jako výrobní materiály MS se nejčastěji používá sklo, u kterého převládá EOF. Dalším velice hojně využívaným materiálem je PDMS neboli *polydimethyl siloxan*. Tento materiál je jedním z nejrozšířenějších organických polymerů založených na křemíku. Jeho výhodami jsou nízká cena a v některých případech využití i jednorázovost. Ovšem má i své nevýhody jako to, že je hydrofobní a nenastává u něj tolik EOF.

Jak se takový MS vyrábí? Velice jednoduše v případě PDMS, kdy stačí šablonu zalít tekutým silikonem a nechat zatvrdnout. [18]

3.5. Využití MS

MS jsou zvláštní spojnicí pro inženýrství, fyziku, chemii, biochemii, nanotechnologii a biotechnologii, kde jsou zpracovávány malé objemy kapaliny pro dosažení multiplexování, automatizace a vysoce výkonného screeningu. [18]

- Průtoková mikrofluidika

Jedná se o technologie založené na kontinuálním průtoku kapaliny, která je řízena externě – zdroj tlaku, čerpadla, integrovaná mikročerpadla nebo kapilární jevy s elektrokinetickými mechanismy. [18]

Vhodné pro jednoduché biologické úlohy jako je separace bílkovin, avšak zcela nevhodné pro vysoce flexibilní úlohy vyžadující komplexí práci s kapalinami. [18]

Možnosti sledování procesů v systémech s nepřetržitým prouděním lze dosáhnout vysoce citlivými mikrofluidními průtokovými snímači založenými na technologii MEMS, která nabízí rozlišení až do rozsahu nl. [18]

- Kapková mikrofluidika

Toto je podkapitola mikrofluidik, kde se pracuje s kapkami s diskrétními objemy tekutin v nemísitelných fázích s nízkým Reynoldsovým číslem a laminárním průtokovým režimem. [18]

Mikrokapky dovolují pracovat s doopravdy malými objemy kapaliny (řádově μl i pl), což umožňuje lepší mísení, zapouzdření, třídění a snímání. Zcela vyhovují experimentům s vysokou propustností. [17], [18]

- DNA čipy

Na podložním materiálu (sklo, plast, nebo křemík) je v mikroskopickém poli umístěn kus DNA. Analogicky s DNA mikroskopem je zde proteinové pole, kde na čipovém povrchu je uloženo množství zachycovacích činidel – monoklonálních protilátek. Ty se využívají k určení přítomnosti a množství bílkoviny v biologických roztocích. [18]

Nevýhodou proteinových polí je, že nejsou rekonfigurovatelné a ani škálovatelné po výrobě. [17], [18]

3.5.1. Mikroskopické techniky

Spojování mikrofluidik s optikou vede ke vzniku optofuidiky. Příklady optofluidních zařízení jsou ladící mikroskopy a optofluidní mikroskopy. Průtok mikrofluidiky umožňuje rychlou průchodnost vzorků, automatické zobrazování velkých populací vzorků a také možnosti 3D nebo super resoluce. [18]

Jak bylo zmíněno výše v kapitolách 1 a 3, je nutné pro mikroskopování udržovat zkoumané kultivované buňky v roztoku živin. Zde je problematické zjišťování aktuální hodnoty pH. Běžně je buď pravidelně nebo v případě potřeby otevřena nádobka s kultivovanými buňkami a je odebrán vzorek živného roztoku. Každé další otevření i přes striktní dodržení pracovního postupu pro udržení sterility vede k možné kontaminaci. [18]

Možným řešením je využití mikrofluidního systému s čipem, který opticky bude stanovovat hodnotu pH. Řešení je skládá z nádobky, kde je oddělena sekce s buňkami a sekce s čipem. Dále může být externím zdrojem dodáváno živné médium. [17], [18]

4. Elektronická platforma Arduino

Vývojová deska Arduino je levný vývojový set, který umožnuje komukoli stát se vynálezcem. Je to způsobeno tím, že se jedná o open source – veškeré typy, návody či schémata zapojení jsou volně stažitelné na internetu, a i pro sebesložitější projekt, lze najít nějakou radu. [21]

Arduino začalo jako odpověď italských *Interaction Design Institute* z města Ivrea, kteří chtěli studentům nabídnout levný a jednoduchý vývojový set. Během chvíle se Arduino stalo velice populární díky své cenně a komunitě, která svoje výtvory publikovala na internet pro inspiraci či pomoc ostatním. [21]

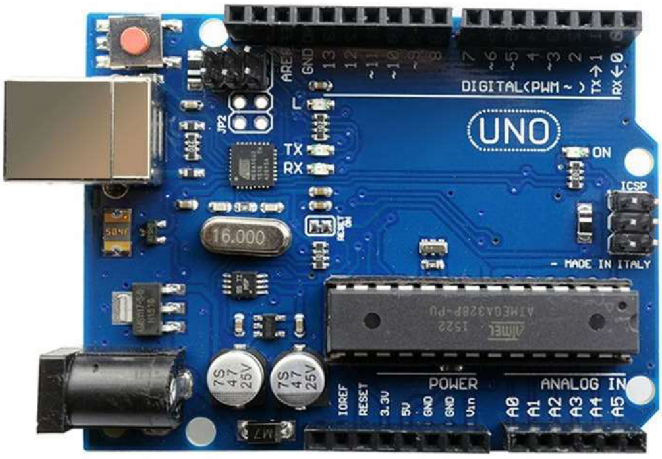
Tato platforma je natolik populární, že i dnes jsou vyvíjeny nové výkonnější desky. Za zmínku stojí deska Arduino Intel Galileo, která vznikla ve spolupráci s americkou firmou Intel. [20], [21]

4.1. Vývojová deska Arduino UNO R3

Veškeré vývojové desky se liší především velikostí a počtem pinů. Dalším dělícím faktorem je procesor. Základní modely těchto desek využívají 8 bitových mikrokontrolerů AVR od firmy Atmel. Pokročilejší desky využívají výkonnějších mikrokontrolery se silnějšími mikroprocesory. Jednotlivé rozdíly mezi nejvyužívanějšími deskami jsou uvedeny v tabulce **Tabulka 5.1**. [22]

Tabulka 5.1 – Rozdíly mezi deskami

Vývojová deska	Mikrokontroler	Flash paměť	Digitální piny	Analogové vstupy
UNO R3	ATmega328P	32 kB	14	6
Nano	ATmega328	32 kB	14	8
Mega	ATmega1280	128 kB	54	16
Mega 2560	ATmega2560	256 kB	54	16
Leonardo	ATmega32u4	32 kB	14	6



Obrázek 5.1 – Precizní klon desky Arduino UNO R3. [21]

4.1.1. Technické parametry Arduina UNO

Pro tuto práci je využit precizní klon vývojové desky Arduino UNO R3, v tomto případě označený Arduino UNO R3 328P DIL Precizní klon. Parametry této desky jsou shrnuty do tabulky **Tabulka 5.2**. [23], [24]

Tabulka 5.2 – Parametry použité desky

Parametr	Hodnota
Mikrokontroler	ATmega328P
Pracovní napětí	5 V
Vstupní napětí	7–12 V
Vstupní maximální napětí	6–20 V
Digitální piny (I/O piny)	14
PWM digitální piny (I/O piny)	6
Vstupní analogové piny	6
Stejnosměrný proud pro I/O piny	20 mA
Stejnosměrný proud pro 3,3 v pin	50 mA
Flash paměť	32 kB (z toho 0,5 kB použito pro boardloader)
SRAM	2 kB
EEPROM	1 kB
Krystal	16 MHz
LED_BUILTIN[1]	13
Délka	68,6 mm
Šířka	53,4 mm
Hmotnost	25 g

[1] Většina Arduino desek má pin spojený s LED na desce, která je v sérii s rezistorem. Tato konstanta udává, který z pinů je spojen s LED. V tomto případě se jedná o digitální pin 13.

