ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA ELEKTROTECHNICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studium expozice modelových organismů Candida albicans a Deinococcus radiodurans korónovému výboji

2011 Lukáš Koudela

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vypracoval samostatně a že jsem uvedl veškeré použité informační zdroje v souladu s Metodickým pokynem o dodržování etických principů při přípravě vysokoškolských závěrečných prací.

V Praze dne _____ _____

podpis

Poděkování

Děkuji především vedoucímu bakalářské práce MUDr. Ing. Vítězslavu Kříhovi Ph.D., který mi svým vedením a cennými radami během konzultací a pokusů s mikroorganismy velmi pomohl. Uvedl mě do tématu fyziky plazmatu a lékařské mikrobiologie zapůjčením odborných publikací z těchto oborů.

Poděkování rovněž patří pracovníkům Ústavu imunologie a mikrobiologie 1.LF UK za vstřícnost při vědecké spolupráci, zejména panu Doc. RNDr. Jaroslavu Julákovi CSc..

Nakonec chci poděkovat kolegům z výzkumného týmu, jmenovitě Janu Boháči a Bc. Karolu Bujáčkovi za asistenci při pokusech a jejich vyhodnocování.

Abstrakt

Tato bakalářská práce s názvem „Studium expozice modelových organismů Candida albicans a Deinococcus radiodurans korónovému výboji“ zkoumá účinek korónového výboje na modelové organismy, jimiž jsou Candida albicans (kvasinky) a Deinococcus radiodurans (bakterie) nanesené v agaru.

V první kapitole je nastíněné vědecké zařazení a základní vlastnosti mikrobiologických organismů Candida albicans a Deinococcus radiodurans. U bakterie Deinococcus radiodurans se práce zaměřuje i na její rezistenci vůči radioaktivnímu záření a obnovení DNA po skončení jeho působení.

Teoretická část bakalářské práce popisuje fyzikální teorie a laboratorní soustavu, která je určena pro pokusy s korónovým výbojem. Fyzikální část pojednává o teorii korónového výboje a jeho realizaci v laboratorním prostředí. Dále popisuje rozdíl mezi termálním a netermálním plazmatem. Laboratorní část zachycuje současný stav a způsob použití laboratorní soustavy, na které probíhají tyto pokusy.

Hlavní část práce se zabývá sestrojením modulárního měřícího přístroje pro měření elektrických veličin během pokusů s korónovým výbojem. Měřící přístroj je sestrojen na základě mikroprocesoru PIC18F4550, který dovoluje rozšíření o další funkce v průběhu následujícího vývoje. Pro tento mikroprocesor byl navržen firmware v jazyce C, v práci je umístěna hlaví část vývojového diagramu a firmware je na přiloženém CD.

Použitý mikroprocesor digitalizuje data z vysokonapěťové sondy a zasílá je přes USB port do měřícího softwaru v PC. V softwaru probíhá z přijatých hodnot vlastní přepočet na napětí (nebo proud) a jejich výpis do boxu, který je dovoluje uložit do textového souboru. Tento software byl vytvořen objektově v prostředí DELPHI a je na přiloženém CD.

Abstract

This bachelor thesis entitled "Corona discharge exposure of model organisms Candida albicans and Deinococcus radiodurans study". Conquest explores the effect of corona discharge in model organisms, which are Candida albicans (yeast) and Deinococcus radiodurans (bacteria) deposited in the agar.

The first chapter deals with the scientific classification and basic characteristics of microbiological organisms Candida albicans and Deinococcus radiodurans. The bacterium Deinococcus radiodurans, the work focuses on the resistance to radioactive radiation and recovery of DNA at the end of his tenure.

The theoretical part describes the physical theory and laboratory system, which is designed for experiments with corona discharge. The physical part deals with the theory of corona discharge and its implementation in a laboratory environment. It also describes the difference between thermal and non-thermal plasma. The laboratory part shows the current status and how to use the laboratory system, which carried out the experiments.

The main part of the thesis he built a modular measuring instrument for measuring electric variables during experiments with corona discharge. The instrument was constructed based on the PIC18F4550 microcontroller, which allows the extension of additional features over the next evolution. For the firmware of the microprocessor was designed in C language, the work head is placed a flowchart of the firmware on the CD.

Used microprocessor digitizes the data from the probe high voltage and sends it via the USB port into the measuring software on your PC. The software is received from the intrinsic conversion of the voltage (or current) and a listing of the box which allows you to store a text file. This software was created object in the environment of Delphi and is on the CD.

České vysoké učení technické v Praze
Fakulta elektrotechnická

Katedra řídicí techniky

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student: **Lukáš Koudela**

Studijní program: Elektrotechnika a informatika (bakalářský), strukturovaný
Obor: Kybernetika a měření

Název tématu: **Studium expozice modelových organismů Candida albicans a Deinococcus radiodurans korónovému výboji**

Pokyny pro vypracování:

1. Seznamte se se základními pojmy fyziky netermálního plazmatu, specifiky plazmatu korónového výboje a aparaturou pro studium dekontaminačních účinků netermálního plazmatu.
2. Prostudujte si a prakticky nacvičte základní postupy při kultivaci mikroorganismů na polotuhých živných médiích, seznamte se s modelovými organismy C. albicans a D. radiodurans
3. Navrhněte a zrealizujte modulární programovatelný systém měření elektrických parametrů korónového výboje pro studium dekontaminačních účinků plazmatu.
4. Vytvořte uživatelskou příručku k měřícímu systému

Seznam odborné literatury:

[1] Bednář, M. a kol.: Lékařská mikrobiologie. Marvil, Praha, 1996
[2] Julák, J.: Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie. Karolinum, Praha, 2003
[3] Raizer, P.Y.: Gas Discharge Physics. Springer-Verlag, Berlin, 1997, ISBN 3-540-19462-2
[4] Julák, J.; Kříha, V.; Scholtz V.: Corona Discharge: A Simple Metod of its Generation and Study of its Bactericidal Properties. Czechoslovak Journal of Physics, 56(2), B1333-B1338, 2006

Vedoucí: MUDr.Ing. Vítězslav Kříha, Ph.D.

Platnost zadání: do konce zimního semestru 2011/2012

prof. Ing. Michael Šebek, DrSc.
vedoucí katedry

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE Fakulta elektrotechnická
L.S.

prof. Ing. Boris Šimák, CSc.
děkan

V Praze dne 19. 11. 2010

Obsah

Úvod **1**

1 Mikrobiologická část **2**
1.1 Candida albicans . . . 2
1.1.1 Vědecké zařazení . . . 2
1.1.2 Genom . . . 2
1.1.3 Patogenita . . . 3
1.2 Deinococcus radiodurans . . . 4
1.2.1 Vědecké zařazení . . . 4
1.2.2 Historie . . . 4
1.2.3 Odolnost vůči záření . . . 5
1.3 Použití mikrobiologických organismů v rámci výzkumu . . . 7

2 Fyzikální část **8**
2.1 Korónový výboj . . . 8
2.1.1 Realizace korónového výboje . . . 9
2.1.2 Wartburgův zákon . . . 10
2.2 Průraz vzduchu . . . 10
2.2.1 Statické průrazné napětí . . . 11
2.2.2 Paschenův zákon . . . 11
2.3 Plazma . . . 11
2.3.1 Netermální plazma . . . 11

3 Popis laboratorní soustavy **13**
3.1 Soustava jako celek . . . 14
3.2 Vysokonapěťový zdroj . . . 14
3.3 Stojan s nastavováním polohy . . . 15
3.3.1 Mikroposuvník s jehlou . . . 16
3.4 Přípravek pro uložení vzorku . . . 16
3.5 Motůrek a ovládací část . . . 17
3.6 Další použité části . . . 18
3.6.1 Petriho miska . . . 18

4 Návrh modulárního měřícího přístroje **19**
4.1 Co vedlo k sestrojení měřící části . . . 19
4.2 Zapojení měřící části . . . 21
4.2.1 Schéma měřící části . . . 22
4.3 Firmware Mikroprocesoru . . . 23
4.4 Vývojový diagram . . . 25

4.4.1 Main a Inicializace 25
4.4.2 Proces IO 26

5 Návrh softwarové části **29**
5.1 Program jako celek 29
5.2 Vývojový diagram 32
5.2.1 Start programu 32
5.2.2 Operace po stisku tlačítka 33

6 Závěr **36**

Seznamy **38**
Seznam příloh 38
Obsah přiloženého CD 39
Seznam obrázků 41
Seznam tabulek 42

Literatura **43**

Úvod

Studium expozice modelových organismů Candida albicans a Deinococcus radiodurans korónovému výboji je velice zajímavé téma, které se zkoumá ve spolupráci Fakulty elektrotechnické ČVUT a 1.lékařské fakulty UK pod vedením Doc. RNDr. Jaroslava Juláka CSc. a MUDr. Ing. Vítězslava Kříhy Ph.D.

Mým úkolem v rámci této práce je proniknout do problematiky, jak z fyzikálního, tak z mikrobilogického hlediska a nakonec sestrojit měřící přístroj elektrických veličin.

Práce je rozdělena na pět částí:

1. **Mikrobiologická část** - Základní popis obou zadaných organismů, jejich zajímavosti a zařazení.

2. **Fyzikální část** - Popis a realizace koronového výboje a jevy, které se k němu váží. Popis plazmatu a rozdíl mezi termálním a netermálním plazmatem.

3. **Popis laboratorní soustavy** - Obrazově zdokumentovaný popis aparatury.

4. **Návrh modulárního měřícího přístroje** - Popis stavu měření elektrických veličin, návrh měřícího přístroje na bázi mikroprocesoru PIC18F4550 a firmwaru.

5. **Návrh softwarové části pro ukládání dat v PC** - Návrh programu pro zpracování dat v PC. Tento program ovládá měřící přístroj přes sběrnici USB a z přijatých hodnot vypočítá elektrické veličiny.

Závěr práce hodnotí výsledky vývoje přístroje, i jeho případné nedostatky a vylepšení v rámci budoucího vývoje.

Součástí práce jsou i následující dokumenty v sekci příloh:

- Příručka ovládání měřícího přístroje
- Kompletní schémata pro sestrojení měřícího přístroje
- Seznam součástek
- Fotodokumentace pokusu na modelových organismech

Příručka ovládání měřícího přístroje je zjednodušený popis pro snažší pochopení zapojení a použití měřícího přístroje.

Kapitola 1

Mikrobiologická část

V této kapitole popíši mikrobiologické organismy, které jsou zadané pro zkoumání účinků korónového výboje. Jsou to Candida albicans (druh kvasinky) a Deinococcus radiodurans (bakterie).

1.1 Candida albicans

Candida albicans je druh kvasinky, který se u lidí projevuje jako ústní nebo genitální infekce. Tato infekce může být u lidí i příčinou úmrtí, v případě, že daný člověk má sníženou imunitu (např. vlivem chemoterapie).
Bylo zjištěno, že se ve zdravotnických zařízeních může vytvářet biofilm na povrchu implantabilních zdravotnických prostředků.
Candida albicans patří mezi střevní mikroflóru (organismy, které žijí v lidském zažívacím traktu). Za normálních okolností žije Candida albicans v těle 80% lidí bez škodlivých účinků. [1] [2]

1.1.1 Vědecké zařazení

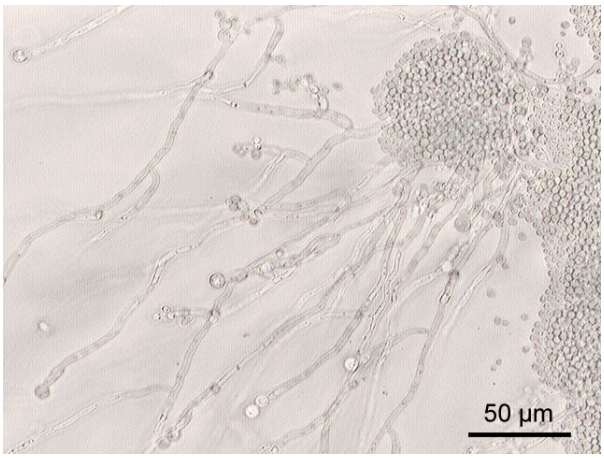
Říše	houby (Fungi)
Oddělení	houby vřeckovýtrusné (Ascomycota)
Řád	kvasinkotvaré (Saccharomycetales)
Čeleď	kvasinkovité (Saccharomycetaceae)
Rod	kandida (Candida)
Binomické jméno	Candida albicans

Tabulka 1.1: Tabulka zařazení Candida albicans

1.1.2 Genom

Candida albicans má zajímavou vlastnost a tou je nepravidelná délka a struktura jejích chromozomů. Příčinou je polymorfismus [1] délky chromozomů, translokace některých částí,

[1] Polymorfismus - existence dvou nebo více variant genů najednou, např. u lidí odlišné RH faktory krve



Obrázek 1.1: Candida albicans - zvětšená pod mikroskopem [3]

chybějící nebo naopak přebývající chromozomy. Tyto chromozomy umožňují numerický a strukturální chromozonální přestavby jako prostředek vytváření genetické rozmanitosti. Tyto karyotypické [2] změny vedou ke změnám fenotypu [3], což je strategie adaptace této houby. [1] Tato houba se rozmnožuje velice rychle (v řádech desítek hodin), když je vhodné prostředí.

1.1.3 Patogenita

C.albicans je podmíněně patogenní houba; vyvolává onemocnění u lidí s oslabenou imunitou (diabetes mellitus, malignity, léčba kortikoidy, antibiotiky, cytostatiky). Primárním obranným mechanismem je fagocytóza [4].
Faktory patogenity:

- invazivita - germinací se uvolňují z fagocytů
- proteináza - keratolytický účinek
- mananprotein - adhezin

[4]

[2]Karyotyp - soubor všech chromozómů v jádře buňky

[3]Fenotyp - soubor všech pozorovatelných vlastností a znaků živého organismu. Představuje výsledek spolupůsobení genotypu a prostředí, čili to, jak organismus v daném znaku (znacích) skutečně vypadá. Zjednodušeně Fenotyp = genotyp + prostředí

[4]Fagocytóza - proces pohlcování pevných částic z okolního prostředí buňkami

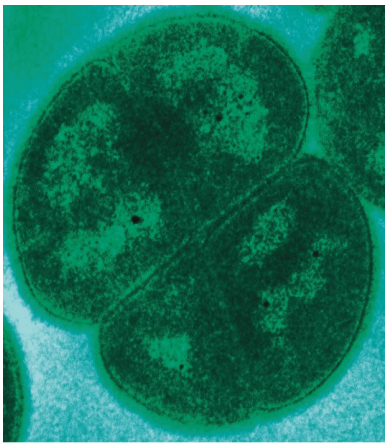
1.2 Deinococcus radiodurans

Tato bakterie je pro náš výzkum velice zajímavá z důvodu vysoké odolnosti vůči radioaktivnímu záření. Porovnání dávky záření, kterou přežije člověk a Deinococcus radiodurans, je mnohonásobně rozdílné. Pro člověka je smrtelná dávka záření udávaná už kolem 5 Gy (většinou se udává 10 - 20 Gy) [5] , naproti tomu Deinococcus radiodurans je schopná přežít dávku okolo 15 000 Gy.

1.2.1 Vědecké zařazení

Říše	Bakterie
Kmen	Deinococcus-Thermus
Zařazení	Deinococcales
Skupina	Deinococcus
Druh	D. radiodurans
Binomické jméno	Deinococcus radiodurans

Tabulka 1.2: Tabulka zařazení Deinococcus radiodurans



Obrázek 1.2: Deinococcus radiodurans [5]

1.2.2 Historie

Bakterie Deinococcus radiodurans byla objevena Arturem W.Andersnem v roce 1956 v Oregon Agricultural Experiment Station v Corvallis, Oregon.

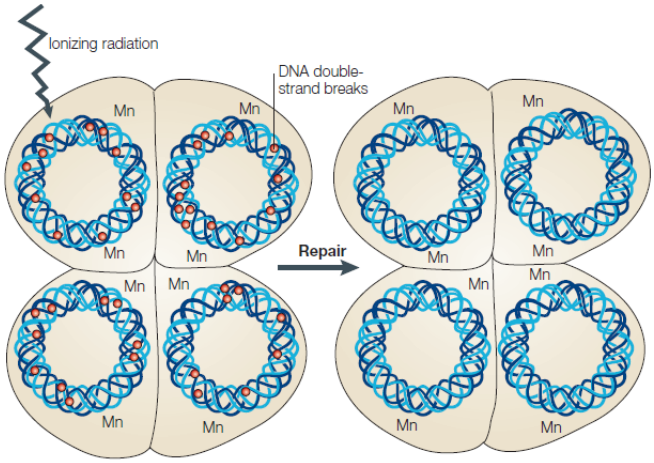
Bakterie byla objevena v rámci experimentu, kdy se zjišťovalo, zda-li jde použít gama záření (o intenzitě 4 000 Gy) pro sterilizaci jídla. Plechovka masa byla vystavena radiaci, která by zabila jakékoliv do té doby známé typy života, ale maso se zkazilo. Během tohoto pokusu byl Deinococcus radiodurans izolován. Autor jej nejdříve nazval Micrococcus radiodurans, protože myslel, že patří do kategorie Micrococcus.

[5] Gy - gray, jednotka absorbované dávky záření, energie ionizujícího záření absorbovaného v 1 kg látky. 1 Gy = 1 J/kg. Gray vyjadřuje energii absorbovaného ionizujícího záření, nikoliv jeho účinky na daný organismus.

Z následného výzkumu, který probíhal během následujících 30 let, bylo zjištěno, že patří do bakterií. Název genu, Deinococcus, vychází z Řeckého slova „Deinos“, které znamená „Divný“,„Neobvyklý“ nebo „Zvláštní“. Kompletní DNA sekvence Deinococcus radiodurans byla publikovaná TIGR [6] v roce 1999. Detailní anotace a analýza genomu byla zveřejněná roku 2001. Linie sekvence byla označena ATCC BAA-816.
[5] [6]

1.2.3 Odolnost vůči záření

Deinococcus radiodurans má unikátní vlastnost, kdy může obnovit primární i sekundární šroubovici DNA[7].



