

Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Rafael Carvalho Martins

**DESENVOLVIMENTO DE UM BIORREATOR MAGNÉTICO
PARA ESTUDOS EM ENGENHARIA DE TECIDOS**

Dissertação de Mestrado

Mestrado integrado em Engenharia Electrónica Industrial e
Computadores

Trabalho efetuado sob a orientação do

Professor Doutor Vitor Manuel Gomes Correia

Professor Doutor Senentxu Lanceros-Méndez

Novembro de 2017

DECLARAÇÃO

Nome: Rafael Carvalho Martins

Endereço eletrónico: rafaelmartins1994.rm@gmail.com

Telefone: 964706608

Cartão do Cidadão: 14580974

Título da dissertação: Desenvolvimento de um biorreator magnético para estudos em engenharia de tecidos

Orientadores:

Professor Doutor Vitor Manuel Gomes Correia

Professor Doutor Senentxu Lanceros-Méndez

Ano de conclusão: 2017

Mestrado em Engenharia Eletrónica Industrial e Computadores

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Universidade do Minho, ____ / ____ / _____

Assinatura:

Agradecimentos

A realização desta dissertação resultou de muito trabalho e horas de dedicação que culminaram no cumprimento de todo o trabalho proposto ao qual não posso deixar de agradecer a todas as pessoas que fizeram com que tudo isto fosse possível.

Em primeiro lugar, quero agradecer aos meus pais, Manuel Martins e Alcinda Martins, por todo o apoio educacional, financeiro e toda a confiança depositada, não só durante a realização deste trabalho, mas ao longo de todo o meu percurso académico, pois sem eles esta dissertação não seria concretizável.

Quero agradecer aos meus orientadores Professor Doutor Vitor Correia e ao Professor Doutor Senentxu Lanceros-Méndez, por todo o apoio, toda a confiança transmitida, pela boa disposição e profissionalismo com que me receberam e me orientaram ao longo do trabalho.

Um agradecimento muito especial ao Engenheiro Nelson Pereira pela sua disponibilidade e auxílio prestado que foram fundamentais na realização desta dissertação.

Não podia deixar de agradecer ao Miguel Barbosa, que foi o meu companheiro de guerra que me apoiou e me aturou ao longo de toda esta jornada.

Quero deixar o meu agradecimento ao grupo de investigação ESM e a todos os seus membros, pelo companheirismo demonstrado e pelo excelente ambiente proporcionado no grupo.

Quero agradecer à Afonsina, Tuna de Engenharia da Universidade do Minho, e a todos os bons amigos que lá criei, por me terem acolhido e proporcionado os melhores momentos da minha vida académica.

Um especial agradecimento a todos os meus amigos, que estiveram presentes em todos os momentos ao longo desta etapa da minha vida, apoiando e ajudando sempre que precisei.

Um enorme agradecimento à minha namorada, Patrícia Barbosa, por todo o incentivo, apoio e compreensão, que me ajudaram a terminar esta etapa com animo e otimismo.

Por fim, e não menos importante, quero agradecer novamente aos meus pais, à minha irmã e aos meus avós por todo o apoio e excelente ambiente familiar que me proporcionaram ao longo da minha vida, pois sem eles nada disto seria possível.

A todos, um muito obrigado!

Resumo

O uso de biorreatores é uma prática cada vez mais utilizada no ramo da engenharia de tecidos, prática esta, que envolve conceitos de diversas áreas como a biologia, engenharia, química e física. Atualmente, os estímulos estão bastante limitados devido à falta de variedade de estímulos existentes em cada tipo de biorreator, ficando normalmente restringida à área dos estímulos químicos. Este facto, leva à diminuição do número de estímulos que as células são submetidas, sendo, portanto, necessário que as células e compósitos celulares sejam estimulados e testados com recurso a animais antes da sua aplicação em seres humanos. Com isto, os custos, a duração e fiabilidade do cultivo ficam comprometidos ao tipo de estímulos existentes para a sua avaliação, assim como o uso de animais e os seus custos de mantimento associado.

Assim, o principal objetivo desta dissertação consiste no desenvolvimento de um biorreator magnético que permita converter estímulos magnéticos em estímulos mecânicos, elétricos e eletromecânicos através da utilização de materiais apropriados. Assim, o utilizador consegue configurar o biorreator consoante o tipo de cultivo e é-lhe permitido controlar e monitorizar o cultivo celular. Para a concretização desta dissertação foram estudadas, projetadas e desenvolvidas todas as partes constituintes de um biorreator magnético. A estrutura do biorreator foi modelada de modo a permitir a estanquicidade do sistema, a fácil alteração de plataformas magnéticas e garantindo todo o suporte do biorreator, tendo sido modelada em materiais previamente estudados de forma a cumprirem com as funções projetadas. O sistema magnético foi desenvolvido de forma a permitir cultivos celulares em diferentes placas de cultivo, possibilitando o aumento do número de amostras a serem estimuladas ao mesmo tempo. Deste modo foram desenvolvidos dois sistemas: um para magnetização de 24 poços de cultivo e outro para magnetização de 48 poços de cultivo.

Respetivamente ao controlo do biorreator e à monitorização do cultivo, desenvolveu-se uma interface gráfica de controlo local, recorrendo a um LCD e um *touch wheel*, permitindo realizar toda a configuração do sistema, tal como a projeção do *hardware* para o controlo remoto do mesmo através de um módulo Bluetooth, possibilitando o seu controlo a partir de uma aplicação android.

De modo a viabilizar o controlo e monitorização do sistema, foi desenvolvido um sistema de alimentação de forma a alimentar todos os módulos e um sistema de sensorização das várias variantes do sistema, desde todo o *hardware*, *design* e *firmware* necessário para sua implementação.

Palavras-chave: Biorreator; cultivo celular; estímulo mecânico, magnético, magnetoelétrico

Abstract

The use of bioreactors is a practice increasingly used in the field of tissue engineering. This practice involves concepts from several fields, such as biology, engineering, chemistry and physics. However, the stimuli are currently very limited due to lack of variety of stimuli in each type of bioreactor, being typically restricted to chemical stimuli. This leads to a decrease in the number of stimuli that the cells are subjected to, becoming necessary that cells and cell composites need to be stimulated and tested with animals prior to their application in humans. Thus, costs, duration and reliability of the crop are compromised to the type of stimuli that exist for its evaluation, as well as the use of animals and their associated maintenance costs.

Thus, the main goal of this dissertation consists the development of a magnetic bioreactor that allows the conversion of magnetic stimuli into mechanical, electrical and electromechanical stimuli. By using appropriate materials, allowing the user to configure them according to the type of crop, letting to control and monitor the cell culture. For the accomplishment of this dissertation were studied, designed and developed all the constituent parts of a magnetic bioreactor. The structure of the bioreactor was modelled to allow the system to be watertight, the easy change of magnetic platforms and guaranteeing all the support of the bioreactor, having been modelled in previously studied materials to fulfil the projected functions.

The magnetic system was developed to allow cell cultures in different culture plates, permitting the increase of the number of samples to be stimulated at the same time, having developed a system for magnetization of 24 crop wells and another for magnetization of 48 wells.

The control of the bioreactor and the monitoring of the culture, a graphical interface of local control was developed. By using an LCD and a touch wheel, allowing the configuration of the system, such as the projection of the hardware for the remote control of the same one, through a Bluetooth module, allowing its control from an android application.

To enable the control and monitoring of the system, a feed system was developed to feed all the modules and a system for sensing the various variants of the system, from all the hardware, design and firmware required for its implementation.

Keywords: Bioreactor; cell culture; mechanical, magnetic, magnetoelectric stimulus

Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
Índice.....	ix
Índice de figuras.....	xiii
Índice de tabelas.....	xix
Lista de siglas e acrónimos.....	xxi
1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento.....	1
1.2. Motivação.....	2
1.3. Objetivos.....	3
1.4. Organização da dissertação.....	4
2. Estado de arte.....	5
2.1. Engenharia de tecidos.....	5
2.2. Importância dos biorreatores.....	7
2.3. Tipos de biorreatores.....	8
2.3.1. Biorreator frasco Spinner.....	9
2.3.2. Biorreator de parede rotativa.....	10
2.3.3. Biorreator de compressão.....	11
2.3.4. Biorreator de tanque agitado.....	12
2.3.5. Biorreator Wave.....	15
2.3.6. Biorreator pneumático.....	16
2.3.7. Biorreator de estímulo eletromecânico.....	18
2.3.8. Biorreator de estímulo magnético.....	19

2.3.9.	Biorreator magnético	21
2.4.	Sistema de aquisição de dados	22
2.4.1.	Sensores e transdutores	23
2.4.2.	Condicionamento de sinal.....	24
2.5.	Algoritmos de controlo.....	25
2.5.1.	Controlador On-Off.....	25
2.5.2.	Controlador PID.....	26
3.	Biorreator magnético.....	35
3.1.	Sistema magnético.....	36
3.1.1.	Caixa de cultivo de 24 poços	38
3.1.2.	Caixa de cultivo de 48 poços	42
3.2.	Desenho e modelação da estrutura mecânica.....	45
3.2.1.	Caixa do biorreator	46
3.2.2.	Base Geral	50
3.2.3.	Tampa superior	61
3.2.4.	Tampa frontal.....	63
3.3.	Hardware do sistema	64
3.3.1.	Atuador/ Motor.....	65
3.3.2.	Sensorização	69
3.3.3.	Interface de controlo e monitorização.....	75
3.3.4.	Microcontroladores	80
3.3.5.	Sistema de alimentação.....	86
3.4.	PCB's	90
3.4.2.	PCB Geral	91
3.4.3.	PCB de LEDs.....	92
3.4.4.	PCB do Touch Wheel.....	94
3.4.5.	PCB de fim de curso.....	96
3.4.6.	PCB do encoder magnético.....	98
3.4.7.	PCB dos sensores de Hall e de temperatura	99
3.4.8.	Assemblagem das PCB's num só módulo	100

3.5.	Firmware do sistema	101
3.5.1.	Interface gráfica do sistema	102
3.5.2.	Atuador/ Motor.....	105
3.5.3.	Sensores de campo magnético e de temperatura	107
3.5.4.	Funcionamento do sistema	107
3.6.	Montagem do biorreator	111
4.	Testes e validação do protótipo	113
5.	Conclusões e trabalho futuro.....	118
	Referências	121

Índice de figuras

Figura 2.1: Alvos terapêuticos da Engenharia de Tecidos.....	6
Figura 2.2: Tríade da engenharia de tecidos; fatores a serem considerados para a projeção de uma estrutura adequada para aplicações em engenharia de tecido	7
Figura 2.3: Células multipotentes.....	8
Figura 2.4: Funcionamento do biorreator frasco de spinner	9
Figura 2.5: Funcionamento do biorreator de parede rotativa	10
Figura 2.6: Biorreator de parede rotativa	11
Figura 2.7: Esquema de um biorreator de compressão	11
Figura 2.8: Biorreator de compressão do mercado	12
Figura 2.9: Esquema de funcionamento de um biorreator de tanque agitado	13
Figura 2.10: Tipos de agitadores (Radial e Axial)	14
Figura 2.11: Biorreator de tanque agitado do mercado.....	14
Figura 2.12: Movimento de ondas criado pelo biorreator Wave	15
Figura 2.13: Vários biorreatores Wave do mercado com diferentes capacidades	16
Figura 2.14: Biorreatores pneumáticos mais comuns: (a) coluna de bolhas, (b) airlift de cilindros concêntricos.....	17
Figura 2.15: Fotografia e esquemático do biorreator de estímulo eletromecânico.....	18
Figura 2.16: Esquemático do atuador e do sistema de transmissão de movimento	19
Figura 2.17: Primeira configuração do biorreator magnético.....	20
Figura 2.18: Segunda configuração do biorreator magnético	21
Figura 2.19: Estimulo das células com diferentes scaffolds	21
Figura 2.20: Exemplo de um diagrama de blocos de um sistema de aquisição de dados	22
Figura 2.21: Esquema de sensor elétrico	23
Figura 2.22: Operações de condicionamento de sinal.....	24
Figura 2.23: Exemplo de um controlo On-Off, com histerese, de um sistema térmico.....	26
Figura 2.24: Controlo em malha fechada com controlador PID	27
Figura 2.25: Exemplo de resposta de um sistema	28

Figura 2.26: Resposta do sistema para o controlador P com k_p baixo	28
Figura 2.27: Resposta do sistema para o controlador P com k_p alto.....	29
Figura 2.28: Resposta do sistema para o controlador P com k_p muito alto	29
Figura 2.29: Resposta do sistema para o PI.....	30
Figura 2.30: Resposta do sistema para o controlador PD.....	31
Figura 2.31: Resposta do sistema para o controlador PID.....	32
Figura 3.1: Caixas de cultivo celular	35
Figura 3.2: Dimensões das placas de 24 e 48 poços	36
Figura 3.3: COMSOL MULTIPHYSICS.....	36
Figura 3.4: Simulação do campo magnético do eletroímã do laboratório.....	37
Figura 3.5: Medição do campo magnético do eletroímã com uma corrente de 1 A.....	38
Figura 3.6: Carreto do eletroímã	38
Figura 3.7: Simulação do campo magnético de um ímã 15 mm x 3 mm	39
Figura 3.8: Simulação do campo magnético de um módulo com 3 ímãs 15 mm x 3 mm.....	40
Figura 3.9: Distância entre poços da placa de 24 poços.....	40
Figura 3.10: Simulação do campo magnético do eletroímã para a mesa de 24 poços.....	41
Figura 3.11: Simulação do campo magnético de um ímã 10 mm x 5 mm	43
Figura 3.12: Simulação do campo magnético de um módulo de 2 ímãs 10 mm x 5 mm.....	43
Figura 3.13: Distância entre poços da placa de 48 poços.....	44
Figura 3.14: Simulação do campo magnético do eletroímã para a mesa de 48 poços.....	45
Figura 3.15: Estrutura mecânica do biorreator	46
Figura 3.16: PEAD - Polietileno de alta densidade	47
Figura 3.17: Perspetiva isométrica da caixa do biorreator	47
Figura 3.18: Abertura da caixa do biorreator para a ficha de alimentação	48
Figura 3.19: Cavidade para o o-ring (1) e furo para parafuso da tampa (2)	48
Figura 3.20: Corte lateral da vista frontal da caixa do biorreator	49
Figura 3.21: Vista frontal da caixa do biorreator	49
Figura 3.22: Vista lateral da caixa do biorreator.....	50
Figura 3.23: Caixa do biorreator com a ficha de alimentação e duas PCB's posicionadas	50
Figura 3.24: TECAST T natural (PA6 C).....	51
Figura 3.25: Perspetivas isométricas da base geral do biorreator.....	52

Figura 3.26: Base de suporte para toda a estrutura móvel do biorreator	52
Figura 3.27: Base de suporte à plataforma magnética com motor, PCB's e guias colocadas	53
Figura 3.28: Suporte da plataforma magnética e acessórios.....	54
Figura 3.29: Base do suporte da plataforma magnética.....	54
Figura 3.30: Rolamentos lineares	55
Figura 3.31: Eixo roscado (1) e acoplador (2) à base do suporte	56
Figura 3.32: Acoplador do eixo roscado ao motor.....	56
Figura 3.33: Indicadores de fim de curso.....	56
Figura 3.34: Sistema mecânico para movimentação da mesa magnética	57
Figura 3.35: Variadores de altura da plataforma magnética.....	57
Figura 3.36: Mesa magnética de 28 poços e vista em corte	58
Figura 3.37: Vista em corte da mesa de 28 poços e a placa de cultivo de 24 poços	59
Figura 3.38: Mesa magnética de 54 poços e vista em corte	59
Figura 3.39: Vista em corte da mesa de 54 poços e a placa de cultivo de 48 poços	60
Figura 3.40: Mesas de 28 e 54 com ímanes.....	60
Figura 3.41: Duas perspetivas da base geral com a mesa de 28 e a de 54 poços.....	61
Figura 3.42: Policarbonato transparente compacto	61
Figura 3.43: Tampa da cima do biorreator	62
Figura 3.44: Vista em corte da tampa superior do biorreator	62
Figura 3.45: Vista em corte da tampa do biorreator com placa de cultivo, células e sensor	62
Figura 3.46: Vista frontal (esquerda) e vista traseira (direita) da tampa frontal do biorreator.....	63
Figura 3.47: Tampa frontal com vidro, LCD e touch wheel.....	64
Figura 3.48: Esquema do sistema eletrónico do biorreator	65
Figura 3.49: Circuito do driver do motor.....	67
Figura 3.50: Caminhos da corrente da Ponte-H.....	68
Figura 3.51: Circuito do sensor ótico.....	70
Figura 3.52: Circuito de configuração do encoder magnético.....	71
Figura 3.53: Circuito de configuração bipolar do sensor de campo magnético	72
Figura 3.54: Circuito do sensor de temperatura	74
Figura 3.55: Gráfico Tensão vs Temperatura do sensor de temperatura.....	74
Figura 3.56: Esquema de ligações do conector do LCD.....	76

Figura 3.57: Arquitetura de desenho escolhida para o touch wheel.....	77
Figura 3.58: Esquemático do touch wheel e arquitetura de desenho.....	77
Figura 3.59: Circuito dos LEDs RGB.....	78
Figura 3.60: Controlo remoto do biorreator	79
Figura 3.61: Esquemático de ligações do módulo Bluetooth	80
Figura 3.62: Esquemático de ligações do microcontrolador STM32F303RET6	83
Figura 3.63: Esquemático de ligações do microcontrolador STM32F091CBT6.....	86
Figura 3.64: Circuito da fonte de tensão 12 V – 5 V	87
Figura 3.65: Gráfico de dimensionamento dos componentes do step-down.....	88
Figura 3.66: Circuito do regulador de tensão LD1117	89
Figura 3.67: SOLIDWORKS PCB	90
Figura 3.68: Vista superior com projeção ortográfica da PCB Geral.....	91
Figura 3.69: Desenho das pistas com respetivo plano de massa nas duas camadas da PCB Geral	91
Figura 3.70: Projeção e resultado final da PCB Geral	92
Figura 3.71: Vista superior com projeção ortográfica da PCB de LED's	92
Figura 3.72: Desenho das pistas com respetivo plano de massa nas duas camadas da PCB de LED's	93
Figura 3.73: Projeção e resultado final das duas camadas da PCB de LED's	94
Figura 3.74: Vista superior com projeção ortográfica da PCB do Touch Wheel	95
Figura 3.75: Desenho das duas camadas da PCB do Touch Wheel.....	95
Figura 3.76: Projeção e resultado final das duas camadas da PCB do Touch Wheel.....	96
Figura 3.77: Vista superior com projeção ortográfica da PCB de fim de curso.....	97
Figura 3.78: Desenho das pistas com respetivo plano de massa da PCB de fim de curso	97
Figura 3.79: Projeção e resultado final das duas camadas da PCB do Touch Wheel.....	97
Figura 3.80: Vista superior com projeção ortográfica da PCB do encoder magnético.....	98
Figura 3.81: Desenho das pistas com respetivo plano de massa da PCB do encoder magnético	98
Figura 3.82: Projeção e resultado final da PCB do encoder magnético.....	98
Figura 3.83: Vista superior com projeção ortográfica da PCB do encoder magnético.....	99
Figura 3.84: Desenho das pistas com respetivo plano de massa das PCB's dos sensores de Hall e de temperatura	99
Figura 3.85: Projeção e resultado final das duas PCB's dos sensores de Hall e de temperatura	100
Figura 3.86: Assemblagem de todas as PCB's num só módulo.....	100

Figura 3.87: Pontos de apoios das PCB's no módulo geral.....	101
Figura 3.88: Projeção e resultado final das duas camadas do módulo geral das PCB's.....	101
Figura 3.89: KEIL μ Vision [®] 5	102
Figura 3.90: Esquema da interface gráfica do biorreator.....	104
Figura 3.91: Fluxograma do controlador PID do motor	106
Figura 3.92: Fluxograma do MENU 2	108
Figura 3.93: Fluxograma do MENU 6	110
Figura 3.94: Vista explodida em quatro ângulos diferentes de todas as partes do biorreator	111
Figura 3.95: Biorreator desmontado em peças.....	111
Figura 3.96: Projeção final do Biorreator	112
Figura 3.97: Montagem final do biorreator	112
Figura 4.1: Caixa do biorreator modelada em PEAD	113
Figura 4.2: Mesa magnética modelada em PEAD	113
Figura 4.3: Base geral e os seus componentes e acessórios.....	114
Figura 4.4: Tampa frontal do biorreator modelada em PEAD	114
Figura 4.5: Tampa superior modelada em policarbonato transparente compacto e tampa frontal com o LCD e o touch	114
Figura 4.6: Dados do sensor de temperatura e do sensor de campo magnético mostrados no LCD..	115
Figura 4.7: Simulação de um cultivo	116

Índice de tabelas

Tabela 2.1: Tipos de sensores mais comuns e o respetivo fenómeno de medição.....	23
Tabela 2.2: Efeito das ações do controlo PID nos sistemas.....	32
Tabela 2.3: Cálculo dos parâmetros do PID usando o método de Ziegler-Nichols	33
Tabela 3.1: Caracterização do eletroíman	37
Tabela 3.2: Características do imanes permanentes para a placa de 24 poços.....	39
Tabela 3.3: Características para o eletroíman para placa de 24 poços.....	41
Tabela 3.4: Características do imanes permanentes para a placa de 48 poços.....	42
Tabela 3.5: Características para o eletroíman para placa de 48 poços.....	44
Tabela 3.6: Comparação entre dois motores DC e um de passo.....	66
Tabela 3.7: Características do driver do motor escolhido	67
Tabela 3.8: Controlo da Ponte-H	68
Tabela 3.9: Características do sensor ótico escolhido	69
Tabela 3.10:Características do sensor de posição rotativo sem contacto escolhido	71
Tabela 3.11: Sequência de bits.....	71
Tabela 3.12: Características do sensor de campo magnético escolhido	72
Tabela 3.13: Características do sensor de temperatura escolhido.....	73
Tabela 3.14: Características do LCD escolhido.....	75
Tabela 3.15: Características do LED RGB escolhido	78
Tabela 3.16: Composição dos 24 bit de dados.....	78
Tabela 3.17: Características do módulo Bluetooth escolhido	79
Tabela 3.18: Comparação entre 4 opções para o microcontrolador principal	81
Tabela 3.19: Comparação entre 4 opções para o microcontrolador secundário.....	84
Tabela 3.20: Características do regulador de tensão 12 V - 5 V	87
Tabela 3.21: Componentes e preços utilizados para a fonte de tensão 12 V - 5 V	88
Tabela 3.22: Características do regulador de tensão 5 V - 3,3 V	89

Lista de siglas e acrónimos

ADC – *Analog-to-Digital Converter*

DAC – *Digital-to-Analog Converter*

ESM - *Eleetroactive Smart Materials*

HDPE – *High Density PolyEthylene*

I/O – *Input/ Output*

LCD - *Liquid Crystal Display*

LED - *Light Emitting Diode*

LVDT - *Linear Variable Differential Transformer*

MOSFET - *Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor*

NASA - *National Aeronautics and Space Administration*

NC3R - *National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research*

PBS – *Pneumatic Bioreactor System*

PCB - *Printed Circuit Board*

PEAD – **P**oli**E**tileno de **A**lta **D**ensidade

PID – **P**roporcional **I**ntegrativo **D**erivativo

PWM – *Pulse-Width Modulation*

RCC – *Reset and Clock Control*

RGB – *Red Green Blue*

RPM – **R**otações **P**or **M**inuto

SMD – *Surface-Mount Device*

SPI – *Serial Peripheral Interface*

STM – **ST**Microelectronics

SWD – *Serial Wire Debug*

TI – **T**exas **I**nstruments

TSC – *Touch Sensing Controller*

USART - *Universal Synchronous/Asynchronous Receiver/Transmitter*

1. Introdução

Neste capítulo é realizado o enquadramento do trabalho a desenvolver. Além disso, são apresentadas as motivações que levaram à realização desta dissertação, sendo definidos os principais objetivos a atingir nesta dissertação, e por fim é apresentada a estrutura e organização deste documento.

1.1. Enquadramento

Nos dias de hoje, o desenvolvimento do ramo da Engenharia Biomédica e, em particular da Engenharia de Tecidos, tem apresentado uma grande evolução [1]. Este ramo envolve conhecimentos de diversas áreas, tais como, biologia, engenharia química e física. Tem vindo a utilizar materiais biodegradáveis sintéticos ou naturais para o desenvolvimento e manipulação de moléculas, células ou tecidos de forma a substituir ou regenerar a forma/função de um tecido danificado de uma pessoa afetado com doenças degenerativas crónicas [2]. De modo a fornecer um ambiente apropriado a esse desenvolvimento e manipulação são geralmente utilizados biorreatores.

Um biorreator permite, através de diferentes tipos de estímulos, desenvolver modelos de estudo e estratégias para o cultivo e a estimulação celular. Deste modo tem vindo a melhorar significativamente a sua viabilidade e funcionalidade, oferecendo um maior grau de robustez, consistência, reprodutibilidade e previsibilidade. Assim sendo, os biorreatores possibilitam o controlo e reprodução de fatores específicos, nomeadamente ambientes biologicamente ativos, fornecendo os meios tecnológicos necessários para revelar os mecanismos fundamentais da função celular, melhorando dessa forma, a qualidade e a veracidade na aplicação na engenharia de tecidos. O biorreator é utilizado para fazer uma seleção mais reduzida de ensaios em animais antes da sua aplicação em seres humanos, poupando assim tempo, custos em animais e na sua manutenção e, acima de tudo, reduzindo a utilização de animais neste tipo de ensaios.

Esta dissertação consiste no estudo e desenvolvimento de um novo conceito de biorreatores magnéticos. Este tipo de biorreatores permite converter os estímulos magnéticos em estímulos mecânicos, utilizando materiais magnetostrictivos, ou em estímulos elétricos e eletromecânicos com a utilização de materiais magnetoelétricos. Os biorreatores magnéticos e magnetoelétricos são uma novidade no ramo dos aparelhos da biomedicina. Com isto, visa-se a criação de um novo produto, baseado numa prova de

conceito, que seja capaz de fornecer estímulos mecânicos, elétricos e eletromecânicos aos cultivos celulares, com um maior controlo sobre os estímulos bem como o controlo e monitorização das várias componentes do sistema.

1.2. Motivação

Atualmente, diversas pessoas são afetadas mundialmente por problemas degenerativos em células dos tecidos ósseos, nervosos, adiposos, cartilaginoso, conjuntivos, musculares ou epiteliais do corpo humano, causando uma degeneração progressiva do organismo como um todo. Estas doenças crónicas degenerativas agravam com o envelhecimento humano, pelo que, com o constante envelhecimento da população mundial, estes casos tendem a aumentar [3][4].

Com o uso de biorreatores através de estímulos mecânicos, magnéticos ou magnetoelétricos em conjunto com a utilização de materiais biodegradáveis sintéticos ou naturais é possível substituir ou regenerar a forma/ função de um tecido danificado de uma pessoa com uma doença crónica através da culturação *in vitro*.

Com o desenvolvimento deste biorreator, vai-se ao encontro do princípio dos 3Rs defendido pela organização britânica NC3R^s (*National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research*). Esta, promove o bem estar animal, métodos substitutos e a redução ao uso de animais para o cultivo celular utilizando novos modelos de culturação *in vitro* que consigam reproduzir as condições do corpo humano [5].

Para desenvolver estes modelos de estudo e estratégias para o cultivo e estimulação celular *in vitro* é indispensável uma análise detalhada de todas as componentes imprescindíveis à culturação dos tecidos. Desta forma é possível criar um biorreator cujo funcionamento seja pensado, estudado e implementado ao detalhe para que seja possível fornecer as condições necessárias ao cultivo celular ou regeneração de tecidos danificados.

Em suma, os biorreatores têm um papel essencial na engenharia de tecidos, possibilitando soluções decisivas e de expectativa para muitos pacientes com este tipo de doenças crónicas, sendo reduzida a utilização e o sacrifício de animais.

1.3. Objetivos

O objetivo geral/principal desta dissertação passa pelo **desenvolvimento de um biorreator magnético para estudos em engenharia de tecidos baseado em ímanes permanentes**.

Portanto, os objetivos específicos para este trabalho consistem no:

- **Desenvolvimento de uma caixa estanque cumprindo os requisitos para uma certificação IP68-69K.** Ou seja, devido ao contacto com células no cultivo celular, o biorreator tem de ser submetido a um processo de lavagem a jato e de esterilização ao qual deve suportar sem qualquer danificação do seu sistema.
- **Desenvolvimento de um conjunto de campos magnéticos variáveis.** O sistema deve assegurar a criação de 24 ou 48 campos magnéticos de forma a estimular partículas magnetoestrutivas e/ou magnetoelétricas induzindo assim variações mecânicas e/ou elétricas durante o cultivo celular.
- **Desenvolvimento de um sistema mecânico capaz de variar a frequência de oscilação e a densidade de fluxo magnético.** O sistema mecânico de suporte à plataforma magnética deve permitir, fazendo variar a velocidade do motor, a variação da frequência de oscilação do campo magnético pois para cada tipo de célula é necessária uma frequência de oscilação do campo magnético diferente. O sistema também deverá permitir, variando a altura da plataforma magnética, a variação da densidade de fluxo magnético, dependendo do tipo de células sujeitas ao cultivo.
- **Desenvolvimento de um sistema de sensorização do biorreator.** O sistema de sensorização deverá ser composto por vários sensores. Desde sensores óticos para delimitar o movimento da plataforma magnética de forma a evitar, de forma segura, a colisão com as paredes da caixa. Sensores de posição rotativo sem contacto (*encoder* magnético) para medir com precisão a posição e velocidade da plataforma magnética. Sensores de temperatura para medir a temperatura interior do biorreator. Além disso, sensores de campo magnético (*Hall*) para medir a densidade de fluxo magnético.
- **Desenvolvimento de uma interface gráfica e de um *touch wheel* para monitorização e controlo local do biorreator.** A interface gráfica deverá monitorizar, através de um LCD instalado no biorreator, as variáveis do sistema, permitindo ao utilizador escolher qual o programa para o cultivo, saber qual o estado do cultivo assim como monitorizar os parâmetros

inerentes ao biorreator (temperatura, densidade de fluxo magnético, frequência de oscilação do campo magnético, tempo previsto para o fim, etc.). O *touch wheel* deverá permitir o controlo de todo o biorreator e a navegação na interface gráfica. Portanto, de forma a devolver um *feedback* ao utilizador, o *touch wheel* deverá ter um anel de LEDs que devem interagir com a utilização do biorreator.

- **Dimensionamento do sistema, para um futuro controlo através de aplicação android para monitorização e controlo remoto do biorreator.** O *hardware* deverá estar preparado para suportar a comunicação com uma aplicação android permitindo a interação com o biorreator à distância, através de um módulo *Bluetooth*, e possibilitando todo o controlo e monitorização do biorreator, tal como a interface gráfica referida anteriormente.

1.4. Organização da dissertação

Este documento está dividido em 5 capítulos. Neste capítulo introdutório apresenta-se o enquadramento do tema da dissertação e a respetiva motivação. Além disso, destacam-se os objetivos que se pretende atingir com o desenvolvimento desta dissertação.

No capítulo 2 é inicialmente feita uma introdução ao tema da dissertação, engenharia de tecidos, indicando qual a importância dos biorreatores para a engenharia de tecidos. Também se apresentam os principais tipos de biorreatores existentes, fazendo uma breve descrição, indicando vantagens e desvantagens de cada um. Por fim é feito um pequeno estudo sobre sistema de aquisição de dados.

No capítulo 3 apresenta-se todo o trabalho realizado para o biorreator, subdividindo o capítulo em 6 partes. É abordado o sistema magnético escolhido para os estímulos celulares, o desenho e modelação da estrutura mecânica do biorreator, justificando e explicando todo o *hardware* escolhido, assim como as placas de circuito impresso desenvolvidas como suporte ao *hardware*. Também é apresentado o *firmware* do sistema, onde são explicados os algoritmos e fluxogramas de funcionamento do biorreator. Por fim é mostrada a montagem do biorreator, dando ênfase às partes constituintes deste.

No capítulo 4 apresentam-se os testes que foram realizados às diferentes partes do biorreator, sendo mostrada a validação da prova de conceito em que o desenvolvimento deste biorreator magnético foi baseado.

Por fim, no capítulo 5, são apresentadas as conclusões gerais do trabalho realizado e algumas sugestões de trabalho futuro.

2. Estado de arte

Este capítulo apresenta uma visão geral da história e evolução da engenharia de tecidos, seguindo da importância dos biorreatores para essa evolução e em que é que estes contribuíram para o mundo. Faz-se um levantamento dos vários tipos de biorreatores existentes tal como das suas vantagens e desvantagens. Por fim faz-se um estudo sobre sistemas de aquisição de dados.

2.1. Engenharia de tecidos

A engenharia de tecidos é um ramo da engenharia biomédica que tem apresentado uma evolução exponencial ao longo dos últimos anos vindo a abranger áreas como a biologia, medicina, física e a engenharia [1].

É uma ciência que foi inicialmente definida, em 1988, no encontro patrocinado pela *National Science Foundation*, como uma área que utiliza os princípios da engenharia e das ciências da vida com o objetivo de desenvolver suportes biológicos ou sintéticos de forma a restaurar, manter ou a melhorar a função do tecido ou órgão danificado [6].

Para o cultivo de tecidos viáveis e funcionais, são utilizadas duas estratégias. A primeira consiste na criação de uma estrutura que possa ser estimulada e que suporte e impulse o crescimento celular após a sua implantação no local pretendido do organismo. A segunda, consiste na formação de tecido *in vitro* em estruturas de suporte celular apropriadas antes de ser implantado no organismo [7].

A engenharia de tecidos tem como alvos terapêuticos uma vasta gama de tecidos celulares, abrangendo uma grande parte dos sistemas do corpo humano. O ser humano requer um bom funcionamento de todos os sistemas e órgãos envolventes para uma boa realização das funções vitais do organismo. Como ilustrado na Figura 2.1, os sistemas do corpo humano alvos terapêuticos da engenharia de tecidos são: o sistema cardiovascular [8], que garante o transporte de oxigénio e nutrientes para todo o corpo através da movimentação sanguínea; o sistema digestivo [9], que faz a digestão dos alimentos permitindo ao organismo absorver os nutrientes necessários dos alimentos e eliminação de resíduos; o sistema nervoso [10], que estabelece comunicação entre as diferentes partes do corpo, interpretando, e respondendo aos estímulos; o sistema endócrino [11], que regula o funcionamento do corpo produzindo hormonas; o sistema tegumentar [12], ajuda a regular a temperatura corporal, atuando como barreira de proteção a

agressões externas e tem também um papel sensorial; o sistema urinário [13], que é o sistema que filtra e elimina as impurezas do sangue; o sistema esquelético [14], que dá a forma e sustenta o corpo humano, protegendo os órgãos internos e sendo também fulcral para os movimentos do corpo; por fim, o sistema muscular [15], que estabiliza e sustenta todo o corpo humano, permitindo a produção de movimentos, igualmente contribuindo para a regularização da temperatura corporal e a movimentação do fluxo sanguíneo [16], [17].

Cardiovascular Digestivo Nervoso Endócrino Tegumentar Urinário Esquelético Muscular

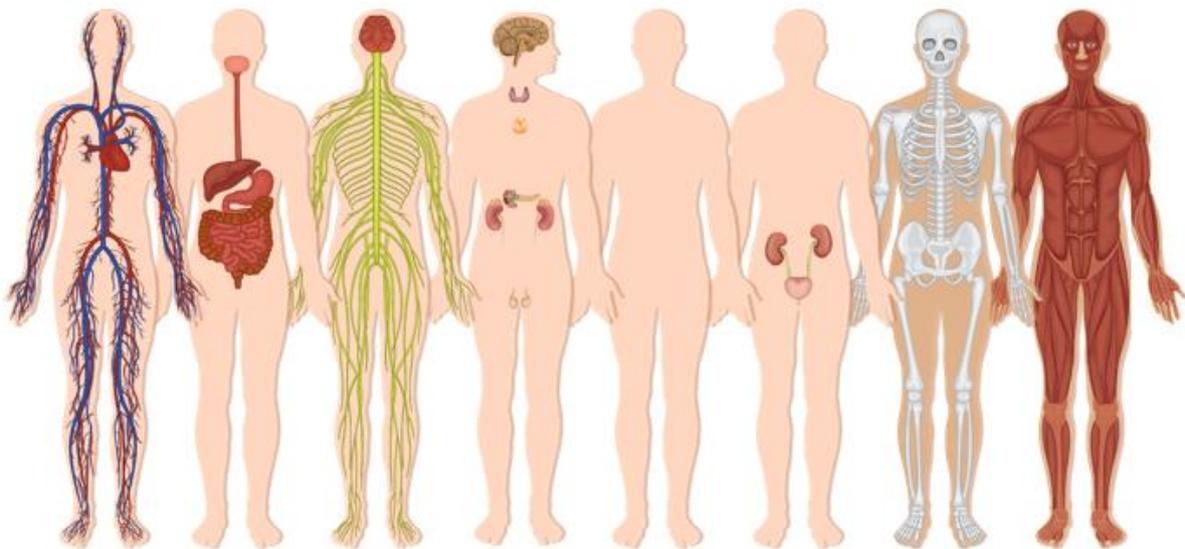


Figura 2.1: Alvos terapêuticos da Engenharia de Tecidos [16]

Para o cultivo de um novo tecido, na engenharia de tecidos, são necessárias três ferramentas fundamentais: células, *scaffolds* (suportes) e estímulos (biorreator), Figura 2.2. As células são fundamentais para o cultivo do tecido, pois contém a informação pré-programada que permite a formação e regeneração de tecidos. Para isso é necessário um material que sirva de suporte, denominado de *scaffold*, tornando assim possível o cultivo das células. De forma a reproduzir o ambiente em que as células e as estruturas de suporte necessitam para o cultivo, são utilizados estímulos bioquímicos (fatores de crescimento) e estímulos biofísicos utilizando, por exemplo, um biorreator [18].

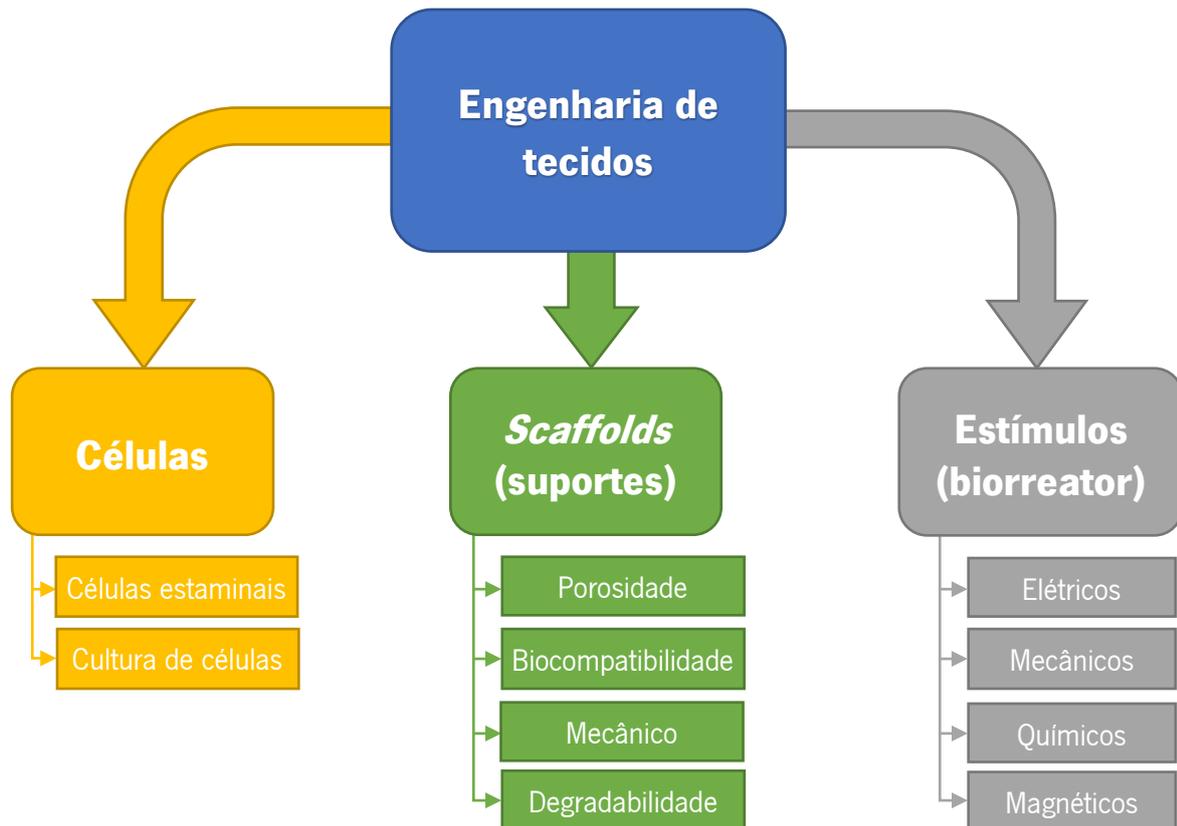


Figura 2.2: Tríade da engenharia de tecidos; fatores a serem considerados para a projeção de uma estrutura adequada para aplicações em engenharia de tecido [19], [20]

2.2. Importância dos biorreatores

Os biorreatores têm sido utilizados há vários anos em diferentes áreas da engenharia de tecidos. São utilizados em áreas como a fermentação, tratamento de águas, processamento de alimentos e a produção de produtos farmacêuticos [21]. Esses biorreatores funcionam com base em processos biológicos e bioquímicos, tendo um ambiente estritamente monitorizado e bem controlado.

Desde a década de 1980 que os biorreatores têm sido também utilizados na cultura de células animais, produzindo vacinas e fármacos para o cultivo de grandes populações celulares. Na engenharia de tecidos os biorreatores progrediram desses dispositivos. Sendo um biorreator de engenharia de tecidos definido como um dispositivo que utiliza meios mecânicos para influenciar processos biológicos [22]. Estes podem ser utilizados para ultrapassar problemas existentes associados às condições tradicionais de cultura de células, melhorando a distribuição celular e acelerando o crescimento celular [23]. Para o

desenvolvimento *in vitro* de novos tecidos, são utilizados biorreatores para fornecer estímulos bioquímicos e físicos às células para posteriormente serem implantados *in vivo*¹.

Existe um grande potencial no uso de células estaminais e células multipotentes (Figura 2.3) para a criação de diferentes tipos de células, e os biorreatores têm um papel fundamental nesse processo.

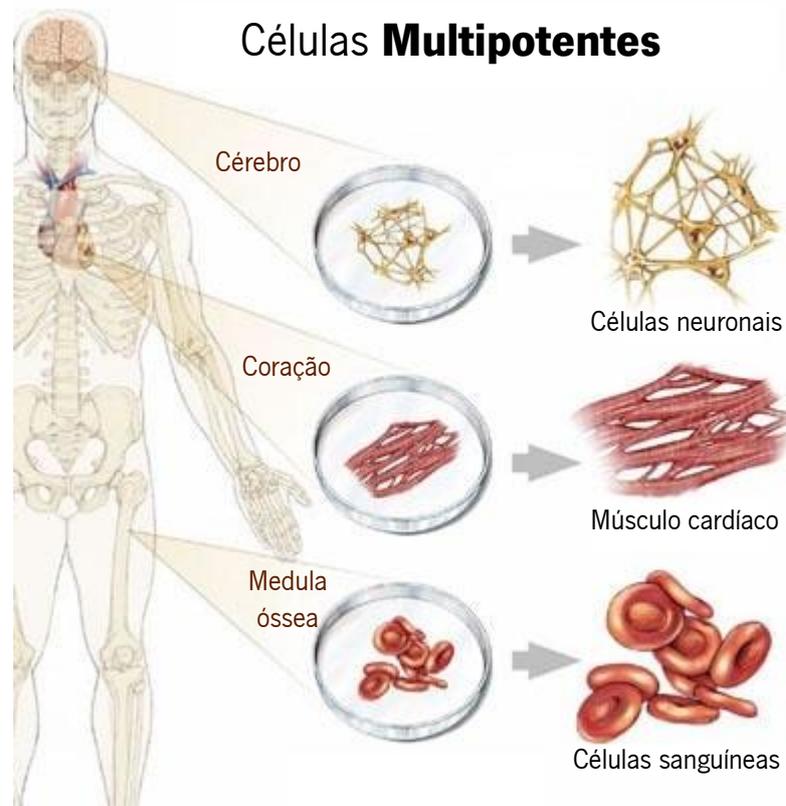


Figura 2.3: Células multipotentes [23]

Um biorreator, permite também a realização de uma “filtragem” nos compósitos utilizados em cultivo celular, de modo a reduzir o número de testes falhados em animais, pois assim, obtém-se resultados mais rapidamente, de forma mais barata e com um menor número de sacrifícios desnecessários de animais.

2.3. Tipos de biorreatores

Com a evolução de diversos biorreatores desenvolveram-se novos modelos de estudo e estratégias de cultivo celular permitindo obter um ambiente controlável e mecanicamente ativo, potenciando o aperfeiçoamento da estrutura, das propriedades e da integração dos tecidos.

¹ *In vivo* significa que ocorre/tem lugar dentro de um organismo.

Para as várias aplicações na engenharia de tecidos, existem diferentes tipos de biorreatores que são utilizados, desde os mais simples aos mais complexos.

2.3.1. Biorreator frasco *Spinner*

O frasco de *Spinner* é uma forma básica de um biorreator de engenharia de tecidos, um dos biorreatores mais simples e mais utilizados, que é ideal para cultivos em condições estáticas. Uma das principais vantagens deste biorreator é o facto de permitir manter um ambiente perfeitamente misturado dentro do balão, o que reduz a camada estagnada das células, evitando assim que se torne num ambiente mal misturado. Por outro lado, os frascos de *spinner* nem sempre são ideais, uma vez que o movimento constante da mistura tem tendência a causar um fluxo turbulento dentro da cápsula e um alto risco de deformação associado, provocando a formação de uma cápsula fibrosa externa no tecido. A Figura 2.4 ilustra o funcionamento de um frasco de *spinner*, os *scaffolds* são suspensos nas agulhas, e estas são posteriormente colocadas no meio do frasco. O meio é agitado com um agitador magnético induzindo a mistura dos nutrientes com o *scaffold*.

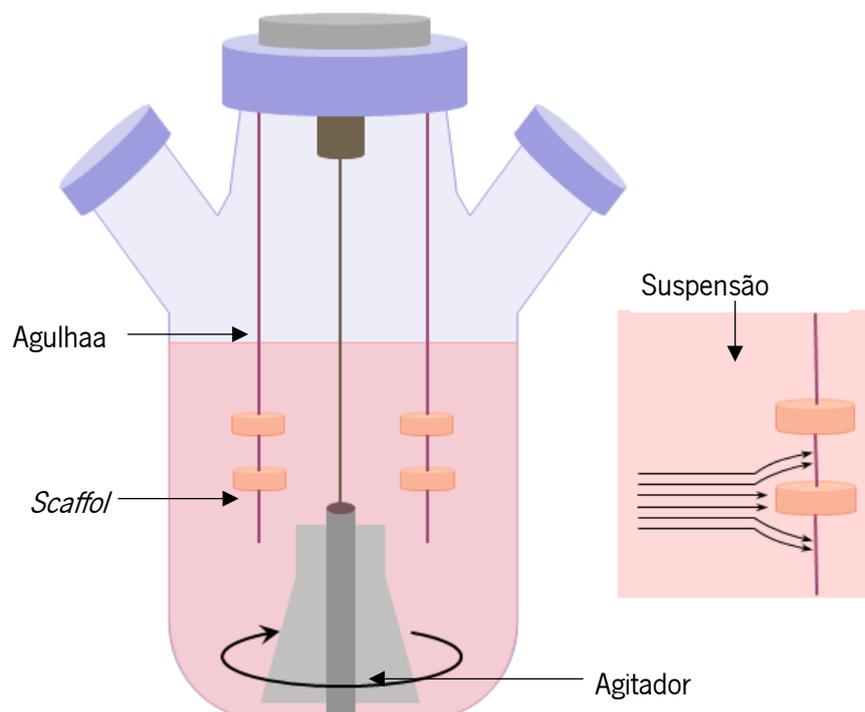


Figura 2.4: Funcionamento do biorreator frasco de *spinner* [24]

Os frascos de *spinner* são destinados a produções em pequena escala. A eficiência do cultivo das células geralmente é baixa, pois este método não consegue entregar homogeneamente a distribuição celular em todo o *scaffold* e as células ocupam predominantemente a periferia da construção [25], [26].

2.3.2. Biorreator de parede rotativa

O biorreator de parede rotativa foi desenvolvido pela NASA (*National Aeronautics and Space Administration*), projetado inicialmente para proteger as experiências de cultivo celular das forças que estavam sujeitas na descolagem e aterragem das naves espaciais [27]. Contudo, mais tarde o dispositivo mostrou também ser vantajoso na engenharia de tecidos. Um biorreator de parede rotativa consiste numa câmara cilíndrica onde a parede é capaz de rodar a uma velocidade angular constante. A parede do cilindro é rodada a uma velocidade capaz de conseguir o equilíbrio entre a força gravitacional (F_g) para baixo, a força de arrasto hidrodinâmica (F_d) para cima e a força centrífuga (F_c) para o centro, originando um ambiente de microgravidade que é aplicado em cada *scaffold*, como mostra a Figura 2.5.

