

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky  
a komunikačních technologií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



# 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

AUTHOR

Jan Meloun

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

BRNO 2019

# Bakalářská práce

bakalářský studijní obor **Biomedicínská technika a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

**Student:** Jan Meloun

**ID:** 186676

**Ročník:** 3

**Akademický rok:** 2018/19

**NÁZEV TÉMATU:**

## Řízení a monitorování parametrů pro mikrofluidní systémy

**POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:**

1) Provedte 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 v systému. Ověřte jeho funkčnost. 5) Zařízení doplňte o Bluetooth modul. V programovém prostředí MIT App Inventor 2 navrhnete a vytvořte aplikaci pro nastavení parametrů průtoku v systému. Zařízení opatřete vizualizací nastavených a měřených parametrů. Zajistěte možnost ovládání rychlosti průtoku. 6) Zařízení optimalizujte a otestujte. Testy dobře zdokumentujte. Provedte 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:** 4.2.2019

**Termín odevzdání:** 24.5.2019

**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. Teoretická část 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

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 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.

## KEYWORDS

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

MELOUN, Jan. *Řízení a monitorování parametrů pro mikrofluidní systémy*. Brno, 2019, 62 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství. Vedoucí práce: Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma „Řízení a monitorování parametrů pro mikrofluidní systémy“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

Brno .....

.....

podpis autora

## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval vedoucímu bakalářské práce panu Ing. Vratislavu Čmielovi, Ph.D. za odborné vedení, konzultace, trpělivost a podnětné návrhy k práci. V neposlední řadě bych rád poděkoval své rodině a svým blízkým za podporu při sepisování této práce.

Brno .....

.....

podpis autora

# Obsah

|   |           |
|---|-----------|
| Úvod  | 11        |
| <b>1 Světlo a jeho vlastnosti</b>                 | <b>12</b> |
| 1.1 Zákony světla . . . . .                       | 12        |
| 1.2 Spektrum elektromagnetického záření . . . . . | 15        |
| <b>2 Spektrální analýza</b>                       | <b>17</b> |
| 2.1 Emisní spektrální analýza . . . . .           | 17        |
| 2.2 Absorpční spektrální analýza . . . . .        | 17        |
| <b>3 Měření pH a teploty</b>                      | <b>23</b> |
| 3.1 Měření pH . . . . .                           | 24        |
| 3.2 Měření teploty . . . . .                      | 27        |
| <b>4 Mikrofluidní systémy</b>                     | <b>30</b> |
| 4.1 Fyzika mikrofluidních systémů . . . . .       | 30        |
| 4.2 Konstrukce mikrofluidního systému . . . . .   | 32        |
| 4.3 Využití mikrofluidních systémů . . . . .      | 33        |
| <b>5 Vývojová platforma Arduino</b>               | <b>35</b> |
| 5.1 Vývojová deska Arduino UNO . . . . .          | 35        |
| 5.2 Způsoby komunikace Arduina . . . . .          | 39        |
| <b>6 Návrh a konstrukce systému</b>               | <b>40</b> |
| 6.1 Průtokový systém . . . . .                    | 41        |
| 6.2 Optický senzor . . . . .                      | 44        |
| 6.3 Teploměr . . . . .                            | 45        |
| 6.4 Vizualizace dat . . . . .                     | 45        |
| <b>7 Řízení a monitorování veličin systému</b>    | <b>49</b> |
| 7.1 Průtok . . . . .                              | 49        |
| 7.2 pH . . . . .                                  | 50        |
| 7.3 Vizualizace . . . . .                         | 51        |
| <b>8 Testování mikrofluidního systému</b>         | <b>54</b> |
| 8.1 Měření pH . . . . .                           | 54        |
| 8.2 Řízení průtoku . . . . .                      | 54        |
| <b>Závěr</b>                                      | <b>56</b> |

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| Literatura                       | 57 |
| Seznam symbolů, veličin a zkratk | 60 |
| Seznam příloh                    | 61 |
| A Schéma zapojení                | 62 |



# Seznam obrázků

|      |   |    |
|------|---|----|
| 1.1  | Průběh elektromagnetické vlny . . . . .                               | 12 |
| 1.2  | Spektrum elektromagnetického záření . . . . .                         | 15 |
| 1.3  | Druhy spekter elektromagnetické záření . . . . .                      | 16 |
| 2.1  | Ilustrační znázornění závislosti transmitance a molární koncentrace . | 18 |
| 2.2  | Ilustrační znázornění závislosti absorbance a molární koncentrace . . | 19 |
| 2.3  | Schématický náčrt spektrofotometrie . . . . .                         | 19 |
| 2.4  | Princip činnosti spektrofotometru a RGB senzoru . . . . .             | 20 |
| 2.5  | Princip získání dat RGB optickým senzorem . . . . .                   | 21 |
| 2.6  | Bayerovské uspořádání barevných filtrů . . . . .                      | 22 |
| 3.1  | Isosbestický bod spekter fenolové červeni . . . . .                   | 25 |
| 3.2  | Pásmo vlnových délek pro přístrojovou kolorimetrii . . . . .          | 26 |
| 3.3  | Průběžné výsledky při spektrofotometrickém měření pH . . . . .        | 27 |
| 3.4  | Ilustrační znázornění závislosti teploty a odporu . . . . .           | 29 |
| 5.1  | Deska Arduino UNO R3 a její důležité komponenty . . . . .             | 37 |
| 6.1  | Sestavený mikrofluidní systém na nepájivém poli . . . . .             | 40 |
| 6.2  | Sestavený mikrofluidní systém v ochranném boxu . . . . .              | 40 |
| 6.3  | Použitá mikroperistaltická pumpa . . . . .                            | 41 |
| 6.4  | Schématické znázornění cívek krokového motoru . . . . .               | 42 |
| 6.5  | Schéma zapojení průtokového systému . . . . .                         | 43 |
| 6.6  | Schéma zapojení optického senzoru měření pH. . . . .                  | 44 |
| 6.7  | Schématické zapojení NTC termistoru . . . . .                         | 46 |
| 6.8  | Schématické zapojení OLED displeje . . . . .                          | 46 |
| 6.9  | Schématické zapojení modulu HC-05 . . . . .                           | 47 |
| 6.10 | Aplikace MicroFluidic . . . . .                                       | 48 |
| 7.1  | Kalibrační křivka převodu rychlosti motoru na průtok. . . . .         | 50 |
| 7.2  | Připravené vzorky na optické měření pH. . . . .                       | 51 |
| 7.3  | Kalibrační křivka pH a průměrování hodnot . . . . .                   | 51 |
| 7.4  | Řídící bloky tlačítek na první stránce aplikace. . . . .              | 52 |
| 7.5  | Řídící bloky listpickeru BLUETOOTH . . . . .                          | 52 |
| 7.6  | Řídící bloky posuvníku změny rychlosti motoru . . . . .               | 53 |
| 7.7  | Řídící bloky tlačítek DISCONNECT a ZPĚT . . . . .                     | 53 |
| 8.1  | Naměřené hodnoty pro pufrы o známé hodnotě pH . . . . .               | 54 |
| 8.2  | Možný seznam položek po stisknutí listpickeru . . . . .               | 55 |
| A.1  | Schéma mikrofluidního systému . . . . .                               | 62 |

# Seznam tabulek

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 5.1 | Přehled rozdílů mezi deskami Arduino . . . . .           | 35 |
| 5.2 | Tabulka parametrů pro desku Arduino UNO R3 . . . . .     | 36 |
| 5.3 | Tabulka napájecích napětí a maximálních proudů . . . . . | 38 |
| 6.1 | Tabulka technických parametrů motoru . . . . .           | 42 |
| 6.2 | Tabulka parametrů používaných teplotních čidel . . . . . | 45 |

# Seznam výpisů

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 5.1 | Řídící kód desky Arduino v prostředí IDE . . . . . | 38 |
|-----|--|----|

# Úvod

Mikrofluidní systémy jsou novým, rychle se vyvíjejícím multidisciplinárním oborem na pomezí fyziky, chemie, buněčné biologie a inženýrství. Tento obor se zabývá zákonitostmi proudění kapalin o velmi malých objemech. Tyto systémy nachází uplatnění nejen v laboratořích, ale i v praktických aplikacích, jako jsou například palivové články nebo biosenzory.

Cílem teoretické části práce je se seznámit se zákonitostmi mikrofluidních systémů a jejich konstrukcí. V dalším kroku práce je seznámení se s deskou Arduino. Jedná se o otevřenou vývojovou platformu, která umožňuje konstrukci složitějších zařízení zvládajících komplexní úlohy. Dalším cílem je obeznámit se s metodami měření teploty a optickými metodami měření pH a jejich využití v mikrofluidice.

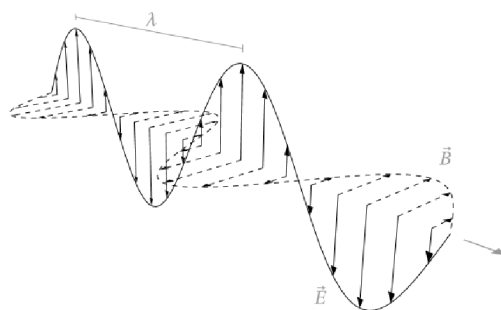
Na základě znalostí z teoretické části práce je v praktické části práce navrhnut a zkonstruován mikrofluidní systém s uzavřeným plynulým průtokem kapaliny, kde je měřen průtok, teplota a opticky měřeno pH. Dále je systém opatřen vizualizací naměřených a pro řízení průtoku je vytvořena aplikace v programu MIT App Inventor 2. V průběhu práce jsou diskutovány průběžné výsledky a zvolené postupy s ohledem na zadání práce.

Využitím zkonstruovaného systému je možné mikroskopovat buňky připojené na mikrofluidní systém, který měří důležité hodnoty pro přežití buněk jako je pH a teplota. Laboratorní pracovník tedy nemusí odendávat buňky z mikroskopu pro kontrolu těchto hodnot.

# 1 Světlo a jeho vlastnosti

Viditelné světlo je 50% elektromagnetického vlnění vyzářeného Sluncem dopadajícího na Zemi, kdy zbývajících 45% tvoří infračervené záření a 5% záření ultrafialové. Vlnová délka  $\lambda$  viditelného světla se pohybuje od 365 až do 780 nm. Z biologického hlediska je světlo nezbytnou podmínkou přežití drtivého množství živých organismů na Zemi, zejména rostlin. [1], [2]

Světlo je příčné vlnění dvou navzájem neoddělitelných složek – vektoru intenzity elektrického pole  $\vec{E}$  a vektoru magnetické indukce  $\vec{B}$ , jak je vyobrazeno v obrázku 1.1. Tyto vektory mají stejnou fázi a jsou navzájem kolmé i kolmé ke směru šíření. Rychlost šíření světla ve vakuu se označuje jako  $c$  a je rovna hodnotě  $c = 299792458 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , přičemž je tato rychlost v jiných prostředích vždy nižší. Pro běžné účely se používá zaokrouhlená varianta  $c \approx 3 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ . [1], [2]



Obr. 1.1: Grafické znázornění průběhu elektromagnetické vlny, kde  $\lambda$  je vlnová délka [m],  $\vec{B}$  je vektor magnetické indukce [T] a  $\vec{E}$  je vektor elektrického pole [ $V \cdot m^{-1}$ ]. [5]

## 1.1 Zákony světla

Je dokázáno, že jakékoliv elektromagnetické záření, tudíž i viditelné světlo, má duální charakter – vlnové a částicové vlastnosti. Vlnové vlastnosti lze popsat tak, že se světlo šíří ze světelného zdroje jako harmonické vlnění, kde vlnová délka ve vakuu je popsána rovnicí

$$\lambda = \frac{c}{f}, \quad (1.1)$$

kde  $\lambda$  je vlnová délka [m],  $c$  je rychlost světla [ $m \cdot s^{-1}$ ] a  $f$  je frekvence světelného vlnění [Hz]. [1]

Korpuskulární neboli částicové vlastnosti značí, že elektromagnetické vlnění je vyzářováno i pohlcováno částicemi v kvantech (určitých dávkách). Toto kvantum se

nazývá foton a pro jeho energii platí rovnice

$$E = h \cdot f = \frac{h \cdot c}{\lambda}, \quad (1.2)$$

kde  $E$  je energie fotonu [ $J$ ] (nebo [ $eV$ ]) a  $h$  je Planckova konstanta rovna hodnotě  $h \cong 6,62 \cdot 10^{-34} J \cdot s$ . [2]

Mezi typické jevy způsobené vlnovými vlastnostmi světla jsou reflexe, refrakce, interference a difrakce světla, zatímco částicové vlastnosti světla se projevují například u záření černého tělesa, či fotoelektrického jevu. [1]

## Reflexe a refrakce světla

Dopadá-li světelné záření na rovinné rozhraní dvou rozdílných optických prostředí o různých indexech lomu, část záření se odrazí zpět do původního prostředí a část prochází do druhého prostředí za předpokladu, že obě prostředí jsou průhledná či průsvitná. Pro popis je zaveden absolutní index lomu  $n$ , kdy se jedná o bezrozměrnou veličinu udávající kolikrát se světlo šíří rychleji ve vakuu, než v daném prostředí, jak je uvedeno v rovnici

$$n = \frac{c}{v}, \quad (1.3)$$

kde  $n$  je index lomu a  $v$  je rychlost šíření světla v daném optickém prostředí ( $m \cdot s^{-1}$ ). [3]

Reflexe neboli odraz světla je jev, kdy část světelného záření je odražena z rozhraní optických prostředí zpět do původního prostředí. Tento jev je popsán rovnicí

$$\alpha = \alpha', \quad (1.4)$$

kde  $\alpha$  je úhel dopadajícího paprsku světla na rozhraní [ $^\circ$ ] a  $\alpha'$  je úhel odraženého paprsku světla z rozhraní [ $^\circ$ ]. [3]

Refrakce neboli lom světla je jev, kdy na rozhraní dvou optických prostředí projde část dopadajícího záření do druhého prostředí. Tento jev je popsán zákonem lomu (Snellův zákon)

$$\frac{v_1}{v_2} = \frac{\sin(\alpha)}{\sin(\beta)} = \frac{n_2}{n_1}, \quad (1.5)$$

kde  $v_1$  je rychlost světla v prvním prostředí [ $m \cdot s^{-1}$ ],  $v_2$  je rychlost světla v druhém prostředí [ $m \cdot s^{-1}$ ],  $\alpha$  je úhel dopadu [ $^\circ$ ],  $\beta$  je úhel lomu [ $^\circ$ ],  $n_2$  je index lomu druhého prostředí a  $n_1$  je index lomu prvního prostředí. [3]

Hovoříme-li o lomu světla tak mohou nastat 3 možné situace – lom ke kolmici, lom od kolmice a úplný odraz. Lom ke kolmici nastává, když se paprsek šíří z opticky řidšího do opticky hustšího prostředí ( $n_1 < n_2$ ), tzn.  $\beta < \alpha$ . Lom od kolmice nastává, když se paprsek šíří z opticky hustšího do opticky řidšího prostředí ( $n_1 > n_2$ ), tzn.

$\beta > \alpha$ . Speciálním případem lomu od kolmice je úplný odraz, kdy při mezním úhlu dopadu  $\alpha_m$ , je úhel odrazu  $\beta = 90^\circ$ . Zde platí vztah vyjádřený rovnicí

$$\sin(\alpha_m) = \frac{1}{n_1}, \quad (1.6)$$

kde  $\alpha_m$  je mezní úhel dopadu [°]. [3]

## Disperze světla

Viditelné bílé světlo se označuje jako polychromatické záření, což znamená, že se jedná o směs jednotlivých monochromatických (monofrekvenčních) složek. Tyto jednotlivé složky se při dopadu na optické rozhraní jinak lámou v důsledku odlišných indexů lomu. Tento jev se nazývá disperze světla a vyjadřuje závislost indexu lomu v daném prostředí na frekvenci. Z tohoto vztahu vyplývá, že průchodem světla do prostředí o indexu lomu se rychlost či vlnová délka  $n$ -krát zmenší. Vztah pro výpočet vlnové délky v prostředí o indexu lomu je

$$\lambda = \frac{\lambda_0}{n}, \quad (1.7)$$

kde  $\lambda$  je vlnová délka světla [m],  $\lambda_0$  je vlnová délka světla ve vakuu [m] a  $n$  je index lomu. [2], [3]

Rozdělujeme disperzi na normální, chromatickou a anomální. Při normální disperzi platí, že záření s kratší vlnovou délkou se šíří pomaleji než delší vlnové délky. Typickým příkladem normální disperze je rozklad světla na optickém hranolu. U anomální disperze se kratší vlnové délky šíří rychleji než ty delší. Chromatická disperze je výsledkem toho, že záření nejsou čistě monochromatická, tudíž určité záření obsahuje určité spektrum vlnových délek. To vzhledem k různým rychlostem šíření způsobí, že jednotlivá záření dorazí na konec optického vodiče v jiném časovém okamžiku. Tento jev se projevuje při šíření záření optickým vláknem. [4]

## Absorpce světla

Absorpce světla je fyzikální jev, kdy dochází ke zeslabení intenzity záření  $I$  určitého záření při jeho průchodu prostředím. Existují různé druhy absorpcí – neutrální, selektivní, spojitá a čárová. Liší se mezi sebou pouze tím, jak velká část spektra je pohlcována. Tohoto jevu využívá především spektrofotometrie. [1]