- Napájení desky

V rámci tohoto semestrálního projektu je deska napájena skrze kabel (USB 2.0, A-B) z notebooku, kde je nahráván program skrze Arduino IDE.

Pro potřeby bakalářské práce, která z tohoto vychází, je nutné přejít od napájení z notebooku na *Stand Alone*, kdy napájení bude zajištěno externím zdrojem.

4.1.2. Programovací jazyk

Arduino UNO i jiné varianty lze ovládat skrze programování v jazycích C+ i C++, avšak nejjednodušší je používat knihovnu *Wiring*, která je v současné době nejrozšířenější. Tato knihovna je natolik komplexní, že se dá označit jako samostatný programovací jazyk. [20], [21]

4.2. Komunikace Arduina s ostatními zařízeními

Arduino jakožto platforma umožnuje a vybízí ke komunikaci, spolupráci s ostatními zařízeními. Tuto komunikaci lze rozdělit do 2 hlavních skupin.

4.2.1. Základní komunikace

Tento druh je zprostředkován bez použití *shieldů*. Co je to *shield* je vysvětleno v následující podkapitole.

- Komunikace Arduino – PC

Toto je nejzákladnější a nejběžnější způsob komunikace Arduina. Komunikace se provádí přes propojovací kabel USB. Zde je nejčastějším objektem komunikace a nahrání řídícího kódu do procesoru desky. [21]

V případě potřeby je možné spustit sériový monitor, který dává zpětnou vazbu v podobě dat, co se děje na desce. [20], [21]

- Komunikace Arduino – Arduino

Pokud je to nutné, tak je možné dvě a více platforem Arduino zapojit do série a vytvořit sériovou linku, kde jedna platforma se chová jako vysílač Tx a druhá a další jako přijímač Rx. [20], [21]

4.2.2. Komunikace s pomocí *shieldů*

Tento druh komunikace vyžaduje připojení shieldů, které umožnují komunikaci s jinými zařízení přes Bluetooth nebo Wi-Fi.

- Co je to shield

Shield je již hotová elektronická součástka, která je natolik vhodně sestrojena, že ji lze jednoduše zasunout do pinů desky. Nejčastější velikost je zvolena podle nejrozšířenější desky – Arduino UNO, ale nacházejí se i shieldy v jiných velikostech. [20], [21]

- Bluetooth modul

Tento modul po zapojení do pinů desky Arduino a nahrání řídícího kódu umožnuje odesílání nebo přijmutí dat technologií Bluetooth. [20], [21]

- Wi-Fi modul

Některé desky mají již instalovaný modul, který umožnuje komunikaci při určité frekvenci ($2{,}4\ Ghz$) a umožnuje být spuštěn jako Wi-Fi klient nebo stanice. [20], [21]

- Ethernet

Tyto shieldy umožnují připojení Arduina k domácí síti – internetu. Nejdostupnější modul umožnuje komunikaci s adresami typu IPv4 s rychlostí $10\ Mb/s$. [20], [21]

4.3. Arduino IDE

Arduino IDE je vývojové prostředí, kde uživatel po bezplatném stažení, může vytvářet řídící kód Arduina. Toto prostředí bylo napsáno v jazyce Java. Zkratka IDE vychází z anglických slov *Integrated Development Enviroment*. V českém překladu integrované vývojové prostředí. [21]

Původ tohoto softwaru lze spatřit v původním učebním prostředí *Processing*, které bylo upraveno, doplněno o některé funkce a v neposlední řadě doplněno o podporu jazyka *Wiring*. [21]

5. Měření pH

Jak je uvedeno v kapitole 1, tak pro přežití buněk je důležité okolní prostředí především jeho vlastnosti jmenovitě pH. Zde v této kapitole jsou uvedeny základní principy a metody.

5.1. Definice pH

Zkratka pH vychází z anglických slov *Potential of Hydrogen* (tato slova vycházejí z latinských se stejným významem), jenž volně přeložit jako potenciál vodíku. V literatuře se setkat s označením vodíkový exponent. [1], [6]

Tato logaritmická stupnice určuje, jak daný roztok bude reagovat – kysele či zásaditě. [1]

Výpočet pH je definován jako záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů. Tento výpočet je definován vztahem **(6.1)**

$$pH = -\log_{10} a_{H_3O^+} \qquad \textbf{(6.1)}$$

kde a je aktivita oxoniových kationtů. [6]

Pokud provedeme úpravu vztahu (6.1) za předpokladu, že aktivita a je velmi závislá na koncentraci c. Dále že pracujeme s roztokem, který není velmi koncentrovaný, a tudíž je koncentrace přibližně rovna aktivitě, vyjde nám vztah **(6.2)**

$$pH = -\log[H_3O^+] \qquad \textbf{(6.2)}$$

kde pH je bezrozměrné a c je koncentrace oxoniových kationů v $mol \cdot dm^{-3}$. [26], [27]

5.2. Elektrické metody

V současné době se výhradně používá potenciometrie využívající skleněnou elektrodu. Podstatou metody je velmi přesné měření elektrického potenciálu mezi měrnou skleněnou a referenční elektrodou. Elektrody II. druhu jsou nejčastěji využívány jako referenční elektrody. Také používáme kalomelovou či argentchloridová srovnávací elektrodu. [4]

Elektrický potenciál, který je měřen citlivým voltmetrem mezi měrnou a referenční elektrodou musí mít vysoký vstupní odpor. Komerční přístroje označované jako pH-metry provádějí převod měřeného napětí mezi elektrodami na hodnotu pH, která je následně zobrazena na digitální displej. [6]

5.3. Optické metody

Optické metody lze rozdělit do dvou skupin. První skupina využívá acidobazických testovacích proužků, zatímco u druhé skupiny je do roztoku vmísen indikátor, který se

zbarvuje různě v prostředích s různou hodnotou pH. Změna zbarvení je spektrálně analyzována.

5.3.1. Acidobazické papírky

Tato metoda spíše vhodněji označena za subjektivní metodu, vychází z namočení indikátorového papírku v podobě testovacího proužku do roztoku o neznámé hodnotě pH. Papírek díky reakci mezi roztokem a indikátorem dojde ke změně barvy na papírku, ta je pak následně porovnána s se stupnicí na obalu papírků. [16]

Jak je patrné, tato metoda je silně závislá na barvocitu pracovníka a jeho subjektivním pocitům. Dále jsou tyto papírky jednorázové a nejsou schopny rozlišit hodnotu pH s dostatečnou přesností a vždy jsou vyrobené pro poměrně úzký rozsah hodnot pH.

5.3.2. Spektrofotometrie

Před měřením samotného neznámého roztoku je nutné sestrojit kalibrační křivku. Tu získáme tak, že například 3 vzorky o známé hodnotě pH obarvíme fenolovou červení. Každý vzorek i prázdnou kyvetu spektrofotometricky proměříme. Výsledek měření zobrazíme jako závislost vlnové délky na intenzitě záření. Poté od každého vzorku odečteme spektrum kyvety a převedeme na absorbanci (zlogaritmování). Výsledný graf je závislost vlnové délky na absorbanci, kde průnik 3 křivek vytváří isosbestický bod. Pokusem nalezneme maxima napravo od tohoto bodu pro jednotlivé vzorky a vytvoříme grafickou závislost, kde na ose x je hodnota pH a na ose y právě tato hodnota absorbance. Vyjde nám hledaná kalibrační křivka, která má být lineární. Možný tvar kalibrační křivky je vyjádřen vztahem **(6.3)**:

$$A = m \cdot pH + n \qquad \textbf{(6.3)}$$

kde A je bezrozměrná absorbance, pH je vodíkový potenciál, m a n jsou parametry popisující přímku, kde m je sklon přímky a n je posunutí přímky.