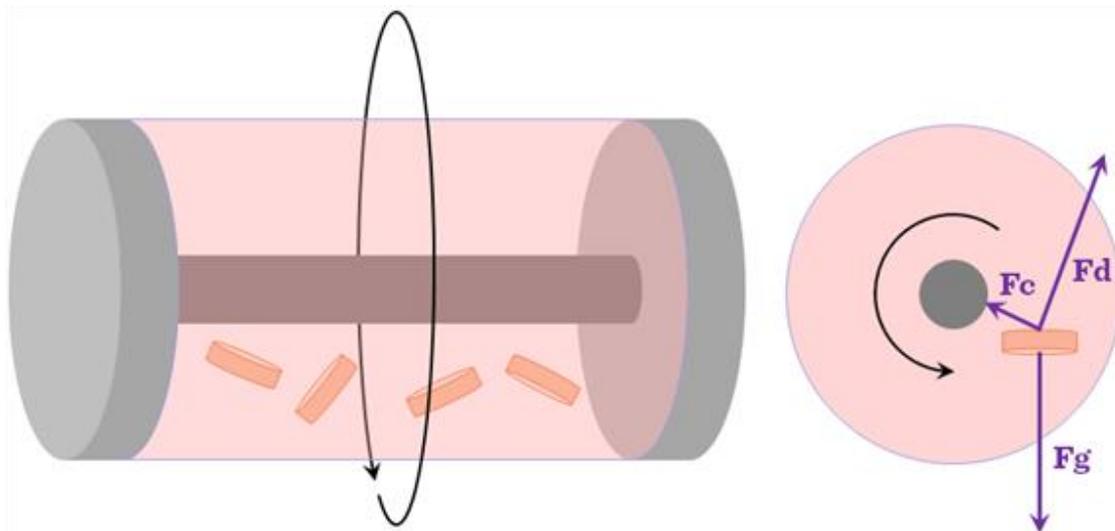


Figura 2.5: Funcionamento do biorreator de parede rotativa [24]

Este equilíbrio de forças resulta na suspensão dos *scaffolds* no meio celular maximizando a transferência de massa e reduzindo os esforços de cisalhamento [28]. Por outro lado, a principal desvantagem deste biorreator é que o crescimento celular que nem sempre é uniforme devido à ação rotativa dos cilindros. Ou seja, os *scaffolds* da cápsula tendem a saltar para a parede do cilindro, causando danos celulares ao cultivo.

Na Figura 2.6 pode-se observar um biorreator de parede rotativa existente no mercado. Estes biorreatores geralmente funcionam com velocidades angulares compreendidas entre os 15-30 rpm. Esta variação de velocidade deve-se ao crescimento dos tecidos, ou seja, à medida que a massa do tecido aumenta e as células crescem no biorreator, a velocidade de rotação deve ser aumentada para equilibrar as forças e garantir que o *scaffold* fique sempre num ambiente de microgravidade.

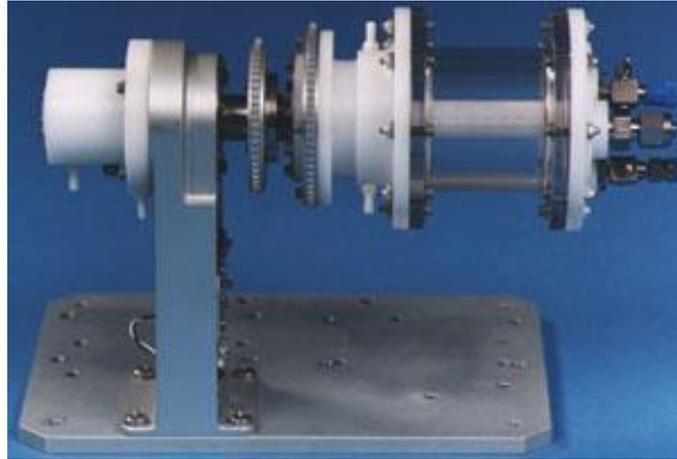


Figura 2.6: Biorreator de parede rotativa [27]

2.3.3. Biorreator de compressão

O biorreator de compressão é outro tipo de biorreator muito utilizado na engenharia de tecidos, principalmente nos tecidos cartilagosos, que tanto pode ser aplicado para o carregamento estático como para o dinâmico. No entanto, o mais utilizado é o carregamento dinâmico, uma vez que se trata do mais benéfico e mais representativo da deposição do tecido fisiológico, vindo também a oferecer melhores resultados em comparação com os outros estímulos [29], [30].

Os biorreatores de compressão são constituídos por um motor, que auxilia um sistema que proporciona um movimento linear vertical, e um sistema de controlo que proporciona diferentes magnitudes e frequências de oscilação do motor, Figura 2.7.

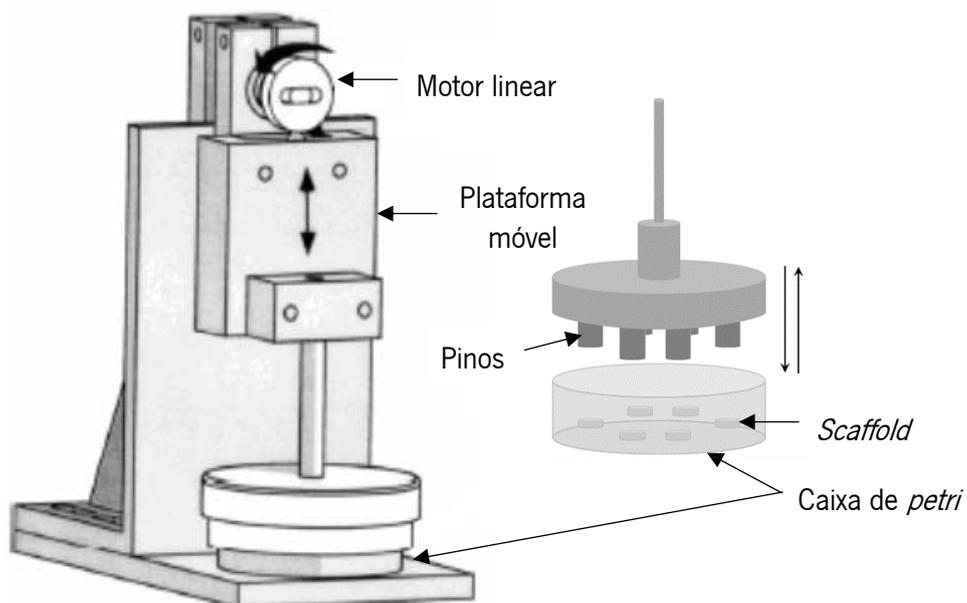


Figura 2.7: Esquema de um biorreator de compressão [24]

O motor pode ser controlado por um microcontrolador, este controlado por computador, definindo a carga que é exercida sobre as células na caixa de *petri*. A carga é transferida para os *scaffolds* através de pinos, que distribuem a carga uniformemente. No entanto, neste dispositivo ao estimular múltiplas células simultaneamente, deve-se ter em atenção que os *scaffolds* apresentem uma altura similar, caso contrário, a carga aplicada ao *scaffold* variará consoante a altura do mesmo, tornando assim o cultivo desequilibrado [31].

O biorreator de compressão apresentado na Figura 2.8 é um modelo avançado deste tipo de biorreatores, que é composto por um sistema de controlo e monitorização do cultivo celular e um sistema de incubação, com capacidade de escolha do tamanho do compressor mecânico, ou seja, a capacidade de acomodação de amostras, podendo ir de 1 até 12 amostras [32].



Figura 2.8: Biorreator de compressão do mercado [32]

2.3.4. Biorreator de tanque agitado

O biorreator de tanque agitado, Figura 2.9, é o mais importante para processos de produção industrial pelas suas capacidades de produção. Este foi desenvolvido com base no frasco de *spinner*. Consiste num recipiente cilíndrico com um eixo central acionado por um motor, que suporta um ou mais agitadores. Os agitadores são necessários para realizar um vasto leque de funções: controlar o impulso adequado, realizar transferências de calor e de massa das partículas agitadas e misturar, assim como homogeneizar o cultivo.

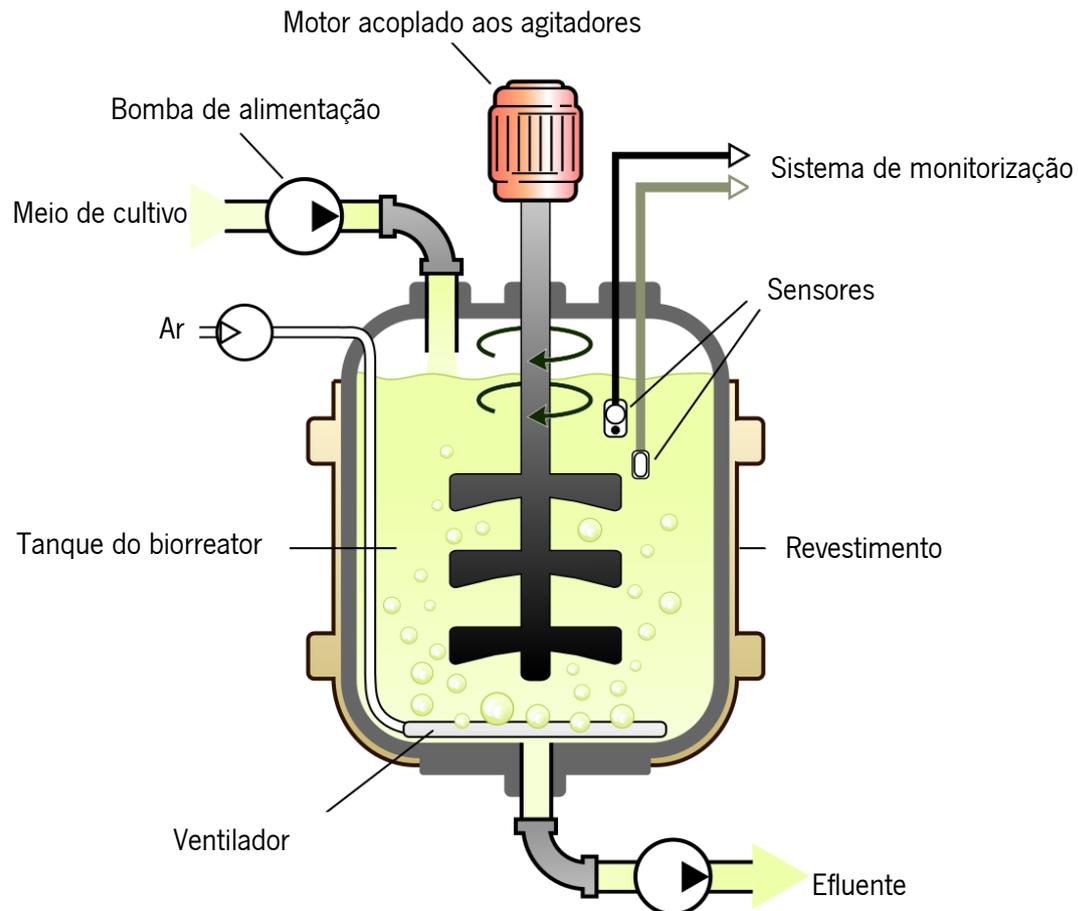
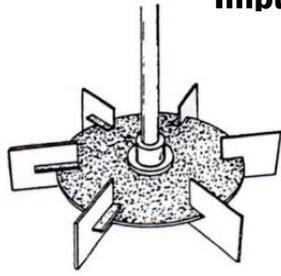


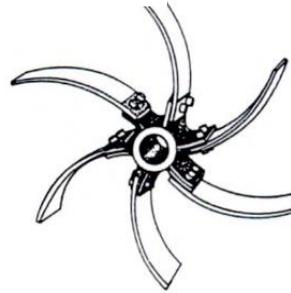
Figura 2.9: Esquema de funcionamento de um biorreator de tanque agitado [33]

Na Figura 2.9, observa-se o esquema de um biorreator de tanque agitado, onde o motor acoplado aos agitadores, quando acionado, mistura o meio de cultivo que é bombeado para o tanque do biorreator através da bomba de alimentação. Este tanque é revestido por uma malha térmica para evitar que o ambiente desejável para o cultivo seja alterado pela temperatura ambiente. Através dos sensores incorporados no tanque do biorreator é possível monitorizar todo o processo de cultivo assim como todas as variáveis que influenciam os tecidos [34]. Como todos os requisitos para o cultivo devem ser cumpridos ao mesmo tempo, o tipo de agitadores (Figura 2.10) utilizados comprometem os resultados.

Impulsor de fluxo radial

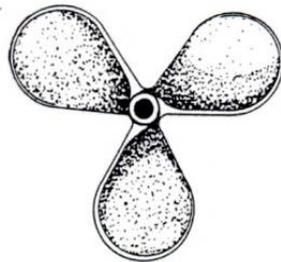


Turbina de pás planas designado como Disco de Rushton

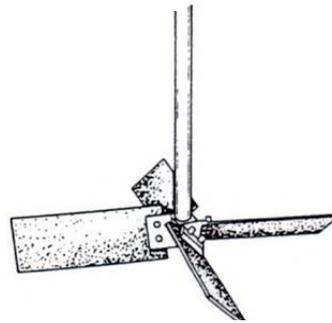


Turbina de pás curvas ou turbina em espiral

Impulsor de fluxo axial



Hélice



Turbina de pás de 45°

Figura 2.10: Tipos de agitadores (Radial e Axial) [34]

Os agitadores convencionais utilizados na fermentação são tipicamente classificados como agitadores de fluxo axial ou radial. Na Figura 2.10 são ilustrados dois tipos de agitadores, os de fluxo radial e os de fluxo axial. Dentro dos agitadores de fluxo radiais existem dois tipos de turbinas, a de seis pás planas (Disco de Rushton) e a de seis pás curvas. Nos agitadores de fluxo axial existem as hélices, que são constituídas geralmente com três pás arredondadas, e a turbina de quatro pás planas com uma inclinação de 45° em cada uma. Nos biorreatores de tanque agitado é possível encontrar agitadores com duas ou três turbinas no eixo, como o da Figura 2.11, tornando assim a mistura mais homogênea [34].



Figura 2.11: Biorreator de tanque agitado do mercado

2.3.5. Biorreator *Wave*

O biorreator *Wave* ou biorreator de ondas é um sistema formado por duas partes importantes, o biorreator com a sua plataforma de agitação e o saco celular (*cellbag*) que recebe a mistura celular. Este biorreator distingue-se dos outros pela sua forma de estímulo através do movimento de ondas gerado pela plataforma onde é fixo o saco celular, e por este ser descartável. Através da plataforma é possível controlar a intensidade do movimento das ondas escolhendo a velocidade de agitação do motor e a inclinação da plataforma. Essas ondas proporcionam a mistura e a transferência de oxigénio da cultura, resultando num ambiente perfeito para o crescimento celular que pode suportar facilmente mais de 10×10^6 células por mililitro [35]. A Figura 2.12 ilustra o funcionamento da plataforma do biorreator. Com o movimento angular da plataforma, a mistura celular vai criando ondas, estimulando assim o cultivo.

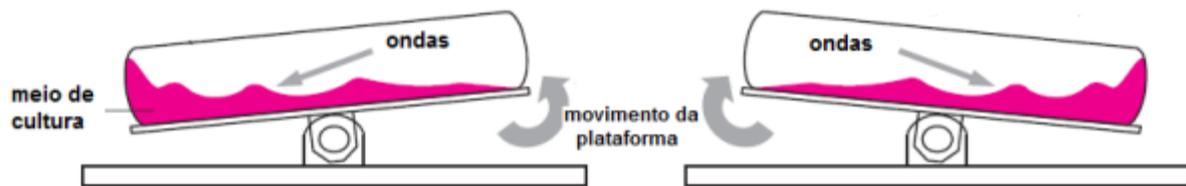


Figura 2.12: Movimento de ondas criado pelo biorreator Wave [36]

Uma das grandes vantagens deste biorreator é o facto de não ser necessária uma limpeza e um processo de esterilização do biorreator para cada cultivo pelo facto de utilizar sacos de cultivo descartáveis, proporcionando uma maior facilidade de operação e de proteção contra contaminações e reduzindo os custos e o tempo para iniciar o processo de produção. Este processo apenas é possível porque o saco de cultivo é fabricado com um material biocompatível e inerte e por ser de uso único [36].

Outra grande vantagem deste tipo de biorreatores é a capacidade de produção que oferecem. Podem ser utilizados para pequenos cultivos (0,1L) assim como para grandes quantidades (500L), mantendo as concentrações de oxigénio do cultivo pequeno, tornando-o assim equiparado ao biorreator de tanque agitado pelas suas capacidades de produção, Figura 2.13.



Figura 2.13: Vários biorreatores Wave do mercado com diferentes capacidades [36]

Na figura acima pode-se ver vários tipos de biorreatores, os mais pequenos para cultivos de bancada em quantidades compreendidas entre os 0,1 litros e 5 litros ou um pouco maior, mas também para cultivos de bancada, entre 1 litro e 25 litros. Para cultivos maiores, em escala industrial, existem biorreatores com capacidade de 10 litros até 100 litros ou ainda de 100 litros até 500 litros, podendo suportar assim 5×10^{12} células apenas num cultivo. Contudo a principal desvantagem deste tipo de biorreator, são os gastos em sacos descartáveis, pois em cultivos de grande escala fica muito dispendioso. Outra desvantagem é o facto que cada saco estar limitado a um cultivo, sendo que apenas é útil para cultivos em larga escala.

2.3.6. Biorreator pneumático

Os biorreatores pneumáticos, Figura 2.14, PBS (*Pneumatic Bioreactor System*), são sistemas que utilizam injeção de gás para agitar e homogeneizar as partículas do cultivo celular. Estes biorreatores podem ser utilizados para criação de diversos produtos, como: gordura hidrogenada (margarina), carbonatos e bicarbonatos, gliconatos (cálcio, magnésio, sódio, zinco), lipídeos (biodiesel), fermento biológico, proteína unicelular, vacinas, combustíveis, etc. Assim como a criação de vários produtos, no biorreator pneumático aplicam-se vários processos, desde hidrogenação de lipídeos, carbonatação de álcalis,

oxidação de glicose, cultivo de algas e cianobactérias, cultivo de leveduras, cultivo de células, fermentação extrativa, etc.

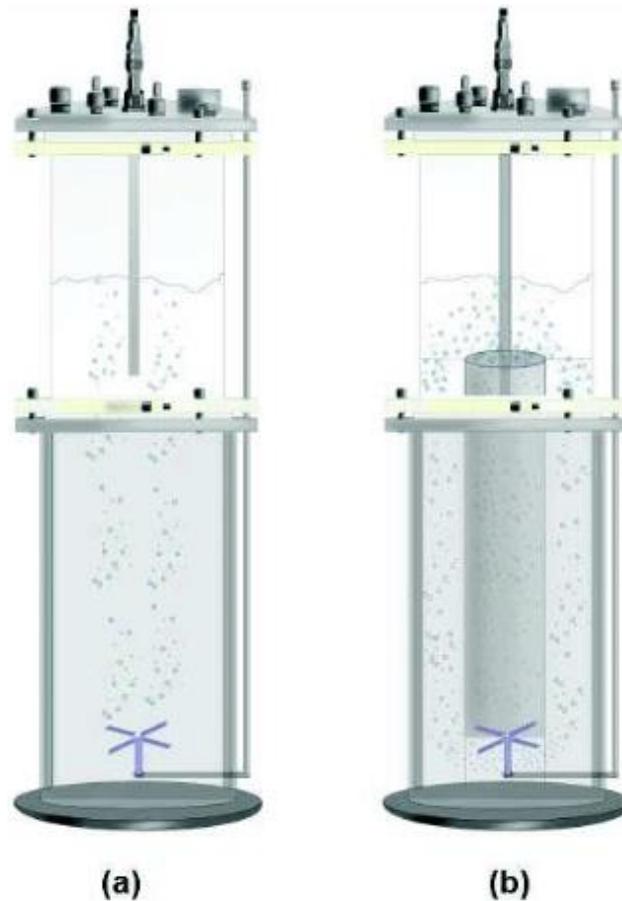


Figura 2.14: Biorreatores pneumáticos mais comuns: (a) coluna de bolhas, (b) airlift de cilindros concêntricos [37]

Os biorreatores pneumáticos são divididos em duas espécies, os biorreatores coluna de bolhas (*bubble column*) e os de circulação ou tipo *airlift*. Na Figura 2.14 (a), pode-se observar o biorreator coluna de bolha que é constituído por uma dorna cilíndrica, tendo na sua base um aspersor por onde são injetados os gases em forma de bolhas num líquido, ou seja, numa solução sólido-líquido. Assim, a dissolvência do gás na fase líquida e a homogeneização do meio reacional são obtidas exclusivamente pela germinação do gás injetado, que escoo ascendentemente devido a menor densidade, arrastando consigo o líquido e promovendo um movimento aleatório do meio que promove a mistura gás-líquido. A Figura 2.14 (b), mostra os biorreatores *airlift* de cilindros concêntricos. Nestes biorreatores, a região de subida e descida do gás-líquido é no mesmo compartimento, sendo separadas de modo a realizar o escoamento da dispersão gás-líquido. A grande diferença entre os biorreatores coluna de bolhas e os biorreatores *airlift* é a forma de escoamento. Enquanto que no biorreator coluna de bolhas o escoamento é um movimento aleatório da fase líquida, os *airlift* apresentam um escoamento cíclico do líquido [37].

2.3.7. Biorreator de estímulo eletromecânico

O biorreator de estímulo eletromecânico foi desenvolvido pela Universidade de Yamagata, no Japão [38], capaz de fornecer estímulos elétricos e mecânicos aos tecidos. Este biorreator foi desenvolvido para satisfazer as condições necessárias de tecidos cardíacos. O biorreator é composto por três unidades principais: a unidade de controlo, a câmara de cultivo e a unidade de transformação e a atuação das forças aplicadas, como mostra a Figura 2.15.

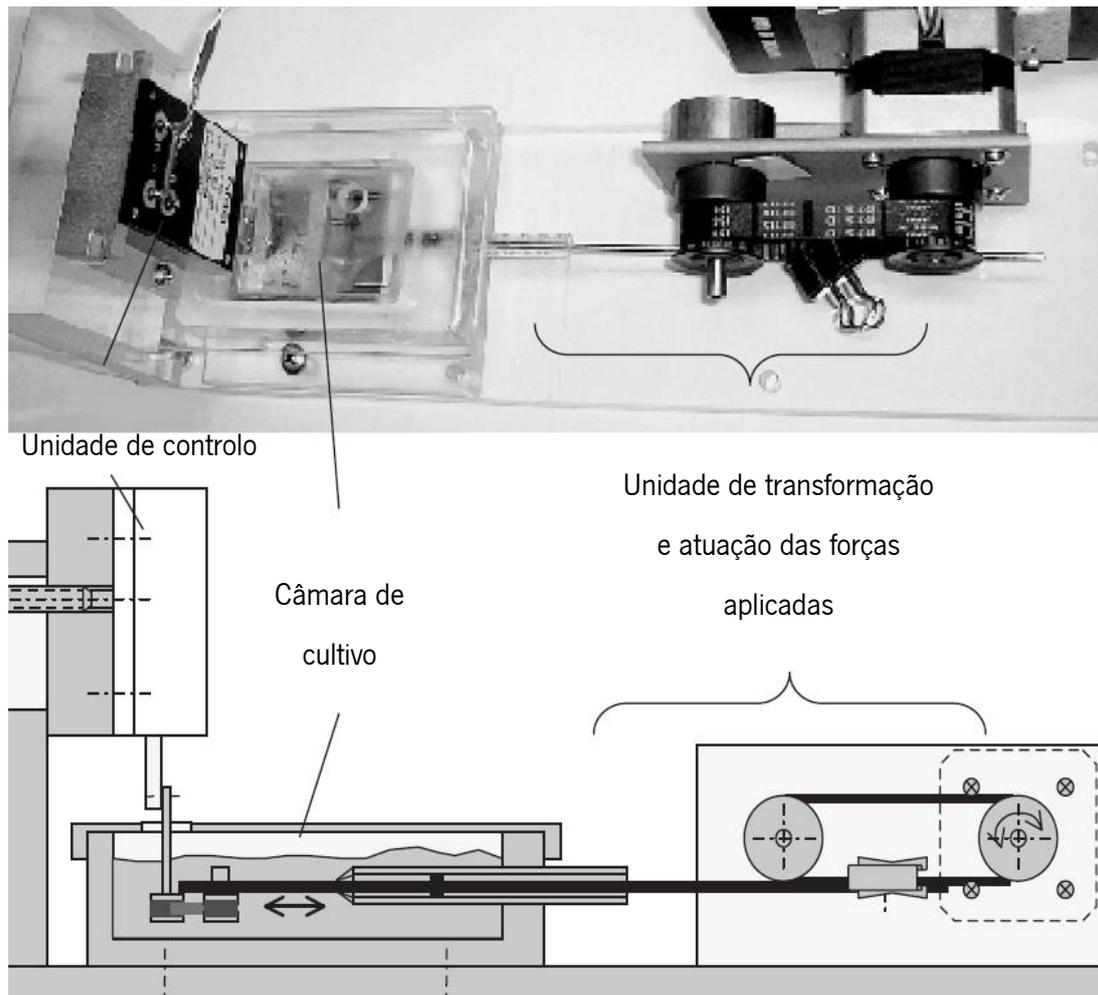


Figura 2.15: Fotografia e esquemático do biorreator de estímulo eletromecânico [38]

Para o controlo do biorreator, os investigadores utilizaram uma placa da National Instruments (PCI-6024E). A câmara de cultivo está equipada com eléctrodos que fornecem estímulos elétricos aos tecidos com amplitudes compreendidas entre os 5 V e 20 V gerados a partir de uma onda com 20 ms [38].

Na Figura 2.16 está representado um esquema da unidade de transformação e a atuação das forças aplicadas do biorreator. Esta unidade é composta por um motor de passo que está acoplado a uma roldana e esta está conectada a outra roldana através de uma correia.

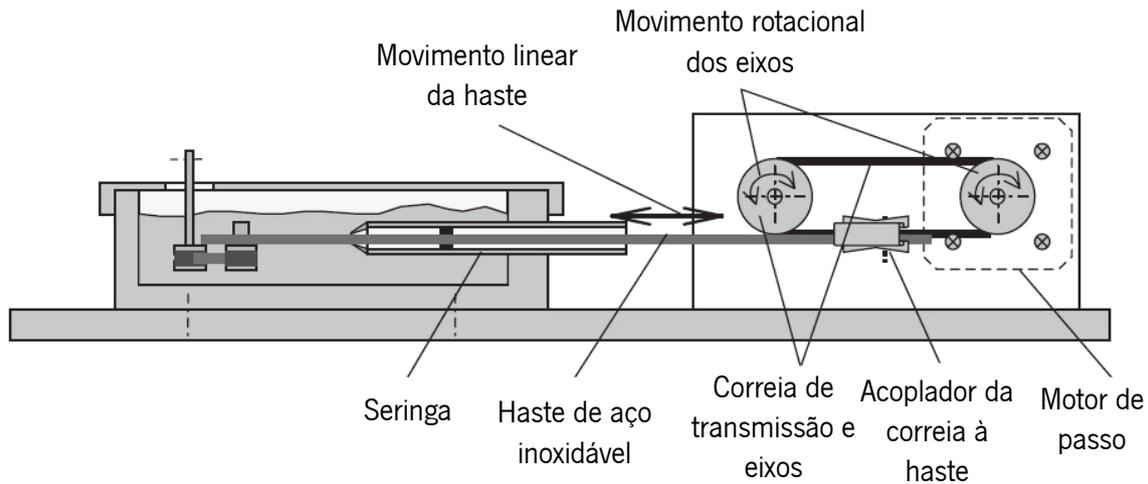


Figura 2.16: Esquemático do atuador e do sistema de transmissão de movimento [38]

Este mecanismo é utilizado para ligar a haste de aço inoxidável ao movimento do motor, fazendo assim com que a mistura do cultivo introduzido na seringa, que está unida à haste, reaja com os elétrodos na câmara de cultivo [38]. Contudo, este biorreator está limitado à quantidade e tipo de cultivo inserido na seringa.

2.3.8. Biorreator de estímulo magnético

O biorreator de estímulo magnético pode ser uma modificação de um biorreator já existente, como por exemplo, o biorreator frasco de *Spinner* ou o biorreator de parede rotativa. Se o método for aplicado *in vitro*, o campo magnético pode ser gerado fora do recipiente da cultura de tecidos, ou no caso de ser aplicado *in vivo*, pode ser gerado fora do corpo [39]. O sinal magnético pode ser fornecido através de um íman permanente ou de um eletroíman. Os ímanes permanentes podem ser utilizados para criar uma variação do campo magnético, fazendo variar a posição dos ímanes em relação às células que estão a ser cultivadas. No caso da utilização de ímanes permanentes, o movimento de variação da plataforma de ímanes pode ser perpendicular à câmara de cultivo ou longitudinal (ao longo da câmara de cultivo), Figura 2.17 e Figura 2.18 respetivamente. No caso dos eletroímans, é desnecessário o sistema de variação da plataforma em altura, visto que com os níveis de corrente elétrica dos eletroímans controlados é possível obter campos magnéticos variáveis, mantendo os eletroímans estáticos [39].

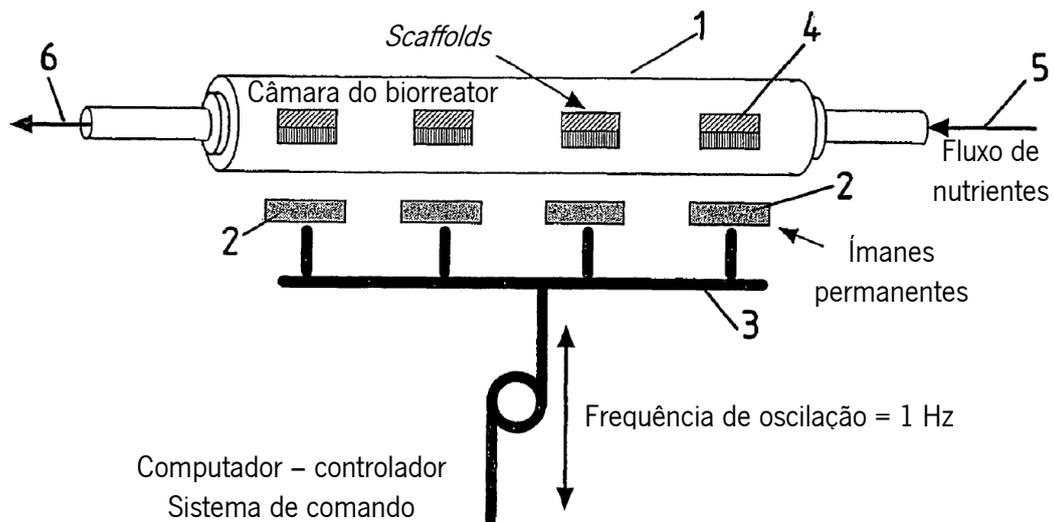


Figura 2.17: Primeira configuração do biorreator magnético [39]

Na Figura 2.17 é ilustrada uma das configurações deste biorreator. Neste caso, existe uma câmara de cultivo (1) onde são introduzidos os *scaffolds* espaçados longitudinalmente (4), associada a uma plataforma (3) que se encontra conectada a um sistema de controlo controlado por um computador. Essa plataforma contém ímãs permanentes (2) que são posicionados externamente à câmara de cultivo do biorreator de forma a existir um ímã associado a cada *scaffold* do cultivo, isto é, neste caso existem quatro cultivos independentes, embora seja possível variar o número de ímãs consoante o número de cultivos.

Os nutrientes são fornecidos ao biorreator pela entrada da câmara de cultivo (5), e saem conforme é representado pelo número 6. Este mecanismo mantém fixa a câmara de cultivo, fazendo oscilar a plataforma de ímãs permanentes verticalmente de modo a conseguir variar o campo magnético no cultivo. A frequência de oscilação da plataforma varia geralmente numa frequência compreendida entre os 0,1 Hz e os 10 Hz, apesar de ser possível frequências de oscilação fora desta gama.

A oscilação dos ímãs cria um campo magnético que estimula um ciclo de compressão/ relaxamento que é aplicado aos *scaffolds* produzindo um movimento de translação das nanopartículas em relação aos ímãs, comprimindo as células e o *scaffold* dentro do biorreator. Com essa compressão é simulada uma carga mecânica sem ser necessário o contacto direto às células dentro do biorreator. Esta carga mecânica pode ser alterada facilmente, vindo a alterar a força do campo magnético, através da posição dos ímãs, ou alterando as propriedades físicas das nanopartículas que compõe o *scaffold*.

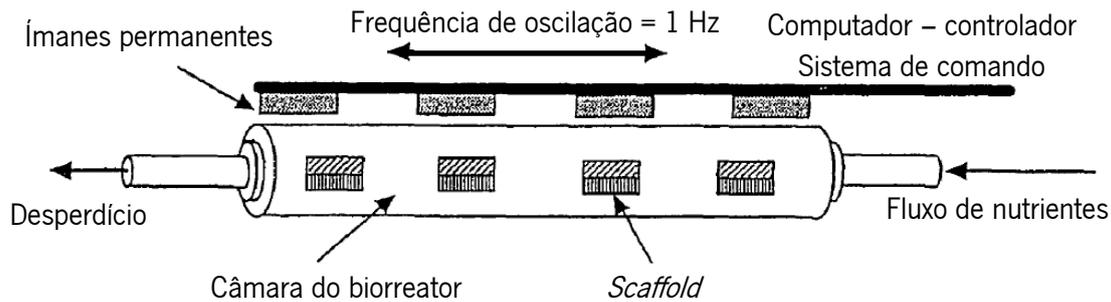


Figura 2.18: Segunda configuração do biorreator magnético [39]

A Figura 2.18 ilustra outra configuração deste biorreator, fazendo uma alteração ao modelo mostrado na Figura 2.17. Na configuração da Figura 2.18, os ímãs permanentes são oscilados paralelamente ao eixo horizontal do biorreator (em vez de verticalmente ao eixo no caso da Figura 2.17). Nesta configuração os ímãs mantêm-se fixos e o biorreator oscila em relação ao eixo horizontal, podendo deste modo variar o campo magnético. Alternativamente ou adicionalmente, os ímãs permanentes ilustrados nas Figura 2.17 e Figura 2.18 podem ser substituídos por eletroímãs, fazendo assim variar o campo magnético sem a necessidade de movimentar a plataforma ou o biorreator. Contudo, este biorreator, está limitado ao tipo de cultivo, ou seja, só permite a utilização de um tipo de nutrientes para cada cultivo, sendo que por vezes é útil a possibilidade de utilização de várias células diferentes para o mesmo cultivo.

2.3.9. Biorreator magnético

O conceito de biorreator magnético e magnetoelétrico foi criado pelo grupo ESM (*Eletroactive Smart Materials*) na Universidade do Minho. Este biorreator consiste num sistema projetado para provar o conceito de biorreatores magnéticos e magnetoelétricos dimensionado para o cultivo celular e aplicações biomédicas, promovendo o crescimento celular baseado em estímulos magnéticos controlados eletronicamente. Este sistema consiste na variação da posição de um conjunto de ímãs permanentes criando um campo magnético que é convertido em estímulos mecânicos ou eletromecânicos com a utilização de *scaffolds* apropriados, magnetostrictivos ou magnetoelétricos, respetivamente, como mostra a Figura 2.19.

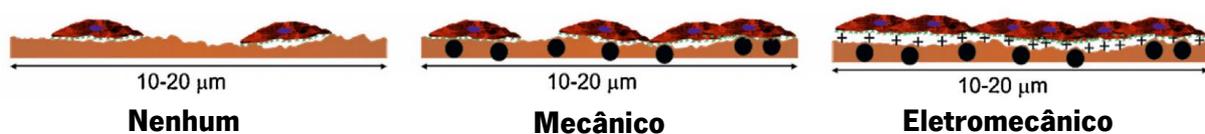


Figura 2.19: Estimulo das células com diferentes *scaffolds* [40]

Utilizando o conceito de estímulos magnéticos em *scaffolds* magnetostrictivos ou magnetoelétricos, foi demonstrada a capacidade do estímulo magnético de aumentar a proliferação celular para aplicações em engenharia de tecidos [40].

Em suma, não existe nenhum biorreator que permita estímulos magnéticos, magnetoelétricos, mecânicos e eletromecânicos, permitindo o uso de diferentes tipos de células e *scaffolds* para o mesmo cultivo. Todas as alternativas para este tipo de situação seriam extremamente caras ou dispendiosas em tempo.

2.4. Sistema de aquisição de dados

A aquisição de dados é o processo em que a recolha de informação de fenómenos físicos do mundo real são transformados em sinais elétricos e convertidos em formato digital para o seu processamento, análise e armazenamento dos dados resultantes da recolha numa plataforma computacional [41].

Geralmente, na maioria das aplicações em que a aquisição de dados é utilizada, o sistema não é projetado apenas para a aquisição dos dados, mas também para o controlo e atuação do sistema. O controlo é processado por uma plataforma computacional onde são convertidos os sinais digitais em sinais apropriados para a atuação do equipamento adequado do sistema [41].

A Figura 2.20 apresenta um exemplo de um diagrama de blocos de um sistema de aquisição de dados.

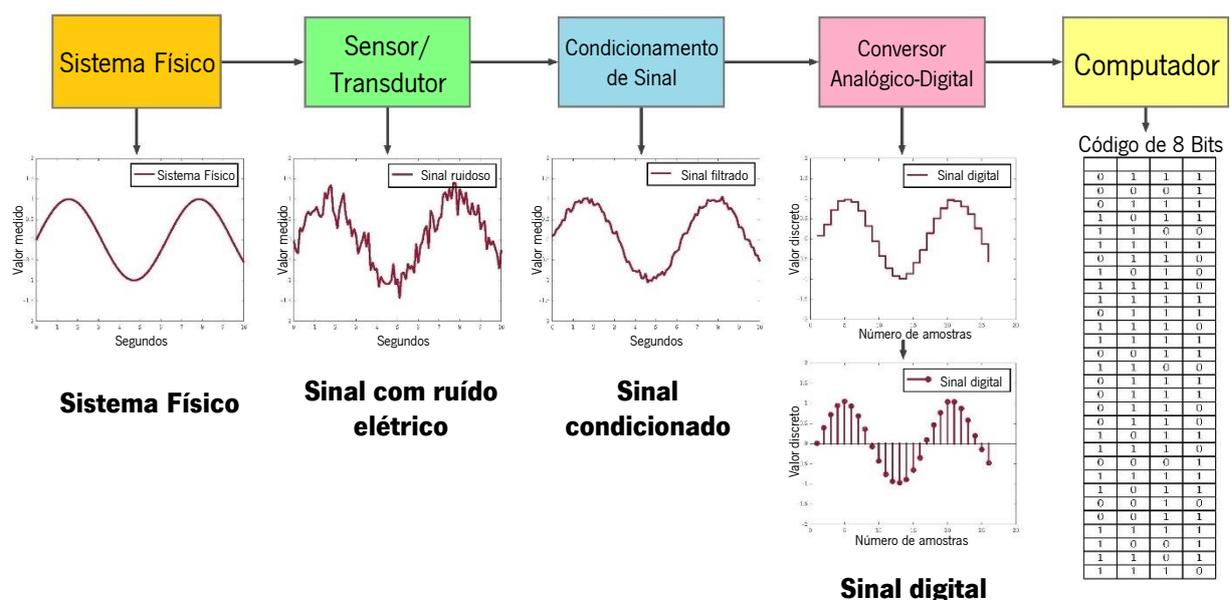


Figura 2.20: Exemplo de um diagrama de blocos de um sistema de aquisição de dados [42]

Esse sistema é constituído por três partes fundamentais: os sensores, que convertem os sinais físicos em sinais elétricos, o *hardware* de condicionamento de sinal, que “clarifica” os sinais lidos pelos sensores de forma a poderem ser convertidos em sinais digitais, e os ADCs (*Analog-to-Digital Converter*), que convertem os sinais medidos pelos sensores, previamente condicionados, em sinais digitais para poderem ser interpretados em código binário por uma interface computadorizada, podendo variar a resolução numa gama de 3 bit a 32 bit [43].

2.4.1. Sensores e transdutores

Os sensores e transdutores convertem os sinais de grandezas físicas em sinais elétricos, Figura 2.21, tendo assim um papel fundamental na ligação entre o mundo real e os sistemas de aquisição de dados.

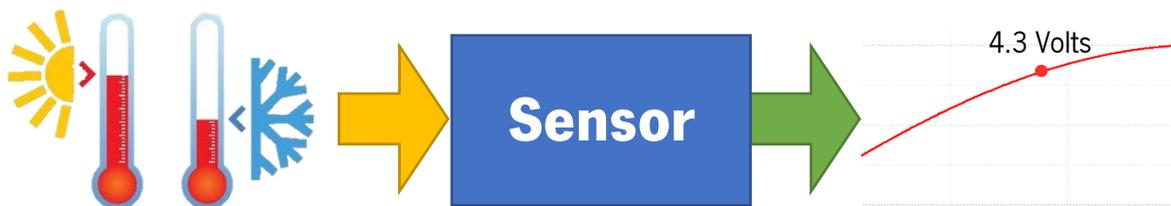


Figura 2.21: Esquema de sensor elétrico

Dependendo do tipo de sensor, a saída elétrica pode ser uma tensão, uma corrente ou uma resistência. Hoje em dia existe uma vasta gama de sensores que permite a medição de praticamente todas as grandezas físicas existentes na vida. A Tabela 2.1, mostra alguns dos sensores mais utilizados no dia a dia e o respetivo fenómeno medido.

Tabela 2.1: Tipos de sensores mais comuns e o respetivo fenómeno de medição [44]

Sensor	Fenómeno
Termopar, termorresistência, termistor	Temperatura
Fotoelétrico, fotodiodo, fototransistor	Luz
Microfone, hidrofone	Som
Extensómetro, transdutor piezoelétrico	Força e pressão
Potenciómetro, LVDT, <i>encoder</i> ótico	Posição e deslocamento
Acelerómetro	Aceleração
Eléctrodo de pH	pH
Sensor de efeito de Hall, magnetómetro	Campo magnético
Anemómetro, medidor de fluxo, turbina	Fluxo líquido

Em todos estes sensores, o sinal eléctrico gerado é proporcional à variação do fenómeno físico, e podem ser de dois tipos: sensores ativos ou sensores passivos. Os sensores ativos necessitam de uma fonte de alimentação externa para o seu funcionamento, enquanto que os passivos geram um sinal eléctrico sem fonte de alimentação externa. Os sensores ainda se dividem em dois tipos: sensores intrusivos e não

intrusivos. Os intrusivos, são aqueles de interferem com o meio de medida, como por exemplo, os medidores de fluxo ou de caudal por turbina, que são introduzidos diretamente no fluxo, interferindo assim com o fenômeno medido. Os não intrusivos, são os que não interferem com o meio de medida, por exemplo, a medição de temperatura, que não interfere com o fenômeno medido [44], [45].

2.4.2. Condicionamento de sinal

Os sinais gerados pelos sensores e transdutores geralmente precisam de ser convertidos num sinal apropriado de modo que o dispositivo de aquisição de dados efetue uma medição eficaz e exata. Este “tratamento de dados” tem o nome de condicionamento de sinal, que é uma parte fundamental na aquisição de dados, fornecendo melhorias em relação ao desempenho e exatidão do sistema.

A Figura 2.22 ilustra os principais problemas dos sensores e das operações de acondicionamento de sinal utilizadas para tornar o sinal medido pelo sensor legível e processável por uma plataforma computacional.



Figura 2.22: Operações de condicionamento de sinal [41]

Linearização

A linearização é o processo de interpretação do sinal medido pelo sensor, ou seja, é necessária quando os sensores produzem sinais que não estão linearmente relacionados com a medição do fenômeno físico.

Atenuação

A atenuação é utilizada quando o sinal a ser convertido para digital é maior do que a gama aceitável pelo ADC. Este processo de condicionamento diminui a amplitude do sinal de entrada de forma a ficar dentro dos valores de leitura do ADC.

Amplificação

A amplificação, ao contrário da atenuação, aumenta o nível de tensão amplificando o sinal de entrada tornando-o legível pelo ADC, aumentando a resolução e a sensibilidade da medição e reduzindo o ruído

na mesma. De modo a obter uma maior precisão, o sinal deve ser amplificado de forma que a máxima tensão do sinal condicionado coincida com a máxima tensão de entrada do ADC.

Filtragem

O propósito da filtragem trata-se de remover sinais indesejados do sinal medido dentro de uma gama de frequências. Geralmente, são utilizados filtros passa-baixo para filtrar os ruídos das altas frequências que podem reduzir a precisão das medições. Outro filtro muito utilizado para a filtragem de sinais é o filtro *anti-aliasing*, que previne o *aliasing* de sinais de frequências altas atenuando os sinais acima da frequência de Nyquist.

Isolamento

Outro processo muito utilizado no condicionamento de sinal é o isolamento. Os circuitos de isolamento permitem passar o sinal de uma parte do sistema para outra (por exemplo do circuito de controlo para o circuito de potência) sem existência de contacto físico. Para tal, podem ser utilizados transformadores secundários, acopladores capacitivos ou optoacopladores. Assim, o circuito fica protegido contra diferenças de potencial de terra ou picos de tensão.

Excitação

Alguns sensores requerem alimentação externa para o seu funcionamento, como por exemplo, extensómetro, acelerómetros, termístores, termo resistências, entre outros, são sensores que requerem uma tensão externa ou uma corrente de excitação.

2.5. Algoritmos de controlo

De forma a analisar qual o tipo de controlador a utilizar para o desenvolvimento do biorreator, foram estudados dois tipos de controladores, o controlador On-Off e o controlador PID com o estudo de cada uma das suas ações independentes e combinadas.

2.5.1. Controlador On-Off

O controlador On-Off, corresponde a um dos sistemas de controlo mais utilizados, no controlo de diversas grandezas, como é o caso da temperatura, posicionamento, fluxo, etc., motivado pela sua simplicidade de implantação. Desta forma, a implementação deste tipo de controlo, baseia-se na comparação do valor do erro entre a saída e a referencia com 0 e ligar e desligar um atuador de acordo com o sinal de comparação. Contudo, este controlador, na sua forma ideal provoca, geralmente, um rápido desgaste do

atuador. De modo a evitar esse desgaste, adiciona-se uma *histerese*. A *histerese* faz com que a comutação de On para Off e vice-versa não aconteça quando o erro é zero, mas sim quando o erro for igual ao valor definido para a *histerese* [46]. Outro dos principais problemas deste controlador, está associado à inércia do atuador, ou seja, quando o controlador desliga o sinal do atuador, este não reage imediatamente, causando uma inércia na resposta do sistema relativamente ao valor de referência. A título de exemplo, a Figura 2.23, representa um controlo On-Off para um sistema térmico.

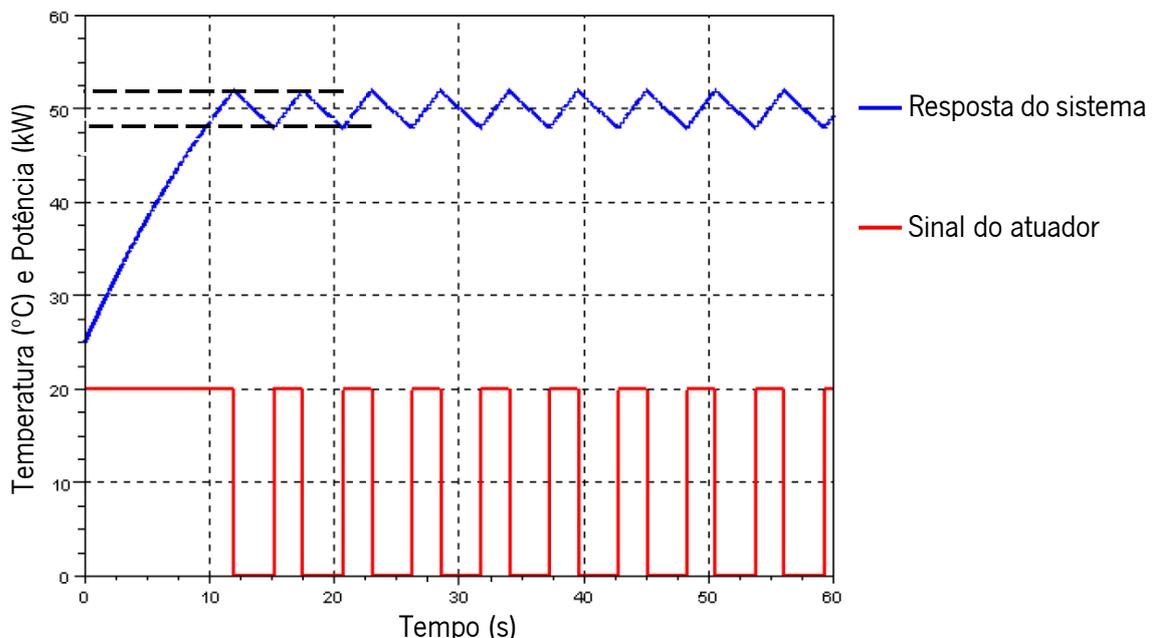


Figura 2.23: Exemplo de um controlo On-Off, com histerese, de um sistema térmico [46]

Assim, na figura acima, estão representados dois sinais de um sistema térmico, onde a azul está representada a evolução da variável controlada (temperatura) e a vermelho está representada a evolução variável de manipulação (atuador). Para o controlo deste sistema têm-se os seguintes valores: Temperatura de referência = 50 °C, *histerese* = 2 °C e a potência térmica = 20 kW. O sistema inicia com uma temperatura de 25 °C. Quando o controlador entra em funcionamento, o atuador (fonte de calor) é ligado (potência térmica = 20 kW) e a temperatura começa a aumentar até atingir a temperatura de referência mais a margem de *histerese* (52 °C). Atingindo este valor, o controlador desliga o atuador (potência térmica = 0 W) e a temperatura desce até atingir a temperatura de referencia menos o valor de *histerese* (48 °C). O processo repete-se periodicamente até que o controlador seja desligado [46].

2.5.2. Controlador PID

O controlador Proporcional – Integral - Derivativo (PID) é um sistema de controlo simples e eficaz amplamente utilizado na indústria com o controlo em malha fechada devido à sua robustez [47]. Na

Figura 2.24 está representado um esquema de um sistema com um motor utilizando um controlador PID. Como indicado no nome, este controlador utiliza três ações de controlo: a ação proporcional, a ação integral e a ação derivativa. Cada uma destas ações de controlo possui vantagens e desvantagens, que serão apresentadas em baixo.