Obrázek 1.3: Obnovení struktury DNA po pominutí působení záření na bakterii [6]

Když buňka zjistí mutaci, přenese ji do oddělené kruhovité struktury, kde je DNA opravena, a potom je schopna spojit nukleotidy pocházející mimo oddělený úsek s poškozenou DNA. Deinococcus radiodurans je schopen „přežít“ okamžitou dávku až do 5 000 Gy bez ztráty životaschopnosti a okamžité dávky záření až do 15 000 Gy s 37% životaschopností. Odhadem dávka 5 000 Gy způsobí několik stovek kompletních chyb do DNA struktury organismu. Pro porovnání rentgen hrudníku [8] nebo mise Appolo zahrnuje zhruba 1 mGy, 10 Gy je schopno zabít člověka (Některé zdroje udávají smrtelnou dávku až 20 Gy, většinou se uvádí 10 - 20 Gy), 60 Gy zabije E. coli [9] a přes 4 000 Gy zabije radiačně odolný Tardigrade neboli Želvušky.

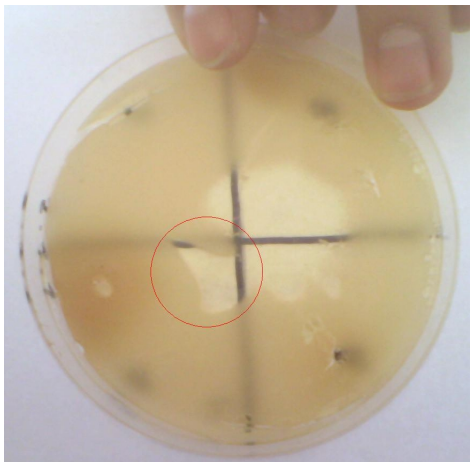
V dnešní době je známo několik bakterií se srovnatelnou resistencí vůči radiaci. Jako příklad některé druhy Chroococcidiopsis (kmen sinice) a některé druhy Rubrobacter (kmen Aktinobakterie - půdní bakterie), mezi bakteriemi Archea (rozsáhlá skupina jednobuněčných organismů) je to druh Thermococcus gammatolerans, který vykazuje srovnatelnou odolnost vůči radioaktivitě jako D. radiodurans.

[6] The institut for genomic research
[7] zkratka z anglického názvu Deoxyribonucleic acid česky deoxyribonukleová kyselina
[8] z anglického X-ray
[9] Escherichia coli (zkráceně E. coli)je fakultativně anaerobní gramnegativní bičíkatá tyčinkovitá bakterie žijící v tlustém střevě teplokrevných živočichů. Je jedním z nejdůležitějších zástupců střevní mikroflóry a její přítomnost je nezbytná pro správný průběh trávicích procesů ve střevě.[7]

Deinococcus radiodurans navíc od ostatních bakterií, které prokazují rezistivitu vůči radioaktivnímu záření, má také unikátní schopnost si opravit DNA. Poškozenou část izoluje v kontrolovaném pásmu a opraví ji. Navíc k tomu může opravit mnoho malých fragmentů z celého chromozónu. [5] a [6]

1.3 Použití mikrobiologických organismů v rámci výzkumu

Candida albicans je pro náš výzkum zajímavá díky svým vlastnostem a výskytem, popsáno v „viz. Teoretický úvod - Mikrobiologická část kapitola: 1.1 na straně 2.“ Svým výskytem a rychlostí množení je zajímavé sledovat, jak na ní působí korónový výboj. Působení bodového výboje, která se stočil do drátku je názorně vidět na obrázku 1.4



Obrázek 1.4: Candida albicans po pokusném bodovém pusobení výboje, stočeného do drátku. Agar je ozařován a „bombardován“ nabitými částicemi (Foto - záznam laboratorního pokusu 2.1.1 - s3c)

Motivace pro použití Deinococcus radiodurans pro náš výzkum je popsána v „viz. Teoretický úvod - Mikrobiologická část kapitola: 1.2 na straně 4.“. V dnešní době je mnoho věcí sterilizováno za pomoci ionizujícího záření v řádech kGy, proto je důležité hledat slabá místa odolných mikrobiologických organismů.

Během laboratorních pokusů bylo zjištěno, že Deinococcus radiodurans je velmi málo odolný vůči sterilizaci za pomoci korónového výboje viz. obrázek 1.5

Obrázek 1.5: Deinococcus radiodurans po pokusném bodovém pusobení výboje do agaru (Foto - záznam laboratorního pokusu 2.2.1)

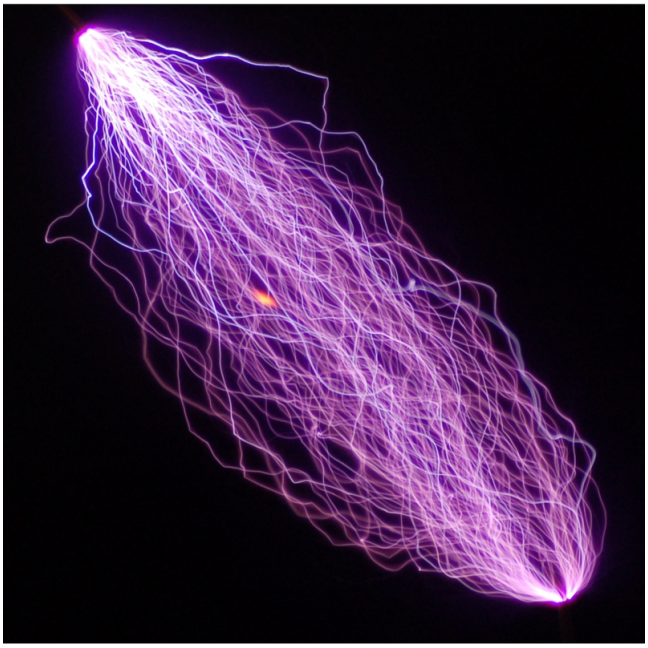
Kapitola 2

Fyzikální část

Tato kapitola pojednává o fyzikální teorii potřebné k pochopení pokusů. Nelze zde popsat všechno dopodrobna, proto doporučuji citované publikace.

2.1 Korónový výboj

Druh elektrického výboje v plynech. Vzniká na ostrých hranách elektrod, kde je díky malému poloměru křivosti generováno silné elektrické pole. Samotný výboj hoří jen v okolí těchto hran a dále do prostoru se elektrický náboj přenáší jen za pomoci volných nosičů náboje bez další ionizace a emise záření. Korónový výboj může před bouřkou vznikat na ostrých hranách střech nebo hromosvodů jako tzv. Eliášův oheň. Vzniká také na sloupech vysokého napětí, kde slyšíme jeho projevy jako známé sršení.[11]



Obrázek 2.1: Detail bipolárního koronového výboje v laboratorních podmínkách [10]

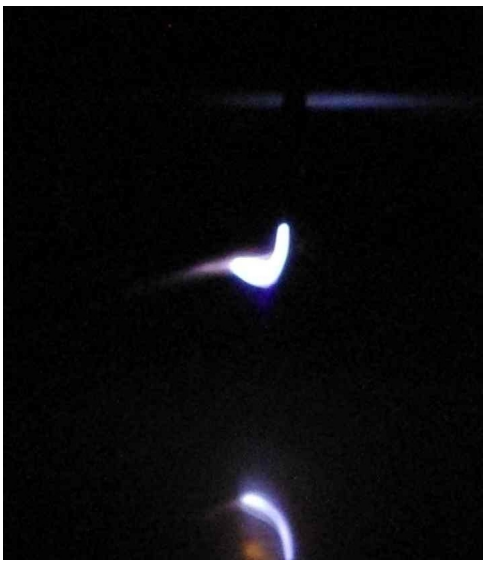
2.1.1 Realizace korónového výboje

Korónový výboj bývá obvykle realizován za pomoci tenkého drátku jako jedné elektrody a druhá elektroda bývá realizována jako plošná. Jedná se o tzv. „point to plane“ korónový výboj.

V případě našich laboratorních pokusů je korónový výboj realizován za pomoci injekční jehly [1] s konosem černé barvy o rozměrech $(s \times d)$ $0,7$ mm$\times$30 mm nebo jehly s růžovým konosem o rozměrech $(s \times d)$ $1,25$ mm$\times$40 mm. [2] Hrot injekční jehly zajistí dostatečně malý povrch na špičce a použitý materiál (nerez. ocel) zajistí dobře vodivou elektrodu pro potřeby našich laboratorních pokusů.

Druhou (plošnou elektrodu) zajišťuje agar [3] s nanesenými koloniemi bakterií „viz. Teoretický úvod - Bakteriologická část kapitola: 1 na straně 2.“ v Petriho misce „viz. Další použité části kapitola: 3.6.1 na straně 18“.

Jednosměrný „point to plane“ korónový výboj hořící za atmosférického tlaku ve vzduchu je jedním z nejjednodušších zdrojů netermálního plazmatu „viz. Netermální plazma: 2.3.1 na straně 11“. Tento zdroj netermálního plazmatu má nízké pořizovací i provozní náklady a má baktericidní účinky viz. [13].
Jednoduchost a ostatní vlastnosti činí tento korónový výboj použitelným jako modelový typ pro školní a experimentální výzkum baktericidních vlastností netermálního plazmatu. [13]

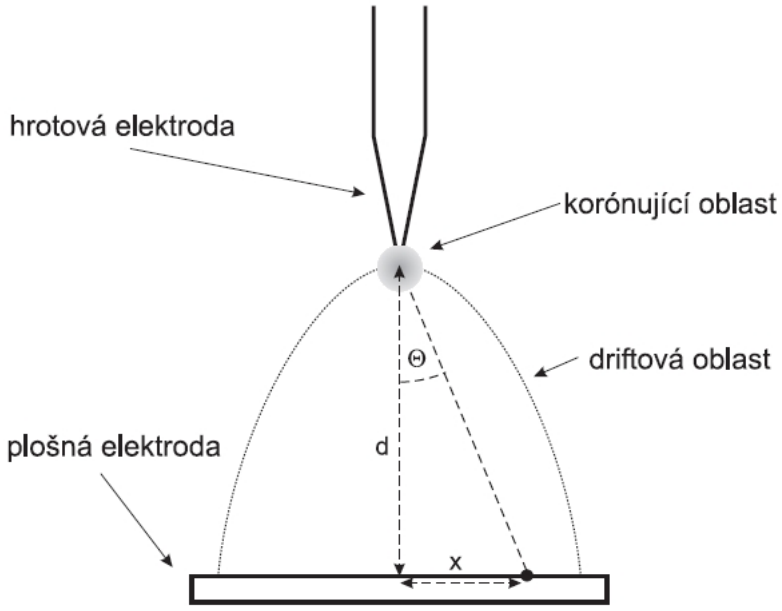


Obrázek 2.2: Detail koronového výboje v laboratorních podmínkách při pokusu na mikroorganismu Candida albicans. Na obrázku je patrné stočení výboje do třetí elektrody (drátku rovnoběžného s agarem) a osvětlení plochy agaru.

[1] Injekční jehla je označení pro dutou jehlu, která se používá v lékařství

[2] Barevné označení jehel a jejich šířka jsou standartyzovány podle ČSN EN ISO 6009 identická s normou EN ISO 6009:1994

[3] Agar je přírodní polysacharid s vysokou gelující schopností, vyráběný z červených mořských řas. Používá se pro kultivaci mikroorganismů.



Obrázek 2.3: Schéma stejnosměrného negativního koronového výboje typu „point to plane“. Kolem hrotové elektrody se nachází malá ionizační oblast vysoké intenzity elektrického pole, postačující na spuštění lavinové ionizace a vzniku iontů a volných elektronů. Mimo tuto malou oblast se nachází v prostoru mezi elektrodami poměrně velká oblast driftu s nízkou intenzitou elektrického pole [13]

2.1.2 Wartburgův zákon

Proudové rozložení na rovinné elektrodě je možné popsat níže uvedeným vztahem zvaným Wartburgův zákon.

$$j(r,d) = j_0 cos^5\theta, \quad \theta < 65^\circ$$
$$j_0 \approx \frac{I}{2d^2}$$

Kde *j(r,d)* je proudová hustota $tan(\theta) = r/d$, I je celkový proud v koróně, r a d jsou vzdálenosti od hrotu bodové (na obrázku 2.1.1 jako point) elektrody.

2.2 Průraz vzduchu

Elektrický neboli lavinový průraz je jev, který vzniká nárazovou ionizací atomů izolantu. Tuto ionizaci způsobují elektrony uvolněné při velké intenzitě pole z řádných vazeb mřížky a urychlené elektrickým polem. Následkem nárazové ionizace vzniká v určitém místě lavina elektronů, izolant ztrácí svoje elektroizolační vlastnosti a stává se elektricky vodivým.
Intenzita elektrického pole potřebná k dosažení lavinového průrazu se výrazně liší mezi různými druhy materiálu: např. ve vzduchu okolo 3 MV/m, v izolantech v řádech desítek MV/m.
Pro vyvinutí výboje je potřeba tzv. Statické průrazné napětí.

2.2.1 Statické průrazné napětí

Statické průrazné napětí U_Z definujeme jako nejnižší časově stálé napětí, při němž se mezi elektrodami vyvine samostatný výboj. Průrazné napětí je funkcí součinu pd v širokém rozmezí tohoto součinu. Této závislosti se říká Paschenův zákon.

2.2.2 Paschenův zákon

Charakterizuje průbojové podmínky. Je to experimentálně určená závislost zápalného napětí U_Z na tlaku plynu p a vzdálenosti elektrod d. Při atmosférickém tlaku a vzdálenosti d =1mm je průbojové napětí ve vzduchu asi 1 kV. Nejmenší průbojové napětí $\sim$ 300 V odpovídá tlaku 1 torru [4] a vzdálenosti elektrod 1 cm. [14][15]

2.3 Plazma

Definice plazmatu říká: „Plazma je kvazineutrální soubor částic s volnými nosiči nábojů, který vykazuje kolektivní chování“.

To nejdůležitější je, že se v plazmatu nachází volné nosiče náboje. Atomy jsou alespoň částečně ionizované. Stupeň ionizace nemusí být příliš veliký, je-li plazmový útvar dosti rozsáhlý. Právě volné nosiče náboje plazma zcela odlišují od plynů.

K ionizaci, tj. odtržení elektronu z neutrálního atomu nebo molekuly, může dojít pouze v případě, že je elektronu udělena dostatečná energie k uvolnění z dosahu přitažlivých sil atomu nebo molekuly. Tuto energii může získat jako energii tepelnou, tj. zahřátím neutrálního plynu na dostatečně vysokou teplotu (cca 20 000K). V tomto případě, kdy mají elektrony i ionty přibližně stejnou vysokou teplotu, se plazma nazývá termálním nebo izotermickým plazmatem.

Plazma je vodivé a silně reaguje na elektrická a magnetická pole. Druhá vlastnost je kvazineutralita. Požadujeme, aby v makroskopických objemech bylo vždy v průměru stejné množství kladných a záporných částic. Navenek se plazma jeví jako nenabitá tekutina (kapalina či plyn). Požadavek kvazineutrality vyčleňuje z definice plazmatu nabité svazky částic, které mají přece jen poněkud odlišné vlastnosti. Poslední součástí definice plazmatu je jeho kolektivní chování. Tím se rozumí, že plazma je schopné jako celek svými projevy generovat globální elektrická a magnetická pole a na takováto globální pole reagovat. Do plazmatu většinou nezahrnujeme různé svazky nabitých částic (nesplňují kvazineutralitu) a velmi slabě ionizované plyny např. plamen svíčky (nesplňují kolektivní chování).

Pojem plazmatu poprvé použil Irwing Langmuir (1881-1957). [12]

2.3.1 Netermální plazma

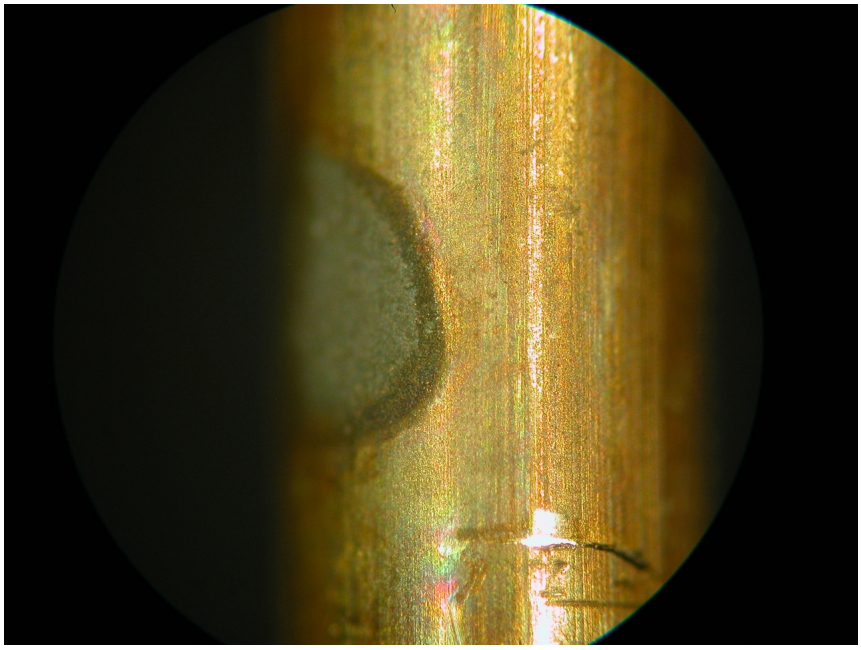
K ionizaci plynů nemusí docházet pouze tak, jak bylo popsáno výše v 2.3, ale existují i jiné mechanizmy, kdy se potřebná ionizační energie dodává převážně elektronům. V tomto případě je teplota elektronů výrazně vyšší než teplota iontů. Toto plazma se nazývá netermální, nízkoteplotní nebo neizotermické.

K získání netermálního plazmatu se nejčastěji využívá elektrických výbojů v plynech, kdy volné elektrony získávají kinetickou energii z pohybu v elektrickém poli a následnými

[4] 1 torr neboli milimetr rtuťového sloupce, přibližný přepočet: 1 torr = 1 mm Hg $\approx$ 133,322 Pa

srážkami dochází k ionizaci jiných atomů a molekul a tím pádem ke generaci dalších volných elektronů.

