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

MONOKLIMATICKÁ INKUBAČNÍ KOMORA - ŘÍZENÍ TEPLOTY KOMORY

MONOCLIMATE INCUBATION CHAMBER - TEMPERATURE CONTROL

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE AUTHOR Anežka Kovářová

VEDOUCÍ PRÁCE SUPERVISOR

Ing. Jiří Sekora

BRNO 2016



VYSOKÉ UČENÍ FAKULTA ELEKTROTECHNIKY TECHNICKÉ A KOMUNIKAČNÍCH V BRNĚ TECHNOLOGIÍ

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor Biomedicínská technika a bioinformatika

Ústav biomedicínského inženýrství

Studentka: Anežka Kovářová Ročník: 3

ID: 164978 *Akademický rok:* 2015/16

NÁZEV TÉMATU:

Monoklimatická inkubační komora - řízení teploty komory

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Seznamte se s požadavky a parametry monoklimatických inkubátorů na pracovišti laboratoře biofyziky. 2) Dle požadavků navrhněte temperovanou monoklimatickou komoru s možností snímání a řízení teploty v rozsahu od 20°C do 40°C, a s možností snímání a regulace koncentrace plynů (O2 a CO2) v komoře. 3) Navrhněte autonomní systém pro snímání a regulaci teploty v zadaném rozsahu a pro kontrolu vlhkosti v komoře. Respektujte požadavek na monoklimatickou komoru inkubátoru. 4) Realizujte navržené zařízení. 5) Na souboru testů ověřte správnost návrhu. Proveďte zhodnocení a diskuzi výsledků.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

1) WILSON, Jon S. The digital signal processing handbook: theory, design, and implementation. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2010, 1 sv. (různé stránkování). The electrical engineering handbook series. ISBN 978--4200-4604-5.

2) WILSON, Jon S. Sensor technology handbook: theory, design, and implementation. Boston: Elsevier, c2005, ix, 691 p. Engineering. ISBN 07-506-7729-5.

Termín zadání: 8.2.2016

Termín odevzdání: 27.5.2016

Vedoucí práce: Ing. Jiří Sekora Konzultant bakalářské práce: Mgr. Josef Skopalík

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.

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně / Technická 3058/10 / 616 00 / Brno

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá návrhem a realizací monoklimatické inkubační komory pro kultivaci buněk in vitro a jejich pozorování pod konfokálním mikroskopem. Vychází ze stanovených požadavků a parametrů zadaných laboratoří biofyziky FEKT VUT. Je zde vysvětlena kultivace buněk in vitro a popsány senzory pro měření teploty a vzdušné vlhkosti. Hlavní část práce se věnuje teoretickému návrhu a následné realizaci temperované monoklimatické komory s možností snímání a řízení teploty a kontroly vlhkosti pomocí mikrokontroléru.

KLÍČOVÁ SLOVA

Kultivace buněk in vitro, senzor, monoklimatický inkubátor, řízení teploty, mikrokontrolér, Arduino

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the design of the monoclimate incubator chamber for in vitro cell cultivation and cell observing under the confocal microscope. It is based on requirements and parameters set by the biophysics laboratory of FEEC BUT. In vitro cell cultivation is explained, temperature and humidity sensors are described here. The main part is dedicated to the theoretical design and realization of the tempered monoclimate chamber with temperature controlling and humidity control using a microcontroller.

KEYWORDS

In vitro cell cultivation, sensor, monoclimate incubator, temperature control, microcontroller, Arduino

KOVÁŘOVÁ, Anežka *Monoklimatická inkubační komora - řízení teploty komory*: bakalářská práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství, 2016. 73 s. Vedoucí práce byl Ing. Jiří Sekora

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma "Monoklimatická inkubační komora - řízení teploty komory" jsem vypracovala 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 autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení S11 a následujících autorského zákona č. 121/2000Sb., 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.

V Brně, dne 27. května 2016

Anežka Kovářová

Poděkování

Na tomto místě bych ráda srdečně poděkovala Ing. Jiřímu Sekorovi, vedoucímu mé bakalářské práce, za trpělivé vedení, ochotu, pomoc, čas a podporu při řešení práce.

Dále bych také chtěla poděkovat Mgr. Josefu Skopalíkovi za odborné konzultace a Bc. Kataríně Fabianové za skvělou spolupráci během tvorby návrhu a realizace zařízení.

V Brně, dne 27. května 2016

Anežka Kovářová

OBSAH

Ú٧	vod			10
1	Kul	tivace	buněk in vitro	11
	1.1	Přípra	va kultury	11
	1.2	Kultiv	ační podmínky	12
	1.3	Použit	í kultivace buněk	13
	1.4	Stanov	vení parametrů inkubátoru	14
2	Sen	zory		16
	2.1	Vlastn	osti senzorů	17
		2.1.1	Dělení senzorů	17
		2.1.2	Základní charakteristiky senzorů	19
	2.2	Teplot	ní senzory	20
		2.2.1	Odporové kovové senzory teploty	22
		2.2.2	Termoelektrické články	23
		2.2.3	Polovodičové senzory teploty	24
		2.2.4	Monolitické PN senzory teploty	27
	2.3	Vlhkor	měry	28
		2.3.1	Sorpční senzory vlhkosti	29
		2.3.2	Absorpční LiCl elektrolytický senzor	31
		2.3.3	Psychrometr	31
		2.3.4	Vlhkoměry na principu rosného bodu (zrcadlové) $\ . \ . \ .$.	32
3	Vla	stní ná	ivrh zařízení	33
	3.1	Blokov	vé schéma zařízení \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	33
	3.2	Schém	a menu	39
	3.3	Řídící	software mikrokontroléru $\hfill \ldots \hfill \ldots \hf$	39
	3.4	Návrh	konstrukčního řešení	43
		3.4.1	Plášť	43
		3.4.2	Komora	43
		3.4.3	$Vytápění \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ . \ $	43
		3.4.4	Ventilace	44
4	Rea	lizace	zařízení	45
	4.1	Mikro	kontrolér	45
	4.2	Snímá	ní teploty \ldots	45
		4.2.1	Měřící můstek pro senzory Pt100	46
		4.2.2	Přístrojový zesilovač	46

		4.2.3 Koncový zesilovač	47
	4.3	Vytápění	47
	4.4	Ventilace	49
	4.5	Display	50
	4.6	Rotační enkodér	51
	4.7	Napájení	53
	4.8	Vlhkoměr	54
	4.9	Popis firmware	55
		4.9.1 Řížení teploty a ventilace \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	55
		4.9.2 Kontrola vlhkosti vzduchu	57
		4.9.3 Menu a ovládání	57
	4.10	Konstrukce vlastního zařízení	60
5	Exp	perimentální ověření návrhu	61
5	Exp	perimentální ověření návrhu	61 63
5 Zá	Exp ivěr	perimentální ověření návrhu	61 63
5 Zá Li	Exp ivěr terat	perimentální ověření návrhu zura	61 63 64
5 Zá Li Se	Exp ivěr terat eznar	perimentální ověření návrhu zura n příloh	61 63 64 69
5 Zá Li Se	Exp ivěr terat znar Elel	perimentální ověření návrhu cura n příloh ktrické schéma zapojení	 61 63 64 69 71
5 Zá Li Se A	Exp ivěr terat znar Elel Boz	perimentální ověření návrhu cura n příloh ktrické schéma zapojení	 61 63 64 69 71 72
5 Zá Li Se A B	Exp ivěr terat znar Elel Roz	perimentální ověření návrhu cura n příloh ktrické schéma zapojení zpiska součástek	 61 63 64 69 71 72
5 Zá Li Se A B C	Exp ivěr terat znar Elel Roz Mo	perimentální ověření návrhu cura n příloh ktrické schéma zapojení zpiska součástek del inkubační komory	 61 63 64 69 71 72 73

SEZNAM OBRÁZKŮ

2.1	Schéma principu činnosti senzoru	16
2.2	Schéma principu činnosti inteligentního senzoru	16
2.3	Závislost odporu na teplotě pro různé odporové snímače teploty $\ . \ . \ .$	23
2.4	Závislost odporu termistoru na teplotě	25
2.5	Průběh závislosti odporu na teplotě křemíkového senzoru KTY10-5 $$.	27
2.6	Vliv teploty na AV charakteristiku PN přechodu T1 <t2<math display="inline">\ .</t2<math>	28
2.7	Odporový senzor vlhkosti	30
2.8	Uspořádání LiCl vlhkoměru	31
2.9	Psychrometrický senzor	32
3.1	Blokové schéma navrhovaného zařízení	33
3.2	Ukázka senzoru Pt100	34
3.3	Závislost odporu platinového čidla na teplotě	35
3.4	Základní můstkové zapojení čtyř odporových senzorů	36
3.5	Blokové schéma menu	39
3.6	Vývojový diagram systému	40
3.7	Vývojový diagram řízení teploty v komoře	41
3.8	Vývojový diagram menu	42
4.1	Zapojení části pro měření teploty	45
4.2	Zesílení signálu z můstku	46
4.3	Zapojení vývodů zesilovače TL064CP	47
4.4	Zapojení Heating Cartridge v obvodu	48
4.5	Průběh PWM při hodnotě střídy 25 %	50
4.6	Zapojení LCD	51
4.7	$\check{\mathrm{C}}\mathrm{innost} \ \mathrm{rota}\check{\mathrm{c}}\mathrm{n}\mathrm{i}\mathrm{ho} \ \mathrm{enkod}\mathrm{\acute{e}}\mathrm{ru} \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots $	52
4.8	Modul rotačního enkodéru KY-040	52
4.9	Zapojení enkodéru v obvodu	53
4.10	HTU21D Arduino modul pro měřenít teploty a vlhkosti	54
4.11	Zapojení modulu HTU21D v obvodu	55
4.12	Mikrokontrolér Arduino Mega	55
4.13	Výstup rotačního enkodéru	57
4.14	Nákres komory inkubátoru	60
5.1	Graf závislosti teploty na čase při ohřevu	61
5.2	Graf závislosti teploty na čase při temperování	62
A.1	Kompletní elektrické schéma zapojení	71
C.1	Ukázka testovacího modelu inkubační komory	73

SEZNAM TABULEK

4.1	Základní parametry bipolárního NPN tranzistoru BC337 $\ .$. 49
4.2	Základní parametry bipolárního PNP tranzistoru BD138 $\ .$. 49
4.3	Základní parametry spínaního zdroje RD-35A	. 54
4.4	Nastavení výkonu pro ovládání fuzzy logikou	. 56
5.1	Závislost teploty na čase při temperování	. 62

ÚVOD

Historie buňkové kultivace sahá až do roku 1885, kdy Wilhelm Roux jako první kultivoval embryonální kuřecí buňky v solném roztoku mimo tělo. Následně, v roce 1912, Alexis Carrel kultivoval v živném roztoku kus kuřecího srdce, které takto vydrželo v kultivační nádobě celých 27 let.[27] Dříve se udržení rostlinné nebo živočišné buňky naživu mimo tělo organizmu zdálo jako zcela nemožná věc.

Základem buněčné kultury je izolace určitého typu buněk, živočišného nebo rostlinného původu. Takto izolované buňky je možné v laboratorních podmínkách kultivovat, tedy udržet buňky naživu mimo své přirozené prostředí. Kultivace v laboratorních podmínkách *in vitro* je potom udržení izolovaných buněk "ve skle", tedy ve zkumavce za dodání podmínek potřebných k jejich životu. Takové vhodné prostředí zajišťují např. kultivační nádoby s pufrovým roztokem a živinami, které napodobují podmínky vyhovující fyziologické potřebě izolovaných buněk. Na zajištění vhodných podmínek se podílí teplota, koncentrace O_2 a CO_2 , kultivační médium, pH a povrch kultivační nádoby.

Živočišné kultury mají bohaté využití zejména v oblasti genetiky a prenatální analýzy, v imunologii pro výrobu monoklonálních protilátek a také v mikrobiologii, kde se buněčné kultury využívají k zachycení virových agens a bakterií, které nepřežijí mimo hostitelskou buňku.

Cílem bakalářské práce je návrh inkubátoru, dále testování autonomního programu pro kontrolu a nastavení paramterů prostředí, konkrétně teploty. Paralelně řešená diplomová práce potom řeší regulaci atmosféry (konkrétně koncentraci O_2 a CO_2) tak, aby výsledkem obou prací byl komplexní návrh inkubátoru. Návrh inkubátoru tak bude proveden na míru dané laboratoři biofyziky pro potřeby měření na konfokálním mikroskopu.

1 KULTIVACE BUNĚK IN VITRO

Medicína, biologie a jiné příbuzné obory ve spojení s pěstováním buněk v umělém prostředí (ve zkumavkách nebo v jiném laboratorním skle) používají termín in vitro (lat.). Pojem in vitro je běžně překládaný jako "ve zkumavce" nebo doslovně "ve skle" [44]. Metody in vitro jsou velmi výhodné a někdy nezbytné pro získání dostatečného množství buněk (at už buněk pro biologickou analýzu) – zejména test na odezvu na cytostatika a jiná léčiva například u buněk; nebo pro nashromáždění (respektive aktivaci) velkého množství buněk pro použití v medicíně – například dendritické buňky, chondrocyty, různé kmenové a progenitorové buňky, kterých je potřeba řádově několik milionů pro jednu transplantaci při léčbě pacienta. [31, 28, 40]

Hlavní rizika metody jsou:

- kontaminace viry nebo bakteriemi;
- nastartování apoptózy a buněčná smrt kvůli špatnému složení média nebo jiným patologickým stimulům;
- nechtěná změna vlastností buněk (například schopnosti migrovat a realizovat imunitní reakci);
- často díky umístění preparátu do odlišných podmínek vzhledem k původnímu fyziologickému prostředí.

Touto odlišností může být právě například zvýšená koncentrace O_2 v atmosféře inkubátoru, která se liší od přirozené fyziologické koncentrace tkáně.