Algoritmus pro neznámý vzorek vychází z výše zmíněného jen s některými zjednodušeními. Roztok obarvíme fenolovou červení a spektrofotometricky zjistíme jeho spektrum i se spektrem kyvety (často označována jako slepý vzorek). Od neznámého vzorku odečteme spektrum kyvety a převedeme na absorbanci. Zde však nastává zjednodušení – ve výsledném grafu závislosti vlnové délky na absorbanci máme již z předchozí části hodnotu isosbestického bodu, čímž nám stačí najít maximum napravo od tohoto bodu. Úpravou vztahu **(6.3)** nám vyjde vztah **(6.4)**, kam stačí dosadit hodnotu absorbance maxima a vyjde nám hodnota pH.

$$pH = \frac{A - n}{m} \qquad \textbf{(6.4)}$$

kde pH je vodíkový potenciál, A je bezrozměrná absorbance, m a n jsou parametry popisující přímku, kde m je sklon přímky a n je posunutí přímky.

6. Návrh systému

V této kapitole je uvedeno, jak výsledný MS byl sestaven a upřesněno, proč byly ony kroky při konstrukci použity. Celý MS je veskrze rozdělen do 3 segmentů, které mezi sebou skrze Arduino komunikují.

6.1. Pohonná jednotka

Hlavním segmentem systému je pohonná jednotka, vlastně se jedná o soustavu motoru, řadiče a peristaltické pumpy.

6.1.1. Motor

V této práci byl použit hybridní krokový motor standartu NEMA 17. Pro tento motor jsou charakteristické vlastnosti uvedeny v tabulce **Tabulka 6.1**. Hybridní označuje schopnost motoru být zapojen jak unipolární, tak i v bipolárním zapojení, zde je využito bipolární zapojení. Mezi jeho další výhody patří vysoký moment a nízká hlučnost.

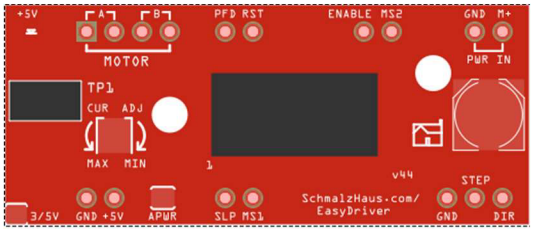
Tabulka 6.1 – Parametry motoru.

Parametr	Hodnota
Výrobce	*Shanghai Zhengji*
Model	J-4218HB2040
Hmotnost	$0{,}28\ kg$
Rozměry	$42 \times 42\ mm$
Krokový úhel	1,8°
Přidržovací moment	$0{,}46\ N \cdot m$
Elektrický proud	$0{,}6\ A$
Elektrický odpor	$15{,}5\ \Omega$
Induktance	$31\ mH$
Moment setrvačnosti	$55\ g \cdot cm^{-2}$

Vzhledem k vnitřní struktuře motoru a zvolenému zapojení jsou z 6 vodičů využity pouze 4 a to 2 pro každou ze 2 cívek.

6.1.2. Řadič

Hlavní spojovacím prvkem mezi motorem a Arduinem je řadič. Tento obvod umožnuje napájet motor, řídit jej a též napájet Arduino $+5\ V$. [31]

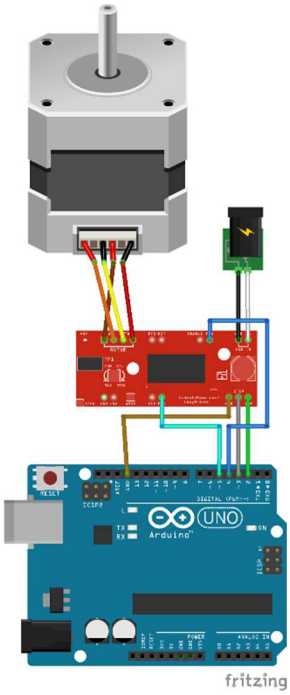


Obrázek 6.1 – EasyDriver Schmalzhaus verze 4.4.

Na tomto driveru jsou využity piny M+ a GND ve svorce PWR IN, kterými je napájen řadič ze síťového zdroje $+12\ V$ DC, $1500\ mA$. Též jsou využity piny A a B ve

svorce motor pro připojení cívek motoru. Pro řízení motoru jsou použity piny DIR pro určení směru otáčení, pin STEP určující počet kroků a piny MS1 a MS2 pro řízení mikrostepování. [31]

Mikrostepování je unikátní systém vybuzování vinutí v elektromotoru, které rozděluje polohy mezi póly. Mikroskopování napájí vinutí krokového motoru způsobem, který dále rozděluje počet poloh mezi póly. Řadiče takto mohou rozdělit jeden krok na ½, ¼ a až na 1 šestnáctinu kroku původního. Obvykle se tohoto využívá u aplikací, které vyžadují přesné polohování a hladší pohyb v širokém rozsahu rychlostí. Nevýhodou je fakt, že mikrostepování snižuje točivý moment přibližně o 30 % ve srovnání s režimem v plném kroku. [31]

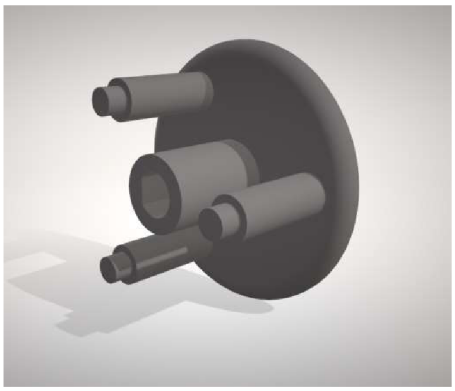


Obrázek 6.2 – Zapojení motoru, řadiče a Arduina.

6.1.3. Pumpa

Pro potřeby bakalářské práce byla využita peristaltická pumpa. Tato pumpa funguje na housenkovém principu. Zde se vnitřní trojúhelníkové jádro točí díky otvoru na hřídel motoru, kdy hrany trojúhelníku opatřené plastovými válečky tlačí na stěny hadičky a tím tlačí kapalinu ve směru hodinových ručiček. Tato peristaltická pumpa má pracovní rozsah otáček mezi 3 až 330 otáčkami za minutu.

Při konstruování MS se objevila konstrukční potíž – vnitřní průměr otvoru v pumpě byl příliš malý oproti průměru hřídele motoru. Tento problém byl vyřešen vyjmutím dílu pumpy a jeho nahrazení dílem z 3D tiskárny, který měl již správný průměr.



Obrázek 6.3 – 3D model nového vnitřního dílu pumpy.

6.1.4. Kód

Zde je ukázán výběr z kódu řídícího otáčky motoru:

```
void loop() {
  while (steps > 0) {
  digitalWrite(step_pin,HIGH);
  delayMicroseconds(speed_delay);
  digitalWrite(step_pin,LOW);
  delayMicroseconds(speed_delay);
  steps--;
  }
  steps = 1600;
}
```

Jak je patrné, tak je používán nejméně vhodný systém řízení – systém využívající `delay()`. Tento příkaz vždy vyčká stanovený čas, ale žádná jiná činnost není v danou chvíli možná. Tento příkaz byl použit s ohledem na vnitřní zpoždění teploměru, díky němuž nešlo současně měřit teplotu a otáčet hřídelí.

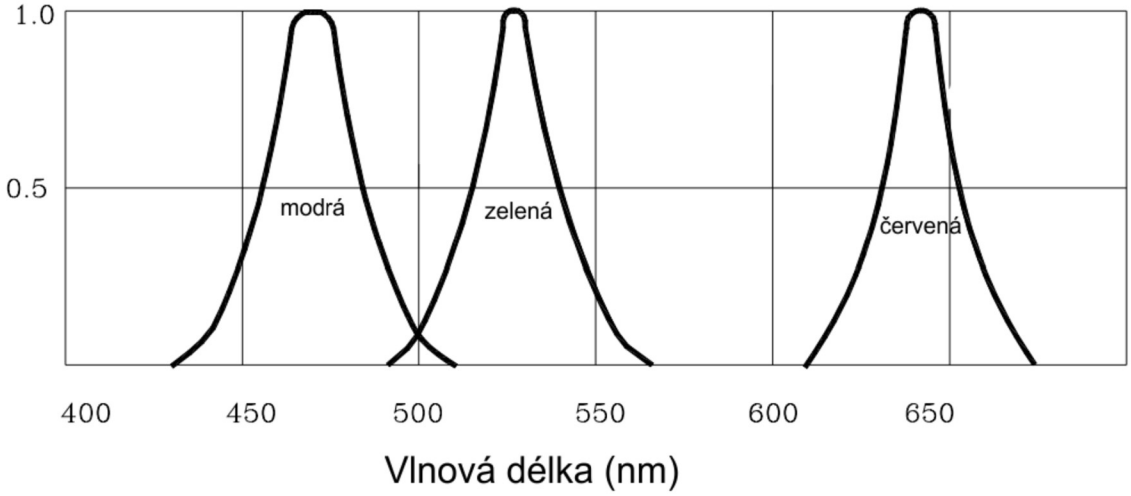
6.2. Optický sensor

Hlavní měřícím článkem zadaného MS je optický sensor. Ve skrze se jedná o soustavu RGB LED diody a fotodiody společně s doporučenými předřadnými odpory.