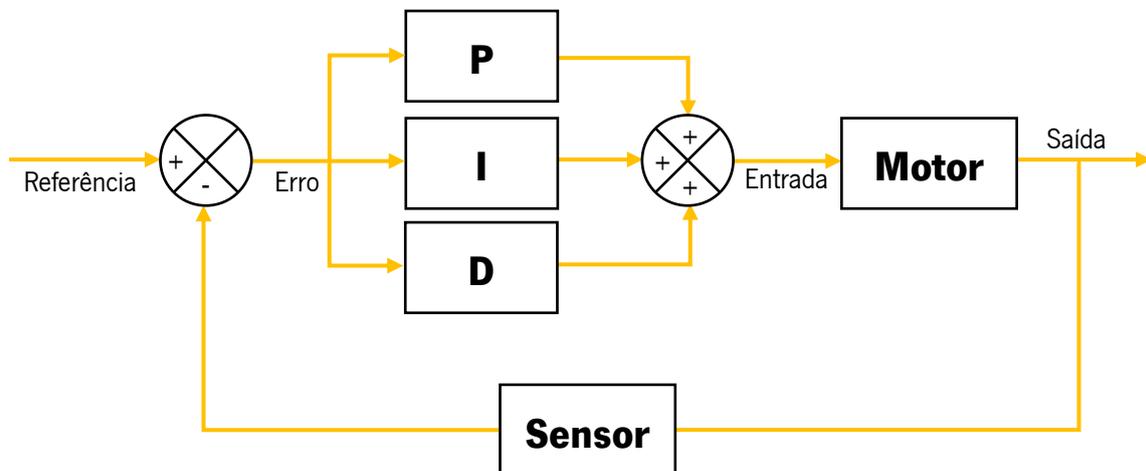


Figura 2.24: Controlo em malha fechada com controlador PID [47]

Ação proporcional

A ação proporcional é a componente do controlador PID que está sempre presente, podendo em alguns casos ser suficiente para o controlo desejável. O controlo proporcional é o resultado da multiplicação do erro com pelo ganho proporcional do controlador (k_p), ou seja, a ação proporcional é proporcional ao valor do erro do sistema, Equação 1.

$$\begin{aligned} \text{Erro} &= \text{referência} - \text{saída} \\ \text{Controlo proporcional}(P) &= \text{erro} * k_p \end{aligned} \quad \text{Equação 1}$$

De forma a melhor entender as alterações que o controlo PID faz ao sistema, na Figura 2.25, mostra um exemplo de uma resposta de um sistema, com os termos a ter em conta para este controlo. Nesta figura, o *overshoot* é a diferença entre a amplitude máxima do sinal de saída e a amplitude de estacionária (referência), t_s , significa o tempo de subida, ou seja, o tempo que o sinal demora a variar de 10% a 90% da amplitude estacionária. Por fim, t_e corresponde ao tempo em que o sinal demora a estabilizar, neste caso com 1% de erro em regime permanente, num determinado valor de referência [47].

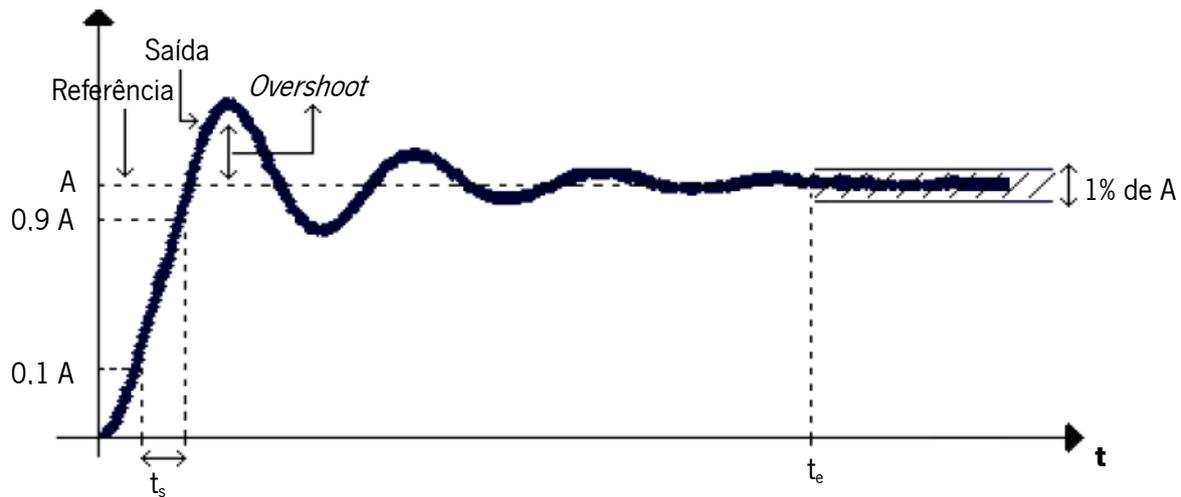


Figura 2.25: Exemplo de resposta de um sistema [47]

O valor da constante k_p tem que ser cuidadosamente escolhido para obter a resposta ideal do sistema. A Figura 2.26, mostra um gráfico em que foi aplicado um controlo proporcional, contudo, o ganho proporcional é baixo. Com valores mais baixos para k_p , as respostas tendem a ser mais suaves, mas em contrapartida, mais lentas, nunca chegando ao valor de referência. Ou seja, neste caso não existe *overshoot*, o t_s demora cerca de 13 segundos, igualmente com o t_e , pois não existindo *overshoot*, o tempo de subida é aproximadamente igual ao tempo de estabilização (14 segundos) e existe um erro em regime permanente elevado (+/- 10%).

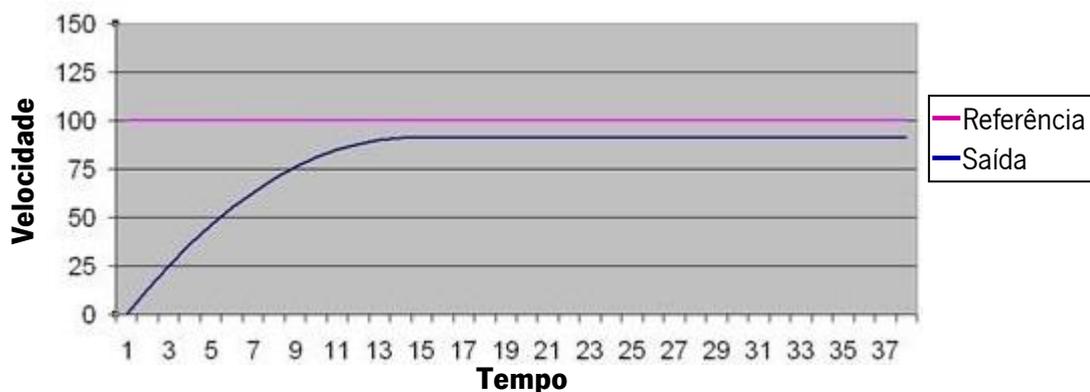
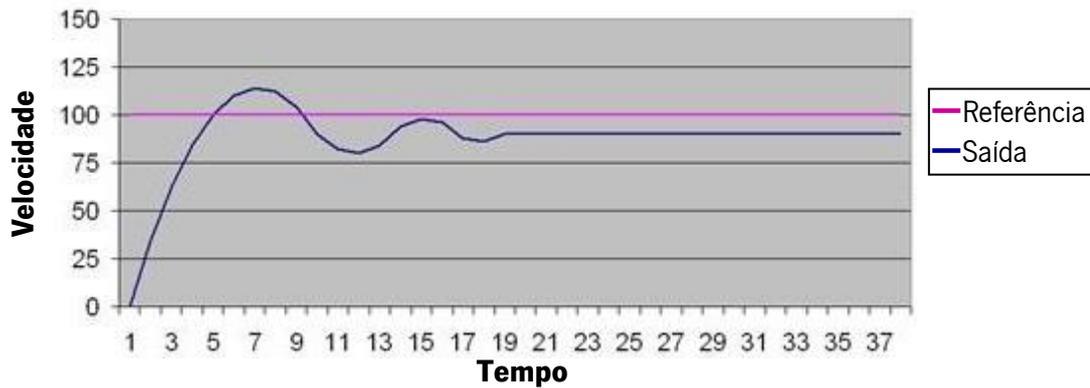
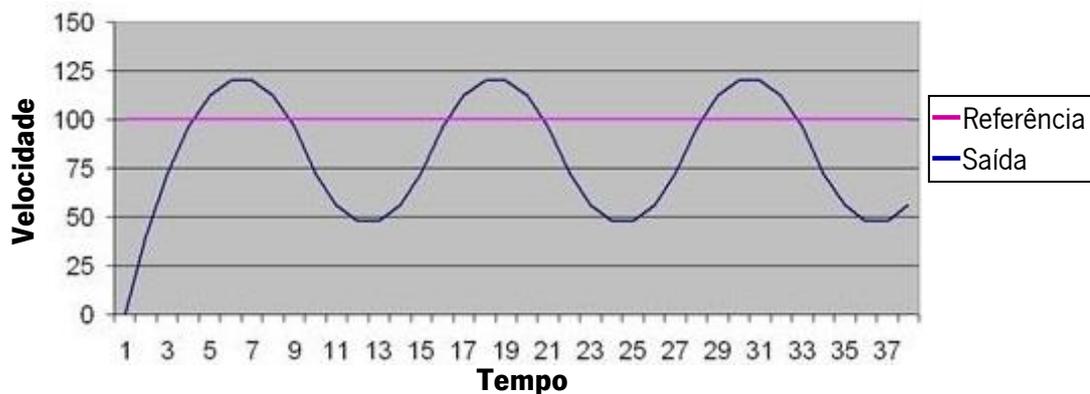


Figura 2.26: Resposta do sistema para o controlador P com k_p baixo [48]

Neste caso, Figura 2.27, aumentou-se o valor do ganho proporcional (k_p) conseguindo uma resposta mais rápida do sistema, reduzindo o tempo de subida (t_s) para cerca de 4 segundos, no entanto, o tempo de estabilização aumentou (19 segundos), apareceu um *overshoot*, tornando a resposta mais instável do que no exemplo anterior e o erro em regime permanente (+/- 10%) manteve-se.

Figura 2.27: Resposta do sistema para o controlador P com k_p alto [48]

Com o exemplo anterior, chega-se à conclusão que com o aumento do valor do ganho proporcional, o sistema tende a ficar mais rápido, embora um pouco mais instável no início. No entanto, com o aumento excessivo desta constante, o sistema tende a ficar muito instável. Na Figura 2.28, está representada a resposta do sistema quando o ganho proporcional está excessivamente elevado, o que resulta numa resposta extremamente instável, onde o *overshoot* é maior do que os exemplos anteriores e o sinal nunca chega a estabilizar. Ou seja, é importante calibrar cuidadosamente a constante do ganho proporcional (k_p), pois um valor demasiado baixo ou demasiado elevado pode comprometer a saída do sistema.

Figura 2.28: Resposta do sistema para o controlador P com k_p muito alto [48]

Ação integral

A ação integral atua com o principal objetivo de eliminar o erro em regime permanente. Contudo, a sua utilização no controlador tende a piorar a estabilidade do sistema [47]. Por isso, não é muito comum a utilização desta ação sem a soma da ação proporcional. O controlo integral tem em consideração a soma de todos os erros anteriores do sistema, sendo o resultado da multiplicação do somatório dos erros com a constante de tempo integral (τ_i), Equação 2.

$$\text{Erro} = \text{referência} - \text{saída}$$

Equação 2

$$Integral = \sum Erro$$

$$Controlo Integral (I) = Integral * \tau_i$$

A eliminação do erro em regime permanente e a redução do tempo de subida da resposta do sistema são as grandes vantagens desta ação no controlador PID, contudo, a ação integral também tem desvantagens. O aumento do *overshoot* e do tempo de estabilização são as principais desvantagens, dando origem a respostas lentas e oscilatórias, tornando o sistema instável. No entanto, juntando a ação proporcional à ação integral, Equação 3, obtemos uma resposta do sistema mais aceitável.

$$Controlo PI = (Erro * k_p) + (Integral * \tau_i)$$

Equação 3

Assim como a ação proporcional, o valor da constante de tempo integral (τ_i), tem que ser dimensionado cuidadosamente, uma vez que, com um valor muito baixo, o tempo de correção do erro em regime permanente é elevado, e com um valor muito alto, o sistema torna-se instável.

A Figura 2.29, ilustra a resposta do sistema em questão utilizando as duas ações do controlador PID, ou seja, utilizando o controlador PI, dimensionando as constantes com os valores mais indicados. Neste gráfico observamos que, em relação à Figura 2.27, o erro em regime permanente diminuiu significativamente ($\cong 0\%$), o *overshoot* aumentou ligeiramente, o tempo de subida diminuiu (3 segundos) e, embora a ação integral aumente o tempo de estabilização, com a junção da ação integral com a ação proporcional, controlador PI, este tempo diminui.

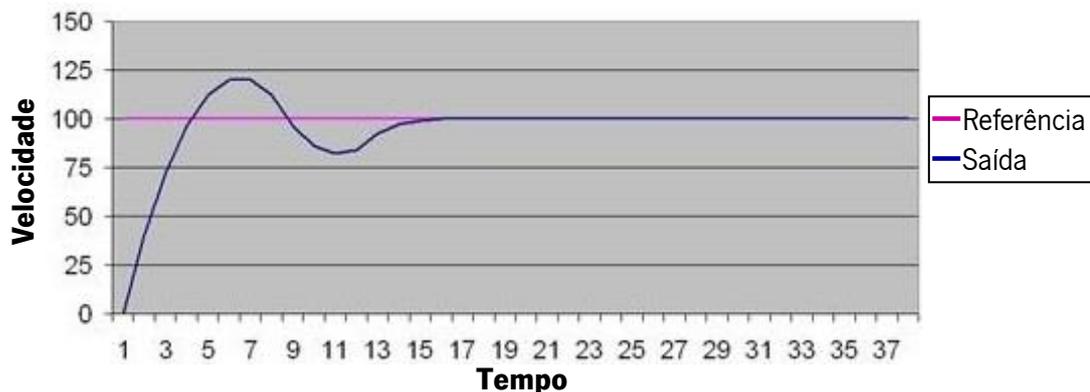


Figura 2.29: Resposta do sistema para o PI [48]

Ação Derivativa

A ação derivativa tem como principal objetivo fazer com que o sistema reaja mais rapidamente. Esta ação age atuando sobre os valores dos erros anteriores, ou seja, é a multiplicação da derivada do erro pela constante de tempo derivativa (τ_d), Equação 4.

$$\text{Erro} = \text{referência} - \text{saída}$$

$$\text{Derivada} = \text{Erro} - \text{último_erro}$$

Equação 4

$$\text{Controlo Derivativo (D)} = \text{Derivada} * \tau_d$$

As principais vantagens desta ação são o facto de permitir acelerar e estabilizar a resposta do sistema, reduzir o *overshoot*, e o período de oscilação. Como principal desvantagem, é o facto de não ser muito indicada para sistemas com muito ruído, uma vez que a ação derivativa torna o sistema muito sensível ao ruído em alta frequência. Assim como a ação integral, a ação derivativa raramente é utilizada sozinha, mas sim em combinação com a ação proporcional. Assim obtemos a Equação 5, que combina o controlo proporcional com o derivativo, originando uma resposta rápida e estável embora abaixo do valor pretendido.

$$\text{Controlo PD} = (\text{Erro} * k_p) + (\text{Derivada} * \tau_d)$$

Equação 5

Na Figura 2.30, mostra a resposta do sistema em estudo, utilizando o controlador proporcional derivativo (PD). Tal como as ações anteriores, o valor da constante de tempo derivativa (τ_d) tem que ser cuidadosamente escolhida, visto que um valor muito alto causará ruído ao sistema, e um valor muito baixo, não acelerará a resposta. No gráfico abaixo, vemos que em comparação com o gráfico da ação proporcional (Figura 2.27), a resposta ficou mais estável, eliminando o *overshoot* inicial, e ficou mais rápida, reduzindo o tempo de subida do sinal (3 segundos). No entanto, não influenciou o valor do erro em regime permanente, mantendo-o assim nos +/- 10%.

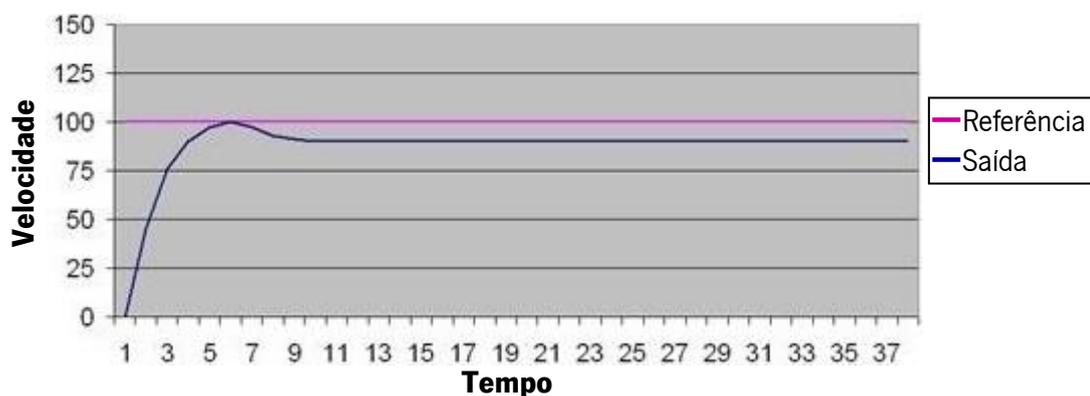


Figura 2.30: Resposta do sistema para o controlador PD [48]

Controlo PID (3 ações)

Juntando-se as ações proporcional (P), integral (I) e derivativa (D), obtemos a maior vantagem deste controlador para o sistema, tendo a ação proporcional para uma resposta rápida do sistema, a ação integral para a correção do erro em regime permanente e a ação derivativa para a estabilização do

sistema e a diminuição do *overshoot*. Na Tabela 2.2, é mostrado um resumo das características (vantagens e desvantagens) de cada uma das ações de controlo explicadas anteriormente.

Tabela 2.2: Efeito das ações do controlo PID nos sistemas

Ação de controlo	Tempo de subida (t_s)	<i>Overshoot</i>	Tempo de estabilização (t_e)	Erro em regime permanente
Proporcional	↓	↑	SE	↓
Integral	↓	↑	↑	EL
Derivativa	SE	↓	↓	SE

↓ - Diminui; ↑ - Aumenta; SE - Sem Efeito; EL - Elimina

Somando as equações de cada uma parcelas deste controlo, obtemos assim a equação para o controlador Proporcional - Integral - Derivativo (PID), Equação 6.

$$\text{Controlo PID} = (\text{Erro} * k_p) + (\text{Integral} * \tau_i) + (\text{Derivada} * \tau_d) \quad \text{Equação 6}$$

Aplicando o controlador PID ao sistema em questão, obtém-se uma melhor resposta do sistema. Na Figura 2.31 está representado o gráfico da resposta desse sistema. Deste modo, a resposta final deste sistema ficou com um tempo de subida (t_s) reduzido (4 segundos), com um início praticamente estável, tendo um *overshoot* relativamente pequeno, um tempo de estabilização (t_e) também reduzido (8 segundos), e praticamente eliminou o erro em regime permanente da resposta do sistema.

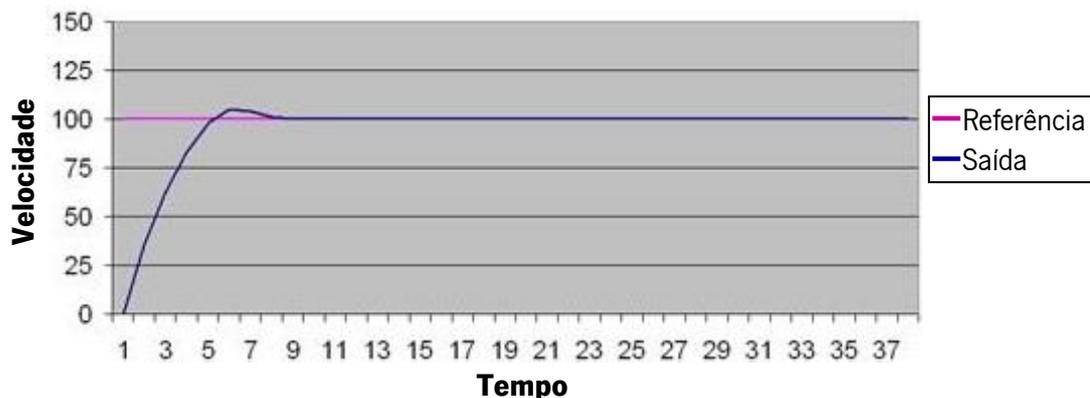


Figura 2.31: Resposta do sistema para o controlador PID [48]

Resumindo, o controlador PID é um controlo simples e eficaz muito utilizados em produtos industriais. Implementar este controlador é relativamente simples, mas como referido anteriormente, a calibração das constantes de cada ação dificulta o processo de sintonização do sistema. Uma sintonização correta das constantes consiste num compromisso entre a estabilidade e a velocidade de resposta do sistema [47]. Não existe nenhum método para encontrar os valores das constantes ideais para cada ação que possa ser aplicado a todos os casos, a não ser que seja simulado matematicamente todo o sistema com

todas as variáveis a ter em conta, tornando a modelação do sistema bastante complexa e dispendiosa em tempo, o que não foi o caso. Assim estudaram-se outras formas de calibração das constantes do sistema, o método tentativa erro e o método de Ziegler-Nichols. Sabendo o significado de cada parâmetro das constantes, este método não é difícil. Para o método tentativa erro as constantes τ_i e τ_d são colocadas a zero e o ganho proporcional (k_p) é aumentado até que a saída comece a variar. Contudo, deve ter-se cuidado, pois aumentando o k_p , o sistema torna-se mais rápido, mas também facilmente fica instável. Estando o k_p definido para se obter uma resposta rápida suficiente, aumenta-se a constante de tempo integral (τ_i), até que as oscilações causadas pela ação proporcional parem. A ação integral elimina o erro em regime permanente, mas aumenta o *overshoot*, que é sempre necessário para que o sistema consiga responder às variações rápidas. Uma vez definidas as constantes k_p e τ_i , aumenta-se a constante de tempo derivativa (τ_d) até que a resposta do sistema seja suficientemente rápida em relação à sua referência. Aumentando o τ_d , o *overshoot* irá diminuir, a resposta ficará estável e fará com que o sistema seja altamente sensível ao ruído [47], [49].

O método Ziegler-Nichols é outro método muito utilizado para a calibração das constantes do controlador PID. Este método consiste num conjunto de regras que permitem descobrir os valores das constantes de cada ação. Estas regras baseiam-se em parâmetros do sistema resultantes de testes experimentais. Para encontrar estes parâmetros o método é semelhante ao de tentativa erro. Inicialmente define-se as constantes da ação I e D a zero, e aumenta-se o ganho proporcional (k_p) até que se obtenha uma resposta oscilatória à saída do sistema. O valor desse ganho será o ganho crítico (k_c) do sistema que corresponde ao ganho máximo possível para que o sistema seja estável. O período desse sinal será o período crítico (P_c) que corresponde ao último período possível antes do sistema ficar instável [47], [49]. Descobertos esses valores, as constantes das ações P, I e D são ajustadas de acordo com a Tabela 2.3.

Tabela 2.3: Cálculo dos parâmetros do PID usando o método de Ziegler-Nichols [47]

Controlo	k_p	τ_i	τ_d
P	$\frac{k_c}{2}$	—	—
PI	$\frac{k_c}{2,2}$	$\frac{P_c}{1,2}$	—
PID	$\frac{k_c}{1,7}$	$\frac{P_u}{2}$	$\frac{P_c}{8}$

3. Biorreator magnético

Neste capítulo apresenta-se todo o trabalho realizado no âmbito do desenvolvimento do biorreator magnético. O capítulo é dividido em seis subcapítulos, o sistema magnético e o desenho e modelação da estrutura mecânica do biorreator, o *hardware* do sistema, PCB's (*Printed Circuit Board*) desenvolvidas para o sistema eletrónico, o *firmware* do sistema e por fim a montagem final do biorreator. No subcapítulo do sistema magnético são apresentados os ímanes permanentes escolhidos e analisadas outras formas de estímulo magnético. No subcapítulo do desenho e modelação da estrutura mecânica são abordadas todas as partes constituintes da estrutura mecânica do biorreator, realçando em cada secção as peças pertencentes da mesma. No subcapítulo do *hardware* do sistema são apresentados e analisados todos os componentes escolhidos para o sistema eletrónico assim como o seu funcionamento. No subcapítulo das PCB's são apresentados os desenvolvimentos das placas assim como o resultado final após a produção. No subcapítulo do *firmware* do sistema, são analisados os algoritmos, fluxogramas e esquemas de gráficos do biorreator. Por fim, é mostrada montagem de todas as peças mecânicas e eletrónicas, formando o protótipo final do biorreator magnético.

Este biorreator foi desenvolvido de acordo com a standardização das dimensões das placas de cultivo. Existem no mercado placas de cultivo com várias opções de escolha em relação ao número de poços, mantendo as medidas standard da caixa. A Figura 3.1, mostra as placas de cultivo existentes de diferentes números de poços, 6, 12, 24, 48 e 96 poços, mantendo as dimensões standard da caixa.

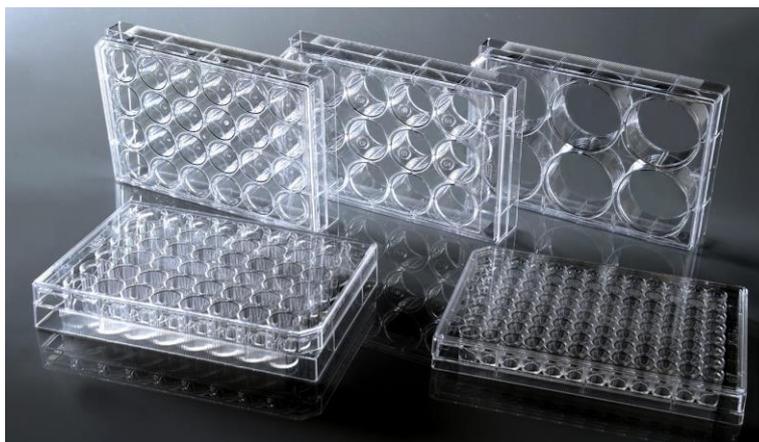


Figura 3.1: Caixas de cultivo celular [53]

Contudo, decidiu-se desenvolver o biorreator magnético apenas para o funcionamento com dois tipos de placas, as de 24 e as de 48 poços, pelo facto de serem as placas mais utilizadas no cultivo celular e de

forma a reduzir os custos de produção. Na Figura 3.2 estão ilustradas as caixas de 24 e 48 poços com as suas respectivas medidas standard.

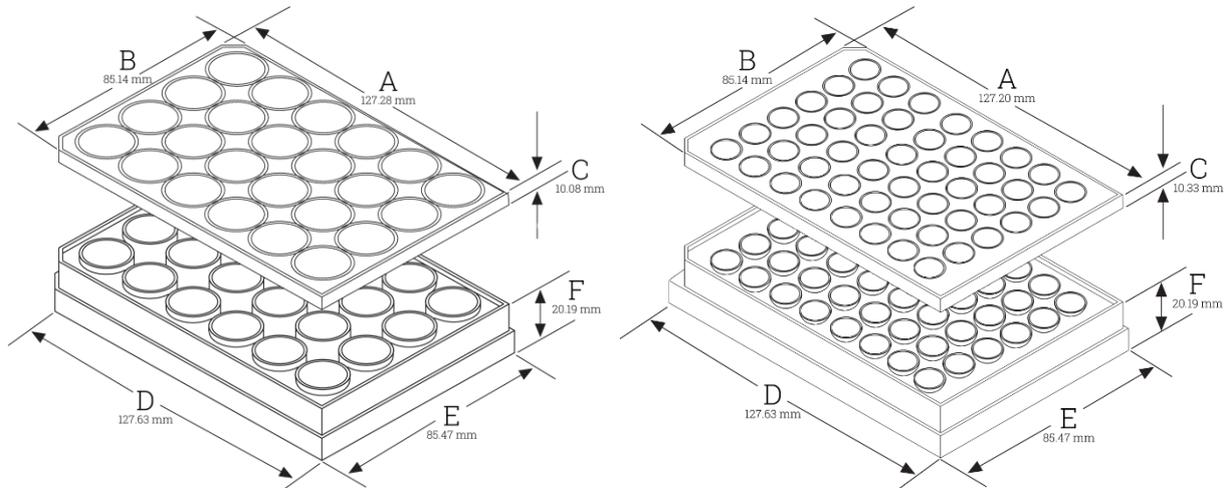


Figura 3.2: Dimensões das placas de 24 e 48 poços [54]

3.1. Sistema magnético

De modo a criar o campo magnético para o biorreator, foram estudadas duas formas, através de eletroímãs e através de ímãs permanentes. Assim, são apresentados os estudos realizados para a criação de um campo magnético variável para cada tipo de caixa de cultivo celular. Para a realização deste estudo, recorreu-se ao COMSOL Multiphysics, Figura 3.3, que é um *software* de simulação de modelos multi-físicos, ou seja, permite analisar componentes elétricas, mecânicas, fluidicas e químicas. Foi utilizada esta ferramenta de forma a permitir avaliar varias componentes importantes para a simulação do sistema magnético.

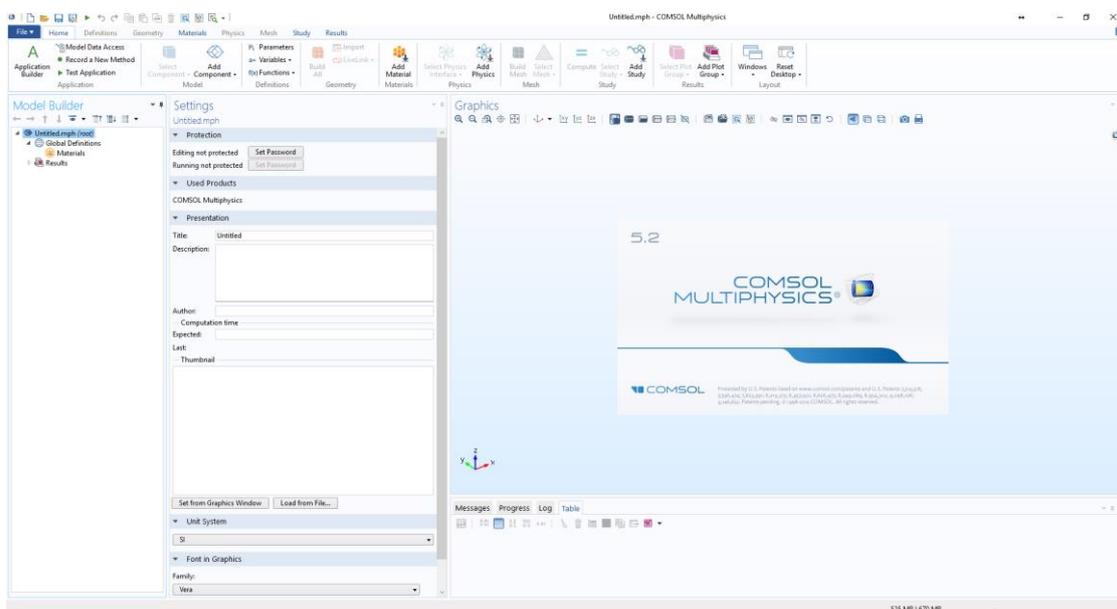


Figura 3.3: COMSOL MULTIPHYSICS

De forma a verificar a o campo magnético real simulado pelo COMSOL, foi medido com um gaussímetro o campo magnético de um eletroíman existente no laboratório cujo as características estão representadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Caracterização do eletroíman

Eletroíman topologia I	
Imagem	
Número de espiras	720
Diâmetro do fio de cobre	0,72 mm
Corrente	1 A
Resistência	41,984 Ω /km
Comprimento do fio	67,45 m
Altura do eletroíman	63 mm
Diâmetro do eletroíman	25 mm
Núcleo	Ferro
Diâmetro do núcleo	10 mm
Peso	201,7 g

A Figura 3.4 mostra a simulação do campo magnético de um eletroíman com estas características. Como se pode observar, o campo magnético à superfície do eletroíman ronda os 25 mT.

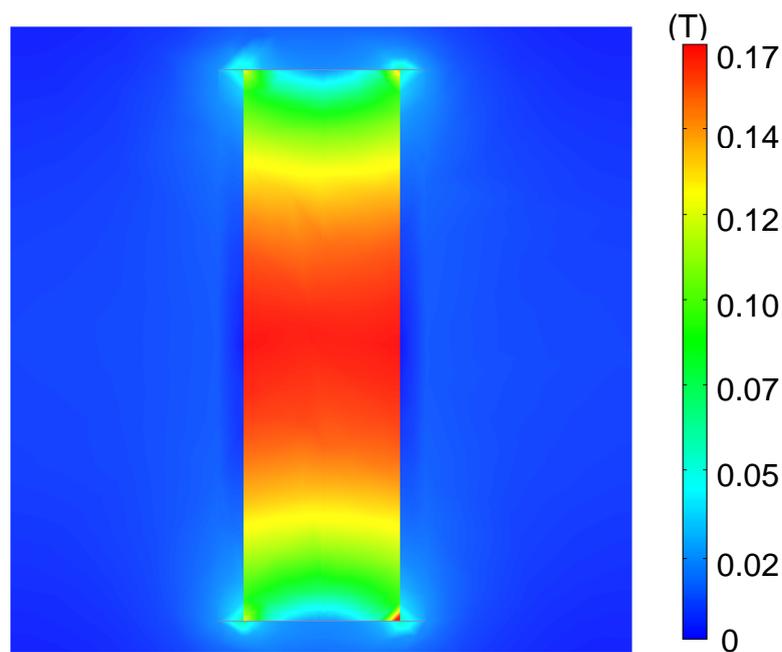


Figura 3.4: Simulação do campo magnético do eletroíman do laboratório

A Figura 3.5 mostra o campo magnético medido à superfície do eletroímã. Neste caso, injetando uma corrente de 1 A às espiras do eletroímã, obtemos um campo magnético de 27,3 mT, conforme os resultados da simulação apresentados anteriormente.

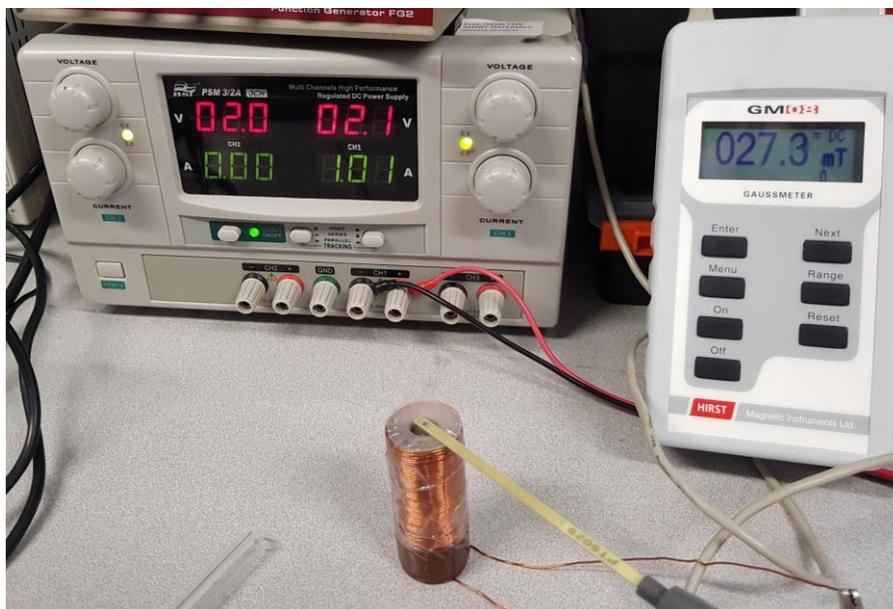


Figura 3.5: Medição do campo magnético do eletroímã com uma corrente de 1 A

Contudo, para ser possível o enrolamento do fio de cobre ao núcleo, é necessário um carreto de modo a segurar o fio e isolá-lo do núcleo. Na Figura 3.6 mostra a espessura (1 mm) do carreto do eletroímã em questão.

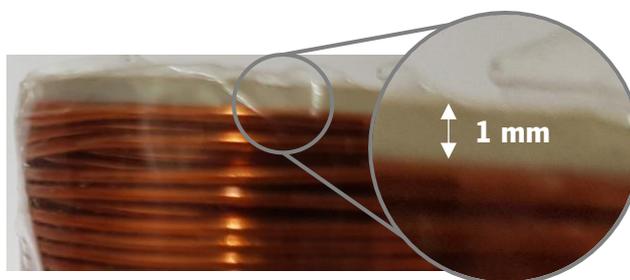


Figura 3.6: Carreto do eletroímã

Ou seja, para o dimensionamento de um eletroímã é necessário ter em conta a espessura do carreto a utilizar, pois sendo fino de mais, perde resistência e podendo vir a comprometer a estrutura do eletroímã.

3.1.1. Caixa de cultivo de 24 poços

Para o estudo da forma de criação do campo magnético foram simulados os campos magnéticos de ímãs permanentes e de eletroímãs.

Ímanes permanentes

Para a criação do campo magnético para a placa de 24 poços, foram escolhidos os ímanes permanentes com maior magnetização do mercado, seguindo as dimensões dos poços, cujo as características são apresentadas na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Características do ímanes permanentes para a placa de 24 poços

Ímanes 15 mm x 3 mm (S-15-03-N52N) [56]	
Imagem	
Magnetização	N52
Material	NdFeB
Diâmetro	15 mm
Altura	3 mm
Revestimento	Niquel
Força	3,6 kg (35,5 N)
Temperatura de funcionamento máxima	65 °C
Peso	4 g
Preço ²	0,96 €

A Figura 3.7 mostra a simulação do campo magnético do íman escolhido para a placa de 24 poços, onde, à superfície do íman, o campo magnético obtido é aproximadamente 0,25 T.

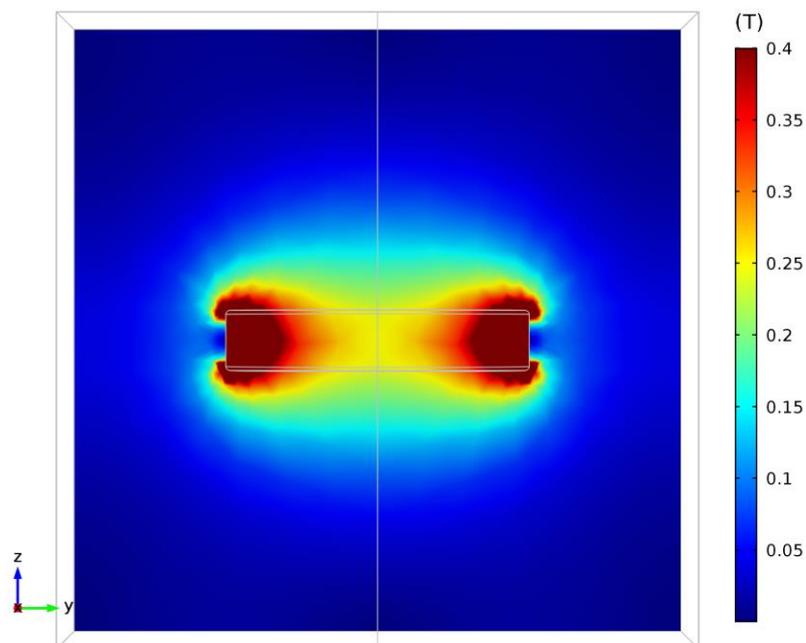


Figura 3.7: Simulação do campo magnético de um íman 15 mm x 3 mm

² Preço obtido através do site do *supermagnete* [56], estando sujeitos a alterações.

De modo a aumentar o campo magnético que atinge cada poço da placa de cultivo, juntara-se 3 ímanes criando um módulo para cada poço. A Figura 3.8 mostra a simulação do campo magnético do módulo com os 3 ímanes de 15 mm x 3 mm. Desta forma, consegue-se obter praticamente o dobro do valor obtido apenas num só íman. À superfície consegue-se um campo magnético de cerca de 0,5 T.

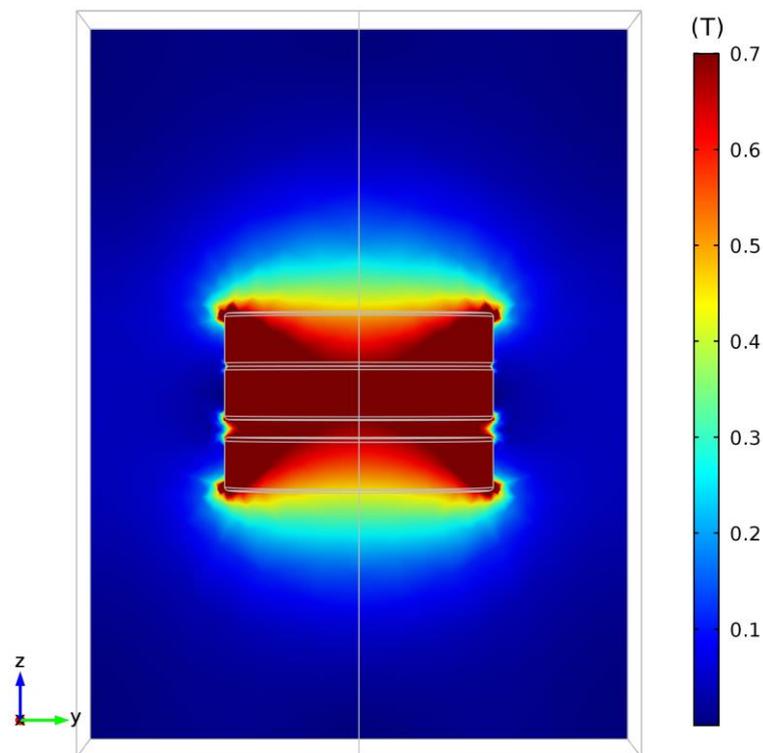


Figura 3.8: Simulação do campo magnético de um módulo com 3 ímanes 15 mm x 3 mm

Eletroímans

Para o dimensionamento dos eletroímans para a placa de cultivo de 24 poços, é necessário ter em conta a distância entre poços, pois é o espaço único existente para o enrolamento do fio. A Figura 3.9 mostra a distância ente os poços da placa de cultivo de 24 poços.

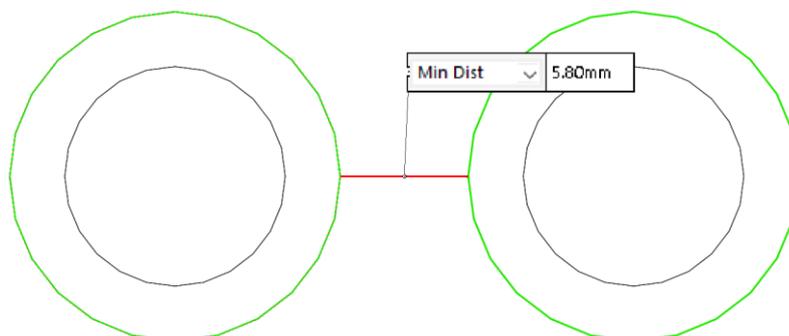


Figura 3.9: Distância entre poços da placa de 24 poços

Ou seja, para o enrolamento do fio para este eletroíman teríamos apenas 2,9 mm, sendo que 1 mm seria para o carreto, ficando apenas com 1,9 mm de cobre enrolado. Seguindo a tabela de

dimensionamento de fios de cobre [57], escolheu-se um fio com 0,45466 mm de diâmetro, em que suporta 0,457 A enrolado, sendo possível fazer 4 voltas com o fio. Assim, limitando a altura do íman à altura da caixa do biorreator (67 mm), obtemos o íman com as seguintes características, Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Características para o eletroímã para placa de 24 poços

Eletroímã para placa de 24 poços	
Número de espiras	588
Diâmetro do fio de cobre	0,45466 mm
Resistência	106.1736 Ω /km
Comprimento do fio	35 m
Altura do eletroímã	67 mm
Diâmetro do eletroímã	20,8 mm
Núcleo	Ferro
Diâmetro do núcleo	15 mm
Peso (estimado)	109 g

Assim, simulando o campo magnético de um eletroímã com estas características obtemos os seguintes resultados, Figura 3.10. Como se pode observar, à superfície do eletroímã obtemos um campo magnético quase nulo, 0,01 T.

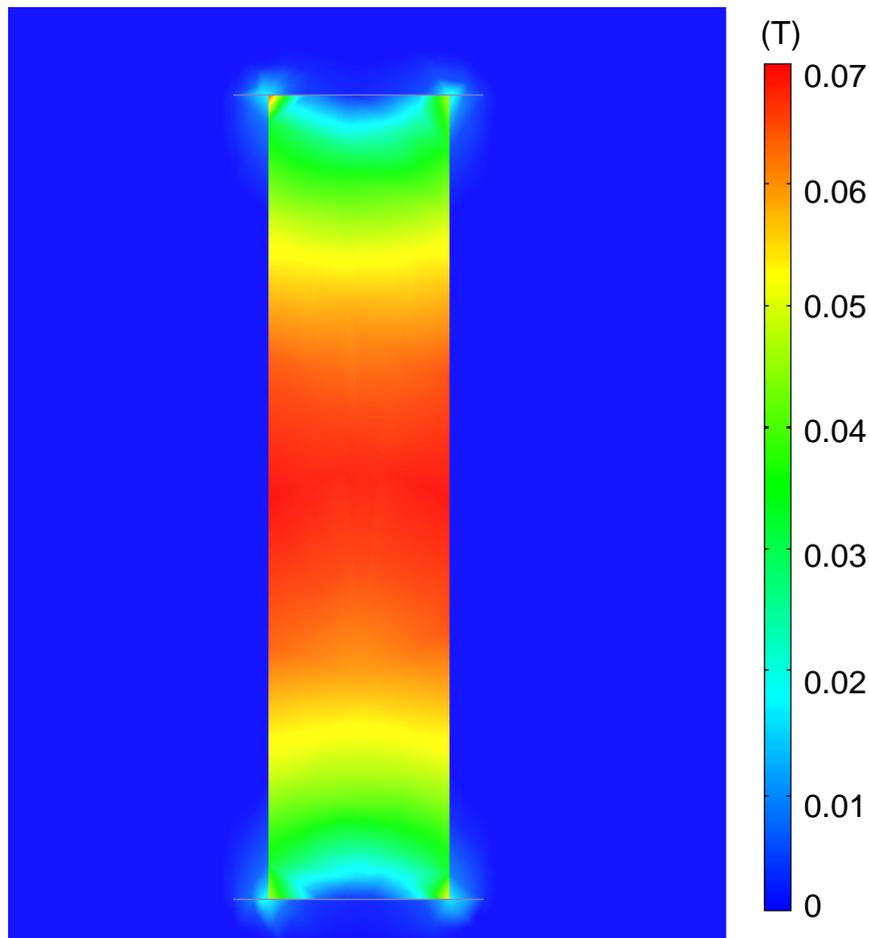


Figura 3.10: Simulação do campo magnético do eletroímã para a mesa de 24 poços

Assim, chega-se à conclusão que para a placa de cultivo de 24 poços, é muito mais viável a utilização de ímanes permanentes do que eletroímans, principalmente devido ao campo magnético, que é relativamente maior, ao peso, que é bastante inferior nos ímanes permanentes e à corrente necessária para a alimentação dos eletroímans, que estará associada a uma potência maior, logo, irá originar um maior aquecimento interno do biorreator. Logo, optou-se pela utilização de 3 ímanes permanentes de 15 mm x 3 mm, criando um campo magnético à superfície de 0,5 T.

3.1.2. Caixa de cultivo de 48 poços

Para o estudo da forma de criação do campo magnético foram simulados os campos magnéticos de ímanes permanentes e de eletroímans.

Ímanes permanentes

Para a criação do campo magnético para a placa de 24 poços, foram escolhidos os ímanes permanentes com maior magnetização do mercado, seguindo as dimensões dos poços, cujo as características são apresentadas da Tabela 3.4.

Tabela 3.4: Características do ímanes permanentes para a placa de 48 poços

Ímanes 15 mm x 3 mm (S-15-03-N52N) [56]	
Imagem	
Magnetização	N52
Material	NdFeB
Diâmetro	10 mm
Altura	5 mm
Revestimento	Niquel
Força	3,2 kg (31,4 N)
Temperatura de funcionamento máxima	65 °C
Peso	3 g
Preço³	0,76 €

A Figura 3.11 mostra a simulação do campo magnético do íman escolhido para a placa de 28 poços, onde, à superfície do íman, o campo magnético obtido é aproximadamente 0,5 T.

³ Preço obtido através do site do *supermagnete* [56], estando sujeitos a alterações.

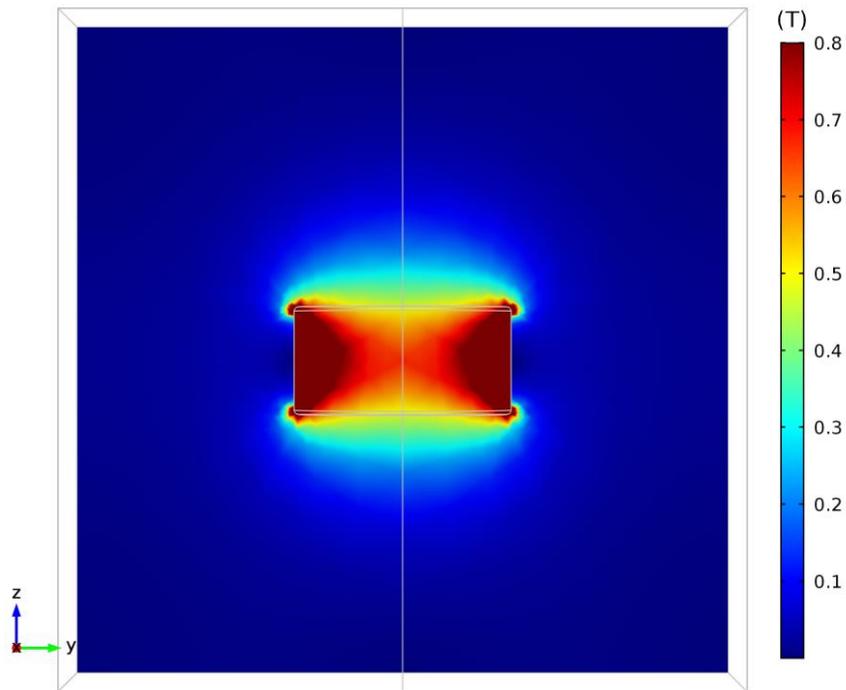


Figura 3.11: Simulação do campo magnético de um íman 10 mm x 5 mm

De modo a aumentar o campo magnético que atinge cada poço da placa de cultivo, juntaram-se 2 ímanes, criando um módulo para cada poço. A Figura 3.12 mostra a simulação do campo magnético do módulo com os 2 ímanes de 10 mm x 5 mm. Desta forma, consegue-se subir ligeiramente o valor do campo magnético à superfície do íman, conseguindo chegar aos 0,6 T.