Protože je jenom malá část energie obsažená v energii iontů a tedy teplotě plazmatu, nedochází k ohřevu materiálů, které přicházejí s netermálním plazmatem do styku. Přítomné energetické elektrony jsou však vysoce reaktivní a způsobují oxidaci(viz. Obrázek 2.3.1 měděného drátku, který byl vystaven delšímu působení netermálního plazmatu), excitaci atomů a molekul nebo produkci volných radikálů Pro generaci netermálního



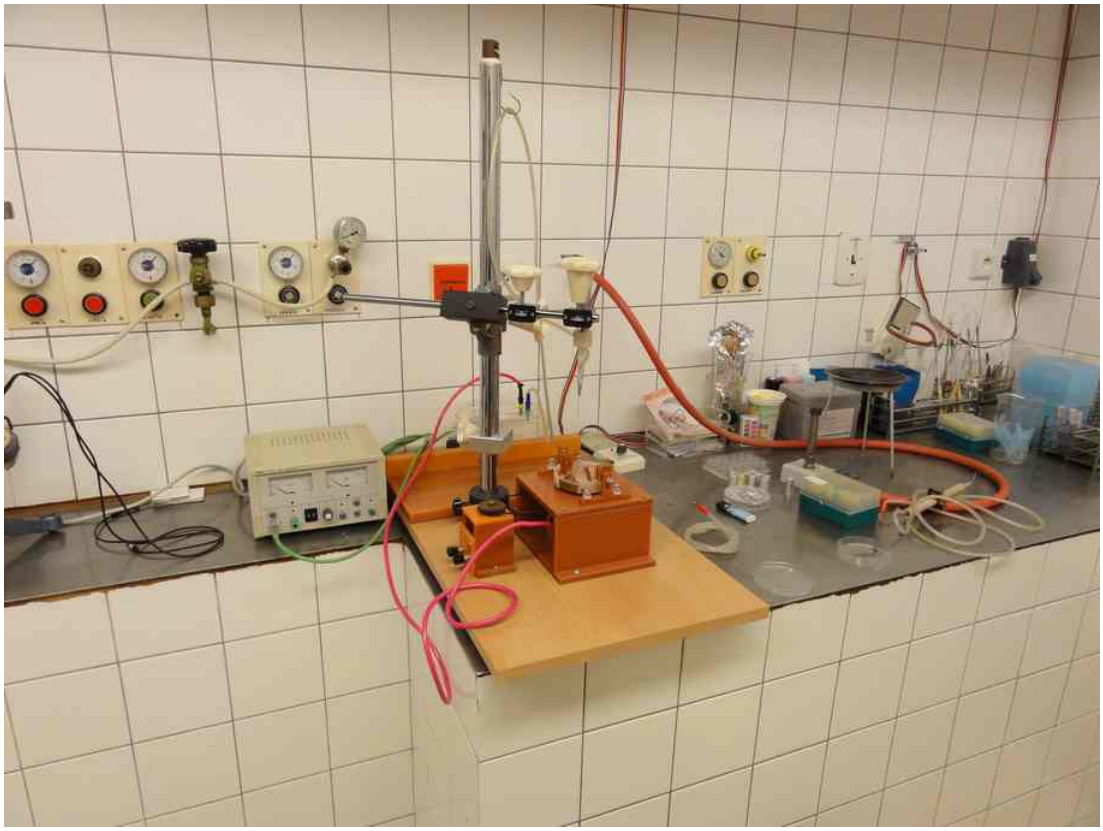
Obrázek 2.4: Zvětšený obrázek (50.4x) měděného drátku po působení netermálního plazmatu. Na obrázku je patrné místo působené plazmatu a stupeň oxidace

plazmatu lze využít různé druhy elektrických výbojů v plynech, např. korónový výboj, dielektrický bariérový výboj a jiné.

Kapitola 3

Popis laboratorní soustavy

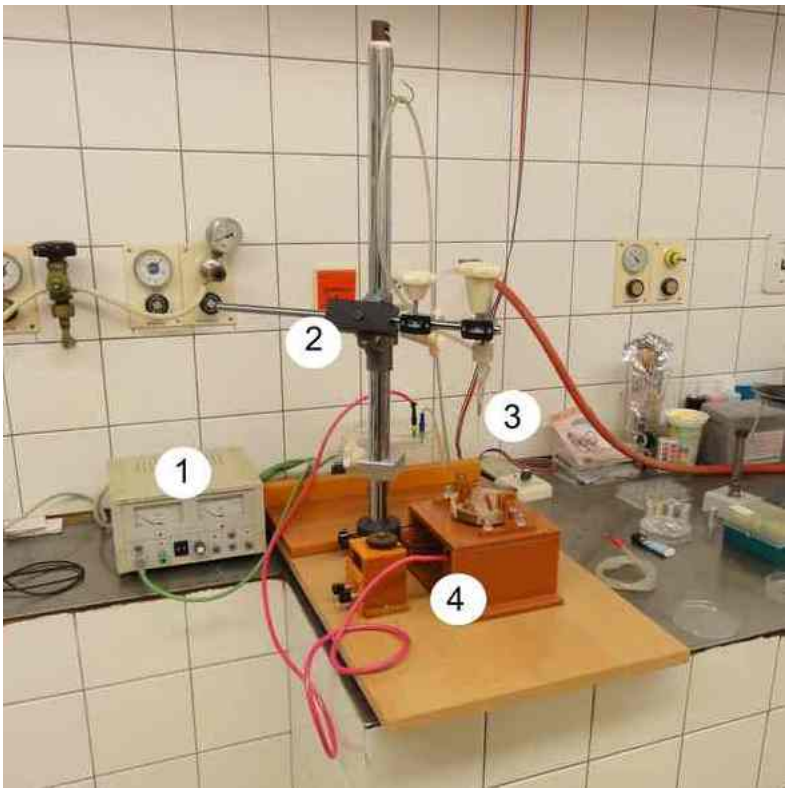
V této kapitole se nachází popis laboratorního modelu, na kterém probíhají veškeré pokusy.
Pokus probíhá nanesením kultury na agar, následuje umístění do přípravku, určeného pro uchycení petriho misky. Umístění drátku nad kulturu, hrubé nastavení polohy jehly se provede na stojanu. Pro jemnější nastavení se použije mikroposuvník. Následuje nastavení napětí na zdroji a nastavení doby otáčení motůrku. Po veškerém nastavení probíhá samostatný pokus.



Obrázek 3.1: Pohled na celou soustavu a její umístění v rámci laboratoře

3.1 Soustava jako celek

Soustavu tvoří viz. obrázek níže:



Obrázek 3.2: Pohled na celou soustavu mimo ovládací části, která je umístěná v jiné části laboratoře

1. Vysokonapěťový měkký zdroj s rozsahem napětí 0 - 10 kV a rozsahem proudu 0 - 500 μA
2. Stojan s posuvným nastavováním polohy
3. Jehla upevněná na mikroposuvníku
4. Přípravek s motůrkem pro otáčení a úchytem pro připojení drátku
5. Ovládací část motůrku

3.2 Vysokonapěťový zdroj

Jedná se o měkký vysokonapěťový zdroj určený pro laboratorní potřeby viz. obrázek 3.2. Rozsah napětí 0 - 10 kV a rozsah proudu 0 - 500 μA.

Použití měkkého zdroje je výhodné pro bezpečnost. Dalšími bezpečnostními prvky jsou vypnutí zdroje v případě přetížení, použití vysokonapěťových kabelů s pojistkou proti vytažení.

Ve vrchní části měřícího přístroje jsou analogové indikace nastaveného napětí a odebíraného proudu. Popis dolní části měřícího přístroje zprava:

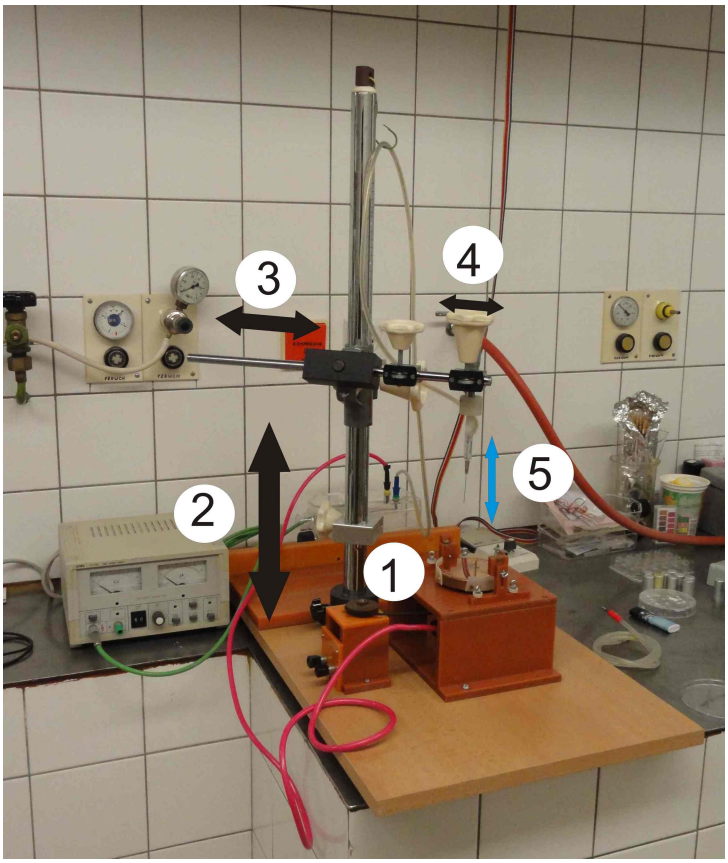
Obrázek 3.3: Laboratrní vysokonapěťový zdroj

- Hlavní vypínač
- Nad sebou přepínače rozsahu zobrazení, na vrchu je přepínač rozsahu proudu 50 μA - 500 μA. Pod ním je umístěn přepínač rozsahu napětí 1 kV/s - 10 kV/s
- Zapnutí výstupu napětí
- Otočné nastavování napětí
- Časovač
- Signalizační kontroloka přetížení a pod ní výstup pro propojení zemí.
- Tlačítko vypnutí výstupu a pod ním vysokonapěťový výstup

3.3 Stojan s nastavováním polohy

Stojan s ramenem je umístěn na dřevěné základně. Umožňuje několik možností natáčení/posouvání. Až na poslední bod je přesnost nastavení v rámci jednotek milimetrů.

1. Natočení celého stojenu v základně
2. Posun ve směru osy Y
3. Posun celého ramene ve směru osy X
4. Posun držáku mikroposuvníku ve směru osy X
5. Posun jehly ve směru osy Y - mikroposuvník



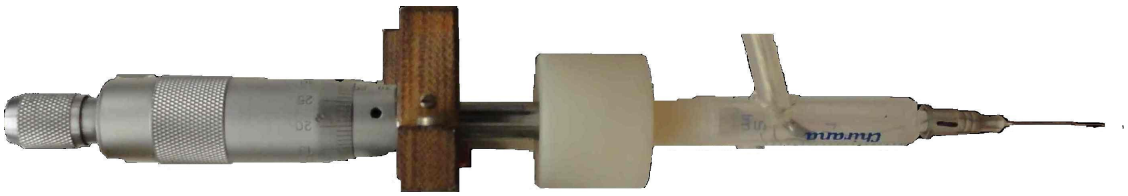
Obrázek 3.4: Nastavování polohy

3.3.1 Mikroposuvník s jehlou

Tato část má pro výzkum dvě použití:

1. Měření vzdálenosti špičky jehly od hladiny agaru. Veškeré měření se určuje směrem k hladině agaru, protože agar nemá nikdy hladinu ve stejné výšce.

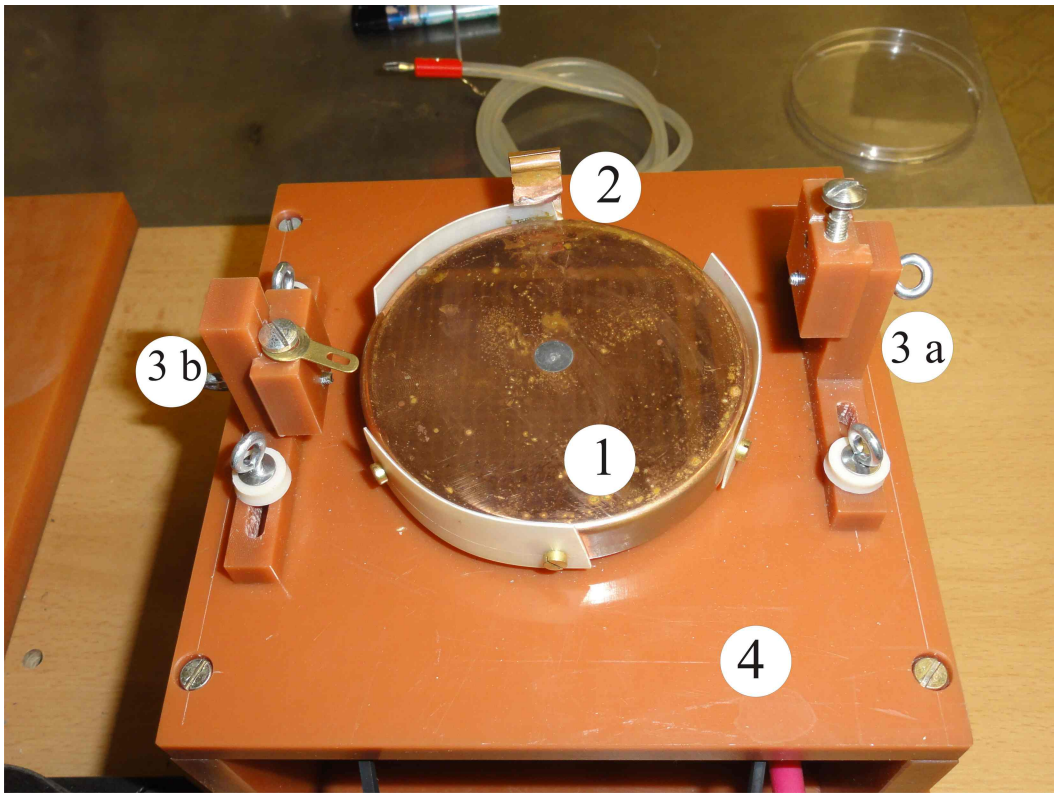
2. Bodová alektroda pro realizaci koronového výboje „viz. Realize koronového výboje kapitola: 2.1.1 na straně 9“.



Obrázek 3.5: Mikroposuvník s jehlou - pro větší názornost proveden výřez a obrázek otočen

3.4 Přípravek pro uložení vzorku

1. Vodivá, otáčivá podložka pro Petriho misku



Obrázek 3.6: Přípravek pro uchycení vzorku

2. Vodivý plíšek pro spojení agaru a vodivé podložky

3. a + b - přípravek pro uchycení drátku a jeho posun v osách X a Y. Každá z částí se může nastavovat samostatně.

4. Nevodivý stojan, v jeho útrobách se nachází motůrek a vývod pro spojení vodivé podložky se soustavou.

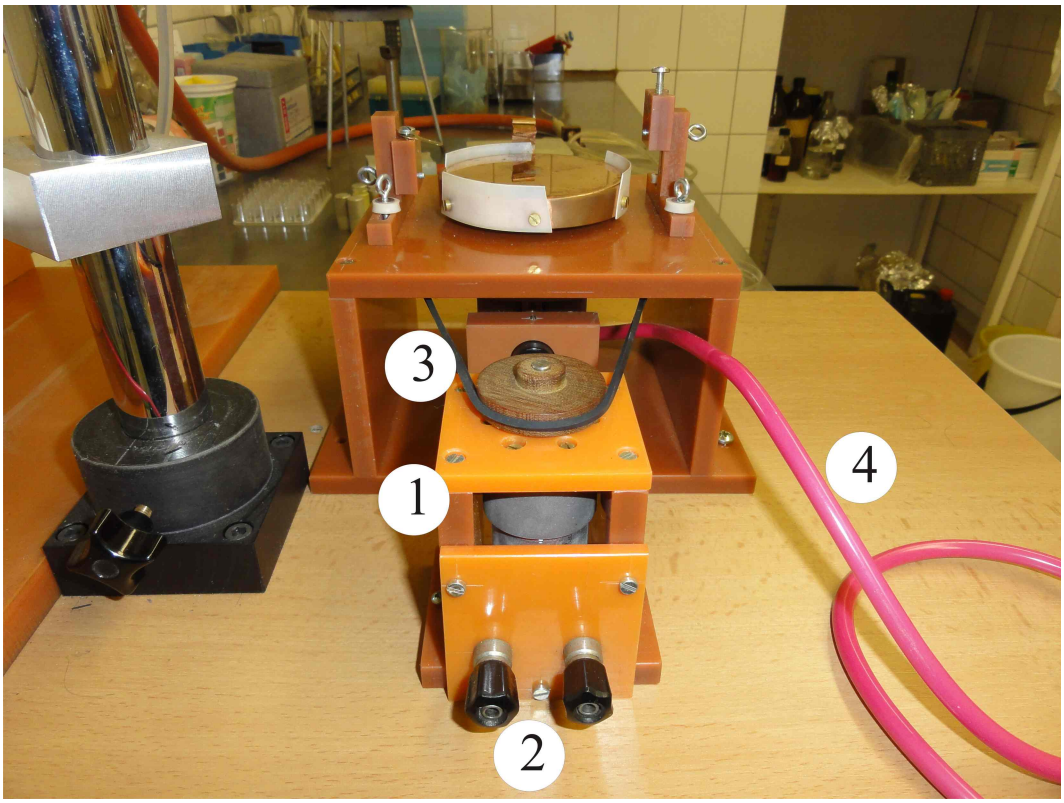
3.5 Motůrek a ovládací část

1. Motůrek v ochranné krabičce

2. Přívod napájení z dálkového ovládání pomocí PWM modulace, do budoucna bych chtěl ovládání tohoto motůrku zakomponovat do měřící části z důvodu synchronizace časů měření.

3. Dřevěné okruží a pryžové připojené na další dřevěné okruží pod přípravkem pro uchycení vzorku. tyto části tu jsou z důvodu oddělení motůrku od vysokonapěťové části.

4. Vývod pro spojení vodivé podložky se soustavou.



Obrázek 3.7: Motůrek a v pozadí přípravek pro uchycení vzorku

3.6 Další použité části

Petriho miska, vysokonapěťová sonda, která je defakto napěťový můstek s převodem 1:1000. Sonda je použita jako vstup do měřícího přístroje, viz. následující kapitola.