6.2.1. Světelný zdroj

Jakožto zdroj světla je využita RGB LED dioda zapojená v univerzálním plošném spoji, kde zdrojem napětí bude Arduino. Tato dioda s 5mm dlouhým průhledným pouzdrem má čtyři piny, kdy nejdelší je katoda a zbylé tři zastupují červenou, modrou a zelenou barvu. Hlavními vlnovými délkami pro červenou barvu je $625\ nm$, pro zelenou $525\ nm$ a pro modrou $460\ nm$. RGB LED dioda má svítivost $350\ mcd$. Vyzařovací úhel je 100°. [31]

Obrázek 6.4 – Použitá RGB LED dioda. [31]

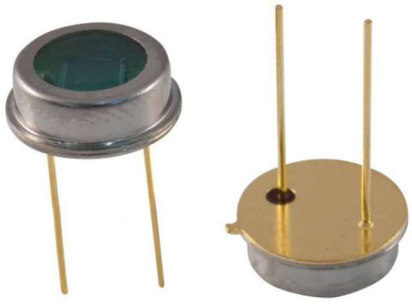


Obrázek 6.5 – Dominantní vlnové délky barev. [31]

6.2.2. Fotodioda

Sensor dopadajícího světla je tvořen fotodiodou, která po osvětlení senzitivní části na světlo změní odpor a tím ovlivní vznik proudu. Ten vzroste v závislosti na intenzitě dopadajícího světla a ovlivňuje napájecí proud. [31]

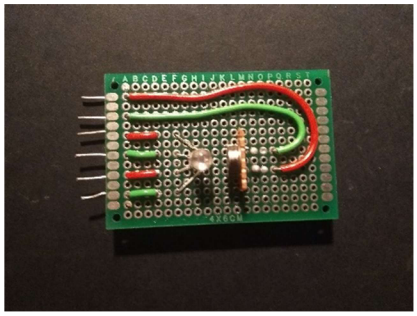
V této práci byla použita fotodioda BPW21, která má výjimečné vlastnosti – peak spektrální senzitivity je okolo vlnové délky $550\,nm$, což je dobré vzhledem k tomu, že peak fenolové červeni napravo od isosbestického bodu je okolo $560\,nm$. [31]



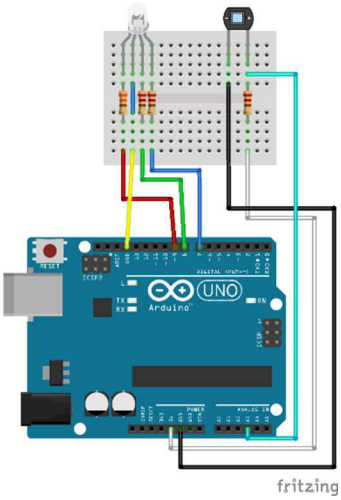
Obrázek 6.6 – Fotodioda BPW21. [31]

6.2.3. Univerzální plošný spoj

Na desku univerzálního plošného spoje o velikosti 6 na 4 centimetrů byla fotodioda a RGB LED dioda připájeny. Tento produkt byl doplněn o přívodní vodiče a umístěn do kartonové krabice. V této krabici jsou otvory pro výstupní vodiče a hadičky.



Obrázek 6.7 – Univerzální plošný spoj optického sensoru.

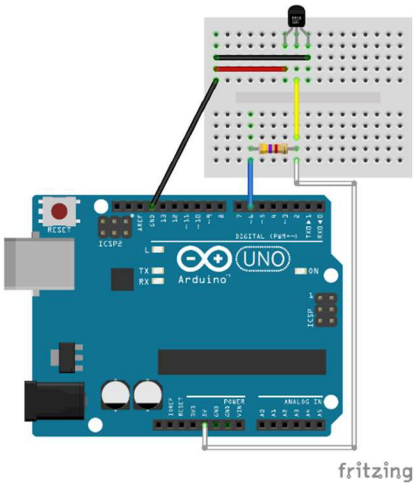


Obrázek 6.8 – Zapojení optického senzoru.

6.3. Teploměr

Pro činnost měření teploty v kapalině byl použit voděodolný digitální teploměr, kde je sonda s teplotním čidlem DS18B20. Tato sonda umožnuje měřit v rozmezí od -55 až do $+125\ °C$ s přesností $\pm\ 0{,}5\ °C$. [31]

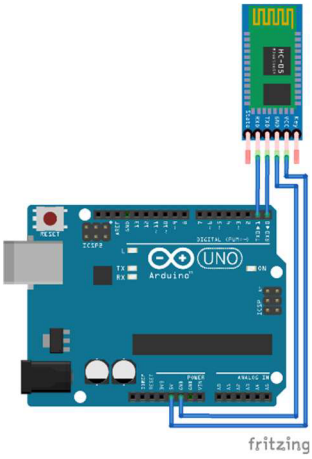
Teploměr je zapojen parazitně – vodiče čidla VCC a GND jsou propojeny do společné země Arduina. Napájení pro toto čidlo může být 3,3 až $+5\ V$. [31]



Obrázek 6.9 – Zapojení teplotního čidla.

6.4. Bluetooth modul

Bluetooth modul HC-05 součástka umožňující navázání a vedení bezdrátové komunikace skrze Bluetooth. Tento modul již obsahuje piny pro jednoduché zapojení. Pracovní napětí modulu je 3,6 až 6 V, tudíž jeho pin VCC bude zapojen do Arduina pinu pro 5V. Pro přenos dat se propojí piny RX z modulu na TX Arduina, a naopak TX z modulu s pinem RX na Arduinu. Takto se zajistí oboustranný přenos dat.



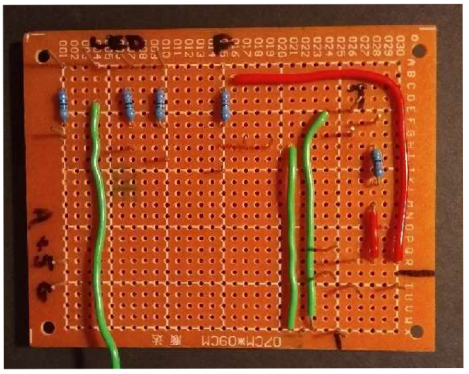
Obrázek 6.10 – zapojení Bluetooth modulu HC-05.

6.5. Displej

Pro potřeby koncového uživatele byl přidán malý OLED displej, na který jsou zobrazovány naměřená data – průtok, teplota a pH. Použitý displej má úhlopříčku 0,96 palce a rozlišení 124 na 68 pixelů. Displej díky využití I2C sběrnice je jednoduchý na řízení.

6.6. Univerzální plošný spoj

Jako propojovací prvek displeje, optického senzoru, Bluetooth modulu a teploměru posloužil univerzální plošný spoj.