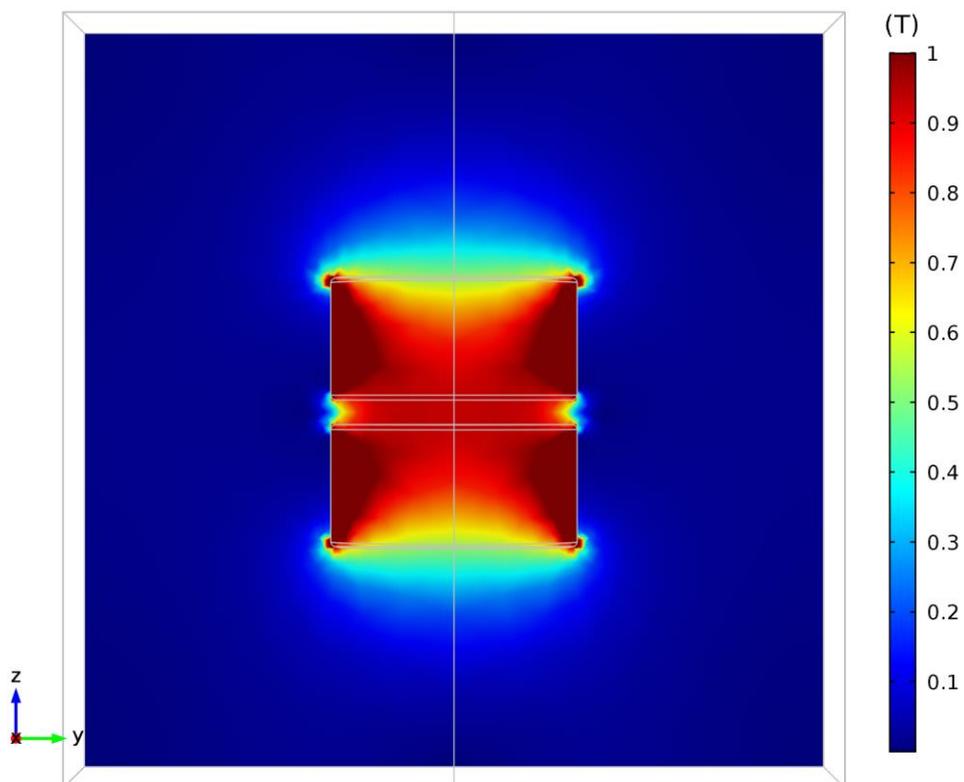


Figura 3.12: Simulação do campo magnético de um módulo de 2 ímanes 10 mm x 5 mm

Eletroímans

Para o dimensionamento dos eletroímans para a placa de cultivo de 48 poços, é necessário ter em conta a distância entre poços, pois é o espaço único existente para o enrolamento do fio. A Figura 3.13 mostra a distância ente os poços da placa de cultivo de 48 poços.

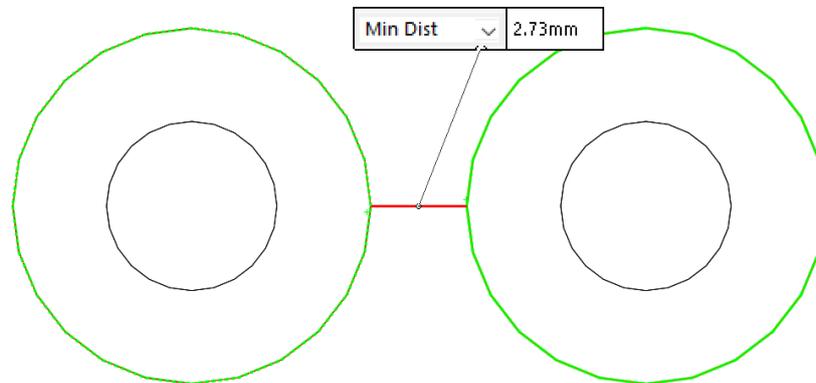


Figura 3.13: Distância entre poços da placa de 48 poços

Ou seja, para o enrolamento do fio para este eletroíman teríamos apenas 1,365 mm, sendo que 1 mm seria para o carroto, ficando apenas com 0,365 mm de cobre enrolado. Seguindo a tabela de dimensionamento de fios de cobre [57], escolheu-se um fio com 0,18034 mm de diâmetro, em que suporta 0,072 A enrolado, sendo possível fazer 2 voltas com o fio. Assim, limitando a altura do íman à altura da caixa do biorreator (67 mm), obtemos o íman com as seguintes características, Tabela 3.5.

Tabela 3.5: Características para o eletroíman para placa de 48 poços

Eletroíman para placa de 48 poços	
Número de espiras	294
Diâmetro do fio de cobre	0,18034 mm
Resistência	678,632 Ω /km
Comprimento do fio	11,4 m
Altura do eletroíman	67 mm
Diâmetro do eletroíman	12,73 mm
Núcleo	Ferro
Diâmetro do núcleo	10 mm
Peso (estimado)	44 g

Assim, simulando o campo magnético de um eletroíman com estas características obtemos os seguintes resultados, Figura 3.14. Como se pode observar, à superfície do eletroíman obtemos um campo magnético praticamente nulo, 0,0008 T.

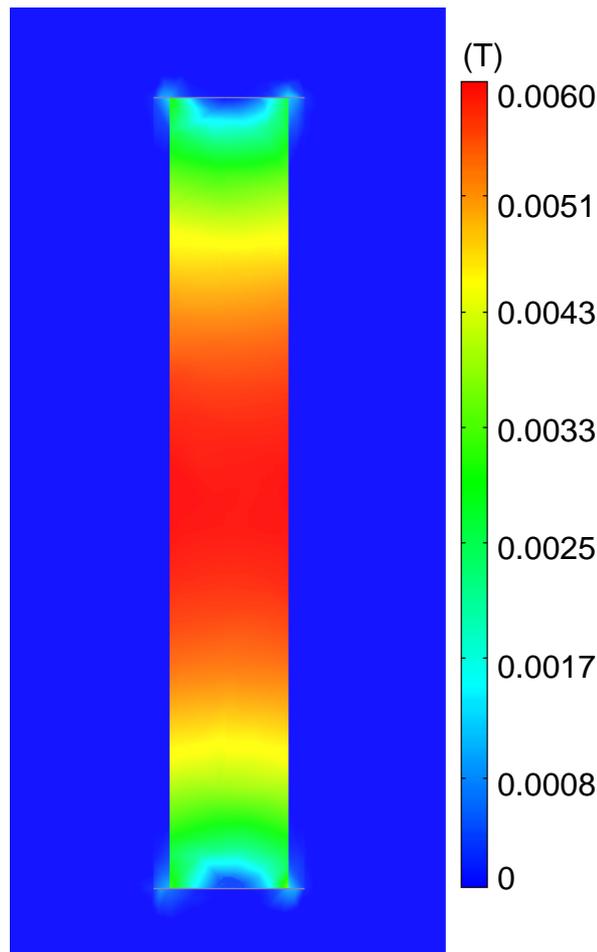


Figura 3.14: Simulação do campo magnético do eletroímã para a mesa de 48 poços

Assim, chega-se à conclusão que para a placa de cultivo de 48 poços, não é de todo possível a utilização de eletroímãs, visto que o valor de campo magnético à superfície é praticamente zero e a corrente necessária para a alimentação dos eletroímãs é maior do que a utilizada para a alimentação do motor, que estará associada a uma potência maior, logo, irá originar um maior aquecimento interno do biorreator. Assim, optou-se pela utilização de 2 ímãs permanentes de 10 mm x 5 mm, criando um campo magnético à superfície de 0,6 T.

3.2. Desenho e modelação da estrutura mecânica

A estrutura mecânica do biorreator foi pensada e desenhada de forma a responder às necessidades básicas de um biorreator e, ao mesmo tempo, de forma a eliminar problemas eminentes nos biorreatores abordados no capítulo 2. Para o desenvolvimento da estrutura mecânica do biorreator foi utilizado o *software* SOLIDWORKS. Foi escolhida esta ferramenta pela capacidade de conexão com o programa de desenvolvimento das placas de circuito impresso (explicado em 3.4). A estrutura mecânica é constituída

por três partes principais: a caixa de suporte ao biorreator; as tampas da caixa, que possibilitam o acesso ao interior; e a base de suporte à mecânica principal do funcionamento do biorreator, Figura 3.15.

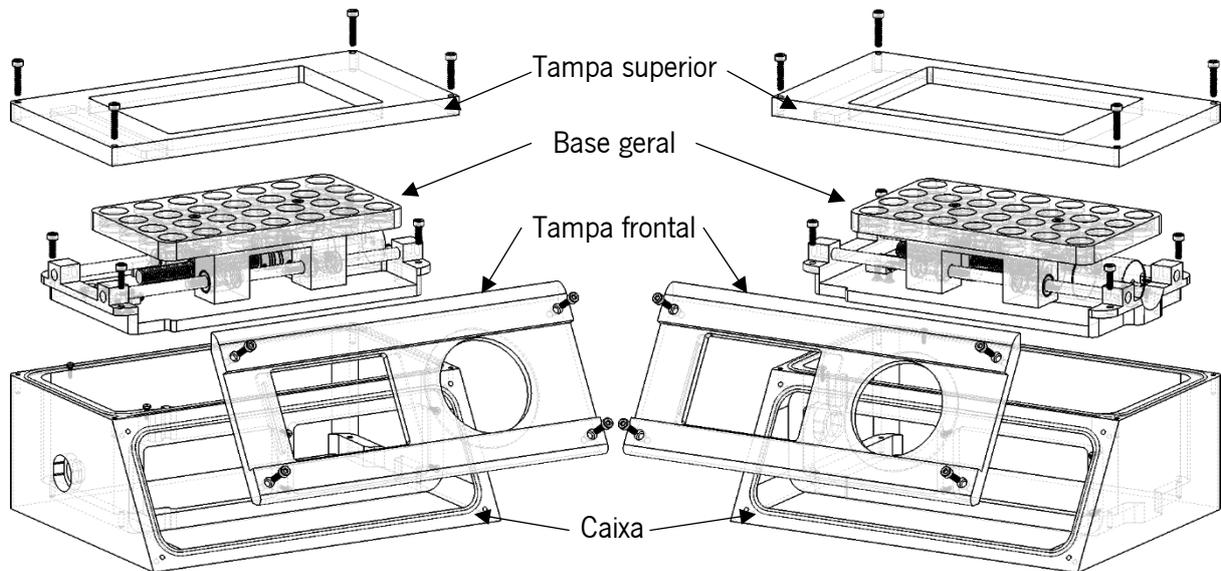


Figura 3.15: Estrutura mecânica do biorreator

Na figura acima estão ilustradas duas perspectivas de uma vista explodida da estrutura mecânica do biorreator. Nestas perspectivas é possível observar as três partes do biorreator na sua trajetória de encaixe, sequencialmente posicionadas, onde a base geral é inserida na caixa posteriormente fechada pelas tampas (superior e frontal).

3.2.1. Caixa do biorreator

Esta parte do biorreator tem como objetivo ser a base do sistema, sendo moldada numa peça única, de modo a reduzir o número de juntas entre paredes, com o intuito de se tornar numa caixa estanque, visto que, um biorreator, no fim de cada utilização de cultivo celular, deve ser limpo e esterilizado com água e químicos, podendo colocar em causa o bom funcionamento interno do biorreator. A modelação desta caixa foi feita de forma a torna-la numa peça leve, resistente e de fácil operação, escolhendo um material que assim o permitisse. Para a caixa do biorreator foi escolhido o PEAD, polietileno de alta densidade (em inglês HDPE – *high density polyethylene*), Figura 3.16. O PEAD é um polímero plástico com boas propriedades mecânicas e térmicas, que tornam o material ideal para uma ampla gama de aplicações pela sua alta durabilidade. Este polímero tem uma estrutura química linear, ou seja, possui uma alta densidade, cristalinidade, força e opacidade, fazendo com que suporte temperaturas com picos de 120 °C e temperaturas contínuas de 110 °C [50].



Figura 3.16: PEAD - Polietileno de alta densidade

O PEAD tem uma alta resistência a ácidos diluídos e concentrados, álcoois e bases, tem uma boa resistência a aldeídos, ésteres, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, óleos minerais e vegetais, é um material leve, contudo, com alta resistência ao impacto, agentes químicos, toxicidade, incrustação, congelamento e corrosão, garantindo uma vida útil superior a 50 anos. O polietileno não enferruja, apodrece ou corrói devido a ações químicas, eletrolíticas ou galvânicas [50]. O facto de a superfície do material ser lisa, reduzindo o crescimento de bactérias ou fungos diminuindo a probabilidade de contaminação do cultivo celular. Na Figura 3.17 está ilustrado o esquema em perspetiva isométrica da caixa do biorreator.

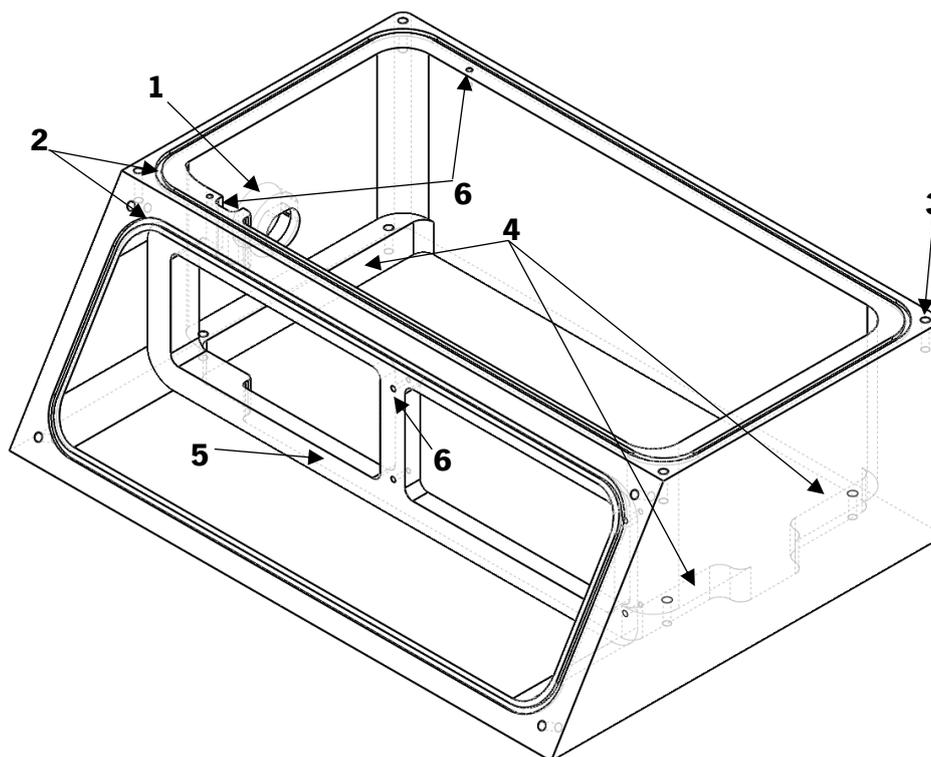


Figura 3.17: Perspetiva isométrica da caixa do biorreator

De modo a ser possível a alimentação do biorreator, foi inevitável a criação de uma abertura na caixa (Figura 3.17, 1). Esta abertura foi desenhada consoante a forma de uma ficha de alimentação à prova de água que isola a caixa com um o-ring. Na Figura 3.18 ilustra a abertura feita para a ficha na caixa, onde foi projetado um rebaixo na parede exterior de modo a segurar o o-ring, que após ser apertado com a ficha de alimentação, torna o interior do biorreator isolado.

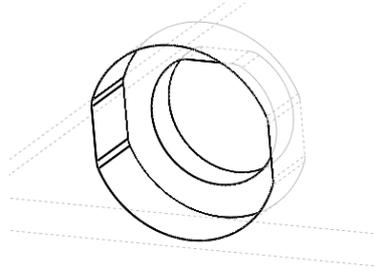


Figura 3.18: Abertura da caixa do biorreator para a ficha de alimentação

Para que o isolamento total do biorreator seja possível, foi necessário criar uma linha de vedação para cada tampa do biorreator (Figura 3.17, 2). Projetou-se a colocação de uma fita o-ring de modo a isolar o interior do biorreator. Para que tal fosse possível, foi necessária a abertura de uma cavidade ao longo das paredes do biorreator (Figura 3.17, 1), de modo a guiar e segurar o o-ring, que, após a colocação e aperto das tampas, garante o isolamento interno do biorreator. Os furos para os parafusos das tampas foram projetados para que garantissem o aperto das tampas, mas ao mesmo tempo que não comprometessem o isolamento, pois é necessário um furo que liga o exterior da tampa à parede da caixa do biorreator. Para isso criaram-se os furos na zona externa da parede, ficando assim isolado pelo o-ring, permitindo a continuidade do isolamento, Figura 3.17 (2).

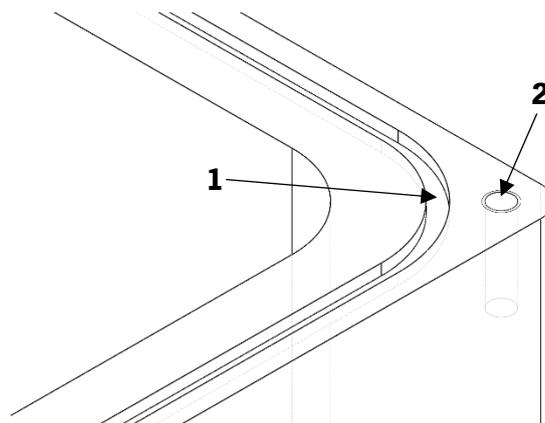


Figura 3.19: Cavidade para o o-ring (1) e furo para parafuso da tampa (2)

A caixa do biorreator foi desenhada de acordo com a base geral (explicada em 3.2.2), para que se tornasse uma peça amovível, facilitando a manutenção do biorreator. Após a colocação da base geral na caixa, é necessária a sua fixação à mesma, com quatro parafusos, permitindo uma maior estabilidade

do sistema. De modo a garantir a estabilidade do sistema, sem aumentar o peso da caixa, foram projetados uns degraus para a fixação da base geral (Figura 3.17, 4 e Figura 3.20, 1). Assim, foi possível aumentar a profundidade do furo para o parafuso (Figura 3.20, 2) da base geral, mantendo a espessura da base do biorreator (Figura 3.20, 3) o mais pequena possível, como ilustrado na Figura 3.20.

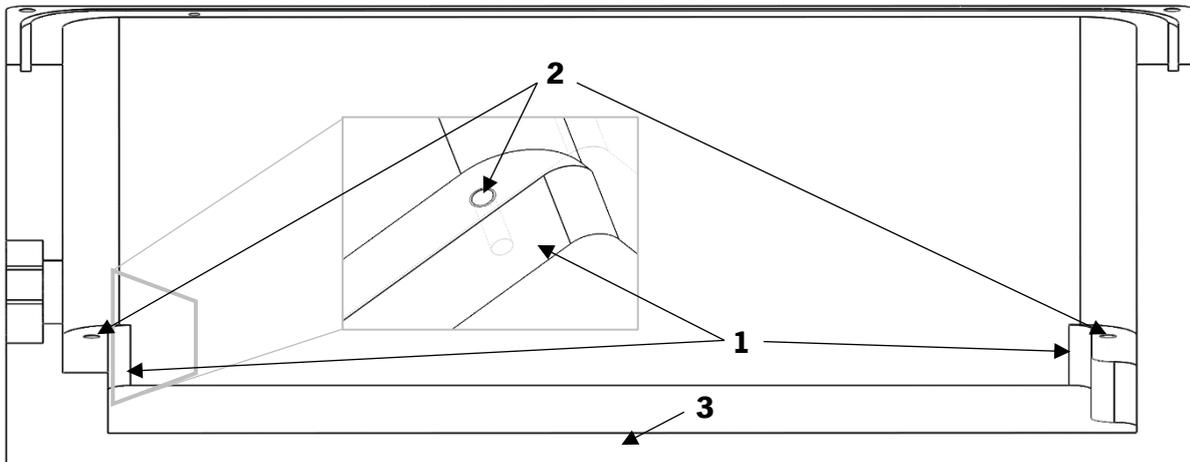


Figura 3.20: Corte lateral da vista frontal da caixa do biorreator

A Figura 3.21 ilustra a arquitetura frontal da caixa do biorreator. A zona 1 da Figura 3.21 foi projetada de forma a criar uma separação entre a parte do mecanismo de oscilação da mesa de ímãs e a parte do seu controlo e de modo a reforçar forma estrutural da caixa. Contudo, para que a caixa fosse o mais leve possível, retirou-se material no centro da parede, formando assim duas janelas (Figura 3.17, 5 e Figura 3.21, 1), mantendo um pilar central de reforço à estrutura. Do lado direito da parede e na parte superior da caixa, foram criados uns furos (Figura 3.21, 2 e Figura 3.17, 6) de apoio a placas de circuito impresso de controlo do biorreator. Na Figura 3.21, observa-se também os furos (Figura 3.21, 3) de suporte à tampa frontal, onde se encontram do lado de fora da cavidade do o-ring, mantendo assim o isolamento desejado.

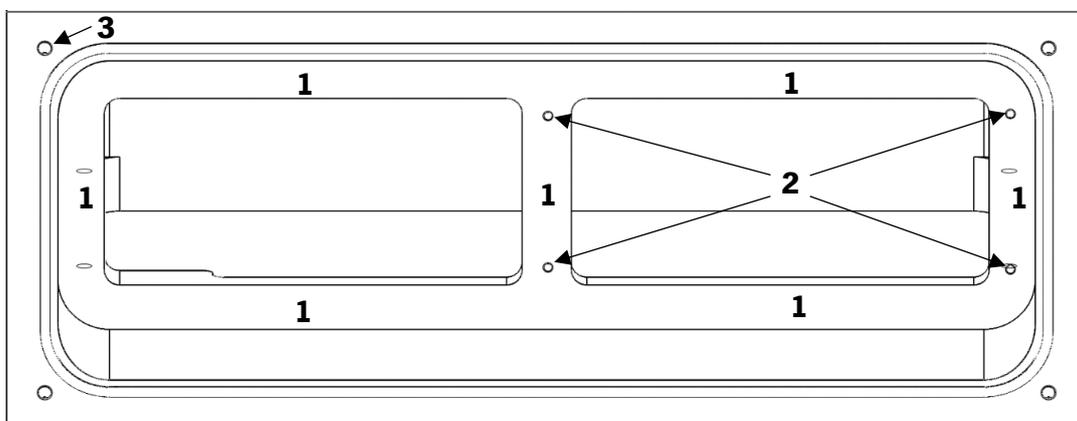


Figura 3.21: Vista frontal da caixa do biorreator

Para que um cultivo de células seja efetuado, é necessário um ambiente controlado, sendo imprescindível a colocação do biorreator dentro de uma estufa para cultura de células. Geralmente a estufa é colocada em cima de uma mesa, tornando-a mais acessível, posicionando o biorreator à altura entre o peito e o pescoço do utilizador. A altura do biorreator pode variar através dos tabuleiros existentes na estufa, verticalmente distribuídos, consoante a altura do utilizador, garantindo assim, que o biorreator está na posição correta em relação ao utilizador. De forma a tornar confortável a visibilidade e o controlo do biorreator ao utilizador, a caixa foi projetada com uma inclinação (60°) na parte frontal de modo a colocar o LCD e o controlador *touch* no campo de visão confortável do utilizador.

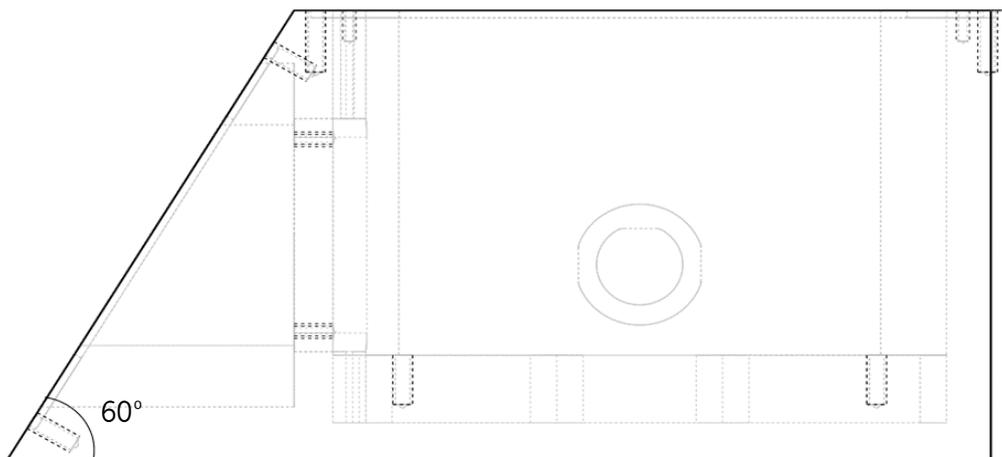


Figura 3.22: Vista lateral da caixa do biorreator

Na Figura 3.23 está representada a modelação em três dimensões da caixa estrutural do biorreator, incluindo as partes inseridas diretamente na estrutura que são: a ficha de alimentação (1), placa de sensores (2) e placa de controlo principal (3), que serão explicadas mais à frente.

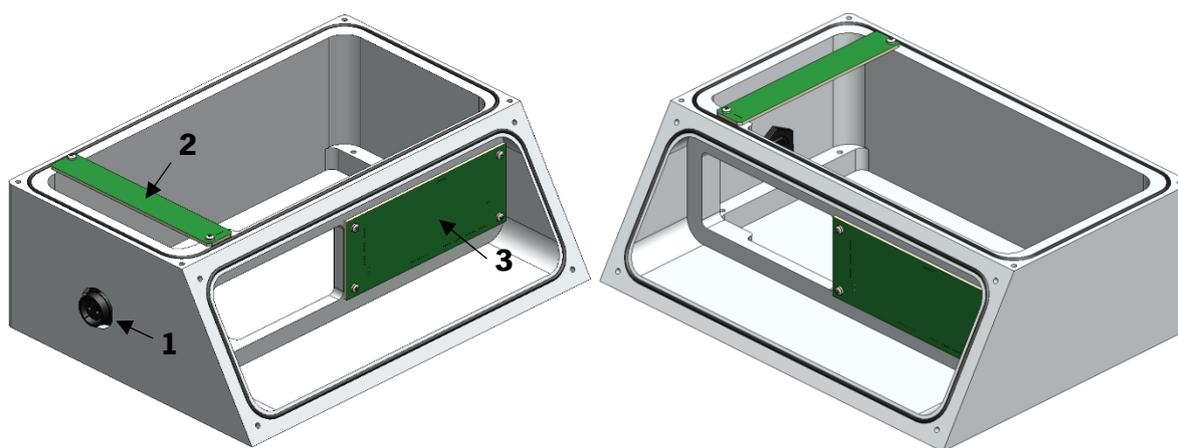


Figura 3.23: Caixa do biorreator com a ficha de alimentação e duas PCB's posicionadas

3.2.2. Base Geral

Esta parte do biorreator foi projetada de forma a servir de base geral ao mecanismo de oscilação da mesa de ímãs permanentes. Uma das grandes vantagens desta parte do biorreator, é o facto de ser amovível, tornando a montagem e o acesso a qualquer peça do biorreator muito mais acessível do que se fosse tudo embutido na caixa do biorreator. Por ser uma parte amovível e projetada para movimentação de peças (maior desgaste), o material da base geral e de todas as suas componentes foi modelado em TECAST T natural (PA6 C), Figura 3.24. Este material, também conhecido por nylon fundido, é produzido por fundição (não por extrusão) [51]. Uma das suas grandes vantagens é a possibilidade de substituir outros materiais utilizados na indústria como o aço, ferro, bronze ou alumínio. O nylon fundido tem como principais características a alta resistência a químicos, um alto ponto de fusão, alta resistência ao desgaste, baixo atrito, o material é auto lubrificante, entre outros [51]. O seu peso (cerca de 1/8 do peso do bronze), sua maior facilidade de maquinação do que os metais (ferro, alumínio, latão e bronze) e o facto que não influenciar o campo magnético foram outros aspetos importantes a ter em conta na sua escolha.



Figura 3.24: TECAST T natural (PA6 C) [52]

A Figura 3.25 apresenta duas perspetivas isométricas da base geral do biorreator, onde se observa todo o módulo evolvente desta parte, incluindo as diferentes peças de apoio ao mecanismo de oscilação da plataforma.

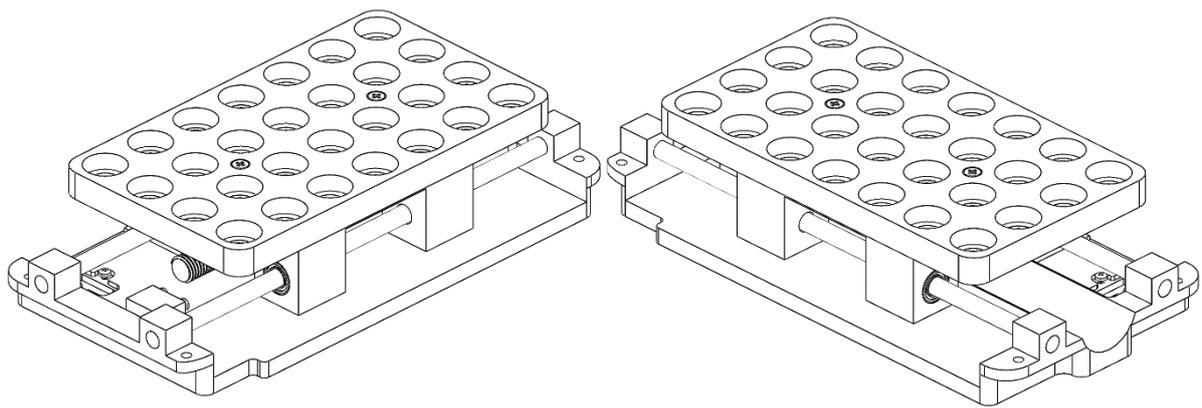


Figura 3.25: Perspetivas isométricas da base geral do biorreator

Base

Esta base foi projetada de modo a cumprir todos os requisitos necessários para uma peça móvel, segura e de fácil utilização. A Figura 3.26 ilustra um esquema da base de suporte para a estrutura móvel do biorreator, onde se encontram numerados os diversos pormenores da mesma. De forma a que o motor fique apoiado e seguro nesta plataforma, foi desenhado um apoio, segundo as medidas do motor, que está representado em 1. Para que o motor fique preso a esta base, foi desenhado o encaixe com a furação específica do motor de modo a ficar preso com dois parafusos, como mostrado em 2. Em 3, está representado um dos quatro suportes das guias para o suporte da mesa de ímanes. As guias são introduzidas na base, fazendo a conexão das extremidades da peça, permitindo o apoio para o deslizamento do suporte da mesa de ímanes ao longo de toda a base.

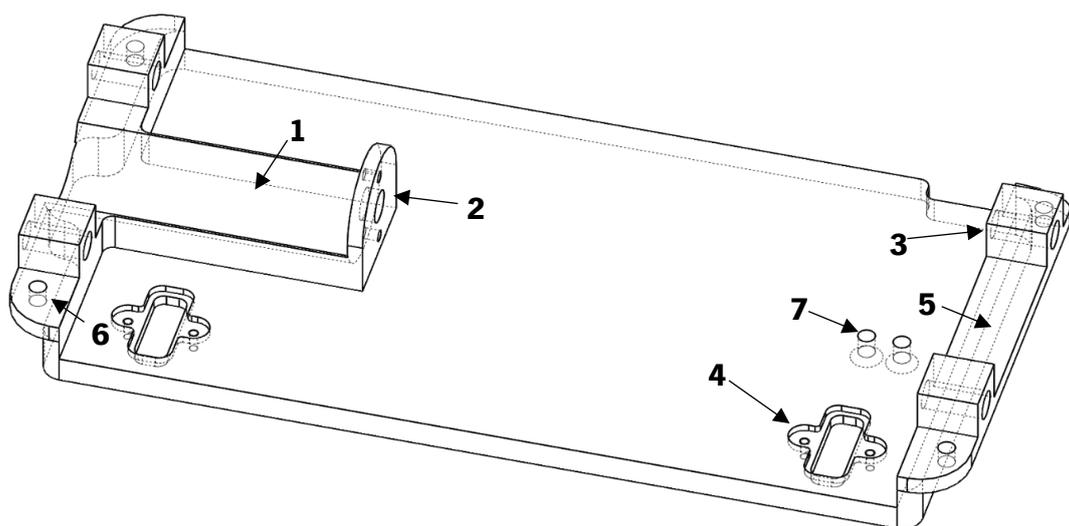


Figura 3.26: Base de suporte para toda a estrutura móvel do biorreator

De modo a evitar que a mesa de ímanes cause trepidação no biorreator batendo das paredes da caixa, foram modelados dois buracos (4) para a colocação de fins de curso, evitando assim a colisão da mesa

com a parede da caixa do biorreator. Como ilustrado anteriormente na Figura 3.20 (1), a caixa do biorreator foi desenhada com um degrau de reforço para a colocação e aperto desta base. Para tal, foi necessário moldar a base com esse formato, evitando que esta ficasse no ar, causando instabilidade no sistema. O número 5 da Figura 3.26 mostra o desnivelamento projetado para esta base, encaixando perfeitamente na caixa, de forma simples e segura. De modo a prender a base à caixa, foram desenhados os furos para a colocação de parafusos, ilustrado em 6. Por fim, em 7 estão localizados os furos para a fixação do apoio da placa de leitura de posição e velocidade da plataforma magnética.

Na Figura 3.27 estão ilustradas duas perspectivas da modelação da base de suporte à plataforma magnética, estando representadas também as peças de contacto direto que são: o motor (1), placas de fim de curso (2), placa de leitura de posição e velocidade da mesa (3) e as guias de apoio (4) ao suporte da mesa de ímãs permanentes.

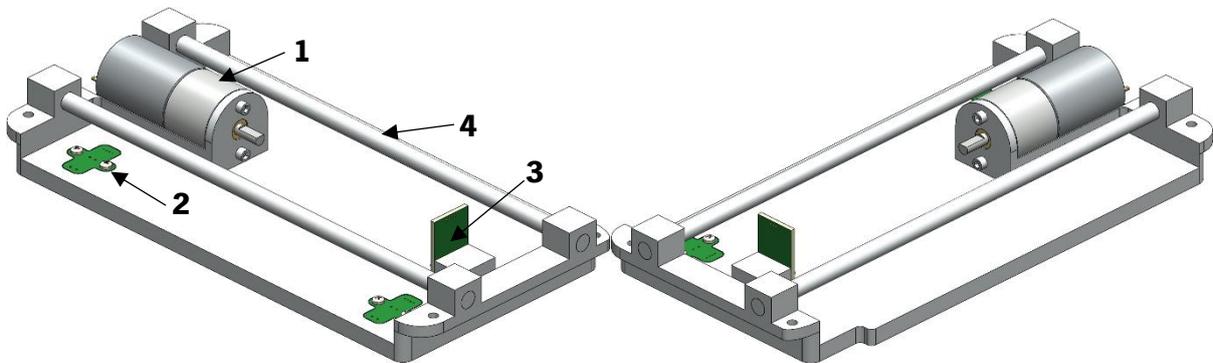


Figura 3.27: Base de suporte à plataforma magnética com motor, PCB's e guias colocadas

Suporte da plataforma magnética e acessórios

A projeção desta parte foi pensada de forma a criar uma plataforma oscilante no eixo horizontal, acoplado ao motor, variando assim a sua posição. Para que seja possível a movimentação desta estrutura foi necessária a inclusão de vários acessórios, como representado na Figura 3.28. Este suporte é constituído por seis partes fundamentais para o funcionamento desta estrutura: base do suporte (1), quatro rolamentos lineares (2), eixo roscado (3), acoplador do suporte ao eixo roscado (4), indicadores de final de curso (5), acoplador do eixo roscado ao motor (6).

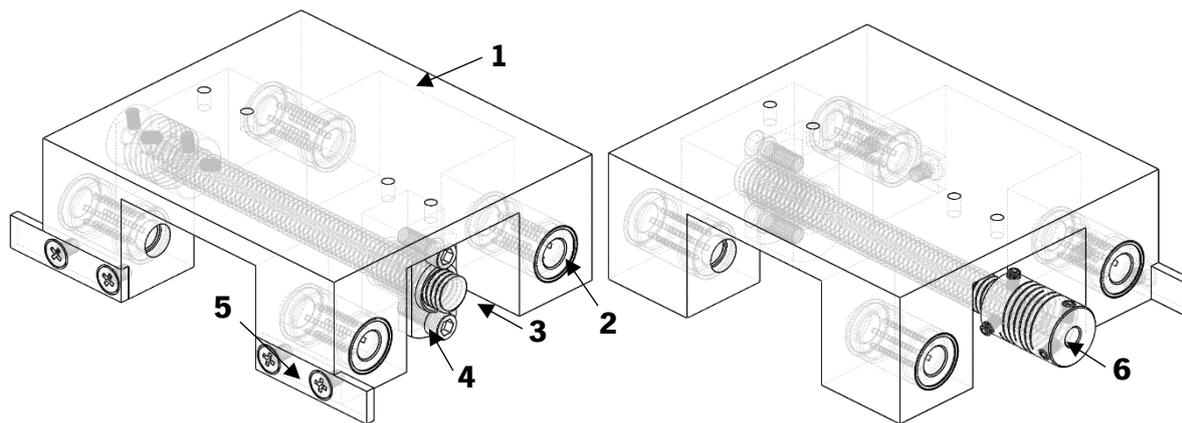


Figura 3.28: Suporte da plataforma magnética e acessórios

Base do suporte

A base do suporte foi desenvolvida para permitir a ligação da plataforma magnética à sua fonte de movimento, o motor. A Figura 3.29 mostra a base do suporte da estrutura magnética, ilustrando os seus detalhes. Em 1, vemos um dos locais de encaixe dos rolamentos lineares (explicados à frente). A estrutura foi projetada para ser suportada por quatro rolamentos de modo a existir uma maior distribuição do peso e uma maior estabilidade da estrutura, aumentando a precisão do movimento. De forma a movimentar esta plataforma, foi criada a zona 2, que serve de acoplamento entre a estrutura e o eixo roscado, que acoplado ao motor, irá controlar o movimento. Para a segurança do sistema, foi reservado um espaço nesta base para a colocação de indicadores de final de curso, ilustrado em 3. Decidiu-se tornar estas peças externas à base pelo facto de se tornar uma modelação de preço mais elevado devido ao aumento de material a ser removido ao bloco inicial. Em 4, estão ilustradas as furações para as diferentes mesas.

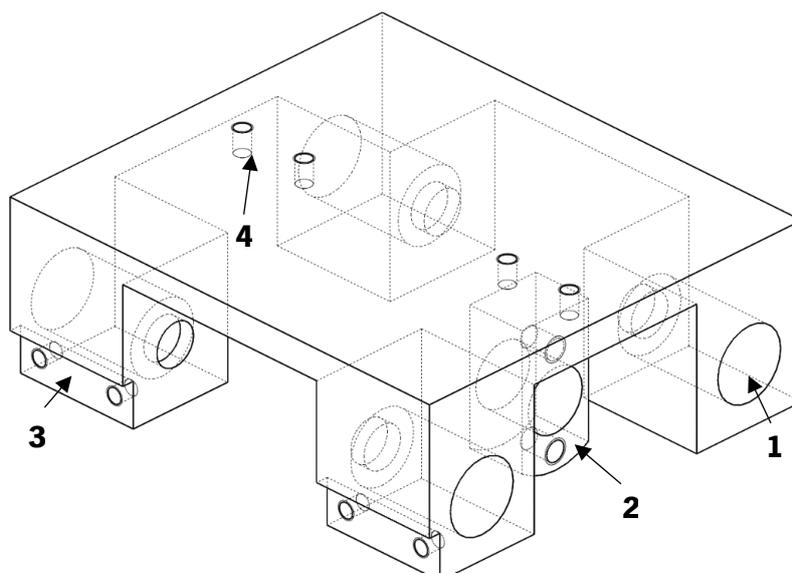


Figura 3.29: Base do suporte da plataforma magnética

Rolamentos lineares

Na

Figura 3.30 está representado um esquema (com perspetiva interna e externa) do rolamento linear de 6mm utilizado para permitir a movimentação desta estrutura. Os rolamentos são colocados na base do suporte, movimentando-se ao longo das guias, criando o movimento de translação desta estrutura. Em 1 estão ilustradas as esferas dos rolamentos, que fornecem um deslocamento ilimitado em movimento de baixo atrito, aumentando assim a durabilidade do equipamento.

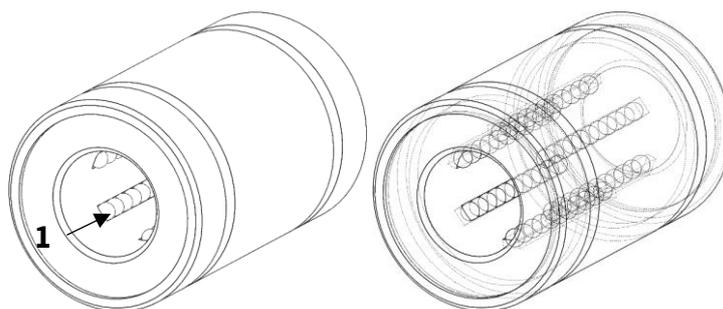


Figura 3.30: Rolamentos lineares

Eixo roscado

Para que este movimento de translação da estrutura seja controlável, implementou-se um mecanismo de acoplamento entre o motor a base de suporte através de um sistema de fuso/porca. A Figura 3.31 ilustra o eixo roscado com passo de 2mm (1) com o seu acoplador (2). Este eixo acompanha o movimento de rotação do motor, tornando-o num movimento de translação da estrutura magnética. Quando o motor é acionado, o eixo entra no movimento de rotação, que origina o movimento do acoplador, este, que está preso à base, originando o movimento de translação da plataforma magnética, criando assim um sistema de controlo do campo magnético.

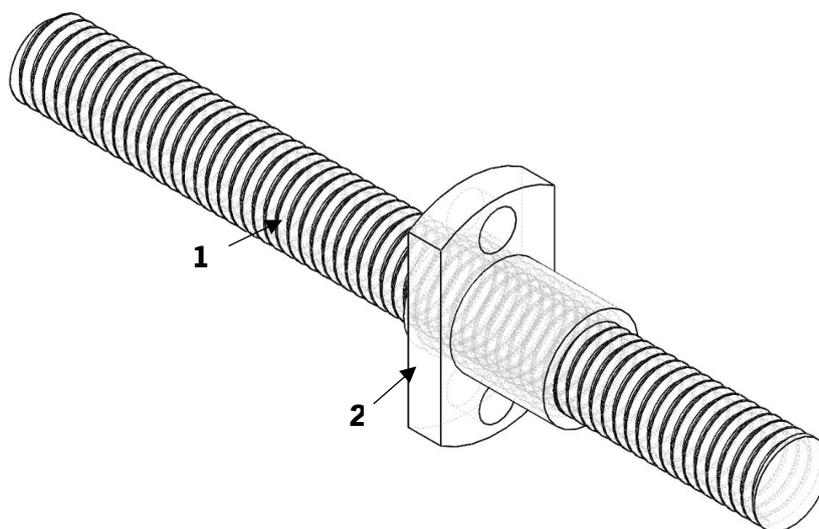


Figura 3.31: Eixo roscado (1) e acoplador (2) à base do suporte

Acoplador

A fim de transmitir o movimento do motor ao eixo roscado, utilizou-se um acoplador flexível, de forma a unir o eixo ao motor. Este acoplador, representado na Figura 3.32, tem duas medidas de aperto nas suas extremidades, pelo facto de o veio do motor ter 4 mm de diâmetro e o eixo roscado 8 mm. A extremidade com o buraco representado em 1, é o lado de encaixe do eixo roscado, a extremidade com o buraco 2, é a face oposta, onde encaixa o veio do motor. Em 3, estão ilustrados os parafusos de aperto a ambos os lados, apertando o eixo o veio do motor. A zona 4, é constituída por umas fendas em forma de mola, criando uma zona ligeiramente flexível para anular eventuais desalinhamentos existentes entre o veio do motor e o acoplador da base de suporte.

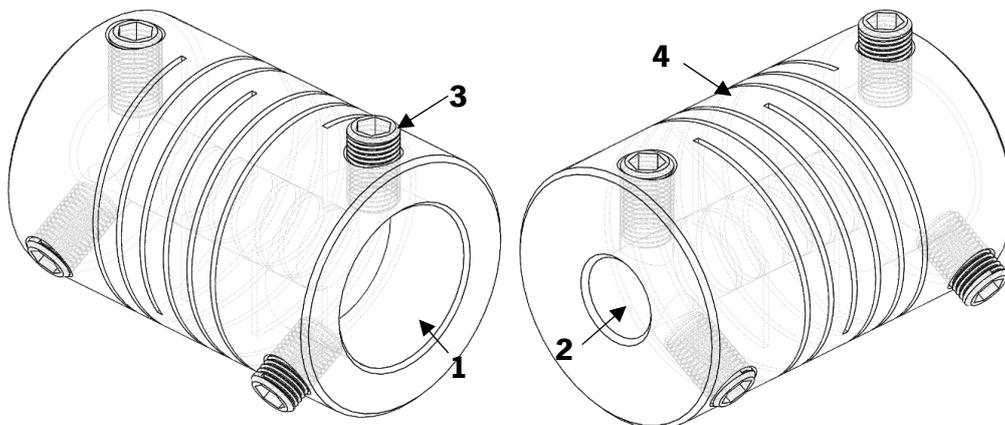


Figura 3.32: Acoplador do eixo roscado ao motor

Indicadores de fim de curso

Na Figura 3.33 ilustra a peça de fixação à base de suporte que indica ao sistema de controlo que a plataforma chegou ao limite do seu movimento. Esta peça é fixada com dois parafusos de cabeça chata de modo a não interferir com o resto com sistema.

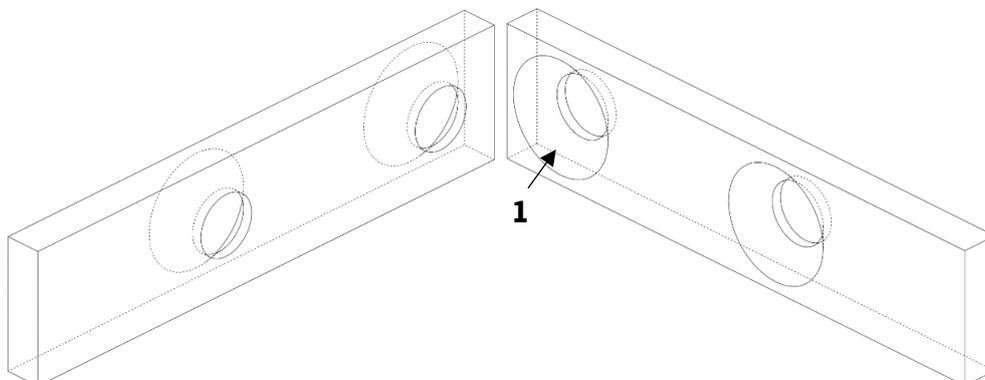


Figura 3.33: Indicadores de fim de curso

A Figura 3.34 representa o sistema mecânico para a movimentação a plataforma magnética explicado anteriormente, onde se pode observar as suas diferentes partes onde: 1 é o motor, 2 são guias de apoio

ao suporte, 3 é a base do suporte, 4 é o acoplador que liga o motor ao eixo roscado (5), 6 é o acoplador que é fixo ao suporte e transmite-lhe o movimento do motor, 7 são os indicadores do fim do curso da plataforma e, por fim, 8 são os rolamentos que permitem o movimento da estrutura sobre as guias.

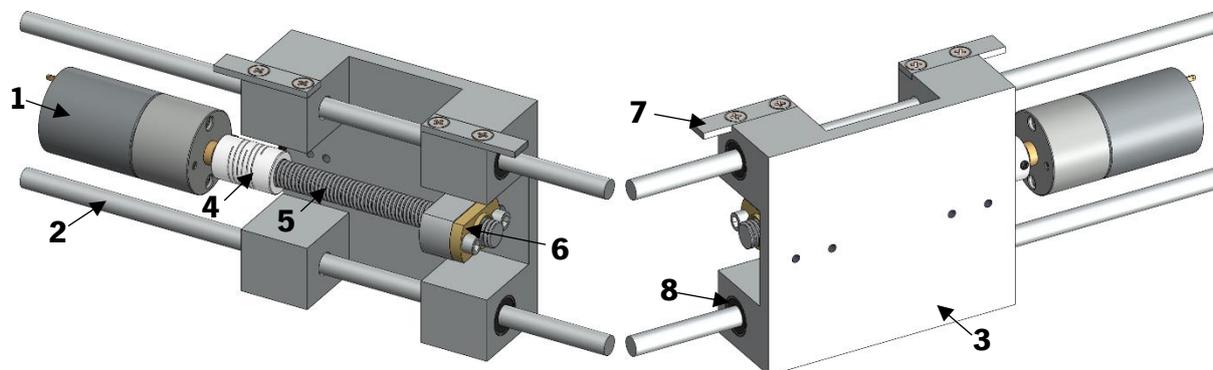


Figura 3.34: Sistema mecânico para movimentação da mesa magnética

Variadores de altura da plataforma

Na Figura 3.35 mostra os variadores de altura da plataforma magnética. Estas peças foram projetadas com o objetivo de permitir ao utilizador aumentar ou diminuir a intensidade do campo magnético aplicado nas células. A caixa do biorreator foi pensada e projetada para tal, tendo sido reservada uma área com 2 cm de altura para esta variação da plataforma. Para tal, foram desenhados quatro modelos de placas com o formato da base do suporte da mesa magnética, incluindo os furos correspondentes a cada uma das mesas, com alturas diferentes. Foram utilizadas as medidas: 1 mm, 2 mm, 5 mm e 10 mm, como mostra na figura abaixo, de modo a ser possível a variação de altura da plataforma a cada milímetro, consoante a necessidade do utilizador.

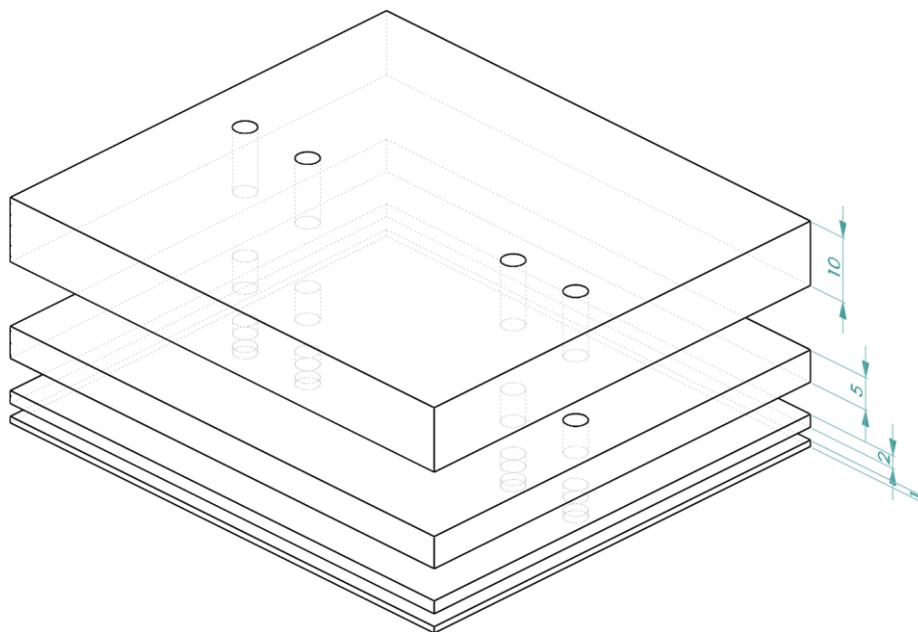


Figura 3.35: Variadores de altura da plataforma magnética

Mesa magnética

De modo a criar um cultivo equilibrado em todos os poços das placas de cultivo, projetou-se uma mesa magnética para cada umas das placas escolhidas. Desenvolveu-se uma mesa de 28 poços para a placa de cultivo de 24 poços, e uma mesa de 54 para a placa de 48.