Při absorpci dochází k pohlcení energií fotonů valenčními elektrony látky daného prostředí, které postoupí do vyššího energetického stavu. Tyto elektrony jsou velmi nestabilní a ihned se vrátí do původního stavu. Při návratu je přebytečná energie přeměněna na teplo nebo vyzářena jako jiné záření. Tento jev se nazývá emise záření. Absorpce světla je popsána Lambertovým zákonem

$$A = \alpha \cdot l, \quad (1.8)$$

kde  $A$  je absorbance,  $\alpha$  je součinitel zeslabení absorbance a  $l$  je tloušťka vrstvy zkoumané látky  $[m]$ . Do tohoto vztahu se dosazuje Beerův zákon

$$\alpha = \varepsilon \cdot c, \quad (1.9)$$

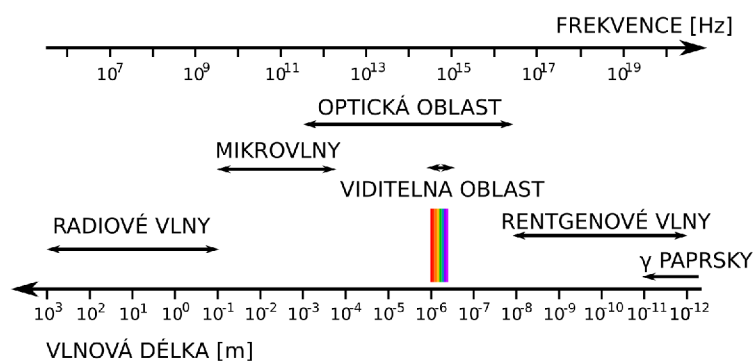
kde  $\alpha$  je součinitel zeslabení absorbance,  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient  $[m^2 \cdot mol^{-1}]$  a  $c$  látková koncentrace roztoku  $[mol \cdot m^{-3}]$ . Odtud získáme Lambert – Beerův zákon

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l, \quad (1.10)$$

kde absorbance je dána součinem molárního absorpčního koeficientu, molární koncentrací a tloušťkou roztoku. [2]

## 1.2 Spektrum elektromagnetického záření

Spektrum elektromagnetického záření, často označované jako Maxwellova duha, zahrnuje záření všech vlnových délek a frekvencí. Tyto veličiny se mění v průběhu mnoha řádů. Ve spektru se nachází významné druhy záření, jež jsou některými vlastnostmi důležité. Zde jsou vyjmenovány sestupně podle vlnové délky – radiové vlny, mikrovlny, infračervené záření (IR), viditelné světlo, ultrafialové záření (UV), rentgenové záření a gama-záření. Vše je vyobrazeno v obrázku 1.2. [2]



Obr. 1.2: Spektrum elektromagnetického záření s vyznačením frekvence  $f$   $[Hz]$  a vlnové délky  $\lambda$   $[m]$ . [6]

Každé z druhů záření je definováno energií a tím pádem i jinou schopností interakce s látkou. Přestože jsou jednotlivá záření přesně definována, tak mezi nimi dochází k překryvu. Spektrum totiž nezohledňuje původ záření, ale výše zmíněné veličiny – vlnová délka a frekvence. [3]



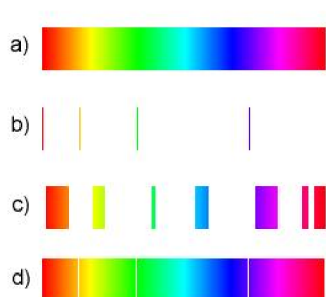
## Tvary a druhy spekter

Spektrum záření je definováno svým tvarem. Za spojité spektrum se označuje spektrum s vlnovými délkami na sebe navazujícími v celém rozsahu. Takové spektrum lze získat průchodem bílého světla přes optický hranol či mřížku. Rozžhavené plynné či pevné látky též vytváří tento typ spektra. [2], [3]

Čárové spektrum je typické pro spektra atomů plynů, kdy je tvořeno navzájem oddělenými spektrálními čarami, mezi nimiž jsou neosvětlená temná místa. Spektrální čáry jsou jednotlivé části získané rozkladem čárového spektra. [3]

Spektrum molekul je označováno jako pásové spektrum, přičemž je tvořeno velkým množstvím čar ležících v těsné blízkosti připomínající pruhy či pásy. Tyto charakteristické pásy jsou oddělené temnými úseky. [3]

Spektrum záření lze rozdělit podle původu – pokud vzniklo v látce, jedná se o spektrum emisní. Podmínkami vzniku je dodání elektromagnetického záření ve formě tepla nebo působení částic. Toto spektrum je u atomů a jednoduchých látek tvořeno několika spektrálními čarami na tmavém pozadí – má čárový charakter. Absorpční spektrum vznikne průchodem bílého světla látkou, kdy dochází k absorpci záření. Toto spektrum určité látky je doplňkem emisního spektra téže látky. Veškerá spektra jsou vyobrazena v obrázku 1.3. [3]



Obr. 1.3: Příklady druhů spekter – a) spojité spektrum, b) čárové (emisní) spektrum, c) pásové spektrum a d) absorpční čárové spektrum. [7]

Studiem záření, které je za určitých podmínek vyzářeno látkou, se zabývá rozsáhlý vědní obor spektroskopie. Přístroj pro měření spektroskopie se nazývá spektroskop. Toto záření je důležitým zdrojem informací o složení látky. [1]

## 2 Spektrální analýza

Mezi hlavní bezkontaktní analytické optické metody patří spektrální analýza, kde se využívá jevů spojených s průchodem elektromagnetického záření zkoumanou látkou. Pomocí optických přístrojů lze měřit tyto jevy a též je možné lehce matematicky definovat vztah mezi jevem a měřenou fyzikální veličinou. [1], [8]

Základem těchto metod je fakt, že každý objekt s teplotou vyšší než je absolutní nula ( $t = -273,15 \text{ }^\circ\text{C}$ ) vyzařuje určité záření. Při interakci tohoto záření s jiným může dojít k odrazu, pohlcení či lomu. Některé látky emitují záření o určitých vlnových délkách, v tom případě hovoříme o emisním spektru. Pokud záření absorbují, pak hovoříme o absorpčním spektru. Podle těchto poznatků se spektrální analýza dělí na emisní a absorpční spektrální analýzu. [1], [8]

### 2.1 Emisní spektrální analýza

Tato metoda je založená na vložení vzorku zkoumané látky do zdroje záření (například plamen či elektrická jiskra), přičemž tato látka sama vydá záření, které může být detekováno spektrálním zařízením (spektrograf). Toto záření je detekováno jako emisní čárové spektrum, kdy z tohoto spektra lze stanovit kvalitu a kvantitu obsažených prvků. Podle vlnové délky, polohy čar ve spektru, se určuje kvalita obsažených prvků a kvantita prvků se zjistí pomocí intenzity spektrálních čar. [1], [8]

Metoda rezonančních čar (posledních, zbytkových čar) je používána pro zjištění přítomnosti určitého prvku. Zde se využívá přeskoků excitovaných elektronů z vyšší energetické hladiny na hladinu původní. Každý prvek má charakteristické rezonanční čáry. Mimo to poloha čáry též značí vlnovou délku příslušného záření. [8]

Hlavní využití emisní spektrální analýzy je anorganická analýza – stanovení kovů (strojírenský a hutnický průmysl), nebo stanovení biogenních prvků v popelu. Mezi velmi využívané metody emisní spektrální analýzy patří například plamenová fotometrie využívající plamen směsi acetylen-vzduch jakožto zdroj záření, či plamenová spektrofotometrie. [8]

### 2.2 Absorpční spektrální analýza

Tato metoda je založená na měření spektra vzniklého průchodem elektromagnetického záření (viditelné světlo nebo ultrafialové záření v blízké oblasti) zkoumaným roztokem či plynem (obecně homogenní hmotné prostředí). Vlnová délka použitého záření se pohybuje v oblasti od 170 do 700 nm. Záření, které projde zkoumaným vzorkem je poté rozloženo pomocí optického hranolu nebo optické mřížky. Zde vznikají pásová (pruhová) spektra pro molekuly látek nebo roztoky

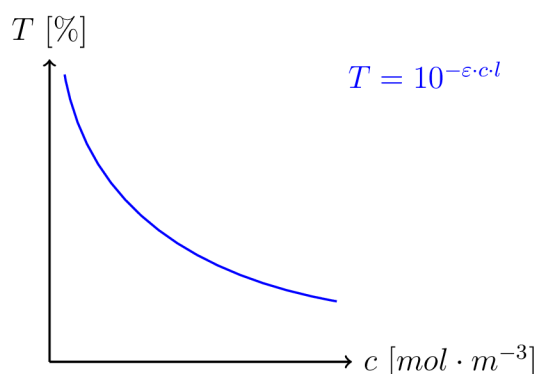
anorganických či organických látek. Dalším možným spektrem je spektrum čárové, které náleží páráům prvků nebo plynům. Toto spektrum se dále dělí na atomová nebo molekulová spektra, přičemž atomová spektra jsou jednodušší. [8]

Pro potřeby měření je zavedena veličina transmitance  $T$ , která značí množství elektromagnetického záření určité vlnové délky, které prošlo vzorkem zkoumané látky. Obecně je dána poměrem intenzity zdroje světla  $I_0$  a intenzitou prošlého světla  $I$ , ovšem v praxi jsou tyto veličiny ovlivněny absorbcí  $A$  a dalšími jinými jevy. Proto je transmitance měřena vůči slepému vzorku

$$T = \frac{I}{I_0} = \frac{I_v}{I_b} = 10^{-\varepsilon \cdot c \cdot l}, \quad (2.1)$$

kde  $T$  je transmitance [%],  $I$  je intenzita prošlého světla [ $W \cdot m^{-2}$ ],  $I_0$  je intenzita zdroje světla [ $W \cdot m^{-2}$ ],  $I_v$  je intenzita prošlého světla [ $W \cdot m^{-2}$ ] a  $I_b$  je intenzita světla, které prošlo slepým vzorkem [ $W \cdot m^{-2}$ ],  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient [ $m^2 \cdot mol^{-1}$ ],  $c$  látková koncentrace roztoku [ $mol \cdot m^{-3}$ ] a  $l$  je tloušťka vrstvy zkoumané látky [ $m$ ]. [1], [8]

Transmitance nabývá hodnot od 0 do 1 (tedy 0 až 100 %). Ilustrační znázornění závislosti transmitance na molární koncentraci je na obrázku 2.1. [1], [8]



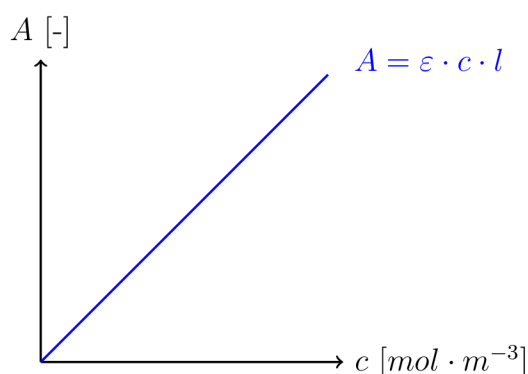
Obr. 2.1: Ilustrační znázornění závislosti transmitance  $T$  [%] na molární koncentraci  $c$  [ $mol \cdot m^{-3}$ ].

Další zavedenou veličinou je absorbance  $A$ , dříve označovaná jako extinkce  $E$ . Tato veličina udává množství záření, které bylo pohlceno zkoumaným vzorkem. Mezi těmito veličinami platí, že absorbance je logaritmus převrácené hodnoty transmitance. Vztah pro výpočet je

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T = \log \frac{I_0}{I}, \quad (2.2)$$

kde  $A$  je bezrozměrná veličina absorbance,  $T$  je transmitance [%],  $I_0$  je intenzita zdroje světla [ $W \cdot m^{-2}$ ],  $I$  je intenzita prošlého světla [ $W \cdot m^{-2}$ ]. Dalším možností je výpočet skrze Lambert – Beerův zákon, jak je uvedeno ve vztahu 1.10. [8]

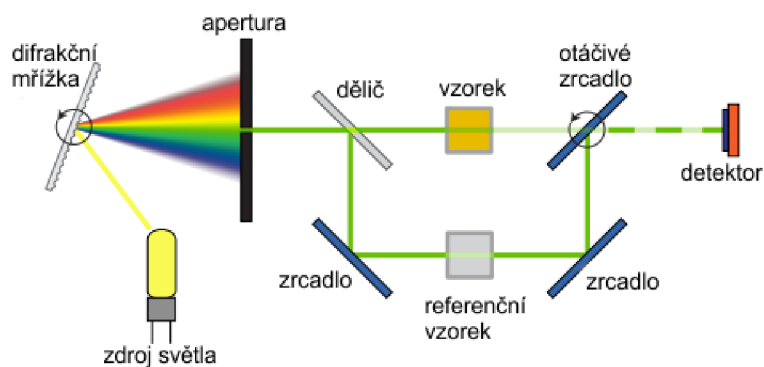
Hodnota absorbance může nabývat hodnot od nuly až nekonečno. Grafem závislosti absorbance na molární koncentraci je přímka – mezi veličinami je lineární závislost, jak je ilustračně vyobrazeno v obrázku 2.2. [8]



Obr. 2.2: Ilustrační znázornění závislosti absorbance  $A$  na molární koncentraci  $c$  [ $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ].

## Spektrofotometrie

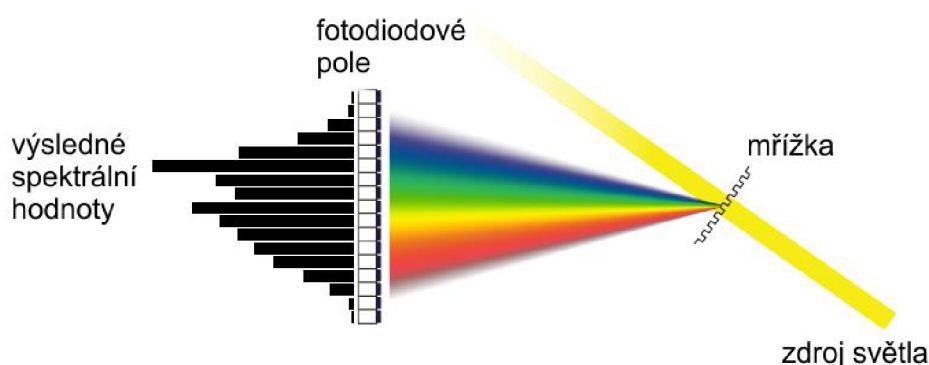
Spektrofotometrie je metoda absorpční spektrální analýzy látek. Jsou vyhodnocovány vlastnosti vzorku zkoumané látky na základě měření pohlcování, odrazu a průchodu elektromagnetického záření různých vlnových délek zkoumaným vzorkem. Zde se využívá bílého světla i záření s vlnovými délkami blízkými UV záření nebo IR záření. Spektrometr či spektrofotometr je přístroj pro provádění měření spektrofotometrie. [8], [9]



Obr. 2.3: Schématický náčrt metody spektrofotometrie s využitím spektrofotometru s vyznačením jednotlivých prvků přístroje – monochromátor (difrakční mřížka), apertura, dělič, zrcadla, vzorky a detektor. [9], [10]

Tento přístroj se skládá ze zdroje záření (nejčastěji bílé světlo), za kterým následuje monochromátor (optický hranol či mřížka), který rozloží světlo na jednotlivé složky. Poté pomocí apertury jsou konkrétní vlnové délky  $\lambda$  odděleny na jednotlivé svazky a rozděleny na dva směry, kdy jeden prochází vzorkem zkoumané látky a druhý referenčním vzorkem. Jednotlivými výstupy detekovanými fotoelektricky je intenzita elektromagnetického záření. Poté je rozdíl intenzit obou těchto směrů vyhodnocován fotosenzitivním detektorem. Následně je určena absorbance. Důležité je, že celé absorpční spektrum měřeného vzorku lze získat opakováním měření s výběrem jiných barev. Schématický náčrt spektrofotometru je vyobrazen v obrázku 2.3. [8], [9]

Spektrofotometry mohou pracovat i na jiném principu – zdroj záření vyzařuje polychromatické světlo, jež prochází vzorkem zkoumané látky a poté je pomocí monochromátoru rozloženo a dopadá na pole fotodiod. Fotodiodové pole je schématicky vyobrazeno v obrázku 2.4. Na tomto poli jsou získány intenzity zastoupení jednotlivých barev jako vlnová funkce. [8], [10]



Obr. 2.4: Princip činnosti spektrofotometru a RGB senzoru, kde spektrofotometr prostorově rozloží světlo do spektrálních složek, které jsou pak nasměrovány na pole fotodiod. Zde jsou získány intenzity dopadajícího světla. [9], [10]

Samotné měření je založeno na nalezení kalibrační křivky – závislost absorbance na molární koncentraci. Toho je docíleno proměřením vzorků roztoků o známé koncentraci. Z této křivky je poté dopočítána molární koncentrace neznámého vzorku skrze naměřenou hodnotu absorbance. [10]

Spektrofotometrie je velmi rozšířená metoda v klinických laboratořích, kde je využívána pro stanovení velmi nízkých koncentrací roztoku v řádech  $10^{-3}$  až  $10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ . Využití se také nabízí v detekci aminokyselin, při kapalinové chromatografii. [8]

## Kolorimetrie

Kolorimetrie je optická metoda analýzy koncentrace vzorku barevného roztoku. Zde se porovnává intenzita zbarvení neznámého roztoku vůči intenzitě zbarvení zkušebního roztoku o známé koncentraci (standardní roztok). [8]

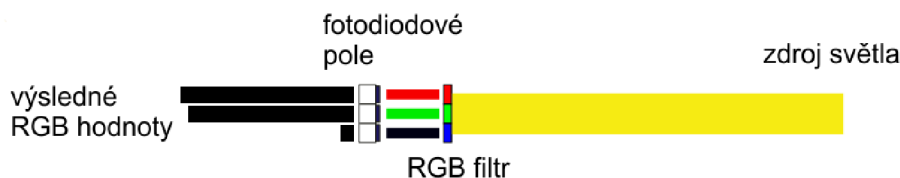
Základem měření je Lambert – Beerův zákon vyjádřený vztahem 1.10. Z tohoto zákona vyplývá, že pokud jsou absorbance neznámého a standardního vzorku stejné, tak si musí být rovny i intenzity zbarvení. Musí se rovnat součin koncentrace a tloušťky standardního a neznámého roztoku. Úpravou vyjde vztah pro výpočet neznámé koncentrace, jak je vyjádřeno ve vztahu

$$c_1 = \frac{c_2 \cdot l_2}{l_1}, \quad (2.3)$$

kde  $c_1$  je koncentrace neznámého vzorku [ $mol \cdot m^{-3}$ ],  $c_2$  je koncentrace standardního vzorku [ $mol \cdot m^{-3}$ ],  $l_2$  tloušťka neznámého vzorku [ $m$ ] a  $l_1$  je tloušťka neznámého vzorku [ $m$ ]. [8], [10]