3.6.1 Petriho miska

Petriho miska - je mělká skleněná nebo plastová kruhová miska s volně přiléhajícím víčkem o rozměrech víčko $(d \times h)$ 90 mm×9 mm, miska $(d \times h)$ 85 mm×14 mm určená pro kultivace mikrobiálních kultur. Byla pojmenována po německém bakteriologovi Juliu Richardu Petrim, který ji vyvinul v roce 1877.

Obrázek 3.8: Petriho miska - v levé části obrázku je miska a v pravé části víčko

Kapitola 4

Návrh modulárního měřícího přístroje

4.1 Co vedlo k sestrojení měřící části

K sestrojení měřící části vedla potřeba měření a ukládání dat o koronovém výboji do přijatelného formátu v PC. V laboratoři bylo k dispozici „starší řešení“ za pomoci převodu dat z vysokonapěťové sondy přes METEX do PC. Toto řešení bylo pro náš výzkum nevhodné z několika důvodů:

1. PC, který komunikoval s METEXem byl starší, běžel na bázi MS-DOS
2. Ukládání fungovalo do textového souboru za pomoci programu napsaného v jazyku BASIC
3. Další možnost zpracování dat byla složitější, z důvodu hledání možného přenosu dat ze staršího PC na novější

Proto jsem se rozhodl sestrojit převodník dat do PC. Pro převodník bylo několik podmínek - vstup z vysokonapěťové sondy a komunikace s PC přes USB (podle mého názoru v dnešní době nejrozšířenější port) V tomto převodníku bylo upuštěno od použití měřícího přístroje METEX a jeho nahrazením mikroprocesorem. Stanovil jsem si tyto podmínky pro Mikroprocesor:

1. Musí umět komunikovat s PC přes USB
2. Musí mít integrovaný A/D převodník
3. Musí mít výpočetní kapacitu na přepočítání hodnot. (relevantní údaj, protože se jedná o přepočet hodnoty, která bude zdigitalizovaná a její vynásobení konstantami odporových děličů (VN sonda a vstupní dělič do A/D převodníku 1:3))
4. Možnost přepnutí několika měřících přednastavených programů

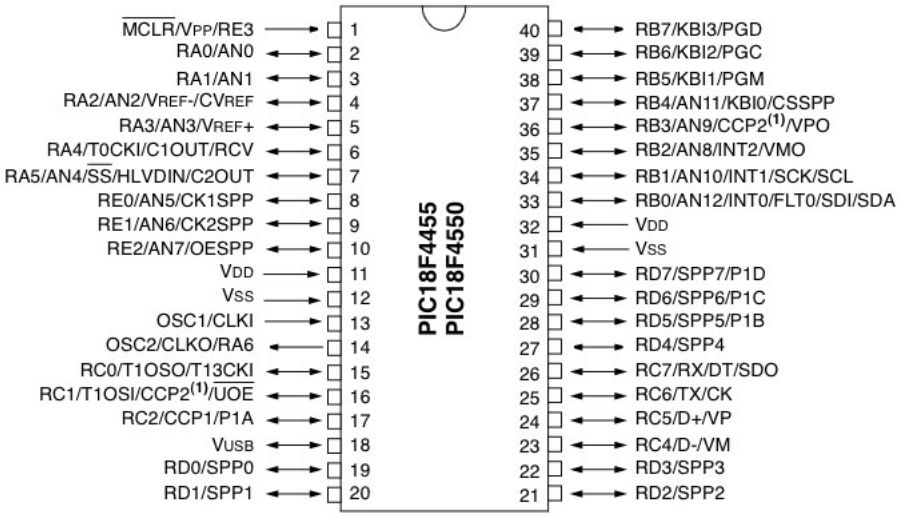
Tyto podmínky splňuje Mikroprocesor PIC18F4550 4.1 od firmy Microchip, který má velmi výhodné vlastnosti pro vyřešení zadaného problému. Výhodou je možnost komunikovat přes několik rozhraní, vlastní 10 bit A/D převodník, dostačující rychlost mikroprocesoru (12 MIPS [1]) a další vlastnosti viz. tabulka 4.1 a schéma výstupů 4.1

[1]MIPS je zkratka z anglického Microprocessor without Interlocked Pipeline Stages, česky volně přeloženo jako procesor bez automaticky organizované pipeline. Jedná se o architekturu procesorů, jejíž počátky pocházejí ze Stanfordské university.

Parametr	hodnota
Typ programové paměti	Flash
Programová paměť	32 KB
Rychlost procesoru	12 MIPS
RAM	2048 B
Data EEPROM	256 B
Digitální komunikace s periférii	1-A/E/USART, 1-MSSP (SPI/I2C)
Capture/Compare/PWM periférie	1 CCP, 1 ECCP
Časovač (Timer)	1 × 8-bit, 3 × 16-bit
A/D převodník	13 ch, 10-bit
Komparátory	2
USB (ch, rychlost, compatibila)	1, Full Speed, USB 2.0
Rozsah teplot	-40 Až 85 ^{o}C
Rozsah provozního napětí	2 až 5,5 V
Počet PIN a pouzdro	40, DIL40

Tabulka 4.1: Kompletní vlastnosti mikroprocesoru PIC18F4550 udávané výrobcem[16]

Obrázek 4.1: PIC18F4550 DIL40 - reálné zobrazení [16]



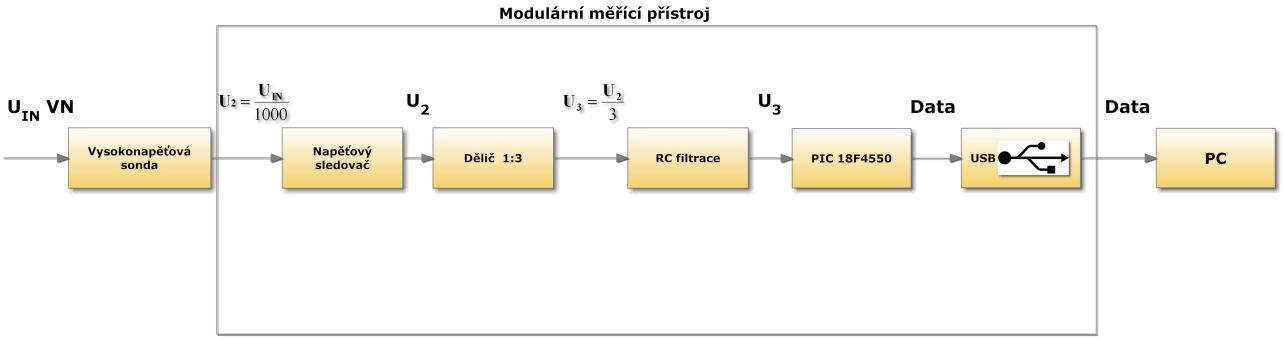
Obrázek 4.2: PIC18F4550 DIL40 - schéma vstupů/výstupů [16]

4.2 Zapojení měřící části

Měří část je řešena jako samostatný modul pro sběr dat. Možnost samostatného měření jak napětí, tak proudu, nebo kombinace obou veličin současně.
Každý modul se skládá z:
(řazeno postupně za sebou)

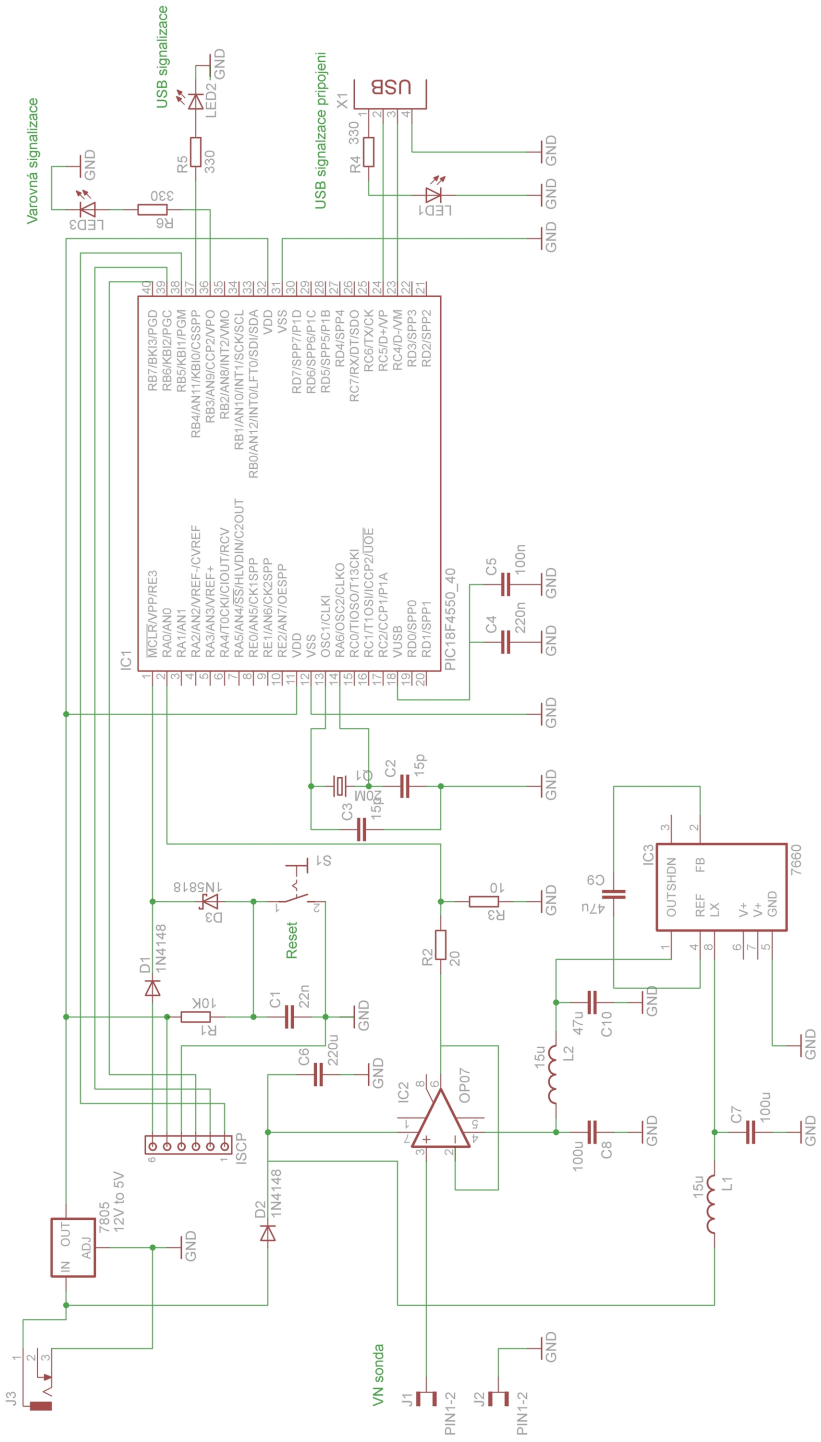
1. Vysokonapěťová sonda - odporový dělič s poměrem 1:1000 (sonda je externí vstup, není součástí měřícího přísroje)
2. Vstup do měřícího přístroje
3. Napěťový sledovač - důležité pro oddělení dalšího děliče
4. Odporový dělič s poměrem 1:4
5. RC článek pro odfiltrování vstupu
6. Mikroprocesor PIC 18F4550
7. USB výstup
8. kabelové propojení s PC

viz. Blokové schéma 6



Obrázek 4.3: Blokové schéma měřící části od Vstupního napětí až po PC. Detailněji uvedeno viz. Příloha č. 1 na straně 45

4.2.1 Schéma měřící části



Obrázek 4.4: Schéma zapojení měřící části

Další schémata: Návrh plošného spoje jsou uvedena v sekci Příloha č. 1 straně 45

4.3 Firmware Mikroprocesoru

Firmware mikroprocesoru PIC byl programován v Jazyce C upraveném pro mikroprocesory. Jako základ jsem použil oficiální kód pro komunikaci PIC → USB :
USB Framework viz. [17].
Moje práce je třída main „viz. Vývojový diagram main kapitola: 4.4.1 na straně 25“, ve které jsem zavolal inicializaci systému - nastavení A/D převodníku, výstupů pro led, případných vstupů pro tlačítka. USB inicializace byla převzata z kódu, vyz výše. Třída main dále obsahuje nekonečný cyklus, během kterého se čeká na vstup dat z USB portu. Jakmile nějaká data přijdou na USB port, tak je zavolán proces „Proces IO“, ve kterém se zkontroluje připojení USB, ásledně příjem dat. Přijatá data se uloží do „RescieDataBuffer“, kde se zkontroluje první pozice v bufferu a podle toho se rozhodne o další operaci, viz. tabulka 4.2

Hodnota v Bufferu	Operace	Poznámka
0x80	Nastavení hodnot pro měření - Měřit - dle zadaného času vynásobeného frekvencí se určí celkový počet měření	hodnoty merit a f_s (frekvence vzorků za s)
0x81	Měření napětí - nastavení první hodnoty v odesílacím bufferu 0xFB (251)	Výpočet hodnot napětí provede až PC
0x82	Měření proudu - nastavení první hodnoty v odesílacám bufferu 0xFC (252)	Rozdíl mezi tímto bodem a druhým je v první pozici v odesílacím bufferu. Výpočet $I = \frac{U}{R}$ provede také až PC. V tomto bodě je důležité nastavit správně odpor, na kterém je úbytek napětí měřen.
0x83	Stop měření	

Tabulka 4.2: Tabulka operací v rámci Proces IO na základě vstupních dat

V případě 0x81 a 0x82 (meření napětí a měření proudu) se stane toto:

1. Čeká se na přerušení, jakmile příjde (Přerušení = 1), tak se pokračuje dál.

2. Přičte se počítadlo, když se počítadlo rovná $100 - f_s$, tak se postupuje dále, když ne, tak se proměnná Přerušení nastaví do nuly a čeká se na další.

3. Když se počítadlo měření rovná nebo je menší než celkový počet měření, tak se pokračuje dál, když je větší, tak se odešle zbývající počet dat na USB do PC a ukončí se Proces IO.

4. Počítadlo měření se přičte, do odesílacího bufferu se na první pozici uloží číslo podle typu měření (0xFB (251) nebo 0xFC (252)) a zavolá se podprogram ReadAD a hodnota, která se vrátí je uložena do „w“.

5. Testuje se pomocná proměná „a“, která určuje naplněnost bufferu pro odeslání, když je menší nebo rovna 10, tak se pokračuje dál. Když je „a“ větší než 10, tak se vynuluje a odesílací buffer se pošle na USB do PC. Program pokračuje za touto podmínkou.

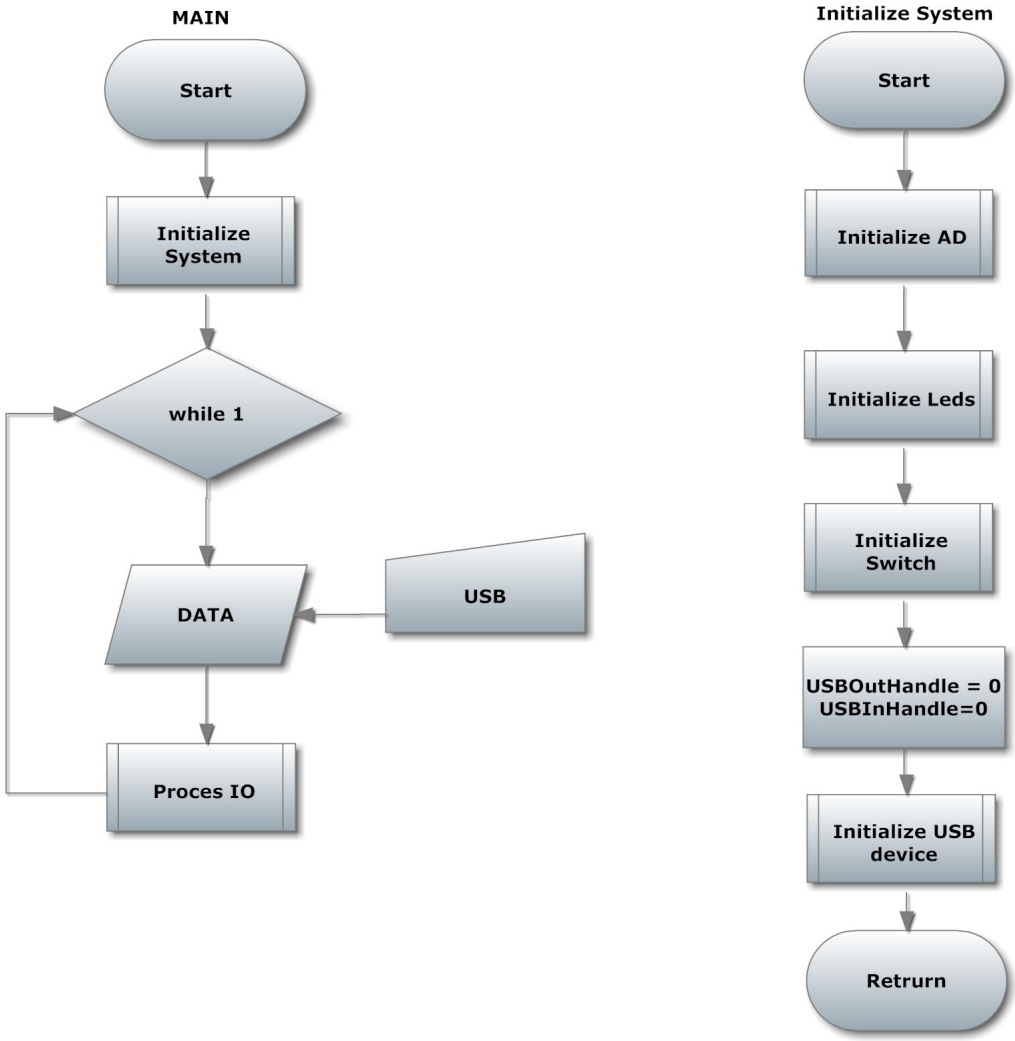
6. Na pozici do odesílacího bufferu, která je určena proměnou a, se uloží data z „w“ a „a“ je přičtena.

7. Vynuluje se počítadlo a přerušení. Čeká se na další přerušení.

Toto je popis nejdůležitějšího procesu v mikroprocesorové části.
Grafické znázornění „viz. Vývojový diagram: 4.4.1 na stranách 25“ a dále.