1.1 Příprava kultury

Jak už bylo výše řečeno, základem buňkové kultury je izolace typu buněk potřebného k analýze. Izolaci buněk lze rozdělit na dva druhy: izolace buněk z tekutých tkání (krve, kostní dřeně, mízních uzlin, mozkomíšního moku) a izolace z pevných tkání. K druhému typu izolace se v dnešní době používá celá řada technik. Nejčastěji jsou používány postupy založené na kombinaci mechanického rozvolnění tkáně a enzymatického natrávení mezibuňkové matrix kolagenázou, elastenázou apod. Dále například některé buňky (např. jaterní parenchym) je možné izolovat za pomoci perfúze orgánu vhodným médiem (často jde o roztok obsahující proteázy), čímž dochází k uvolnění buněk, které se následně zcentrifugují a kultivují. [41, 10]

Izolované buňky jsou tedy pěstované v kultivačních nádobách. Na začátku procesu kultivace vzniká tzv. první kultura izolovaných buněk neboli primokultura. Vzhledem k tomu, že primokultury obsahují i další buňky kromě požadovaných, je třeba udělat očištění vytvářené kultury. Používá se více metod pro čištění. Jako příklad je možné uvést ne vždy spolehlivou metodu, a sice vytvoření vhodných podmínek kultivace pro analyzovaný typ buněk, které umožňují jejich růst. Kromě tohoto způsobu se bere ohled i na skutečnost rozdílné schopnosti adheze buněk na kultivační povrchy, čímž vzniká další způsob očištění požadovaných buněk. Někdy je možno použít i tzv. selekční médium zabraňující růstu nežádoucí příměsi buněk. [41, 10]

Kultury buněk je možné rozdělit na adherentní a suspenzivní. Nejčastěji se kultivují buňky adherované (přichycené) na vhodném povrchu. V tomto případě jsou důležité vlastnosti povrchu kultivační nádoby a v některých případech i látky ulehčující přilnutí buňky na dno nádoby (kolagen, želatina apod.). Hydrofóbní povrch nádob je nejvíce žádaný většinou buňkových typů. Dnes se používají zejména speciálně ošetřené polystyreny. Adherované buňky se po namnožení a za použití vhodného enzymu (například trypsinu) uvolňují od povrchu kultivační nádoby. Jev uvolnění buněk se využívá například při pasážování. Některé typy buněk (například buňky krevního původu nebo dárcovské buňky) vyžadují kultivaci v suspenzi. Tento způsob kultivace buněk se realizuje ve statickém médiu nebo v různých kinetických (fluidních) režimech, které se vyznačují neustálým pohybem kultivační nádoby, která je umístěna na kývající se míchačce apod. Při pasážování nebo výměně média suspenzivní kultury buněk je třeba oddělení média od buněk prostřednictvím odstřeďování nebo filtrů. [41, 10, 21]

U adherentních kultur v kultivační nádobě dochází k růstu buněk (většinou jde o exponenciální závislost). Buňky běžně rostou do doby, než v podstatě zaplní povrch dna nádoby. V tomto okamžiku nastává vzájemný kontakt mezi buňkami. Za vzniku těchto okolností je třeba, aby buňky byly pasážované – přenášené do nové kultivační nádoby s čerstvým kultivačním médiem. [10, 21]

1.2 Kultivační podmínky

Existenci buňkových kultur in vitro zabezpečují vhodné, požadované kultivační podmínky. K nejdůležitějším podmínkám ovlivňujícím životaschopnost, metabolismus či morfologii kultury buněk patří povrch kultivační nádoby, složení kultivačního média i jiné vlastnosti prostředí, mezi které je možné zařadit například teplotu, vlhkost nebo dokonce složení atmosféry.

Pro růst buněk je potřebný zdroj živin či optimální podmínky prostředí, které jsou poskytované buňkám prostřednictvím kultivačního média, které do značné míry napodobuje extracelulární tekutinu. Jelikož časem dochází k vyčerpání živin, médium se musí pravidelně vyměňovat za nové. Jako kultivační médium se používají směsi několika látek. Každé médium musí obsahovat ve vhodné koncentraci látky jako anorganické soli, pufry, glukózu, vitamíny, bílkoviny, růstové hormony, některé peptidy, mastné kyseliny, lipidy a stopové prvky. Většinou jsou potřebné komplexnější směsi růstových faktorů, aby byly buňky schopny dlouhodoběji růst v médiu. Z důvodu složitosti přípravy této komplexní směsi se do média přidává krevní sérum obsahující potřebné esenciální látky. Dále jsou do média přidávána i antibiotika (penicilin například) zabezpečující prevenci před bakteriální kontaminací. [41, 10, 9]

Mnoho buňkových linií dobře roste při pH 7,4. V případě poklesu hodnoty pH na 6,5 buňky přestávají růst, pokud se pH dostane pod hodnotu 6,5, dochází ke ztrátě životaschopnosti buňkové linie. K indikaci pH slouží fenolová červeň, při požadovaném pH (7,4) se médium zbarví na červeno. Když dojde ke spotřebování živin či k nahromadění metabolitů, barva média se změní na žlutou, což signalizuje potřebu výměny média za čerstvé. Uvedené optimální pH pro růst buňkové kultury však nevyhovuje všem druhům buněk. [10, 9]

Velká většina buněk požaduje teplotu přibližně 37 °C. Vlivem snížení teploty může nastat zpomalení až zastavení růstu buněk. Z toho vyplývá, že možnost snížení teploty se dá využít ke krátkodobému nebo dlouhodobému uchovávání buněk. V opačném případě, za zvýšené teploty, dochází až k odumírání buněk, protože se enzymy a proteiny denaturují. Proto jsou například při teplotě 42 °C buňky schopné přežít přibližně 24 hodin a při zvýšení teploty pouze o 3 °C, na 45 °C, přežijí buňky jen 30 minut. [10]

Kultivované buňky dále vyžadují i stabilní atmosféru s požadovaným obsahem oxidu uhličitého. Obvykle se koncentrace CO_2 při kultivaci za podmínek in vitro pohybuje okolo 5 %. Zvýšená koncentrace CO_2 se taktéž podílí na udržování pH média zvětší za pomoci bikarbonátového pufru. Kromě koncentrace CO_2 se hledí i na koncentraci kyslíku. Koncentrace kyslíku v médiu se dnes reguluje pouze nepřímo pomocí nastavení koncentrace v atmosféře nad hladinou média. Nejčastěji obsahuje 20 % kyslíku. Avšak řada moderních kultivačních metod se snaží snížit koncentraci O_2 , a tak lépe napodobit hypoxické podmínky v přirozené tkáni. Například při hypoxické kultivaci se snižuje obsah kyslíku na úroveň vyskytující se v živých tkáních (3 % – 5 %). [41, 10, 46]

Dále je důležité udržování relativní vlhkosti atmosféry okolo 90 % kvůli tomu, aby se neodpařovala voda z kultivačního média, čímž by mohlo dojít i ke změně koncentrace složek média. [41, 10, 21]

1.3 Použití kultivace buněk

Kultury buněk se řadí k základním technikám používaným ve výzkumu a ve výrobě, kde mají celou řadu použití. Ve výzkumu buňkové kultury slouží hlavně jako zdroj materiálu pro pokusy [41]. Další využití kultur se objevuje při výrobě enzymů, hormonů či proteinů pro léčebné, vědecké nebo diagnostické účely [13].

Metody buňkových a dokonce i tkáňových kultur mají tedy podstatu využití například ve farmakologii při vývoji a ověřování nových léků, při výrobě vakcín, dále v testech toxicity. Kultury buněk jsou používané i při genových manipulacích (například pro prenatální cytogenetické vyšetření) [9]. Velký význam kultur se projevuje i v onkologii (výzkum rakoviny a vývoj protinádorových léčiv), imunologii, biochemii a podobně [46, 13].

Z mnohostrannosti buňkových a tkáňových kultur vyplývá, že tyto techniky přispívají velkou mírou k eliminaci používání pokusů na zvířatech.

1.4 Stanovení parametrů inkubátoru

Jak už vyplývá ze zadání práce, monoklimatický inkubátor je požadovaný pracovištěm laboratoře biofyziky nacházejícím se v prostorách Ústavu biomedicínského inženýrství. Na základě uživatelských zkušeností byly definovány požadavky a parametry monoklimatického inkubátoru.

Na začátku je nutné ujasnit si, k jakému konkrétnímu účelu bude inkubátor určený. V laboratoři fyziky se pracuje s krevními a jinými buňkami, pro jejichž kultivaci in vitro je inkubátor nezbytný.

Je požadováno, aby byl inkubátor přenosný a v případě potřeby bylo možné ho vložit pod konfokální mikroskop nacházející se v laboratoři. V tomto bodě již přicházejí jistá omezení. První omezení je maximální rozměr celého inkubátoru – 7 cm \times 12 cm \times 5,5 cm (hloubka \times šířka \times výška), přičemž dvě třetiny horní části bočních stěn se využijí k vedení elektroniky a jiných součástí zařízení. Taktéž je třeba brát v úvahu nosnost stolku mikroskopu. Maximální nosnost je stanovena na 400 gramů. Avšak existuje možnost vytvoření doplňkového držáku, takže by hmotnost inkubátoru nepůsobila pouze na stolek, a tím pádem by mohla být vyšší.

Další omezení ke spojené s potřebou umístění kultivační nádoby na dno inkubátoru. V laboratořích se využívají pro kultivaci dva tvary nádob, první z nich je kvádr o rozměrech 2,5 cm \times 2,5 cm \times 1,5 cm a druhým tvarem je válec s kruhovou podstavou o průměru 4 cm a výšce 1,5 cm. Z výše uvedeného použití a požadavků tedy vyplývá, že spodní stěna pro možnost pozorování konfokálním mikroskopem by měla obsahovat ideálně 2 "jamky", přesněji řečeno tenká sklíčka o rozměrech přibližně 2,5 cm \times 2,5 cm, vzdálená od sebe 4,5 cm. Kvůli zachování dobrých optických vlastností je doporučeno použít materiálově nejvíce vyhovující originální mikroskopové podložní sklíčko tlouštky maximálně 1 mm. Dále je požadováno, aby kultivační nádoba těsně doléhala na použité sklíčko, protože jinak by mezi sklíčkem a nádobou vznikla nežádoucí vrstva vzduchu z hlediska následného špatného zaostření pozorovaných buněk v kultivační misce. Uživatel dále potřebuje malý průzor určený ke kontrole kultivačních nádob. Ten se může nacházet například na dvířkách inkubátoru.

Plášť inkubátoru by měl být vybaven dvěma průchody o průměru 4 mm pro vstup hadiček potřebných k případnému injektování chemikálií nebo k vedení dalších kabelů pro možnost diodového ozařování vzorků. Mělo by se jednat o takový typ gumových průchodek, které je možné při nepoužívání uzavřít závitem. Požadavky na materiál inkubátoru nejsou blíže specifikované, pouze možnost jednoduchého umytí povrchu etanolem a jarem.

Následující parametry a požadavky se týkají teploty, koncentrace plynů, vlhkosti a atmosférického tlaku. Teplota v inkubátoru by se měla pohybovat v rozmezí 35 °C až 40 °C s regulační přesností 0, 2 °C. Dále se vyžaduje možnost regulace koncentrace plynů – regulace O_2 a CO_2 . Minimální rozsah koncentrace kyslíku je požadovaný v rozpětí 2 % až 21 % s regulační přesností 0,5 % a v případě oxidu uhličitého rozsah koncentrace od 0,5 % do 5 % se stejnou regulační přesností jako u kyslíku. Na základě požadované regulace koncentrace O_2 a CO_2 je zřejmé, že v zařízení mají být i senzory kyslíku a oxidu uhličitého. Nedílnou součástí zařízení tedy bude i lahev s oxidem uhličitým a dusíkem. Dusík bude užívaný pro vytlačení kyslíku, tato alternativa byla zvolena s ohledem na bezpečnost.

K dalším požadavkům patří i zajištění vlhkosti prostředí. Ta by měla být vytvářena pasivně, například výpary z misky nebo rezervoáru s destilovanou vodou. Řádově by se relativní vlhkost měla pohybovat okolo 95 %. Není třeba ji přesně regulovat, postačí pouze senzor pro monitorování a případný alarm při jejím snížení, protože nasycená atmosféra při kultivaci slouží k zabránění vysychání samotného vzorku při několikahodinové nebo několikadenní kultivaci.

Jeden z posledních požadavků se zabývá tlakem prostředí uvnitř inkubátoru. Podle uživatele zatím není potřebné tlak regulovat, ale bylo by vhodné, kdyby byl inkubátor konstruovaný tak, aby snesl přetlak 0,2 bar.

Pro usnadnění obsluhy zařízení je třeba mikroprocesorové řízení a digitální regulace jednotlivých veličin se zobrazením na displeji.

2 SENZORY

Snímač (ekvivalent pojmů detektor nebo senzor) je možné obecně definovat jako zařízení (funkční prvek) určený k měření a snímání požadovaných údajů fyzikálního, chemického či biologického charakteru. Zpracováním je potom převod na zpravidla elektrickou veličinu. Prostřednictvím snímače (citlivá část senzoru) je snímaná sledovaná veličina, podle určitého definovaného principu, transformována na signál (napětový, proudový, číslicový) nebo na jinou veličinu. V obecném principu činnosti senzoru, znázorněném na obrázku 2.1 je dále transformovaný signál (veličina) zesílený a filtrovaný od vyskytujícího se šumu (šum senzoru, šum zesilovače, parazitní šum). Následně je signál zpracován, případně linearizován či jinak vhodně upraven. Analogový signál je poté transformovaný A/D převodníkem na signál digitální. Další zpracování a úpravu signálu zabezpečuje mikropočítač (např. korekce naměřených hodnot). [11, 15, 47]



Obr. 2.1: Schéma principu činnosti senzoru, upraveno z [35]

V současné době se používají inteligentní senzory (obrázek 2.2), takzvané smart senzory, jejichž součástí je snímač měřené veličiny, obvody pro úpravu signálu, A/D převodník, mikroprocesor pro zpracování a analýzu signálu, obvody pro vzájemnou komunikaci s okolím. Tento druh senzorů může dokonce využívat i prostředky umělé inteligence. [15, 35]



Obr. 2.2: Schéma principu činnosti inteligentního senzoru, upraveno z [35]

2.1 Vlastnosti senzorů

2.1.1 Dělení senzorů

V technické praxi i ve vědecké oblasti je používané velké množství různých typů senzorů.

Podle měřené veličiny se senzory dělí například na [11, 15]:

- teplotní teplota, tepelný tok, tepelná kapacita, ohřev a podobně;
- mechanické síla, rychlost, tlak, průtok, poloha apod.;
- elektrické napětí, proud, odpor, kapacita, náboj atd.;
- magnetické ultrafialové záření, infračervené záření, mikrovlny apod.;
- biologické cukry, mozková aktivita, analýza DNA aj.;
- chemické koncentrace, pH, vlhkost.

Podle fyzikálního principu můžeme senzory dělit též na [11]:

- odporové;
- indukčnostní;
- indukční;
- kapacitní;
- magnetické;
- piezoelektrické;
- pyroelektrické;
- optoelektrické;
- optické vláknové;
- chemické;
- biologické.

Podle převodního principu jsou známé senzory s [18]:

- fyzikálním převodem (fyzikálním dějem uskutečněný převod);
- biologickým převodem (využití biologicky aktivní látky);
- chemickým převodem (základem převodu je chemická reakce).

Podle styku s měřeným prostředím jsou senzory rozdělené na [15]:

- bezkontaktní;
- kontaktní.

Podle signálu na výstupu je možné signály dělit na [19]:

- napěťové;
- proudové;
- frekvenční;
- s přímým digitálním výstupem.

Podle technologie výroby existují senzory [11]:

- elektromechanické;
- mechanické;
- pneumatické;
- elektrické;
- elektronické;
- elektrochemické;
- polovodičové;
- mikroelektronické;
- optoelektrické.

Podle způsobu transformace signálu lze senzory rozdělit na aktivní a pasivní. Jako aktivní senzor je chápán takový, který se v důsledku působení snímané veličiny začne chovat jako zdroj elektrické energie. V případě pasivního senzoru je třeba elektrickou veličinu (indukčnost, kapacitu, odpor, imitanci) následně převést na analogový napěťový nebo proudový signál, kdy měřící veličinou je amplituda, kmitočet, fáze a jiné. Od aktivních senzorů se také liší tím, že vyžadují napájení. [11]

Existuje tedy celá řada možností rozdělení senzorů podle různých hledisek. Kromě výše uvedených příkladů kritérií dělení senzorů je známé i rozlišování generací senzorů.