Mesa de 28 poços

A mesa de 28 poços foi desenhada com uma matriz de 4×7 poços, seguindo o espaçamento dos poços da placa de cultivo de 24 poços, como mostra a Figura 3.36. Para esta mesa, utilizaram-se ímanes permanentes com as dimensões de $15 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ (explicados em 3.1.1). Para cada poço colocaram-se três ímanes de forma a aumentar o campo magnético. De modo a evitar a utilização de parafusos ou de colas, aproveitou-se a atração existente entre os ímanes para os segurar à estrutura, colocando dois por cima (1) e um por baixo (2), separados por batente (3), fazendo com que os ímanes se segurem na mesa.

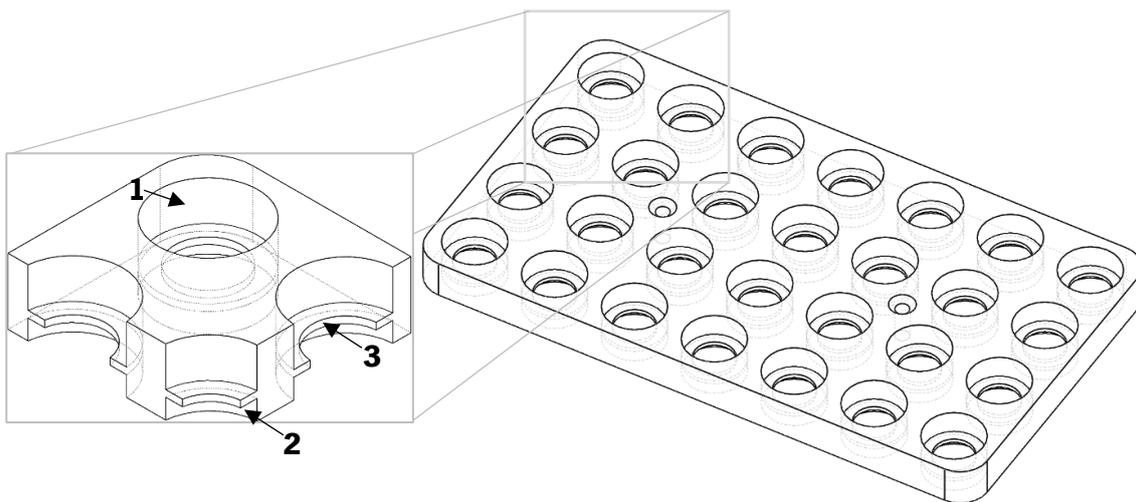


Figura 3.36: Mesa magnética de 28 poços e vista em corte

De modo a manter um cultivo equilibrado em todos os poços, desenhou-se a mesa com mais uma coluna de ímanes do que o número de poços da placa de cultivo. A Figura 3.37 mostra um esquema de funcionamento da estrutura magnética de 28 poços. A placa de cultivo (1) é colocada sobre a tampa superior (2) do biorreator. Tendo a mesa magnética (3) mais uma coluna de poços do que a placa de cultivo, com a sua oscilação, todos os poços (4) ficam magnetizados pelos módulos de ímanes (5). Ou seja, quando a mesa magnética vai para o sentido A, a última coluna de módulos de ímanes da mesa magnetiza a última coluna de poços da placa, ficando a primeira coluna de ímanes fora do alinhamento dos poços da primeira coluna da placa. O contrário acontece para o sentido B, e assim consecutivamente, criando desta forma os estímulos nas células.

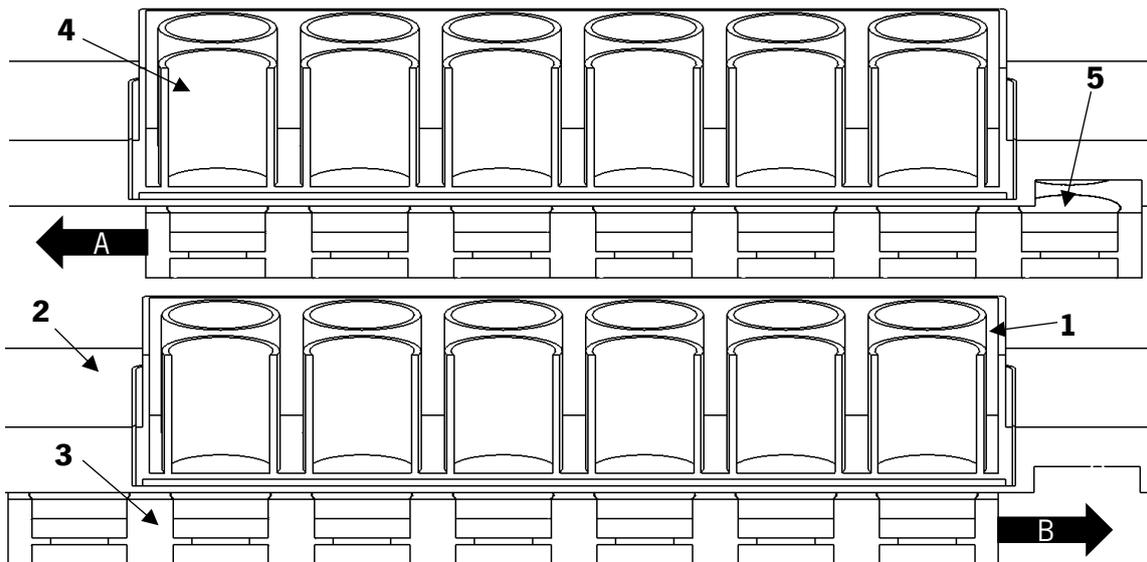


Figura 3.37: Vista em corte da mesa de 28 poços e a placa de cultivo de 24 poços

Mesa de 54 poços

De forma semelhante à mesa de 28 poços, a mesa de 54 poços foi desenhada seguindo os espaçamentos dos poços da placa de cultivo de 48 poços, como mostra na Figura 3.38. No entanto, nesta mesa foi possível utilizar apenas dois ímãs de 10 mm × 5 mm (explicados em 3.1.2) em cada módulo devido às suas características. Assim, igualmente à mesa de 28 poços, utilizou-se a mesma forma para segurar os ímãs na estrutura, colocando um ímã por cima (1) e outro por baixo (2), estando separados pelo batente (3).

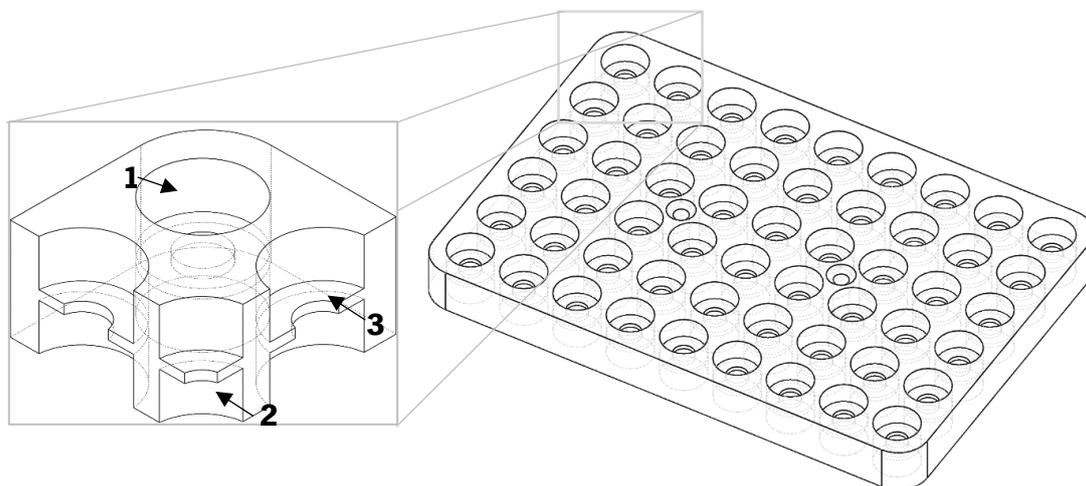


Figura 3.38: Mesa magnética de 54 poços e vista em corte

Igualmente à mesa de 28 poços, desenhou-se esta mesa com mais uma coluna de ímãs do que o número de poços da placa de cultivo. A Figura 3.39 mostra um esquema de funcionamento da estrutura magnética de 54 poços. O sistema de funcionamento é igual ao da mesa de 28 ímãs. A placa de cultivo (1) é colocada sobre a tampa superior (2) do biorreator. Como a mesa magnética (3) tem mais

uma coluna de poços do que a placa de cultivo, com a sua oscilação, todos os poços (4) ficam magnetizados pelos módulos de ímanes (5). Ou seja, quando a mesa magnética vai para o sentido A, a última coluna de módulos de ímanes da mesa magnetiza a última coluna de poços da placa, ficando a primeira coluna de ímanes fora do alinhamento com os poços da primeira coluna da placa. O contrario acontece para o sentido B, e assim consecutivamente, criando desta forma os estímulos nas células.

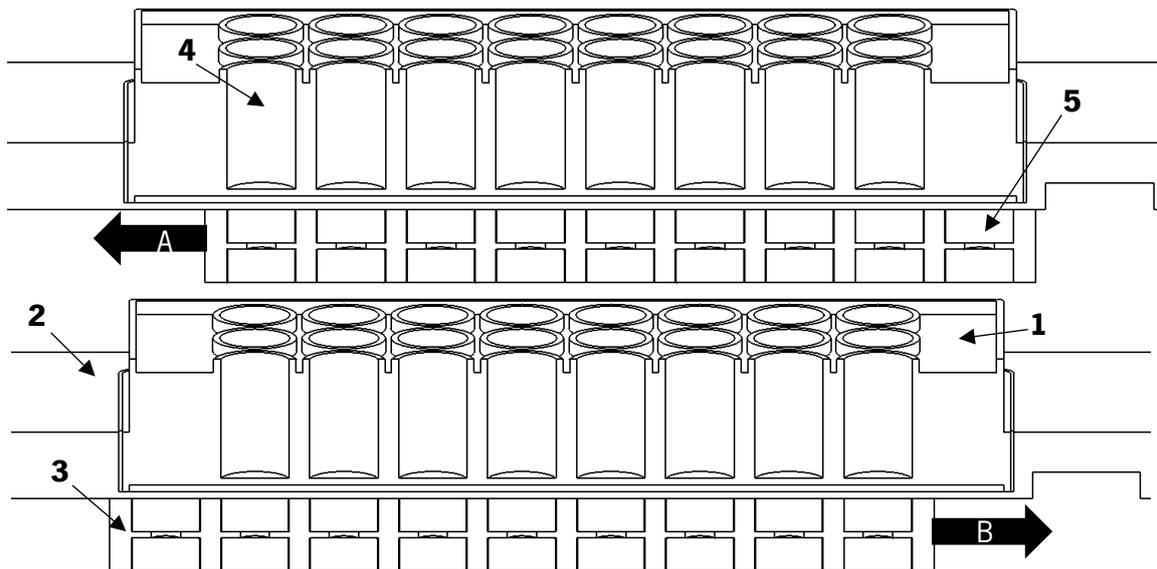


Figura 3.39: Vista em corte da mesa de 54 poços e a placa de cultivo de 48 poços

A Figura 3.40 mostra as mesas magnéticas já completas com os ímanes. À esquerda pode observar-se a mesa de 54 poços, complementada com 108 ímanes de 10 mm × 5 mm, com dois ímanes em cada poço. Enquanto que à direita, a figura mostra a mesa de 28 poços, com 84 ímanes de 15 mm × 3 mm, ou seja, com três ímanes por poço.

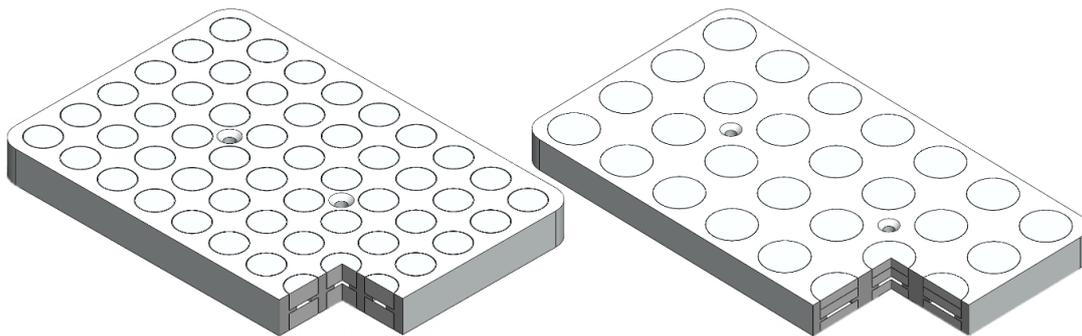


Figura 3.40: Mesas de 28 e 54 com ímanes

A combinação de todas as partes explicadas em 3.2.2, formam assim a base geral representada na Figura 3.41, onde estão representadas duas perspectivas, uma com a mesa de 28 poços e outra com a de 54. Nesta figura estão ilustradas todas as partes mecânicas diretamente ligadas à base assim como a representação das placas de circuito impresso, que foram desenhadas especificamente para esta base, colocadas no local especificamente projetado para tal.

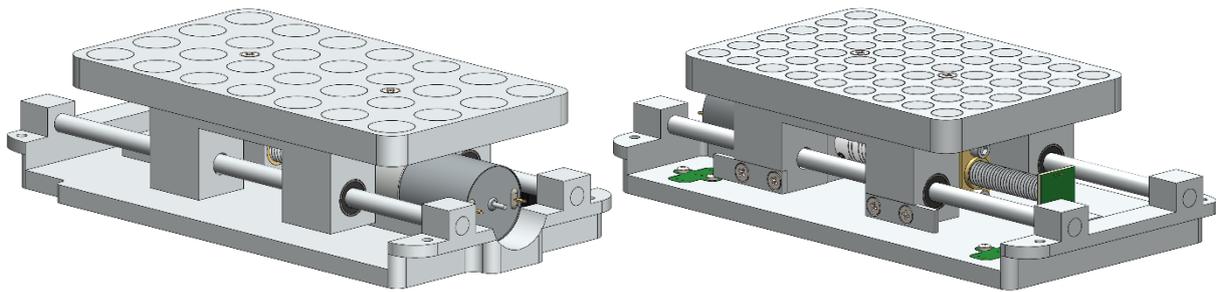


Figura 3.41: Duas perspectivas da base geral com a mesa de 28 e a de 54 poços

3.2.3. Tampa superior

Esta tampa tem como função servir de base para as placas de cultivo e vedar a parte superior da caixa do biorreator, contudo, deve permitir ao utilizador a visualização da mesa magnética de modo a calibrar a posição inicial no íman. Assim, para a modelação desta tampa do biorreator escolheu-se o policarbonato transparente compacto. Este material tem excelentes propriedades mecânicas, térmicas, elétricas, tem uma alta resistência ao impacto e tem ótimas propriedades óticas [55]. O policarbonato compacto é muito idêntico ao vidro temperado, no entanto, é muito mais resistente. Apresenta resistência a uma vasta gama de temperaturas (-40 °C até 135 °C), é praticamente inquebrável (resiste a impactos de martelo, pedra ou outro objeto) e é praticamente transparente (88 % de cristal).



Figura 3.42: Policarbonato transparente compacto

Na Figura 3.43, mostra um desenho da tampa superior do biorreator, onde em 1 podemos observar um rebaixo que foi dimensionado para a colocação das placas de cultivo de forma alinhar os poços da placa com os módulos de ímanes de cada plataforma magnética. Em 2 foi projetado uma abertura para uma placa de sensorização. Essa placa contém um sensor de temperatura e um sensor de efeito de Hall. Na posição 3, encontra-se um dos quatro furos para o aperto da tampa contra a caixa do biorreator, ficando vedada pelo o-ring existente na parede da caixa, criando assim o isolamento desta parte da caixa do biorreator.

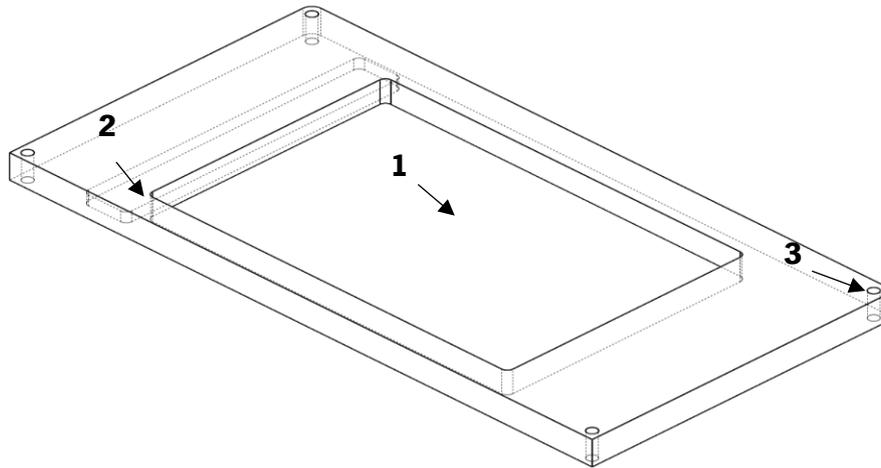


Figura 3.43: Tapa da cima do biorreator

De modo a obter medições mais reais do campo magnético que atua nas células, criou-se uma abertura (1) de forma a colocar a placa de sensorização acima da base de encaixe (2) da placa de cultivo, como mostra na Figura 3.44.

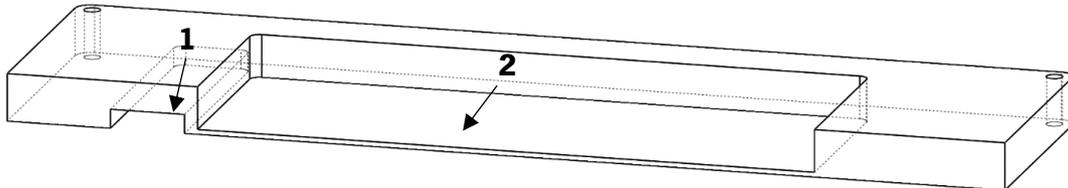


Figura 3.44: Vista em corte da tampa superior do biorreator

A Figura 3.45 ilustra uma vista em corte da tampa do biorreator, a placa de cultivo com células e o sensor de Hall. Ou seja, a placa de cultivo (1) está encaixada na tampa superior (2) do biorreator, onde um dos seus 24 poços (3) contém células (4). De forma a tornar a medição do campo magnético que atua nas células, criou-se uma abertura (1, Figura 3.44) de modo a elevar a posição do sensor de Hall (5). Assim, ficamos com uma linha de medição ao nível das células, como representado pela linha (6) da imagem abaixo. Desta forma, é possível monitorizar o campo magnético que atua nas células.

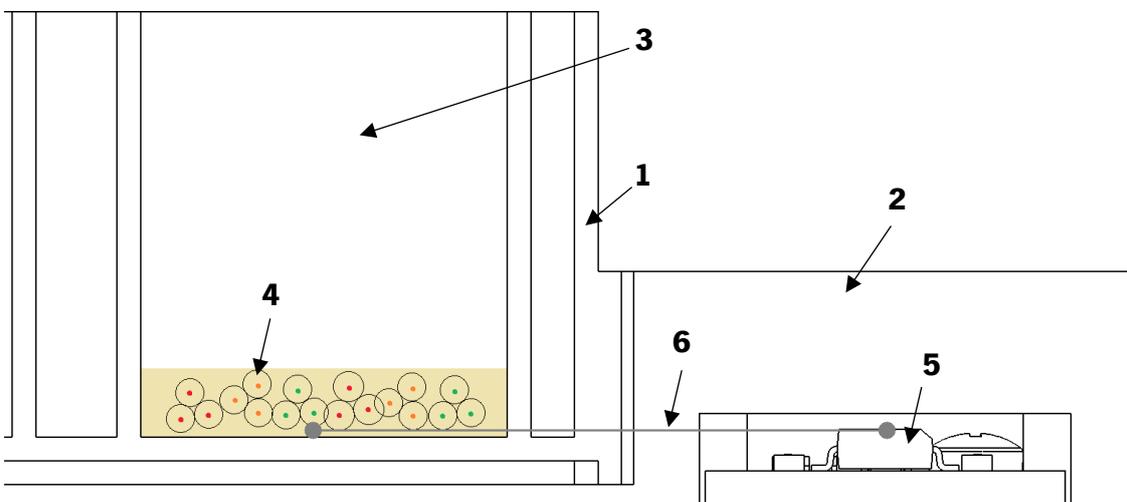


Figura 3.45: Vista em corte da tampa do biorreator com placa de cultivo, células e sensor

3.2.4. Tampa frontal

Esta tampa foi desenhada de forma a servir de base para os componentes de controlo e monitorização do biorreator e para a vedação da caixa do mesmo, modelada no mesmo material da caixa. Na Figura 3.46 estão ilustradas duas perspetivas da tampa frontal do biorreator. De modo a fechar a caixa, tornando-a estanque, sem comprometer a visualização dos dados e o controlo do biorreator, projetou-se a colocação de um vidro da parte frontal da tampa (1), permitindo assim o isolamento da caixa, a visualização do *display*, e o controlo através de um *touch wheel*. Desenhou-se assim uma abertura (2) para o LDC, de forma a encaixar perfeitamente na tampa, modelando as irregularidades da placa (3). Para o *touch*, projetou-se uma abertura (4), de forma a mostrar ao utilizador apenas o *touch* e o seu *feedback*, ficando esta encaixada na placa que controlo que encaixa em 5. Desenhou-se uma inclinação (6) na parte superior da tampa de forma a encaixar em sintonia com a tampa superior do biorreator. Assim como a tampa anterior, fez-se a furação (7) da tampa de modo a ficar na parte exterior do o-ring da caixa do biorreator, não comprometendo o isolamento do sistema.

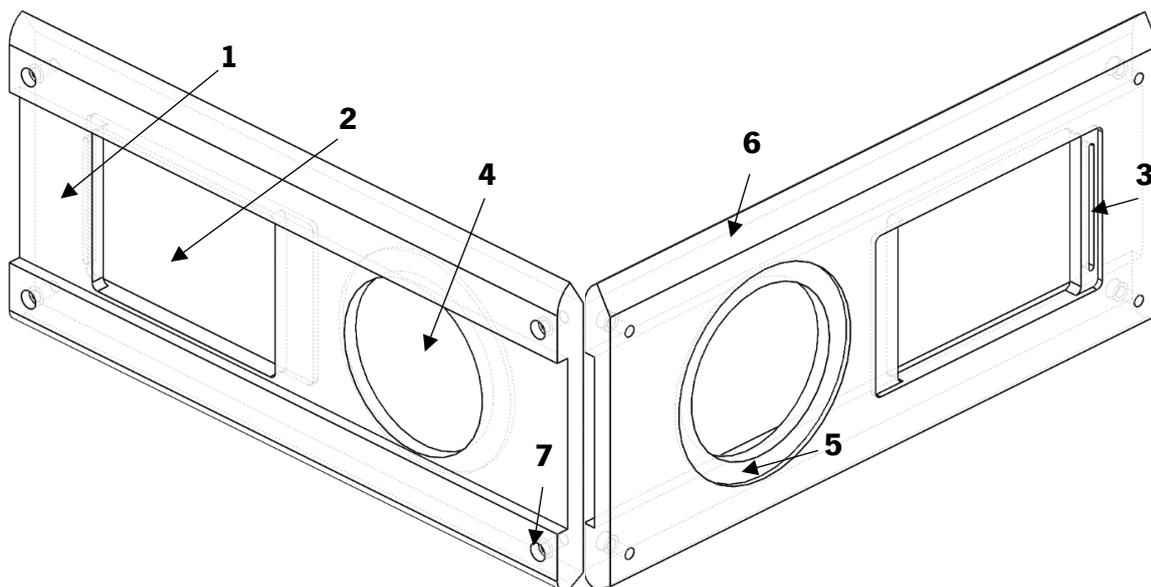


Figura 3.46: Vista frontal (esquerda) e vista traseira (direita) da tampa frontal do biorreator

A Figura 3.47 mostra a tampa frontal da caixa do biorreator com o vidro (1) na parte da frente, o *display* (2) e a sua placa de controlo (3) e por fim o *touch wheel* (4) encaixado na sua placa de controlo (5).

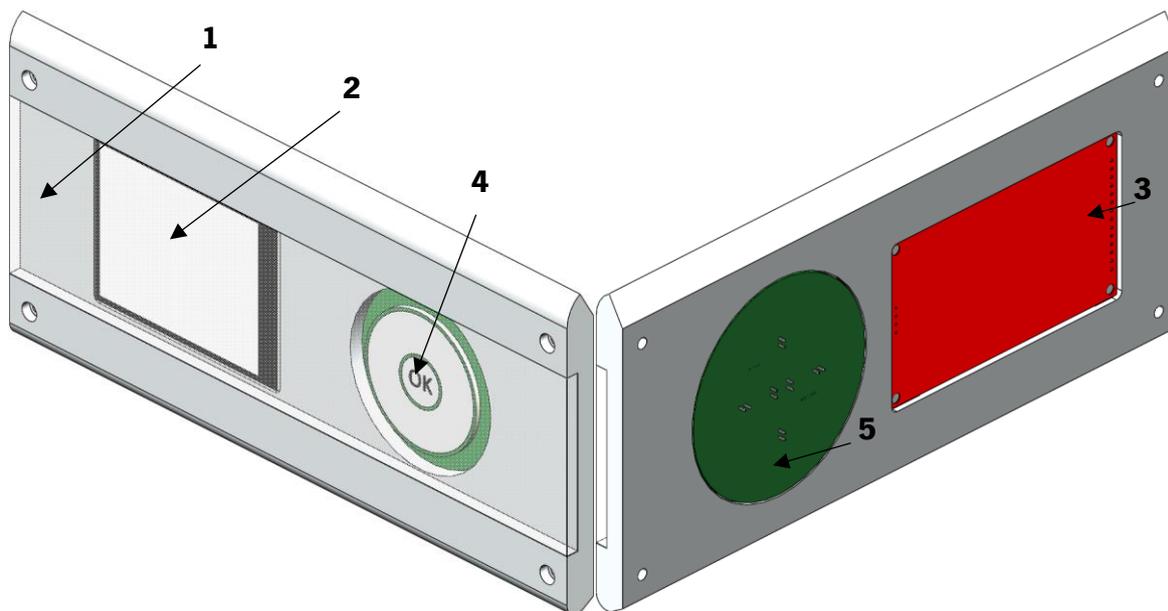


Figura 3.47: Tampa frontal com vidro, LCD e *touch wheel*

3.3. Hardware do sistema

O *hardware* do sistema foi projetado de forma a responder às necessidades do biorreator. A Figura 3.48, representa um esquema do sistema eletrónico do biorreator. Este sistema divide-se em cinco grupos: atuador, sensores, microcontroladores, alimentação e interface de controlo e monitorização do sistema. Para o funcionamento do biorreator, é imprescindível a utilização de um atuador que opere na oscilação da plataforma magnética. Este atuador será controlado pelo microcontrolador de modo a cumprir com os requisitos do utilizador. Para que o controlo do sistema funcione dentro dos parâmetros pretendidos, o microcontrolador recebe informações de vários sensores que recolhem a informação necessária para o seu funcionamento. De forma a alimentar cada um dos módulos, foi criado um sistema de alimentação, visto que são utilizados diferentes valores de tensão para cada um. Por fim, de forma a permitir ao utilizador o controlo do biorreator, foi criada uma interface de controlo e monitorização, podendo controlá-lo de duas formas, localmente (*touch wheel* e LCD) ou remotamente (aplicação android).

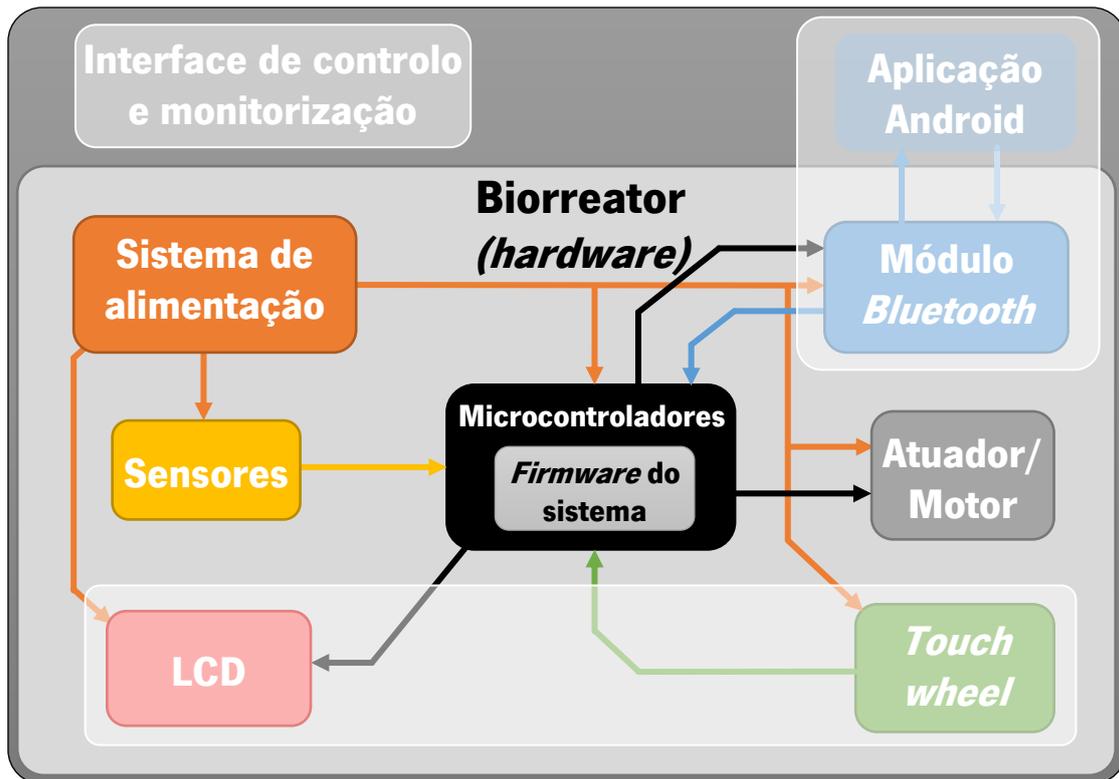


Figura 3.48: Esquema do sistema eletrônico do biorreator

3.3.1. Atuador/ Motor

Para a movimentação da plataforma magnética do biorreator, foi necessária a escolha de um atuador elétrico, no caso um motor que satisfizesse os requisitos do sistema. Devido à escolha do motor, foi necessário a utilização de um *driver* para a interface entre o controlador e o motor, ou seja, que converta o sinal de controle num sinal de potência. Por fim, foi necessário implementar um algoritmo de controle para o motor.

Motor

Para a escolha do motor foi fundamental ter em atenção vários aspetos. A temperatura de aquecimento foi um dos principais fatores a ter em conta, visto que o aumento da temperatura interna no biorreator pode comprometer o cultivo celular. Assim, escolheu-se um motor que consumisse uma corrente baixa, de modo a reduzir o aquecimento das bobinas no motor. Contudo, teria de ter força suficiente para movimentar a plataforma sem muito esforço. Outro fator importante que foi considerado, foram as dimensões e o peso do motor. Teria de ser um motor forte o suficiente, mas ao mesmo tempo não muito grande nem muito pesado de modo a não ter que aumentar o tamanho da caixa nem aumentar o peso do biorreator. A Tabela 3.6 compara três possíveis opções de motores para o biorreator.

Tabela 3.6: Comparação entre dois motores DC e um de passo

Características	Motor DC 1 [58]	Motor DC 2 [59]	Motor de Passo [60]
Imagem			
Corrente (carga/sem carga)	0,05A	0,15 A/ 0,25 A	1 A
Torque	0,08 Nm	0,15 Nm	0,22 Nm
Tensão	6 V	12 V	5,3 V
Dimensões (altura × comprimento)	16 mm × 30 mm	25 mm × 48.5 mm	43 mm × 58 mm
Rotações por minuto (RPM)	100 rpm	1000 rpm	300 rpm
Ângulo de passo	-	-	1.8°
Peso	30 g	80 g	220 g
Preço ⁴	6,32 €	8,42 €	49,24 €

Analisando a tabela acima, conclui-se que o motor mais adequado para biorreator é a segunda opção, Motor DC 2, visto que se trata de um motor suficientemente forte para a movimentação da plataforma, o consumo de corrente é reduzido (0,25 A em carga), evitando um forte aumento da temperatura. Além disso, as dimensões e o peso têm um valor bastante aceitável para a estrutura. No entanto, estes motores têm uma desvantagem grande em relação aos motores de passo, pois não existe um controlo sobre a posição do eixo do motor. Assim sendo foi necessário desenvolver um mecanismo para esta leitura (explicado em 3.3.2), de modo a tornar possível a utilização de um motor forte o suficiente, leve e com um preço aceitável, controlável.

Driver do motor

A oscilação da plataforma requer que o motor inverta a polaridade, fazendo com que a plataforma ande para a frente e para trás. Para isso foi necessário recorrer a um *driver* para o motor, que inverta a polaridade do motor servindo de interface entre o microcontrolador e o motor, cujo as características estão representadas na Tabela 3.7.

⁴ Preço obtido através do site do Ebay [85] e da Farnell , estando sujeitos a alterações.

Tabela 3.7: Características do *driver* do motor escolhido

Driver do motor DC (DRV8872-Q1) [61]	
Imagem	
Marca	Texas Instruments
Tipo	Ponte-H
Tensão de alimentação	6,8 V até 45 V
Corrente de saída	3,6 A
Número de saídas	1
Temperatura de funcionamento	-40 °C até +125 °C
Preço⁵	2,1 €

O driver escolhido foi o DRV8872-Q1 que é um dispositivo de 8 pinos, otimizado para o controlo de motores DC de 6,8 V até 45 V, com correntes de pico até 3,6 A. Este *driver* contém uma ponte-H, que consiste em quatro MOSFETs de canal N que fornece um controlo bidirecional do motor. Na Figura 3.49, mostra o circuito utilizado no sistema para o *driver* do motor. Este dispositivo é controlado por duas entradas lógicas (IN1 e IN2), que controlam a ponte-H, variando os sentidos da corrente nos MOSFETs. De modo a proteger o *driver* de um pico de corrente do motor, foi colocado um fusível rearmável (F2) de 350 mA/ 700 mA, evitando que, mesmo que o motor ultrapasse os 700 mA de corrente, o fusível proteja o *driver* e não precisa ser substituído, uma vez que um fusível rearmável volta a conduzir quando a corrente volta à sua gama de funcionamento.

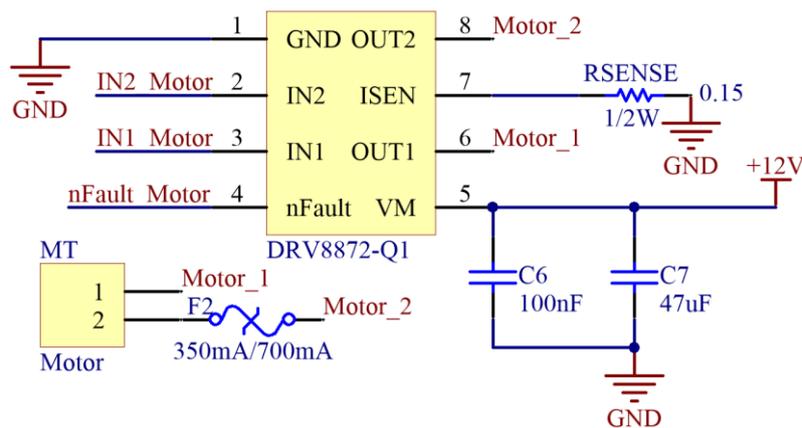


Figura 3.49: Circuito do *driver* do motor

De modo a permitir que o *driver* leia a corrente aplicada no motor, foi dimensionada a resistência R_{SENSE} segundo a Equação 7. Neste caso foi colocada uma resistência de meio Watt de modo a suportar picos

⁵ Preço obtido através do site do Mouser [61], estando sujeitos a alterações.

de corrente. Como aconselhado no *datasheet*, foram colocados dois condensadores de desacoplamento na alimentação no *driver*, de modo a filtrar eventuais ruídos da tensão.

$$P = I_{RMS}^2 \cdot R_{SENSE} \quad \text{Equação 7}$$

Em que:

- P é a potência dissipada pela resistência
- I_{RMS}^2 é a corrente eficaz do motor
- R_{SENSE} é a resistência que serve de sensor de corrente

O *driver* DRV8872-Q consiste numa ponte-H, constituída por quatro MOSFETs, que são controlados pelas entradas lógicas IN1 e IN2, de acordo com a Tabela 3.8.

Tabela 3.8: Controlo da Ponte-H

IN1	IN2	OUT1	OUT2	Descrição
0	0	Alta impedância	Alta impedância	Veio livre
0	1	L	H	Inverso (corrente OUT2 → OUT1)
1	0	H	L	Positivo (corrente OUT1 → OUT2)
1	1	L	L	Travar

A Figura 3.50 ilustra o funcionamento da ponte-H segundo a variação das entradas IN1 e IN2, como apresentado na tabela acima. Assim, quando as entradas lógicas IN1 e IN2 estão as duas a 0, a corrente vai percorrer o caminho 3 do sentido positivo ou inverso, dependendo no estado anterior. Se estiver o IN1 a 0 e o IN2 a 1, a corrente percorrerá o caminho 1 do sentido inverso, colocando o motor a andar para trás. No caso contrário, IN1 a 1 e IN2 a 0, o motor andar para a frente, caminho 1 do sentido positivo. Por fim, quando estiverem as duas entradas a 1, o motor entrará num estado de travagem.

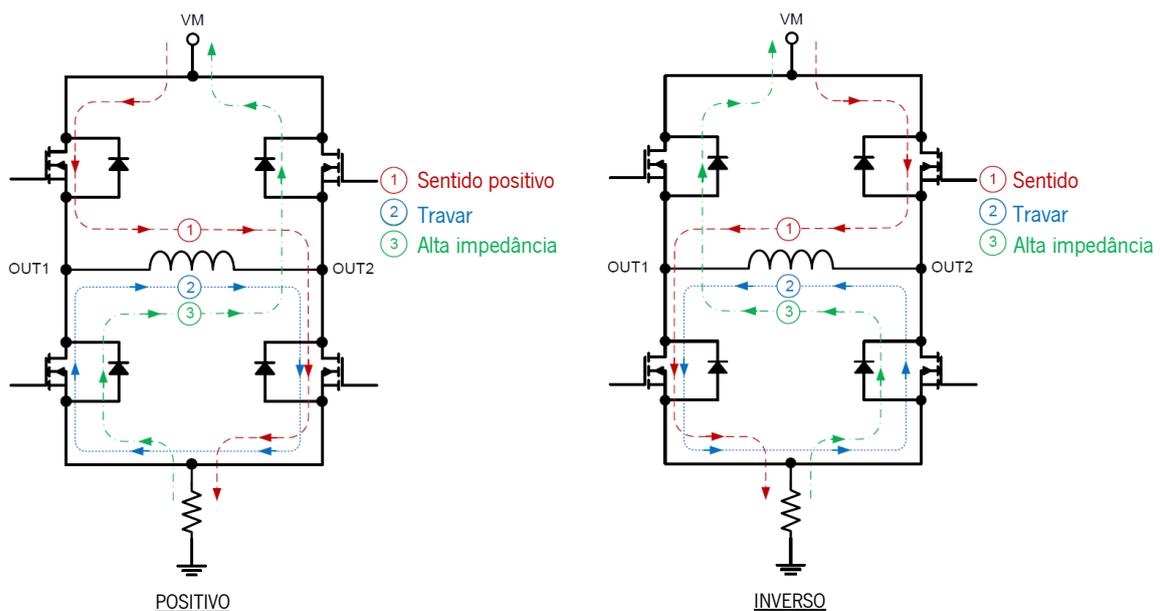


Figura 3.50: Caminhos da corrente da Ponte-H [62]

O *driver* pode ser configurado com tensões estáticas nas entradas IN1 e IN2, colocando o *duty-cycle* sempre a 100 %, ou então pode ser configurado com um PWM para a variação da velocidade do motor. Os fabricantes aconselham a utilização do PWM através da “*driving and braking*”, ou seja, variar o sentido da corrente entre 1 e 2. Por exemplo, para um PWM de 50 %, mantém-se o estado IN1 = 1 e IN2 = 0 durante metade do período e altera-se para IN1 = 1 e IN2 = 1 durante a outra metade do período. No entanto, para uma diminuição rápida da corrente, também é possível a variação do PWM com a variação da corrente com o sentido 1 e 3.

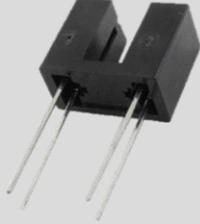
3.3.2. Sensorização

A fim de permitir uma monitorização de variáveis importantes para o cultivo, delimitar e controlar a posição da plataforma magnética, foram utilizados vários sensores: dois sensores óticos (fim de curso), um sensor de posição rotativo sem contacto (*encoder*), um sensor de campo magnético (*hall*) e um sensor de temperatura.

Sensor ótico (fim de curso)

Como explicado anteriormente, Figura 3.26 (4), foram projetados dois buracos para a colocação de dois fins de curso com o objetivo de limitar a movimentação da plataforma magnética, evitando que esta bata contra a parede da caixa do biorreator causando trepidações. Para tal, recorreu-se a fins de curso óticos. Foram escolhidos sensores óticos, em vez de mecânicos, devido à ausência de contacto mecânico, aumentando a durabilidade dos sensores. Assim, quando a plataforma chegar ao limite do seu curso, os indicadores de fim de curso (Figura 3.33) interrompem a passagem de luz entre o LED infravermelho e o fototransistor, indicando assim ao sistema que a plataforma chegou a limite da movimentação. Na Tabela 3.9, estão representadas as características técnicas do sensor ótico escolhido.

Tabela 3.9: Características do sensor ótico escolhido

Sensor ótico (HY301-19) [63]	
Imagem	
Tipo	Fototransistor
Tensão de alimentação	4,5 V até 16 V
Corrente LED infravermelho	50 mA

Tensão inversa LED infravermelho	5 V
Potência de dissipação do transistor	75 mW
Tensão coletor – emissor fototransistor	30 V
Tensão emissor - coletor fototransistor	5 V
Potência de dissipação do díodo	100 mW
Temperatura de funcionamento	-55 °C até +100 °C
Preço⁶	0,435 €

A Figura 3.51 mostra o circuito aplicado ao sensor ótico HY301-19. Tal como indicado nas características, este sensor foi alimentado a 5 V. Contudo, o valor que o microcontrolador (explicado à frente) suporta nos pinos I/O é de 3,3 V. Assim colocou-se um díodo Zener (DZ1) limitando assim a tensão que o sensor devolve ao microcontrolador. Foram colocadas duas resistências ao circuito, a resistência R1 foi dimensionada de modo a limitar a corrente no LED infravermelho, enquanto que R2 é uma resistência de *pull – up* garantindo assim o valor lógico esperado pelo microcontrolador.

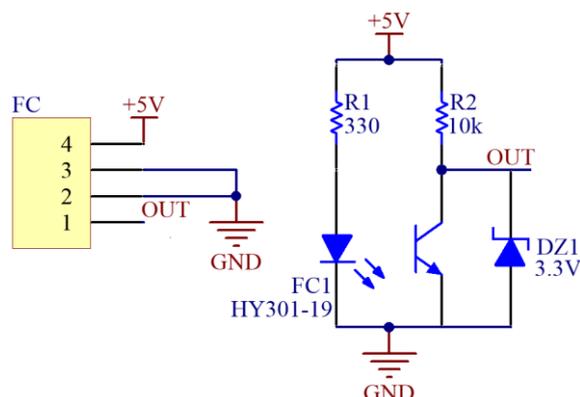


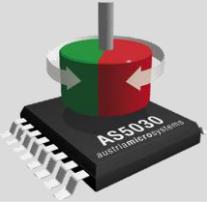
Figura 3.51: Circuito do sensor ótico

Sensor de posição rotativo sem contacto (*encoder* magnético)

Para que fosse possível aplicar o controlador PID ao motor do biorreator, como mostra na Figura 2.24, é necessário um sensor de retorno ao sistema. Neste caso o pretendido é o controlo da velocidade do motor. Uma vez que foi escolhido um motor DC (em vez de passo), é necessário a leitura da rotação do veio do motor de modo a chegar à velocidade ou à sua posição. Para tal recorreu-se à utilização de um *encoder* magnético. Uma vez mais, escolheu-se um magnético em vez de mecânico pela maior durabilidade do componente e pelo facto de não interferir com o campo magnético da mesa de ímanes (*datasheet*). Na Tabela 3.10 estão explícitas as características do sensor de posição rotativo sem contacto escolhido para a leitura da velocidade do veio do motor.

⁶ Preço obtido através do site do Ebay [85], estando sujeitos a alterações.

Tabela 3.10:Características do sensor de posição rotativo sem contacto escolhido

Sensor de posição rotativo sem contacto (AS5030-ATST) [64]	
Imagem	
Tipo	Encoder Magnético
Resolução	8 bits / 1,406°
Tensão de alimentação	4,5 V até 5,5 V
Corrente de operação	18 mA
Temperatura de funcionamento	-40 °C até +125 °C
Preço ⁷	4,95 €

Para a configuração do *encoder*, escolheu-se uma das onze configurações disponibilizadas no *datasheet*. A configuração escolhida foi a “Serial 2-Wire Connection (R/W Mode)”, Figura 3.52. Assim, a comunicação é feita apenas com duas ligações, um sinal de *clock* (CLK) e um sinal de dados (DIO).

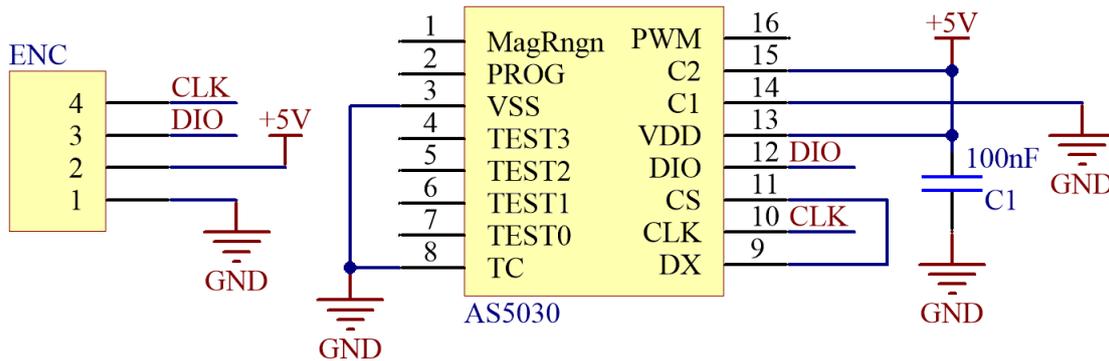


Figura 3.52: Circuito de configuração do *encoder* magnético

A Tabela 3.11 mostra a sequência de bits a serem lidos pelo microcontrolador que são enviados pelo *encoder*. O protocolo de transmissão envia 5 bits de comando (D16-D20), seguidos da leitura ou escrita de 16 bits de dados (D0-D15). Nos bits de dados, o **C2** mostra o estado do pino de hardware C2, o **Lock** indica o estado do AGC, ou seja, quando o bit está a zero, os bits AGC ficam desabilitados. O registo **AGC** (6 bits) indica a força do íman. Por fim, o registo **Angle** de 8 bits representa o ângulo de rotação do íman, que tem uma resolução de $360^\circ / 256 (2^8) = 1,406^\circ$.

Tabela 3.11: Sequência de bits

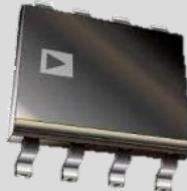
Read																				
D20	D19	D18	D17	D16	D15	D14	D13	D12	D11	D10	D9	D8	D7	D6	D5	D4	D3	D2	D1	D0
0	0	0	0	0	C2	lock	AGC						Angle							
							D5	D4	D3	D2	D1	D0	D7	D6	D5	D4	D3	D2	D1	D0

⁷ Preço obtido através do site do MOUSER [64], estando sujeitos a alterações.

Sensor de campo magnético (*hall*)

O sensor de campo magnético foi introduzido no biorreator com o objetivo de monitorizar e informar ao utilizador o campo magnético que será aplicado às células durante o cultivo celular. Como falado anteriormente, este sensor foi introduzido o mais próximo possível da linha de cultivo, a fim de se obter uma leitura o mais real possível do campo magnético aplicado nas células, tal como mostra a Figura 3.45. A Tabela 3.12 mostra as características do sensor de campo magnético utilizado para a leitura do campo magnético aplicado nas células.

Tabela 3.12: Características do sensor de campo magnético escolhido

Sensor de campo magnético (AD22151YRZ) [65]	
Imagem	
Tipo	Sensor de Hall
Resolução	0,4 mV/G
Tensão de alimentação	4,5 V até 6 V
Corrente de operação	6 mA
Temperatura de funcionamento	-40 °C até +150 °C
Preço ⁸	5,07 €

De modo a ser possível ler campos positivos e negativos, escolheu-se a configuração bipolar fornecida no *datasheet* do componente, como mostra a Figura 3.53.