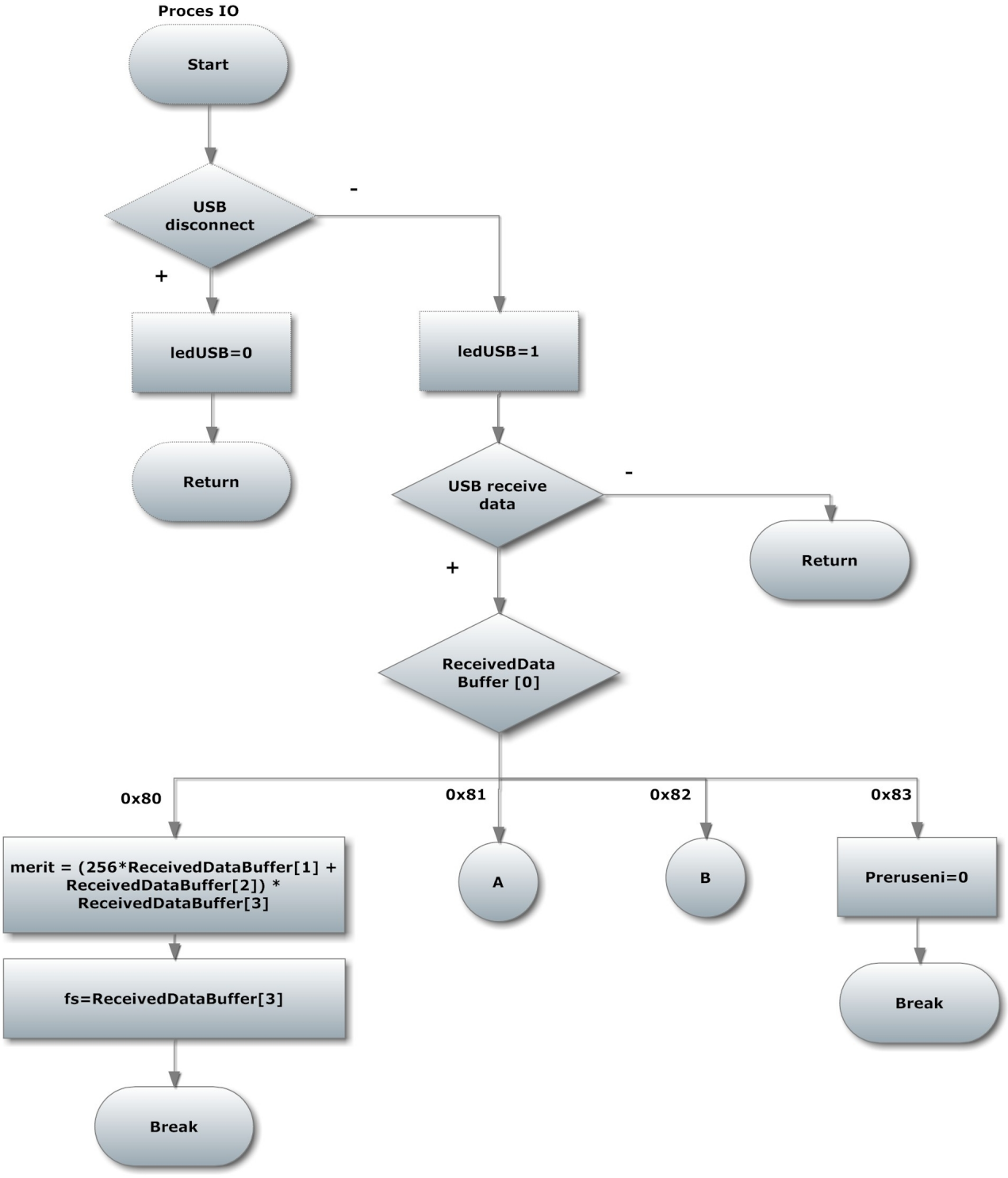
4.4 Vývojový diagram

4.4.1 Main a Inicializace

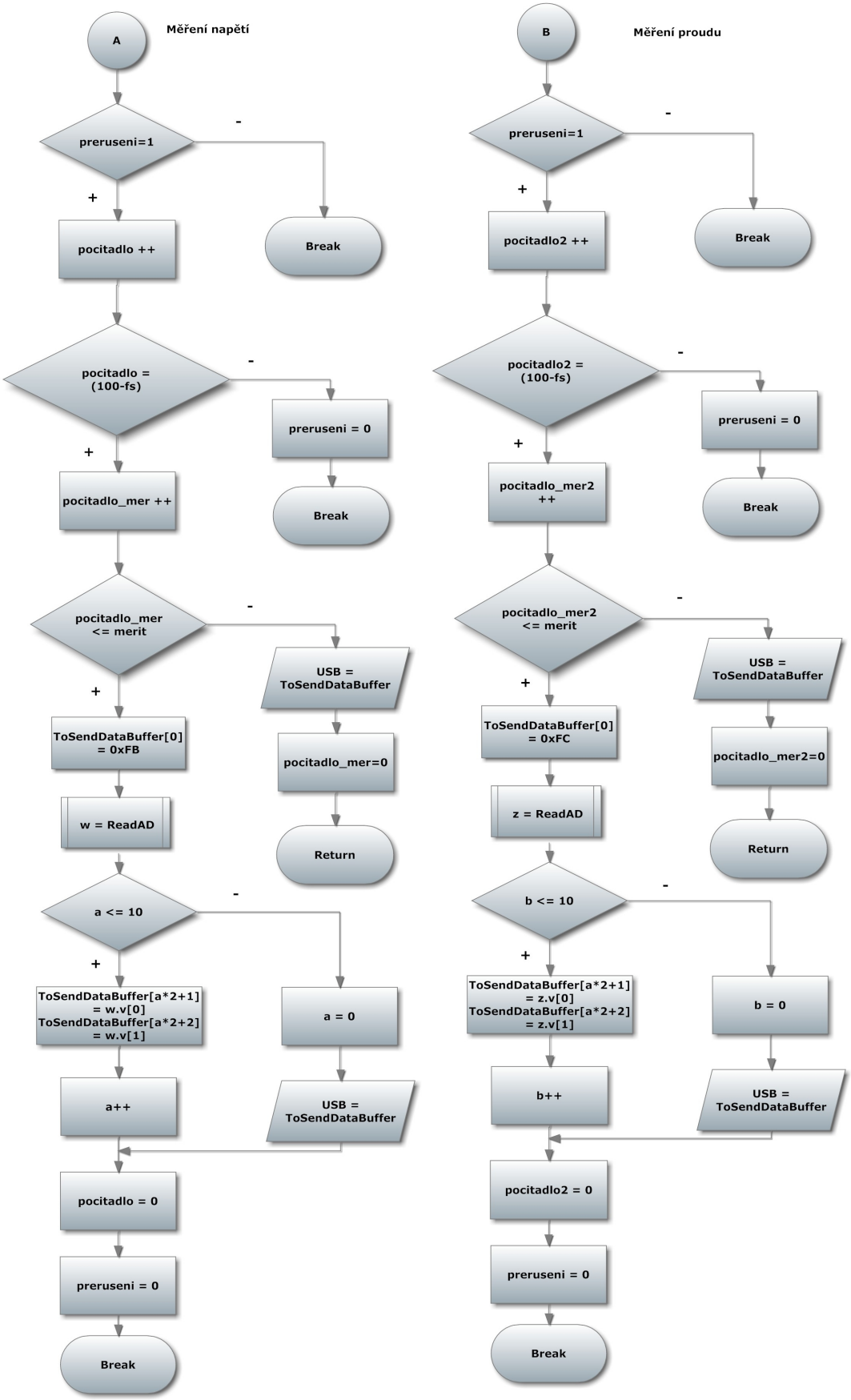


Obrázek 4.5: Vývojový diagram - Main a Initialize system

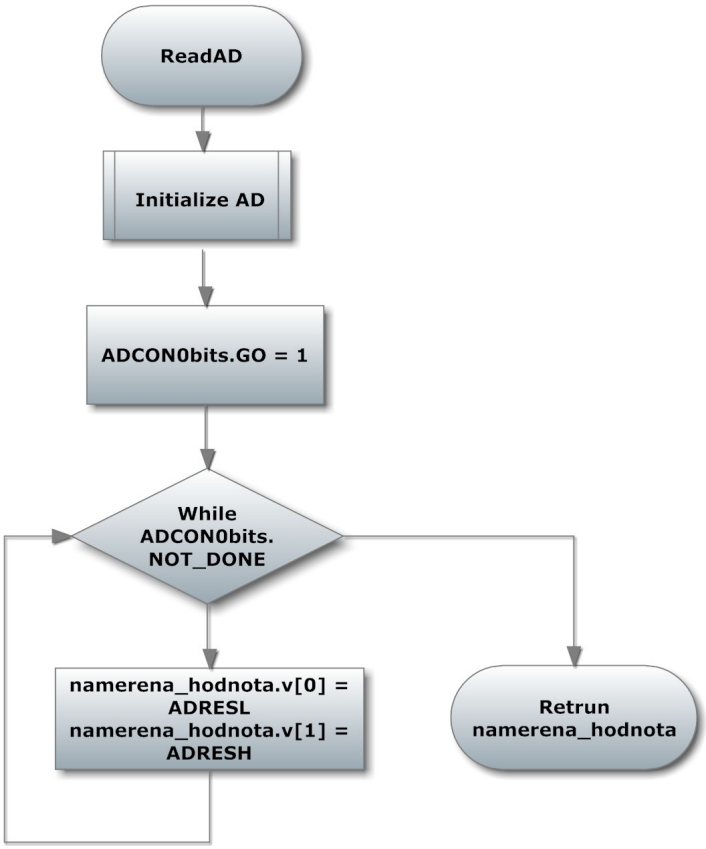
4.4.2 Proces IO



Obrázek 4.6: Vývojový diagram - Proces IO 1.část - výběr režimu



Obrázek 4.7: Vývojový diagram - Proces IO 2.část - Měření



Obrázek 4.8: Vývojový diagram - Proces IO 3.část - čtení z AD převodníku

Kapitola 5

Návrh softwarové části pro ukládání dat v PC

Pro čtení naměřených hodnot v PC bylo nutné vytvořit program, který bude daná data číst a ukládat do PC v textovém formátu.
Vývoj programu pro PC procházela řada komplikací. Nejprve jsem začal uvažovat s výběrem programnovacího jazyku. První jazyk, který jsem zkusil byl JAVA. JAVA je jazyk, který se velmi využívá na fakultě, proto mám s ním nejvýce zkušeností. Největším problémem bylo, že JAVA nemá dořešenou komunikaci s USB, proto jsem od ní upustil.

Jako další možnost mě napadlo využít MATLAB, kde by se dalo přes vhodný vstup číst z měřícího přístroje a rovnou naměřené hodnoty vykreslovat do grafu a ukládat do tabulky. V tomto případě jsem byl omezen výpočetní kapacitou PC, který bude pro potřeby měření umístěn v laboratoři.

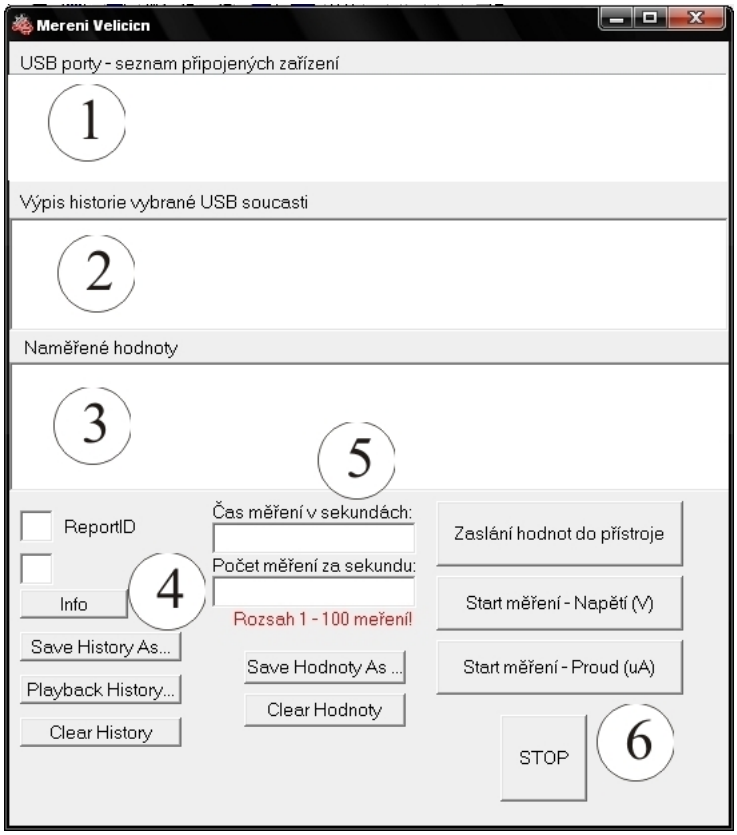
Nakonec se mi podařilo zjisit možnost komunika s USB a současně vytvoření aplikace. Jednalo se o aplikační demmo od firmy Microchip vytvořené v prostředí DELPHI.
DELPHI je grafické vývojové prostředí od firmy Borland určené pro tvorbu aplikací na platformě MS Windows v jazyce Object Pascal (objektové nástavbě Pascal). Obsahuje systém RAD (Rapid Application Development), který umožňuje vizuální návrh grafického uživatelského rozhraní, na jehož základě je automaticky vytvářena kostra zdrojového kódu, což výrazně urychluje vývojový cyklus. Programování v tomto prostředí je hodně závislé na použitých komponentech. Firma Microchip ve svém demu dodala balíček zajišťující komunikaci s USB.[18]

5.1 Program jako celek

Program jako celek je řešen jedním „.exe“ souborem, který spustí hlavní okno programu. Jedná se o nástavbu ukázkového programu viz. [18]. V hlavním okně programu (viz. Obrázek 5.1 je:

1. List vypisující připojené zařízení na USB porty
2. Výpis historie vybraného zařízení
3. Výpis hodnot přijatých z Měřícího přístroje
4. Tlačítka - popsaná dle účelu.
5. Zadávací formuláře pro hodnoty

6. Tlačítka pro výběr měření



Obrázek 5.1: Náhled hlavního okna měřícího softwaru s označenými body, dle seznamu výše

Program se spustí, načte si veškerá připojená zařízení na USB porty a zobrazí je v seznamu (Device box). V tuto chvíli se čeká na výběr zařízení. Po výběru měřícího přístroje se uloží komunikace s ním do seznamu historie (History box) a čeká na další příkaz v podobě stisknutí tlačítka.
Zde popíši jak bude vypadat měření:
Do polí pro dobu měření a počet vzorků za sekundu se vloží požadovaná hodnota a stiskne se tlačítko „Zaslání hodnot do přístroje“. Hodnoty se přes USB port zašlou do přístroje. Přístroj je nastaven a čeká na volbu měření. Teď se podle toho, jaké tlačítko se stiskne (Měření napětí nebo Měření proudu), začne měřit a ukládat hodnoty do třetího seznamu (Hodnoty box). Měření probíhá, dokud nepříjde do programu poslední hodnota, nebo pokud se nestiskne tlačítko „STOP“. Jakmile je odměřeno, tak je možnost hodnoty uložit do textového formátu tlačítkem „Save Hodnoty As ...“, nebo vymazat celý seznam hodnot tlačtkem „Clear Hodnoty“.
Další tlačítka:

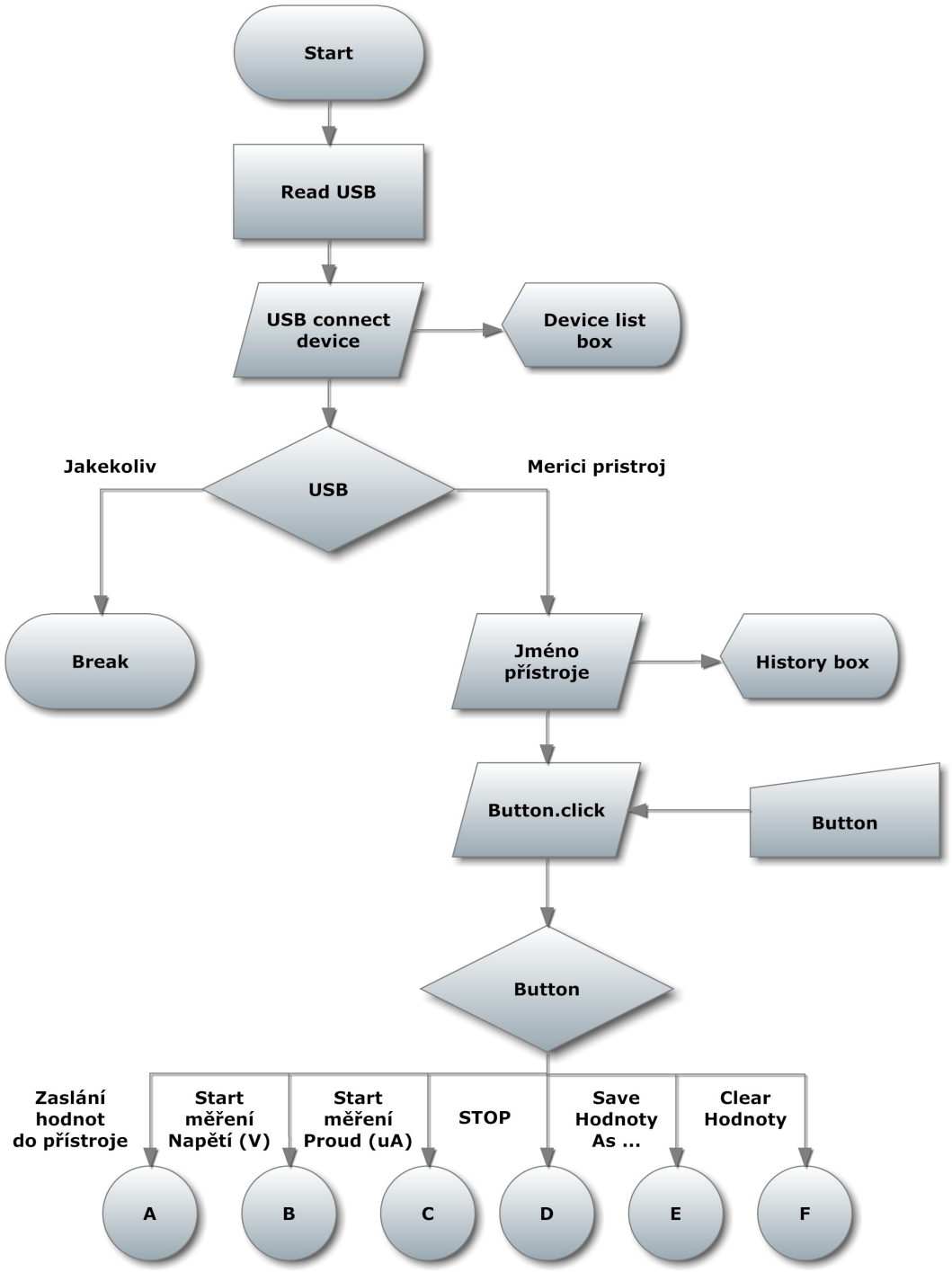
- „Info“ - zobrazí informace o vybraném zařízení připojeném na USB port.
- „Save History As ...“ - uloží historii do textového formátu.
- „Playback History“ - načte historii z textového souboru a zobrazí ji.