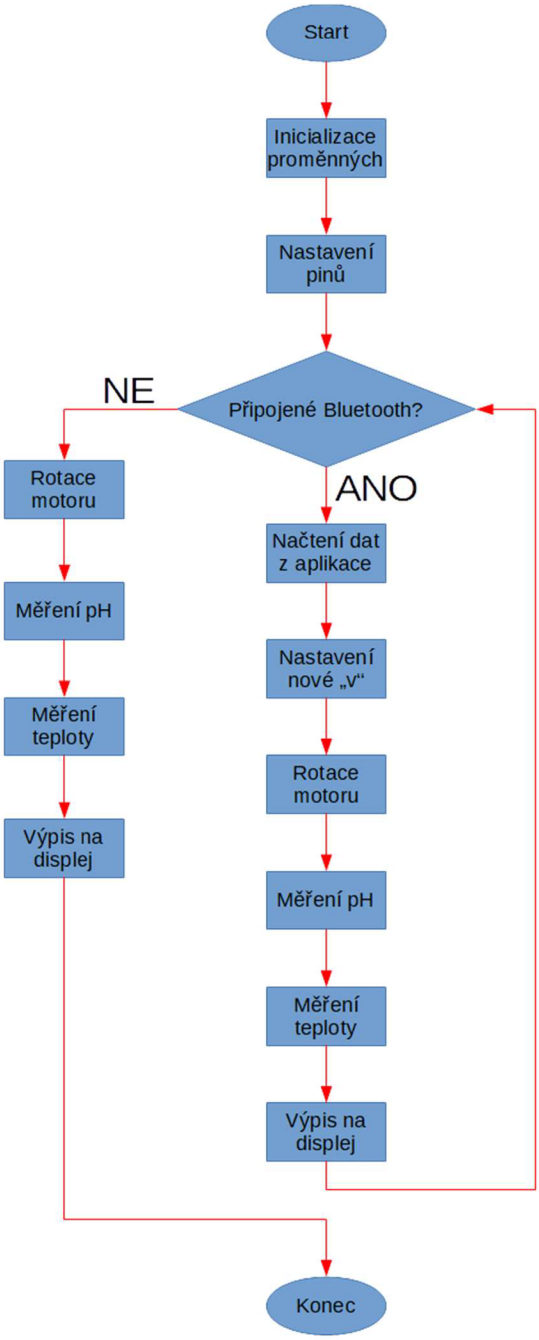


Obrázek 6.11 – Univerzální plošný spoj celého MS.

Tento plošný spoj společně s Arduinem, řadičem, motorem a pumpou je umístěn v ochranné kartonové krabici.

6.7. Řídící kód

Celý systém by nemohl fungovat nebýt kódu, který jej řídí. Celý kód je uvedený v příloze, tudíž je graficky znázorněno, jak probíhá řízení MS po nahrání kódu Arduina.



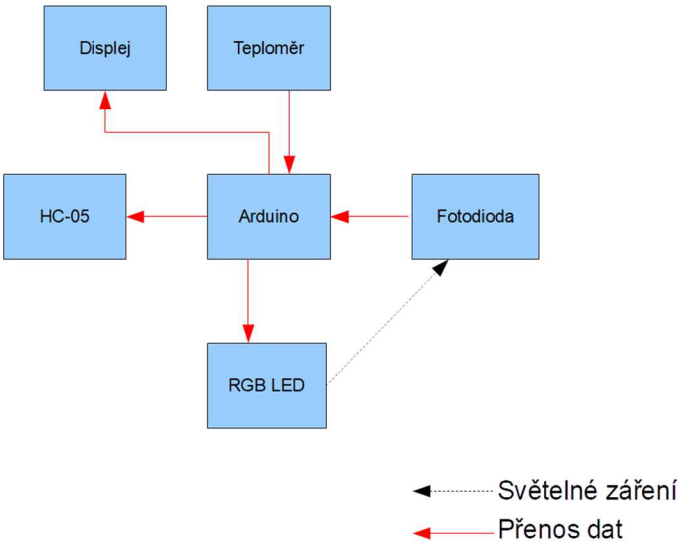
Obrázek 6.12 – Schéma řídícího kódu `microfluidic.ino`

7. Bezdrátová komunikace

V této kapitole jsou popsány 2 základní druhy komunikace užívané při konstrukci MS při použití Bluetooth modulu s využitím aplikace pro chytrý telefon.

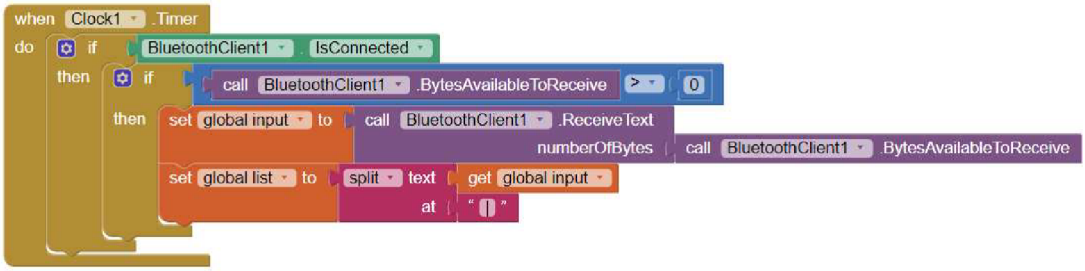
7.1. Komunikace Arduino – aplikace

Tato komunikace je založena na posílání naměřených dat z Arduina do aplikace. Jedná se především o naměřená data z optického sensoru a teploměru.



Obrázek 7.1 – Schéma bezdrátové komunikace Arduino – aplikace.

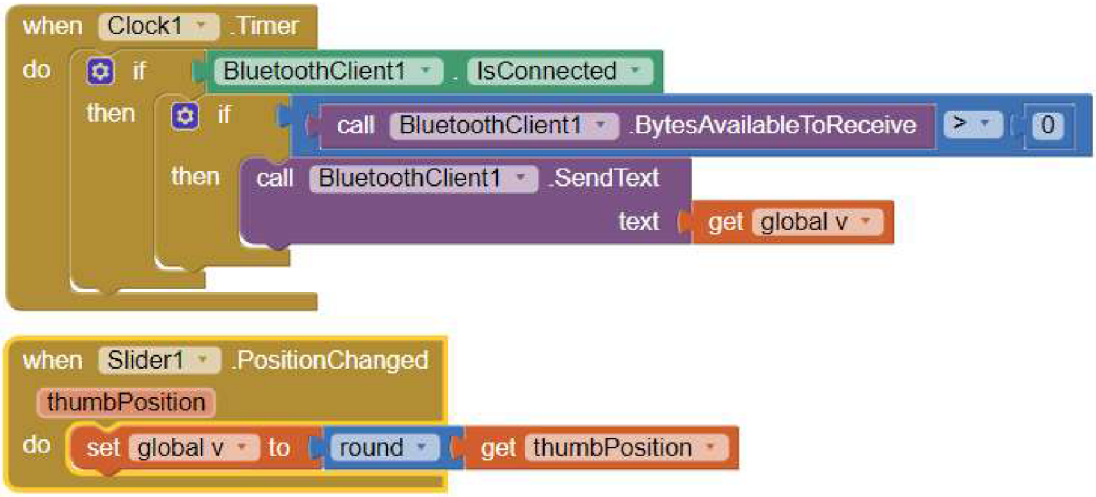
Komunikace je založena na posílání dvou hodnot oddělených znakem „|“. V samotném kódu aplikace tento blok načte poslaná data z Arduina a rozdělí je na dvě položky v proměnné list. Poté je každá zobrazena do label.



Obrázek 7.2 – Blokové schéma děliče.