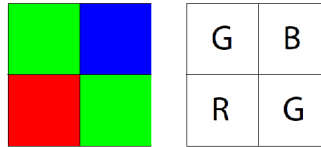
Pro vlastní měření se používají porovnávací, zředování a vyrovnávací metoda. Při porovnávací metodě se porovnává intenzita zbarvení neznámého roztoku s barevnou škálou standardního roztoku. Další metodou je metoda zředovací, kdy se zředuje standardní roztok. Zředování se provádí, dokud jeho intenzita zbarvení není shodná s intenzitou neznámého roztoku. Při vyrovnávací metodě se mění tloušťka barevných roztoků, tak aby jejich barva při pohledu shora byla stejná. Toho lze docílit snižováním hladiny, zvyšováním hladiny nebo ponořováním skleněných válečků do kapaliny. [8]

Při kolorimetrii je zdrojem záření rozptýlené denní světlo. Detektorem intenzit zbarvení je lidské oko nebo fotocitlivý senzor. Nejběžnějším kolorimetrickým senzorem je trichromatický (RGB) senzor. Je složen z fotodiód typu CCD (senzor s nábojově vázanou strukturou), nebo CMOS (komplementární polovodič oxidu kovu). Každé pole je pokryto filtry pro červenou, zelenou a modrou barvu, jak je vyobrazeno v obrázku 2.5. Pole svým chováním napodobuje chování lidského oka při vnímání barev. [8], [9], [10]



Obr. 2.5: Princip získání dat RGB optickým senzorem. Je měřeno relativní zastoupení tří základních barev ve světle. [9], [10]

Bayerovské uspořádání je nejčastější uspořádání barevných filtrů ve fotodiódovém poli. Každá buňka je tvořena 4 barevnými filtry umístěnými čtvercově (2krát 2 filtry). Jsou použity dva zelené, modrý a červený filtr, jak je ukázáno v obrázku 2.6. Toto uspořádání se co nejvíce blíží lidskému vnímání barev. Z buňky jsou poté získány tři hodnoty intenzity pro každou z barev. Výsledná barva jednoho pixelu vznikne složením intenzit. [9], [10]



Obr. 2.6: Bayerovské uspořádání barevných filtrů využívající dva zelené, modrý a červený filtr. [9], [10]

### 3 Měření pH a teploty

Aby buňka přežila, potřebuje stálé vnitřní a vnější prostředí. Stálý objem (izovolumie), stálá tonicita (izoosmolarita), stálé iontové složení (izoionie) a stálé pH (izohydrie) patří mezi základní komponenty vnitřního prostředí. Koncentrace iontů, vody a teplota patří do komponent vnějšího prostředí. Při změně těchto komponent mimo optimální interval hodnot, může dojít k nevratnému poškození buněk. Při pěstování buněk *invitro* jsou pH a teplota nejdůležitějšími komponenty prostředí. [11]

#### pH

pH neboli vodíkový exponent je číslo, které vyjadřuje, zda se vodný roztok bude chovat kyselé nebo zásaditě. Kyselé látky disociují na vodíkový kationt  $H^+$  a aniont kyseliny. Za normálních podmínek se vodíkový kationt váže na molekulu vody za vzniku oxoniového kationtu  $H_3O^+$ . Zásadité látky v chemické reakci přijímají vodíkové kationty. [12]

pH je vyjádřeno pomocí logaritmické stupnice a může nabývat hodnot od 0 do 14. Hodnoty 0 nabývají silné kyseliny, hodnoty 14 silně zásadité látky a hodnoty 7 látky neutrální – například voda. Vztah pro výpočet pH je

$$pH = -\log a_{H_3O^+} \quad (3.1)$$

kde pH je vodíkový exponent [-] a  $a$  je aktivita oxoniových kationtů [-]. [12]

Aktivita je velmi závislá na molární koncentraci podle vztahu  $a = \gamma_c \cdot c$ . Mimo velmi koncentrované roztoky je aktivitní koeficient  $\gamma_c$  zhruba roven jedné. Tudíž je aktivita přibližně rovna molární koncentraci ( $a \approx c$ ). Úpravou předchozího vztahu získáme vztah pro výpočet pH na základě molární koncentrace. [12]

$$pH = -\log [H_3O^+], \quad (3.2)$$

#### Teplota

Teplota je intenzivní stavová veličina charakterizující tepelný stav hmoty. Intenzivní fyzikální veličina značí, že při skládání dvou systémů o různé teplotě, nevznikne systém s teplotou rovnou součtu hodnot v obou systémech před spojením. Stavová fyzikální veličiny popisuje vnitřní stav tělesa v daném okamžiku. Mezi tyto veličiny patří tlak, objem, počet částic a teplota. [2], [15]

Dle mezinárodního systému je základní veličinou termodynamická teplota  $T$  s jednotkou  $K$  (Kelvin). Dalšími používanými teplotními stupnicemi je stupnice Celsiova nebo Fahrenheitova. Vztah mezi Celsiovou teplotní stupnicí a termodynamickou



je dán skrze absolutní nulu. To je hypotetický stav při teplotě  $0\text{ K}$ , kdy dojde k zastaví veškerého tepelného pohybu částic. [2], [15]

$$T = t + 273,15, \quad (3.3)$$

kde  $T$  je termodynamická teplota [ $K$ ] a  $t$  je teplota vyjádřena Celsiovou stupnicí [ $^{\circ}C$ ]. [2], [15]

## 3.1 Měření pH

Hodnota pH je jednou z velmi důležitých charakteristik pro mnoho chemických a především biochemických dějů. V závislosti na požadované přesnosti naměřené hodnoty pH se zvolí metoda měření. Nejméně přesnou metodu je odhad pH pomocí acidobazických indikátorových papírků. Přesnější hodnoty může poskytnout optické měření (spektrofotometrie, kolorimetrie) nebo potenciometrické měření pH metrem. Pro samotné měření je nutné upravit vzorek zkoumaného roztoku, aby změna pH se co nejvíce projevila na optických vlastnostech vzorku. Tato změna je provedena obarvením vzorku vhodným barvivem. [16]

### Barviva

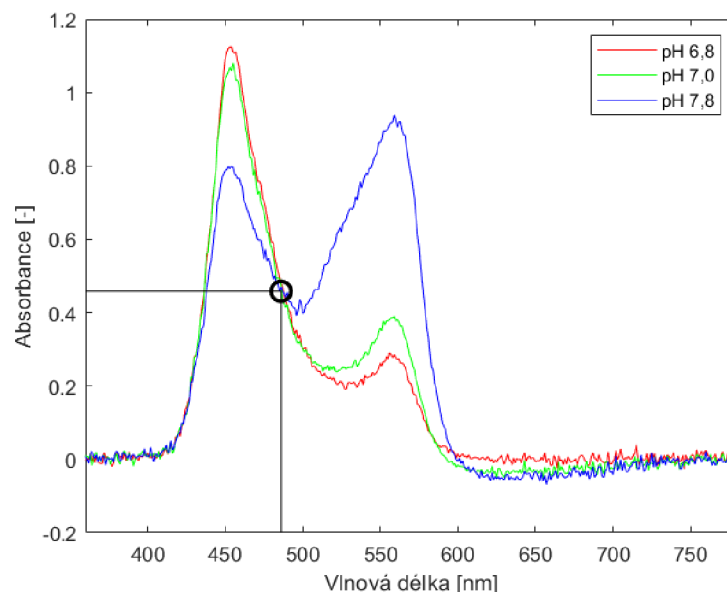
Mezi často používaná barviva patří fenolová červeň nebo bromthymolová modř. Fenolová červeň je acidobazický indikátor pro oblast pH od 6,8 do 8,4. Toto barvivo velmi citlivě odráží změny pH v oblasti blízké fyziologickému prostředí. Kvůli této vlastnosti se využívá v médiích používaných pro kultivaci buněk. [21], [16]

Důležitým bodem ve výše zmíněného grafu (obrázek 3.1) je tzv. isosbestický bod. Napravo od tohoto bodu je největší rozdíl v hodnotách absorbance. Tento fakt je využit v přístrojové kolorimetrii. [16]

### Kolorimetrické měření

Jednou z nejpoužívanějších kolorimetrických metod měření pH je měření pomocí indikátorových papírků. Jedná se o subjektivní metodu. Vychází z namočení indikátorového papírku v podobě testovacího proužku do roztoku o neznámé hodnotě pH. Díky reakci mezi roztokem a indikátorem dojde ke změně barvy na papírku, ta je pak následně porovnávána se s stupnicí na obalu papírků. Tato metoda je silně závislá na barvocitu výzkumníka. Tyto papírky jsou jednorázové a nejsou schopny rozlišit hodnotu pH s dostatečnou přesností. Vždy jsou vyrobené pro poměrně úzký rozsah hodnot pH. [21], [16]

Oproti tomu přístrojová kolorimetrie analyzuje zbarvení zkoumaných vzorků látky. Tyto vzorky jsou obarveny acidobazickým indikátorem, zpravidla fenolovou



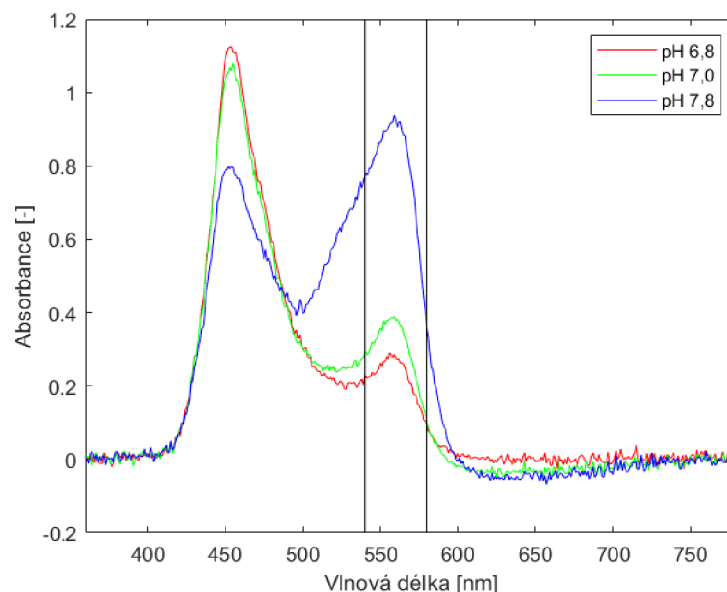
Obr. 3.1: Spektra fenolové červeni pro různé roztoky o známé hodnotě pH s vyznačeným isosbestickým bodem.

červení, a porovnány s kalibrační křivkou. Oproti spektrofotometrii není u kolorimetrie nutné měřit celé spektrum. Je použito světlo s vlnovou délkou z pásma, kde má fenolová červeně největší rozdíl v propustnosti světla a tím i v absorbanci. Toto pásmo se nachází v oblasti od 540 do 580  $nm$  (viz. obrázek 3.2). [21], [16]

Na začátku měření je zvolena vlnová délka použitého měřicího světla. Následně je změřena hodnota intenzity záření pro slepý vzorek a minimálně 3 vzorky obarvených roztoků o známé hodnotě pH. Jako slepý vzorek je použita prázdná kyveta nebo kyveta naplněna destilovanou vodou. Poté je pro každý vzorek roztoku spočítána absorbance podle vztahu 2.2. Následně je vytvořena kalibrační křivka z níž je pak zjišťována hodnota pH na základě hodnoty absorbance. Vzniklé body jsou aproximovány pomocí vhodné metody. U výsledné křivky se požaduje, aby koeficient korelace  $\rho$  byl vyšší než 0,90. Koeficient korelace značí míru korelace mezi nezávislou (osa  $x$ ) a závislou veličinou (osa  $y$ ). Může nabývat hodnot od -1 do 1, kdy hodnota 1 značí přímou závislost, 0 značí nezávislost a hodnota -1 znamená nepřímou závislost. [13], [16]

### Spektrofotometrické měření

Spektrofotometrické měření pH je založeno na měření celého spektra zkoumané látky. Měřené vlnové délky se nejčastěji nachází v intervalu od 360 do 760  $nm$ . Průběh měření je následující: jsou vybrány minimálně 3 látky o známé hodnotě pH (například



Obr. 3.2: Spektra fenolové červeni pro různé roztoky o známé hodnotě pH s vyznačením pásma, kde je největší rozdíl hodnot absorbance.

pH pufrů). Vzorek každé látky je obarven vhodným barvivem. [16]

V prvním kroku měření je naměřeno spektrum slepého vzorku a spektra vzorků látek. Jedná se o závislost intenzity na vlnové délce (obrázek 3.3a). V dalším kroku měření je proveden převod intenzity na absorbanci podle vztahu 2.2. Výsledkem je závislost absorbance na vlnové délce (obrázek 3.3c). Dále je vytvořen graf závislosti absorbance na pH. Jednotlivé body jsou aproximovány vhodnou metodou (například lineární regrese, kvadratická regrese a další). Vybraná metoda musí mít, co nejvyšší koeficient korelace. Ovšem je nutné, aby zvolená metoda nebyla příliš náročná na výpočet. [21], [16]

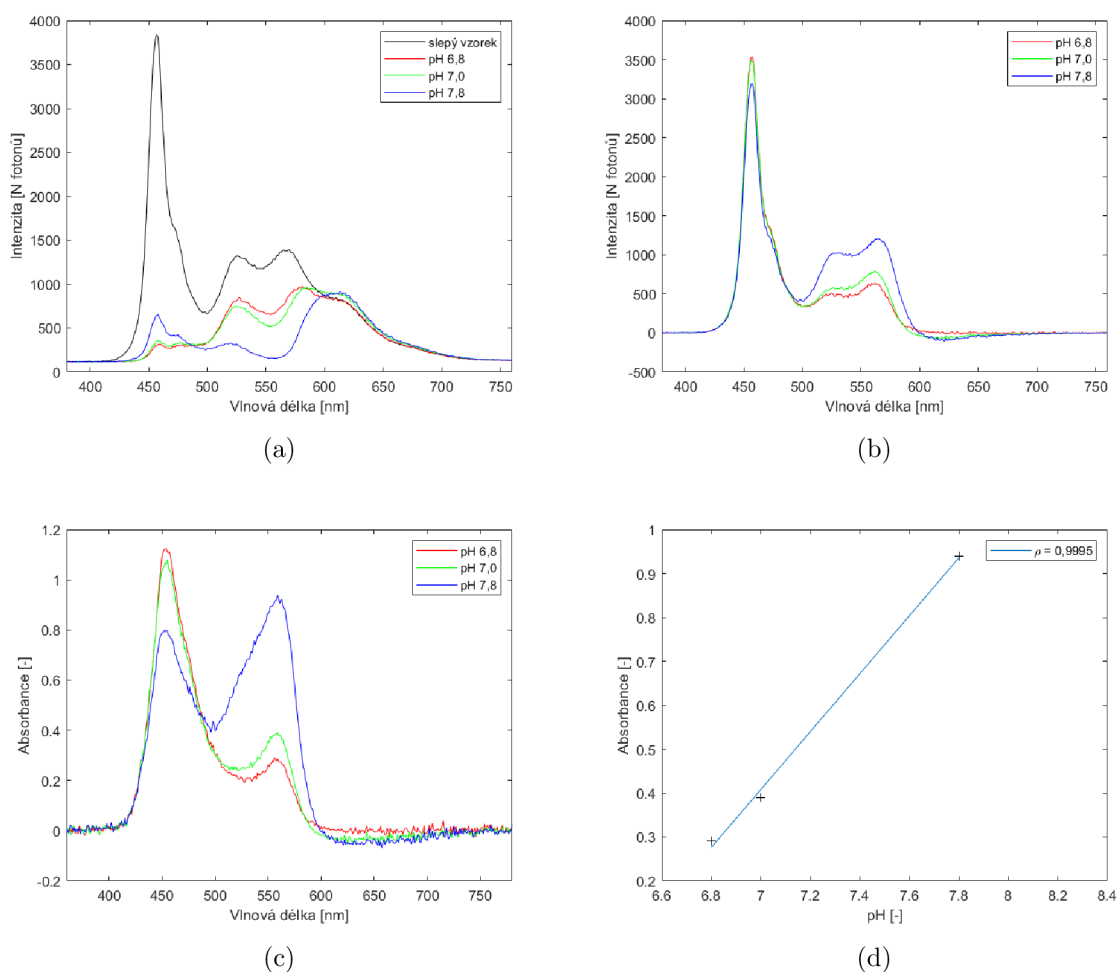
Při použití lineární regrese má rovnice přímky tvar

$$Y = m \cdot X + n, \quad (3.4)$$

kde  $Y$  je hodnota bezrozměrné absorbance,  $X$  je hodnota pH [-],  $m$  a  $n$  jsou parametry popisující přímku, kde  $m$  je sklon přímky a  $n$  je posunutí přímky.

Proces výpočtu hodnoty pH pro neznámý vzorek je následující: je změřeno spektrum neznámého vzorku. Spektrum slepého vzorku je poděleno spektrem vzorku neznámého. Je spočítána absorbance jako dekadický logaritmus výše zmíněného poměru. Poté je z upravené rovnice kalibrační křivky odečtena hodnota pH. Upravená rovnice kalibrační křivky při použití lineární regrese má následující tvar

$$X = \frac{Y - n}{m}. \quad (3.5)$$



Obr. 3.3: Průběžné výsledky při spektrofotometrickém měření pH. (a) Naměřená spektra vzorků pH a slepého vzorku. (b) Spektra, která vznikla odečtením spekter vzorků pH od spektra slepého vzorku. (c) Vytvoření grafické závislosti absorpance na vlnové délce. (d) Vytvoření kalibrační křivky - aproximace hodnot závislosti absorpance na pH (použita lineární regrese).