Pod první generaci spadají senzory, k jejichž konstrukci se využívá různých mechanických a elektrochemických principů. V podstatě je vývoj senzorů této generace ukončený, výjimečně je možné se setkat s použitím nových konstrukcí, materiálů, technologií nebo nových fyzikálních jevů. Současná automatizační technika se opírá především o tuto generaci. [35, 18]

Využívání polovodičů a fyzikálních jevů spojených s polovodiči je typické pro senzory druhé generace. Tyto senzory se vyznačují například podstatně lepšími dynamickými vlastnostmi, přesností, citlivostí. Mezi další výhody patří i miniaturní rozměry. Senzory druhé generace se stále vyvíjejí, vznikají nové hybridní nebo integrované senzory, hledají se nové fyzikální jevy, materiály apod. [18]

Na výstupu senzorů první a druhé generace se objevuje vždy elektrický výstupní signál. Avšak kvůli rychle se vyvíjejícím optickým systémům jsou požadovány výkonnější a dokonalejší senzory. Z toho vyplývá existence třetí generace senzorů, která je reprezentována optoelektrickými (například senzory založené na změně polohy světelné stopy) nebo světlovodnými (optické vláknové senzory, princip úplného odrazu) senzory. Výstupem těchto senzorů je světelný tok. Třetí generace senzorů se nachází ve stádiu výzkumu a vývoje. Kromě jiného, tyto senzory mohou dosáhnout větší citlivosti a menších rozměrů oproti senzorům, které vykonávají převod na elektrický signál. [35, 18]

2.1.2 Základní charakteristiky senzorů

Typické parametry a důležité charakteristiky popisují základní statické (například přenosová charakteristika, citlivost, dynamický rozsah, linearita, hystereze, rozlišení) a dynamické (přechodová a frekvenční charakteristika) vlastnosti senzorů [47, 36, 12].

Statická přenosová charakteristika (kalibrační křivka) je nejdůležitější charakteristikou, popisuje vztah mezi vstupní měřenou veličinou (x) a veličinou výstupní (y). Reprezentací je obvykle graf znázorňující tento vztah. Nejžádanější je, samozřejmě, lineární závislost přenosové charakteristiky, která je popsána funkcí 2.1. [47, 36]

$$y = ax + q. \tag{2.1}$$

Při citlivosti (senzitivita) jde všeobecně o poměr mezi malou změnou výstupního signálu k malé změně vstupního signálu [47]. Senzitivitu je možné definovat jako sklon přenosové charakteristiky [36].

Dynamický rozsah (rozpětí) je určený intervalem dolní a horní hranice měřeného rozsahu, tedy prahem citlivosti a maximální hodnotou měřené veličiny [11, 36]. Signál mimo tento rozsah může způsobit neakceptovatelně velké nepřesnosti [47].

Další vlastnost senzoru zvaná reprodukovatelnost je určena odchylkou naměřených hodnot v rámci krátkodobého měření neměnné vstupní veličiny a neměnného rušivého vlivu prostředí [11].

Pod pojmem linearita senzoru se rozumí maximální odchylka reálné kalibrační křivky od ideální přenosové charakteristiky. V případě, že statická přenosová charakteristika nabývá nelinearity, existuje několik opatření nápravy, například pomocí korekčních členů je možné tuto charakteristiku nahradit přímkovým úsekem. [47, 36, 48]

Hystereze omezuje měřicí vlastnosti a rozsah senzoru. Jde o maximální rozdíl ve výstupu při jakékoliv hodnotě měřeného rozsahu, kdy je nejdříve hodnota měřena při zvyšování měřené veličiny a následně při snižování měřené veličiny. Udává se v procentech horní hranice měřícího rozsahu. Hysterezní chyba je dána vztahem [36]

$$He = \frac{\Delta H}{pln \circ rozsah}.$$
(2.2)

Rozlišení senzoru je definována jako nejmenší možná oblast, kterou je senzor ještě schopný detekovat. Hodnota rozlišitelnosti odpovídá relativní nebo absolutní chybě senzoru [47, 36].

Dynamické parametry senzorů je důležité brát v úvahu skrze skutečnost, že hodnota měřené veličiny se stále vyvíjí (mění) s časem. Dynamické chování senzoru je ve většině obvyklých případů možné popsat lineární diferenciální rovnicí s konstantními koeficienty. V technické praxi jsou dynamické vlastnosti senzoru vyjádřeny přenosovou funkcí, respektive frekvenční charakteristikou. Přechodová charakteristika senzoru vyjadřuje odezvu výstupní veličiny v závislosti na skokové změně veličiny vstupní. Frekvenční charakteristika je závislost přenosu a fázového úhlu na frekvenci, tedy rozdíl amplitudy a fáze výstupní veličiny oproti vstupní veličině v závislosti na frekvenci. [11, 12, 48]

Jako další důležité parametry senzoru je třeba uvažovat například i dobu odezvy, teplotní závislosti, selektivitu, životnost senzoru. Je třeba hodnoty těchto parametrů vyhodnocovat u každého typu senzoru samostatně na základě druhu aplikace. Kromě toho se používají vhodná obvodová řešení kvůli zmenšení chyby senzorů (např. metoda filtrace, metoda automatické kalibrace). [11, 48]

2.2 Teplotní senzory

Teplota je termodynamická stavová veličina, která určuje stav termodynamické rovnováhy. Tato rovnováha je situace, kdy v izolované soustavě těles nedochází k žádným makroskopickým změnám a všechny fyzikální veličiny popisující stav soustavy jsou časově nezávislé. Fyzikální veličiny teplota a teplo se však nesmí zaměňovat, jelikož teplo není stavovou veličinou (nezávisí na aktuálním stavu soustavy) a jedná se o formu energie spojenou s pohybem částic dané soustavy. Měření teploty probíhá vždy nepřímo, provádí se prostřednictvím jiných fyzikálních veličin.

Základní jednotkou termodynamické teploty je Kelvin [K], která je definována zvolením trojného bodu vody (rovnovážný stav tří skupenství vody – ledu, vody a syté vodní páry) jako referenčního teplotního bodu termodynamické stupnice a jeho přiřazením na pevně stanovenou hodnotu T = 273, 16 K.

Další možnou teplotní stupnicí je Celsiova stupnice s jednotkou stupeň Celsia [°C]. Je odvozena od Kelvinovy termodynamické stupnice posunutím o teplotu 273,15 K – hodnota o 0,01 K nižší než termodynamická teplota trojného bodu vody. Celsiova teplota t je rovna rozdílu termodynamické teploty T a hodnoty 273,15 K. Tedy platí [24]

$$t(^{\circ}C) = T - T_0 = T - 273,15 \text{ K.}$$
 (2.3)

V anglosaských zemích se využívá také stupnice Fahrenheitova. Pro převod na teplotu Fahrenheita platí vztah [24]

$$t(^{\circ}F) = \frac{9}{5}T - 459, 67 = \frac{9}{5}t - 32,$$
(2.4)

kde ${\cal T}$ je termodynamická teplota, t je Celsiova teplota.

Teplotní senzor je funkční prvek, jenž je vstupním blokem měřícího řetězce, který je přímém kontaktu s měřeným prostředím. Termín senzor teploty je ekvivalentní termínu snímač teploty, čidlo teploty, stejně jako detektor tepelného záření nebo teploměr. [24]

Podle fyzikálního principu lze teplotní senzory dělit na [24]:

- odporové;
- termoelektrické;
- polovodičové s PN přechodem;
- dilatační;
- optické;
- radiační;
- chemické;
- šumové;
- akustické;
- magnetické;
- kapacitní;
- aerodynamické.

Podle transformace signálu se rozlišují senzory [24]:

- aktivní (chovají se jako zdroje elektrické energie; termoelektrické články);
- pasivní (nutné elektrické napájení).

Podle kontaktu s prostředím je možné senzory rozdělit na [33]:

- dotykové
 - elektrické (odporové, kovové, odporové polovodičové, polovodičové s PN přechodem, termoelektrické, krystalové);
 - dilatační (kapalinové, plynové, parní a bimetalové);
 - speciální (akustické, šumové, magnetické, tekuté krystaly, teploměrné barvy).
- bezdotykové
 - tepelné;
 - kvantové;

– akustické.

2.2.1 Odporové kovové senzory teploty

Principem těchto senzorů je teplotní závislost měrného odporu kovu, která je určena základní materiálovou konstantou, teplotním součinitelem odporu α [K^{-1}]. Pro provozní kovové teploměry lze v teplotním rozsahu 0 °C až 100 °C používat s určitou nejistotou tento lineární vztah [12]

$$R(t) = R_0(1+\alpha),$$
(2.5)

kde α je teplotní součinitel odporu $[K^{-1}]$, R_0 odpor při teplotě 0 °C $[\Omega]$, t teplota [°C].

Teplotní součinitel odporu se v technické praxi obvykle definuje jako [33]

$$\alpha = \frac{R_{100} - R_0}{100R_0},\tag{2.6}$$

kde R_{100} je odpor teploměru při teplotě 100 °C [Ω].

Pro větší teplotní rozsahy platí tato nelineární rovnice v závislosti na použitém kovu [11]

$$R(t) = R_0[1 + At + Bt^2 + Ct^3(t - 100)], \qquad (2.7)$$

kde t je teplota [°C], R(t) odpor při teplotě t [Ω], A lineární teplotní koeficient odporu [K^{-1}], B kvadratický teplotní koeficient odporu [K^{-2}], C mocninný teplotní koeficient 3. řádu ($C = 0 \ pro \ t > 0 \ ^{\circ}C$) [K^{-3}].

Nejrozšířenějšími materiály pro odporové kovové teploměry jsou platina, nikl, měď, molybden, pro extrémně nízké teploty od 0,5 K, pak slitiny Rh-Fe nebo Pt-Co. Značnou výhodou těchto senzorů je velice dobrá dlouhodobá stálost parametrů a relativně široký rozsah pracovních teplot [33].



Obr. 2.3: Závislost odporu na teplotě pro různé odporové snímače teploty, převzato z [24]

Obecně pro tento typ senzorů platí, že průchodem měřícího proudu dochází k jejich ohřívání. Senzor pak tedy indikuje vyšší hodnotu teploty, než je ta skutečná. Naopak nízká hodnota proudu vyvolá pouze malou změnu napětí na odporu, což je nutno kompenzovat větším zesílením, čímž se ale zesiluje i chyba senzoru. Z tohoto důvodu je třeba navrhnout proudové zařízení tak, aby se dosáhlo kompromisu s ohledem na oba případy. Výrobci odporových čidel teploty udávájí tzv. zatěžovací konstantu D, která odpovídá velikosti výkonu podle vztahu 2.8, která vyvolá změnu teploty čidla o 1 °C. Pro vypočtení velikosti budícího proudu je možno použít vztahy 2.9 [24]

$$P = R(t)I^2, (2.8)$$

kde P je ztrátový výkon [W], I velikost budícího proudu [A], R(t) odpor senzoru [Ω].

$$I = \sqrt{\frac{D}{R(t)}},\tag{2.9}$$

kdeDje zatěžovací konstanta $[W\cdot K^{-1}].$

Odporové senzory se vyrábějí se dvěma nebo čtyřmi vývody. V případě dvouvodičového provedení se při měření odpor vývodů přičítá k odporu vlastního měřícího odporu a způsobuje tak proměnnou chybu. Nejistota údaje způsobená vlivem odporu přívodů se u standardního odporu pohybuje od 0,1 °C do 0,5 °C. [24]

2.2.2 Termoelektrické články

Tento typ senzoru funguje na principu převodu tepelné enegie na elektrickou. Díky využití tzv. Seebeckova jevu, podle kterého vzniká mezi vývody termočlánku ze dvou

rozdílných kovů termoelektrické napětí, které je úměrné rozdílu teploty v místě dotyku dvou kovů a teploty srovnávacího konce. Pokud je zajištěna konstantní teplota srovnávacího konce, je napětí na termočlánku úměrné teplotě měřícího konce. Velkou výhodou těchto článků je široký teplotní rozsah, proto lze tyto senzory využít k měření vysokých teplot. Avšak přesnost je v porovnání s ostatními senzory nižší, ale i přesto může u nejpřesnějších termočlánků dosahovat až \pm 0,5 °C. Citlivost článků je v řádu 10 μ V, ale lze ji zvýšit sériovým zapojením více článků.

Termoelektrické články je taktéž možno použít jako zdroje proudu, ale jejich výkon a energetická účinnost jsou nízké. Je tedy využit jev inverzní k jevu Seebeckovu, a sice jev Peltierův, kdy se díky průchodu proudu vytváří teplotní rozdíl mezi oběma konci vodičů. [24]

2.2.3 Polovodičové senzory teploty

Stejně jako odporové senzory využívají teplotní závislosti odporu. Teplotní součinitel odporu polovodiče je záporný a mnohem větší než u kovů. U polovodičů je dominantní závislost koncentrace nosičů náboje na teplotě. [24] Základními polovodičovými senzory jsou termistory, které jsou založeny na teplotní změně odporu keramických polovodičových materiálů. Výhodami termistorů jsou velká teplotní citlivost, malé rozměry, jednoduchý převod odporu na elektrické napětí nebo proud a možnost přímého měření odporu termistoru na větší vzdálenost. Nevýhodou je nelineární charakteristika. Termistory se dále dělí dle struktury na polykrystalické a amorfní. V závislosti na použitém materiálu má termistor buď velký kladný součinitel odporu, tzv. pozistor nebo-li PTC terminstor (Positive Temperature Coefficient) nebo velký záporný součinitel odporu, tzv. negastor nebo-li NTC termistor (Negative Temperature Coefficient). [24]

Negastory (NTC terminstory)

Vyrábějí se práškovou technologií z oxidů kovů (oxidy chromu, kobaltu, mědi, železa, manganu, niklu a titanu). Hotové senzory se zpevňují slisováním za vysokých teplot. Pracovní rozsah teplot běžně dostupných negastorů je v rozmezí -50 °C až +150 °C, mohou ale pracovat i v rozmezí +42 °C až do vysokých teplot okolo 1000 °C. Koeficienty pro každý typ termistoru udává výrobce. Nevýhodami těchto senzorů jsou mechanická odolnost a nižší pracovní rozsah. Pro průmyslové měření teplot se tím pádem využívají spíše termočlánky a Pt100 senzory. Termistory mohou ovšem dosahovat nejvyšších přesností, samozřejmě také záleží na typu senzoru. Průběh závislosti odporu na teplotě je popsán u negastorů rovnicí 2.10, což je polynomická aproximace průběhu 3. řádu. [24] Vzhledem k tomu, že se při běžných měření teploty používají zejména NTC termistory, jsou jako termistory označovány i v literatuře, NTC termistor a negastor jsou totožné pojmy s pojmem termistor.

$$T = [A + Bln(R_T) + C(ln(R_T))^3]^{-1},$$
(2.10)

kde T je termodynamická teplota [K], R_T odpor termistoru [Ω], A, B, C konstanty udávané výrobcem.

Pro přepočet teploty na hodnotu odporu slouží vztah [24]

$$R_T = e^{\left(3\sqrt{\beta - \frac{\alpha}{2}}\right)} - e^{\left(3\sqrt{\beta + \frac{\alpha}{2}}\right)}.$$
(2.11)

Konstanty α a β se určí tímto způsobem

$$\alpha = \frac{A - \frac{1}{T}}{C} \quad ; \quad \beta = \sqrt{\left(\frac{B}{3C}\right)^3 + \frac{\alpha^2}{4}}.$$
(2.12)



Obr. 2.4: Závislost odporu termistoru na teplotě, převzato z [45]

Z rovnice 2.11 je možné vypočítat průběh závislosti teploty na odporu. Tento průběh je znázorněn na obrázku 2.4. Pro větší názornost jsou zde průběhy tepelné závislosti dvou termistorů s hodnotami 5 k Ω a 10 k Ω při teplotě 25 °C. Hodnota termistoru je zvolena podle rozsahu teplot, ve kterém hodláme pracovat, a s přihlédnutím k parametrům měřícího můstku tak, aby proud tekoucí termistorem vyvolal dostatečně velkou změnu napětí. Z tohoto důvodu volíme pro práci ve vyšších teplotách hodnoty termistorů vyšší a pro práci v nižších teplotách nižší. Rozsah vyráběných hodnot odporů je 100 Ω až 100 k Ω . [24]

Termistory mají široké využítí, podle kterého jsou vyráběna různá provedení. K dostání jsou běžně termistory s teflonovou trubičkou nebo pokryté epoxidovou vrstvou.