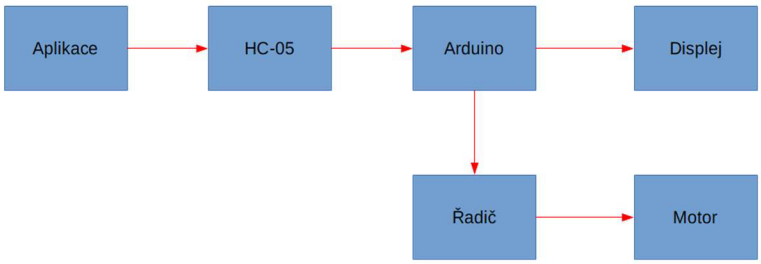
7.2. Komunikace aplikace – Arduino

Dalším krokem řízení MS je možnost ovládat rychlost otáčení hřídele motoru a tím ovládat průtok kapaliny systémem. Průtok je řízen skrze posuvník v aplikaci. Tento posuvník udává hodnoty rychlosti mezi 1 a 10, kdy 1 je nejpomalejší a 10 nejrychlejší.



Obrázek 7.3 – Blokové schéma tvorby a posílání dat do Arduina.

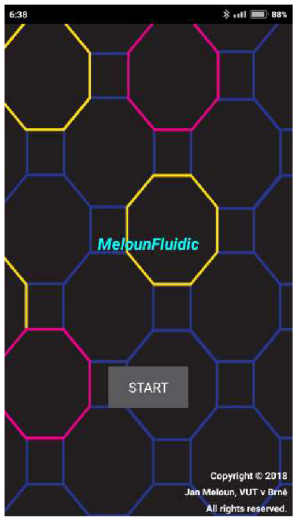
Schematicky lze zaznamenat komunikaci takto:



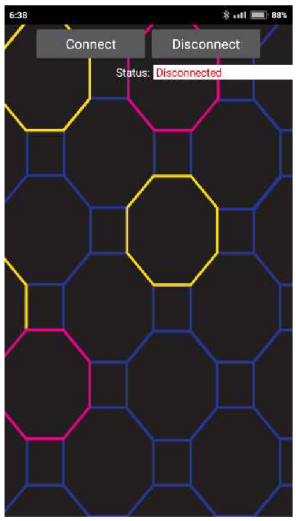
Obrázek 7.4 – Schematicky zaznačená komunikace.

7.3. Mobilní aplikace

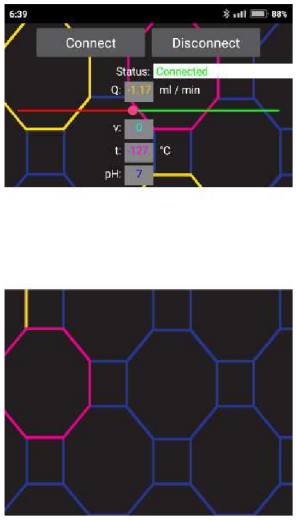
Mobilní aplikace MelounFluidic byla naprogramována v MIT App Inventor 2. Aplikace se skládá pouze ze 2 stran, neboť ve vývojovém MIA2 nelze používat komunikaci Bluetooth přes dvě strany.



Obrázek 7.5 – 1. strana aplikace.



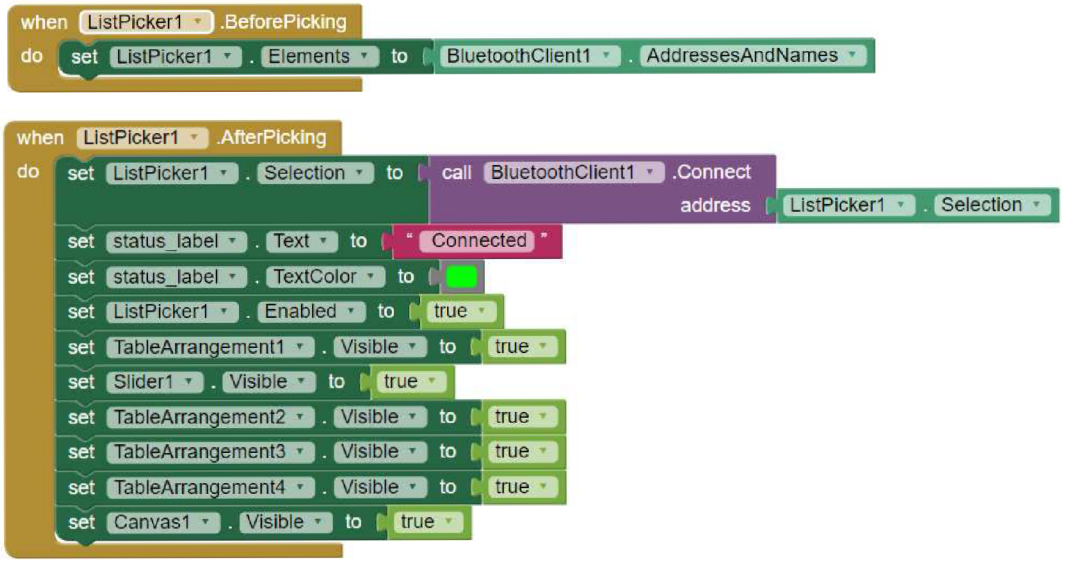
Obrázek 7.6 – 2. strana aplikace.



Obrázek 7.7 – 2. strana s vizualizací.

Aplikace funguje takto: Na chytrém telefonu zapneme Bluetooth a spárujeme s modulem pomocí hesla 1234 nebo 0000. Dále zapneme aplikaci a na úvodní stránce klikneme na tlačítko „START“, což nás dostane na další stránku. Zde jsou na výběr 2 tlačítka, kdy kliknutí na tlačítko „Connect“ nám zobrazí všechna spárovaná zařízení a klinutím na vybrané zařízení se spustí komunikace. Tím se dostaneme na poslední stránku, kde je vypisována hodnota průtoku, posuvník nastavující hodnotu rychlosti, výpis hodnoty teploty a výpis hodnoty pH společně s jeho časovým průběhem.

Inicializace začátku komunikace je dána těmito bloky. Zde je vidět i způsob provedení více stránek na jedné stránce. Jak bylo zmíněno, tak MIA2 neumožňuje spárování se zařízením na jedné straně aplikace a činnosti využívající Bluetooth na stránkách dalších. Elegantním řešením je využít bloků „Visible“, kdy blok může být neviditelný a až po kliknutí na odpovídající tlačítko se stane viditelným a jiný neviditelným.



Obrázek 7.8 – Blokové schéma inicializace spárování.

8. Optimalizace a testování

Pro celý MS jsou dva parametry nejdůležitější – průtok a pH. V každé z následujících podkapitol je napsáno, jak probíhala optimalizace a testování.

8.1. Průtok

Průtok Q je výslednou hodnotou spoždění d nebo rychlosti v. Na začátku byly pro 2 hodnoty zpoždění (300 a 800) zjištěny časy, za jak dlouho peristaltická pumpa naplní 10 ml. Z těchto hodnot byli stanoveny průtoky Q_1 a Q_2.

$$Q_1 \cong 20{,}76\, ml \cdot min^{-1} \tag{8.1}$$

$$Q_2 \cong 3{,}44\, ml \cdot min^{-1} \tag{8.2}$$

V dalším kroku byl průtok vyjádřen v závislosti na zpoždění. Jedná se o jednoduchý výpočet lineární funkce, kdy výsledná závislost je vyjádřena ve vztahu **(8.3)**:

$$Q = -0{,}03 \cdot d + 31{,}16 \tag{8.3}$$

kde Q je průtok v $ml \cdot min^{-1}$ a d je zpoždění.