## 3.2 Měření teploty

Teplota je jedním z nejdůležitějších parametrů vnějšího prostředí. Způsoby měření teploty lze rozdělit do dvou kategorií - kontaktní a bezkontaktní měření. Při bezkontaktních měření teploty je pomocí termokamer snímáno vyzářené teplo tělesem. Měření teploty pomocí kontaktních metod je založeno na přiložení teplotního čidla přímo na zkoumaný objekt. U těchto teplotních čidel je měření teploty zjišťováno na základě změny fyzikální veličiny se změnou teploty. Těmito veličinami může být například objem, elektrický odpor nebo je využito termoelektrického jevu. [14], [15]

## Kovové odporové teploměry

Měření teploty pomocí kovových odporových teploměrů je založeno na změně elektrického odporu v závislosti na změně teploty. Tato závislost může být vyjádřena jako

$$R = R_0 \cdot (1 + \alpha \cdot \Delta T) = R_0 \cdot [1 + \alpha \cdot (T - T_0)], \quad (3.6)$$

kde  $R$  je elektrický odpor při teplotě  $T$  [ $\Omega$ ],  $R_0$  je elektrický odpor při teplotě  $T_0$  [ $\Omega$ ],  $\alpha$  je teplotní součinitel odporu [ $K^{-1}$ ] a  $\Delta T$  je změna teploty [ $K$ ]. [2], [14], [15]

Linearita měření ve velkém rozsahu teplot a lehké vyhodnocení jsou jedny z hlavních výhod tohoto typu teploměru. Platinový teploměr je jedním z nejpoužívanějších teploměrů. Měří v rozsahu teplot od  $-110$  do  $440$  °C, kdy přesnost měření se pohybuje v řádech tisícín stupně. [14], [15]

## Měření pomocí termočlánku

Termočlánky měří teplotu na základě termoelektrického jevu. Termoelektrický jev nebo také Peltier-Seebeckův jev je přímou přeměnou rozdílu teplot na elektrické napětí a obráceně. Principiálně elektrický obvod je tvořen dvěma různými kovy s různou teplotou, kterými protéká elektrický proud. Při rozpojení obvodu je měřeno termonapětí, jako rozdíl teplot mezi spoji. Při praktickém měření je jeden z vodičů vložen do prostředí o známé teplotě (referenční teplota) a druhý vložen do zkoumaného prostředí. Poté je pomocí voltmetru změřeno termonapětí, kdy termonapětí je kvadratickou funkcí teploty. Ovšem pro malé rozsahy teplot od  $20$  do  $50$  °C (medicínské využití) lze použít lineární závislost popsanou vztahem

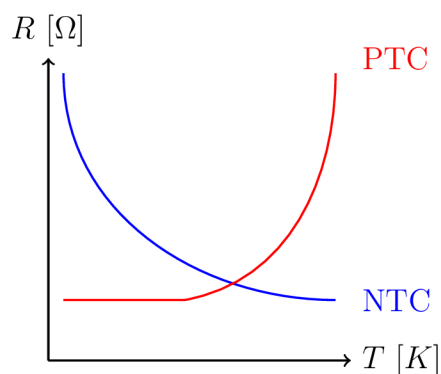
$$U_{AB} = k \cdot (t_A - t_B), \quad (3.7)$$

kde  $U_{AB}$  je termonapětí mezi referenčním a měřicím bodem termočlánku [ $V$ ],  $k$  je kalibrační konstanta [ $V \cdot K^{-1}$ ],  $t_a$  a  $t_b$  jsou teploty těchto bodů [°C]. [14], [15]

Nejpoužívanějšími materiály pro výrobu termočlánků v medicínském využití jsou mangan-konstantan a měď-konstantan s kalibrační konstantou rovnou hodnotě  $40 \mu V \cdot K^{-1}$ . Při měření termočlánkem je přesnost ovlivněna citlivostí voltmetru měřícího termonapětí a též i na přesnosti měření referenční teploty termočlánku. Jednou z hlavních výhod termočlánků je miniaturizace. [14], [15]

## Měření pomocí termistoru

Termistor je elektrotechnická součástka jejíž elektrický odpor je závislý na teplotě. Tato součástka se proto využívá pro měření teploty. Pro měření teploty (převod změny elektrického odporu na teplotu) je nutné znát volt-ampérovou charakteristiku, která není lineární. [14], [15]



Obr. 3.4: Ilustrační znázornění závislosti termodynamické teploty  $T [K]$  a elektrického odporu  $R [\Omega]$  s pozitivním a negativním teplotním koeficientem.

Rozlišují se dva typy termistorů podle teplotní vazby - PTC a NTC. PTC neboli pozistor je termistor u něž s rostoucí teplotou roste elektrický odpor. Pozistor tedy má pozitivní teplotní koeficient. NTC nebo také negastor má negativní teplotní koeficient - s rostoucí teplotou klesá elektrický odpor. Tyto vazby jsou ilustračně znázorněny v obrázku 3.4. [14], [15]

Vztah pro výpočet teploty pomocí termistoru je dán vztahem vycházejícím ze Steinhart-Hartovi rovnice. Tato rovnice je aproximací teplotní charakteristiky termistoru polynomem 3. řádu. Vztah je vyjádřen jako

$$\frac{1}{T} = A + B \cdot \ln R + C \cdot (\ln R)^3, \quad (3.8)$$

kde  $T$  je termodynamická teplota  $[K]$ ,  $R$  je elektrický odpor při teplotě  $T [\Omega]$ ,  $A$ ,  $B$  a  $C$  jsou Steinhart-Hartovi parametry. Tyto parametry jsou konstanty specifické pro konkrétní termistor. Měření je řádově v  $mK$ , což je velmi přesné. [14], [15]

## 4 Mikrofluidní systémy

Mikrofluidika je mladý multidisciplinární obor na pomezí fyziky, chemie, buněčné biologie a inženýrství, který se zabývá studiem a manipulací s kapalinami v prostředích menších než 1 mm. V praxi se pracuje s objemy kapalin v piko- či nanolitech (*pl – nl*). Díky práci s takto malými objemy dochází k tomu, že se kapalina chová jinak než je typické pro makro- rozměry. Převládají zde jiné jevy, jako je laminární proudění. [18], [19]

Hlavními poli využití mikrofluidních systémů jsou chemie, biologie a biochemie. Jedná se o analýzu vzorků, precizní syntézu látek či simulace účinků léčiv na tkáň. V současné době se experimentuje s využitím v zobrazovacích systémech nebo energetice. [17], [19]

### 4.1 Fyzika mikrofluidních systémů

V mikrofluidních systémech převládají kapilární síly a síly povrchového napětí nad silou gravitační. Vznik laminárního proudění je způsoben právě převahou kapilárních sil. V mikrofluidních systémech teoreticky nemůže vzniknout turbulentní proudění kapaliny. Díky tomuto faktu je snadné předvídat chování kapaliny. K mísení dvou kapalin dochází pouze difuzí. [18], [19]

#### Proudění kapaliny

Kapalina může proudit buď laminárně nebo turbulentně. Při laminárním proudění jsou proudnice rovnoběžné a nemísí se. Proudnice je smyšlená čára značící trajektorii pohybu jednotlivých částic. Naopak u turbulentního proudění se proudnice navzájem mísí. Částice kapaliny vykonávají krom posuvného i vlastní pohyb, jenž vede ke vzniku vírů. [2], [17]

Pro popis, zda kapalina proudí laminárně nebo turbulentně se používá bezrozměrné Reynoldsovo číslo  $Re$ . Důležitá je kritická hodnota Reynoldsova čísla, kdy dochází k přechodu z jednoho typu proudění na druhý. Obecně platí, že pro hodnoty menší než 2300 se hovoří o laminárním proudění. Pro hodnoty vyšší než 2300 o proudění turbulentním. Vztah pro výpočet Reynoldsova čísla je

$$Re = \frac{\rho \cdot d \cdot v}{\eta}, \quad (4.1)$$

kde  $Re$  je Reynoldsovo číslo [-],  $\rho$  je hustota kapaliny [ $kg \cdot m^{-3}$ ],  $d$  je průměr trubice [ $m$ ],  $v$  je rychlost proudění kapaliny [ $m \cdot s^{-1}$ ] a  $\eta$  je dynamická viskozita kapaliny [ $kg \cdot m^{-1} \cdot s^{-1}$ ]. [2], [17]

Při průchodu kapaliny systémem dochází ke vzniku smykového napětí. Toto napětí působí na stěny systému a je důsledkem přítomnosti gradientu rychlosti proudění. Rychlost proudění kapaliny ve středu kapiláry je maximální, zatímco u stěny kapiláry je nulová. [17], [18], [19]

### Mísení kapalin

Difuze je fyzikální proces transportu látek po koncentračním spádu – transport z místa s vyšší koncentrací do místa s nižší. Z hlediska mikrofluidních systémů, jsou-li vedle sebe dva mikrofluidní proudy kapaliny o různé koncentraci, tak mezi nimi vznikne gradient. Následkem tohoto gradientu se budou vyrovnávat koncentrace, ale svojí činností též sníží rychlost průtoku v obou proudech. [11], [18], [19]

Pro charakterizaci přenosu hmoty ve spojitém prostředí se používá bezrozměrné Pecletovo číslo  $Pe$ . Obecně je Pecletovo číslo dáno poměrem rychlosti advekce ku rychlosti difuze. Advekce je jev, kdy je látka unášena kapalinou. Vztah pro výpočet Pecletova čísla je

$$Pe = \frac{L \cdot u}{D}, \quad (4.2)$$

kde  $Pe$  je Pecletovo číslo [-],  $L$  je charakteristická délka kapiláry [ $m$ ],  $u$  je místní rychlost šíření [ $m \cdot s^{-1}$ ] a  $D$  je difuzní koeficient [-]. [11], [18], [19]

### Kapilarita

Kapilarita je souhrnné označení fyzikálních jevů pozorovaných u proudění kapaliny v úzké trubici – kapiláře. Tyto jevy jsou úzce spojeny s existencí povrchového napětí, adheze a koherence. Má-li kapilára volné konce a jeden z nich je ponořen do kapaliny, tak mohou nastat dva kapilární jevy – kapilární elevace a kapilární deprese. Důležitou veličinou je stykový úhel  $\alpha$ . [2]

V případě kapilární elevace dojde k vzrůstu hladiny z důvodu, že molekulové interakce mezi stěnami kapiláry jsou silnější, než interakce mezi molekulami kapaliny. V tomto případě je použitá kapalina označována jako smáčivá. Při použití nesmáčivé kapaliny dojde k jevu kapilární deprese. Vztah pro výpočet rozdílu výšky hladiny při použití či zanedbání úhlu styku je

$$h = \frac{2 \cdot \sigma \cdot \cos(\alpha)}{r \cdot \rho \cdot g} \approx \frac{2 \cdot \sigma}{r \cdot \rho \cdot g}, \quad (4.3)$$

kde  $h$  je zvýšení nebo snížení hladiny [ $m$ ],  $\sigma$  je povrchové napětí [ $N \cdot m^{-1}$ ],  $\alpha$  je stykový úhel [ $^\circ$ ] a  $g$  je tíhové zrychlení [ $m \cdot s^{-2}$ ]. [2], [18], [19]



## Elektroosmotický průtok

Elektroosmotický průtok je pohyb kapaliny indukovaný přiloženým potenciálem na porézní materiál, kapilární trubici, membránu a další. Elektroosmotický průtok je nejvýznamnější v malých kanálech. Jedná se o základní složku chemických separačních technik, zejména kapilární elektroforézy. [18], [19]

## 4.2 Konstrukce mikrofluidního systému

Jelikož je mikrofluidika relativně mladý obor, nebyly zatím stanoveny řádné výrobní postupy. Čip nebo kanálek tedy mohou nabývat různých tvarů. Důležitým prvkem při konstrukci mikrofluidního systému je průřez kanálku. [17]

Dříve se často používaly kanálky obdélníkového průřezu. Ovšem podél hran kanálku obdélníkového průřezu vznikají nerovnoměrnosti ve velikosti působícího smykového napětí. Toto má za následek nestandardní chování buněk. Typickým příkladem je přilnutí leukocytů (marginace) do rohů kanálku. V současné době se používají kanálky kruhového průřezu. Díky svému průřezu působí podél stěn uniformní smykové napětí. Svým chováním připomínají chování cév *in vivo*. [17]

Každý mikrofluidní systém se 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. [17], [18], [19]

### Výrobní materiály

V počátcích mikrofluidiky se používalo sklo a křemík. Hlavní důvodem použití bylo primární využívání mikrofluidiky – kapilární elektroforéza, kde je sklo ideálním materiálem. Nevýhodami těchto materiálů je nepropustnost pro plyny a křehkost. Díky své křehkosti je velmi náročné a drahé v zmíněných materiálech vytvořit kanálek. Křemík mimo jiné je nepropustný pro viditelné světlo a UV záření, což limituje jeho využití s mikroskopickými technikami. Tyto materiály dodnes nachází uplatnění při výrobě, ale byly nahrazeny plasty. [17]

Materiálem, který nahradil sklo a křemík je PDMS (*polydimethyl siloxan*). PDMS z chemického hlediska patří mezi elastomery. Mezi jeho výhody patří průhlednost, elasticita a cenová dostupnost. Elasticita umožňuje dodatečnou instalaci pump a dalších zařízení pro pohyb kapaliny uvnitř systému. V porovnání se sklem či křemíkem, je PDMS propustný pro plyny a má nízkou toxicitu a nízkou chemickou reaktivitu. Cenová dostupnost je způsobena jednoduchou výrobou a nižšími nároky na čistotu výrobních prostor oproti sklu a křemíku. Hlavní nevýhodou PDMS je hydrofobní povrch. Tento povrch způsobuje nespecifickou adsorpci. Například u analýzy

proteinů, může tento materiál vést ke zkreslení či znehodnocení výsledků. Možným řešením je modifikace povrchu. [17]

### **Výrobní postupy**

Výrobní postupy mikrofluidních čipů se liší v závislosti na požadované složitosti a přesnosti. Čipy se mohou vyskytovat v jednodušším 2D provedení, kdy kanálky a měřicí čipy leží v jedné rovině. U 3D čipů roste náročnost i cena výroby. [17]

3D tisk je jednou z možností výroby mikrofluidních čipů. Nízká pořizovací cena tiskárny a nízká cena tisku umožňuje tisk složitých 3D struktur. Tyto struktury jsou náročné při výrobě litografií. Další výhodou je rychlost tisku, kdy výzkumník může rychle vytvářet nové prototypy podle naměřených výsledků. Navzdory svým výhodám 3D tisk nemůže konkurovat litografii v poli přesnosti. [17]

Měkká litografie je nejrozšířenější metoda výroby mikrofluidních systémů z PDMS. Celý výrobní proces začíná výrobou formy s požadovanými strukturami při použití obrácené geometrie. Forma má nejčastěji kruhový tvar o poloměru 10 *cm* a výšce zhruba 0,5 *mm*. Tato forma se dá použít opakovaně. Poté je na formu nalita viskózní směs polymerů a síťovací reagenty. Směs se nechá na formě ztuhnout. Ztvrdlý výsledek se poté přilepí na podklad, kterým může být PDMS či sklo. Posledním krokem výroby je vytvoření otvorů pro proud kapaliny a mikrofluidní systém je připravený pro použití. Tento výrobní postup může být modifikován pro potřeby použití. [17]

### **Lab-on-a-chip**

Při analýze vzorků, syntéze látek či simulaci tkání se využívá systémů  $\mu$ TAS. Obecně se jedná o systémy zařízení malých rozměrů (*cm*), různých tvarů a materiálů. Tyto systémy využívají proudění kapaliny v kanálcích o mikro- rozměrech. Kromě kanálků systémy využívají dalších komponent (uzávěry, mixéry, pumpy a další). [18], [20]

Lab-on-a-chip (LOC) neboli laboratoř na čipu je zařízení, které integruje jednu či více laboratorních funkcí na malý čip. Tyto čipy jsou podmnožinou mikroelektromechanických systémů (MEMS). [20]

## **4.3 Využití mikrofluidních systémů**

Průtoková mikrofluidika je technologie založená na kontinuálním průtoku kapaliny, která je řízena externě – zdroj tlaku, čerpadla, integrovaná mikročerpadla nebo kapilární jevy s elektrokinetickými mechanismy. Průtoková mikrofluidika je vhodná pro jednoduché biologické úlohy jako je separace bílkovin, avšak zcela nevhodná pro vysoce flexibilní úlohy vyžadující komplexní práci s kapalinami. 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 je podkapitola mikrofluidiky, kde se pracuje s kapkami s diskretními objemy tekutin v nemísitelných fázích s nízkým Reynoldsovým číslem a laminárním průtokovým režimem. Mikrokapky dovolují pracovat s doopravdy malými objemy kapaliny (řádově  $\mu l$  i  $pl$ ), což umožňuje lepší mísení, zapouzdření, třídění a snímání. Zcela vyhovují experimentům s vysokou propustností. [18]

Další možností využití jsou 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 zachycovaných činidel — monoklonálních protilátek. Ty se využívají k určení přítomnosti a množství bílkoviny v biologických roztocích. Nevýhodou proteinových polí je, že nejsou rekonfigurovatelné a ani škálovatelné po výrobě. [18]

### **Optofluidika**

Optofluidika je oblast výzkumu a vývoje využívající mikrofluidiku a optiku. Optofluidní systém využívají displeje, biosenzory, LOC zařízení, čočky a molekulární zobrazovací nástroje. [21]

## 5 Vývojová platforma Arduino

Arduino je open-source (neomezená možnost tvorby pro širší veřejnost) vývojová platforma s grafickým vývojovým prostředím Arduino IDE. Arduino vzniklo v roce 2005 jako odpověď italských Interaction Design Institute z města Ivrea, kteří chtěli studentům nabídnout levný a jednoduše pochopitelný vývojový set pro výuku prototypování. Arduino má svůj programovací jazyk Wiring, který vychází z jazyka Processing. Oba tyto jazyky jsou postaveny na C/C++. Na Arduino díky své oblibě vznikly i přídatky v podobě řídicích periférií jako jsou motory, displeje, pevné i bezdrátové připojené komunikační platformy a vstupní zařízení. [22], [23]