Pozistory (PTC termistory)

Jedná se o termistory s velkým teplotním součinitelem odporu. Jsou vyráběny z polykrystalické feroelektrické keramiky, jako je například tatiničitan barnatý. Odpor pozistoru při zvyšování teploty nejdříve mírně klesá, avšak po překročení určité teploty, tzv. Curierovy, strmě vzroste až o několik řádů, poté hodnota odporu opět mírně klesá [24]. Tento typ senzoru lze využít pro singalizaci překročení povolené teploty např. elektromotorů, kde jsou zabudovány přimo do vinutí. PTC termistor je taktéž možno využít k omezení proudu obvodem, kdy průchod většiho proudu způsobí ohřátí součástky, který má díky tomu vyšší odpor. Ovšem pro měření teploty je možné použít pozistory pouze v omezeném rozsahu teplot a jen pro orientační měření, jelikož průběh závislosti odporu na teplotě není většinou přesně definován rovnicí, ale je uveden pouze graficky, tudíž není možný přesný převod odporu na teplotu. [26]

Polovodičové monokrystalické senzory teploty

Monokrystalické snímače jsou vyráběny z křemíku, india nebo germania včetně jejich slitin. Mají nižší přesnost, avšak jsou vhodné pro konstrukce různých teploměrů, kde není kladen důraz na přesnost. Umožňují snímat teploty v rozsahu od -50 °C do +150 °C (pro senzor KTY10). Tyto snímače jsou v pouzdrech a jejich teplotní závislost je popsána rovnicí 2.13 a znázorněna na obr. 2.5. [45]

$$R(t) = R_{25}(1 + \alpha \Delta t + \beta \Delta t^2), \qquad (2.13)$$

kde Δt je t - 25 °C, R_{25} odpor při teplotě 25 °C, α, β koeficienty polynomu funkce.



Obr. 2.5: Průběh závislosti odporu na teplotě křemíkového senzoru KTY10-5, převzato z [45]

2.2.4 Monolitické PN senzory teploty

Polovodičové PN senzory pracují na principu teplotní závislosti napětí polovodičového přechodu v propustném směru. Mají rozsah od -55 °C do +150 °C. Mohou být buď ve formě diody nebo tranzistoru, u kterého se využívá přechodu báze-emitor. AV charakteristika přechodu pro dvě rozdílné teploty je zobrazena na obrázku 2.6. Při daném proudu tedy změně teploty odpovídá určitá změna napětí. Tento jev souvisí s rovnicemi pro PN přechod z rovnice 2.14 a 2.15. [24]

$$I_D = I_S \left(e^{\frac{U_D}{mU_T} - 1} \right), \tag{2.14}$$

kde U_D je napětí PN přechodu v propustném směru, I_S saturační proud PN přechodu v zavěrečném směru, I_D saturační proud PN přechodu v propustném směru, m rekombinační koeficient polovodiče ($1 \le m \le 2$), U_T teplotní napětí [$J \cdot C^{-1}$].

Pro napětí na PN přechodu platí vztah [24]

$$U_D = mU_T \ln\left(\frac{I_D}{I_S} + 1\right). \tag{2.15}$$

Teplotní napětí je závislé na teplotě dle vztahu

$$U_T = \frac{kT}{e},\tag{2.16}$$

kde k je Boltzmannova konstanta k=1,38 · 10^{-23} J · K, T termodynamická teplota [K], e elementární náboj $e = 1,602 \cdot 10^{-19}$ C.



Obr. 2.6: Vliv teploty na AV charakteristiku PN přechodu T1<T2, převzato z [45]

2.3 Vlhkoměry

Základní vlastností vzduchu je vlhkost, která udává, jaká je hmotnost vodní páry (voda v plynném skupenství – časová a poziční proměnlivost) nacházející se v určitém objemu vzduchu. Je zřejmé, že voda se do okolí nemůže vypařovat neustále. Z tohoto hlediska je možné rozlišovat dva typy vzduchu. Prvním typem je mokrý vzduch, ke kterému dochází v případě, že koncentrace par dosáhne určité hranice, takže počet vypařených molekul se rovná počtu molekul zkondenzovaných. V opačném případě může nastat stav suchého, když vzduch neobsahuje molekuly vody. [43]

Pro vyjádření vlhkosti plynu je nutno znát dvě základní stavové veličiny, tedy teplotu a tlak směsi a také tzv. vlhkostní veličinu. Touto veličinou může být veličina nezávislá na okolním plynu (např. hustota vodní páry neboli absolutní vlhkost, relativní vlhkost), dále také veličiny vyjadřující poměry vodní páry v závislosti na plynu v daném objemu (směšovací poměr, měrná vlhkost aj.) a v neposlední řadě veličiny odvozené z měření (teplota rosného bodu, teplota mezního adiabatického ochlazení apod.). Rosný bod je teplota, při které je vzduch maximálně nasycen vodními parami, tedy relativní vlhkost vzduchu dosáhne 100 %.

Pro vzájemné přepočty mezi jednotlivými vlhkostními veličinami lze při normálním tlaku plynu s chybou kolem 1 % používat stavovou rovnici ideálního plynu. Pro rozdílné tlaky vznikají přídavné chyby a je nutné používat vztahy obsahující kompresibilní faktory reálného plynu.

K měření vlhkosti plynů je pro provozní a meteorologické účely známo asi 20 principů. [11]

Vlhkostní veličiny

Směšovací poměr r je dán podílem hmotnosti m_v vodní páry a hmotnosti m_a suchého plynu. Nad hladinou vody se označuje r_w a nad hladinou ledu ledu r_i .

Další veličinou je měrná vlhkost q, která je vyjádřena jako podíl hmotnosti vodní páry m_v k celkové hmotnosti vlhkého plynu $m_v + m_a$ v daném objemu plynu.

Hustota vodní páry d_v nebo absolutní vlhkost je podíl hmotnosti vodní páry m_v k objemu vlhkého vzduchu V, tedy $d_v = m_v/V$. Termín absolutní vlhkost je z doby, kdy byla tato veličina používána pro ethanolové určování vlhkosti absorpčně gravitační metodou.

Veličina zvaná parciální tlak vodní pár
ye popisuje tlak, který má z celkového tlaku dané směsi vodní pára.

Tlak nasycené vodní páry v čisté fázi nad hladinou vody e_w a nad hladinou ledu e_i je funkcí pouze teploty. [11]

Teplota rosného bodu T_d [K] vlhkého plynu o teplotě T [K], celkovém tlaku plynu p a směšovacím poměru r je teplota, při které vlhký plyn izobaricky ochlazený se stane nasyceným. Platí [11]

$$(r)_{p,T} = (r_w)_{p,T_d}.$$
 (2.17)

Další veličina zvaná relativní vlhkost U_w vlhkého plynu je dána podílem molárního zlomku x_v vodní páry ve vzduchu při dané teplotě T a celkovém tlaku pvlhkého vzduchu k molárnímu zlomku x_{vw} nasycené vodní páry. Tedy relativní vlhkost je dána poměrem absolutní vlhkosti plynu k vlhkosti plynu s nasycenými párami za téže teploty a tlaku. Platí tedy [11]

$$U_w = (x_v \cdot x_{vw}^{-1})_{p,T} \cdot 100 \ [\%], \tag{2.18}$$

kde $x_v = n_v (n_v + n_a)^{-1}$ je molární zlomek vodní páry (x_{vw} je molární zlomek nasycené vodní páry), n_v je látkové množství vodní páry, $n_v + n_a$ je celkové látkové množství plynu.

2.3.1 Sorpční senzory vlhkosti

Tento typ senzorů je založen na změně fyzikálně-chemických vlastností materiálů v závislosti na rovnovážném stavu adsorpce a desorpce molekul vody z vodní páry.

Do této skupiny řadíme například známé vlasové vlhkoměry a také senzory odporové, kapacitní, polovodičové aj. [11]

Odporové (elektrolytické) senzory vlhkosti

Pro svoji funkci využívají závislosti elektrolytické vodivosti na adsorbované vodě u polymeru s nanesenou vrstvičkou elektrolytu, kterým může být například LiCl. [11]

Mikroelektronické kapacitní resp. odporové senzory vlhkosti

Principem je závislost impedance sorpčního materiálu na relativní nebo absolutní vlhkosti okolního plynu. Podle toho, která impedanční složka má větší citlivost na měřenou veličinu, lze tyto senzory rozdělit na odporové a kapacitní.

Mezi odporové senzory patří například senzor Al_2O_3 , jehož schéma je na obrázku 2.7. Na hliníkové elektrodě je několik µm silná vrstvička oxidu Al_2O_3 . Tato vrstva je překryta extrémně tenkou a vodní páru propouštějící zlatou vrstvou, která vytváří druhou elektrodu. Impedenace senzoru závisí na proměnné hodnotě R_1 na obrázku 2.7. Čím více vody se nahromadí v porézním materiálu, tím více odpor mezi dvěma elektrodami klesá. [11]



Obr. 2.7: Odporový senzor vlhkosti - vlevo vnitřní struktura, vpravo náhradní schéma (R_0 – základní svodový odpor mezi elektrodami, C_0 – základní svodová kapacita mezi elektrodami, R_2 – odpor mezi dny pórů a Al elektrodou, R_1 – odpor stěny pórů mezi Au elektrodou a dnem pórů), převzato z [11]

Kapacitní senzory jsou většinou založeny na změně kapacity kondenzátoru, u kterého je použito dielektrikum z hygroskopického materiálu, obvykle polymeru. Kondenzátor je zhotoven tak, aby bylo možno bezproblémové pronikání vlhkosti z okolního vzduchu do polymeru. Polymer je velice citlivý na změnu vlhkosti, se kterou dochází i ke změně jeho elektrických vlastností, což má vliv na kapacitu kondenzátoru, která je funkcí vzdušné vlhkosti. [11]

Polovodičový MOS senzor vlhkosti

Je založen na adsorpci vlhkosti v citlivé vrstvě PEO (polyetylenoxid), v níž jsou uloženy dvě hřebenově uspořádané elektrody. Jedna z nich je spojena s hradlem MOS tranzistoru. Připojí-li se na druhou elektrodu zdroj napětí, pak proud procházející mezi navzájem zapadajícími elektrodami vyvolá úbytek napětí na elektrodě spojené s hradlem a hodnota tohoto napětí řídí vodivost kanálu MOS tranzistoru. [11]

2.3.2 Absorpční LiCl elektrolytický senzor

Princip LiCl senzoru je založen na termodynamickém jevu. Ten říká, že parciální tlak vodní páry nad vodním roztokem solí je vždy menší než nad čistou vodou při stejné teplotě.

Senzor se skládá z nevodivé keramické trubičky, na které je nasazena tkanina. Tkaninou prochází dva drátky navinuté rovnoběžně na trubičku a tkanina je napuštěna solným roztokem LiCl. Drátky jsou připojeny ke střídavému proudu, který svým průchodem zahřívá elektrolyt napuštěný ve tkanině. Důsledkem zvýšené teploty se z elektrolytu odpařuje voda, tím se zvyšuje jeho koncentrace a zmenšuje elektrická vodivost. Začne klesat proud a s ním i teplota elektrolytu. S klesající teplotou začne tkanina naopak vzdušnou vlhkost absorbovat, tím se opět vodivost začne zvyšovat. Roste tedy proud a s ním i teplota. Rovnovážný stav vody obsažené v elektrolytu závisí na teplotě elektrolytu, která je pak funkcí parciálního tlaku vodních par obsažených v okolním vzduchu. Uspořádání senzoru je vidět na obrázku 2.8. Teplota elektrolytu se měří platinovým senzorem zasunutým do trubičky. [11]



Obr. 2.8: Uspořádání LiCl vlhkoměru (1 – platinový senzor, 2 – tkanina, 3 – elektrody), převzato z [11]

2.3.3 Psychrometr

Pro výpočet vlhkosti vzduchu se u tohoto typu senzoru využívá měření parciálního tlaku vodní páry v měřeném vzduchu a z něho vypočítaná relativní vlhkost se stanovuje z údajů dvou senzorů teplot tzv. mokrého (vlhčeného) a tzv. suchého senzoru. Suchý senzor nemá žádnou úpravu a měří skutečnou teplotu vzduchu t. Mokrý senzor je obalený textilií zvanou punčoška, která je nepřetržitě zvlhčována vzlínající vodou z pomocné nádoby. Odpařováním vody z mokrého senzoru se odebírá výparné teplo z jeho okolí, což způsobuje pokles teploty mokrého senzoru na hodnotu t_m . Čím menší je relativní vlhkost vzduchu, tím rychleji se voda z mokrého senzoru odpařuje a zvyšuje se tzv. psychrometrický rozdíl teplot $(t - t_m)$.

Přepočet na relativní vlhkost se u laboratorních psychrometrů provádí pomocí tabulek na základě psychrometrického rozdílu teplot. U číslicových psychrometrů s Pt senzory teploty nebo s termistory se provádí přepočet prostřednictvím zabudovaného mikroprocesoru, využívajícího psychrometrické tabulky zapsané v paměti. U méně přesných senzorů se dá k převodu použít empirických vztahů. [11]



Obr. 2.9: Psychrometrický senzor (M – motorek větráčku V, T_m – mokrý senzor teploty, T_s – suchý senzor teploty, P – vlhčená punčoška), převzato z [11]

2.3.4 Vlhkoměry na principu rosného bodu (zrcadlové)

Principem funkce je využití snížené odrazivosti světelného paprsku od kovového zrcadla při jeho orosení. Zrcadlo odráží paprsek z LED diody na optický snímač. Při orosení zrcadla se sníží množství odraženého světla. Elektrický obvod tuto změnu zaregistruje, vyhodnotí a pomocí regulátoru proudu řídí ochlazování zrcadla Peltierovým chladícím článkem tak, aby se teplota ustálila na hranici orosení, tedy na teplotě rosného bodu. Tato teplota se měří miniaturním odporovým nebo polovodičovým senzorem umístěným těsně pod středem zrcadla. Čištění zrcadla je automatické a je zajištěno vzduchovými filtry, avšak občas je třeba zrcadlo vyčistit manuálně. Indikace hraničního znečištění zrcadla je v moderních přístrojích zajištěna senzory. [11]

3 VLASTNÍ NÁVRH ZAŘÍZENÍ

3.1 Blokové schéma zařízení



Obr. 3.1: Blokové schéma navrhovaného zařízení

Popis schématu

Teplota v inkubátoru je snímána čtyřmi senzory Pt100 umístěnými v prostředí monoklimatické komory. Všechny senzory jsou zapojeny v tzv. Wheatstoneově můstku, který se skládá ze dvou větví připojených na stejnosměrný napájecí zdroj. Výstupní signál je třeba následně zesílit přístrojovým zesilovačem, aby mohl být přiveden na 10bitový AD převodník, který je integrován v jednotce mikrokontroléru (v tomto případě se jedná o platformu Arduino). Zde se provede výpočet aritmetického průměru ze všech čtyř hodnot, výsledná hodnota je porovnávána se zadanou odchylkou a na základě vyhodnocení je buď nastaven příznak vytápění komory h = 1, nebo jejího ochlazování, tj. h = 0, v = 1. Pokud je vytápění nastaveno na logickou jedničku, systém se vrací zpět do prostředí komory k teplotním senzorům, které opět přeměří teplotu prostředí, a celý proces se opakuje.