- „Clear History“ - smaže historii.

V rámci vývojového diagramu od str.32 uvedu nejdůležitější části programu, zbytek vychází z [18].

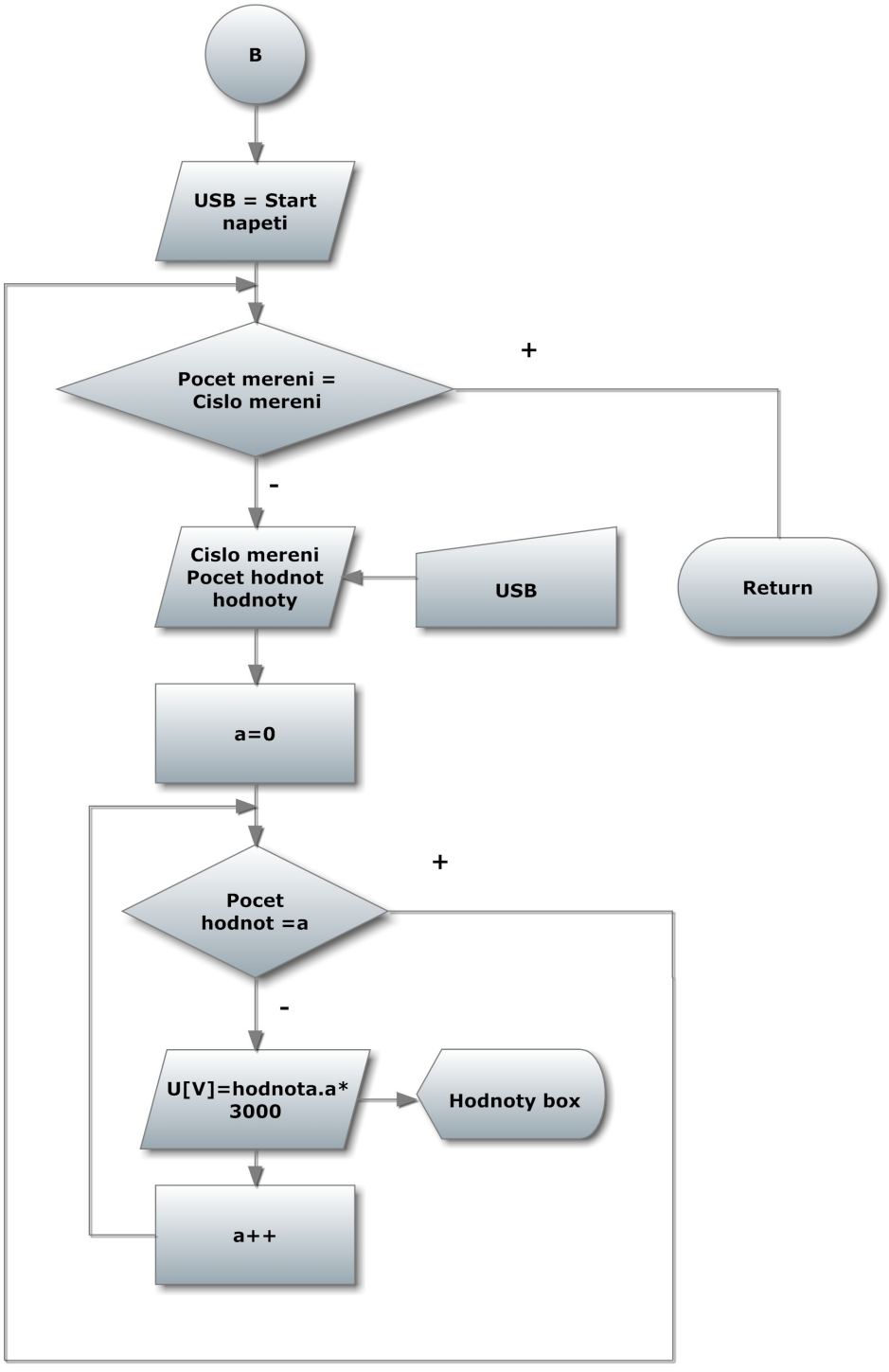
5.2 Vývojový diagram

5.2.1 Start programu

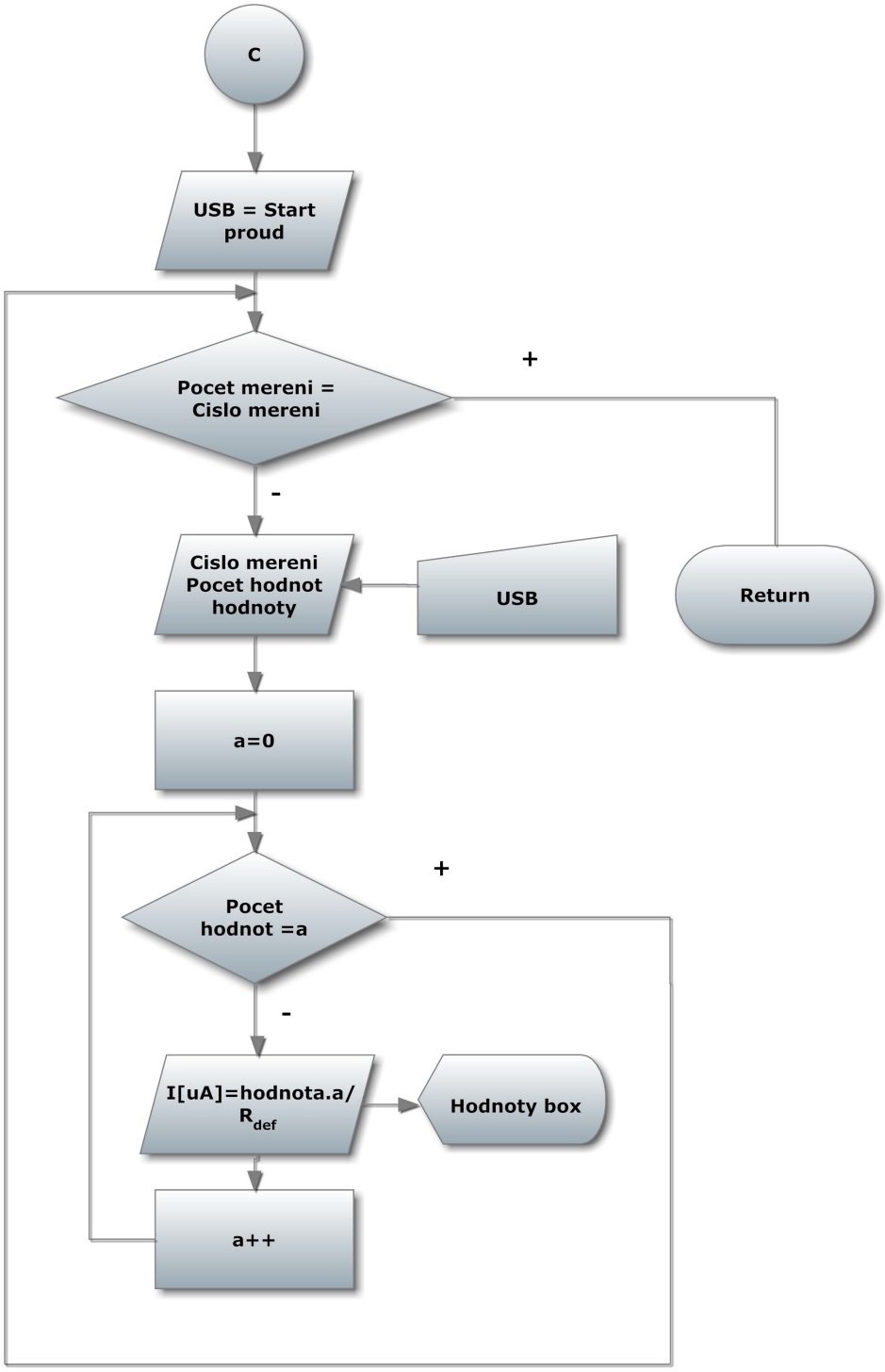


Obrázek 5.2: Začátek programu, načtení připojených USB zařízení a výběr zařízení

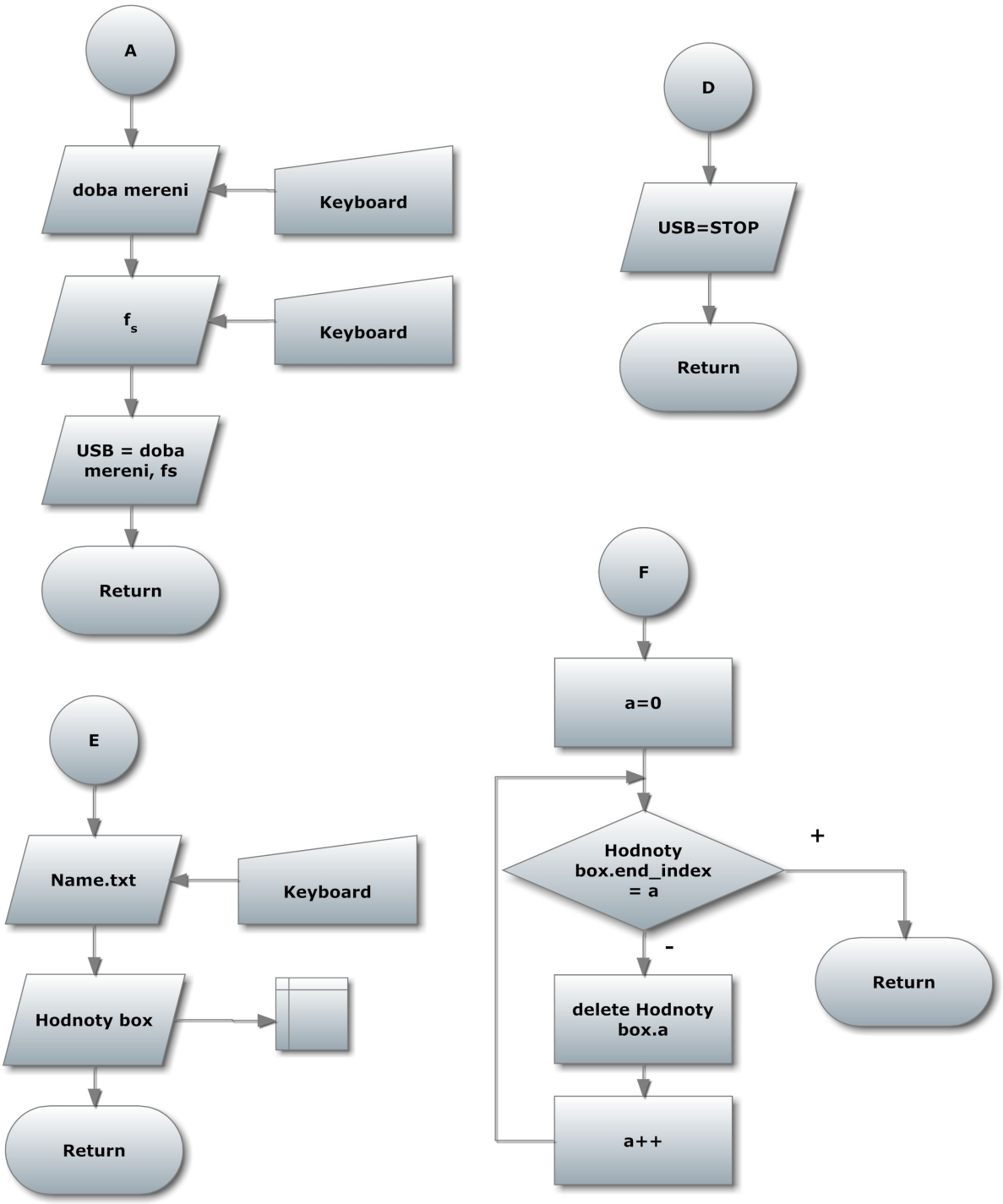
5.2.2 Operace po stisku tlačítka



Obrázek 5.3: Operace po stisknutí tlačítka, možnosti B (měření napětí)



Obrázek 5.4: Operace po stisknutí tlačítka, možnosti C (měření proudu)



Obrázek 5.5: Operace po stisknutí tlačítka, možnosti A (nastavení hodnot), D (zastavení měření), E (uložení naměřených hodnot do „.txt“ souboru) a F (vymazání naměřených hodnot)

Kapitola 6

Závěr

Tato bakalářská práce byla pro mě velkým přínosem. Za poslední rok a dva měsíce, kdy se podílím na výzkumu dekontaminačních účinků netermálního plazmatu pod vedením MUDr. Ing. Vítězslava Kříhy, Ph.D., se mi podařilo osvojit si návyky práce v mikrobiologické laboratoři, nastudovat základy fyziky netermálního plazmatu, specifika korónového výboje a seznámit se s aparaturou pro studium dekontaminačních účinků netermálního plazmatu.

V rámci studia mikrobiologie jsem se naučil nanášet organismy na polotuhá média, provést na nich dekontaminační pokus, nechat je kultivovat a na závěr vyhodnotit úspěšnost pokusu. K úspěšnémi pochopení mikrobiologické problematiky mi velice pomohly tyto publikace [8] a [9]. V rámci týmu jsem si našel prostor pro seberalizaci a samostatně vyřešil dílčí problém - zhotovení měřícího přístroje. Pro dekontaminační pokusy bylo dále potřeba modifikovat aparaturu. Zde jsem navrhnul provizorní držák drátku, aby drátek zůstal v předem definované poloze nad agarem. Tento držák byl poté na základě mých návrhů i návrhů dalších členů týmu modifikován v laboratořich katedry fyziky fakulty elektrotechnické ČVUT do dnešní podoby.

Pro komplexní pochopení průběhu experimentů bylo potřeba naučit se fyzikální teorii korónového výboje, netermálního plazmatu a další „viz. Fyzikální část: kapitola 2 od strany 8 do strany 12“.

Než jsem se začal podílet na jakémkoliv experimentu, bylo důležité seznámit se s aparaturou, o níž jsem se rozepsal v kapitole 3 od strany 13. Popis soustavy je velmi důležitý, protože se k ní váže další bod zadání, a tím je sestrojení modulárního měřícího přístroje (dále měřící přístroj) pro měření elektrických veličin (napětí, během experimentu se pohybuje v rozmezí 0-10 kV, a proudu, který je v rozsahu 0-500 μA).

Pro sestrojení měřícího přístroje jsem použil mikroprocesor PIC18F4550, který dovoluje, abych do budoucna rozšířil přístroj o další funkce. Měřící přístroj jsem nazval modulární, protože není vytvořen samostatný blok pro napětí a samostatný pro proud, ale pouze jeden typ, který je sestaven dvakrát. Další důvod pro sestrojení modulů byl ten, že v případě poškození jednoho modulu, není ohroženo fungování experimentu, pouze se modul nahradí. Jakou veličinu bude daný modul měřit, závisí na pokynech z PC. Program „Merenivelicin.exe“ zašle pokyny, podle kterých přístroj naměří hodnoty, zdigitalizuje je a průběžně zasílá zpět do programu, kde se provede vlastní výpočet.

Do budoucna bych chtěl upravit měřící přístroj tak, aby měřil obě hodnoty současně v jednom modulu (nyní jeden modul měří napětí a druhý proud). Dále bych chtěl zaimplementovat i ovládání motůrku, který otáčí s petriho miskou v průběhu některých

experimentů (motůrek je momentálně ovládan z PWM modulu). Pokud by byly příznivé grantové podmínky, tak bych rád předělal i měřící aparaturu a zakomponoval automatické nastavování polohy bodové elektrody v prostoru nad petriho miskou. Veškeré tyto změny by byly řízené z počítače, kde by se pokus zobrazoval v modelu.

Nejreálnější se mi z těchto vylepšení zdá současné měření obou veličin v jednom modulu a ovládání motůrku.