### 5.1 Vývojová deska Arduino UNO

Arduino se vyrábí v několika různých typech. Podle typu se liší velikostí, počtem pinů, použitým procesorem a tím i velikostí operační paměti. Mezi nejčastější typy Arduina patří Mini, Nano, Micro, UNO a Mega. V tabulce jsou popsány základní rozdíly mezi tři nejpoužívanějšími typy desek Arduino (tabulka 5.1). [23]

Tab. 5.1: Přehled rozdílů mezi 3 nejpoužívanějšími deskami Arduino – Nano, UNO a Mega. [22]

|                               | Nano       | UNO        | Mega       |
|-------------------------------|------------|------------|------------|
| Velikost (délka x šířka) [mm] | 43 x 18    | 69 x 53    | 102 x 53   |
| Procesor                      | ATmega328P | ATmega328P | ATmega2560 |
| Operační / vstupní napětí [V] | 5 / 7 – 9  | 5 / 7 – 12 | 5 / 7 – 12 |
| Rychlost CPU [MHz]            | 16         | 16         | 16         |
| Analogové piny In / Out       | 8 / 0      | 6 / 0      | 16 / 0     |
| Digitální piny IO / PWM       | 14 / 6     | 14 / 6     | 54 / 15    |
| Flash paměť [kB]              | 32         | 32         | 256        |
| USB port                      | Mini       | Typ B      | Typ B      |

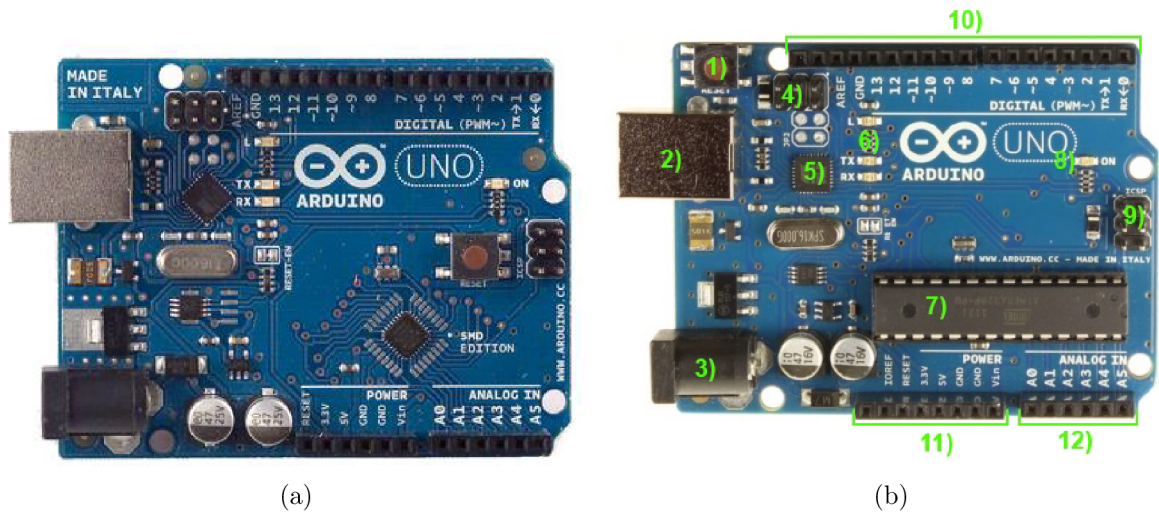
Deska Arduino UNO, vyobrazena na obrázku 5.1a, je deska s mikrokontrolerem ATmega328P od firmy Atmel, vstupně-výstupními piny, oscilátorem, USB portem a konektorem pro připojení napájení. Jedná se o jednu z nejprodávanějších desek. Kombinuje ideální poměr mezi velikostí a výkonem. Další výhodou je velká dostupnost návodů a příslušenství jako jsou Arduino shiely. Arduino shield je rozšiřující modul na desku UNO, který je zapojen do pinů na desce. Arduino UNO se liší od všech vývojových desek v tom, že nepoužívá FTDI USB-to-serial řídicí čip, místo

toho má naprogramovaný čip ATmega16U jako USB-to-serial převodník. Nejdůležitější parametry desky jsou uvedeny v tabulce 5.2. [22], [23]

Tab. 5.2: Tabulka parametrů pro desku Arduino UNO R3. [23]

| Parametr                  | Hodnota    |
|---------------------------|------------|
| Procesor                  | ATmega328P |
| Operační napětí           | 5 V        |
| Doporučené vstupní napětí | 7 – 12 V   |
| Limitní vstupní napětí    | 6 – 20 V   |
| Digitální I/O piny        | 14         |
| PWM digitální I/O piny    | 6          |
| Analogové vstupní piny    | 6          |
| DC proud na I/O pin       | 20 mA      |
| DC proud pro 3.3V pin     | 50 mA      |
| Flash paměť               | 32 kB      |
| SRAM                      | 2 kB       |
| EEPROM                    | 1 kB       |
| Frekvence procesoru       | 16 MHz     |
| Rozměry                   | 69 x 53 mm |
| Váha                      | 25 g       |

V obrázku 5.1b je vyobrazena deska Arduino UNO s vyznačenými důležitými externími prvky a stručným popisem jejich funkce. 1) Resetovací tlačítko slouží ke znovuspouštění nahraného programu. Na deskách se může nacházet různě, avšak vždy je popsáno nápisem RESET. 2) USB konektor typu B je určen k externímu nahrání řídicího programu a napájení. 3) Napájecí souosý konektor slouží pro napájení desky bez použití USB portu. 4) ICSP hlavice pro externí programování USB-serial převodníku. 5) USB-serial převodník, který zajišťuje komunikaci mezi deskou a počítačem. 6) Indikační LED diody L, Rx a Tx. Dioda L je propojena s digitálním pinem 13 a diody Rx a Tx slouží k indikaci komunikace skrze sériovou linku. 7) Hlavní čip celé desky, který se v závislosti na provedení může nacházet různě. 8) Indikační LED dioda ON, která svítí při připojení napájení. 9) ICSP hlavice pro externí programování hlavního čipu a využití některými shiely. 10) Digitální piny sloužící jako vstup i výstup. Piny označené vlnovkou podporují PWM modulaci. 11) Napájecí vstupy desky. 12) Analogové vstupy. [22], [23]



Obr. 5.1: Deska Arduino UNO R3 s vyznačenými nejdůležitějšími externími komponenty. [23]

## Napájení desky

Desku Arduino lze napájet několika způsoby – souosý konektor, USB konektor, piny VIN a GND a kombinace pinů 5V a GND. Prvním způsobem napájení je použití souosého konektoru. Toto napájení je jistěno proti přepólování diodou na vstupu. Rozsah vstupního napětí pro tento konektor je 6 až 20 V, ovšem některé klony desky používají jiný typ lineárního regulátoru, pro který je 15 V maximální možné vstupní napětí. [10], [23]

Dalším způsobem je napájení z počítače skrz USB kabel s konektory typu A a B, kdy konektor typu A je zapojen do počítače a konektor typu B do desky. Toto zapojení obsahuje napěťovou regulaci na 5 V. [10]

Desku Arduino lze napájet připojením zdroje na piny VIN a GND nebo 5V a GND. Zapojení VIN a GND je stejné jako u použití souosého konektoru, avšak na vstupu není žádná ochranná dioda. Je zde možnost nechtěného přepólování a tím zničení desky. Zapojení zdroje napájení do pinu 5V je špatné řešení, neboť tento pin slouží k napájení externích komponent deskou a je možné, že dojde k poškození lineárního regulátoru a tím i desky. Pokud je na desku přivedeno nižší napětí než doporučené, dochází k nestabilním hodnotám pinů a při překročení hodnoty vyšší než 12 V může regulátor napětí způsobit přehřátí a tím poškození desky. [10], [23]

V tabulce 5.3 jsou uvedeny veškeré poznatky o napájení desky výše zmíněnými metodami. Mimo jiné jsou uvedeny i hodnoty pro napájení s použitím pinů 5V a GND, i když toto zapojení by se nemělo používat, jak již bylo zmíněno výše.

Tab. 5.3: Tabulka napájecích napětí a maximálních proudů při různých způsobech napájení desky. [10], [23]

|                   | Napájecí napětí [V] | Maximální proud [mA] |
|-------------------|---------------------|----------------------|
| Souosý konektor   | 6 – 15 (20)         | 1000                 |
| USB port          | 4,75 – 5,25         | 500                  |
| pin VIN a pin GND | 5,8 – 14,8 (19,8)   | 1000                 |
| pin 5V a pin GND  | 4,75 – 5,25         | 1000                 |

## Řídící kód

Deska Arduino je řízena skrze nahraný kód. Je možné tuto desku programovat přes jazyky C nebo C++, ovšem nejpoužívanějším způsobem je využít knihovnu Wiring. Tato knihovna je natolik komplexní, že se často hovoří o samostatném programovacím jazyku. [23]

Řídící kód, jak je zobrazeno ve výpisu 5.1 lze rozdělit do tří částí. První část se nachází před funkcí `void setup()`, kde jsou definovány veškeré proměnné a aktivovány veškeré knihovny. Knihovny jsou balíčky kódu vytvořené pro zjednodušení činnosti některých komponent – motory, displeje a další. Následující část – funkce `void setup()` je blok, který proběhne pouze jednou na začátku programu. To může nastat po připojení napájení, stisknutí tlačítka RESET, nebo nahrání nového kódu do Arduina. Funkce `void loop()` obsahuje kód, který bude probíhat neustále do odpojení napájení desky. [23]

Výpis 5.1: Řídící kód desky Arduino ve vývojovém prostředí Arduino IDE.

```

1 // Proměnné a knihovny
2
3 void setup () {
4     // Kód, který proběhne pouze na začátku
5 }
6
7 void loop () {
8     // Kód, který bude probíhat neustále
9 }

```

## 5.2 Způsoby komunikace Arduina

Deska Arduino je vybavena několika způsoby, jak může komunikovat s okolím. Okolím se myslí jiná deska Arduino nebo chytrý mobilní telefon. Pro komunikaci lze vytvořit kód s vlastními funkcemi nebo využít knihovny pro zjednodušení. [23]

Kontrolní čip ATmega328P nainstalovaný na desce Arduina UNO poskytuje sériovou komunikaci UART TTL (5V) a taktéž podporuje I2C a SPI komunikaci. UART komunikace je dostupná na pinech Rx (digitální pin 0) a Tx (digitální pin 1) a umožňuje komunikovat s počítačem, jinými UNO deskami nebo jinými mikroprocesory. Pokud dojde k rozpoznání zařízení systémem Windows, pak při přenosu dat z počítače na desku Arduino začnou LED diody Rx a Tx blikat. Jestliže je přenos dat dokončen, rozsvítí se LED dioda připojená k pinu 13. [10], [22], [23]

### Bezdrátová komunikace skrze Bluetooth modul.

Bluetooth je bezdrátová technologie přenosu dat na krátké vzdálenosti s využitím krátkých rádiových vln v pásmu 2,402 – 2,485 GHz. Krátkým rozsahem se rozumí plocha 10 m<sup>2</sup>. Bluetooth pracuje na principu master – slave. Zařízení master vysílá data do zařízení slave. V průběhu kódu je možné tyto role vyměnit. Dále platí, že je do zařízení master může komunikovat až se sedmi zařízeními slave, ovšem v určitém okamžiku pouze s jedním. [10], [23]

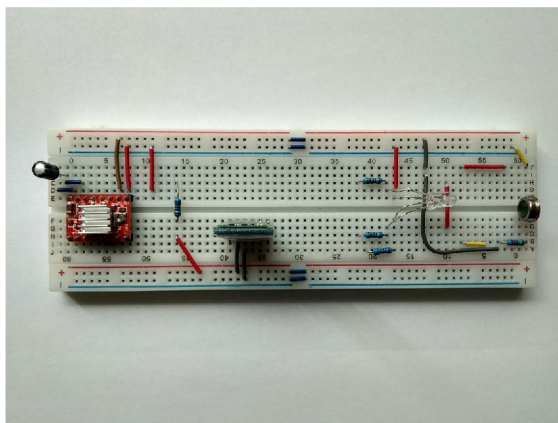
Nejpoužívanějšími nízkonákladovými moduly jsou HC-05 a HC-06. Tyto čipy fungují na bázi rádiového čipu Cambridge Silicon Radio BC417, jenž používá 8 Mbit flash paměť. Důvodem popularity těchto modulů je výtečná spolupráce s deskami Arduino a jinými mikropočítači. Napájení je možné skrze 3,3 V z desky, nicméně doporučeno je zapojení do Arduina pinu 5V pro provoz na 5 V. [10], [23]

Deska Arduino je tedy schopná přijímat a odesílat data s využitím bezdrátové Bluetooth komunikace. Při této komunikaci lze využít funkci `Serial` při zapojení pinu Rx modulu do pinu Tx na desce (digitální pin 1) a obráceně – pinu Tx modulu do pinu Rx na desce (digitální pin 0). Jmenovitě se používají příkazy `Serial.print()` nebo `Serial.println()` pro odesílání a příkaz `Serial.read()` pro načtení přijatých dat. Další možností je využití knihovny `SoftwareSerial` Tato knihovna umožňuje nastavit jakékoliv jiné piny pro příjem a odesílání dat. [10], [22], [23]



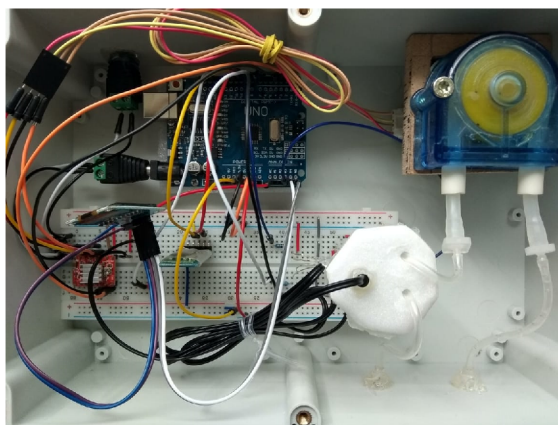
## 6 Návrh a konstrukce systému

Na základě znalostí z teoretické části je zkonstruován mikrofluidní systém. Jednotlivé elektronické součástky jsou umístěny na nepájivé pole (obrázek 6.1. Pro potřeby pozdější modernizace systému je v přílohách na CD uveden návrh na desku plošných spojů, která by nahradila nepájivé pole.



Obr. 6.1: Sestavený mikrofluidní systém na nepájivém poli

Celý systém je následně umístěn do plastového boxu (ABS) s ochranou IP 65. V boxu jsou 4 otvory. Na čelní straně dva otvory, jako vstup kapaliny do systému, s koncovkami prodlužovacích hadiček. Na zadní straně je koncovka souosého konektoru pro napájení celého systému. Na vrchní straně boxu je otvor, kde je umístěn displej pro vizualizaci dat.



Obr. 6.2: Sestavený mikrofluidní systém uvnitř plastového boxu.

## 6.1 Průtokový systém

Hlavní částí mikrofluidního systému tím i bakalářské je zajištění kontinuálního průtoku kapaliny uzavřeným systémem. Průtok kapaliny je zajištěn činností mikroperistaltické pumpy od firmy Williamson série 200 (viz. obrázek 6.3). Tato pumpa funguje na housenkovém pohonu, kdy rotace hřídele motoru způsobuje pohyb vnitřního dílu – 3 plastových válečků. Tyto válečky tlačí na hadičku vůči stěně pumpy a tím tlačí kapalinu určitým směrem. Tato pumpa může v závislosti na rychlosti otáčení hřídele motoru dosáhnout hodnot průtoku od  $0,01$  do  $412,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Ovšem před použitím byla nutná modifikace pumpy – původní vnitřní díl měl příliš malý průřez otvoru pro hřídel, proto byl vytvořen a vytisknut nový. Též byl vyroben dřevěný nástavec pumpy na motor, aby síla rotace hřídele otáčela vnitřním mechanismem a ne celou pumpou. [24]

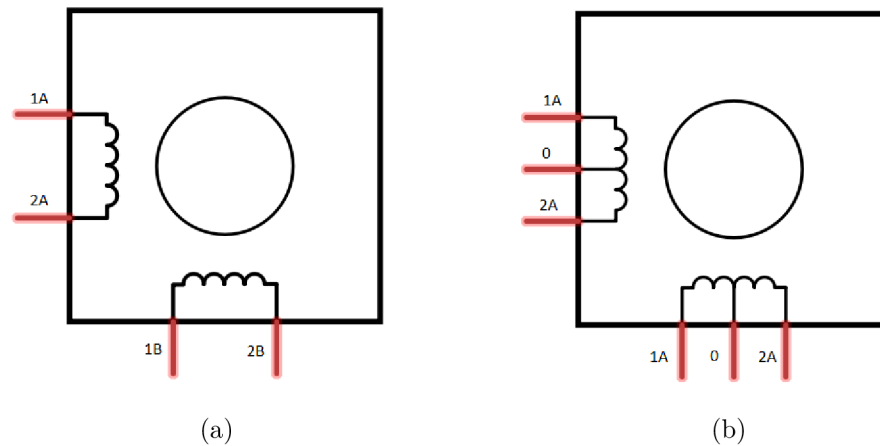


Obr. 6.3: Použitá mikroperistaltická pumpa od firmy Williamson ze série 200. [24]

Jako pohonnou jednotku byl zvolen klon hybridního krokového motoru NEMA17. Krokový motor značí, že se jedná o synchronní točivý stroj, který je napájen a řízen pulsy stejnosměrného napětí. Zjednodušeně platí, že puls napětí vybudí cívku statoru a změna magnetického pole otočí rotorem - hřídelí. Na výstupu motoru je 6 přívodných vodičů, kdy jsou pro hybridní zapojení použity pouze 4. Motor je hybridní, což značí, že motor lze zapojit bipolárně (obrázek 6.4a) nebo unipolárně (obrázek 6.4b). V práci je použito bipolární zapojení, které umožňuje napájení oběma polaritami napětí a zvyšuje tak efektivitu využití celého pohonného řetězce.