Vstupem řídící jednotky na straně uživatele je klávesnice, která slouží k manuálnímu zadání požadované teploty a tolerované odchylky. Výstupem pro uživatele je displej (LCD) zobrazující aktuální stav teploty prostředí uvnitř komory.

Popis jednotlivých bloků

Senzory Pt100

Platina je nejvíce používaným materiálem pro výrobu teplotních senzorů. Vyznačuje se chemickou netečností, časovou stálostí a vysokou teplotou tání. Měřící odpor, který tvoří základní konstrukční část senzoru, se vyrábí třemi způsoby – drátkovou, tenkovrstvou nebo tlustovrstvou technologií. Drátkový měřící odpor je tvořen spirálovitě stočeným platinovým drátkem o průměru 0,01 mm do 0,05 mm, zataveným do keramiky nebo případně do skla. Jiným uspořádáním je navinutý platinový drátek pertinaxové nebo slídkové podložce. [33] Ukázka senzoru Pt100 je na obr. 3.2.



Obr. 3.2: Ukázka senzoru Pt100, převzato z [29]

Jelikož se platinový drátek nebo platinový film dotýkají izolátoru, dochází k systematické chybě způsobené relativnímu délkovými změnami obou materiálu, protože

teplotní délková roztažnost platiny je jiná než teplotní roztažnost izolátoru. Systematická chyba má povahu hystereze a například u průmyslových měřících odporů dosahuje při teplotách nad 400 °C až \pm 0,25 °C. Pro metrologické účely se používá platina s čistotou vyšší než 99,999 %. Přímý tlak atmosféry způsobuje vlivem vodíku a oxidu uhlíku nestabilitu odporu platiny. Pro provozní teploměry se čistota platiny posuzuje podle tzv. redukovaného odporu W_{100} [11]

$$W_{100} = \frac{R_{100}}{R_0} \ge 1,385. \tag{3.1}$$

Podle mezinárodního doporučení IEC se platinové měřící odpory dělí do dvou tolerančních tříd. Třída A je určena pro rozsah teploty od -200 °C do 650 °C a třída B pro rozsah od -200 °C do 850 °C. Chyba při 0 °C je ve třídě A \pm 0,125 °C, tomu odpovídá \pm 0,06 Ω a \pm 0,25 °C, tedy \pm 0,12 Ω , ve třídě B. Standardní hodnotou Pt senzoru je 100 Ω při 0 °C, ale vyrábí se také Pt senzory 50, 200, 500, 1000 a 2000 Ω . Teplotní závislost odporu platinového čidla je znázorněna na obr. 3.3. Pro rozsah teplot od -200 °C do 850 °C platí pro teplotní závislost standardního měřícího odporu vztah již výše zmíněný v rovnici 2.7.



Obr. 3.3: Závislost odporu platinového čidla na teplotě, převzato z [24]

Wheatstoneův můstek

Teplotní senzory jsou zapojeny v tzv. Wheatstoneově můstku, což je metoda používaná pro převod odporu na napětí. Často se využívá při měření neelektrických veličin pomocí odporových senzorů. Rozvážení můstku je snadno rozpoznatelné a tato metoda má velice dobrou citlivost. Na obrázku 3.7 je znázorněno základní zapojení můstku se čtyřmi odporovými senzory.



Obr. 3.4: Základní můstkové zapojení čytř odporových senzorů [11]

Pro měření lze můstek provozovat ve dvou základních režimech:

- vyvážený můstek nulová metoda;
- nevyvážený můstek výchylková metoda.

Vyvážený můstek je vhodný k přesnému měření odporů, využívá se nulového stavu můstku, kde indikátorem zapojeným mezi diagonály můstku neteče žádný proud (nebo je mezi oběma body nulové napětí). Avšak pro spojitá měření změn odporů je tato metoda nepraktická.

Při provozním měření se používá výchylková metoda měření na nevyváženém můstku. Velikost napětí na diagonále můstku je mírou měřeného odporu. Pro výpočet napětí na diagonále můstku platí obecně vztah 3.2, ze kterého je evidentní, že převod mezi změnou odporu a napětím je nelineární. Nelinearita se projevuje hlavně pro větší rozsahy změna odporu, je nutno s ní počítat a výslednou hodnotu korigovat, což se dá provést analogově rozšířením zapojení o operační zesilovač nebo programově v mikrokontroléru. Průběh závislosti napětí určíme dosazením hodnot odporů při jednotlivých teplotách do vztahu 3.2. Tak získáme průběh, jehož koeficienty jsme schopni určit a korigovat jej programově stejně jako bychom korigovali nelinearitu samotného senzoru.

Výhodou můstkového zapojení je možnost nastavení průchodu průběhu nulou, což odpovídá vyváženému můstku. Vyvážení můstku se provádí změnou odporu. Lze jím také korigovat nepřesnost hodnoty odporu senzoru. Další výhodou tohoto zapojení je velká citlivost na změnu odporu. Ta je závislá na velikosti napájecího napětí a je dána poměrem odporů v můstku. Lze tedy odvodit, že můstek má nejvyšší citlivost pokud jsou všechny hodnoty odporu stejné. Přesnost měření závisí na citlivosti můstku, na přesnosti použitých senzorů a na stálosti nulové polohy. [45, 6]

$$U_{DB} = U_{AC} \left(\frac{R_T(t)}{R_T(t) + R_3} - \frac{R_2}{R_1 + R_2} \right),$$
(3.2)

kde U_{DB} je napětí na můstku, U_{AC} napájecí napětí můstku, $R_T(t)$ odpor senzoru při teplotě t, R_1, R_2, R_3 odpory můstku.
Můstková zapojení dosahují lepších parametrů, jsou-li napájena zdrojem proudu. Pro tento případ lze odvodit rovnici 3.3, která popisuje průběh napětí na výstupních svorkách můstku při změně odporu senzoru. Vztah je upraven za předpokladu rovnosti všech odporů můstku ve vyváženém stavu. Tak se docílí nejvyšší možné citlivosti. Budící proud musí být navržen s ohledem na požadavek velikosti proudu procházející senzorem.

$$U_{BD} = -I \frac{R(R_T(t) - R)}{R_T(t) + 3R},$$
(3.3)

kde I je budící proud můstku, R je definováno vztahem $R = R_1 = R_2 = R_3$.

Ze vztahu 3.3 lze přímo vypočítat závislost změny hodnoty napětí na teplotě senzoru. Vypočtené hodnoty budou použity pro potřeby linearizace.

Vliv na velikost výstupního napětí můstku mají také parazitní vlastnosti vedení, přechodové odpory a termoelektrické napětí, které může vzniknout na přívodech. Proto se konstruují vícevodičové nebo aktivní můstky, které se snaží tyto vlastnosti eliminovat. Podle počtu vodičů spojujících senzor s můstkem se setkáváme se zapojením:

- dvouvodičovým;
- třívodičovým;
- třívodičovým zapojením aktivního můstku;
- zapojením s volnou smyčkou;
- čtyřvodičovým zapojením.

Přístrojový zesilovač

Pro zesílení napětí můstku se využije nejlépe operační zesilovač zapojený jako rozdílový. Jedná se o aktivní prvek, který má využití v mnoha oblastech elektroniky. Ideální operační zesilovač má nekonečné zesílení bez ohledu na kmitočet, pro jednoznačné určení se bere nekonečná vstupní impedance a nulová výstupní impedance a neuvažují se žádné další nežádoucí vlivy. V podstatě se jedná o stejnosměrný zesilovač s velkým vstupním odporem, malým vlastním rušením a velkým rozdílovým zesílením. [30]

Řídící jednotka

Byla zvolena platforma Arduino, model Uno, využívající 8bitový mikrokontrolér Atmel ATmega328P o frekvenci 20 MHz s pamětí 32 KiB. Tato platforma plně vyhovuje požadavkům návrhu – analogové vstupy pro 4 senzory teploty, senzor tlaku a vlhkosti a digitální vstup pro enkodér. Dále poskytuje optimální výstup pro LCD a pulzně-šířkovou modulaci (dále již jen PWM) ventilátoru. [2]

Displej

V návrhu byl vybrán displej (LCD) 4 \times 16 znaků s řadičem, na němž se bude zobrazovat aktuální stav teploty a koncentrace jednotlivých plynů.

Vytápění

Inkubační komora bude vytápěna pomocí kaptonové polyimidové fólie o rozměrech 100×50 mm, připevněné na levé boční straně pláště. Jedná se o odporový prvek s konstantní hodnotu odporu po celé své ploše, čímž bude zajištěno rovnoměrné zahřívaní fólie a tím i komory.

Polyimidy se v oblasti dielektrických vlastností podobají silikonům. Mají špičkovou chemickou odolnost, odolávají široké řadě rozpouštědel, paliv a olejů. Také vykazují vysokou odolnost vůči kyselinám a zásadám. Netaví se, splňují nejvyšší třídu samozhášitelnosti UL94-V0. Fólie má taktéž vysokou tvarovou stálost a snese četné ohýbání.

Vzhledem ke své stabilitě při nízkých i vysokých teplotách se kaptonové polyimidové fólie používají v aplikacích, kde jsou jiné organické polymery nepoužitelné. Jsou také vysoce odolné vůči ultrafialovému záření, záření alfa, beta a gama a mohou tedy sloužit též jako ochrana polovodičových systému před zářením alfa. [23]

Ventilace

Ventilace komory pomocí ventilátoru o rozměrech 40×40 mm bude řízena PWM, aby bylo zabráněno příliš silnému proudění, které by mohlo mít za následek víření buněk v nekrytém preparátu.

3.2 Schéma menu



Obr. 3.5: Blokové schéma menu

Popis schématu

Na počátku má uživatel v menu tři možnosti – zobrazení aktuálních hodnot, nastavení požadovaných hodnot nebo vypnutí. Pokud zvolí aktuální hodnoty, vypíší se mu hodnoty teploty a koncentrace plynů, poté se vratí zpět. Po vstupu do nastavení se zobrazí nabídka nastavení teploty, koncentrace O_2 nebo CO_2 . Uživatel vybere jedno z nich, zadá požadovanou hodnotu a poté se vrátí zpět do nastavení, kde může provést další nastavení nebo odejít.

3.3 Řídící software mikrokontroléru

Po spuštění programu si uživatel v menu zvolí požadovanou teplotu p, tolerovanou odchylku Δ a koncentraci plynů. Následně se spustí nekonečný cyklus, kde ještě před samotným měřením možné změnit dříve nastavené proměnné. Stav teploty a koncentrací se zobrazí na LCD, začíná měření teploty pomocí čtyř teplotních čidel uvnitř komory. Aritmetický průměr těchto čtyř hodnot je porovnávám se zadanými hodnotami p a Δ , na základě čehož se buď spustí vytápění a ventilace, nebo pouze ventilace. Po vloženém zpoždění se proces vrací zpět, a pokud uživatel nezmění hodnoty proměnných, počítá znovu s těmi původně zadanými.

Vývojový diagram systému



Obr. 3.6: Vývojový diagram systému, p– požadovaná teplota zadaná uživatelem, Δ – tolerovaná odchylka od požadované teploty zadaná uživatelem

Vývojový diagram řízení teploty v komoře



Obr. 3.7: Vývojový diagram řízení teploty v komoře, p – požadovaná teplota zadaná uživatelem, Δ – tolerovaná odchylka od požadované teploty zadaná uživatelem

Vývojový diagram menu



Obr. 3.8: Vývojový diagram menu

3.4 Návrh konstrukčního řešení

3.4.1 Plášť

V návrhu se jedná o komoru ve tvaru kvádru s rozměry 10 cm \times 15 cm \times 5 cm. Dno komory je zhotoveno z křemenného skla – zde došlo ke změně oproti původním požadavkům laboratoře. Místo dvou skleněných jamek bude dno celé skleněné, a to z důvodu snadnější konstrukce a realizace. Tento typ skla byl zvolen kvůli možnosti snímání preparátů konfokálním mikroskopem, jelikož propouští ultrafialové záření.

Pro zbytek pláště byla v návrhu zvolena ocel Cr-Ni-Mo (AISI 316L), která je austenitická, korozivzdorná a má velmi nízký obsah uhlíku. Rovněž má zaručenou odolnost vůči mezikrystalové korozi. Pro své vlastnosti je velice vhodná pro stavbu chemických zařízení včetně tlakových nádob, také pro neoxidační prostředí obsahující silné organické či anorganické kyseliny při nižších koncentracích. Má zaručenu svařitelnost, ale je vhodná i k tváření za studena. Spojení skleněné desky dna a kovového pláště bude zajištěno bezbarvým silikonem. [22]

Na vrchní straně inkubátoru budou malá dvířka (průzor) z plexiskla, která budou opatřena gumovým těsněním. Na pravém boku zařízení bude umístěn externí box s elektronikou – kabeláž, řídící jednotka, elektromagnetické ventily. Tyto ventily jsou tři – první pro regulaci N₂, druhý pro regulaci CO₂ a třetí pro vypouštění přetlaku. Mimo tento box je pak umístěn tlakový senzor pro snímání aktuálního atmosférického tlaku mimo komoru inkubátoru. Na pravém boku zařízení budou taktéž dva otvory s gumovými hadičkami o průměru 4 mm pro injektování chemikálií do komory.

3.4.2 Komora

Na pravé vnitřní stěně komory budou umístěny senzory koncentrace O_2 a CO_2 s vývodem kabeláže přes otvory v plášti do již zmíněného externího boxu. Na zadní stěně bude v každém rohu jeden senzor Pt100 pro snímání aktuální teploty v komoře a samozřejmě také vlhkoměr a ventilátor pro nucenou cirkulaci vzduchu v komoře.

3.4.3 Vytápění

Vytápění inkubátoru bude zajištěno kaptonovou polyimidovou fólií o rozměrech 100 mm \times 50 mm, která bude těsně přiléhat na levou boční stranu zařízení.

3.4.4 Ventilace

Pro ventilaci v komoře byl zvolen bezkartáčkový ventilátor o rozměrech 40×40 mm, který bude ovládán pomocí PWM, aby nedošlo k příliš silnému proudění, které by mohlo mít za následek víření buněk nekrytého preparátu během kultivace.

4 REALIZACE ZAŘÍZENÍ

4.1 Mikrokontrolér

Ladění firmwaru zajišťujícího regulaci teploty a měření vzdušné vlhkosti probíhalo na mikrokontroléru Arduino Uno, avšak ke konečné realizaci zařízení byl použit model Mega z důvodu většího množství pracovních pinů. Podrobněji viz část 4.9 na str. 55.

4.2 Snímání teploty



Obr. 4.1: Zapojení části pro měření teploty

4.2.1 Měřící můstek pro senzory Pt100

Pro měření teploty byly použity senzory Pt100 z důvodu vyšší přesnosti oproti běžným digitálním senzorům. Více informací o zvoleném senzoru je uvedeno v části 3.1 na straně 34.

Teplotní senzor je zapojen ve Wheatstoneově můstku, trimr P1 slouží k vyvážení můstku při teplotě 0 °C. Tento způsob zapojení je shodný pro všechny (resp. oba) použité teplotní senzory. Původní návrh předpokládal využití 4 senzorů, což se v průběhu realizace ukázalo s ohledem na rozměry inkubátoru jako zbytečné, proto budou nakonec po dohodě s vedoucím práce senzory omezeny na 2.