Seznamy

Seznam příloh

Příloha č.1 - Schéma měřící části a návrh plošného spoje

Blokové schéma, Schéma zapojení a návrh plošného spoje
str. 45

Příloha č.2 - Seznam součástek pro sestrojení měřícího přístroje

str. 49

Příloha č.3 - Příručka použití měřícího přístroje

Příručka ovládání a nastavení modulární měřící části vznikla jako součást této bakalářeké práce. Bude sloužit pro jednoduché vysvětlení studentům a pracovníkům netechnického zaměření.
str. 50

Příloha č.4 - Vybrané fotografie z pokusů

str. 55

Obsah přiloženého CD

1. Bakalářská práce
    - Bakalářská práce ve formátu PDF
    - Příručka ovládání měřícího přístroje ve formátu PDF
2. Měřící přístroj
    - Schémata v projektu pro software EAGLE
    - Firmware mikroprocesoru PIC18F4550 a podklady
3. Program pro PC
    - Program Merenivelicin.exe
    - Projekt programu pro vývojové prostředí DELPHI

Seznam obrázků

1.1 Candida albicans . . . 3
1.2 Deinococcus radiodurans . . . 4
1.3 Obnovení struktury DNA Deinococcus radiodurans . . . 5
1.4 Candida albicans foto laboratorního pokusu 2.1.1 - s3c . . . 7
1.5 Deinococcus radiodurans foto laboratorního pokusu 2.2.1 . . . 7

2.1 Korónový výboj . . . 8
2.2 Korónový výboj během pokusu . . . 9
2.3 Schéma koronového výboje . . . 10
2.4 Měděný drátek po působení netermálního plazmatu . . . 12

3.1 Umístění soustavy v laboratoři . . . 13
3.2 Soustava jako celek . . . 14
3.3 Vysokonapěťový zdoj . . . 15
3.4 Nastavování polohy . . . 16
3.5 Výřez mikroposuvník s jehlou . . . 16
3.6 Přípravek pro uchycení vzorku . . . 17
3.7 Motůrek a přípravek pro uchycení vzorku . . . 18
3.8 Petriho miska . . . 18

4.1 PIC18F4550 DIL40 - reálné zobrazení . . . 20
4.2 PIC18F4550 DIL40 - schéma vstupů/výstupů . . . 20
4.3 Blokové schéma měřící části . . . 21
4.4 Schéma zapojení měřící části . . . 22
4.5 Vývojový diagram - Main . . . 25
4.6 Vývojový diagram - Proces IO - 1. . . . 26
4.7 Vývojový diagram - Proces IO - 2. . . . 27
4.8 Vývojový diagram - Proces IO - 3. . . . 28

5.1 Náhled hlavního okna softwaru . . . 30
5.2 Vývojový diagram softwaru 1. . . . 32
5.3 Vývojový diagram softwaru 2. . . . 33
5.4 Vývojový diagram softwaru 3. . . . 34
5.5 Vývojový diagram softwaru 4. . . . 35

6.1 Blokové schéma měřící části . . . 45
6.2 Schéma zapojení měřící části . . . 46
6.3 Návrh plošného spoje . . . 47
6.4 Návrh plošného spoje 2. . . . 47
6.5 Návrh plošného spoje 3. . . . 48

6.6 Návrh plošného spoje 4. 48
6.7 Příručka - náhled hlavního okna softwaru 50
6.8 Příručka - náhled hlavního okna softwaru s popisem 51
6.9 Příručka - postup měření 1. 52
6.10 Příručka - postup měření 2. 52
6.11 Příručka - postup měření 3. 53
6.12 Příručka - postup měření 4. 53
6.13 Příručka - postup měření 5. 54
6.14 Příprava pokusu - nastavení polohy jehly 55
6.15 Probíhající pokus za světla 55
6.16 Probíhající pokus za tmy 55

Seznam tabulek

1.1 Tabulka zařazení Candida albicans 2
1.2 Tabulka zařazení Deinococcus radiodurans 4

4.1 Tabulka vlastností PIC18F4550 20
4.2 Tabulka operací v Proces IO 23

6.1 Seznam použitých součástek pro sestrojení měřícího přístroje 49

Literatura

[1] *A Human-Curated Annotation of the Candida albicans Genome* [online]. Public Library of Science - Genetics updated July 2005 [cit.2010-12-28]
URL: ⟨http://www.plosgenetics.org/article/info:doi/10.1371/journal.pgen.0010001⟩

[2] *The diploid genome sequence of Candida albicans* [online]. Proceedings of the National Academy of Sciences updated May 04 2004 [cit.2010-12-28]
URL: ⟨http://www.pnas.org/content/101/19/7329.full.pdf+html⟩

[3] *Candida albicans - obrázek* [online].
Wikipedia April 30 2005 [cit.2010-12-28]
URL: ⟨http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Candida_albicans.jpg⟩

[4] *Candida albicans* [online]. Ústav mikrobiologie [cit.2010-12-28]
URL: ⟨http://old.lf3.cuni.cz/ustavy/mikrobiologie/rep/caal.htm⟩

[5] *Deinococcus radiodurans - pictures* [online].
Wikipedia updated May 11 2010 [cit.2010-09-18]
URL: ⟨http://en.wikipedia.org/wiki/Deinococcus_radiodurans⟩

[6] Michael M. Cox a John R. Battista *NATURE REVIEWS - MICROBIOLOGY* kap. DEINOCOCCUS RADIODURANS - THE CONSUMMATE SURVIVOR. Nature Publishing Group r.2005 [cit.2010-09-18] URL: ⟨http://www.biology.lsu.edu/webfac/jbattista/publications/downloads/nrmicro1264.pdf⟩

[7] *Escherichia coli* [online]. Wikipedia updated November 7 2010 [cit.2010-11-07]
URL: ⟨http://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli⟩

[8] Doc. RNDr. Jaroslav Julák CSc. *Úvod do lékařské bakteriologie* r.2007 [cit.2011-01-01]

[9] Doc. RNDr. Jaroslav Julák CSc. *Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie* r.2003 [cit.2011-01-01]

[10] *Korónový výboj - obrázek* [online]. Jiskry a výboje [cit.2010-12-22]
URL: ⟨http://zajfyz.physics.muni.cz/index.php?web=jiskry2009⟩
URL Obr: ⟨http://zajfyz.physics.muni.cz/obrazky/jiskry2009/vel/vel14.jpg⟩

[11] *Korónový výboj* [online]. Glosář Aldebaran [cit.2010-11-13]
URL: ⟨http://www.aldebaran.cz/glossary/print.php?id=718⟩

[12] *Plazma* [online]. CO JE TO PLAZMA? [cit.2010-11-13]
URL: ⟨http://www.aldebaran.cz/astrofyzika/plazma/basics.html⟩

[13] Ing.Vladimír Sholtz *Optimalizace korónového výboje za atmosférického tlaku pro dekontaminaci povrchů* kap. 3.Nízkoteplotní plazma a korónový výboj r.2007 [cit.2010-11-18]

[14] J. Kracík, J.B.Slavík a J.Tobiáš *Elektrické výboje* kap. 9. Jiskrový a korónový výboj r.1964 [cit.2010-12-30]

[15] Pavel Kubeš *I. ZÁKLADY ELEKTRICKÝCH VÝBOJŮ* [online]. Impulsní silnoproudové výboje a jejich diagnostika [cit.2010-12-30]
URL: ⟨http://www.aldebaran.cz/astrofyzika/plazma/basics.html⟩

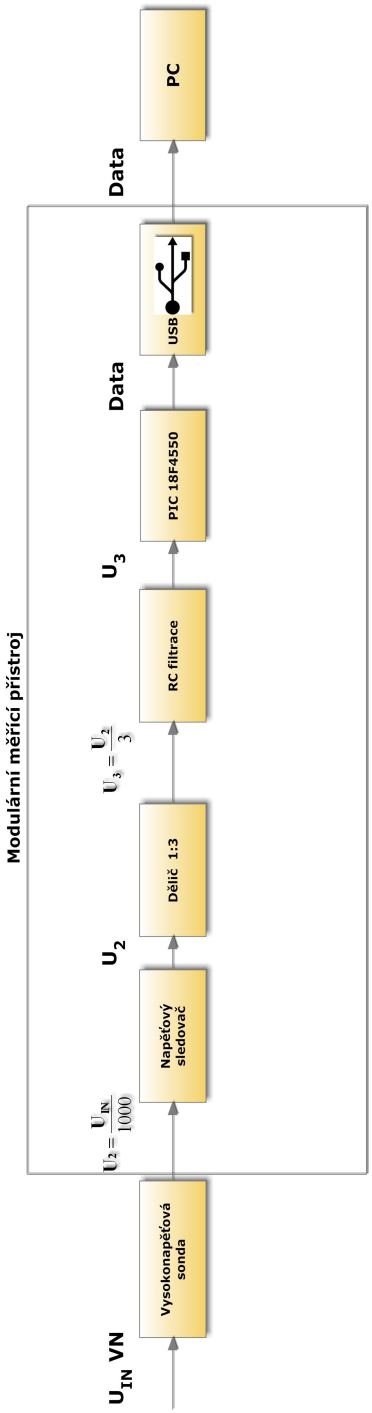
[16] *PIC18F4550* [online]. Microchip updated October 27 2009 [cit.2010-11-06]
URL: ⟨http://www.microchip.com/wwwproducts/Devices.aspx?dDocName=en010300⟩

[17] *Microchip Application Libraries* [online]. Microchip updated 2010 [cit.2010-12-29]
URL: ⟨http://www.microchip.com/stellent/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&nodeId=2680&dDocName=en547784⟩

[18] *USB Aplication Design Center* [online]. Microchip updated 2010 [cit.2010-12-31]
URL: ⟨http://www.microchip.com/stellent/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&nodeId=2651&param=en534494⟩

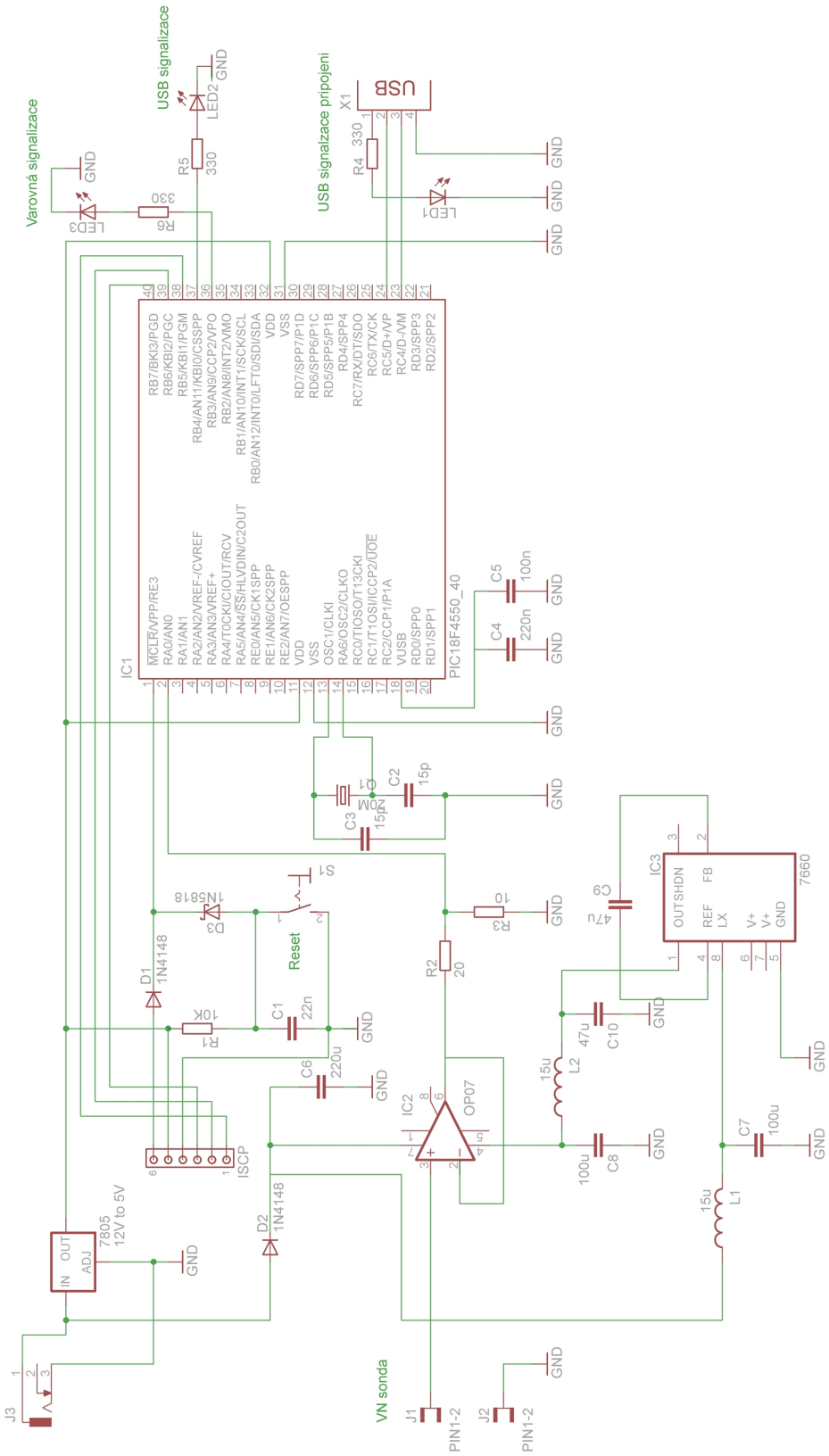
Příloha č.1 - Schéma měřící části a návrh plošného spoje

Blokové schéma



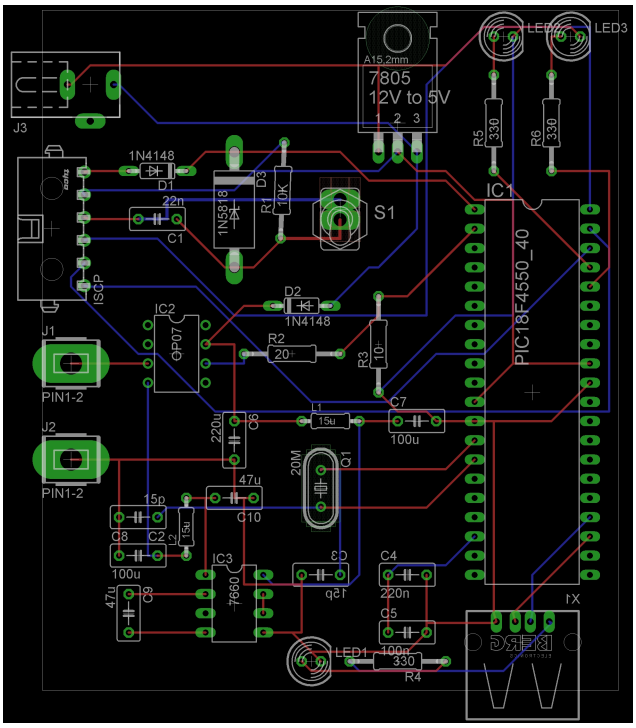
Obrázek 6.1: Blokové schéma měřící části - Detailnější zobrazení

Schéma zapojení

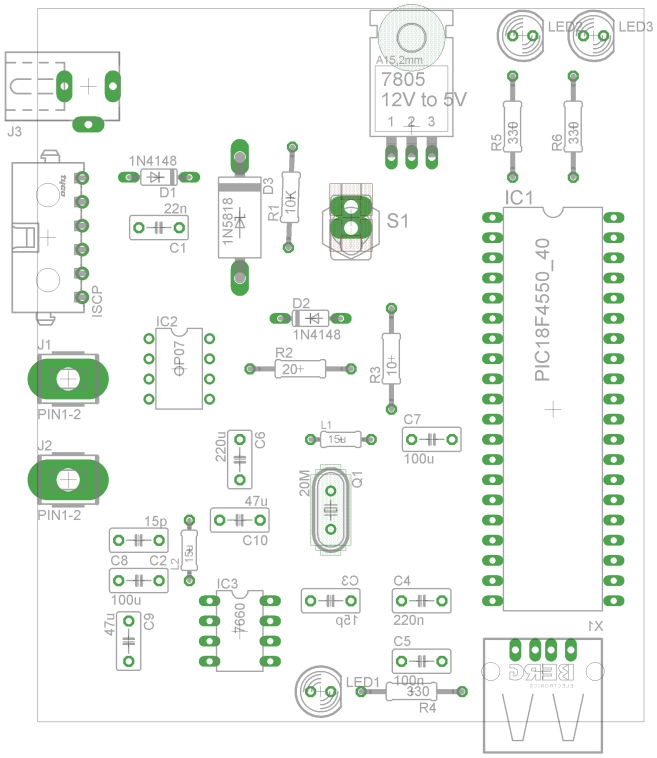


Obrázek 6.2: Schéma zapojení měřící části

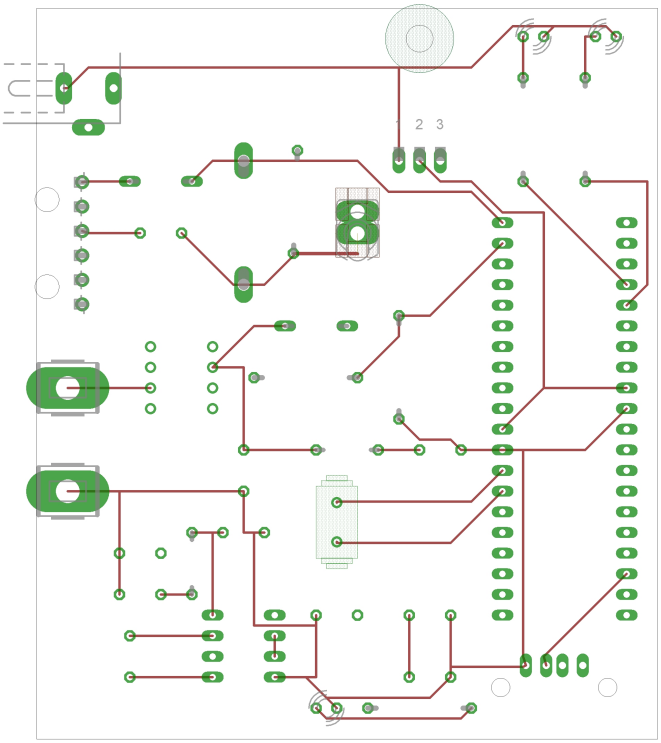
Návrh plošného spoje



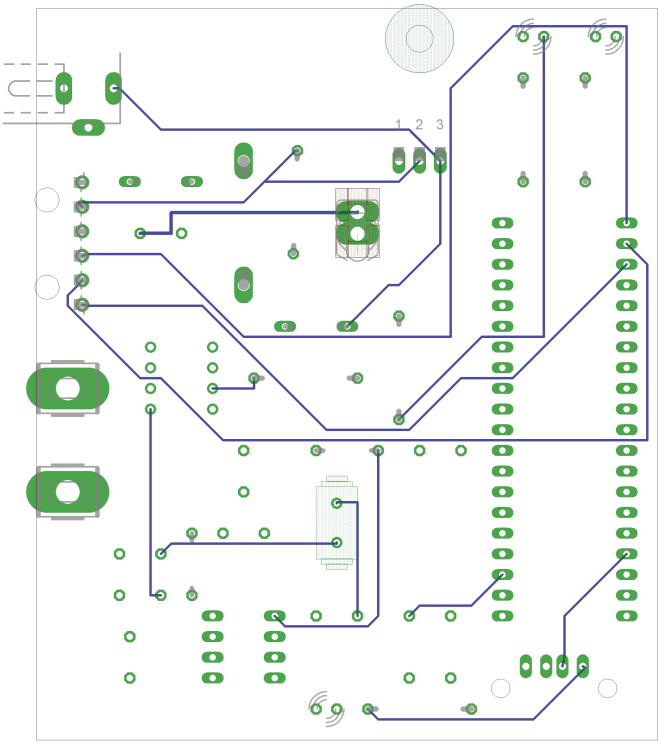
Obrázek 6.3: Návrh plošného spoje



Obrázek 6.4: Návrh plosšného spoje 2. - rozmístění součástek na desce



Obrázek 6.5: Návrh plošného spoje 3. - spoje TOP



Obrázek 6.6: Návrh plošného spoje 4. - spoje BOTTOM

Příloha č.2 - Seznam součástek pro sestrojení měřícího přístroje

Zde je uveden seznam použitých součástek pro sestrojení jednoho měřícího přístroje. Pro pokusné sestrojení doporučuji použít nepájivé pole, které se mi osvědčilo.