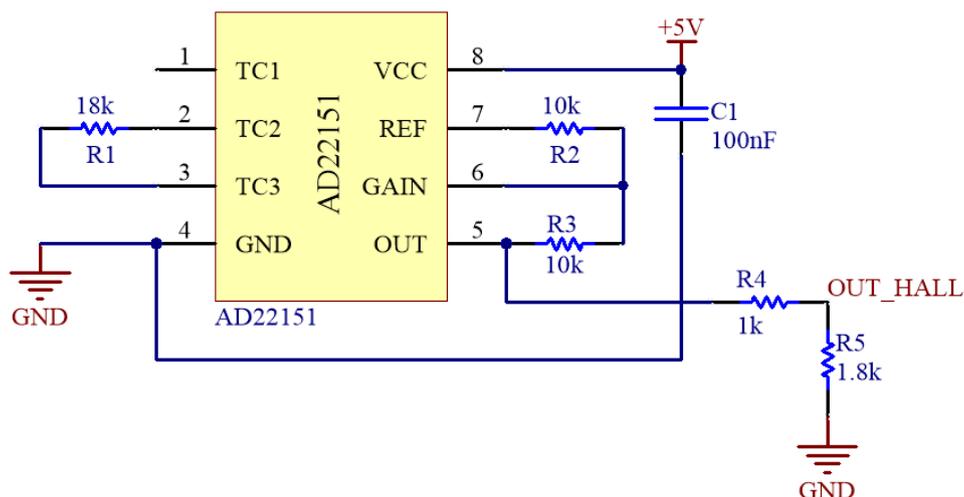


Figura 3.53: Circuito de configuração bipolar do sensor de campo magnético

⁸ Preço obtido através do site do Mouser [65], 18/07/2017, estando sujeitos a alterações.

Na figura acima, a resistência R1 foi dimensionada segundo um gráfico que varia consoante o material do íman usado. As resistências R2 e R3 determinam o valor do ganho para o sensor, dimensionadas através da Equação 8, de modo a ter um ganho de 1,4 mV por Gauss.

$$Ganho = 1 + \frac{R3}{R2} \times 0,4 \text{ mV/G} \quad \text{Equação 8}$$

Como foi escolhida a configuração bipolar, permitindo ler campos positivos e negativos, o valor devolvido pelo sensor varia entre 0 V e Vcc, sendo 0 a referência (0 Gauss) Vcc/2. A alimentação do sensor é de 5 V, assim a referência do sensor está nos 2,5 V, podendo ir até aos 0 V (valor máximo de um dos polos), e até 5 V (valor máximo do outro polo). Contudo o valor máximo de tensão que o microcontrolador suporta nos ADC's é de 3,3 V. Para tal fez-se um divisor de tensão (R4 e R5), de forma a limitar a tensão enviada para o microcontrolador, Equação 9.

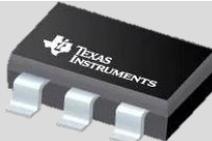
$$V_{out} = \frac{R5}{R4 + R5} \times V_{in} \quad \text{Equação 9}$$

Desta forma, o valor de referência ficou nos 1,6 V, tendo uma variação entre 0 V e 3,2 V, protegendo assim a entrada do ADC do microcontrolador.

Sensor de temperatura

De modo a monitorizar a temperatura interior do biorreator colocou-se um sensor de temperatura na tampa do biorreator. Para tal, escolheu-se um sensor analógico tendo em conta que tivesse resolução suficiente para medir a gama de temperaturas de funcionamento do biorreator com precisão. A Tabela 3.13 mostra as características técnicas no sensor de temperatura escolhido. Esse sensor tem uma tensão de saída analógica linear e inversamente proporcional à temperatura.

Tabela 3.13: Características do sensor de temperatura escolhido

Sensor de temperatura (LMT85DCKT) [66]	
Imagem	
Resolução	- 8.194 mV/°C
Tensão de alimentação	1,5 V até 5,5 V
Corrente de operação	7 mA
Temperatura de funcionamento	-50 °C até +150 °C
Preço⁹	0,55 €

⁹ Preço obtido através do site do MOUSER [66], estando sujeitos a alterações.

Tendo em conta que o ADC utilizado (explicado em 3.3.4) tem uma resolução de 12 bit, consegue-se uma resolução de 0,1 °C na leitura do sensor.

A Figura 3.54 mostra o circuito utilizado para o sensor de temperatura. Seguiu-se um dos modos aconselhados pelo *datasheet*. De modo a evitar leituras ruidosas, colocou-se um condensador (C1) à entrada do sensor de modo a filtrar (passa baixo) eventuais ruídos.

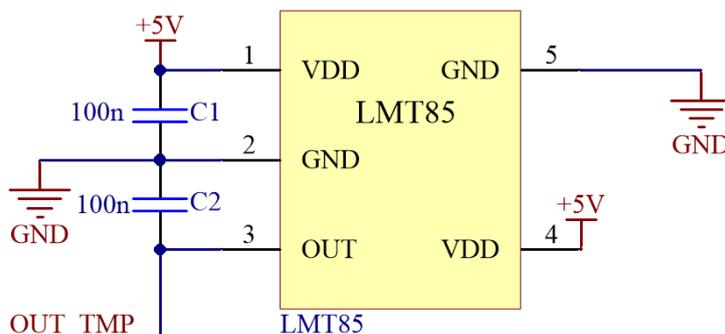


Figura 3.54: Circuito do sensor de temperatura

Neste sensor, apesar de também funcionar com uma alimentação de 3,3 V, optou-se por alimentá-lo a 5 V, uma vez que foi colocado na mesma placa do sensor de Hall e assim, evitou-se a passagem de mais uma alimentação externa. No entanto, o sensor de temperatura, mesmo sendo alimentado a 5 V, não excede os limites admitidos pelo ADC do microcontrolador. A Figura 3.55 mostra um gráfico da variação da tensão em relação à temperatura. Visto que as temperaturas de cultivo nunca vão chegar aos limites deste gráfico, foi possível a leitura direta da tensão de saída do sensor.

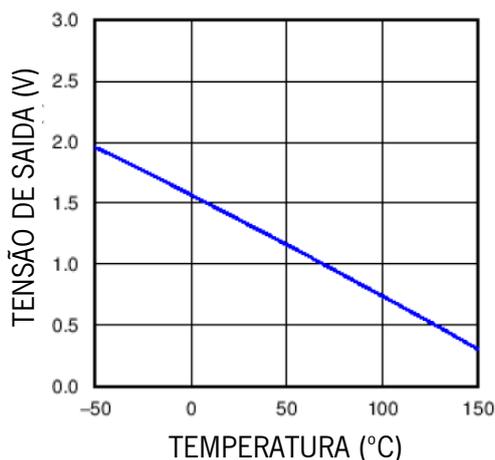


Figura 3.55: Gráfico Tensão vs Temperatura do sensor de temperatura

Para a conversão do valor de tensão lido do sensor para temperatura, foi aplicada uma fórmula de conversão, Equação 10, obtida através dos valores tabelados do *datasheet*.

$$T = \frac{8,194 - \sqrt{(-8,194)^2 + 4 \times 0,00262 \times (1324 - V_{TEMP}(mV))}}{2 \times -0,00262} + 30 \quad \text{Equação 10}$$

3.3.3. Interface de controlo e monitorização

A interface de controlo e monitorização do biorreator foi projetada de forma a permitir dois tipos de controlo. Um controlo local através da interface gráfica (LCD) com *touch wheel* e LEDs de *feedback* integrados no biorreator, e um controlo remoto através de uma aplicação android, permitindo a interação com o biorreator sem a necessidade de abrir a estufa, não perdendo assim o ambiente criado para o cultivo.

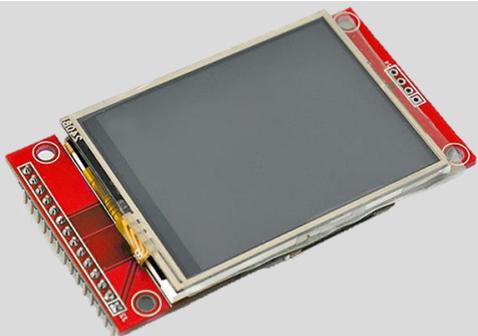
Interface gráfica com *touch wheel* integrado e LEDs

De modo a permitir ao utilizador um controlo local do biorreator, foi desenvolvido um *touch wheel* conectado a LED's de modo a retribuírem um *feedback* na sua utilização. Para a monitorização, foi colocado e programado um LCD de forma a devolver ao utilizador todos os parâmetros importantes para o cultivo assim como os parâmetros para a configuração inicial do cultivo celular.

LCD

Na escolha do LCD para o biorreator foi importante ter em conta uma série de parâmetros: as suas dimensões, uma vez que se estava limitado pelas dimensões da tampa frontal do biorreator; a resolução e a qualidade da imagem, de modo a permitir desenvolver uma interface amigável ao utilizador; o controlador do display, de forma a que existissem *drivers* já desenvolvidos para o seu controlo; o tipo de comunicação, de modo a facilitar a comunicação com o microcontrolador e, por fim, a tensão de alimentação. A Tabela 3.14 mostra as características do LCD escolhido para a monitorização dos parâmetros do biorreator.

Tabela 3.14: Características do LCD escolhido

LCD 2,8" [ILI9341] [67]	
Imagem	
Resolução	240 × 320
Dimensões placa	50 mm × 86 mm
Suporte de cores	24 bit RGB (16,7 M)
Controlador	ILI9341

Tensão de alimentação	3,3 V ou 5 V
Tipo de comunicação	SPI
Luz de fundo	LED branco
Preço¹⁰	7,39 €

Tendo em conta todos os aspetos referidos acima, escolheu-se um LCD de 50 mm × 86 mm de forma a que não ultrapassasse os limites da tampa frontal e com uma qualidade de imagem relativamente boa, permitindo a variação de 16,777,216 cores em cada pixel. Para a escolha do LCD teve-se em atenção o seu controlador, optando por se escolher um que tivesse o controlador ILI9341 pelo suporte existente na internet para este. Teve-se o cuidado de escolher um LCD que comunicasse por SPI pela simplicidade de comunicação com o microcontrolador. Por fim, escolheu-se o LCD de forma a que fosse alimentado por 3,3 V ou 5 V, evitando assim novas regulações de tensão no sistema.

A Figura 3.56 mostra o esquema de ligações do conector do LCD com a placa principal de controlo, onde todos os pinos “LCD_*” são ligados ao microcontrolador principal (explicado em 0).

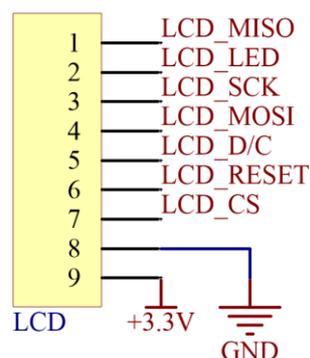


Figura 3.56: Esquema de ligações do conector do LCD

Touch wheel

Para que fosse possível para o utilizador controlar o biorreator localmente, não perdendo o isolamento fazendo furos para botões, desenvolveu-se um *touch wheel* capacitivo, permitindo ao utilizador a interação com o sistema através do vidro de isolamento. Para este desenvolvimento utilizou-se uma ferramenta desenvolvida pelo ALTIUM seguindo uma arquitetura de desenho desenvolvida pela ATMEL. Na Figura 3.57 está representada a ferramenta para o dimensionamento do *touch*, permitindo variar os parâmetros consoante a necessidade da sua aplicabilidade.

¹⁰ Preço obtido através do site do EBAY [67], estando sujeitos a alterações.

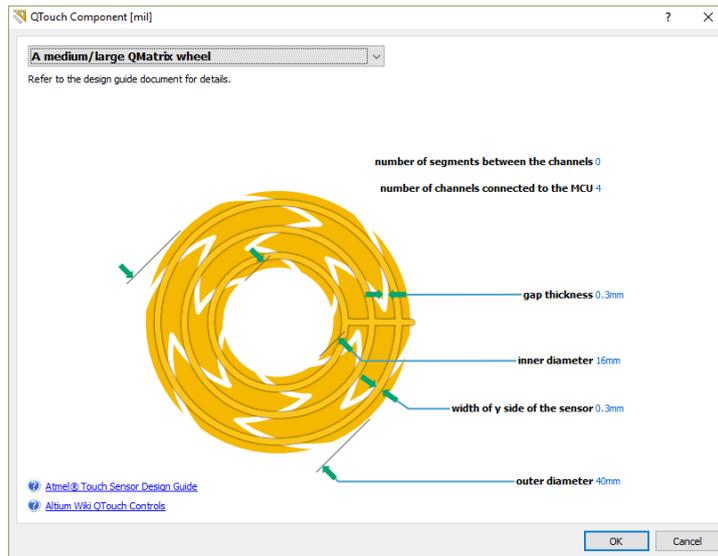


Figura 3.57: Arquitetura de desenho escolhida para o *touch wheel*

Na figura acima estão representados os parâmetros utilizados para o desenvolvimento do *touch wheel*. Neste caso, escolheram-se quatro canais para a *touch*, de forma a criar quatro botões de navegação para a interface. Para facilitar a navegação e seleção das opções, adicionou-se um canal central novo para um botão de “OK”. Na Figura 3.58 está representado o esquemático do *touch wheel* (esquerda), tendo um conector de ligação para cada botão, assim como a arquitetura de desenho da ATMEL utilizada, com os parâmetros dimensionados (direita).

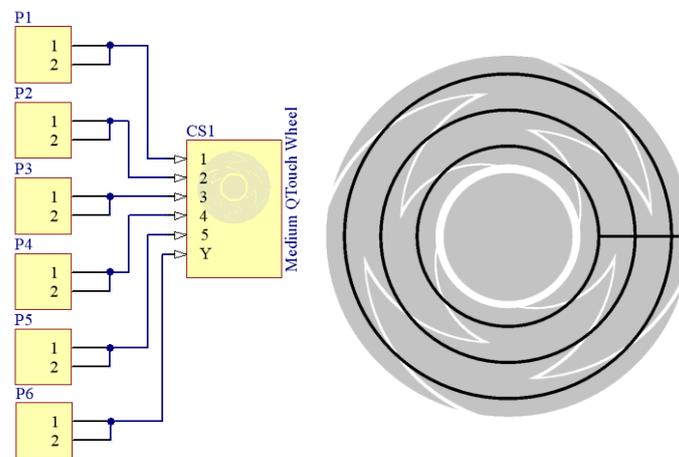


Figura 3.58: Esquemático do *touch wheel* e arquitetura de desenho

LEDs RGB

Os LEDs RGB foram colocados no biorreator com o objetivo de devolver ao utilizador um *feedback* na utilização do *touch*, e para uma questão de estética, reagindo às diferentes operações com uma sequência de cores diferentes. A Tabela 3.15 mostra as características técnicas do LED RGB escolhido para o biorreator.

Tabela 3.15: Características do LED RGB escolhido

LED 5050 RGB SMD [WS2812S] [68]	
Imagem	
Suporte de cores	24 bit RGB (16,7 M)
Frequência de operação	800 KHz
Tensão de alimentação	3,5 V até 5,3 V
Temperatura de funcionamento	-25 °C até +85 °C
Método de funcionamento	Cascata
Dimensões	5 mm × 5 mm
Preço¹¹	0,12 €

Estes LEDs foram escolhidos principalmente pelo método de funcionamento em cascata. Isto é, basta uma única ligação entre o primeiro LED e o microcontrolador, sendo que os LEDs estão ligados entre si como mostra a Figura 3.59, passando desta forma a informação de cada LED em modo cascata. Este método é possível devido ao *chip* integrado que cada LED contém, fazendo automaticamente a gestão e seleção de dados.

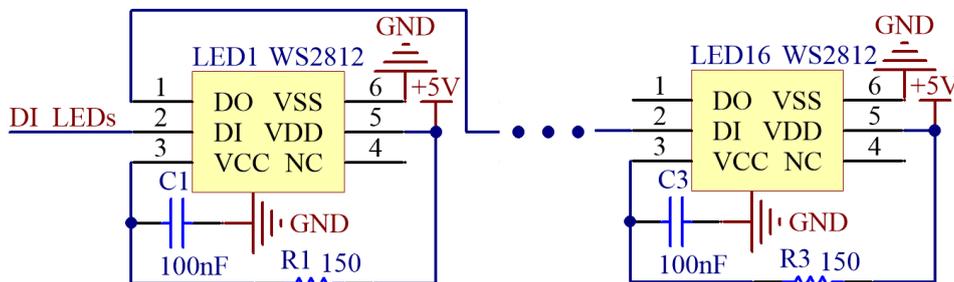


Figura 3.59: Circuito dos LEDs RGB

No circuito foram colocados uns condensadores de desacoplamento em cada LED, prevenindo eventuais ruídos na tensão, e uma resistência a limitar a corrente de alimentação, ou seja, a limitar o brilho de cada LED. A transferência de dados utiliza o protocolo próprio de comunicação. O microcontrolador envia uma trama de 24 bit, representada na Tabela 3.16, com a informação para um LED através do pino DI do LED. O LED recolhe a informação enviada na trama e envia ao próximo LED, pelo pino DO, a informação da próxima trama, e assim sucessivamente em cascata.

Tabela 3.16: Composição dos 24 bit de dados

G7	G6	G5	G4	G3	G2	G1	G0	R7	R6	R5	R4	R3	R2	R1	R0	B7	B6	B5	B4	B3	B2	B1	B0
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

¹¹ Preço obtido através do site do EBAY [67], estando sujeitos a alterações.

A informação vai codificada em 8 bit para cada cor, onde os primeiros 8 bit correspondem à cor verde, os segundos à cor vermelha, e os últimos à cor azul, permitindo variar 256 níveis de cor em cada uma delas, ficando assim cada LED com um suporte de 16,777,216 cores diferentes.

Aplicação Android

Para o controlo remoto do biorreator foi projetado um sistema de comunicação por Bluetooth, permitindo ao utilizador controlar e monitorizar o biorreator à distância, não sendo necessário a abertura da estufa onde encontra o biorreator, como mostra a Figura 3.60.

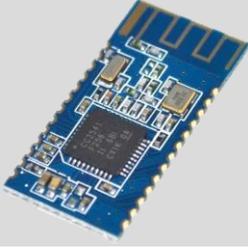


Figura 3.60: Controlo remoto do biorreator

Bluetooth

Para tal, foi necessário a escolha de um módulo Bluetooth que permitisse a comunicação entre o microcontrolador e a aplicação android. A Tabela 3.17 mostra as características do módulo Bluetooth escolhido para essa função.

Tabela 3.17: Características do módulo Bluetooth escolhido

Módulo Bluetooth [HM-10] [69]	
Imagem	
Controlador	HM-10
Comunicação	UART
Alcance do sinal	100 m
Dimensões	2,4 cm × 1,5 cm
Tensão de alimentação	3,3 V
Preço ¹²	1,68 €

¹² Preço obtido através do site do EBAY [69], estando sujeitos a alterações.

Para a comunicação com o módulo Bluetooth apenas foram utilizadas as ligações correspondentes ao periférico UART e ao *reset*, assim como mostra na Figura 3.61.

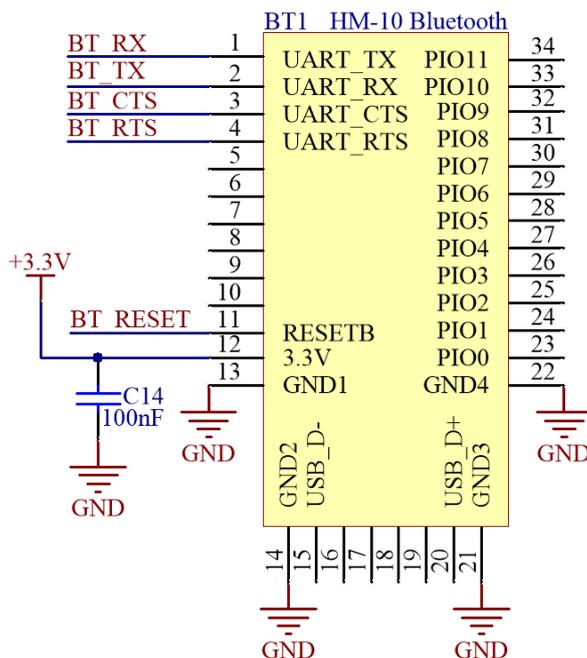


Figura 3.61: Esquemático de ligações do módulo Bluetooth

3.3.4. Microcontroladores

Para que todo o sistema do biorreator fosse controlado, foram seleccionados dois microcontroladores de forma a otimizar o desempenho do sistema. Estes fornecem um controlo mais independente sobre cada uma das partes, permitindo eventuais atualizações no biorreator sem a necessidade de alterar todas as placas de controlo, evitando assim a excessiva passagem de cabos entre placas. Assim, dividiu-se as tarefas dos microcontroladores da seguinte forma:

- Microcontrolador principal:
 - Controlo do Motor
 - Programação do LCD
 - Leitura dos sensores óticos (fins de curso)
 - Leitura do sensor de posição rotativo sem contacto (*encoder* magnético)
 - Leitura do sensor de campo magnético (Hall)
 - Leitura do sensor de temperatura
 - Programação do módulo Bluetooth
- Microcontrolador secundário:
 - Leitura e processamento dos dados do *touch wheel*

- Programação dos LEDs de *feedback* consoante a utilização do *touch wheel*

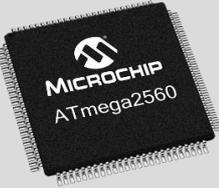
Estes microcontroladores comunicam entre si através de porta série, utilizando USART (*Universal Synchronous/Asynchronous Receiver/Transmitter*), fazendo assim com que o microcontrolador principal receba do microcontrolador secundário a informação já tratada do *touch wheel*, podendo assim interagir mais rapidamente com a interface gráfica do biorreator.

Microcontrolador principal

Para a escolha do microcontrolador principal, fez-se um levantamento dos requisitos do sistema de modo a seleccionar um dos microcontroladores que cumpram os requisitos mínimos para o controlo do sistema. O microcontrolador principal terá a necessidade de utilizar os seguintes periféricos: 1 *timer* com dois canais para o controlo do motor, 1 periférico SPI, 3 I/Os (*Input/ Output*) e 1 *timer* para a programação do LCD, 2 I/Os para a leitura dos sensores óticos (fins de curso), 1 *timer* com 2 canais para a leitura do sensor de posição sem contacto (*encoder* magnético), 1 ADC para a leitura do sensor de campo magnético (Hall), 1 ADC para a leitura do sensor de temperatura, 1 periférico USART (*Universal Synchronous/Asynchronous Receiver/Transmitter*) para a configuração e comunicação do módulo Bluetooth, 1 periférico USART para comunicação com o microcontrolador secundário e por fim, 1 periférico SWD (*Serial Wire Debug*) para a programação do microcontrolador.

Analizados os requisitos para o microcontrolador, fez-se um levantamento de alguns microcontroladores que cumprissem os requisitos mínimos, como mostra a Tabela 3.18.

Tabela 3.18: Comparação entre 4 opções para o microcontrolador principal

Microcontrolador principal				
Imagem				
Marca	STMicroelectronics	Texas Instruments	Microchip / Atmel	STMicroelectronics
Série	STM32F303RET6	MSP430FR5992	ATMEGA 2560	STM32F415RGT6
Nº Pinos	64	64	100	64
Arquitetura do núcleo	ARM Cortex M4	MSP430	AVR	ARM Cortex M4
Barramento de dados	32 bit	16 bit	8 bit	32 bit
Clock	72 MHz	16 MHz	16 MHz	168 MHz
Memória de programa	512 kB	128 kB	256 kB	1 MB

Memória RAM de dados	80 kB	8 kB	8 kB	192 kB
Resolução ADC	12 bit	12 bit	10 bit	12 bit
Tensão de alimentação	3,3 V	3,3 V	5 V	3,3 V
Número canais ADC	22	19	16	16
Número de timers	15	6	6	10
Número de I/Os	51	54	86	51
Tipos de interface	CAN, I2C, I2S, SPI, UART, USART, USB	SPI, UART	2-Wire, SPI, USART	CAN, I2C, I2S, SPI, UART
Preço¹³	6,11 € [70]	5,50 € [71]	10,37 € [72]	9,49 € [70]

Na tabela acima são comparados os quatro microcontroladores selecionados: STM32F303RET6 e STM32F415RGT6 da STM (STMicroelectronics), MSP430FR5992 da TI (Texas Instruments) e ATMEGA 2560 da Microchip/ Atmel, que é o microcontrolador de uma das placas de controlo com mais suporte a nível mundial, Arduino MEGA. Apesar de todos os microcontroladores escolhidos cumprirem os requisitos mínimos para o controlo do sistema, os microcontroladores da STM destacam-se dos da sua concorrência em vários aspetos. Destes microcontroladores, facilmente se elimina o da Microchip/ Atmel por ser o microcontrolador mais fraco e mais caro da tabela, tendo apenas 8 bit de barramento dados e um *clock* de 16MHz a um preço relativamente elevado (10,37€). Dos outros 3, apesar do microcontrolador da TI apresentar o preço mais baixo, não se justifica a diferença de preço em comparação com os da STM principalmente pelo número de bits do barramento de dados (16 bit vs 32 bit), pelo *clock* (16 MHz vs 72 MHz vs 168 MHz) e pelas memórias de programa/ RAM (128 kB/ 8 kB vs 512 kB/ 80 kB vs 1 MB/ 192 kB), ficando assim apenas com os microcontroladores da STM. Outra razão por se ter escolhido um microcontrolador da STM, foi o facto de ser necessário um programador para programar qualquer microcontrolador e já existir o programador da STM (ST-Link/v2) no laboratório. Comparando estes dois microcontroladores, chega-se à conclusão que o STM32F4 é melhor do que o STM32F3 no *clock* (72 MHz vs 168 MHz) e nas memórias de programa/ RAM (512 kB/ 80 kB vs 1 MB/ 192 kB), contudo também é mais caro. No entanto, o biorreator não requer tanta capacidade de armazenamento como o STM32F4 pode oferecer, sendo assim escolhido o microcontrolador STM32F303RET6, por ser o microcontrolador que cumpre os requisitos com melhor preço/ qualidade. A Figura 3.62 mostra o esquemático de ligações do microcontrolador escolhido, STM32F303RET6.

¹³ Preço obtido através do site do MOUSER [76], estando sujeitos a alterações.

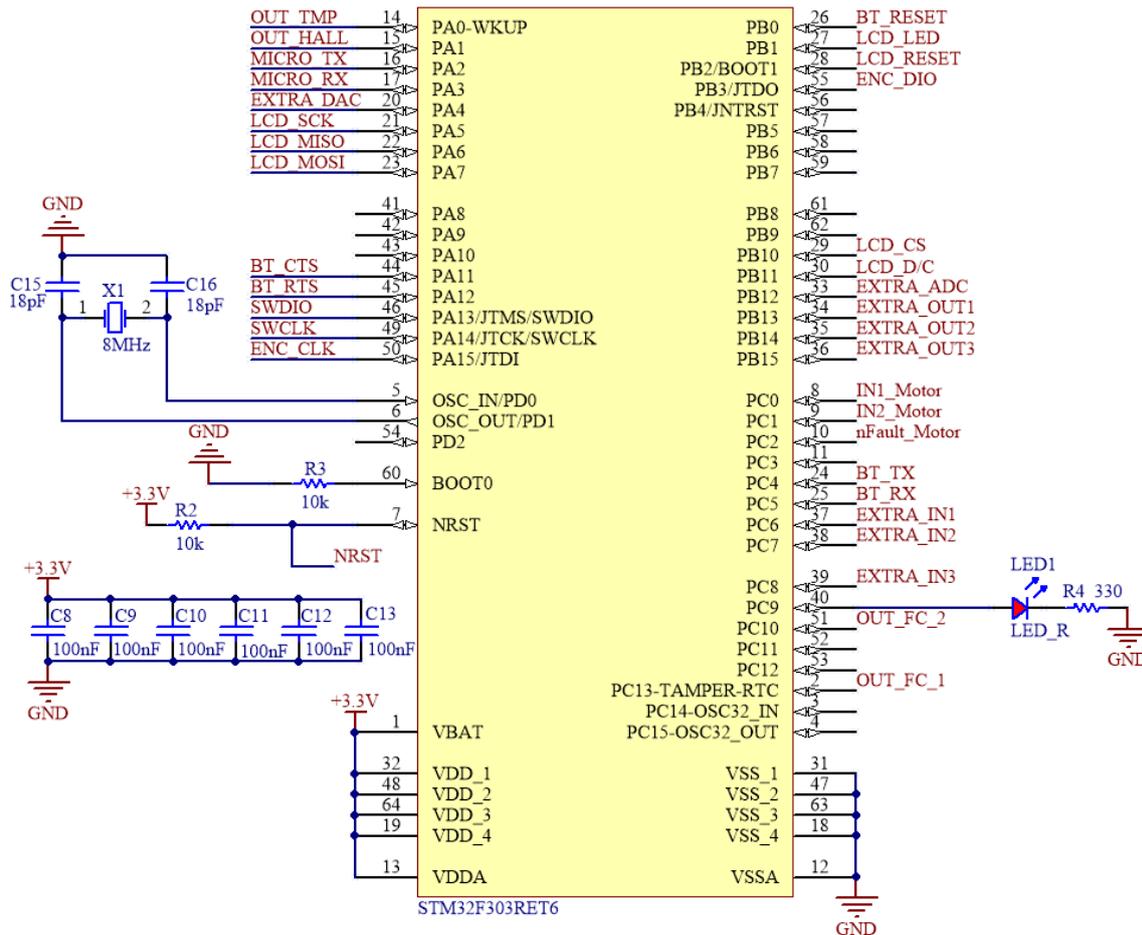


Figura 3.62: Esquemático de ligações do microcontrolador STM32F303RET6

Na figura acima estão representadas todas as *labels* ligadas ao microcontrolador principal que correspondem a cada uma das partes explicadas anteriormente, onde:

- Controlo do Motor
 - INI1_Motor
 - INI2_Motor
 - nFault_Motor
- Programação do LCD
 - LCD_MISO
 - LCD_MOSI
 - LCD_CS
 - LCD_LED
 - LCD_D/C
 - LCD_SCK
 - LCD_RESET
- Leitura dos sensores óticos (fins de curso)
 - OUT_FC_1
 - OUT_FC_2
- Leitura do sensor de posição rotativo sem contacto (*encoder* magnético)
 - ENC_CLK
 - ENC_DIO
- Leitura do sensor de campo magnético (Hall)
 - OUT_HALL
- Leitura do sensor de temperatura
 - OUT_TEMP

- Programação do módulo Bluetooth
 - BT_RX
 - BT_TX
 - BT_CTS
 - BT_RTS
 - BT_RESET
- Microcontrolador secundário
 - MICRO_TX
 - MICRO_RX
- Programação
 - SWDIO
 - SWCLK
 - NRST
- Ficha extra
 - EXTRA_ADC
 - EXTRA_DAC
 - EXTRA_OUT1
 - EXTRA_OUT2
 - EXTRA_OUT3
 - EXTRA_IN1
 - EXTRA_IN2
 - EXTRA_IN3

De modo a permitir testes ou novas funcionalidades do sistema, colocou-se uma ficha extra ligada a 1 ADC, a 1 DAC e a 6 pinos I/O. Colocou-se também um LED (LED1), de forma a facilitar o *debug* do *firmware* do microcontrolador. Para filtragem de possíveis ruídos na tensão, foram colocados condensadores de desacoplamento (C8 até C13) às entradas das alimentações do microcontrolador.

Microcontrolador secundário

Para a escolha do microcontrolador secundário, igualmente ao principal, fez-se um levantamento dos requisitos mínimos que o microcontrolador deve cumprir para as suas funções. Este microcontrolador terá a necessidade de utilização dos seguintes periféricos: 6 periféricos TSC (*Touch Sensing Controller*) para a leitura e processamento dos dados do *touch wheel*, 1 *timer* para a programação dos LEDs de *feedback* consoante a utilização do *touch wheel*, 1 periférico USART para comunicação com o microcontrolador principal e por fim, 1 periférico SWD para a programação do microcontrolador.

Analisados os requisitos para o microcontrolador, fez-se um levantamento de alguns microcontroladores que cumprissem os requisitos mínimos, como mostra a Tabela 3.19.

Tabela 3.19: Comparação entre 4 opções para o microcontrolador secundário

Microcontrolador secundário				
Imagem				
Marca	STMicroelectronics	Texas Instruments	Microchip/Atmel	STMicroelectronics
Série	STM32F091CBT6	MSP430FR2532	ATSAM4LS2AA	STM32F098CCT6
Nº Pinos	48	32	48	48
Arquitetura do núcleo	ARM Cortex M0	MSP430	ARM Cortex M4	ARM Cortex M0

Barramento de dados	32 bit	16 bit	32 bit	32 bit
<i>Clock</i>	48 MHz	16 MHz	48 MHz	48 MHz
Memória de programa	128 kB	16 kB	128 kB	256 kB
Memória RAM de dados	32 kB	19,5 kB	32 kB	32 kB
Resolução ADC	12 bit	10 bit	12 bit	12 bit
Tensão de alimentação	3,3 V	3,3 V	3,3 V	3,3 V
Canais capacitivos	24	16	32	23
Número canais ADC	13	8	15	13
Número de <i>timers</i>	9	4	6	9
Número de I/Os	38	19	31	37
Tipos de interface	CAN, CEC, I2C, SPI, USART, TSC	I2C, IrDA, SPI, UART, TSC	I2C, SPI, UART, TSC	CAN, CEC, I2C, SPI, USART, TSC
Preço¹⁴	2,9 € [70]	3,97 € [71]	3,94 € [73]	3,39 € [74]

Igualmente ao microcontrolador principal, escolheram-se quatro microcontroladores das mesmas marcas do principal, de forma a poder comparar diferentes opções disponíveis no mercado. Na tabela acima, são comparados os seguintes microcontroladores: STM32F091CBT6 e STM32F098CCT6 da STM, MSP430FR2532 da TI e ATSAM4LS2AA da Microchip/ Atmel, todos com a particularidade de conter canais capacitivos. Uma vez escolhido o microcontrolador principal da STM, eliminaram-se os microcontroladores da TI e da Microchip/ Atmel, de modo a facilitar a comunicação entre microcontroladores e evitando a compra de um novo programador. Entre os dois microcontroladores da STM, escolheu-se o mais barato, visto que a única diferença é a memória de programa sem que para a sua aplicação não é necessária tanta memória.

Escolhido o microcontrolador secundário desenhou-se o esquemático, fazendo todas as ligações necessárias para o seu funcionamento, como mostra a Figura 3.63.

¹⁴ Preço obtido através do site do MOUSER [76], estando sujeitos a alterações.

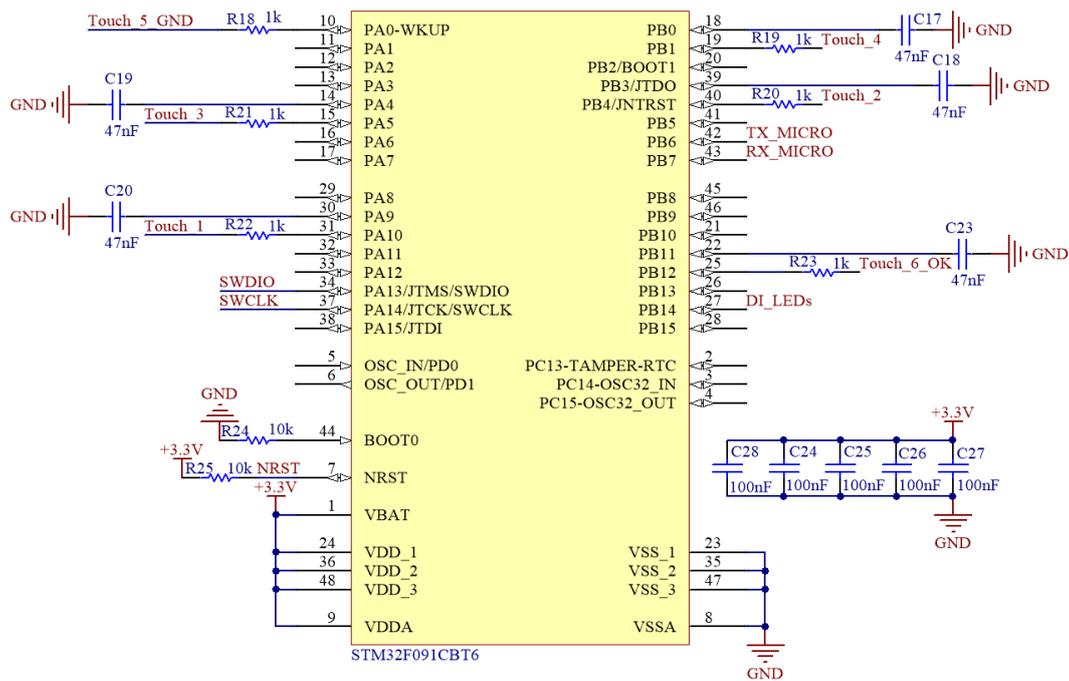


Figura 3.63: Esquemático de ligações do microcontrolador STM32F091CBT6

Na figura acima estão representadas todas as *labels* ligadas ao microcontrolador principal que correspondem a cada uma das partes explicadas anteriormente, onde:

- *Touch wheel*
 - Touch_1
 - Touch_2
 - Touch_3
 - Touch_4
 - Touch_5_GND
 - Touch_6_OK
- LEDs de *feedback*
 - DI_LEDs
- Microcontrolador principal
 - MICRO_TX
 - MICRO_RX
- Programação
 - SWDIO
 - SWCLK
 - NRST

Tal como o microcontrolador principal, colocaram-se condensadores (C24 até C28) de desacoplamento nas entradas das alimentações do microcontrolador, de modo a filtrar eventuais ruídos na tensão. Como explicado anteriormente, os restantes condensadores foram colocados de forma a permitir o funcionamento do TSC.

3.3.5. Sistema de alimentação

Como mostrado anteriormente, para o sistema eletrónico do biorreator são utilizados 3 valores de tensão de alimentação diferentes, 3,3 V para alimentar os microcontroladores, o LCD e o Bluetooth, 5 V para alimentar todos os sensores e os LEDs, e 12 V para a alimentação do motor.

Regulador de tensão 12 V – 5 V

Escolheu-se 12 V para a tensão de alimentação de entrada no biorreator de forma a ser possível alimentar todo o *hardware* do biorreator. Para tal, foi necessário a utilização de um regulador de tensão para converter os 12 V em 5 V para ser possível alimentar todos os sensores e os LEDs. A Tabela 3.20 mostra o regulador de tensão escolhido para a conversão desta tensão.

Tabela 3.20: Características do regulador de tensão 12 V - 5 V

Regulador de tensão 12V – 5 V [75]	
Imagem	
Tipo	Regulador de tensão (<i>Buck</i>)
Marca	ON Semiconductor
Série	LM2596
Tensão de entrada	4,5 V até 45 V
Tensão de saída	1,23 V até 37 V
Corrente de saída	3 A
Frequência de oscilação	127 kHz até 173 kHz
Temperatura de funcionamento	- 40 °C até + 125 °C
Preço ¹⁵	1,89 €

O regulador de tensão escolhido foi o LM2596 da ON Semiconductor. Este regulador permite uma entrada de tensão entre 4,5 V e 45 V e uma saída entre 1,23 V e 37 V, seguindo a topologia de um *step-down* (abaixador de tensão). Isto significa que para uma entrada mínima de 4,5 V o regulador de tensão converte no mínimo para 1,23 V e, para uma entrada máxima de 45 V, converte no máximo para 37 V. Contudo, para a complementação do *step-down* foram necessários mais alguns componentes, como mostra a Figura 3.64.

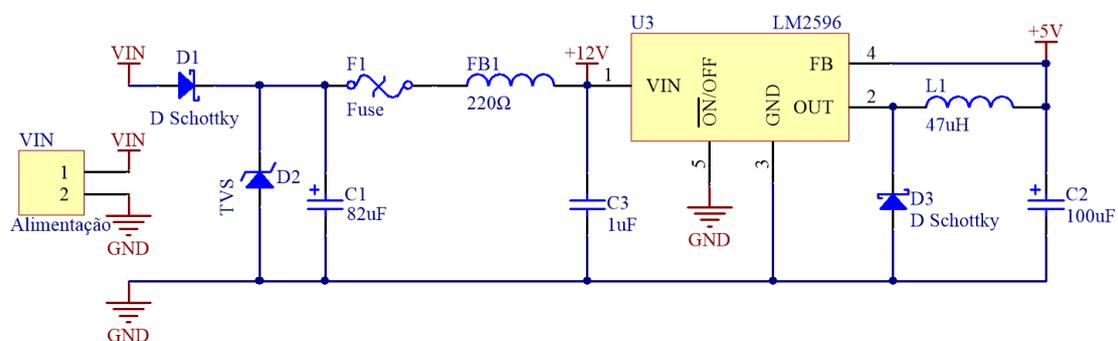


Figura 3.64: Circuito da fonte de tensão 12 V – 5 V

¹⁵ Preço obtido através do site do Mouser [75], estando sujeitos a alterações.

Este circuito é constituído por diversos componentes, entre eles: um diodo Schottky (D1) para isolar a entrada do regulador; um TVS (D2), para controlar picos de tensão à entrada do circuito; um condensador de 82 μF (C1) atuando também no caso de uma grande variação de tensão e fornecendo a corrente necessária para o arranque do sistema; um fusível rearmável (F1) de modo a proteger o circuito no caso de um pico de corrente; uma ferrite (FB1) para reduzir o ruído proveniente da rede; um condensador (C3) de desacoplamento à entrada. Por fim, complementando o integrado (LM2596) e formando o *step-down*, uma bobina (L1), um condensador (C2) e um diodo Schottky (D3). Na Tabela 3.21 estão representados os componentes utilizados para esta fonte de tensão, assim como os respetivos preços.

Tabela 3.21: Componentes e preços utilizados para a fonte de tensão 12 V - 5 V

Fonte de tensão	
Componente	Preço (unidade) [76]
2 Diodos Schottky (SSA23L)	0,357 € [77]
Condensador 82 μF	0,502 € [78]
Fusível 2 A (OZCG0200AF2B)	0,196 € [79]
Ferrite 220 Ω (BLM21PG221SN1D)	0,094 € [80]
Condensador 1 μF	0,043 € [81]
Regulador de tensão LM2596	1,89 € [75]
Bobina 47 μH (WE-PD 1050 47uH 2.2A)	1,95 € [82]
Condensador 100 μF	1,69 € [83]
Total	7,08 €

Para dimensionamento dos componentes do *step-down* recorreu-se ao *datasheet*, ao gráfico representado na Figura 3.65 e à sua respetiva tabela de caracterização.

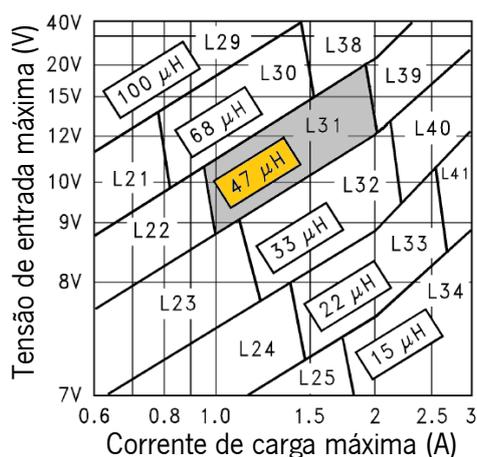


Figura 3.65: Gráfico de dimensionamento dos componentes do *step-down*

Para uma tensão de entrada máxima de 12 V e uma corrente de carga no máximo de 2 A, chegou-se à área L31 do gráfico. Ou seja, uma bobina de 47 μH (pelo gráfico) e um condensador de 100 μF (pela tabela do *datasheet*). E assim fica dimensionada e completa a fonte de tensão para os 5 V do biorreator.

Regulador de tensão 5 V – 3 V

Para a alimentação dos microcontroladores, do LCD e do Bluetooth, recorreu-se a outro regulador de tensão, que, aproveitando a tensão anteriormente explicada (5 V) converte a tensão de 5 V para 3,3 V. A Tabela 3.22 apresenta as características do regulador de tensão escolhido.

Tabela 3.22: Características do regulador de tensão 5 V - 3,3 V

Regulador de tensão 5V – 3,3 V [84]	
Imagem	
Tipo	Regulador de tensão (<i>Buck</i>)
Marca	STMicroelectronics
Série	LD1117S
Tensão máxima de entrada	15 V
Tensão de saída	1,25 V até 15 V
Corrente de saída	800 mA
Temperatura de funcionamento	0 °C até + 150 °C
Preço ¹⁶	0,39 €

O regulador de tensão escolhido para a conversão de 5 V para 3,3 V foi o LD1117 da STM, concedendo todas as características necessárias e um preço reduzido. Este regulador de tensão, tal como o anterior, é um *step-down*, neste caso para a conversão de 5 V para 3,3 V com uma corrente de saída de 800 mA. Para a configuração do circuito para este integrado, seguiu-se o aconselhado no *datasheet*, como mostra a Figura 3.66.

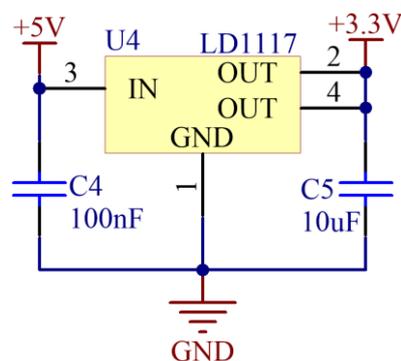


Figura 3.66: Circuito do regulador de tensão LD1117

Este circuito é relativamente simples, tendo apenas o integrado selecionado com dois condensadores de desacoplamento de modo a filtrar eventuais ruídos na entrada ou na saída do regulador.

¹⁶ Preço obtido através do site do MOUSER [84], estando sujeitos a alterações.

3.4. PCB's

Para o desenvolvimento das placas de circuito impresso foi utilizado o SOLIDWORKS PCB que é uma ferramenta da SOLIDWORKS com uma extensão do ALTIUM com muitas inovações do mundo do *design* de eletrônica, Figura 3.67. Foi utilizada esta ferramenta pelo facto de permitir a conexão entre o programa de desenho das PCB's e o programa de modelação da parte mecânica do biorreator. Ou seja, permite desenhar a forma da placa no programa de modelação, fazendo com que a placa seja desenhada única e exclusivamente para aquele local, sendo projetada ao pormenor desde a furação até ao contorno da placa. De seguida foi exportada para o SOLIDWORKS PCB onde foram colocados e posicionados todos os componentes, dimensionadas e desenhadas as pistas. Por fim foi novamente exportada para SOLIDWORKS onde foi posicionada no seu local, sendo analisadas e eliminadas todas as eventuais colisões que possam ter existido com a parte mecânica.

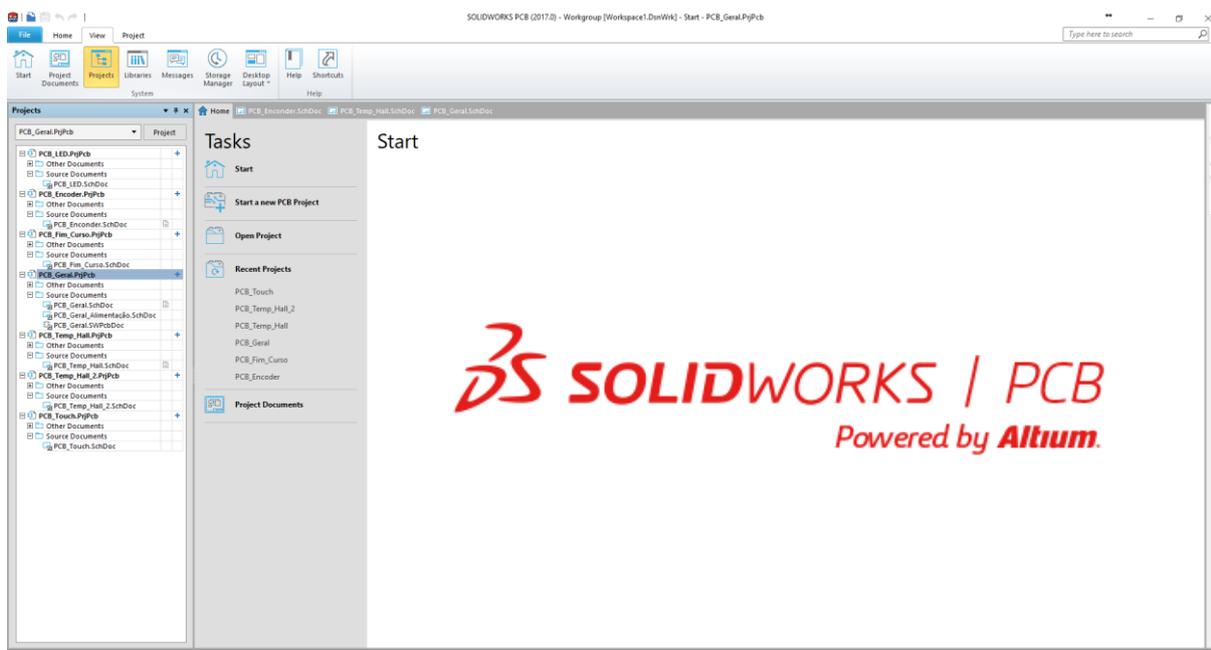


Figura 3.67: SOLIDWORKS PCB

Para a divisão de todo o *hardware* do biorreator foram projetadas seis placas de modo a simplificar a construção do biorreator, organizando melhor cada um dos módulos pertencentes ao sistema. Assim foram criadas as seguintes placas: PCB Geral, PCB de LEDs, PCB do *Touch Wheel*, PCB de fim de curso, PCB, do *encoder* magnético e PCB dos sensores de Hall e de temperatura.

3.4.2. PCB Geral

Esta PCB é a placa principal do biorreator fixada na caixa do biorreator (Figura 3.23, 3), tendo a função de controlar todo o sistema, Figura 3.68. Esta placa foi projetada de forma a incluir o microcontrolador principal (1), o regulador de tensão de 12 V para 5 V (2), o regulador de tensão de 5 V para 3,3 V (3), o módulo Bluetooth (4), o driver do motor (5), contendo também todo o *hardware* adicional, explicado anteriormente, necessário para o correto funcionamento de cada componente bem como as fichas de conexão com as outras placas.