Zde je krok, kdy lineární závislostí je rozdělena rychlost v s hodnotami 1 až 10 mezi hodnoty zpoždění d, kdy zpoždění je mezi 300 a 1000. Hodnota 300 byla zvolena, protože při nižší pumpa nedokáže tlačit kapalinu a hodnota 1000, neboť při této hodnotě je hraniční hodnota průtoku 1 ml za min (komunikace mezi Arduinem a aplikací s celočíselnými hodnotami). Výsledná závislost je zapsána ve vztahu **(8.4)**:

$$d = -77{,}78 \cdot v + 1077{,}78 \tag{8.4}$$

8.2. pH

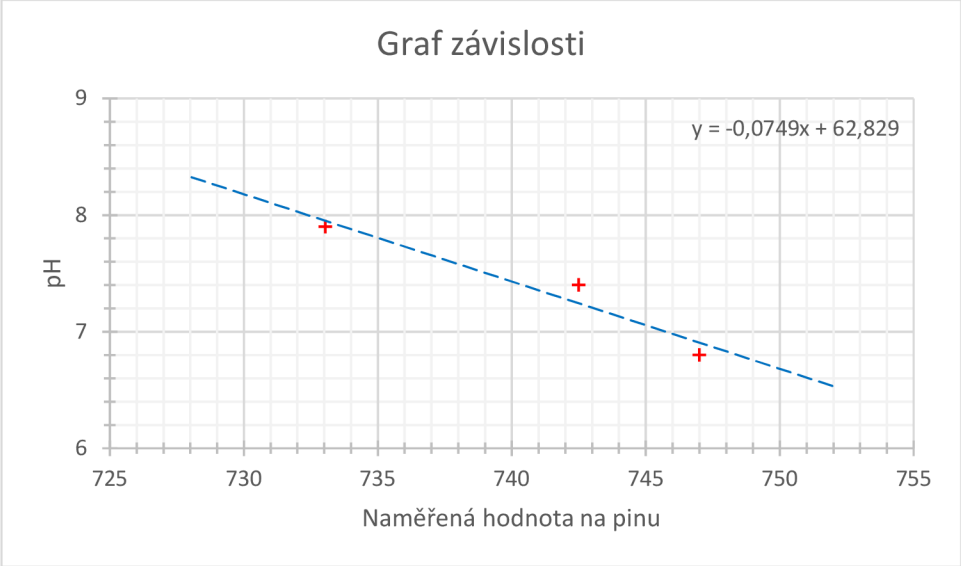
Měření pH je v kódu vyjádřeno pomocí funkce get_pH():

```
void get_pH() {
  int value = analogRead(pH_in);
  value = map(value, 0, 1023, 0, 9207);
  float pH_val = -0.0749 * value + 62.829;
  pH  = map(pH_val, -14, 14, 0, 14);
  pH_value = pH;
}
```

Zde je vidět, že do proměnné `value` typu `int` se uloží aktuální hodnota z pinu, kam jsou naměřené hodnoty vedeny. Jelikož hodnoty z intervalu 0 až 1023 se zúžili na interval 70 až 90, tak uměle byla zvýšena rozteč hodnot příkazem `map()`. Dále je hodnota z pinu přepočítána na hodnotu pH a opět opraven rozsah příkazem `map()`. Po-

slední řádek kódu ukládá proměnnou `ph` typu `float` (desetinné číslo) na proměnnou `pH_value` typu `int` (celé číslo).

V odstavci před není ovšem vysvětleno, proč jsou hodnoty na pinu takto přepočítávány. Měření pH začalo výrobou kontrolních vzorků – pufr o známé hodnotě pH je smísen s roztokem fenolové červeni. Každý roztok byl poté optickým senzorem proměřen a jeho hodnoty zprůměrovány. Poté byla graficky vynesena závislost mezi pH a naměřenou hodnotou na pinu.



Obrázek 8.1 – Grafická závislost mezi pH a hodnotu naměřenou na pinu.

Výsledná závislost je dána vztahem **(8.5)**:

$$a = -0{,}0749 \cdot b + 62{,}829 \qquad \textbf{(8.4)}$$

kde a je pH a b je naměřená hodnota na pinu.

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo zkonstruovat funkční mikrofluidní systém, který dokáže opticky měřit pH, měřit teplotu a průtok. V následujícím kroku měl být tento systém rozšířen o Bluetooth modul, který nabízel bezdrátové ovládání průtoku a vizualizaci naměřených dat.

První část úkolu – konstrukce MS umožňujícího plynulý průtok kapaliny v uzavřeném systému společně s měřením teploty a pH se podařila, avšak bylo uděláno několik ústupků / zjednodušení. V prvé řadě díky vnitřnímu zpoždění teploměru nebylo možné skloubit neustálý průtok s průběžným měřením důležitých veličin. Bylo zvoleno nejjednodušší možné řešení – pulzní měření. Jak postupuje kód, tak se vykonávají jednotlivé úkony, a to i za cenu, že při rotaci motoru se nic jiného nevykonává.

V druhé části byl původní systém rozšířen o Bluetooth modul. Dosáhlo se výsledků, ale vždy se podařila pouze jednostranná komunikace. Tedy byly vytvořeny 2 aplikace, které dokázaly plnit pouze komunikaci Arduino – aplikace a aplikace – Arduino ne obojí současně. Při pokusech o současnou komunikaci docházelo k „falešnému řízení průtoku“, kdy odesílaná hodnota pH z intervalu 0 až 14 byla zároveň ihned brána jako přijímaná hodnota rychlosti z aplikace. A jak již bylo zmíněno výše, tak vnitřní zpoždění teploměru ovlivňovalo celý systém, především posílání dat. Často je naměření hodnoty teploty, tak pomalé, že aplikace přijme špatnou hodnotu z Arduina – řetězec délky 1 nelze rozdělit na 2 řetězce.

V konečném důsledku je systém funkční, ale řízení není tak snadné a aplikace často krom vizualizace naměřených hodnot neustále vypisuje chybové hlášky. Systém má potenciál být doladěn. Nabízí se využití výkonnějších vývojových platforem jako je Raspberry Pi a podobné. Dále je vhodné upravit veškeré univerzální plošné spoje na desky plošných spojů kvůli minimalizaci rozměrů.

Literatura

[1] NEČAS, Oldřich. *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. 3. přeprac. vyd., v nakl. H & H 1. vyd. Jinočany: H & H, 2000. ISBN 80-86022-46-3.

[2] WILHELM, Zdeněk. *Stručný přehled fyziologie člověka pro bakalářské studijní programy*. 4. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2010. ISBN 978-80-210-5283-3.

[3] BENEŠOVÁ, Marika. *Odmaturuj! z biologie*. 2., přeprac. vyd. Brno: Didaktis, 2013. Odmaturuj! ISBN 978-80-7358-231-9.

[4] HONZÍKOVÁ, Nataša a Jiří ŠIMURDA. *Biologie člověka. Bioelektrické jevy I.* 1. vyd. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 1995. 137 s. ISBN 80-85867-64-8.

[5] TARÁBEK, Pavol a Petra ČERVINKOVÁ. *Odmaturuj! z fyziky*. Vyd. 2. Brno: Didaktis, 2006. Odmaturuj!. ISBN 80-7358-058-6.

[6] HRAZDIRA, Ivo a Vojtěch MORNSTEIN. *Lékařská biofyzika a přístrojová technika*. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-1-4.

[7] Autor: User: LennyWikidata – Own work, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=10418521

[8] ROSINA, Jozef. *Biofyzika: pro zdravotnické a biomedicínské obory*. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4237-3.

[9] JAN, Jiří. *Číslicové zpracování a analýza signálů: stručné skriptum*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2010. ISBN 978-80-214-4018-0.

[10] SVOBODA, Emanuel, Milan BEDNAŘÍK a Miroslava ŠIROKÁ. *Fyzika pro gymnázia – Mechanika*. 5., přeprac. vyd. Praha: Prometheus, 2013. ISBN 978-80-7196-431-5.

[11] LEPIL, Oldřich. *Fyzika pro gymnázia – Optika*. 5., přepracované vydání. Praha: Prometheus, 2015. ISBN 978-80-7196-444-5.

[12] LAB Guide Průvodce laboratoří. Fluorochromy. [citováno 28. 12. 2017] http://labguide.cz/fluorochromy/

[13] Autor: Pajs – Vlastní dílo, Volné dílo, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=2424731

[14] LEPIL, Oldřich. *Fyzika pro gymnázia – Speciální teorie relativity*. 5., přepracované vydání. Praha: Prometheus, 2015. ISBN 978-80-7196-444-5.

[15] SCHAEFER, S. *Colorimetric Water Quality Sensing with Mobile Smart Phones*. Publikováno 2014. [citováno 12. 12. 2017]. https://people.ok.ubc.ca/kennchau/publications/Schaefer_MASc_thesis.pdf

[16] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.