Veškeré důležité parametry motoru jsou uvedeny v tabulce 6.1. Mezi hlavní výhody tohoto motoru patří vysoký moment a nízká hlučnost.

Jako řadič byl vybrán model A4988 od výrobce Allegro, který slouží jako driver pro bipolární krokové motory do  $2\text{A}$ . Umožňuje řízení až 4 motorů a výběr mezi 5 režimy – plný krok, krok  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$  a  $1/16$ . Mezi výhody tohoto driveru patří



Obr. 6.4: Schématické znázornění cívek krokového motoru při bipolárním (a) a unipolárním (b) zapojení.

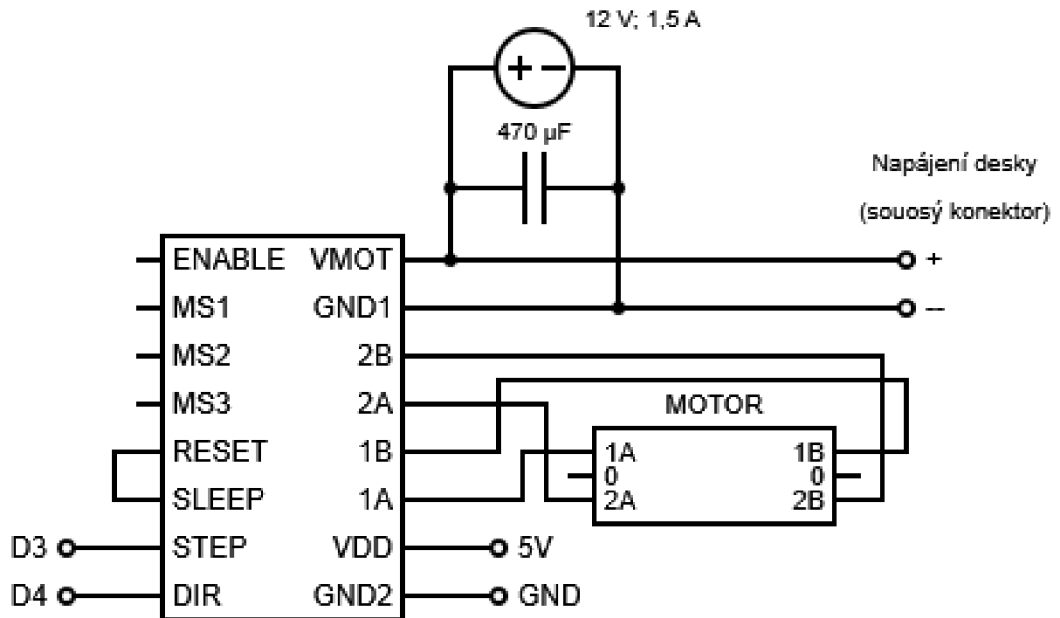
Tab. 6.1: Tabulka technických parametrů hybridního krokového motoru NEMA17.

| Parametr            | Hodnota                         |
|---------------------|---------------------------------|
| Výrobce             | Shanghai Zhengji                |
| Model               | J-4218HB2040                    |
| Hmotnost            | 0,28 <i>kg</i>                  |
| Rozměry             | 42 × 42 <i>mm</i>               |
| Krokový úhel        | 1,8°                            |
| Přidržovací moment  | 0,46 <i>N · m</i> <sup>-1</sup> |
| Elektrický proud    | 0,6 <i>A</i>                    |
| Elektrický odpor    | 15,5 $\Omega$                   |
| Induktance          | 31 <i>mH</i>                    |
| Moment setrvačnosti | 55 <i>g · cm</i> <sup>-2</sup>  |

nastavitelný proud, inteligentní řízení, ochrana zkratu, přehřátí a podpětí. Napětí 3,3 až 5 *V* je vhodné pro napájení logické části řadiče, které lze získat z pinů na desce Arduino. Napětí pro napájení motorů je v rozmezí od 8 do 35 *V*, kdy je možné použít motory s jmenovitým napětím nižším, než je požadovaných 8 *V*. Zde je nutné na potenciometru omezit maximální spotřebu proudu, aby nedošlo k překročení povoleného výkonu motoru. Kolíky MS1 až MS3 slouží k mikrostepování. [25]

Na řadiči, jak je vyobrazeno v obrázku 6.5 se nachází celkem 16 kolíků s určitou funkcí. Zde jsou vypsány funkčně nejdůležitější. Kolíky VMOT a GND1 slouží jako vstup pro napájení motoru. Podle doporučeného zapojení je vhodné mezi jednotlivé

větve zapojit kondenzátor o minimální hodnotě  $100 \mu F$ . Kolíky 2B, 2A, 1A a 1B slouží k propojení cívek motoru s řadičem. Kolíky VDD a GND2 slouží k přívodu napájení pro logický obvod řadiče. Kolíky STEP a DIRECTION jsou propojeny s deskou Arduino (digitální piny 3 a 4) a přijímají logické hodnoty, podle kterých řídí směr a rychlost otáčení. [25]



Obr. 6.5: Schéma zapojení průtokového systému tvořeného řadičem A4988 a klonem motoru NEMA17 podle doporučeného zapojení výrobcem. [25]

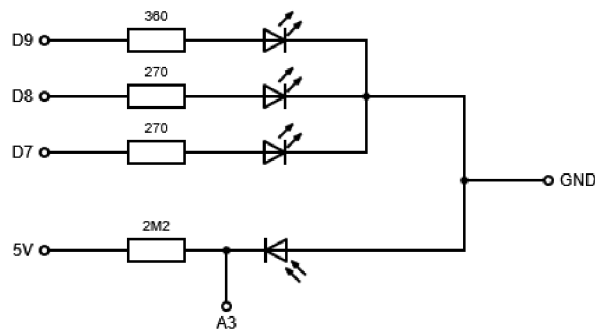
Systém řízení motoru není ideální v ohledu na to, že vyžaduje neustálý přísun informací – řídicích pulzů. Pro pozdější modernizaci se nabízí dvě řešení, kdy prvním řešením je rozšířit celý systém o další desku Arduino. Zde by hlavní deska dávala pokyny o změně rychlosti či směru otáčení desce druhé. Druhým řešením je použít jiný řadič, který by byl na začátku programu nastaven a řízen pouze změnami jinak by fungoval bez rušení řídicího kódu. Dalším problémem je tzv. mrtvý objem, kdy systém musí pojmout objem měřené kapaliny rovný objemu hadiček a měřící nádoby. Tento objem je roven  $25 \text{ ml}$ . Pro zlepšení činnosti je vhodné najít jinou měřící nádobku se stejnou tloušťkou prosvícené kapaliny.

## 6.2 Optický senzor

Hlavním úkolem mikrofluidního systému je opticky měřit pH. K tomuto úkolu je využita kombinace RGB LED diody a fotodiody, kdy LED dioda svítí světlem s určitou vlnovou délkou z pásma, kde je největší rozdíl absorbancí (3.2). Světlo prochází nádobkou s kapalinou a utlumené dopadá na fotodiodu, kde je analogově změřena hodnota. Poté je pomocí kalibrační křivky naměřená hodnota převedena na pH.

Jako zdroj světla je použita RGB LED dioda se společnou katodou. Tato dioda má 5 mm číré pouzdro a čtyři piny, z nichž nejdelší je katoda a zbylé tři zastupují červenou, zelenou a modrou barvu. Dioda je opatřena předřadnými odpory – 360  $\Omega$  pro červenou a 270  $\Omega$  pro zelenou a modrou barvu. Optimální procházející napětí těmito piny je 2 V pro pin červené barvy a 3,5 V pro zbylé dva piny. Při procházejícím proudu 20 mA je typická svítivost pro modrou barvu je 300 mcd a 350 mcd pro červenou a 850 mcd pro barvu zelenou, kdy světlo je vyzařováno pod úhlem 100°. Dominantní vlnové délky jsou 625, 525 a 460 nm pro červenou, zelenou a modrou barvu. [26]

Fotodioda je elektrotechnická součástka, která mění po osvětlení světlo-senzitivní částí svůj elektrický odpor. V systému byla zvolena fotodioda BPW21 od firmy Siemens, která umožňuje měření v pásmu vlnových délek od 350 do 820 nm. Nejvyšší spektrální senzitivita je okolo vlnové délky 550 nm. Tato dioda je tvořena fotosenzitivním článkem s vestavěným korekčním filtrem pro úpravu spektrální charakteristiky v hermeticky uzavřeném silikonovém pouzdře. Výhodami této diody jsou vysoká citlivosti, linearita na osvětlení a snímací úhel 55°. Tyto vlastnosti lze využít pro převod proudu na napětí nakrátko a změřit tak míru osvětlení. Anoda fotodiody je znázorněna kulatým terčíkem okolo jedné nohy a malým výstupkem na obvodu pouzdra. [27]



Obr. 6.6: Schéma zapojení optického senzoru měření pH tvořeného RGB LED diodou a fotodiodou podle doporučeného zapojení od výrobce. [26], [27]

V obrázku 6.6 je schématicky zobrazeno zapojení optického senzoru podle doporučeného zapojení od výrobce. D9, D8 a D7 jsou digitální piny na desce Arduino se stejným číslem. A3 je analogový pin číslo 3 a 5V je vstup 5 V z desky a GND je země na desce. Mezi fotodiodou a RGB LED diodou je čtvercová mezera o délce 2,45 cm, kde je umístěna nádobka na měřený roztok. [26], [27]

## 6.3 Teploměr

Dalším bodem zadání bylo opatřit systém zařízením pro měření teploty. Teplotní čidlo bude umístěno v měřicí nádobce uvnitř boxu. Požadavky na teplotní čidlo jsou voděodolnost, rychlost měření a dostatečný rozsah měření.

Mezi levná teplotní čidla patří číslicový teploměr Dallas, NTC termistor a platinový teplotní senzor. Hlavní rozdíly mezi jednotlivými čidly jsou uvedeny v tabulce 6.2. Z tabulky vyplývá, že všechny čidla mají stejnou ochranu integrity. Dále vyplývá, že platinový senzor má největší rozsah měření. Jelikož je měřena teplota živného média buněk, tak se očekávají, při kterých buňky nebudou umírat. Číslicový teploměr potřebuje 700 ms na změření teploty a tím je schopen zastavit činnost Arduina. [28]

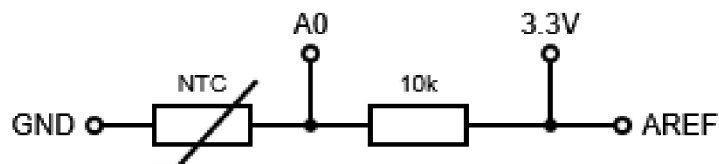
Tab. 6.2: Tabulka důležitých parametrů používaných teplotních čidel, které připadly v úvahu při tvorbě systému.

|                   | Platinový senzor | Číslicový teploměr | NTC Termistor |
|-------------------|------------------|--------------------|---------------|
| Minimální teplota | -20              | -55                | -30           |
| Maximální teplota | 450              | 125                | 125           |
| Napájení          | 5 V              | 3 – 5,5 V          | 3 nebo 5,5 V  |
| Ochrana           | IP67             | IP67               | IP67          |

Na základě nízké ceny, teplotní rozsahu měření a takřka nulového času pro měření teploty, je vybrán NTC termistor. Fyzika NTC termistoru je uvedena v předchozích kapitolách. Součástka je zapojena do spodní části napěťového děliče, zatím co do horní části je zapojen odpor o stejné hodnotě jako referenční odpor u termistoru. Schéma zapojení termistoru je vyobrazeno na obrázku 6.7, kde GND, 3.3V, A0 (analogový pin 0) a AREF jsou piny na desce Arduino. [28]

## 6.4 Vizualizace dat

Bod 5) zadání práce požaduje vytvoření bezdrátové komunikace mezi aplikací pro chytrý telefon a deskou Arduino. Též vyžaduje opatřit systém vizualizací namě-

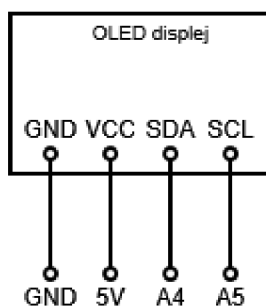


Obr. 6.7: Schématické zapojení NTC termistoru jako teplotního čidla podle doporučeného zapojení od výrobce.

řených dat, která bude provedena použitím displeje. Vizualizace dat je provedena podle schéma vyobrazeném v obrázku.

## Displej

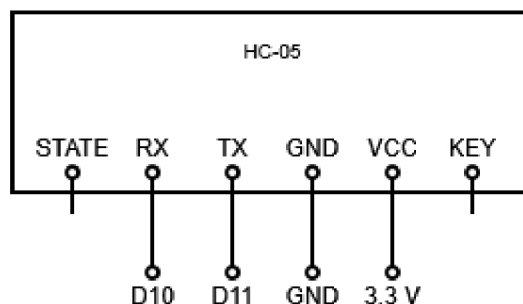
Na základě zadání práce je systém vybaven vizualizací nastavených a měřených parametry systému. Vizualizace je zajištěna 0,96" OLED displejem a zobrazenými parametry jsou průtok, teplota ve stupních Celsia a pH. Tento displej má rozlišení 128 na 64 bodů. Technologie OLED se vyznačuje tím, že svítí pouze ty body, které jsou aktivovány. Tím pádem je displej velmi energeticky úsporný. Řídící obvod SSD1306 komunikuje skrze sběrnici I2C. Pro propojení OLED displeje s Arduino deskou je nutné propojit celkem 4 vodiče (obrázek 6.8). Propojení displeje s deskou je zajištěno skrze spojení VCC kolíku s 5V pinem na desce Arduino, GND kolíku se zemí, SCL kolíku s pinem A5 a kolíku SDA s pinem A4. [29]



Obr. 6.8: Schématické zapojení I2C 0,96"OLED displeje podle doporučeného zapojení od výrobce. [29]

## Aplikace

Pro bezdrátovou komunikaci mezi deskou Arduino a aplikací je použito Bluetooth 2.0 s využitím modulu HC-05 připevněném na Bluetooth desce JY-MCU. Je plně kvalifikovaný s V2.0+EDR  $3 \text{ Mb} \cdot \text{s}^{-1}$ . Součástí specifikace Bluetooth je EDR, které umožňuje rychlejší přenos souborů.  $2,4 \text{ GHz}$  jsou rádiové frekvence modulu. Doporučené schéma zapojení s využitím knihovny `SoftwareSerial` je vyobrazeno v obrázku 6.9. [30]



Obr. 6.9: Schématické zapojení modulu HC-05 pro bezdrátovou komunikaci podle doporučeného zapojení od výrobce.

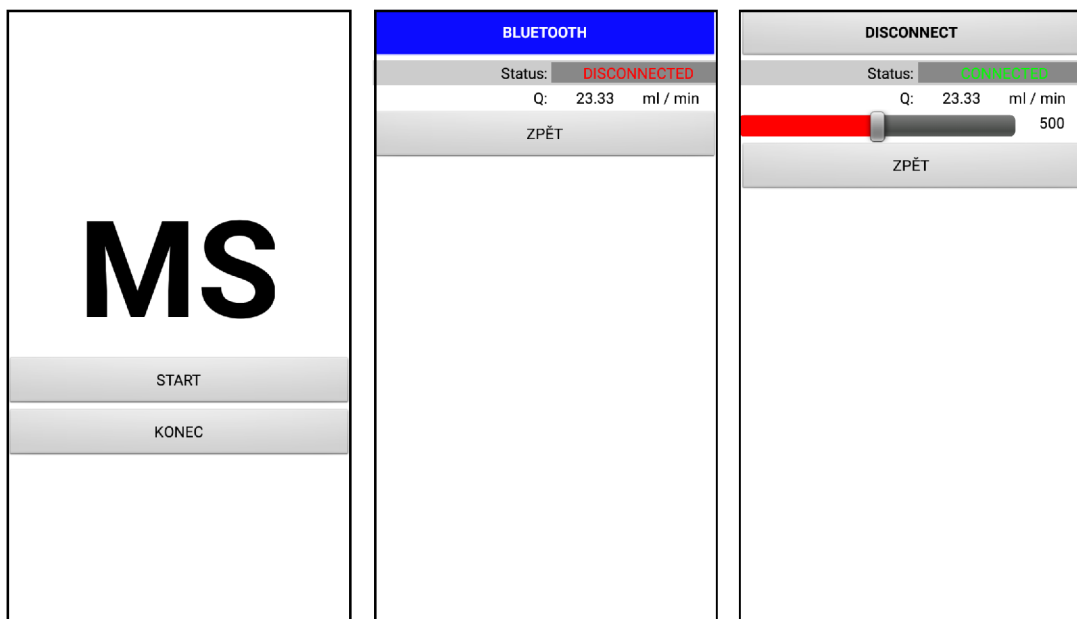
Aplikace pro chytrý telefon s operačním systémem Android byla vytvořena v MIT App Inventoru 2. Jedná se o grafický cloudový nástroj pro vývoj komplexních aplikací v internetovém prohlížeči. Grafické uživatelské prostředí nástroje MIT App Inventor 2 se dělí na dva režimy – Designer a Editor, mezi kterými lze přepínat. V režimu Designer je vytvořeno uživatelské prostředí, zatímco v režimu Editor je řídicí kód skládán ve formě bloků (puzzle).

Na úvodní stránce se nachází dvě tlačítka – START a KONEC. Druhé tlačítko po stisknutí ukončí aplikaci, zatímco první otevře další obrazovku (obrázek 6.10a).