Zn	Název součástky	typ	počet ks	pozn
C_1	Kapacitor	22nF	1	
C_2, C_3	Kapacitor	15pF	2	
C_4	Kapacitor	220nF	1	
C_5	Kapacitor	100nF	1	
C_6	Kapacitor	220μF	1	
C_7, C_8	Kapacitor	100μF	2	
C_9, C_{10}	Kapacitor	47μF	2	
D_1, D_2	Univerzální dioda	1N4148	2	
D_3	Schottkyho dioda	1N5818	1	
IC_1	Mikroprocesor	PIC18F455O	1	Možno použít PIC18F255O
IC_2	Operační zesilovač	OP07	1	
IC_3	Napěťový konvertor	7660	1	
ISCP	Konektor pro vstup z programátoru ASIX	-	1	
J_1, J_2	Konektor pro připojení sondy	-	2	Dle použitého typu banánku
J_3	Konektor pro připojení napájecího napětí	-	1	Dle použitého typu zdroje napájení
L_1, L_2	Indukčnost	15μH	2	
LED_1, LED_2	Žlutá signalizační LED dioda	-	2	
LED_3	Červená signalizačí LED dioda	-	1	
Q_1	Krystal	20MHz	1	
R_1	Rezistor	10kΩ	1	
R_2	Rezistor	20Ω	1	
R_3	Rezistor	10Ω	1	
R_4, R_5, R_6	Rezistor	330Ω	3	Závisí na typu LED diody
S_1	Tlačítko	-	1	Tlačítko pro RESET
X_1	USB konektor	-	1	Plus kabel pro připojení do PC
-	Stabilizátor napětí	12V to 5V	1	Závisí na použitém napájecím napětí

Tabulka 6.1: Seznam použitých součástek pro sestrojení měřícího přístroje

Další potřebné součásti:
Programátor ASIX, Napájecí zdroj, Patice pro mikroprocesor .

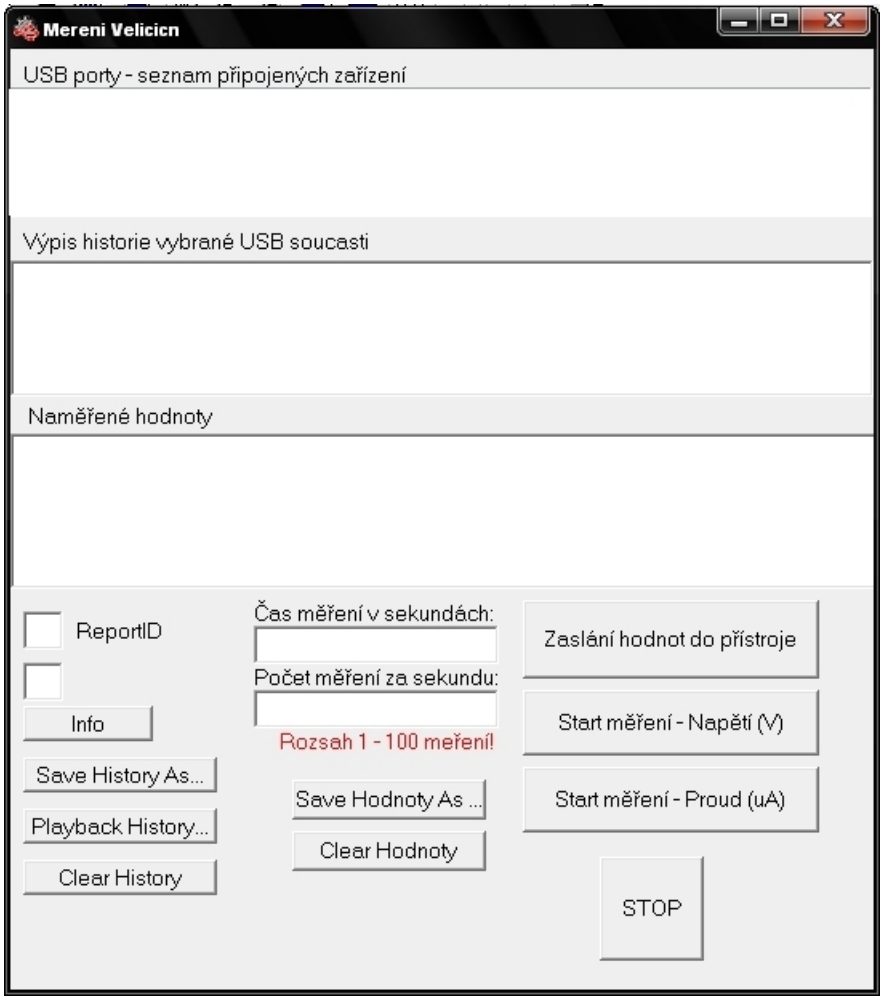
Příloha č.3 - Příručka použití měřícího přístroje

Zapojení přístroje

1. Vezmeme přístroj a připojíme napájení do přístroje
2. Napájení zapojíme do zásuvky
3. Vezmeme Vysokonapěťovou sondu a připojíme jí do přístroje a do nezapojeného pokusu
4. Vezmeme USB kabel a zapojíme ho nejdříve do přístroje
5. USB kabel připojíme do PC
6. Spustíme program „Merenivelicin.exe“, který je na přiloženém CD

Program Měření veličin

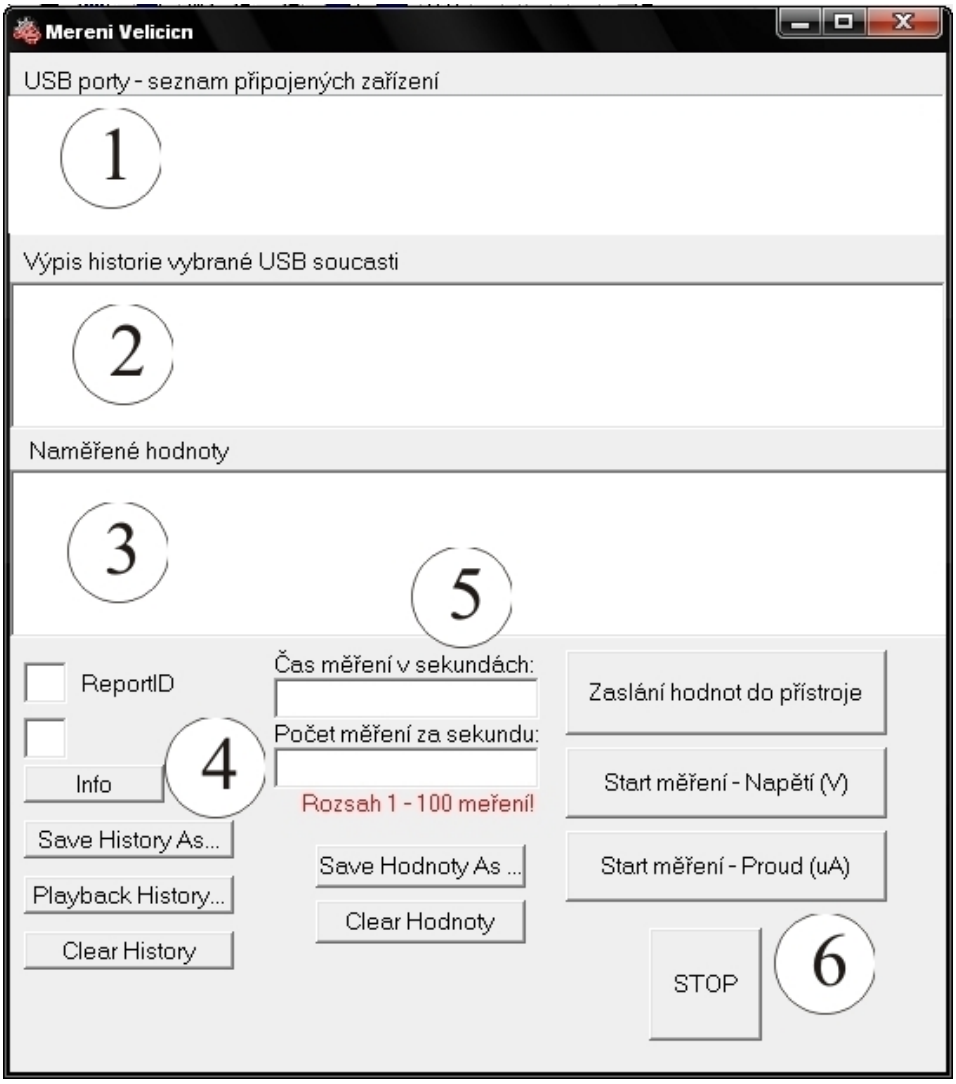
Po spuštění programu se objeví toto okno:



Obrázek 6.7: Náhled hlavního okna měřícího softwaru

Popis jednotlivých částí programu(viz. Obrázek 6.8):

1. List vypisující připojené zařízení na USB porty
2. Výpis historie vybraného zařízení
3. Výpis hodnot přijatých z Měřícího přístroje
4. Tlačítka - popsaná dle účelu.
5. Zadávací formuláře pro hodnoty
6. Tlačítka pro výběr měření



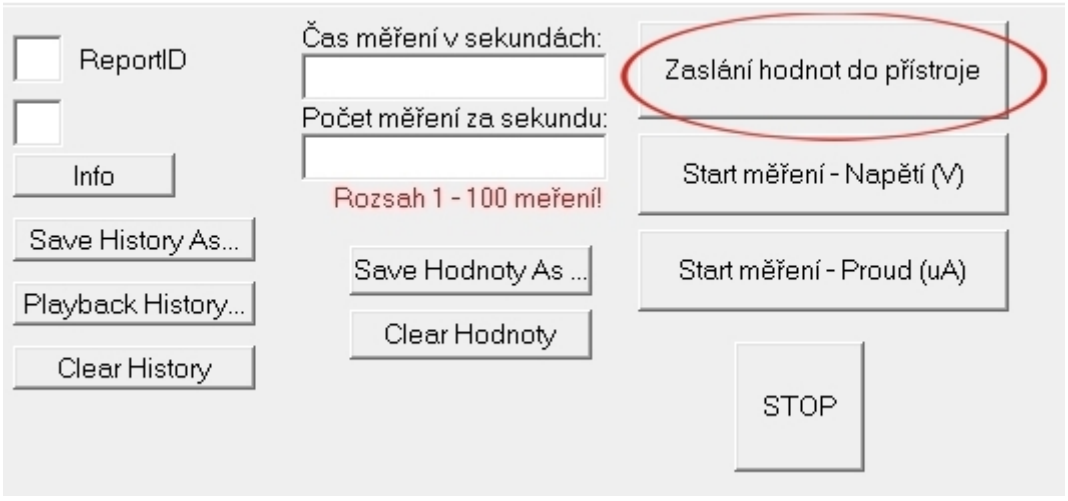
Obrázek 6.8: Náhled hlavního okna měřícího softwaru s označenými body, dle seznamu výše

Postup měření

1)

Obrázek 6.9: 1) Zadáme dobu měření v sekundách (na Obr. 10 min = 600 sec.) a počet měření za sekundu (na Obr. 1 měření za sekundu $\Rightarrow f_s = 1Hz$)

2)

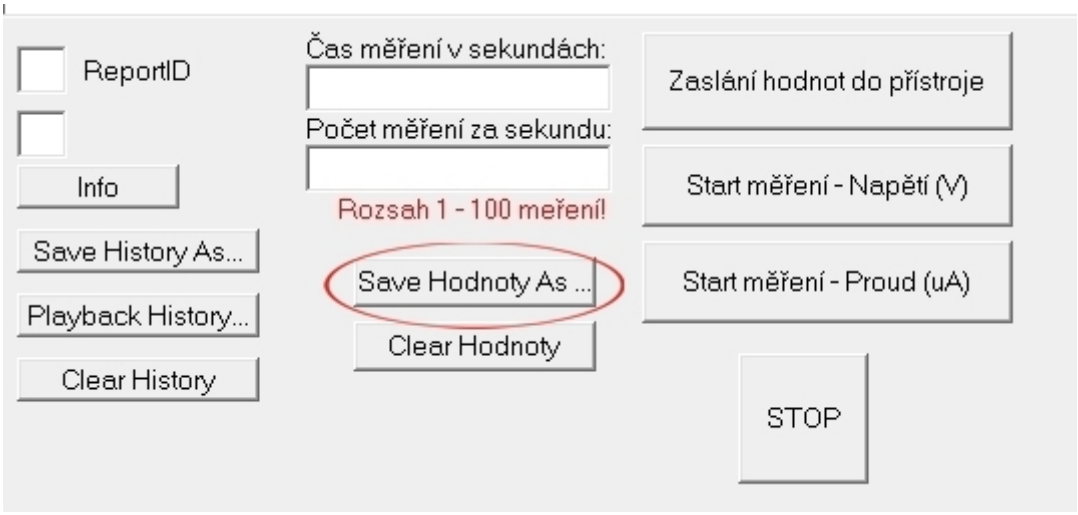


Obrázek 6.10: 2) Klikneme na tlačítko „Zaslání hodnot do přístroje“

3)

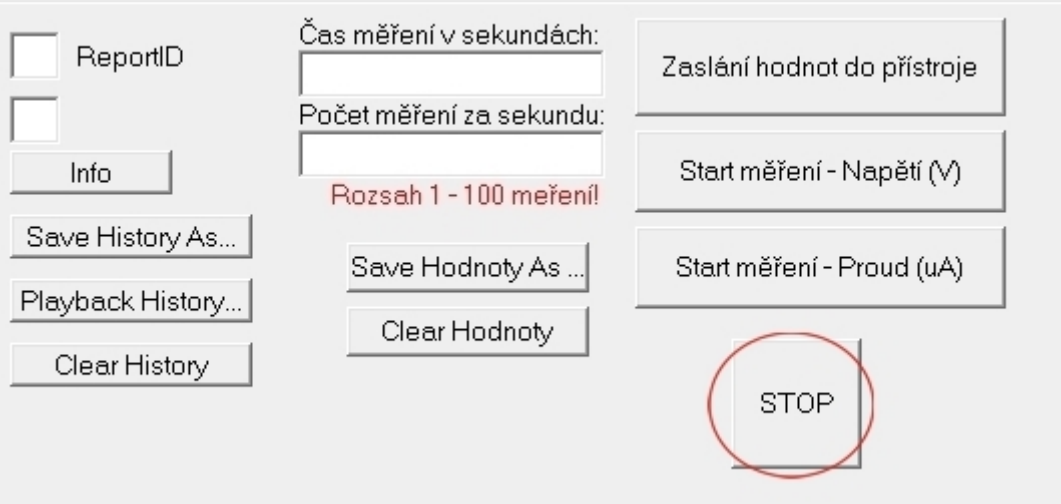
Obrázek 6.11: 3) Vybereme měření veličiny „Start měření - Napětí [V]“ nebo „Start měření - Proud [uA]“

4) Po ukončení měření!



Obrázek 6.12: 4) Klikneme na tlačítko „Save Hodnoty As ...“, objeví se nabídka uložení, kde je možné vybrat umístění souboru, zadáme jméno souboru a klikneme na tlačítko „Uložit“

SOS) V případě potřeby předčasného vypnutí měření



Obrázek 6.13: SOS) Kliknutím na tlačítko „STOP“ se zastaví měření

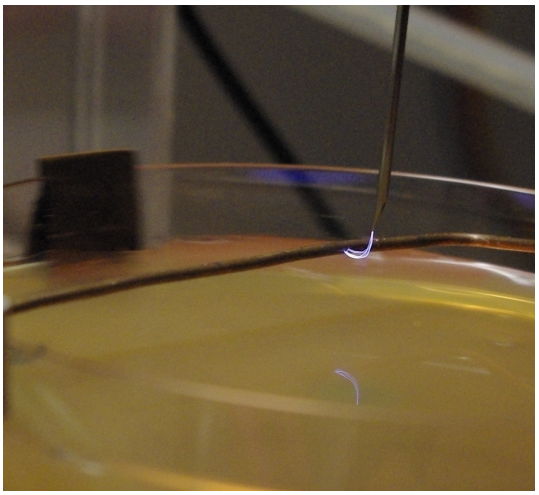
Kontakty

V případě poruchy nebo nefunkčnosti jak měřícho přístroje, tak i programu v PC mě kontaktujte na e-mailu: lk.koudela@gmail.com

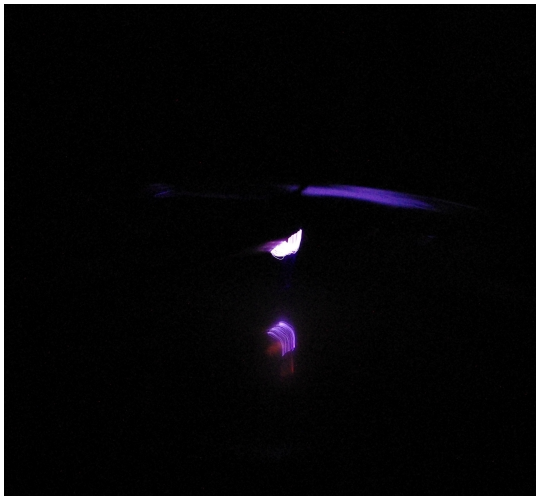
Lukáš Koudela

Příloha č.4 - Vybrané fotografie z pokusů

Obrázek 6.14: Příprava pokusu - nastavení polohy jehly.
Nejprve se nastaví poloha drátku na předem určené místo, následuje nastavení polohy jehly. Vše se odehrává směrem k hladině agaru za pomoci mikroposuvníku na jehle.



Obrázek 6.15: Probíhající pokus za světla



Obrázek 6.16: Probíhající pokus za tmy