[17] MAGNUSSON, E. B., Halldorsson, S., Fleming, R. M. T., & Leosson, K. (2013). *Real-time optical pH measurement in a standard microfluidic cell culture system*. Biomedical Optics Express, 4(9), 1749–1758. http://doi.org/10.1364/BOE.4.001749

[18] TABELING, P. *Introduction to microfluidics*. New York: Oxford University Press, 2005. ISBN 0–19–856864–9.

[19] OURA, M., H. KUBO, S. YAMAMORI, S. TAKEDA, T. SHIMIZU a T. OKANO. *Development of cell culture monitoring system and novel non-contact pH measurement*. In: 2011 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society [online]. IEEE, 2011, 2011, s. 22-25 [cit. 2017-12-29]. DOI: 10.1109/IEMBS.2011.6089887. ISBN 978-1-4577-1589-1. Dostupné z: http://ieeexplore.ieee.org/document/6089887/

[20] EVANS, B. *Beginning arduino programming*, New York: Apress, 2011. 252 s. ISBN 978-1-4302-3777-8

[21] VODA, Zbyšek. *Průvodce světem Arduina*. Vydání druhé. Bučovice: Martin Stříž, 2017. ISBN 978-80-87106-93-8.

[22] Český internetový portál pro začínající i pokročilé uživatele. [citováno 12. 12. 2017] http://navody.arduino-shop.cz/zaciname-s-arduinem/vyvojove-desky.html

[23] Český internetový prodejce Arduina, u něhož byla deska zakoupena. [citováno 12.12. 2017] https://arduino-shop.cz/arduino/974-arduino-uno-r3-atmega328p-1424115860.html

[24] Oficiální stránky Arduino store. [citováno 12. 12. 2017] https://store.arduino.cc/arduino-uno-rev3

[25] Internetová stránka prodejce, odkud byl převzat obrázek klonu Arduina. [citováno 12. 12. 2017] https://laskarduino.cz/686-thickbox_default/arduino-uno-r3-atmega328p-usb-precizni-klon.jpg

[26] GAŽO, Ján. *Všeobecná a anorganická chémia*. Bratislava: Alfa, 1974.

[27] DOSTÁL, Jiří. *Biochemie: pro posluchače bakalářských oborů*. Brno: Masarykova univerzita, 2009. ISBN 978-80-210-5020-4.

[28] FUKSA, Jiří, Jana JANDOVÁ, Jitka MACENAUEROVÁ, Bronislav ŠENKEŘÍK, Dagmar VÍŠKOVÁ, Renata ZEMKOVÁ a Kateřina ZIMPLOVÁ. *Hravá chemie 9: pracovní sešit pro 9. ročník ZŠ a víceletá gymnázia*: v souladu s RVP. 2. vydání. Praha: Taktik, 2016. ISBN 978-80-7563-008-7.

[29] Internetové stránky prodejce pro LED. [citováno 12. 12. 2017]
https://www.gme.cz/led-5mm-rgb-cc-350-850-300-100

[30] Internetové stránky prodejce pro fotodiodu. [citováno 12. 12. 2017]
https://www.gme.cz/bpw21

[31] Internetové stránky prodejce pro driver. [citováno 20. 5. 2018]
https://arduino-shop.cz/arduino/1125-arduino-motor-driver-a3967-750-ma-30-v-1449870724.html

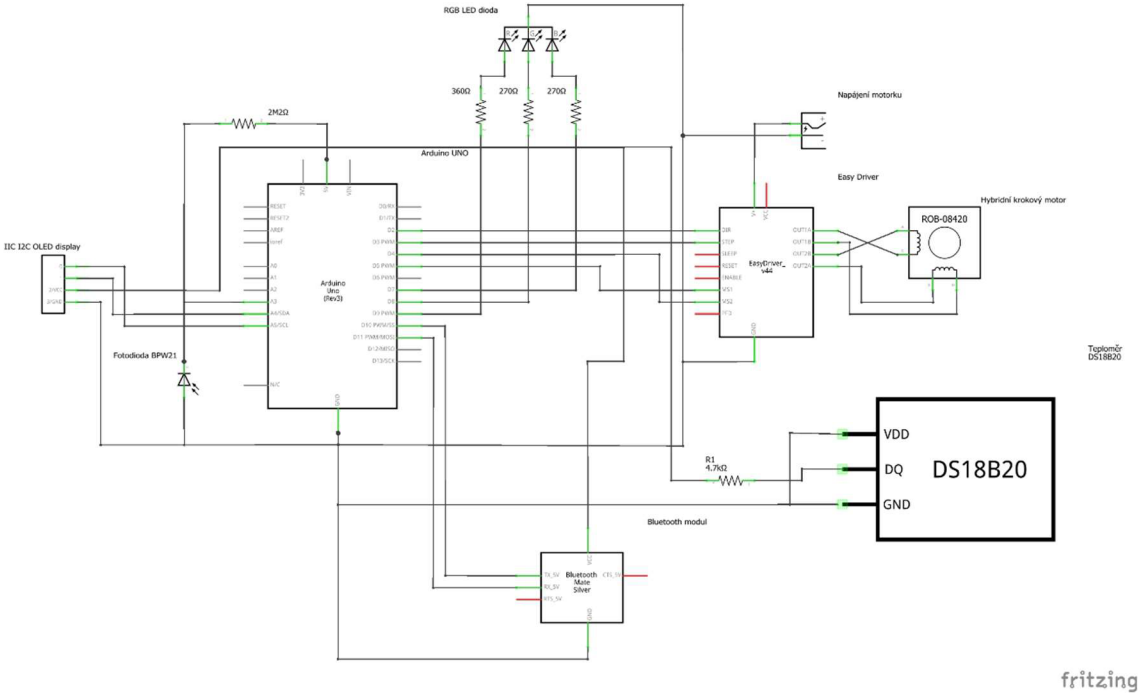
[32] Internetové stránky prodejce teploměru. [citováno 20. 5. 2018]
https://arduino-shop.cz/arduino/848-arduino-teplomer-vodotesny-1500635996.html

Seznam symbolů, veličin a zkratek

FEKT	–	Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií
VUT	–	Vysoké učení technické v Brně
MS	–	Mikrofluidní systém
OLED	–	Organická světlo emitující dioda
OS	–	Operační systém
DNA	–	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	–	Ribonukleová kyselina
UV záření	–	Ultrafialové záření
IR záření	–	Infračervené záření
H-P zákon	–	Hagen – Poiseuilleův zákon
EOF	–	Elektroosmotický průtok
MEMS	–	Mikroelektromechanické systémy
I/O piny	–	Vstupní/výstupní piny
PWM	–	Pulzní šířková modulace
PC	–	Osobní počítač
Tx	–	Vysílač
Rx	–	Přijímač
USB	–	Univerzální připojení sítové sběrnice
IPv4	–	Internetový protokol, 4. verze
IDE	–	Integrované vývojové prostředí
pH	–	Vodíkový potenciál
LED	–	Světlo emitující dioda
RGB dioda	–	Dioda vyzařující červené (R), zelené (G) a modré světlo (B)
MIA2	–	MIT App Inventor 2

Přílohy

1) Blokové schéma celého zařízení



2) Seznam použitých součástek

Množství	Název sočástky
1x	RGB LED
1x	Rezistor 360 Ω
2x	Rezistor 270 Ω
1x	Fotodioda BPW21
1x	Rezistor 2M2 Ω
1x	Teplotní čidlo DS18B20
1x	Rezistor 4k7 Ω
1x	Bluetooth modul HC-05
1x	EasyDriver Schmalzhaus (v4.4)
1x	Hybridní krokový motor
1x	OLED displej
1x	Arduino UNO R3 (precizní klon)
-	vodiče

Seznam příloh na CD

1) Aplikace *MicroFluidic.apk*.
2) Kód řízení Arduina *MasterProgram.ino*.
3) Blokové schéma celého MS.