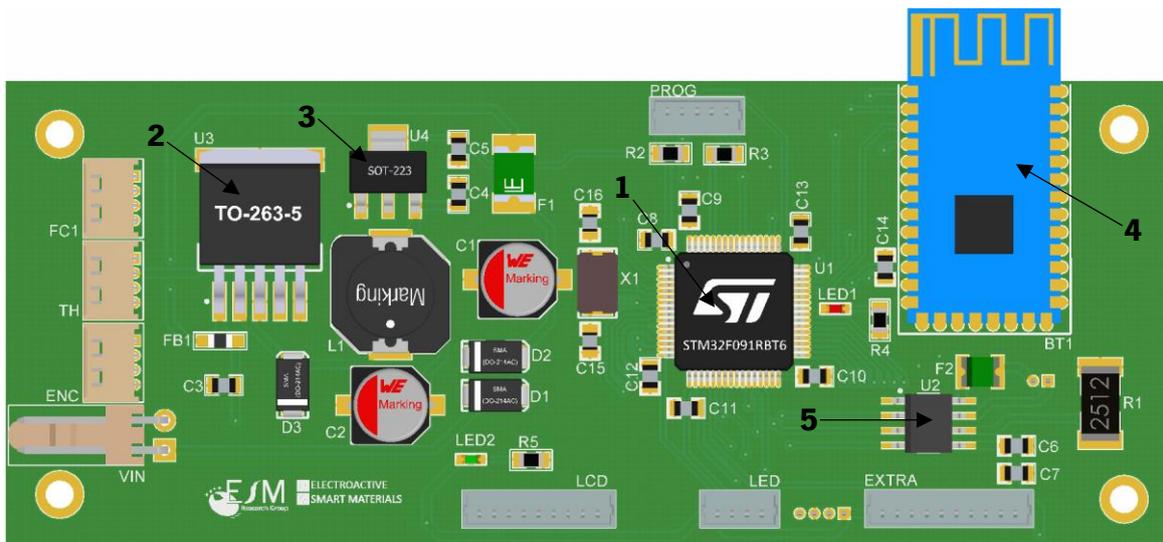


Figura 3.68: Vista superior com projeção ortográfica da PCB Geral

A Figura 3.69 ilustra o desenho das pistas de cada camada da PCB Geral, assim como a colocação do plano de massa de cada camada.

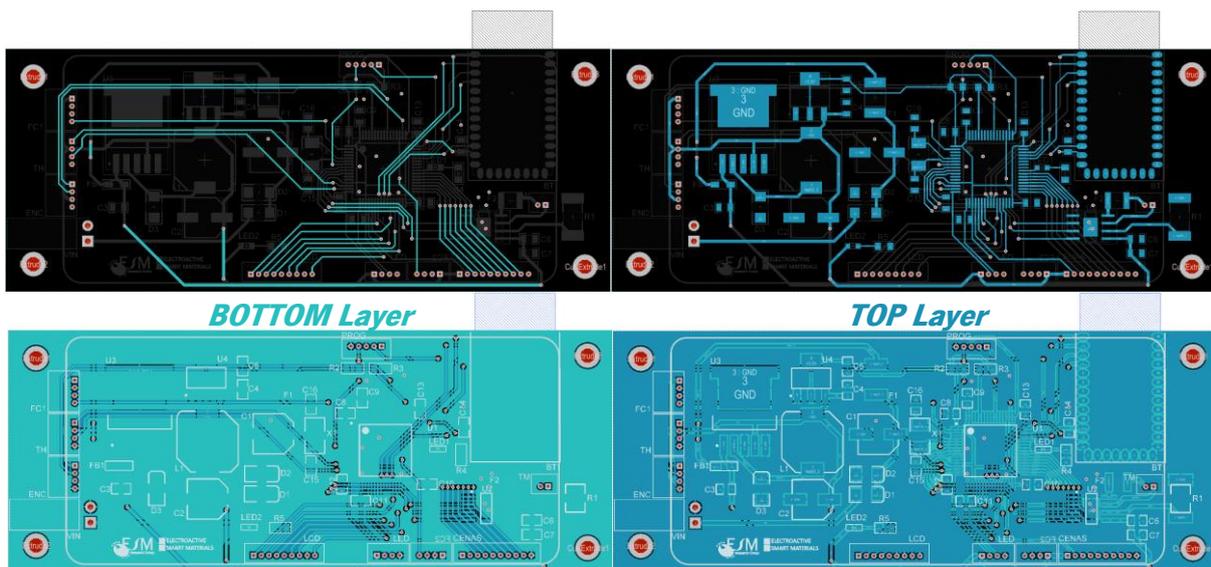


Figura 3.69: Desenho das pistas com respetivo plano de massa nas duas camadas da PCB Geral

Na Figura 3.70 é apresentada a projeção e o resultado final, com todos os componentes, da PCB Geral.

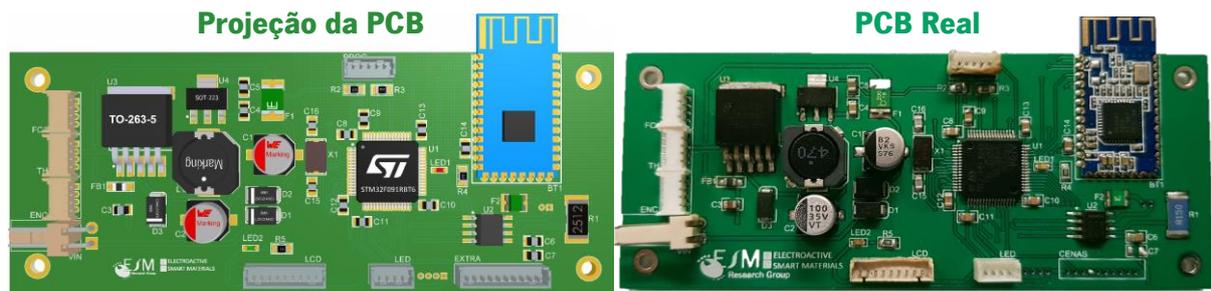


Figura 3.70: Projeção e resultado final da PCB Geral

3.4.3. PCB de LEDs

Esta PCB é a placa responsável por controlar a *touch* e o LED's RGB, que é fixada na tampa frontal do biorreator (Figura 3.47, 5). Esta placa é composta pelo microcontrolador secundário (1), um regulador de tensão de 5 V para 3,3 V (2), 16 LED's RGB (3) e todo o *hardware* adicional necessário para o seu funcionamento. Em 4, observa-se os encaixes para a PCB do *Touch Wheel*, recebendo assim 6 ligações diferentes (explicadas anteriormente).

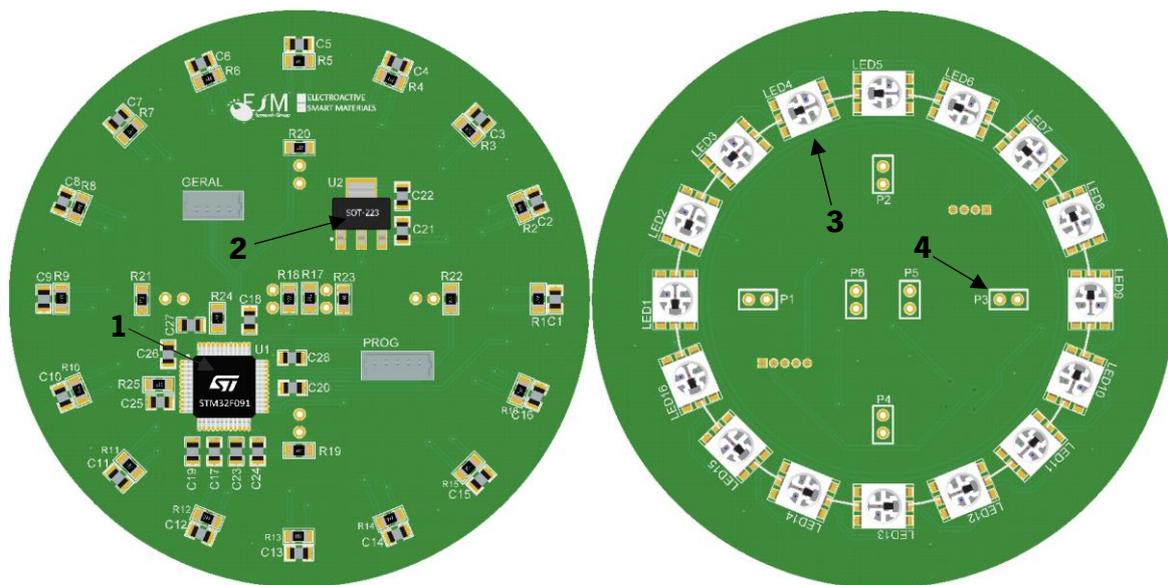


Figura 3.71: Vista superior com projeção ortográfica da PCB de LED's

A Figura 3.72 ilustra o desenho das pistas de cada camada da PCB de LED's, assim como a colocação do plano de massa de cada camada.

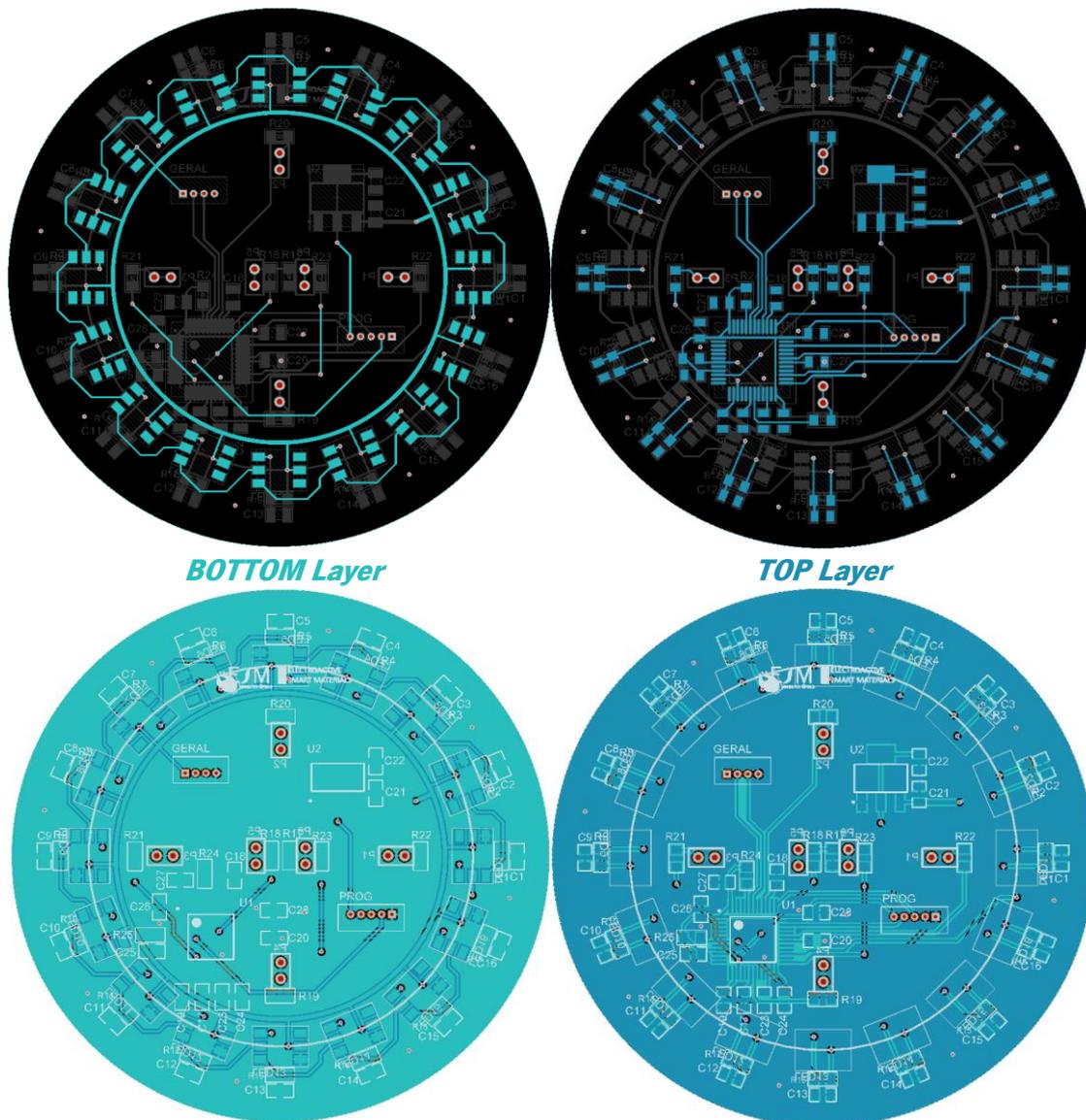


Figura 3.72: Desenho das pistas com respetivo plano de massa nas duas camadas da PCB de LED's

A Figura 3.73 apresenta a projeção e o resultado final, com todos os componentes, das duas camadas da PCB de LED's.

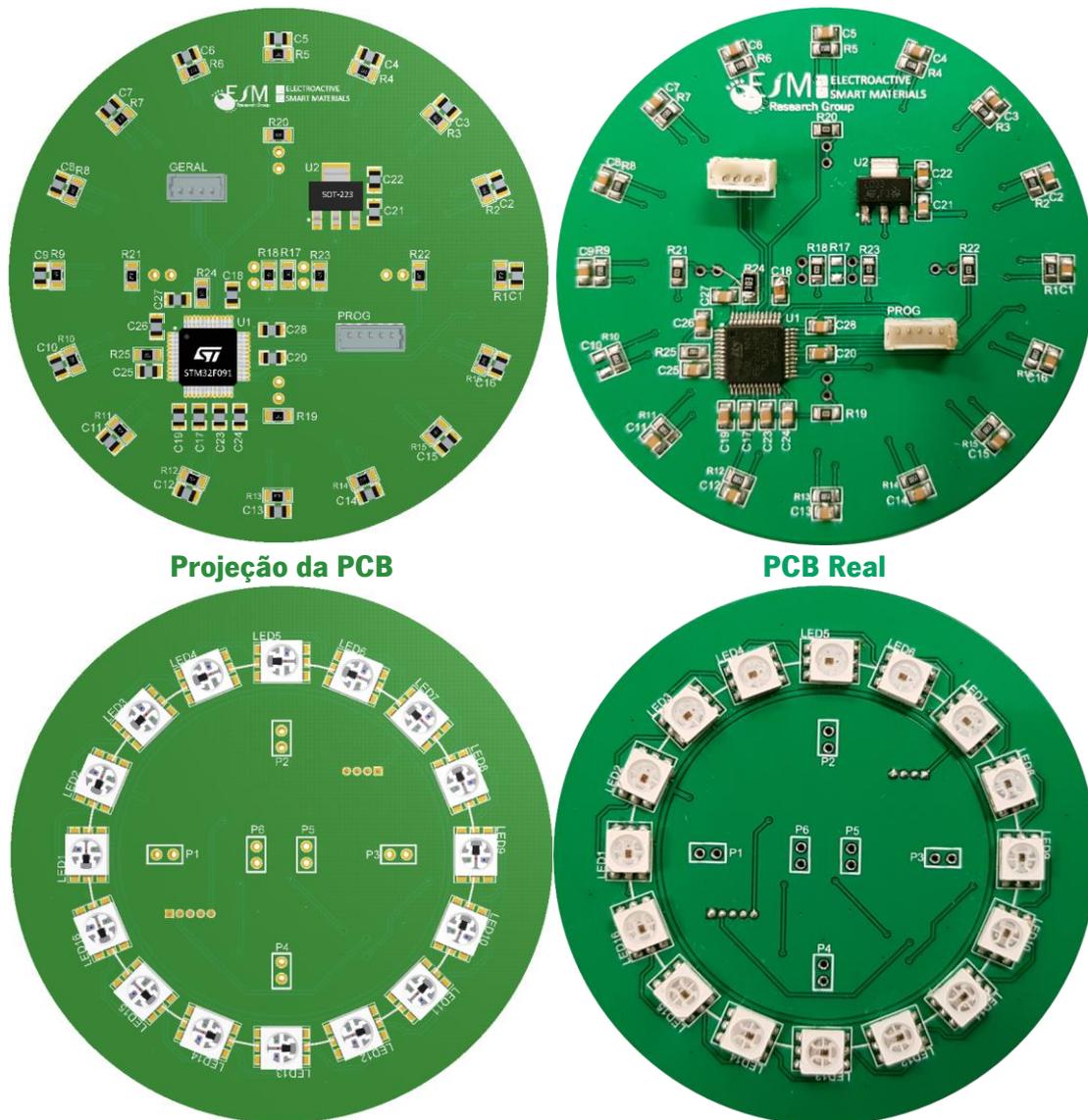


Figura 3.73: Projeção e resultado final das duas camadas da PCB de LED's

3.4.4. PCB do Touch Wheel

Esta PCB foi projetada com um *touch* de forma a permitir ao utilizador a possibilidade de configuração do biorreator, que é fixada na PCB de LED's (Figura 3.47, 4). Na Figura 3.74, estão representadas as duas camadas da PCB desenvolvida para o *touch wheel*, que são compostas por conectores (1) utilizados para fazer a ligação à placa de LED's, pelos botões de navegação (2) e pelo botão de "OK" (3).

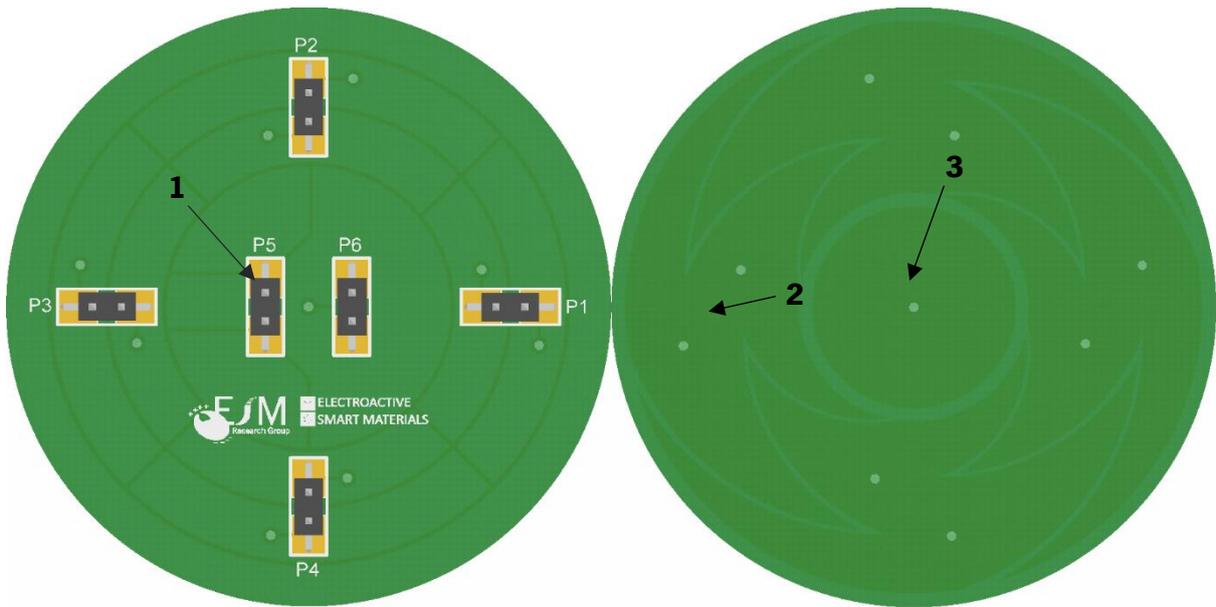


Figura 3.74: Vista superior com projeção ortográfica da PCB do Touch Wheel

A Figura 3.75 ilustra o desenho das duas camadas da PCB do Touch Wheel, assim como a vista das duas camadas sobrepostas.

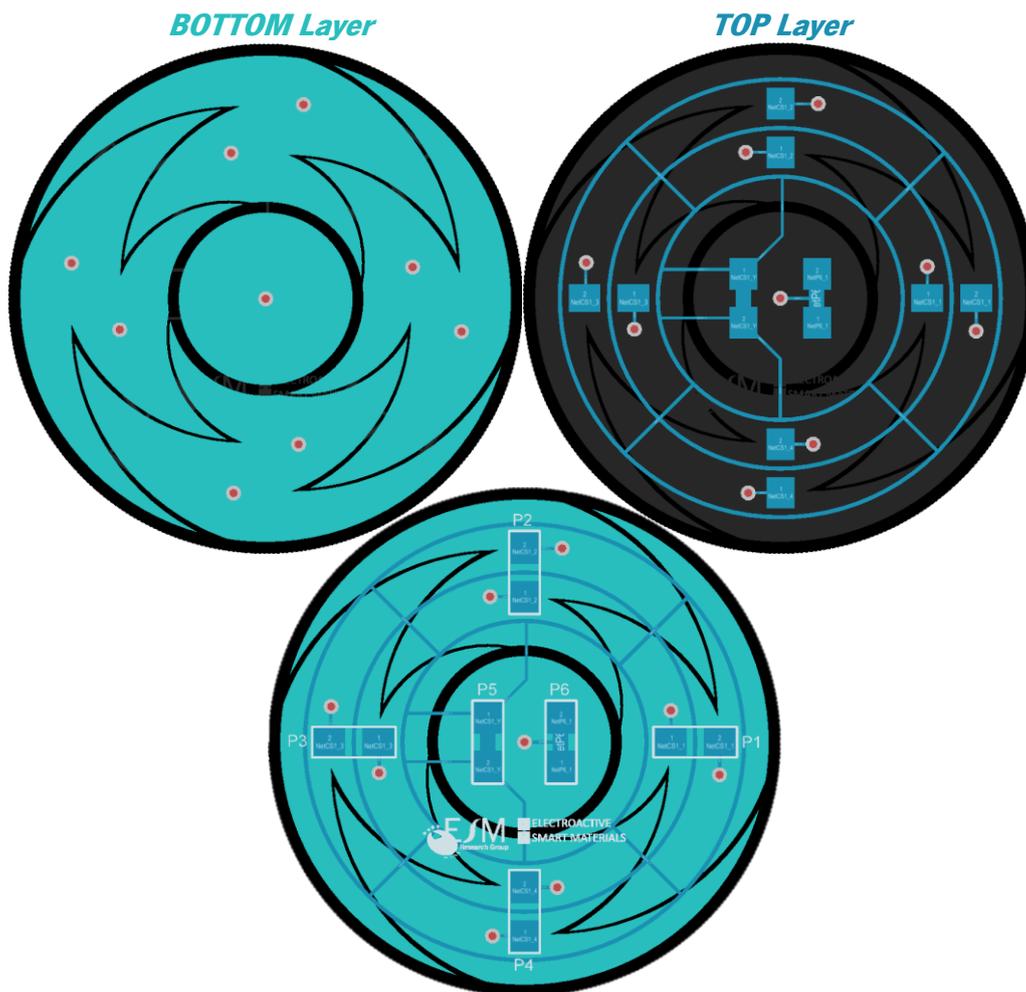


Figura 3.75: Desenho das duas camadas da PCB do Touch Wheel

A Figura 3.76 apresenta a projeção e o resultado final das duas camadas da PCB do Touch Wheel.

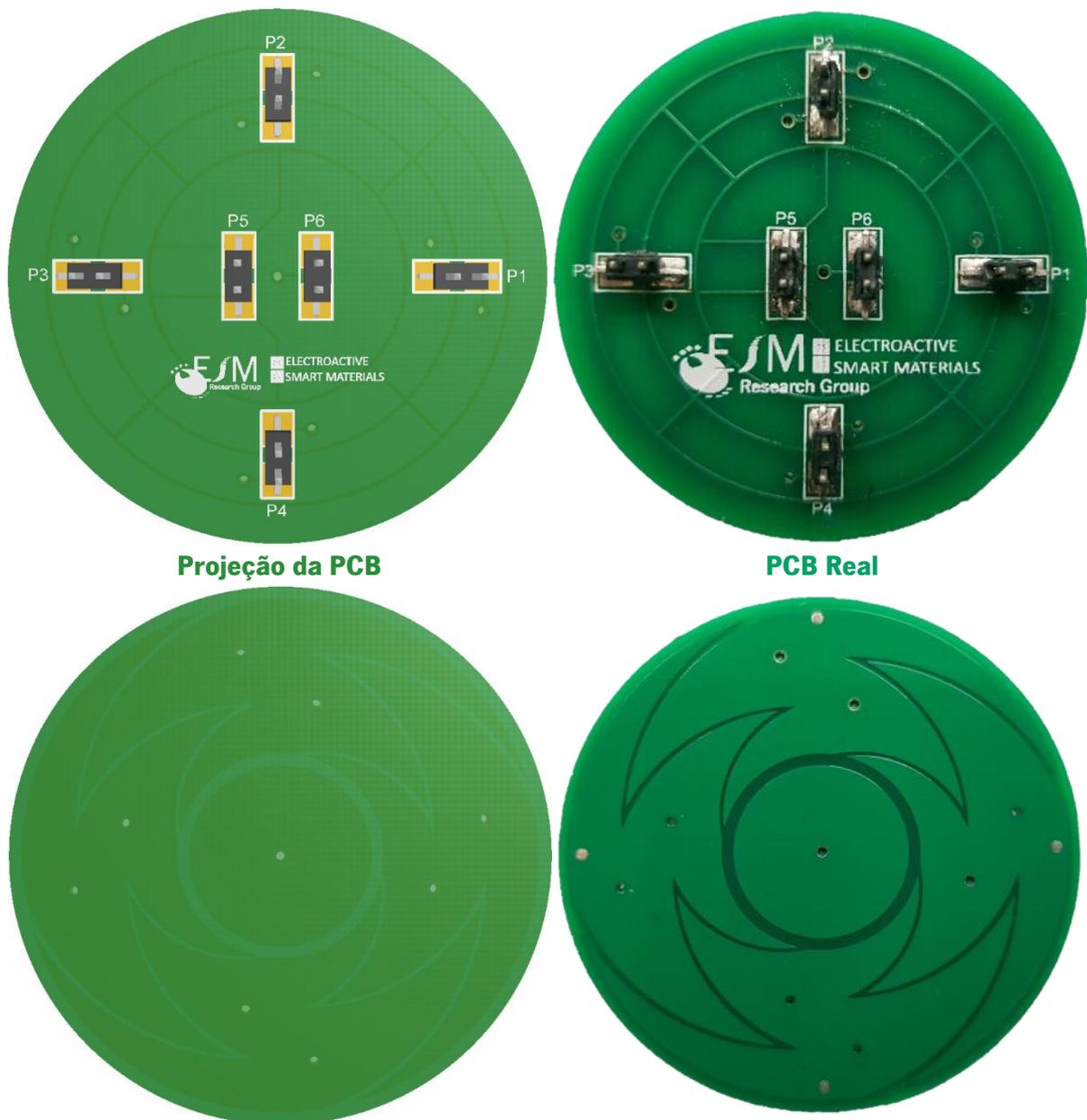


Figura 3.76: Projeção e resultado final das duas camadas da PCB do Touch Wheel

3.4.5. PCB de fim de curso

Esta PCB desenvolvida de forma a ser colocada na base do biorreator (Figura 3.27, 2) a fim de indicar ao microcontrolador principal o fim do curso da plataforma magnética. Na Figura 3.77 está representada a PCB que contém o fim de curso (1), o *hardware* adicional e o conector para comunicar com a PCB Geral.

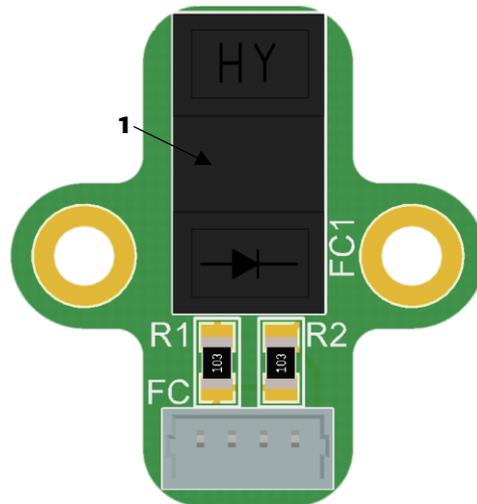


Figura 3.77: Vista superior com projeção ortográfica da PCB de fim de curso

A Figura 3.78 ilustra o desenho das pistas da PCB de fim de curso e o respetivo plano de massa.

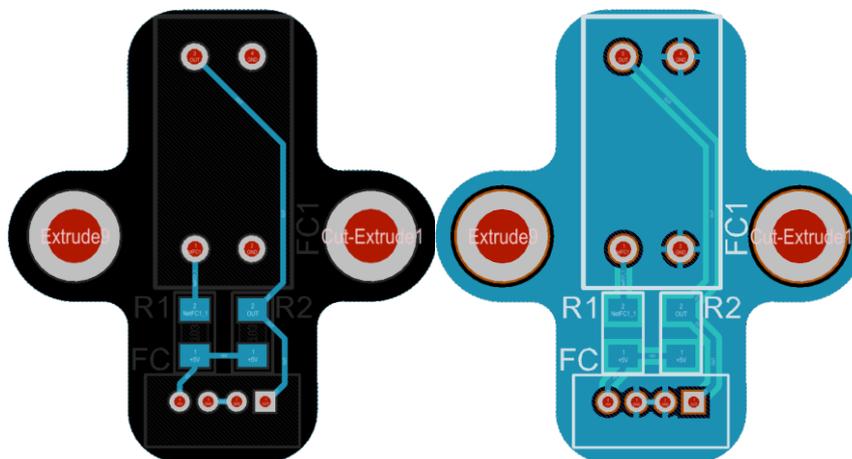


Figura 3.78: Desenho das pistas com respetivo plano de massa da PCB de fim de curso

A Figura 3.79 apresenta a projeção e o resultado final da PCB de fim de curso.

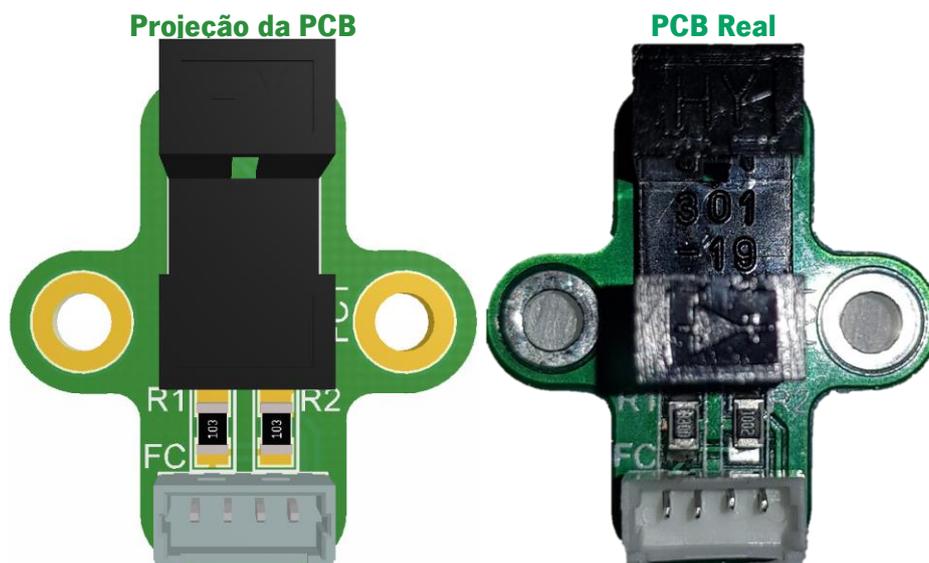


Figura 3.79: Projeção e resultado final das duas camadas da PCB do Touch Wheel

3.4.6. PCB do *encoder* magnético

Esta PCB desenvolvida de forma a ser colocada na base do biorreator (Figura 3.27, 3) a fim de indicar ao microcontrolador principal a velocidade do motor, permitindo assim aplicar o controlo ao motor. Na Figura 3.80 está representada a PCB que contém o *encoder* magnético (1), o *hardware* adicional e o conector para comunicar com a PCB Geral.

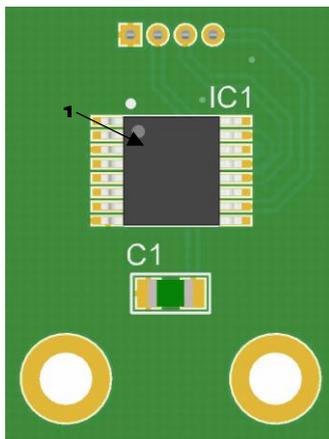


Figura 3.80: Vista superior com projeção ortográfica da PCB do *encoder magnético*

A Figura 3.81 ilustra o desenho das pistas da PCB do *encoder* magnético e o respetivo plano de massa.

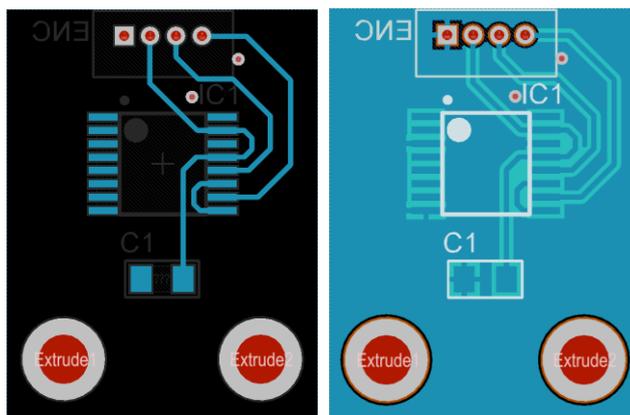


Figura 3.81: Desenho das pistas com respetivo plano de massa da PCB do *encoder magnético*

A Figura 3.82 apresenta a projeção e o resultado final da PCB do *encoder magnético*.

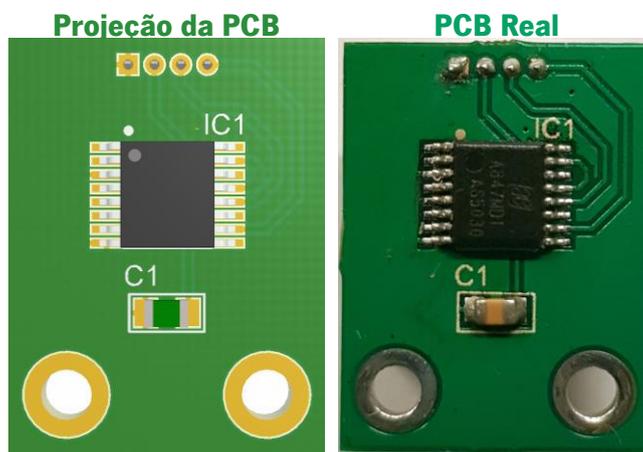


Figura 3.82: Projeção e resultado final da PCB do *encoder magnético*

3.4.7. PCB dos sensores de Hall e de temperatura

Para a colocação dos sensores de campo magnético e de temperatura foram dimensionadas duas placas de modo a que o sensor de campo magnético ficasse alinhado com os poços da mesa magnética a utilizar. A Figura 3.83 apresenta as PCB para as diferentes mesas magnéticas, a de 24 poços e a de 48 poços, onde o sensor de temperatura (1) fica na mesma posição e o sensor de Hall (2) fica ligeiramente desviado para cada uma das mesas. Esta placa é posicionada na caixa do biorreator (Figura 3.23, 2).

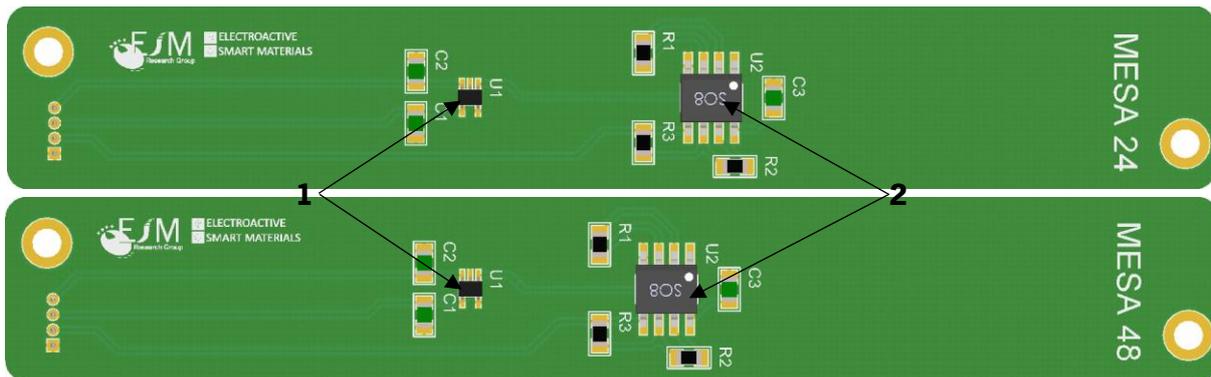


Figura 3.83: Vista superior com projeção ortográfica da PCB do *encoder magnético*

A Figura 3.84 ilustra o desenho das pistas das PCB's dos sensores de Hall e de temperatura e o respetivo plano de massa para cada mesa magnética.

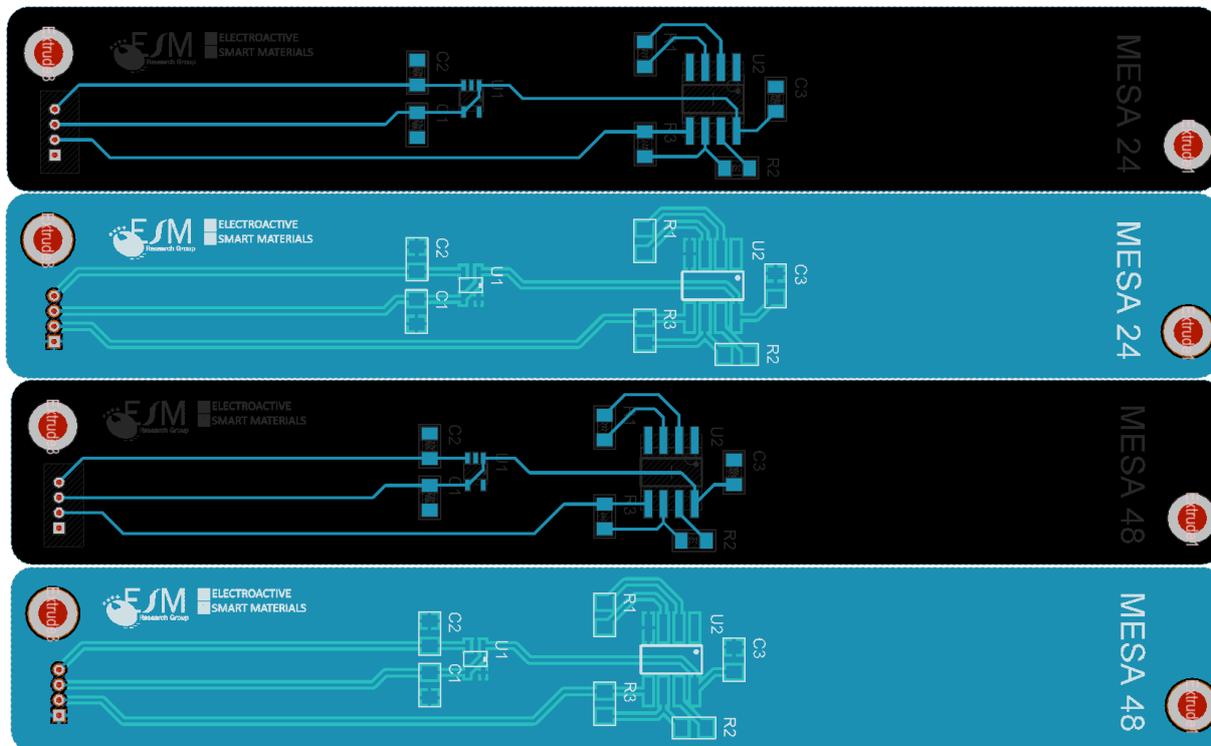


Figura 3.84: Desenho das pistas com respetivo plano de massa das PCB's dos sensores de Hall e de temperatura

A Figura 3.82 apresenta a projeção e o resultado final da PCB do *encoder magnético*.

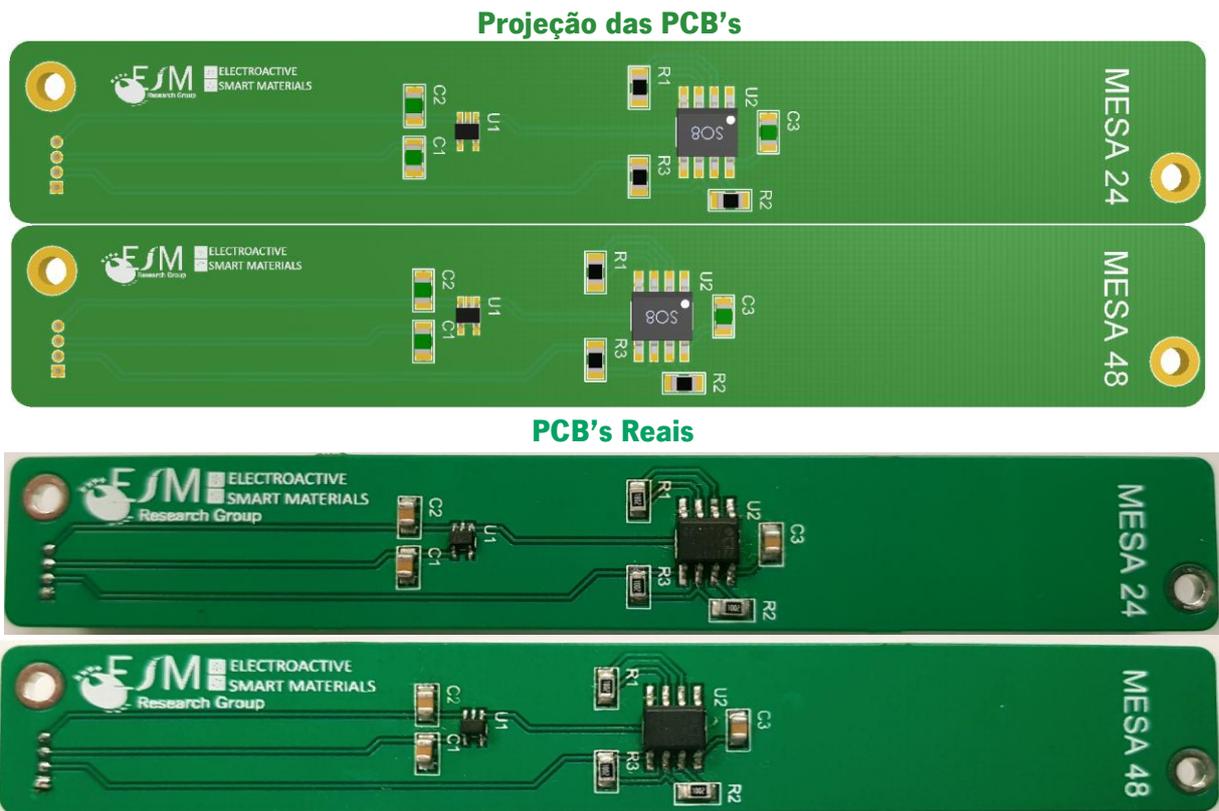


Figura 3.85: Projeção e resultado final das duas PCB's dos sensores de Hall e de temperatura

3.4.8. Assemblagem das PCB's num só módulo

De forma a reduzir os custos de produção devido ao número de placas, decidiu-se juntar todas as placas num módulo de forma a produzir uma única placa, facilitando o processo de soldadura no caso de produção em grandes quantidades do biorreator. A Figura 3.86 mostra a distribuição das PCB's no módulo geral das placas.

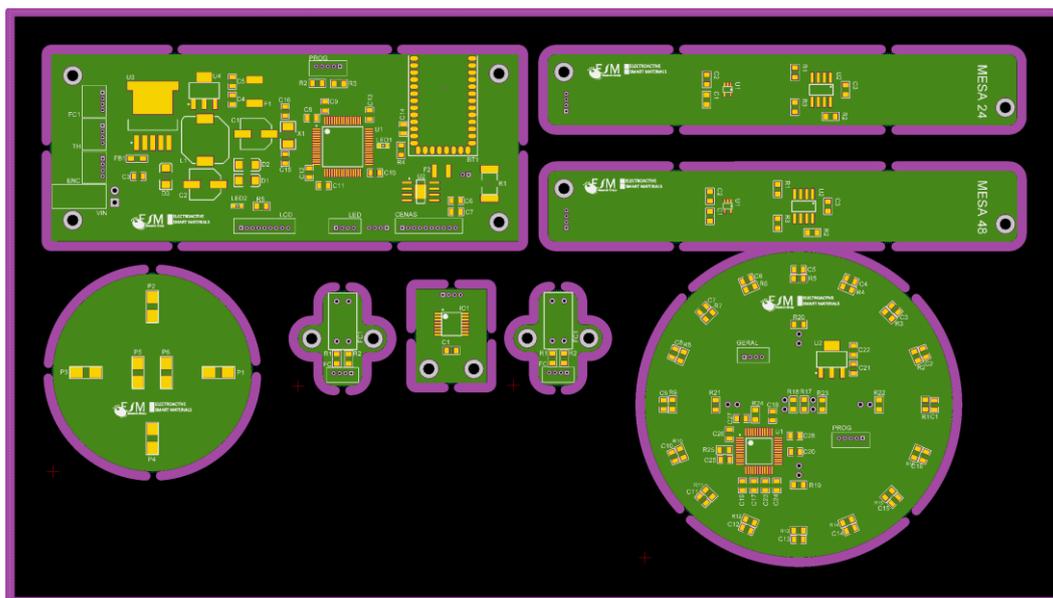


Figura 3.86: Assemblagem de todas as PCB's num só módulo

De forma a ser possível separar as placas, projetou-se o caminho a ser devastado na placa (linha roxa), deixando pontos de apoio de modo a manter as placas seguras ao módulo. Contudo, para tornar a separação mais fácil, reduziu-se a resistência desses apoios, facilitando a quebra do material, sem perder o apoio, como mostra a Figura 3.87.

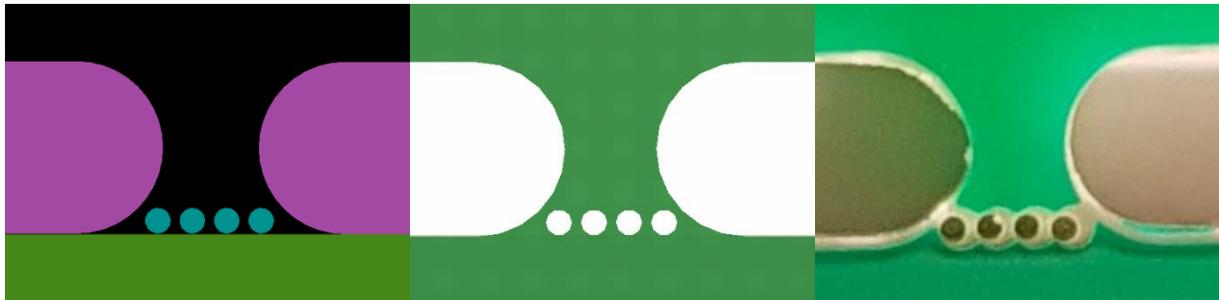


Figura 3.87: Pontos de apoios das PCB's no módulo geral

A Figura 3.88 mostra a projeção e o resultado final da produção no módulo assembled com todas as PCB's do biorreator.

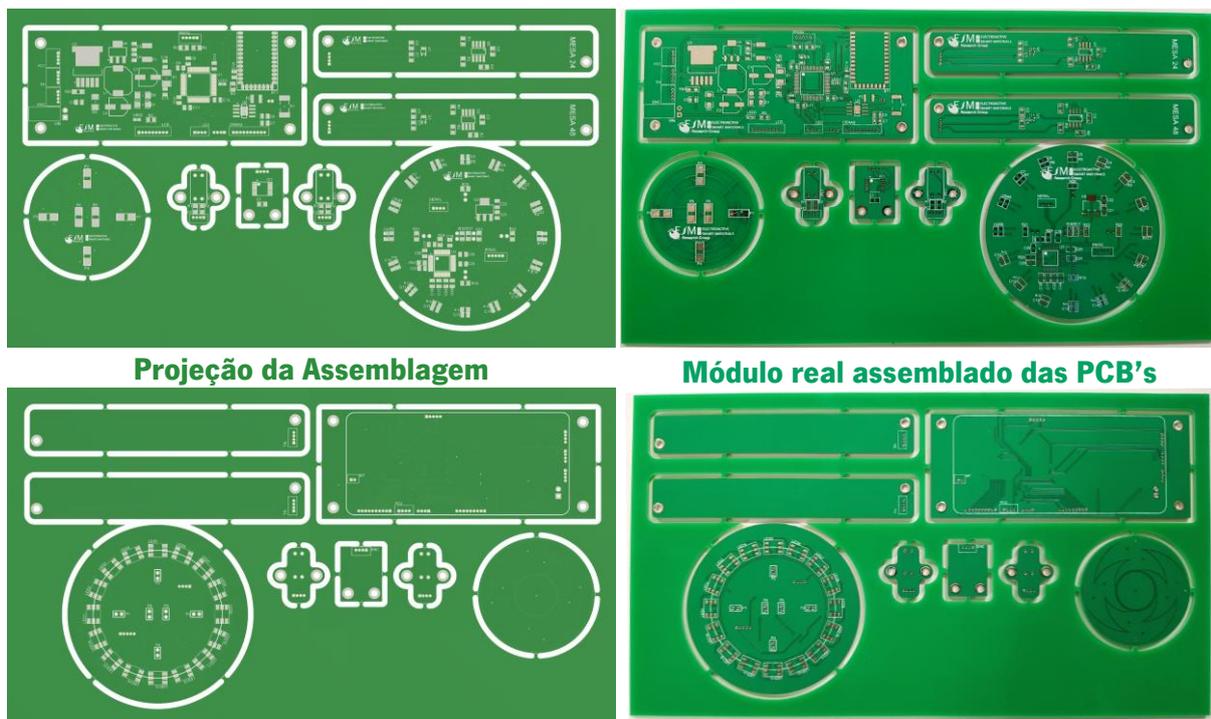


Figura 3.88: Projeção e resultado final das duas camadas do módulo geral das PCB's

3.5. Firmware do sistema

Para o controlo do biorreator, foi imprescindível programar os microcontroladores que comandam todo o sistema. Para tal utilizou-se o μ Vision[®]5 da KEIL, Figura 3.89, pelo facto de os microcontroladores seguirem uma arquitetura ARM e esta ferramenta ter bastante suporte para esta arquitetura.