Druhá obrazovka obsahuje listpicker Bluetooth. Jedná se o tlačítko, které po stisknutí zobrazí list možností, ze kterých si uživatel může vybrat. V případě aplikace `MicroFluidic` se zobrazí veškerá spárovaná a aktivní zařízení Bluetooth online. V případě stisknutí a vybrání možnosti, listpicker zmizí a objeví se tlačítko DISCONNECT, které po stisku provede odpojení od zařízení. Pod listpicker je nachází textové pole, kde je zobrazen status bezdrátové komunikace. Zelený nápis CONNECTED v případě komunikace, v opačném případě je uveden červený text DISCONNECTED. Pod statusem je zobrazena aktuální hodnota průtoku v mililitrech za minutu. Následuje slider, který v je zobrazen v případě posílání dat. Umožňuje nastavit hodnoty rychlosti otáčení motoru od 0 do 1000 (s odkazem na řídicí kód).



Jako poslední je na stránce tlačítko, které poskytuje návrat na první stránku. Druhá stránka aplikace je na obrázcích 6.10b a 6.10c.



(a) Úvodní obrazovka aplikace

(b)

(c)

Obr. 6.10: Vzhled aplikace MicroFluidic pro řízení průtoku motoru.

## 7 Řízení a monitorování veličin systému

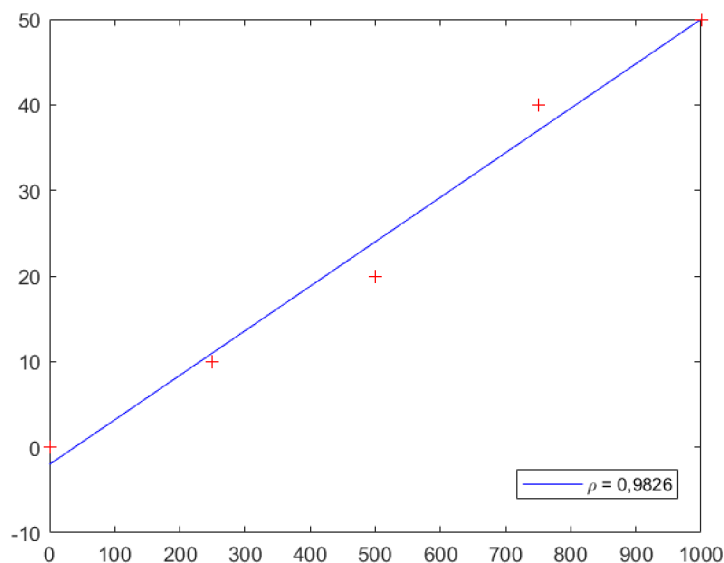
Řídící kód je nahrán na klon desky Arduino UNO, kdy deska je napájena skrze souosý konektor z externí trafostanice. Průtokový systém a zdroj světla pro měření pH je řízen s pomocí digitálních pinů a knihovny. Analogové hodnoty jsou snímány pro světelný senzor a teploměr. Displej a aplikace slouží k vizualizaci dat.

Na začátku řídicího kódu jsou deklarovány veškeré proměnné a piny. Ve funkci `void setup()` je nastavena komunikace s Bluetooth modulem a jsou určeny piny, které bude Arduino v programu využívat včetně nastavení zda jsou vstup či výstup. Před samotnou funkcí `void loop()` jsou deklarovány jednotlivé funkce pro měření či řízení určité části systému. Tyto funkce jsou poté vloženy do nadřazené funkce `void doStuff()`, kde probíhají pouze jednou za  $x$  vteřin v závislosti na nutnosti mít aktuální hodnotu. Provedení jednotlivých funkcí je zajištěno porovnáním času stopek desky (funkce `millis()`) vůči předem deklarovanému intervalu přes podmínku `if`. Uvnitř samotné funkce `void loop()` je použita podmínka `if`. Pokud je nastavena a spuštěna bezdrátová komunikace, tak je aktuální přijatá hodnota rychlosti z aplikace nastavena jako nová rychlost motoru a provedeny úkony funkce `void doStuff()`. V opačném případě probíhá rotace motoru s přednastavenou rychlostí a ostatní funkce v nadřazené funkci `void doStuff()`.

### 7.1 Průtok

Důležitou veličinou systému je průtok. Hodnota průtoku je získána na základě rychlosti motoru z kalibrační křivky. Pro řízení motoru je využita knihovna `AccelStepper`. Tato knihovna vyžaduje vytvoření proměnné motoru – `AccelStepper Motor(1, 3, 4)`. Prvním číslem je udán typ motoru a použitého řadiče, druhé a třetí číslo značí piny na desce Arduino určující rychlost (STEP) a směr (DIR). Dále je nutné nastavení všech parametrů ve funkci `setup`, jako jsou rychlost, zrychlení a podobně. Ve funkci `loop` poté stačí volat funkci `Motor.runSpeed()` co nejčastěji pro optimální chod. Systém po zapojení zdroje běží s přednastavenou hodnotou rychlosti a tím i průtokem. V případě zahájení bezdrátové komunikace je umožněna změna rychlosti.

Měření průtoku bylo provedeno tak, že za daný časový interval (30 vteřin) běžel motor s určitou rychlostí a byl měřen objem, který odčerpal z nádoby o známém objemu. následně je zjištěna hodnota objemu a je spočítán objem v jednotkách mililitry za minutu. Z tří hodnot rychlosti je následně vytvořena kalibrační křivka a po vhodné aproximaci je aplikována rovnice do kódu.



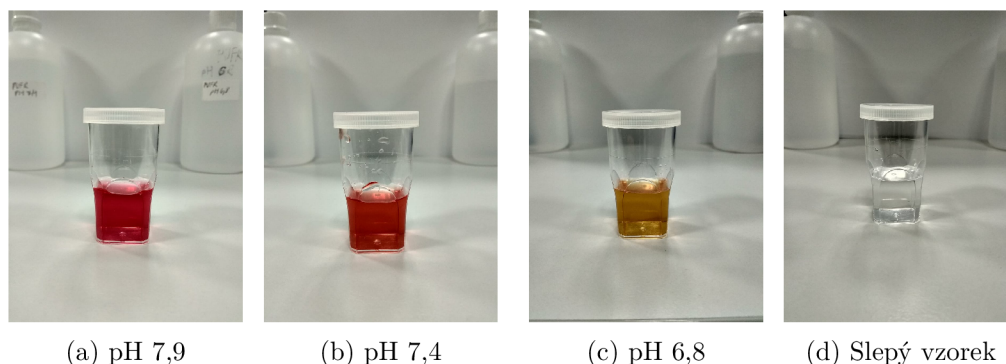
Obr. 7.1: Kalibrační křivka převodu rychlosti motoru na průtok, kde červené body jsou naměřené hodnoty a modrá přímka je výsledkem lineární regrese. Je uvedena i procentuální úspěšnost predikce na základě regrese. Rovnice je ve tvaru  $Q = 0,052 \cdot v - 2$ , kde  $Q$  je průtok [ $ml \cdot l^{-1}$ ] a  $v$  je rychlost.

## 7.2 pH

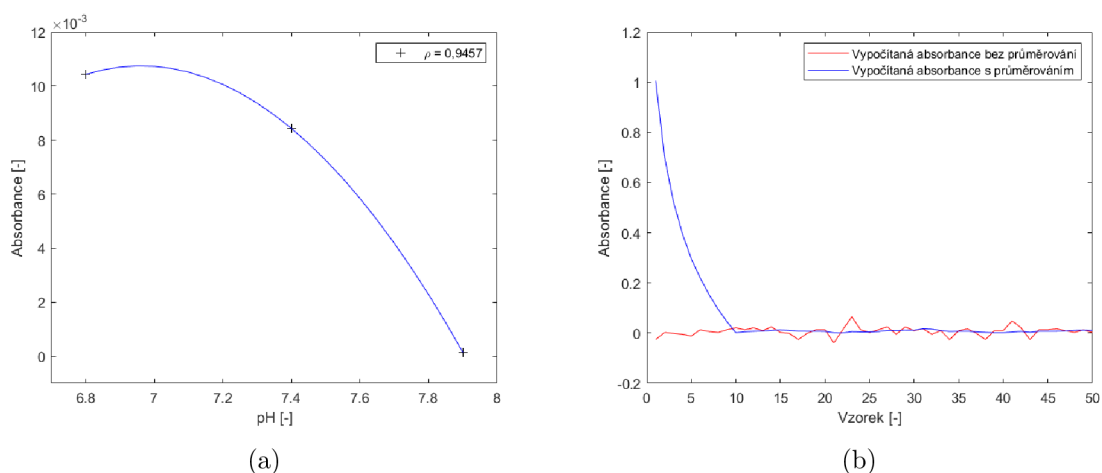
Měření pH je zajištěno na základě převodu naměřené hodnoty na analogovém pinu s využitím kalibrační křivky. Ta byla získána laboratorním měřením. Při měření byly připraveny čtyři vzorky (obrázky 7.2), které byly obarveny fenolovou červení (Phenol red solution, 0,5% in DPBS od výrobce Sigma). Poměr mísení byl 10 ml vzorku na 30  $\mu l$ . Byly použity tři roztoky pufrů o známé hodnotě pH a destilovaná voda jako slepý vzorek. Systém pomocí pumpy vzorky nasál a naměřil 50 analogových hodnot, ze kterých byla spočítána průměrná hodnota. Absorbance byla spočítána jako dekadický logaritmus poměru mezi průměrnou hodnotou slepého vzorku a průměrnou hodnotou pufru. Následně je vynesena graf závislosti absorbance na pH. Výsledné tři body jsou aproximovány vhodnou metodou, kdy vznikne kalibrační křivka (obrázek 7.3a).

Jedním z problémů měření pH je fakt, že hodnota na fotodiodě je analogová. Při použití analogových pinů dochází k velkému kolísání hodnot. V případě této práce je to velmi patrné. Jednoduchým řešením je průměrování hodnot, které je v řídicím kódu docíleno pomocí knihovny `Average`. Okna o velikosti deset hodnot se zprůměruje do výsledné hodnoty, ze které je spočítána hodnota pH na základě převodu z kalibrační křivky. Průběh průměrování je na obrázku 7.3b. Zde je také

vidět náběh průměrovacího filtru, kdy až desátá naměřená hodnota je průměrována s naměřenými hodnotami.



Obr. 7.2: Připravené vzorky pufrů a destilované na optické měření pH za účelem sestrojení kalibrační křivky.



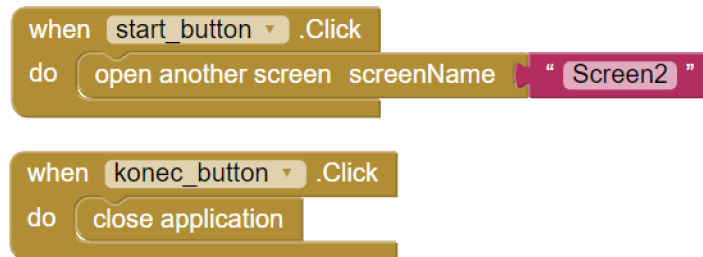
Obr. 7.3: Kalibrační křivka optického měření pH a průměrování hodnot z analogového pinu, kvůli potlačení kolísání. Rovnice kalibrační křivky pro optické měření pH je ve tvaru  $pH = -23246 \cdot A^2 + 138,99 \cdot A + 7,8803$ , kde  $A$  je bezrozměrná absorbance.

### 7.3 Vizualizace

Řídící kód na desce Arduino skrze knihovnu `SoftwareSerial` přijímá data z aplikace. Data jsou posílána jako textový řetězec (`String`), kdy na Arduino jsou převedena na jiný formát – `int`. Ve funkci `void loop()` je vložena podmínka `if`. Pokud

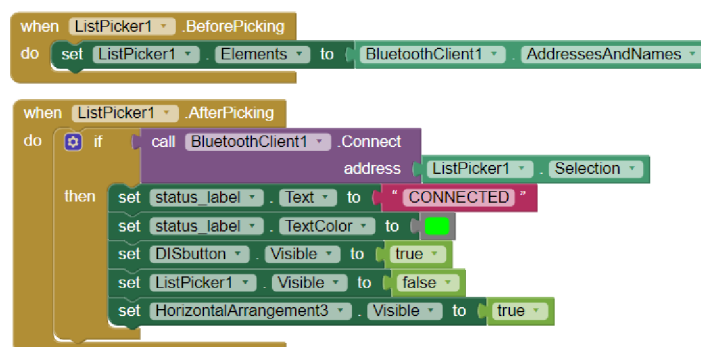
je deska Arduino skrze Bluetooth modul spárována s aplikací, tak je do proměnné **State** uložena přijatá hodnota rychlosti. Pokud ovšem není navázána komunikace, tak systém funguje s přednastavenou rychlostí.

Android aplikace obsahuje 2 stránky, kdy na první stránce jsou pouze dvě tlačítka. Jejich funkce je vyjádřena bloky v obrázku 7.4. První blok říká, že při stisknutí tlačítka **START** je otevřena druhá stránka aplikace. Druhý blok značí, že při stisku tlačítka **KONEC** dojde k ukončení celé aplikace.



Obr. 7.4: Řídící bloky tlačítek na první stránce aplikace.

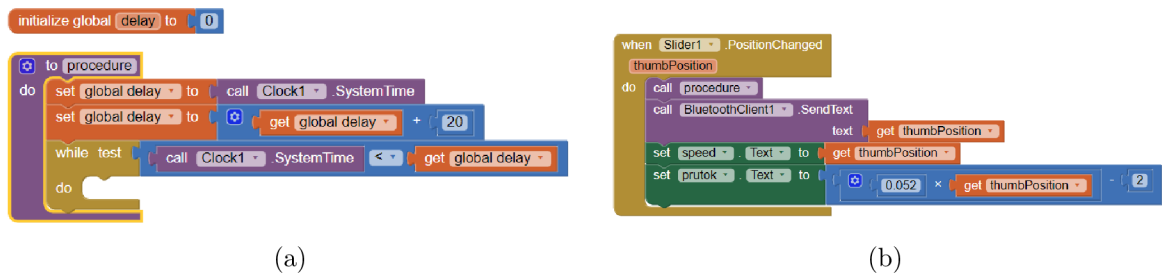
Na druhé stránce je více bloků s komplexnější funkcí. Nachází se zde listpicker **BLUETOOTH** jehož činnost je vyjádřena bloky v obrázku 7.5. Před samotným stisknutím jsou seznamu nahrána veškerá dostupná zařízení s bezdrátovou komunikací Bluetooth. Po výběru položky v seznamu je navázáno spojení. Dále listpicker se stane na druhé stránce aplikace neviditelným a naopak tlačítko **DISCONNECT**, slider pro výběr rychlosti a políčko s hodnotou rychlosti se stanou viditelnými. Text v políčku status se stane zeleným a bude obsahovat slovo **CONNECTED**.



Obr. 7.5: Řídící bloky listpickeru **BLUETOOTH**.

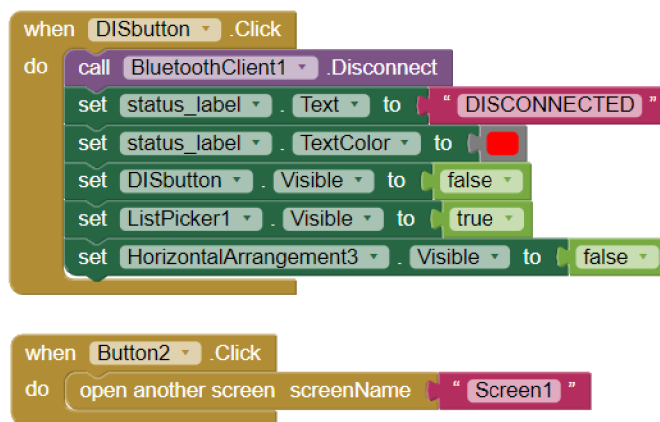
Následující dva bloky kódu (obrázky 7.6) řídí posuvník hodnoty rychlosti. Pokud dojde ke změně polohy na posuvníku, tak je zavolána funkce a je poslána hodnota

jako textový řetězec. Též je v aplikaci přepsána hodnota průtoku podle kalibrační rovnice. Blok `procedure` hlídá odeslání hodnoty jednou za časový okamžik aby nedošlo k zasyčení komunikace daty.



Obr. 7.6: Řídící bloky posuvníku změny rychlosti motoru v aplikaci.

Posledními funkčními částmi aplikace na druhé stránce jsou dvě tlačítka. Tlačítko DISCONNECT se objeví po výběru položky ze seznamu listpickeru. Stiskem tlačítka DISCONNECT je ukončena bezdrátová komunikace a tím i přenos dat. Na stránce se opět objeví listpicker a zmizí posuvník. Také je změněn text statusu na červeně napsané DISCONNECTED. Tlačítko ZPĚT po stisku vrátí první stránku aplikace.



Obr. 7.7: Řídící bloky tlačítek DISCONNECT a ZPĚT na druhé stránce aplikace.

Aplikace pro řízení průtoku přes změnu rychlosti motoru je jednoduchá přehledná. Ovšem posuvník nesmí být posunován, neboť při posunutí se kumulují hodnoty a motor nestíhá reagovat na změnu. Pokud chce uživatel změnit rychlost motoru, tak se musí dotknout jednoho zvoleného místa na posuvníku.

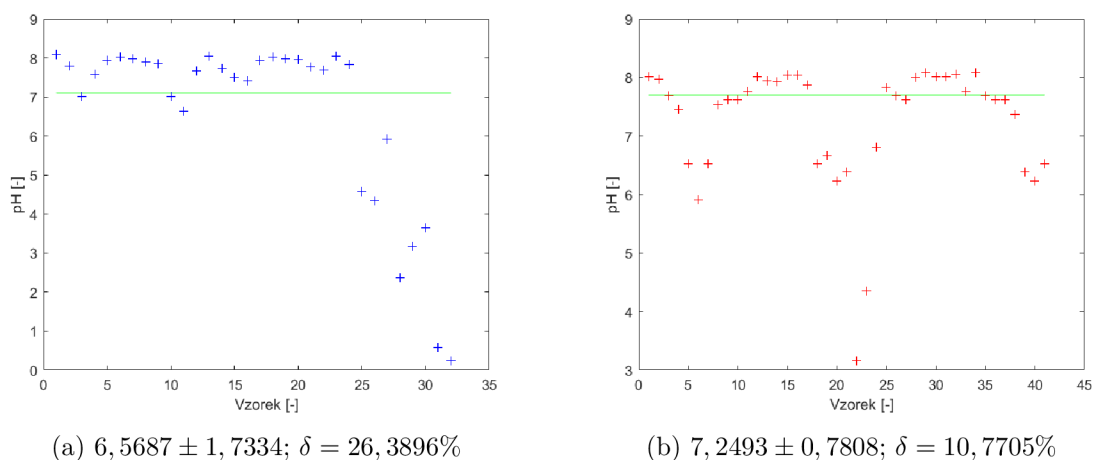
## 8 Testování mikrofluidního systému

Po sestavení systému je vhodné otestovat výsledný produkt. Nejdůležitějšími vlastnostmi jsou měření pH optickou metodou a řízení průtoku přes bezdrátovou komunikaci Bluetooth.