4.2.2 Přístrojový zesilovač

Oba výstupy můstku (signály A,B) jsou přivedeny na vstup přístrojového zesilovače, který tvoří 4 zesilovače v jednom pouzdře IO1(A) – IO1(D). Schéma zapojení přístrojového zesilovače je na obr. 4.2, jedná se o doporučené zapojení výrobce. Signál A je přiveden na neinvertující vstup IO1(A), kde je se zesílením A = 1 přiveden na invertující vstup IO1(C). Signál na jeho vstup je přiveden přes dělič proti zemi. Signál B je přiveden stejně, pouze na neinvertující vstup IO1(C), dělič je však přiveden k IO1(D), který vytváří aktivní zem. Pomocí této, resp. trimrem P2, je možné doladit izolinii výstupu takto vytvořeného přístrojového zesilovače. Je-li můstek správně vyvážený, při 0 °C je hodnota na výstupu 0 V. Pokud se teplota zvyšuje, stoupá zároveň i odpor senzoru Pt100 nad 100 Ω , tudíž výstupní napětí bude při podmínkách použití inkubátoru (t > 0 °C) vždy větší než 0 V, což je vhodné pro digitalizaci hodnoty, viz níže.



Obr. 4.2: Zesílení signálu z můstku, převzato z [37]

Pro realizaci přístrojového zesilovače byl zvolen zesilovač TL064CP od firmy Texas Instruments (schéma na obr. 4.3), který má v jednom pouzdře všechny čtyři potřebné zesilovače, čímž se eliminují výrobní vady a ušetří se místo na nepájivém poli. Na dva napájecí piny je přivedeno symetrické napětí z DC/DC měniče, zbytek jsou samostatné zesilovače [37].



Obr. 4.3: Zapojení vývodů zesilovače TL064CP, převzato z [37]

4.2.3 Koncový zesilovač

V následujícím kroku je takto upravený signál přiveden na vstup IO3(A), resp. IO3(B) pro druhý senzor. Maximální změřená hodnota na výstupu IO1 byla při cca 70 °C kolem 7 mV, proto je hodnota zesílení $A_{IO3} = 500$, aby byl signál na výstupu určitě digitalizován v rozmezí 0 – 5 V, což je rozsah integrovaného ADC (vstup mikroprocesoru).

4.3 Vytápění

Po upřesnění rozměrů komory došlo ke změně způsobu vytápění oproti návrhu (viz str. 38, kaptonová polyimidová fólie). Konkrétně byl v závěrečné realizaci použit topný odporový prvek HT15W *Heating Cartridge*. Fólie by vzhledem k malým rozměrům nedosahovala dostatečného výkonu, zatímco *Heating Cartridge* je rozměrově malá (vypadá jako menší senzor Pt100) a představuje tak narozdíl od fólie téměř bodový zdroj. Stejně jako fólie vyniká svou účinností (téměř 100 %) a velmi malou setrvačností, což umožňuje přesněji regulovat teplotu v komoře.

Heating Cartridge bude umístěna na zadní stěně komory inkubátoru v blízkosti ventilátoru, aby byla zaručena lepší distribuce tepla. Napájecí napětí je v rozsahu 0 – 24 V, pro lepší regulaci teploty bude spínána v režimu PWM (viz strana 56, Fuzzy logika).

Schéma zapojení *Heating Cartridge* je na obr. 4.4. Vstupní část je tvořena připojením k mikrokontroléru, rezistorem R53 a bipolárním NPN tranzistorem typu BC337-25, jehož parametry jsou uvedeny v tabulce 4.1. Rezistor R53 má hodnotu 10 k Ω , ta byla stanovena na základě odvození ze zesílení tranzistoru $\beta \in (160; 400)$ a kolektorového proudu, jehož hodnota nepřesáhne 800 mA. Konkrétně byly použity vztahy pro výpočet bázového proudu I_B (4.1) a Ohmova zákona (4.2).

$$I_B = \frac{I_C}{\beta},\tag{4.1}$$

kde I_C je kolektorový proud při daném zesílení β neboli h_{21E} , které je uvedené v katalogovém listě ([7]).

$$R = \frac{U}{I_B},\tag{4.2}$$

kde U představuje napětí. Do rovnic byly dosazeny hodnoty z katalogového listu [7], a sice $\beta = 200, I_C = 100$ mA a U = 5 V.

Další část zapojení se skládá ze dvou rezistorů (R54, R55), bipolárního PNP tranzistoru typu BD138-16, jehož parametry jsou v tabulce 4.2.

Je-li na vstup T7, resp. na R53 přivedena logcká 1 (tedy na příslušném výstupu mikrokontroléru je 5 V), je tranzistor T7 otevřen. Proud přes R54 a R55 protéká do země a báze tranzistoru se díky děliči R54 a R55 přizemní, čímž se tranzistor T8 otevře a na *Heating Cartridge* je přivedeno napájecí napětí U = 12 V. Při log. 0 je T7 uzavřen a na bázi T8 je přivedeno přes R55 kladné napájecí napětí, čímž je tranzistor T8 uzavřen.



Obr. 4.4: Zapojení Heating Cartridge v obvodu

Max. napětí kolektor-báze [V] 50 Max. napětí kolektor-emitor [V] 45 Max. napětí emitor-báze [V] 5 I $_c$ max. proud kolektoru [mA] 800 P $_d$ úplný rozptyl zařízení [mW] 625 h $_{21E}$ proudový zesilovací činitel 160 400 Přechodová frekvence [MHz] 210 Pouzdro TO-92		
Max. napětí kolektor-emitor [V] 45 Max. napětí emitor-báze [V] 5 I_c max. proud kolektoru [mA] 800 P_d úplný rozptyl zařízení [mW] 625 h_{21E} proudový zesilovací činitel 160 400 Přechodová frekvence [MHz] 210 Pouzdro TO-92	Max. napětí kolektor-báze [V]	50
Max. napětí emitor-báze [V] 5 I_c max. proud kolektoru [mA] 800 P_d úplný rozptyl zařízení [mW] 625 h_{21E} proudový zesilovací činitel 160 400 Přechodová frekvence [MHz] 210 Pouzdro TO-92	Max. napětí kolektor-emitor [V]	45
I_c max. proud kolektoru [mA] 800 P_d úplný rozptyl zařízení [mW] 625 h_{21E} proudový zesilovací činitel 160 400 Přechodová frekvence [MHz] 210 Pouzdro TO-92	Max. napětí emitor-báze [V]	5
P_d úplný rozptyl zařízení [mW]625 h_{21E} proudový zesilovací činitel160 400Přechodová frekvence [MHz]210PouzdroTO-92	I_c max. proud kolektoru [mA]	800
h_{21E} proudový zesilovací činitel160 400Přechodová frekvence [MHz]210PouzdroTO-92	\mathbf{P}_d úplný rozp tyl zařízení [mW]	625
Přechodová frekvence [MHz]210PouzdroTO-92	h_{21E} proudový zesilovací činitel	160 400
Pouzdro TO-92	Přechodová frekvence [MHz]	210
	Pouzdro	TO-92

Tab. 4.1: Základní parametry bipolárního NPN tranzistoru BC337, převzato z [7]

Tab. 4.2: Základní parametry bipolárního PNP tranzistoru BD138, převzato z [8]

Max. napětí kolektor-báze [V]	60
Max. napětí kolektor-emitor [V]	60
Max. napětí emitor-báze [V]	5
I_c max. proud kolektoru [A]	1,5
\mathbf{P}_d úplný rozp tyl zařízení [W]	$12,\!5$
\mathbf{h}_{21E} proudový zesilovací činitel	$100 \dots 250$
Pouzdro	TO-126

4.4 Ventilace

V návrhu se počítalo s bezkartáčovým ventilátorem o rozměrech 40×40 mm, ovšem vzhledem k rozměrům komory a zbytečně velkému výkonu tohoto ventilátoru byl v realizaci použit kovový mikro ventilátor SEPA o rozměrech $10 \times 10 \times 2$ mm.

Jeho maximální průtok vzduchu je 0,76 l/min při 100% výkonu. Požadovaná hodnota průtoku vzduchu pro PWM, při které nedochází k víření buněk v nekrytém preparátu, je 0,2 l/min, což je asi 26 % výkonu, z čehož byla odvozena hodnota 25 % PWM. Vzhledem k tomu, že jednorázová výměna vzduchu v komoře by s tímto průtokem trvala cca 3,75 min, přistoupilo se po dohodě s konzultantem k trvalé nucené ventilaci řízené pomocí PWM se střídou 25 %, viz obr. 4.5.

Vzhledem k tomu, že napětí na výstupu mikrokontroléru je 5 V a napájecí napětí ventilátoru je 3,3 V, je ventilátor spínán prostřednictvím tranzistoru (viz T10 ve schématu v příloze A).



Obr. 4.5: Průběh PWM při hodnotě střídy 25 %, převzato z [5]

4.5 Display

Vzhledem k tomu, že je třeba zobrazovat aktuální hodnoty teploty, koncentrací plynů, vzdušné vlhkosti a současně vytvořit uživatelské rozhraní pro regulaci těchto parametrů, byl k tomuto použit LCD. Informace na něm zobrazované jsou číselného i textového charakter.V tomto bodě došlo k malému odklonění od návrhu, a sice místo znakového displeje 16 × 4 znaky byl použit displej o rozměrech 20 × 4 znaky s řadičem HD44780. Naprostá většina běžně dostupných znakových displejů obsahuje řídící obvod Hitachi HD44780 nebo některý z obvodů z něj odvozených. Velkou výhodou displejů s tímto řídícím obvodem je to, že se ovládají všechny stejným způsobem, třebaže jsou od různých výrobců. Obsluha tohoto řadiče spočívá v zápisu ASCII hodnot znaků na dané adresy v paměti řadiče. Pro spojení s řadičem LCD lze využít 4bitovou nebo 8bitovou komunikaci pro data a 3 piny pro řízení. Rychlejší je 8bitová komunikace, ovšem může zabrat až 11 pinů mikrokontroléru. Čtyřbitová komunikace je sice pomalejší, ale je snížen počet použitých pinů. Datový přenos mezi mikrokontrolérem a řadičem LCD je ovládán třemi signály:

- RS = 0 přenášejí se instrukce; RS = 1 přenášejí se data,
- RW = 0 zápis dat do LCD; RW = 1 čtení dat z LCD,
- E kladný impuls spouští komunikaci.

Byl zvolen LCD 20 × 4 znaky s typovým označením BC2004A. Je zapojen pomocí čtyř datových a dvou řídících vodičů RS a E. Vstup R/W je připojen k zemi vzhledem k tomu, že na displej se bude pouze zapisovat, takže není nutno jej vyvádět na mikrokontrolér. Displej je napájen 5 V ze zdroje, pin pro napájení je označen V_{DD}, též je zde možnost pro regulaci podsvícnení a jasu. Další zapojené piny (D4, D5, D6 a D7) představují datové sběrnice pro 4bitový formát dat. [14]

Ve vlastním menu je možno se pohybovat nahoru a dolů, šipka je indikátor aktivního řádku. Stisknutím potvrzujícího tlačítka se uživatel vnoří do jednotlivých položek v menu. Struktura menu je znázorněna v návrhu na obrázku 3.8.



Obr. 4.6: Zapojení LCD

4.6 Rotační enkodér

Uživateli bylo pro práci s nastavením hodnot teploty a plynů uvnitř inkubátoru vytvořeno jednoduché menu, ve kterém se bude pohybovat pomocí ovládacího prvku nahoru a dolů, stiskem potvrzení vstoupí do jednotlivých kategorií menu nebo se vrátí zpět do hlavní nabídky. Požadavky na takový jednoduchý a zároveň efektivní ovládací prvek splňuje právě enkodér. Rotační enkodér je inkrementální snímač polohy, tedy zařízení, které udává informaci o změně polohy hřídele a je schopno určit směr této změny (rotace). Jak již bylo řečeno, výhoda tohoto ovládání je v jeho jednoduchosti.

V závislosti na principu fungování enkodérů je lze rozlišit na optické a mechanické. Optických se využívalo například u kuličkových počítačových myší. Ovšem pro ovládání jednoduchých zařízení je vhodný rotační enkodér, který dosahuje citlivosti 20 až 30 impulsů na otáčku. Často je doplněn o potvrzovací tlačítko, takže obsahuje již tři ovládací prvky. Právě díky potvrzovacímu tlačítku je možné inkubátor ovládat pouze tímto jedním prvkem.

Mechanický enkodér pracuje na principu generování dvou obdélníkových průběhů, vzájemně fázově posunutých přibižně o 90°, jak je patrné z obrázku 4.7. Při aktivní hraně jednoho průběhu program procesoru určí stav druhého signálu a podle toho, jestli je v log. 1 nebo log. 0 přičítá nebo odečítá hodnotu pozice. Jeden výstup enkodéru je připojen na obecný vstupně/výstupní pin a druhý výstup je připojen na vstup vnějšího přerušení mikrokontroléru.



Obr. 4.7: Činnost rotačního enkodéru (vlevo rotace proti směru hodinových ručiček, vpravo rotace po směru hodinových ručiček, převzato z [25]

Ovšem otáčení enkodéru nemění pouze fázový posun dvou průběhů, ale mechanické kontakty uvnitř kodéru vytvářejí zákmity, které lze potlačit například použitím kondenzátorů. To je však třeba ošetřit i v softwaru, jinak by při ovládání zařízení vznikla spousta falešných impulsů, čimž by bylo efektivní ovládání prakticky znemožněno. Je tedy třeba nastavit určité časové zpoždění po vyhodnocení otočení enkodéru do další polohy, aby falešné impulsy nebyly vůbec zaznamenány. Jedinou nevýhodou tohoto opatření je vliv rychlosti, protože pokud pohyb v menu inkubátoru proběhne rychlým otočením o několik pozic, nemusí to být správně vyhodnoceno. Byl zvolen modul rotačního enkodéru typu KY-040, viz obr. 4.8 o rozměrech $30 \times 30 \times 20$ mm, rozsahu otáčení 360° a je napájen 5 V.



Obr. 4.8: Modul rotačního enkodéru KY-040, převzato z [34]

Schéma na obr. 4.9 znázorňuje zapojení enkodéru s kontaktem na potrzení k mikrokontroléru. Enkodér je zapojen mezi vstupem mikrokontroléru a zemí. Využívá se zapojení tzv. *pull-up* rezistorů (R14, R15, R16) s hodnotou 10 k Ω , kterou jsou součástí modulu enkodéru KY-040. *Pull-up* rezistor zajistí to, že hodnota napájecího napětí bude zachována na daném vstupu, čili tento rezistor způsobí to, že je na konkrétním vstupu vždy logická 1, která se v případě stalčení tlačítka změní na logickou 0. V zapojení jsou dále tzv. blokovací kondenzátory (C1, C2, C3), které potlačují zákmity při otáčení enkodérem nebo při detekci potvrzovacího kontaktu.



Obr. 4.9: Zapojení enkodéru v obvodu

4.7 Napájení

Celé zařízení je třeba napájet tak, aby byla energie dodávána do všech částí obvodu s konkrétními požadovanými hodnotami napětí a dostatečným výkonem. Mikrokontrolér, což je vlastně integrovaný obvod, obvykle vyžaduje napájení 5 V. V našem případě bude zařízení napájeno externím spínaným zdrojem. Tyto zdroje se vyrábí jako moduly a jejich výhodou oproti klasickým zdrojům jsou malé rozměry a vysoká účinnost. Předpokládaná celková spotřeba řídící části obvodu nepřekročí 200 mA. V rámci testování a ladění software bylo zařízení, kromě výkonové části, napájeno prostřednictvím USB, což vzhledem k malému maximálnímu proudovému odběru (500 mA) nezpůsobilo žádné potíže ani přetížení.

Pro napájení celého zařízení je použitý modulový spínaný zdroj se dvěma hodnotami výstupního napětí. Limitní požadavky zařízení jsou 5 V/500 mA a 12 V/1 A. Na základě těchto požadavků byl z dostupných variant zvolen zdroj RD-35A od firmy MEAN WELL [32], jehož základní parametry jsou uvedeny v tabulce 4.3. Výhodou tohoto zdroje je integrovaná ochrana proti přetížení, zkratu na výstupu a vstupnímu přepětí.

Výstupní napětí [V]	5/12
Výstupní proud [A]	4/1
Vstupní napětí AC [V]	88 až 264
Pracovní teplota [°C]	-25 až +70

Tab. 4.3: Základní parametry spínaního zdroje RD-35A, převzato z [32]

Použité operační zesilovače vyžadují symetrické napájení, proto byl do obvodu pro jeho získání přidán měnič napětí se dvěma polaritami výstupního napětí. Jmenovitá hodnota napájecího napětí zesilovače musí být větší než je zesilované napětí, aby nedocházelo k lineárnímu zkreslení. Zesilovaný signál je v rozmezí 0 V až 5 V, použitý měnič této podmínce vyhovuje. Konkrétně byl použit DC/DC měnič AM1D-0512DZ do firmy Aimtec s vstupním jmenovitým napětím 5 V a výstupním napětím ± 12 V pro napájení IO(1), resp. IO(2), a IO(3).

4.8 Vlhkoměr

V komoře musí být neustále vlhkost vzduchu vyšší než 95 %, což je snímáno a kontrolováno vlhkoměrem umístěným uvnitř komory. Případný pokles vlhkosti pod tuto hodnotu je signalizován.

Pro realizaci byl vybrán HTU21D Arduino modul pro měřenít teploty a vlhkosti, viz obrázek 4.10, ale je jím snímána pouze vlhkost. Je vyhovující svou velikostí (13 mm \times 10 mm) a vysokou přeností měření. Je schopen měřit realtivní vlhkost vzduchu v rozmezí 0 % až 100 % a jeho pracovní napětí je 1,5 V až 3,6 V. Má čtyři piny - dva pro napájení, jeden pro data(SDA) a druhý pro synchronizaci [16]. Zapojení vlhkoměru v obvodu je znázorněno na obr. 4.11.



Obr. 4.10: HTU21D Arduino modul pro měřenít teploty a vlhkost, převzato z [17]



Obr. 4.11: Zapojení modulu HTU21D v obvodu

4.9 Popis firmware

Zařízení je laděno na mikrokontroléru Arduino Uno, ale konečná realizace je na modelu Arduino Mega kvůli většímu počtu pinů. Firmware je napsán v jazyce Wiring, který je v současné době nejrozšířenější a kvůli jeho komplexnosti je již brán jako samostatný programovací jazyk. Arduino je ale rovněž možné Arduino programovat v jazyce C nebo C++.

Mikrokontrolér ATmega2560 (obr. 4.12) obsahuje výkonný mikroprocesor s malou spotřebou energie, pracující mezi 4,5 V a 5,5 V. Velikost datové RAM je 8 kB, velikost programovací paměti je 256 kB a šířka datové sběrnice je 8 bitů. Skládá se z 53 digitálních vstupně-výstupních pinů, zahrnující 4 hardwarové piny, 14 pinů pro PWM, rozhraní I²C a dále ještě 16 výstupních analogových pinů.



Obr. 4.12: Mikrokontrolér Arduino Mega, převzato z [3]

4.9.1 Řížení teploty a ventilace

Na samotném začátku je třeba nastavit port, ke kterému je zařízení připojeno (COMx). Nejdříve se definují proměnné pro PWM piny ventilátoru a *Heating Cartridge*, následně jsou nastaveny požadované parametry teploty v komoře a tolerované odchylky. Konstanta kalibrace se nastaví individuálně, dle použitých čidel.

```
#define PWM_ventilace 4
#define PWM_topeni 5
int pozadavek = 37.0;
int delta = 0.5;
const int kalibrace = 1;
```

V sekci void setup je poté definováno, že proměnné PWM_ventilace a PWM_topeni jsou výstupní. V části void loop, na jejímž začátku je zapnuta ventilace o průtoku vzduchu 0,2 l/min. Následně je ve smyčče volána funkce temp(), která z hodnot na teplotních senzorech vypočítá aritmetický průměr. V dalším rozhodování je průměrná teplota porovnávána s požadovanou a na základě toho je pomocí PWM režimu regulována ventilace a vytápění fuzzy logikou.

Vytápění je z důvodu přesnosti dosažené hodnoty řešeno fuzzy přístupem, tedy hodnota výkonu se dynamicky mění podle rozdílu aktuální teploty od teploty zadané. (Vzhledem k tomu, že teplota prostředí bude vždy nižší, než teplota v komoře, je fuzzy řízení použito při přiblížení zprava, teda od nižší teploty k vyšší nastavené.)

Ukázka programu s využitím fuzzy logiky je níže:

```
if ((pozadavek - prumer) < hranice){
    analogWrite(PWM_topeni,vykon_topeni);
    analogWrite(PWM_ventilace,vykon_ventilace);
}</pre>
```

přičemž nastavení výkonu je v následující tabulce (tab. 4.4).

Hranice Δ [°C]	vykon_topeni	vykon_ventilace	
> 10	255	255	
< 5	128 128		
< 2	64	128	
< 1	32	64	
< 0,5	0	64	

Tab. 4.4: Nastavení výkonu pro ovládání fuzzy logikou

V rozhodovacích blocích se na základě porovnání rozdílu aritmetického průměru a požadované teploty s tolerovanou odchylkou vyhodnotí situace a nastane jeden z šesti možných stavů. První stav je ten, že rozdíl požadované a naměřené teploty je v mezích odchylky - v tomto případě se pouze spustí ventilace. Pokud je naměřená teplota nižší než požadovaná, spustí se topení i ventilace, a pokud je vyšší, je spuštěna ventilace k ochlazení komory. Po uplynutí nastaveného zpoždění se vypne topení i ventilace a celý proces běží znovu.

4.9.2 Kontrola vlhkosti vzduchu

Relativní vlhkost vzduchu v komoře je snímána vlhkoměrem HTU21D.

Vlhkoměr používá knihovnu od výrobce. Senzor není třeba kalibrovat. Proces běží v rámci cyklu měření teploty, tedy stále. Vlhkost je měřena pomocí funkce humidity(), která je volána v průběhu cyklu. Pokud vlhkost klesne pod 95 %, bude to signalizováno na LCD.

4.9.3 Menu a ovládání

Nedílnou součástí firmwaru je i uživatelské menu. Uživateli se zobrazuje na LCD a pohybuje se v něm pomocí rotačního enkodéru, jehož princip byl již nastíněn v části 4.6 na straně 51. V následujícím textu bude popsána softwarová funkce enkodéru s potvrzovacím kontaktem.

Pokud enkodér vykoná rotační pohyb, jeho výstup během jedné periody generuje 4 různé stavy signálů A a B, označené kombinací 0 a 1, jak je patrné z obr. 4.13. Na základě analýzy těchto stavů je určen směr rotace enkodéru. Vrchní část obrázku 4.13 zobrazuje rotaci enkodérem po směru hodinových ručiček a spodní část zobrazuje rotaci proti směru hodinových ručiček. Stav signálů A a B v daném čase je reprezentován dvojčíslím (*2-bit gray code*, kde 0 značí úroveň *LOW* a 1 úroveň *HIGH*. Stav 00 tedy značí, že oba generované signály (A, B) jsou na úrovni *LOW*, v opačném případě, tedy 11, se oba signály nachází na úrovni *HIGH*, obdobně je pro zbylé dvě kombinace.



Obr. 4.13: Výstup rotačního enkodéru, převzato z [42]

Pro správnou funkci rotačního enkodéru je tedy klíčové správné rozpoznání změny polohy. Toto lze zajistit pomocí tzv. přerušení, což je softwarová funkce attachInterrupt, která může mít více podob v závislosti na změně parametrů funkce. V programu pro ovládání menu je použita doporučená syntaxe pro tuto funkci, která má 3 parametry. První parametr představuje přerušovací číslo, tedy použití digitalPinToInterrupt(PIN), kde proměnná *PIN* vždy zastupuje připojený digitální pin pro přerušení. Druhý parametr je funkce, která se volá, pokud dojde k přerušení – funkce aktualizaceEnkoderu(). Třetí parametr definuje spouštění přerušení. Byl použit režim *CHANGE* zabezpečující spouštení přerušení kdykoliv je na pinu přerušení registrována změna hodnoty. Jedná se tedy o funkci, která při zaznamenání změny na přerušovacích pinech způsobené enkodérem zavolá externí funkci. Činnost hlavního programu je během přerušení pozastavena.

```
attachInterrupt(digitalPinToInterrupt(A),
aktualizaceEnkoderu, CHANGE);
attachInterrupt(digitalPinToInterrupt(B),
aktualizaceEnkoderu, CHANGE);
attachInterrupt(digitalPinToInterrupt(T),
aktualizaceEnkoderu, CHANGE);
```

K zabezpečení vyhodnocení změny je třeba, kromě stisku potvrzovacího kontaktu, také informace o stavu signálů A a B – **posledniZakodovani**. Tyto informace slouží ke správnému vyhodnocení směru otáčení enkodéru. Aktuální hodnoty konkrétních pinů signálů A a B jsou získány pomocí funkce **digitalWrite()**.

```
int signalA = digitalRead(A);
int signalB = digitalRead(B);
```

Další část programu zajistí spojení aktuální hodnoty signálu A a signálu B za sebou a následné spojení s jejich předcházející hodnotou.

```
int prevod = (signal << 1) | signalB;
int AB = (posledneZakodovani << 2) | prevod;</pre>
```

Na základě takto získaného čtyřčíslí (předchozí a aktuální stav signálů) je určen směr rotace enkodéru. Rotace po směru hodinových ručiček je definována čtyřčísly 1110, 1000, 0001, 0111 a rotace proti směru hodinových ručiček pak kombinacemi 1101, 0100, 0010 a 1011. Když je určen směr rotace, zavolá se funkce **reakce()**, která zajistí určení aktuální pozice na aktuálně zobrazené straně menu a následně je zavolána funkce **menu()** sloužící k zobrazovaní příslušných textů na displeji. Menu se skládá ze 6 základních stran. Hlavní a úvodní část zobrazuje výchozí možnosti výběru, a sice aktuální stav hodnot, možnost nastavení požadovaných parametrů a také možnost vypnutí inkubátoru. Ve strukturách menu se uživatel pohybuje pomocí enkodéru, aktuální pozice je signálizována ukazatelem ->. Jedno pootočení enkodérem odpovídá nárůstu (po směru hodinových ručiček) nebo poklesu (proti směru hodinových ručiček) proměnné **aktualniPozice**. Ta určuje pozici na aktuálním řádku menu, kterou signalizuje ukazatelem. Displej má 4 řádky a po překročení této hodnoty rotací po směru hodinových ručiček je uživatel směrován zpět na první řádek. Pokud je aktuální pozice rovna 1 a zároveň se otočí enkodérem proti směru hodinových ručiček, ukazatel aktuální pozice se přesune na poslední řádek displeje.

- 1. Aktuální hodnoty
 - Teplota
 - Koncentrace O₂
 - Koncentrace CO₂
 - Zpět
- 2. Nastavení
 - Nastavení teploty
 - Nastavení O₂
 - Nastavení CO₂
 - Zpět
- 3. Vypnutí

Nastavení obsahuje nastavení teploty a koncentrací plynů, každý parametr se reguluje pomocí enkodéru v obou směrech, kdy inkrement/dekrement hodnoty je ± 0.5 , což je standardní regulační přesnost komerčně dostupných inkubátorů. Regulace je omezena z obou stran hranicí, za kterou nelze jít. Podle zadání by mělo být možné regulovat teplotu v rozmezí 20 °C až 40 °C, avšak při teplotě nad 39 °C dochází k denaturaci buněk, proto je v komoře umožněno nastavit teplotu 20 °C až 39 °C. U koncentrace kyslíku se běžně v praxi používá rozpětí 3 % až 21 %, proto je to použito i v této realizaci. V případě oxidu uhličitého je možná regulace koncentrace mezi 1 % a 5 %. Když uživatel dokončí nastavení parametrů, po stisku potvrzovacího tlačítka se volby uloží a je možné dále pokračovat v procházení menu. Každá stránka, kromě úvodní, obsahuje možnost návratu na předchozí stránku pomocí výběru ZPĚT.

Pokud je zvolena možnost vypnutí zařízení, chod programu se ukončí a na displeji se objeví instrukce pro celkové vypnutí zařízení.

4.10 Konstrukce vlastního zařízení

Na základě návrhu a podkladů ze semestrálního projektu bude vytvořena inkubační komora o rozměrech $156 \times 106 \times 52 \text{ mm}$ s tloušťkou stěny 2 mm.

Plášť komory bude zhotoven z Cr-Ni-Mo nerezové oceli dle návrhu (viz obr. 4.14), dno bude tvořeno deskou z křemičitého skla o rozměrech $150 \times 100 \times 5$ mm, které bude s pláštěm spojeno silikonovým těsněním. Vrchní stěnu inkubátoru budou tvořit dvířka z plexiskla o rozměrech 136×86 mm, tudíž jsou na každé straně 10 mm od kraje z nerezové oceli. Jsou upevněné pomocí matek a taktéž utěsněné silikonovým tesněním. Dvířka budou plně odnímatelná, aby byla umožněna co nejpohodlnější manipulace se vzorky buněčných kultur.

Boční stěny inkubátoru jsou vyhrazeny pro elektromagnetické ventily, senzory tlaku a koncentrace plynů. Na zadní stěně budou tedy umístěny senzory Pt100, *Heating Cartridge* a kovový mikro ventilátor. Také zde bude senzor vlhkosti, který bude signalizovat případný pokles pod požadovanou hodnotu relativní vzdušné vlhkosti.



Obr. 4.14: Nákres komory inkubátoru

5 EXPERIMENTÁLNÍ OVĚŘENÍ NÁVRHU

Ověření řídícího firmwaru proběhlo na modelu komory 1 se stejnými rozměry, jako má finální nerezová komora.

Hned první testy ukázaly, že použití jedné *Heating Cartridge* (dále je HC) vede k velmi pomalému ohřevu, dokonce je u chladnějšího okolí problém temperovat zadanou teplotu. Pro rychlejší ohřev a stabilnější temperování je tedy možné použít napájecí napětí $U_{HC} = 24$ V nebo více topných těles. Vzhledem k tomu, že v realizaci byl navržen napájecí zdroj se jmenovitým výstupním napětím 12 V s dostatečným výstupním výkonem, byla po dohodě s vedoucím práce zvolena varianta dvou těles. Tato varianta je již uvedena ve schématu v příloze A na str. 71.

Testování probíhalo v laboratoři za pokojové teploty, tj. cca $\tau_p \doteq 24$ °C. Nejprve byl testován ohřev z pokojové teploty na zadanou, v daném případě $\tau_z = 38$ °C, kdy došlo k vyhřátí prostředí do necelých 5 minut. Ohřev na maximální teplotu (ze zadání práce 40 °C) trval 330 s. Průběh ohřevu je vyobrazen v grafu na obrázku 5.1.