### 8.1 Měření pH

Pro otestování kvality optického senzoru měření pH jsou vybrány 2 pufrů o známé hodnotě pH – 7,7 a 7,1. Vzorčky jsou obarveny fenolovou červení a činností pumpy nasáty do měřicí nádoby. Následně je změřeno 50 hodnot na analogovém pinu A3 a použito průměrování pro eliminaci kolísání hodnoty na analogovém pinu kvůli zatížení desky. Poté je spočítána absorbance na základě rovnice kalibrační křivky spočítáno i pH.

Výsledná data jsou statisticky zpracována. V prvním kroku jsou eliminovány hodnoty ležící mimo pásmo od pH 0 do pH 14. Pro oba pufrů je spočítán aritmetický průměr, průměrná odchylka a chyba výsledku v procentech. Tyto hodnoty jsou uvedeny jako "průměr ± odchylka; chyba" v popisku jednotlivých grafů.



Obr. 8.1: Naměřené hodnoty pro pufrů o známé hodnotě pH, kde body jsou jednotlivé hodnoty a zelená linie značí deklarované pH pufru.

### 8.2 Řízení průtoku

Jako první je zkontrolováno připojení trafostanice do konektoru na boxu. Při zapojení zdroje se automaticky spustí systém. Následně na je na mobilním zařízení spuštěna

aplikace MicroFluidic. Kliknutím na tlačítko START je otevřena druhá stránka. Na této stránce je stisknut listpicker a je vybráno zařízení s názvem končícím na HC-05 (obrázek ??). Někdy je nutné zadat bezpečností heslo, kterým může být "0000"nebo "1234". Po úspěšném zadání kódu je na stránce k dispozici posuvník, jehož změna pozice způsobí změnu rychlosti motoru a tím i průtoku. Pro bezpečné ukončení komunikace je stisknuto tlačítko DISCONNECT a ukončena aplikace



Obr. 8.2: Možný seznam položek po stisknutí listpickeru. Jedná se o aktivní zařízení, nebo již spárovaná zařízení.



## Závěr

Cílem této práce bylo provést literární rešerši v oblasti mikrofluidních systémů. Z důvodu, že mikrofluidika je poměrně mladý obor, existují zdroje dvou úrovní. První úrovní jsou texty pro laickou veřejnost, kde problematika systémů je pouze povrchně vysvětlena. Druhou úrovní jsou texty pro odborníky, kde jsou systémy do detailu vysvětleny včetně komplexního vysvětlení fyzikálních zákonů. Problémem je fakt, že druhý zdroj používá derivace a integrály (součást matematické analýzy) pro popis fyziky, které jsou velmi složité na pochopení.

Na základě znalostí z literární rešerše byl zkonstruován mikrofluidní systém, který měří teplotu, opticky pH, díky mobilní aplikaci je schopen řídit průtok a na displeji zobrazuje důležité veličiny. Celý systém je v plastovém boxu s externí trafostanicí. Cílem bylo sestavit jednoduchý ale účinný systém řízení a monitorování. V průběhu návrhu a konstrukce byla použita méně vhodná řešení. Například řízení krokového motoru skrze řadič A4988 s použitím knihovny je jednoduché, ale řadič potřebuje neustálý přísun informací. Dále fotodioda je velmi citlivá na světlo, což znamená, že jiný zdroj světla než RGB LED dioda znehodnocuje měření.

Po sestavení systému a naměření kalibračních křivek pro průtok a pH bylo provedeno měření na zkušebních vzorcích. V případě měření pH bylo kolísání na analogovém pinu natolik vysoké, že přes korekturu průměrování vyšly velké procentuální chyby.

Aby byl systém ještě lépe uživatelsky přístupný je vhodné rozšířit bezdrátové řízení. Nabízí se využití WiFi nebo internetu, kdy existují moduly na desky Arduino umožňující řízení skrze Wifi. Další modifikací je výměna měřicí nádoby za jinou s menším objem, ale stejnou tloušťkou prosvícené kapaliny. Také se nabízí využití mikročipu pro optické měření pH přímo na hadičce uvnitř systému.

# Literatura

- [1] ROSINA, Jozef. *Biofyzika: pro zdravotnické a biomedicínské obory*. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4237-3.
- [2] TARÁBEK, Pavol a Petra ČERVINKOVÁ. *Odmaturuj! z fyziky*. 2. Brno: Didaktis, 2006. ISBN 80-7358-058-6.
- [3] LEPIL, Oldřich. *Fyzika pro gymnázia - Optika*. 5., přepracované vydání. Praha: Prometheus, 2015. ISBN 978-80-7196-444-5.
- [4] BUBNÍK, Lukáš, Jiří KLAJBL a Petr MAZUCH. *Optoelektrotechnika* [online]. 2014 [cit. 2019-03-05]. ISBN 978-80-88058-20-5. Dostupné z URL: <https://publi.cz/eknihy/?book=185-optoelektrotechnika>
- [5] KUDLING, Lennart Kudling. *Electromagnetic wave* [online]. 2010 [cit. 2019-03-12]. Dostupné z URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/Introduction\\_to\\_electromagnetism](https://en.wikipedia.org/wiki/Introduction_to_electromagnetism)
- [6] *Základní kurz fyziky pro distanční studium na MFF UK - Optika* [online]. 2005 [cit. 2019-04-02]. Dostupné z URL: [https://physics.mff.cuni.cz/kfpp/skripta/kurz\\_fyziky\\_pro\\_DS/display.php/optika/1\\_1](https://physics.mff.cuni.cz/kfpp/skripta/kurz_fyziky_pro_DS/display.php/optika/1_1)
- [7] KÖPPEN, J. *Spectra of Gas Discharges* [online]. 2007 [cit. 2019-03-12]. Dostupné z URL: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Elektromagnetick%C3%A9\\_spektrum](https://cs.wikipedia.org/wiki/Elektromagnetick%C3%A9_spektrum)
- [8] GOLIÁŠ, J. *Metody analýzy potravin: Optické metody* [online]. 2012 [cit. 2019-03-21]. Dostupné z URL: <https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/index.pl?opora=5352>
- [9] SCHAEFER, Samuel. *Colorimetric Water Quality Sensing with Mobile Smart Phones*. Okanagan, 2014. Diplomová práce. University of British Columbia. Vedoucí práce Dr. Kenneth Chau.
- [10] PETLÁK, Daniel. *Kvantitativní optická analýza s využitím mobilního telefonu*. Brno, 2016. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Ing. Vratislav Čmiel, Ph.D.
- [11] BENEŠOVÁ, Marika. *Odmaturuj! z biologie*. 2., přepracované vydání. Brno: Didaktis, 2013. Odmaturuj!. ISBN 978-80-7358-231-9.

- [12] BENEŠOVÁ, Marika, Erna PFEIFEROVÁ a Hana SATRAPOVÁ. *Odmaturuj! z chemie*. 2., přepracované vydání. Brno: Didaktis, 2014. Odmaturuj!. ISBN 978-80-7358-232-6.
- [13] PAVLÍK, Tomáš a Ladislav DUŠEK. *Biostatistika*. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2012. ISBN 978-80-7204-782-6.
- [14] BRANČÍK, Lubomír. *Elektrotechnika 1*. Brno: VUTIUM, 2004. ISBN 80-214-2607-1.
- [15] HRAZDIRA, Ivo a Vojtěch MORNSTEIN. *Lékařská biofyzika a přístrojová technika*. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-1-4.
- [16] GAŽO, Ján a kolektiv. *Všeobecná a anorganická chémie*. 2., upravené vydání. Bratislava: Alfa, 1978. ISBN 63-552-77.
- [17] SOLANSKÝ, Pavel. *Využití mikrofluidiky v metabolickém inženýrství*. Brno, 2018. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie. Vedoucí práce Prof. RNDr. Zbyněk Prokop, Ph.D.
- [18] TABELING, Patrick. *Introduction to microfluidics*. New York: Oxford University Press, 2005. ISBN 978-0-19-856864-3.
- [19] NGUYEN, Nam-Trung a Steven T. WERELEY. *Fundamentals and applications of microfluidics*. 2nd ed. Boston: Artech House, 2006. ISBN 978-1-58053-972-2.
- [20] MATĚJKA, Pavel. Moderní analytické metody pro nanotechnologie: Laboratoř na čipu. In: *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online] <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010359/14-Laborator-na-cipu.pdf?redirected>
- [21] MAGNUSSON, Einar B., Skarphedinn HALLDORSSON, Ronan M.T. FLEMING a Kristjan LEOSSON. Real-time optical pH measurement in a standard microfluidic cell culture system. *Biomedical Optics Express* [online]. 2013, **9**(4), 1749—1758 [cit. 2019-04-27]. Dostupné z URL: <https://www.osapublishing.org/boe/abstract.cfm?uri=boe-4-9-1749>
- [22] EVANS, Brian. *Beginning Arduino programming*. New York: Distributed to the book trade worldwide by Springer Science Business Media, 2011. ISBN 978-1-4302-3777-8.
- [23] VODA, Zbyšek. *Průvodce světem Arduina*. 2. vydání. Bučovice: Martin Stříž, 2017. ISBN 978-80-87106-93-8.

- [24] The Williamson Manufacturing Company, Ltd. [online katalogový list] *Peristaltická pumpa WMC série 200 mini*. ©2015 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
[http://wmcumps.com/images/spec\\_sheets\\_pumps/200\\_without\\_motor.pdf](http://wmcumps.com/images/spec_sheets_pumps/200_without_motor.pdf)
- [25] Allegro MicroSystems, LLC. [online katalogový list] *Motor driver A4988*. ©2009 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
[https://drive.google.com/file/d/1v11ys\\_F0r6-mba-\\_vmlsGXL9dvjcyGTh/view](https://drive.google.com/file/d/1v11ys_F0r6-mba-_vmlsGXL9dvjcyGTh/view)
- [26] Optosupply. [online katalogový list] *RGB LED dioda*. ©2009 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
<https://www.gme.cz/data/attachments/dsh.518-221.1.pdf>
- [27] Siemens. [online katalogový list] *Fotodioda BPW21*. ©1998 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
<https://www.gme.cz/data/attachments/dsh.520-028.1.pdf>
- [28] Eclipsera modules. [online katalogový list] *NTC termistor*. ©2017 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
<https://arduino-shop.cz/docs/produkty/0/115/1488979094.pdf>
- [29] Eclipsera modules. [online katalogový list] *IIC I2C OLED display 0,96"128x64 Bílý*. ©2017 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
<https://arduino-shop.cz/docs/produkty/0/114/1487765029.pdf>
- [30] Eclipsera modules. [online katalogový list] *Bluetooth Modul HC-05*. ©2017 [cit. 2019-05-20]. Dostupné z URL:  
<https://arduino-shop.cz/docs/produkty/0/34/1427822941.pdf>

# Seznam symbolů, veličin a zkratk

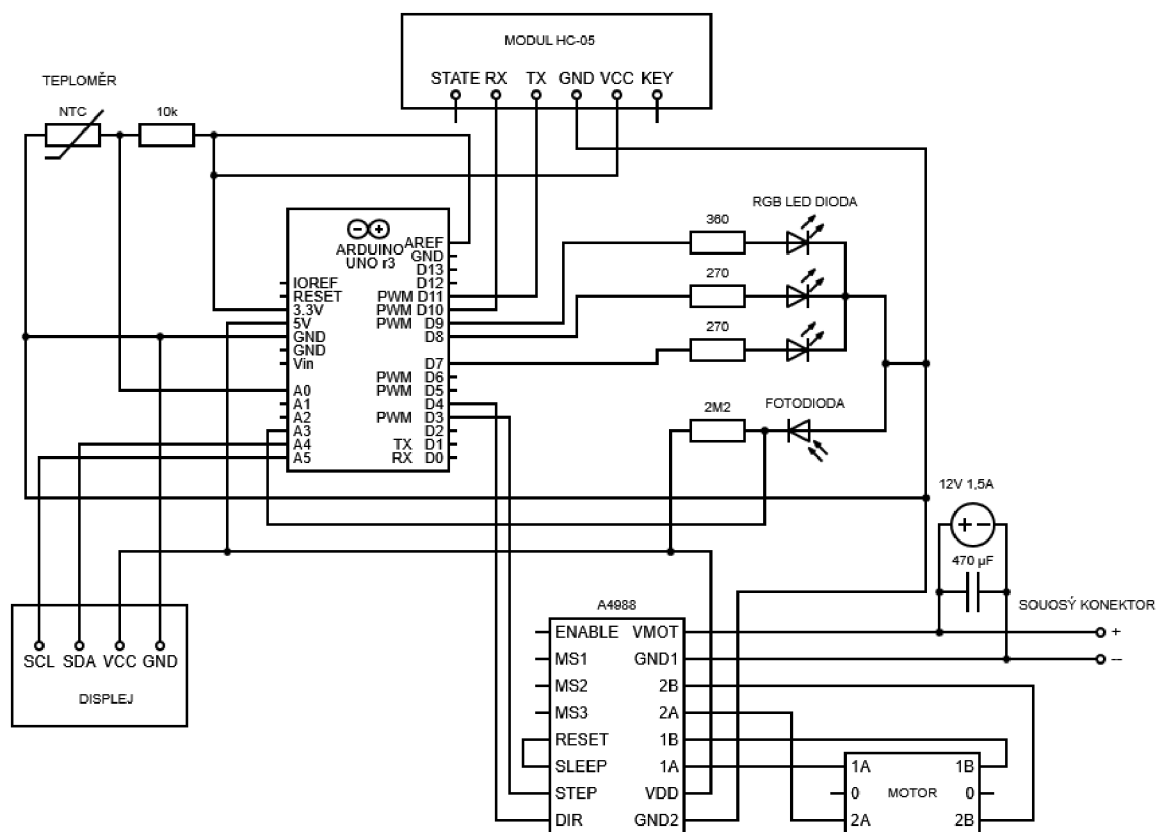
|             |  |
|-------------|--|
| <b>IR</b>   | infračervené – Infrared  |
| <b>UV</b>   | ultrafialové – Ultraviolet   |
| <b>RGB</b>  | červená-zelená-modrá – Red-Green-Blue  |
| <b>LED</b>  | světlo emitující dioda – Light-Emitting Diode  |
| <b>CCD</b>  | zařízení s vázanými náboji – Charge-Coupled Device                                     |
| <b>CMOS</b> | doplňkový polovodič na bázi kovu a oxidu – Complementary Metal-Oxide-Semiconductor     |
| <b>PTC</b>  | pozistor, termistor s pozitivní vazbou – Positive temperature coefficient              |
| <b>NTC</b>  | negastor, termistor s negativní vazbou – Negative temperature coefficient              |
| <b>PDMS</b> | polydimethyl siloxan   |
| <b>2D</b>   | dvoj dimenzionální (plošný) – 2-Dimensional  |
| <b>3D</b>   | troj dimenzionální (prostorový) – 3-Dimensional  |
| <b>LOC</b>  | laboratoř na čipu – Lab-on-chip  |
| <b>MEMS</b> | mikroelektromechanické systémy – Microelectromechanical systems                        |
| <b>DNA</b>  | deoxyribonukleová kyselina – Deoxyribonucleic acid                                     |
| <b>USB</b>  | univerzální připojení sériové sběrnice – Universal serial bus                          |
| <b>I/O</b>  | vstup/výstup – Input/Output  |
| <b>DC</b>   | stejnoseměrný proud – Direct current   |
| <b>PWM</b>  | pulzněšířková modulace – Pulse-Width modulation  |
| <b>Rx</b>   | příjmač – Receiver   |
| <b>Tx</b>   | vysílač – Transmitter  |
| <b>UART</b> | univerzální asynchronní přijímač-vysílač – Universal asynchronous receiver-transmitter |
| <b>TTL</b>  | tranzistorově-tranzistorová logika – Transistor-transistor-logic                       |
| <b>I2C</b>  | sběrnice pro datové připojení mezi několika procesory – Inter-Integrated Circuit       |
| <b>SPI</b>  | sériové periferní rozhraní – Serial peripheral interface                               |
| <b>OLED</b> | organická světlo emitující dioda – Organic light-emitting diode                        |

# Seznam příloh

A Schéma zapojení

62

# A Schéma zapojení



Obr. A.1: Elektrické schéma mikrofluidního systému.

## B Obsah přiloženého DVD

Na přiloženém DVD se nachází text samotné práce, aplikace pro řízení průtoku, řídí kód desky Arduino a seznam použitých součástek.

```
/ ..... kořenový adresář přiloženého CD
├── aplikace ..... aplikace MicroFluidic
│   └── MicroFluidicApp.apk
├── data ..... naměřená data a výpočetní skripty
│   ├── mereni.xlsx
│   ├── mereni-ph.m
│   ├── ph77.txt
│   └── ph71.txt
├── deska ..... návrh plošného spoje
│   ├── Deska.sch
│   └── Deska.brd
├── kód ..... řídicí Arduino kód
│   └── MicroFluidicCode.ino
├── seznam ..... seznam použitých součástek
│   └── Seznam.pdf
├── schema ..... schéma systému
│   └── MicroFluidicPic.png
└── text ..... kopie bakalářské práce
    └── JanMeloun-BP.pdf
```