Obr. 5.1: Graf závislosti teploty na čase při ohřevu

V další fázi testování bylo měřeno temperování na zadané teplotě. Záznam z temperování je v tabulce 5.1, kde pro doplnění spodní řádek představuje stavy výstupu spínajícího HC. Grafické znázornění hodnot je v grafu na obr. 5.2. Oscilace teploty

 $^{^{1}}$ Jedná se fyzicky o stejný model, na kterém bylo v paralelně řešené práci testováno udržování atmosféry, tudíž bylo řízení ovládáno samostatným mikrokontrolérem stejné platformy.

byla v rozsahu $\Delta \tau \in \langle 37,4;38,2 \rangle$ °C, přičemž překmit směrem nahoru (nad 38 °C) způsobila patrně setrvačnost teplotních senzorů.

$t_0 [s]$	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
$ au_{38}$	37,7	37,5	37,4	37,5	37,7	38,0	38,2	38,0	37,7	37,5
TOPENÍ	OFF	ON	ON	ON	ON	OFF	OFF	OFF	ON	ON

Tab. 5.1: Závislost teploty na čase při temperování



Obr. 5.2: Graf závislosti teploty na čase při temperování

ZÁVĚR

Téma této práce vzniklo na základě požadavku laboratoře biofyziky na temperovanou monoklimatickou komoru s možností monitorování a řízení teploty, monitorování a řízení koncentrace O_2 a CO_2 a monitorování vlhkosti vzduchu. Komora bude využita především při dlouhodobém pozorování buněk pod konfokálním mikroskopem. Konkrétním úkolem této práce byla část věnující se teplotě a vlhkosti, tedy navrhnout a následně realizovat zařízení odpovídající zadaným parametrům umožňující snímání a regulování teploty. Dle zadání by mělo být možno regulovat teplotu v rozsahu 20 °C až 40 °C s přesností $\pm 0,5$ °C.

V první části práce je popsána obecně kultivace buněk a kultivace *in vitro*, následně je vysvětlen postup přípravy kultury, izolace buněk pěstovaných v kultivačních nádobách a rozdělení buněčných kultur. Jsou zde popsány podmínky pro přežití buněčné kultivace a využití kultivace v různých oblastech. Pro řešení důležitou částí práce je stanovení parametrů požadovaného zařízení zadaných laboratoří bioyziky.

Další část se věnuje jednotlivým snímaným veličinám, konkrétně principu senzorů, rozdělení senzorů podle různých hledisek a jejich základní charakteristiky. Podrobněji jsou rozepsány principy senzorů pro snímání teploty a následně odporových teplotních senzorů, jelikož tyto byly zvoleny pro snímání teploty uvnitř monoklimatické komory. Dále jsou zde popsány vlhkoměry a jejich rozdělení na základě principu měření.

V realizační části je již vlastní návrh zařízení, tedy blokové schéma systému včetně popisu jednotlivých bloků a objasnění jejich funkce. Dále je řešen i návrh firmwaru pro mikrokontrolér, jehož součástí jsou vývojové diagramy systému a samotný řídící software. Na závěr je diskutován návrh konstrukčního řešení komory.

Výsledkem bakalářské práce návrh inkubátoru, schéma zapojení řídící elektroniky a firmware pro mikrokontrolér. Z důvodu zdržení výroby nerezového inkubátoru proběhlo testování navrženého řešení na modelu komory z 3D tiskárny. Model inkubátoru je vyobrazen na fotografii v příloze C.1 na straně 73.

S ohledem na dosažené výsledky lze konstatovat, že zadání práce bylo splněno.

LITERATURA

- [1] AM1D-0512DZ: Katalogový list měniče napětí. In: Aimtec [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: http://www.aimtec.com/site/Aimtec/files/Datasheet/HighResolution/AM1D-Z.pdf>.
- [2] Arduino: Arduino Board Uno [online]. [cit. 2015-12-10]. Dostupné z: <https: //www.arduino.cc/en/main/arduinoBoardUno>.
- [3] Arduino: Arduino Board Mega ADK [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <https://www.arduino.cc/en/Main/ArduinoBoardMegaADK>.
- [4] Arduino: attachInterrupt() [online]. [cit. 2016-04-08]. Dostupné z: <https: //www.arduino.cc/en/Reference/AttachInterrupt>.
- [5] Arduino: PWM [online]. [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: <https://www. arduino.cc/en/Tutorial/PWM>.
- [6] BARTUŠEK, Karel. Měření v elektrotechnice. 2., přeprac. a dopl. vyd. Brno: VUTIUM, 2010, 212 s. ISBN 978-80-214-4160-6.
- BC337-25: Katalogový list NPN tranzistoru od firmy Vigan In: GME [online]. [cit. 2016-04-08]. Dostupné z: <http://www.gme.cz/img/cache/doc/ 210/018/bipolarni-tranzistor-bc337-25-datasheet-1.pdf>.
- [8] BD138-16: Katalogový list PNP tranzistoru od firmy Vigan In: GME [on-line]. [cit. 2016-04-08]. Dostupné z: http://www.gme.cz/img/cache/doc/211/008/bipolarni-tranzistor-bd138-16-datasheet-1.pdf>.
- [9] Buněčné a tkáňové kultury [online]. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VFU Brno, 2014. [cit. 2015-11-07]. Dostupné z: <http://mmp.vfu.cz/ opvk2014/?title=teorie-bunecne_a_tkanove_kultury&lang=cz>.
- [10] DAVIS, J. Basic cell culture: a practical approach. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2002, xxv, 381 p. ISBN 0199638535.
- [11] ĎAĎO, Stanislav a Marcel KREIDL. Senzory a měřicí obvody. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství ČVUT, 1996, 315 s. ISBN 80-01-01500-9.
- [12] Dynamické vlastnosti senzorů [online]. Ústav mikroelektroniky FEKT VUT v Brně. [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: <http://www.umel.feec.vutbr.cz/ ~adamek/uceb/DATA/s_1_3_2.htm>.

- [13] GREPLOVÁ, Marta. Buněčné kultury a produkce rekombinantních proteinů [online]. Centre of the Region Haná for Biotechnological and Agricultural Research, Olomouc, 2015. [cit. 2015-12-29]. Dostupné z: <http://www.molbio. upol.cz/stranky/vyuka/BAM/03.%20Bunecne_kultury.pdf>.
- [14] HD44780U: Katalogový list LCD-II od firmy Hitachi [online]. [cit. 2016-04-15]. Dostupné z: <https://cdn-shop.adafruit.com/datasheets/HD44780. pdf>.
- [15] HRUŠKA,F. Senzory. Fyzikální principy,úpravy signálů, příklady použití. Učební texty. 2.vyd. Zlín: UTB ve Zlíně, září 2011, s.202. ISBN 978-80-7454-096-7.
- [16] HTU21D: Katalogový list vlhkoměru [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://cdn.sparkfun.com/datasheets/BreakoutBoards/HTU21D.pdf>.
- [17] HTU21D: Humidity and Temperature Sensor [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: https://www.sparkfun.com/products/12064>.
- [18] HUBÁLEK, Jaromír. Elektrochemické mikrosenzory: Electrochemical microsensors: zkrácená verze habilitační práce.. Brno: VUTIUM, 2008, 30 s. ISBN 9788021437647.
- [19] HUSÁK, Miroslav. Mikrosenzory a mikroaktuátory. Vyd. 1. Praha: Academia, 2008, 540 s. Gerstner. ISBN 978-80-200-1478-8.
- [20] HY 10A03A-ST: Katalogový list mikro ventilátoru od firmy SEPA [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.produktinfo.conrad.com/ datenblaetter/175000-199999/189484-da-01-de-MIN_RADIALLUEFTER_ 10X10X2_2MM_3_3VDC.pdf>.
- [21] IANTCHEVA, A., M. VLAHOVA, A. ATANASSOV, A. S. DUQUE, S. ARAÚJO, D. F. DOS SANTOS a P. FEVEREIRO. Cell suspension cultures [online]. Medicago truncatula handbook, 2006. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: <http://www.noble.org/global/medicagohandbook/pdf/cellsuspensioncultures.pdf>.
- [22] INOX, spol s. r. o.: Nerezová ocel 1.4404 Tabulka norem [online]. [cit. 2015-12-21]. Dostupné z: http://www.inoxspol.cz/nerezova-ocel-14404.html>.
- [23] Kapton, kaptonové polyimidové lepicí pásky, folie, maskovací terče, topné folie [online]. [cit. 2015-12-10]. Dostupné z: http://web.elchemco.cz/KAPTON. php>.

- [24] KREIDL, Marcel. Měření teploty: senzory a měřící obvody. 1. vyd. Praha: BEN
 technická literatura, 2005, 239 s. Senzory neelektrických veličin. ISBN 80-7300-145-4.
- [25] MASLAN, S. Použití rotačních enkodérů. In: Elektronika kvalitně [online]. [cit. 2016-04-22]. Dostupné z: <http://elektronika.kvalitne.cz/ATMEL/ necoteorie/tutorial/RotaryEncoder/RotaryEncoder.html>.
- [26] Měření teploty polovodičové odporové senzory teploty [online]. HW.cz. [cit. 2016-04-15]. Dostupné z: <http://vyvoj.hw.cz/>.
- [27] MOSELEY, J. Alexis Carrel, the man unknown. Journey of na idea. Journal of the American Medical Association, 244(10): 1119-21, Sept. 1980.
- [28] PEETERS, C. M. M., et al. Safety of intra-articular cell-therapy with cultureexpanded stem cells in humans: a systematic literature review. Osteoarthritis and Cartilage, 2013, 21(10): 1465-1473.
- [29] Přesné čidlo Pt teplotní Heraeus W-EYK 6 100online]. [cit. 2016-12-20]. Dostupné \mathbf{z} : <http://www.conrad.cz/ presne-teplotni-cidlo-heraeus-w-eyk-6-pt-100-40-az-500-c. k172412>.
- [30] PUNČOCHÁŘ, Josef. Operační zesilovače v elektronice. 5. vyd. Praha: BEN technická literatura, 2002, 495s. ISBN 80-7300-059-8.
- [31] RAÏCH-REGUÉ, Dalia; GLANCY, Megan; THOMSON, Angus W. Regulatory dendritic cell therapy: From rodents to clinical application. Immunology letters, 2014, 161(2): 216-221.
- [32] RD-35A: Katalogový list spínaného zdroje od firmy MEAN WELL [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.gme.cz/img/cache/doc/ 751/243/spinany-zdroj-mean-well-rd-35a-datasheet-1.pdf>.
- [33] RIPKA, Pavel. Senzory a převodníky. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2005, 136 s. ISBN 80-01-03123-3.
- [34] Rotační enkodér, modul pro Arduino [online]. [cit. 2016-04-22]. Dostupné z: <http://www.easyduino.cz/Rotacni-enkoder-modul-pro-Arduino-d120. htm?tab=description>.
- [35] Senzory v mechatronických soustavách [online]. Informační web nejen pro žáky oboru strojírenství – mechatronika. [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: <http:// mechmes.websnadno.cz/dokumenty/pri-mn-s-10_senzory_uvod.pdf>.

- [36] Statické vlastnosti senzorů [online]. Ústav mikroelektroniky FEKT VUT v Brně. [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: <http://www.umel.feec.vutbr.cz/ ~adamek/uceb/DATA/s_1_3_1.htm>.
- [37] Texas Instruments: TL064, Katalogový list zesilovače [online]. [cit. 2016-05-15]. Dostupné z: <http://www.ti.com/product/TL064/datasheet/ applications_and_implementation>.
- [38] Thorlabs: HT15W, Katalogový list Resistive Cartridge Heater [online]. [cit. 2016-05-10]. Dostupné z: <http://www.thorlabs.de/thorcat/14000/ HT15W-SpecSheet.pdf>.
- [39] U.S. Sensor [online]. C2010 [cit. 2016-03-30]. NTC Thermistor. Dostupné z: <http://www.ussensor.com/prod_Probes_NTC.html>.
- [40] VAN PHAM, Phuc, et al. Good manufacturing practice-compliant isolation and culture of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. Journal of translational medicine, 2014, 12(1): 1-10.
- [41] VEJRAŻKA, Martin. Buněčné kultury [online]. Podklady z předmetu Molekulární medicína a biotechnologie, přednáška č. 6. Ústav lékařské biochemie, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze. [cit. 2015-12-29]. Dostupné z: <http://bioprojekty.lf1.cuni.cz/3381/sylaby-prednasek/ textova-verze-prednasek/bunecne-kultury-vejrazka.pdf>.
- [42] Vlastnosti modulù MicroUnit serie [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: http://www.tedia.cz/produkty/microunit-spolecne-vlastnosti.html).
- [43] Vlhkost vzduchu [online]. Katedra Fyziky PřF OU. [cit. 2015-12-12]. Dostupné
 z: <http://artemis.osu.cz/Gemet/meteo2/vlhkost.htm>.
- [44] VOKURKA, Martin a Jan HUGO. Velký lékařský slovník. 9., aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, 2009, xv, 1159 s. Jessenius. ISBN 978-80-7345-202-5.
- [45] VOŽDA, Michal. Mikroprocesorem řízené měření a regulace teploty: diplomová práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 65 s. a XV s. příloh. Vedoucí práce byl Ing. Jiří Sekora.
- [46] WAPPLER, Jessica, Björn RATH, Tanja LÄUFER, Axel HEIDENREICH a Katrin MONTZKA. Eliminating the need of serum testing using low serum culture conditions for human bone marrow-derived mesenchymal stromal cell expansion [online]. BioMedical Engineering OnLine, 2013. [cit. 2015-11-12].

Dostupné z: <http://www.biomedical-engineering-online.com/content/ 12/1/15>.

- [47] WILSON, Jon S. Sensor technology handbook: theory, design, and implementation. Boston: Elsevier, c2005, ix, 691 p. Engineering. ISBN 07-506-7729-5.
- [48] Základní parametry senzorů [online]. Ústav mikroelektroniky FEKT VUT v Brně. [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: <http://www.umel.feec.vutbr.cz/ ~adamek/uceb/DATA/s_1_3.htm>.

SEZNAM PŘÍLOH

A	Elektrické schéma zapojení	71
в	Rozpiska součástek	72
С	Model inkubační komory	73

PŘÍLOHY

A ELEKTRICKÉ SCHÉMA ZAPOJENÍ



Obr. A.1: Kompletní elektrické schéma zapojení

B ROZPISKA SOUČÁSTEK

Součástka	Hodnota/Typ	Pouzdro	Poznámka
R14 - R16, R29, R32 - R35,			
R42, R45 -R48, R53	$10 \text{ k}\Omega$	R1206	
R27, R40	100 Ω	R1206	
R28, R41	9 kΩ	R1206	
R30, R31, R36, R37, R43,			
R44, R49, R50	$100 \text{ k}\Omega$	R1206	
R38, R51	1 kΩ	R1206	
R39, R52	$500 \text{ k}\Omega$	R1206	
R54	470 Ω	R1206	
R55	8 kΩ	R1206	
R56	$20 \text{ k}\Omega$	R1206	
C1, C2, C3	22 nF	C1206	Keramický, SMD
Pt100(1), Pt100(2)	100 Ω		Teplotní senzory
P1, P3	1 k2		trimr
P2, P4	$1 M\Omega$		trimr
T8, T10	BC337-25	TO92	
Т9	BD138-16	T126	
HEATER1, HEATER2	HT15W		Topné prvky
IC8	KY-404		Rotační enkodér
IC9			Arduino Mega ADK
IC10	HTU21D		Vlhkoměr
DIS1	HD44780		LCD 20x4 s řadičem
PWS1	AM1D-0512DZ		DC/DC měnič
IO1, IO2	TL064P	DIL14	OZ
IO3	TL062P	DIL8	OZ
C MODEL INKUBAČNÍ KOMORY



Obr. C.1: Ukázka testovacího modelu inkubační komory