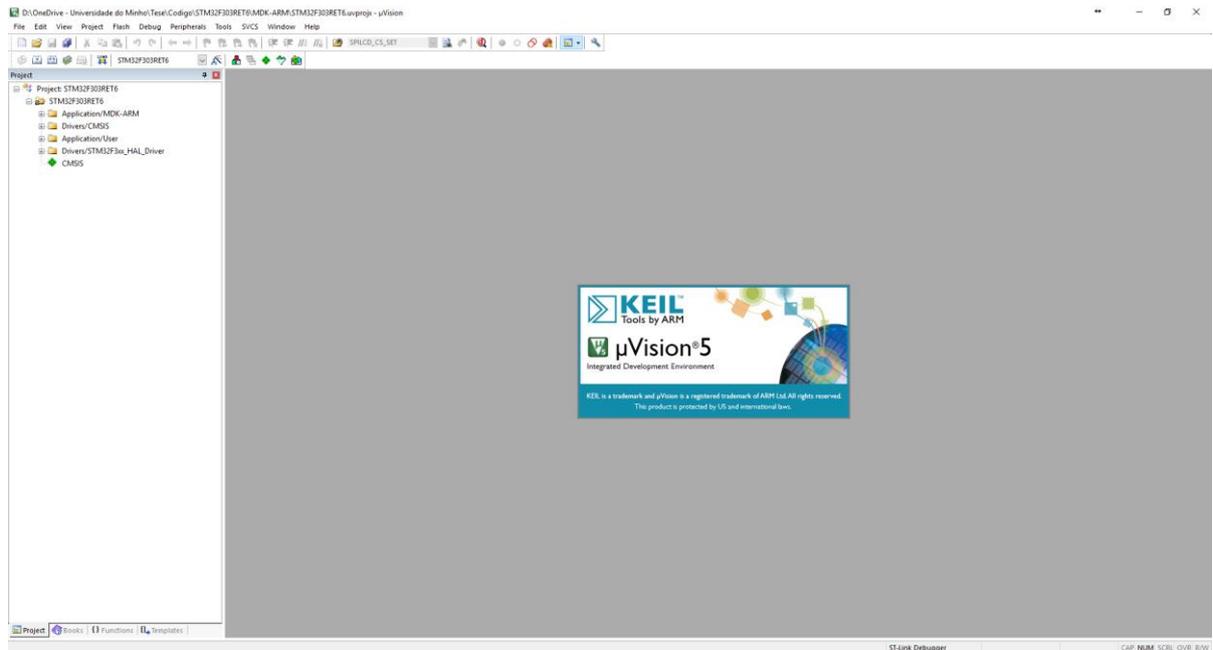


Figura 3.89: KEIL μVision®5

3.5.1. Interface gráfica do sistema

Para a utilização do sistema foi desenvolvida uma interface gráfica para o LCD de forma a permitir ao utilizador configurar o seu cultivo celular consoante a sua necessidade. A Figura 3.90 representa o esquema da interface gráfica desenvolvida para o biorreator. Quando o biorreator é ligado à corrente elétrica, fica em standby à espera que o utilizador o ligue, carregando durante 2 segundos no botão “OK”. Após ser ligado o biorreator, a interface gráfica entra em funcionamento mostrando no LCD o MENU 1.

Premindo o botão “OK” de novo, a interface entra no MENU 2, onde o utilizador escolhe a posição inicial da plataforma magnética (observando a sua posição através da tampa superior do biorreator) dependendo do tipo de placa de cultivo/ mesa magnética a utilizar e da variação do campo magnético que o utilizador deseja para as células. O valor do campo magnético é atualizado no LCD consoante a variação da plataforma magnética. Escolhida a posição inicial da plataforma magnética, passa-se para o MENU 3 onde estão disponibilizados quatro programas já pré-programados permitindo ao utilizador a escolha de qualquer um. Escolhido o programa, o utilizador tem a opção de editar os parâmetros desse programa, ficando guardados para uma próxima utilização.

A edição desses parâmetros é realizada no MENU 4, onde é possível: selecionar a direção de arranque na mesa, possibilitando o arranque do estímulo com o polo norte ou com o polo sul dos ímãs permanentes; definir a distância de deslocamento, definindo a variação do campo magnético a ser

aplicado nas células; a frequência de oscilação da plataforma magnética, definindo a velocidade com que as compósitos magnéticos se movimentam dentro dos poços com as células; a duração total do cultivo, indicando o valor em dias, horas e minutos; o tempo ativo e de repouso de um primeiro ciclo, expresso em horas, que irá funcionar dentro da duração total do cultivo; o tempo ativo e de repouso de um segundo ciclo, este em minutos, que irá funcionar dentro do tempo ativo do primeiro ciclo; e por fim, a temperatura crítica e ideal do cultivo, para a segurança do cultivo, ou seja, caso a temperatura do biorreator chegue a esse valor, ele é desligado até baixar até à temperatura ideal, prevenindo assim a sobrevivência das células.

Após definidos e guardados os parâmetros do programa escolhido, avança-se para o início do cultivo, passando pelo MENU 5 que confirma a escolha do utilizador. Chegando ao MENU 6, o LCD mostra os dados mais importantes para o cultivo que são: temperatura do biorreator, estado e o tempo restante de cada ciclo e a contagem decrescente para o final do cultivo. O cultivo pode ser interrompido a qualquer momento pelo utilizador carregando no botão “OK”, passando para o MENU 7, onde o sistema pergunta ao utilizador se deseja parar o cultivo. Nisto, para avançar, terá que carregar na seta da direita de modo a evitar cancelamentos não desejados. Mesmo assim, é confirmada novamente a ação no MENU 8, passando assim para o MENU 9, onde é indicado o fim do cultivo. No caso do cultivo não ser interrompido, quando o contador da duração total do cultivo chega ao fim, este é encaminhado para o MENU 9. Por fim, quando o utilizador pressiona o “OK” neste MENU, o sistema volta ao MENU inicial, começando um novo ciclo de processos para um novo cultivo.

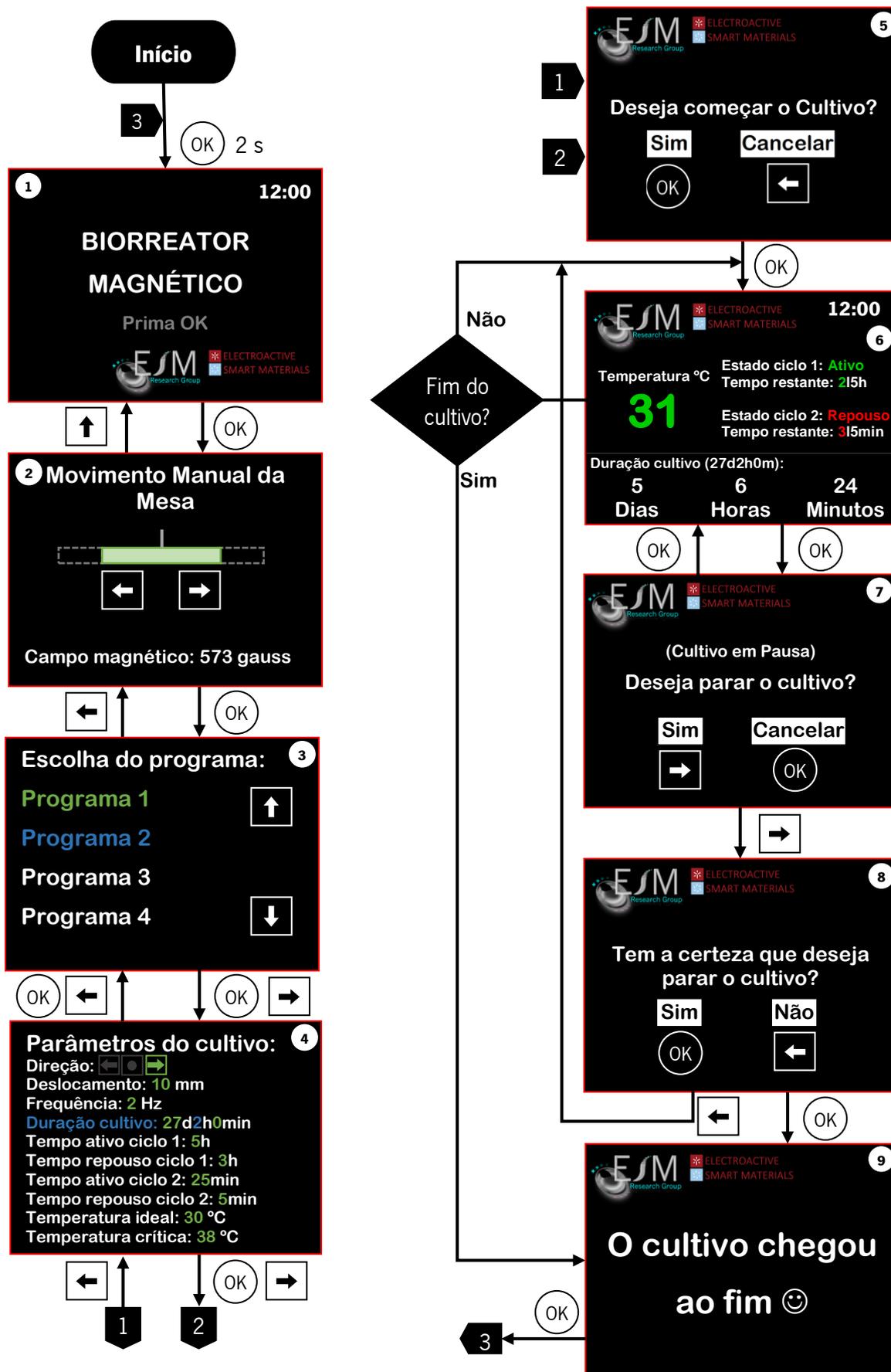


Figura 3.90: Esquema da interface gráfica do biorreator

3.5.2. Atuador/ Motor

Para o controlo do motor do biorreator, foram estudados dois algoritmos de controlo (On-Off e PID) de modo a linearizar e a melhor controlar a resposta do motor. Contudo, após a análise dos dois tipos de controladores, optou-se pela utilização do controlador PID, visto ser mais estável, mais rápido e mais linear do que o controlador On-Off. De modo a ser possível a leitura da saída do sistema, introduziu-se um sensor (*encoder* magnético) capaz de ler a velocidade do motor e a posição na mesa magnética.

Para a calibração do controlador PID do motor do biorreator foi inicialmente utilizado o método de Ziegler-Nichols, contudo, a fim de melhor calibrar o controlo, recorreu-se ao método tentativa erro, pormenorizando as constantes de cada ação do controlador.

A Figura 3.91 mostra o fluxograma do controlo do motor. Inicialmente, após a inicialização das variáveis, é verificado o estado do motor, que indica se está no estado ativo ou no estado parado. Se estiver no estado parado, o motor é travado, caso contrário, é calculado e limitado o valor do PWM, segundo o algoritmo de controlo PID. Após o cálculo do PWM, este valor é invertido devido ao funcionamento do *driver* (método “*driving and braking*” explicado em 3.3.1). Seguidamente, é avaliada a direção do motor assim como o fim de curso correspondente à sua direção. Caso o fim de curso esteja ativo, o motor recebe os parâmetros para travar, evitando que a plataforma colida com a parede da caixa do biorreator. Não havendo interação com os fins de curso, os valores de IN1 e IN2 recebem os valores correspondentes à sua direção, variando o valor de PWM. Com isto, é analisado o valor do deslocamento em falta que, chegando a zero, trava o motor e volta ao início no ciclo. Caso ainda não tenha percorrido o deslocamento desejado, não altera o movimento do motor e volta ao início do ciclo até que este seja concluído. A medição deste deslocamento é adquirida e calculada pelo *encoder* que atualiza o valor da variável de deslocamento sempre que inicia este ciclo.

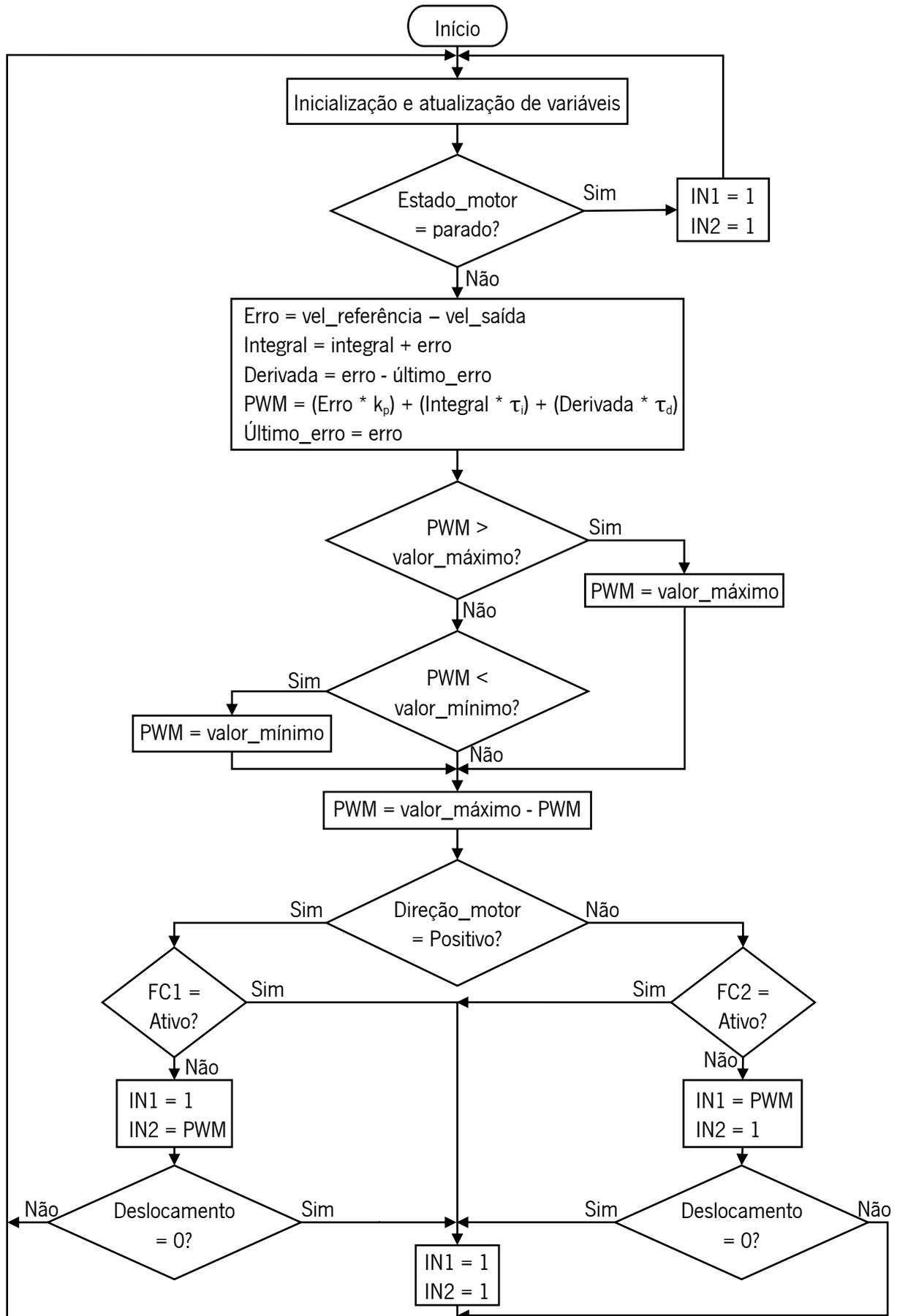


Figura 3.91: Fluxograma do controlador PID do motor

3.5.3. Sensores de campo magnético e de temperatura

O sensor de campo magnético e o sensor de temperatura são lidos num ADC onde é feita a conversão do sinal analógico para digital. Estando convertidos os valores para digital, são convertidos para volts, que no caso, é o valor que eles devolvem. Ou seja, o valor lido pelo ADC é multiplicado por 3300 (valor de alimentação do microcontrolador) e dividido por 4095 (2^{12} , que corresponde à resolução do ADC 12 bit). Uma vez convertido para milivolts, é feita uma média desses valores, sempre com mais peso no valor anterior, ou seja, por exemplo: $temp = temp_anterior \times 0,8 + temp \times 0,2$, onde de seguida o valor da média fica no valor anterior, $temp_anterior = temp$. Assim, reduz-se a influência que eventuais picos nos valores podem fazer no resultado apresentado.

3.5.4. Funcionamento do sistema

Como explicado anteriormente, o biorreator funciona com uma ordem sequencial de tarefas (Figura 3.90), apresentando menus diferentes para cada etapa. O MENU 2, na primeira vez que o motor é ativado, está representado pelo fluxograma da Figura 3.92. Quando o utilizador entra no MENU 2, o sistema fica à espera que o botão da esquerda ou da direita sejam ativados. Sendo ativado o botão da esquerda, o estado do motor é ativado, a direção do motor é definida como positiva, e o deslocamento é carregado com o valor de 0,5 mm, ou seja, sempre que este botão é pressionado, o sistema carrega as variáveis para que a plataforma se mova 0,5 mm para o sentido positivo. O mesmo se aplica para o botão do lado direito, sendo que este vai para o lado inverso. Estando carregadas as variáveis, é chamado o controlo PID do motor, fazendo movimentar o motor segundo as variáveis definidas. Após a movimentação da plataforma, o motor é colocado no estado parado e é atualizado o valor do campo magnético apresentado no LCD e o esquema gráfico na posição da plataforma magnética.

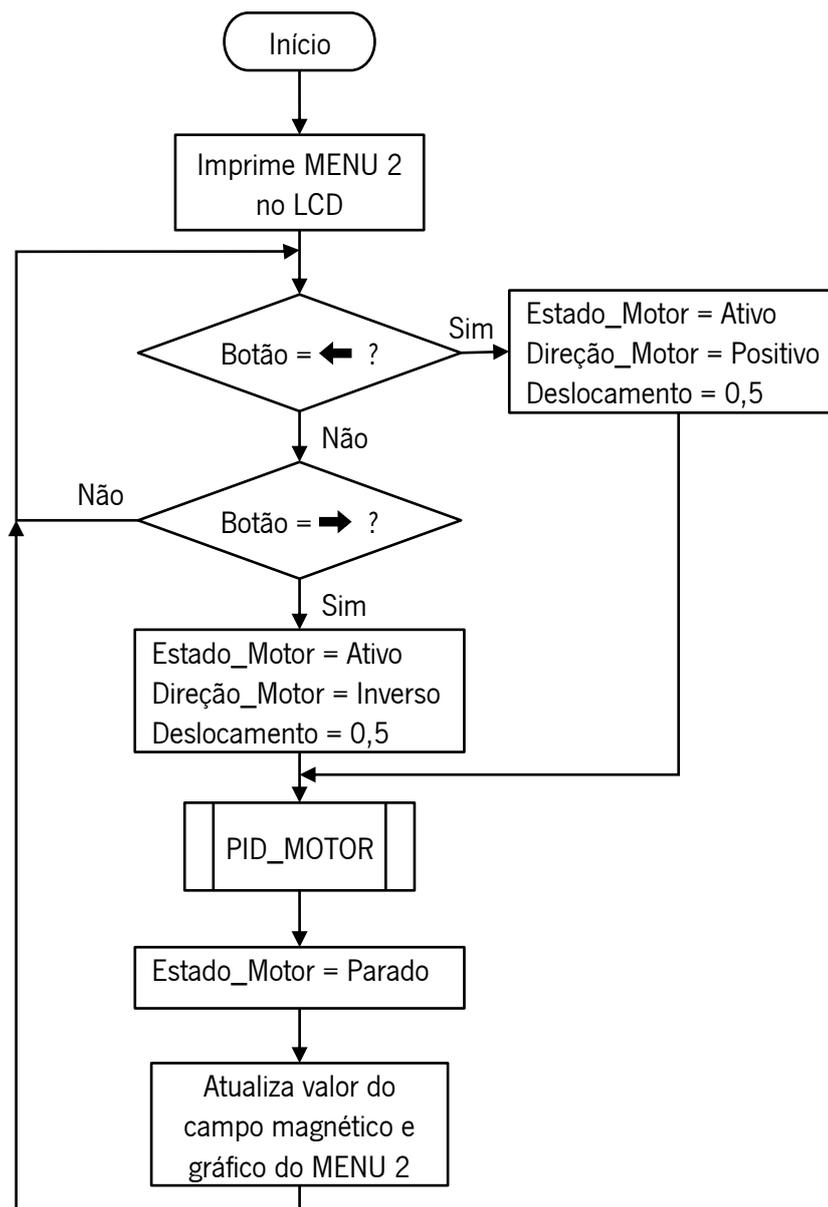


Figura 3.92: Fluxograma do MENU 2

Passando para os próximos menus, após o carregamento de todas as variáveis (MENU 4) e a confirmação para o início do cultivo, é apresentado o MENU 6 onde são processadas todas as variáveis anteriormente carregadas e é mostrado ao utilizador o estado do cultivo. A Figura 3.93 mostra o fluxograma de funcionamento do biorreator quando chega ao MENU 6. Quando o sistema inicia o cultivo, em primeiro lugar, são inicializadas todas as variáveis previamente definidas pelo utilizador. De seguida, é imprimido o MENU 6 com os valores inicialmente definidas. Após a entrada no ciclo, são sempre atualizadas as variáveis apresentadas no LCD, atualizando o utilizador acerca do estado do cultivo, sempre após o tempo de amostragem. De seguida é verificado o estado da duração final do cultivo, que, caso tenha terminado, coloca o motor no estado parado e passa para a impressão do MENU 9, indicando o fim do

cultivo. Caso não tenha chegado ao fim, é verificado o estado do ciclo 1. Se este estiver no estado repouso, é verificado o tempo de repouso, que se ainda não tiver terminado volta ao início do ciclo até que o tempo de repouso termine. Quando terminar, coloca a variável do ciclo 1 ativa e prossegue para a verificação desta. Estando a variável ativa, é verificado o tempo ativo do ciclo 1, que caso seja zero, coloca o motor no estado parado e o ciclo 1 em repouso, passando para a confirmação do tempo de repouso. Se o tempo ativo do ciclo 1 ainda não tiver chegado ao fim, passa para a verificação do estado do ciclo 2, que segue a mesma lógica do ciclo 1. Ou seja, se estiver em repouso, verifica o tempo de repouso do ciclo 2, em que se este ainda não tiver terminado volta ao início do ciclo até que termine. Quando terminar, coloca o ciclo 2 no estado ativo e faz a sua verificação. Estando ativo, é verificado o tempo ativo do ciclo 2. Se for zero, coloca o motor no estado parado e o ciclo 2 em repouso, entrando no ciclo de espera até que o tempo de repouso termine. Se ainda não tiver terminado, o motor é colocado no estado ativo e passa para a verificação da direção no motor. Se esta variável, definida inicialmente pelo utilizador, estiver no estado inverso, é verificado o estado de deslocamento, também definido inicialmente. Esta variável é processada pelo *encoder*, que faz a leitura da posição da plataforma e atualiza a variável. Se o deslocamento tiver chegado ao fim, a direção do motor passa para o estado positivo e coloca o motor a andar no sentido positivo, se ainda não tiver chegado ao fim, a variável continua no sentido inverso colocando o motor a rodar no sentido inverso. Se a direção no motor inicialmente for positiva, troca ou não o estado da direção do motor consoante o deslocamento e coloca o motor em funcionamento. Ou seja, para o funcionamento do motor, é chamada o controlador PID que coloca o motor a funcionar segundo os parâmetros definidos inicialmente e analisados neste fluxograma. A qualquer momento, caso a temperatura crítica seja atingida, o cultivo é pausado totalmente até que seja atingida a temperatura ideal definida inicialmente pelo utilizador, indicando a temperatura a vermelho enquanto que esta esteja acima do valor crítico ou a verde se estiver dentro da gama de temperatura de funcionamento ideal. Este parâmetro é gerido pelas interrupções do sistema.

A qualquer momento nos menus, seguindo a sequência de botões definida na Figura 3.90, é possível navegar nos menus. Caso esteja a meio de um cultivo, o processo é colocado em pausa, colocando todas as variáveis em pausa, permitindo ao utilizador a navegação entre menus. Estas interrupções do sistema são geridas pelas interrupções do microcontrolador, seguindo uma ordem de prioridades, onde apenas, as teclas e a temperatura crítica podem interromper um cultivo.

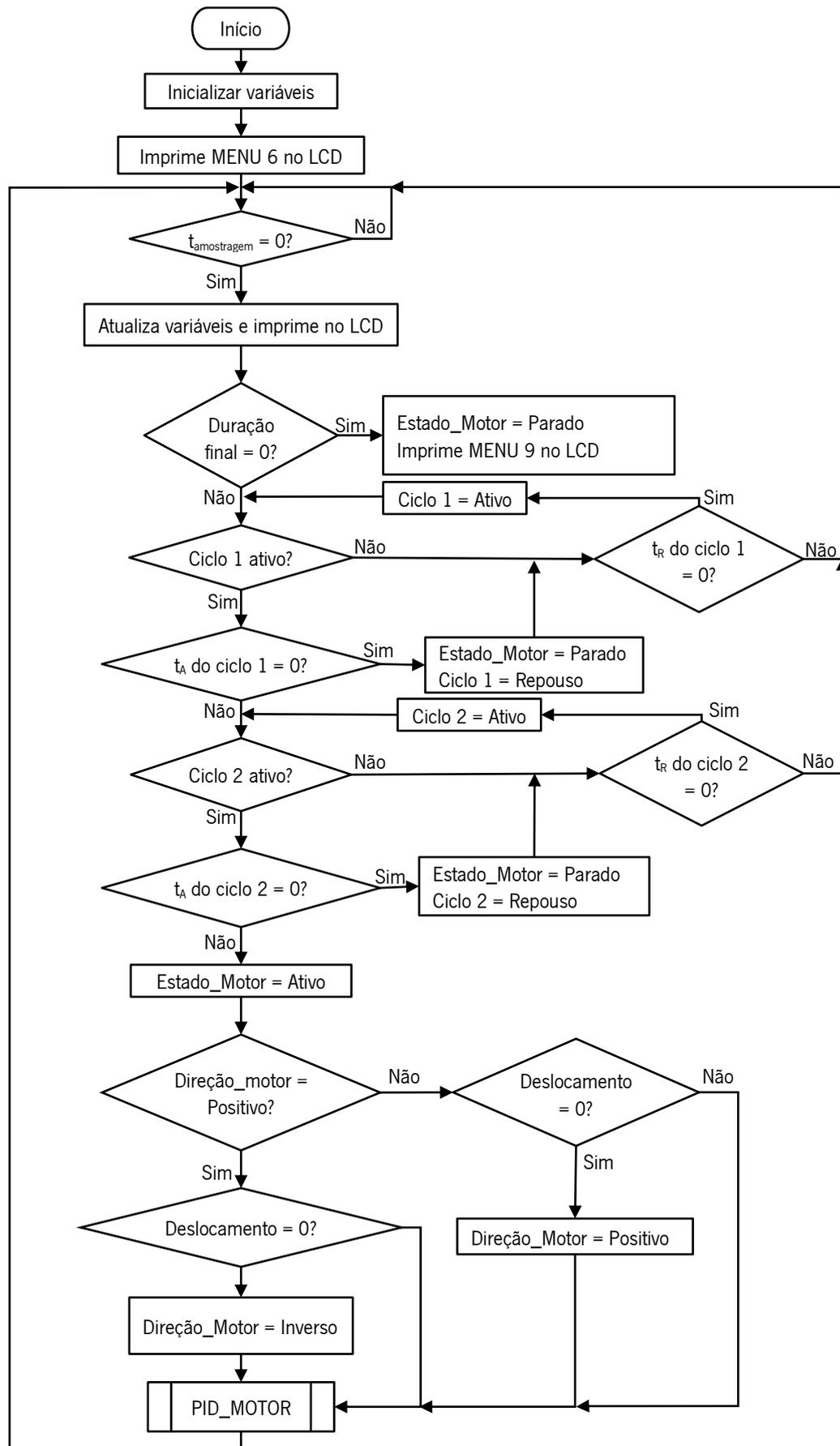


Figura 3.93: Fluxograma do MENU 6

3.6. Montagem do biorreator

Após toda a projeção, desenvolvimento, produção e implementação de todas as partes pertencentes ao sistema, passou-se à montagem do biorreator. A Figura 3.94 mostra quatro ângulos da vista explodida do biorreator com toda a estrutura mecânica, o sistema magnético, as PCB's com o seu devido *hardware* encaixado.

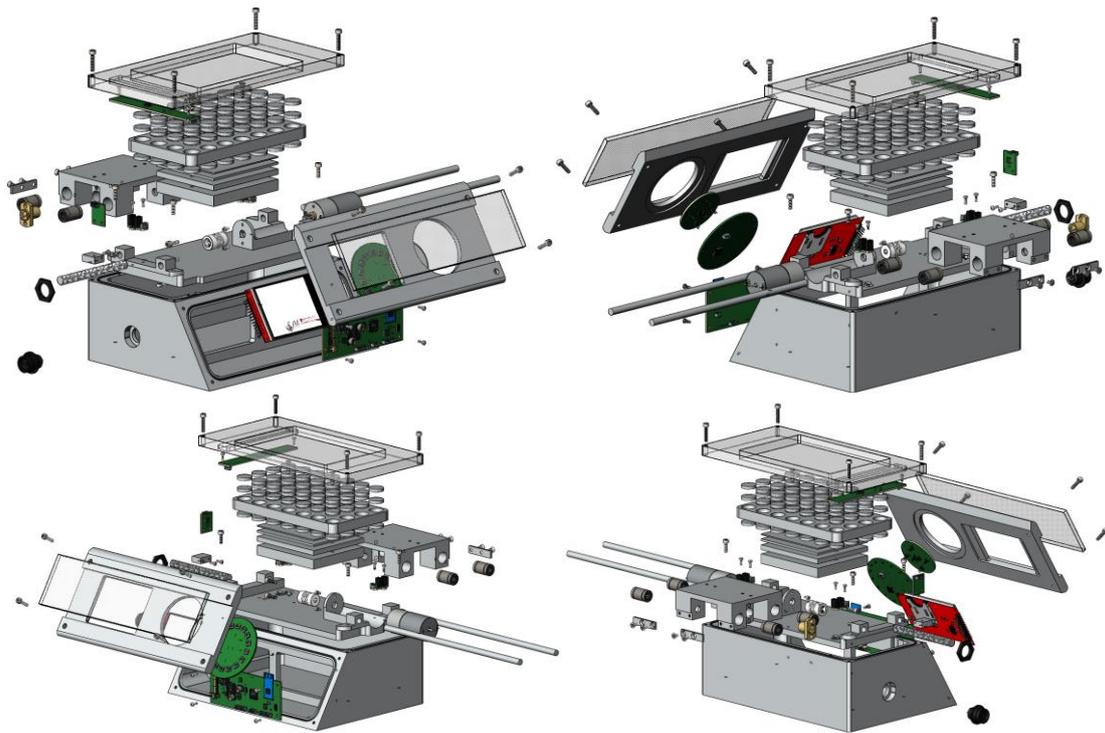


Figura 3.94: Vista explodida em quatro ângulos diferentes de todas as partes do biorreator

A Figura 3.95 mostra o biorreator todo desmontado, estando todo organizado por módulos como indicado na figura.

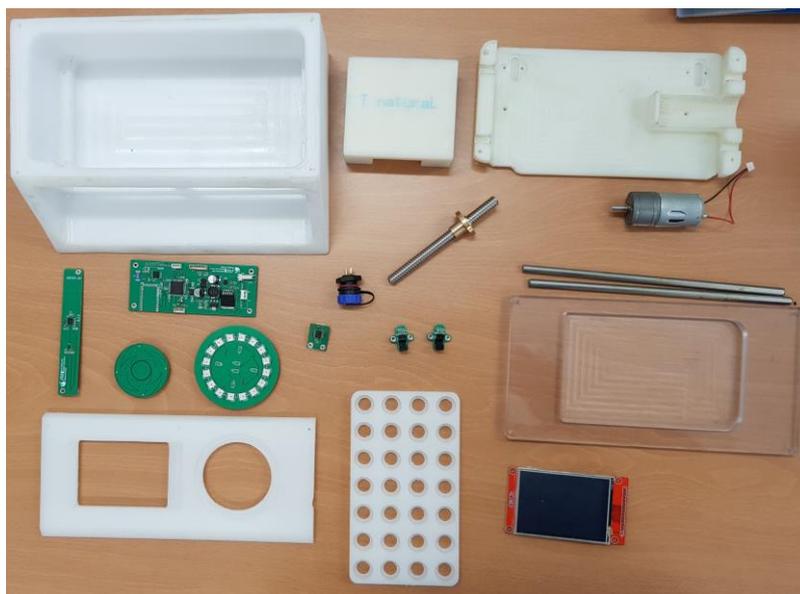


Figura 3.95: Biorreator desmontado em peças

Uma vez organizadas todas as partes constituintes do biorreator, passou-se à sua montagem, tendo sido projetado para ficar com um aspeto final como mostrado na Figura 3.96.

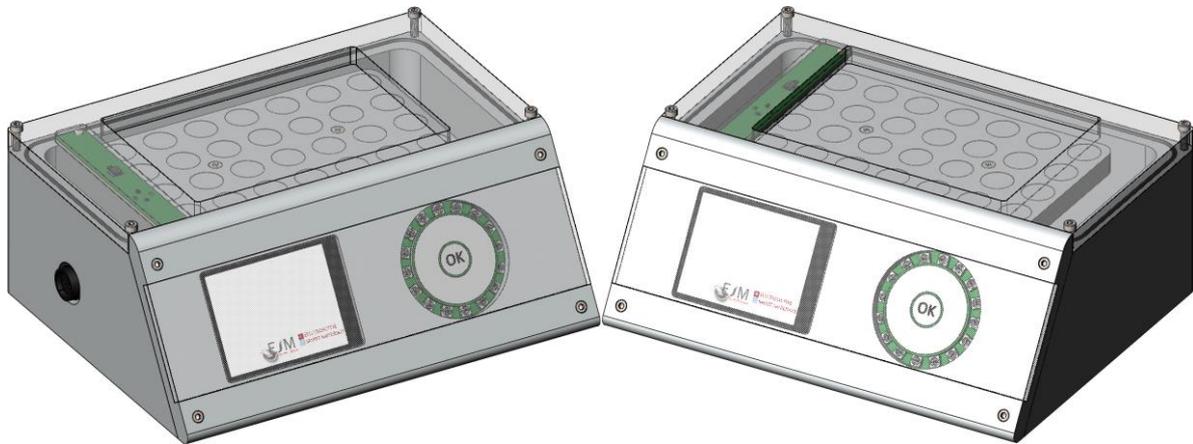


Figura 3.96: Projeção final do Biorreator

Após a montagem de todas as partes obtém-se o protótipo final como mostra a Figura 3.97.

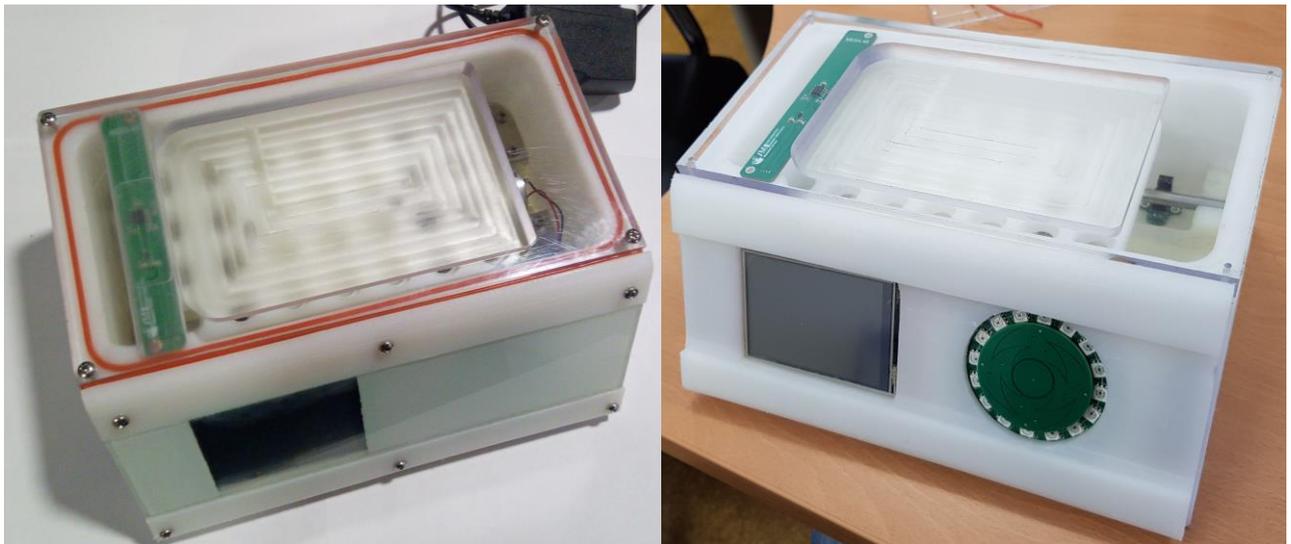


Figura 3.97: Montagem final do biorreator

4. Testes e validação do protótipo

Neste capítulo são inicialmente apresentadas as peças após a sua produção assim como alguns testes realizados ao sistema eletrônico, nomeadamente, à interação do *firmware* com o *hardware* do sistema e à estrutura mecânica do biorreator. Por fim são apresentados resultados a nível biológico onde foi utilizado este conceito de biorreator (prova de conceito).

Na Figura 4.1, apresenta a caixa do biorreator após a tua produção, que foi modelada em PEAD.



Figura 4.1: Caixa do biorreator modelada em PEAD

Na Figura 4.2, vê-se uma das mesas magnéticas (28 poços) após a sua modelação em PEAD, segundo o seu dimensionamento.

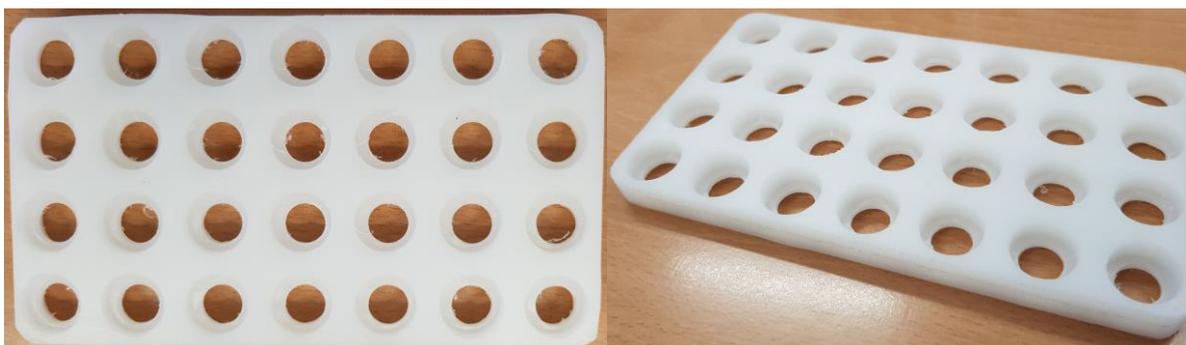


Figura 4.2: Mesa magnética modelada em PEAD

Na Figura 4.3, estão representados alguns dos elementos constituintes da base geral, assim como a sua montagem, incluindo a base e o suporte da plataforma magnética, modelados em TECAST, os rolamentos lineares, as guias de suporte, o eixo roscado com o seu acoplador e as placas de fim de curso.

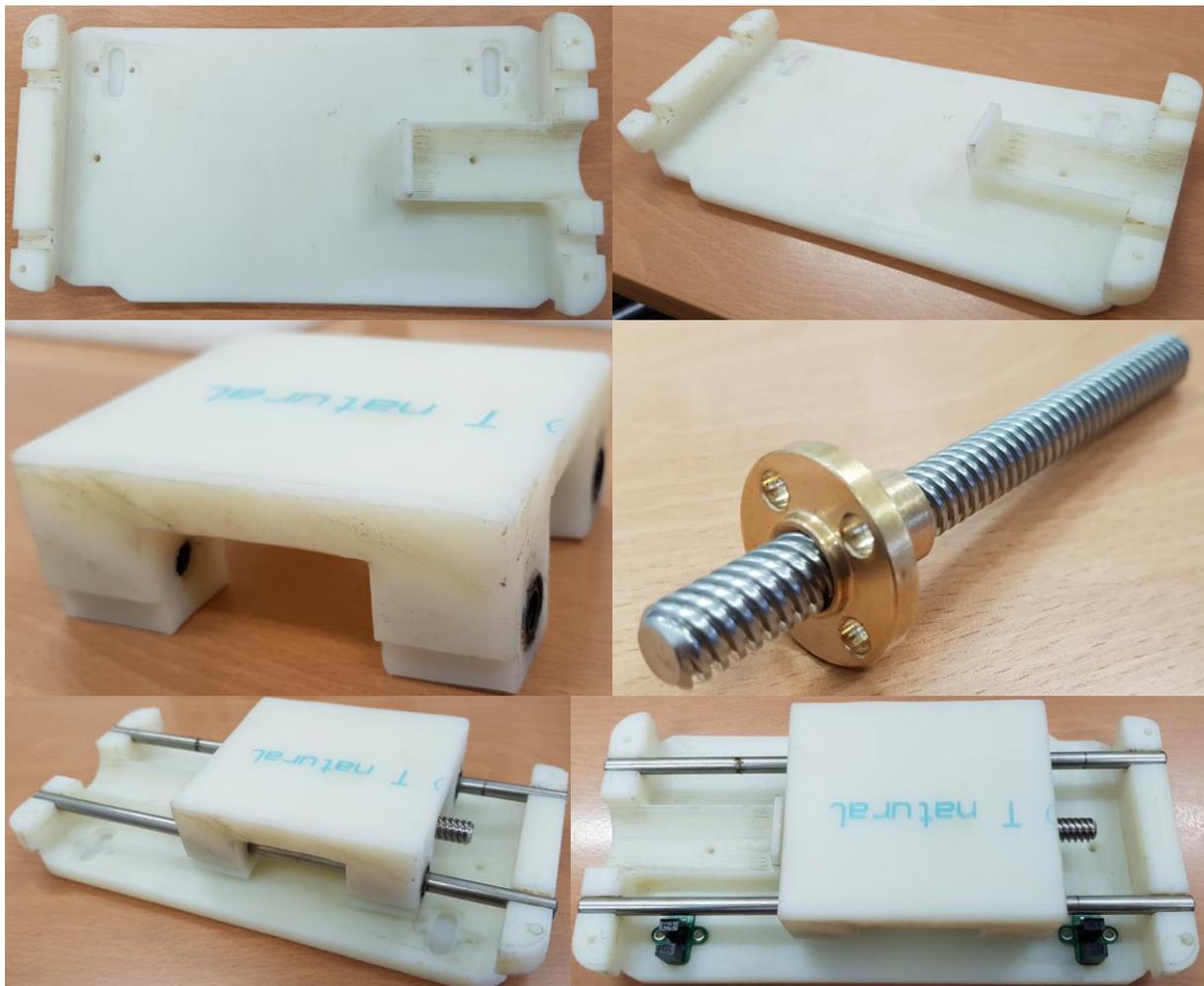


Figura 4.3: Base geral e os seus componentes e acessórios

A Figura 4.4, mostra a modelação da tampa frontal (frente e trás) que foi modelada em PEAD.



Figura 4.4: Tampa frontal do biorreator modelada em PEAD

Por fim, a Figura 4.5, mostra a tampa superior, modelada em policarbonato transparente compacto e a montagem da tampa frontal com o LCD, o touch e a respetiva placa de controlo.



Figura 4.5: Tampa superior modelada em policarbonato transparente compacto e tampa frontal com o LCD e o touch

Para a validação da estanquicidade e resistência a poeiras da caixa do biorreator, foram realizados dois testes, recorrendo a um tanque com água e a máquina de lavar de alta pressão. Montou-se apenas a caixa do biorreator, juntamente com as tampas (incluindo o vidro da tampa frontal) e a ficha de alimentação, e colocou-se uma folha de papel no seu interior a fim de verificar o seu estado. Após a montagem, mergulhou-se a caixa dentro do tanque durante 5 min. De seguida, limpou-se a caixa e retirou-se a folha do seu interior. Esta, que se encontrava totalmente seca, validando assim a estanquicidade da caixa do biorreator numa situação submersa (IP68). Após ter sido testada a estanquicidade para uma situação submersa, testou-se a caixa do biorreator para um ambiente de areias e poeiras e à lavagem com jato de alta pressão. Voltou-se a colocar a folha no seu interior e fechou-se novamente a caixa e submeteu-se a caixa um ambiente de areias e poeiras. De seguida, lavou-se o biorreator recorrendo a uma máquina de lavar de alta pressão, e verificou-se novamente o estado da folha e o estado interior do biorreator. Uma vez mais, a folha encontrava-se completamente seca e o interior da caixa estava completamente limpo, tendo resistido às areias e poeiras a que foi submetido. Validando assim a resistência a poeiras e a estanquicidade contra jatos de água (IP69K).

Na Figura 4.6 são apresentados no LCD os dados medidos pelos sensores de temperatura e de campo magnético, neste caso, a temperatura ambiente e o campo magnético inexistente, visto que não tem nenhum íman ou eletroímã por perto.

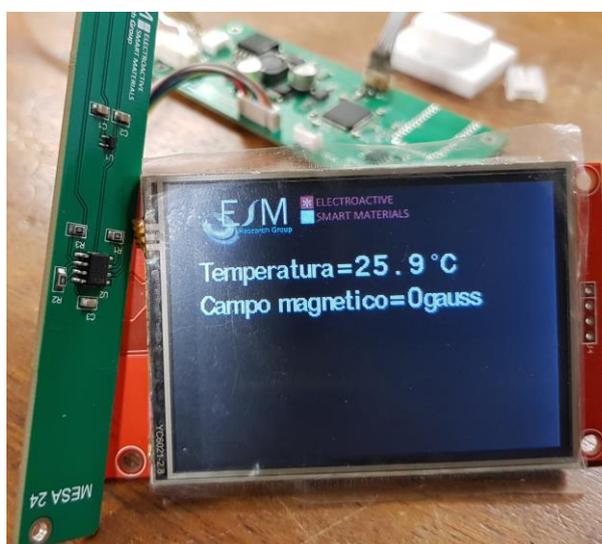


Figura 4.6: Dados do sensor de temperatura e do sensor de campo magnético mostrados no LCD

De modo a testar o funcionamento do sistema durante o cultivo, foi simulado um cultivo com 3 horas e 30 minutos, tendo sido testados os *timers* durante alguns ciclos e depois interrompendo o cultivo, como mostra a Figura 4.7.

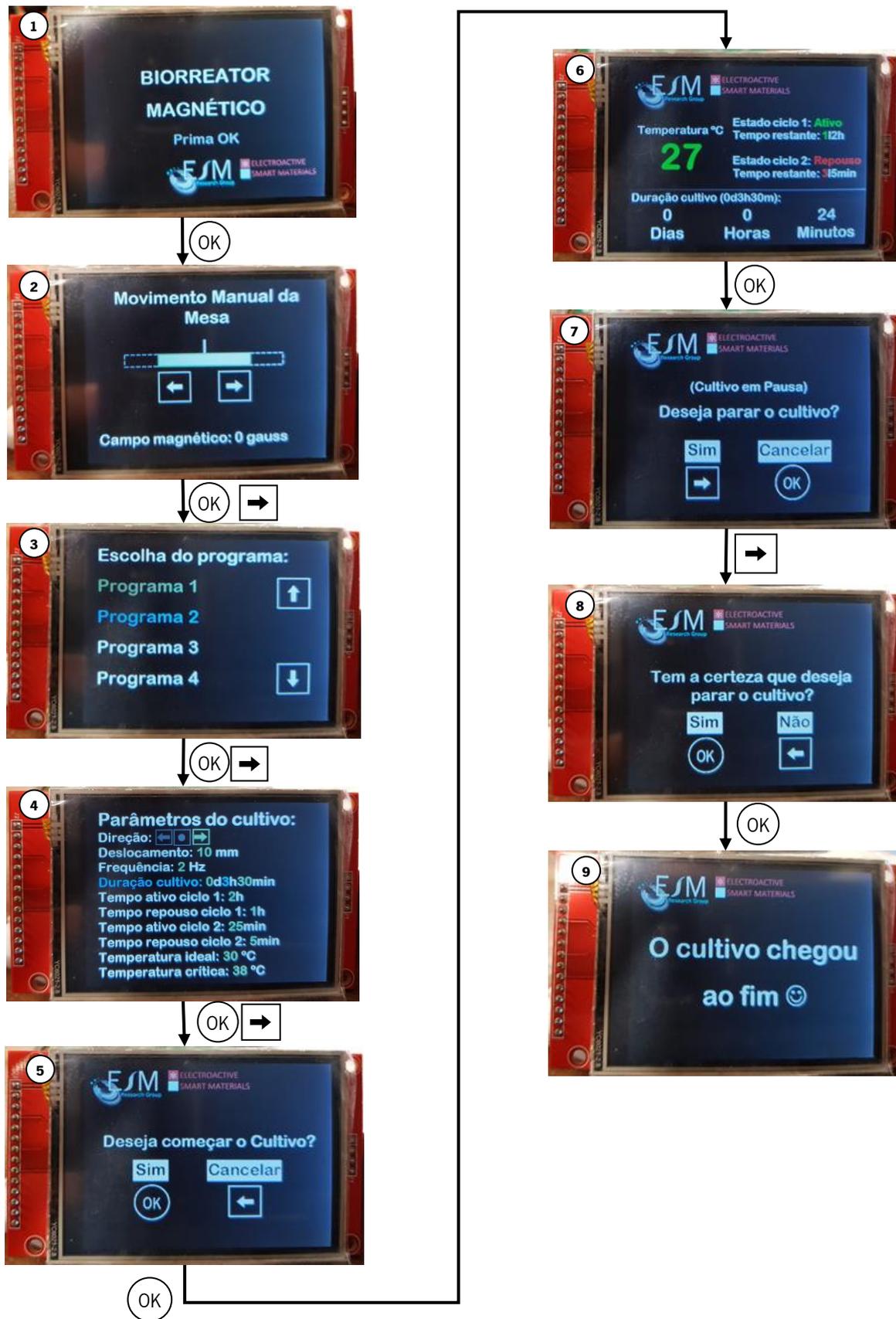


Figura 4.7: Simulação de um cultivo

Através do artigo “*Proving the suitability of magnetoelectric stimuli for tissue engineering applications*” [40], utilizando o biorreator magnético (prova de conceito), foi comprovado que a estimulação mecânica e elétrica (gerada através do campo magnético criado pelos ímanes permanentes) aumenta a proliferação celular até $\approx 25\%$ [40]. Assim, mostrou-se que, utilizando o biorreator magnético, a estimulação de células magnetoelétricas e magnetoestrutivas, se torna numa abordagem apropriada para o desenvolvimento de estratégias para engenharia de tecidos, permitindo estímulos magnéticos, mecânicos e elétricos de células *in vivo* e *in vitro* [40].

5. Conclusões e trabalho futuro

Neste capítulo final apresentam-se as conclusões obtidas a partir do todo o trabalho realizado e fazem-se sugestões de trabalho futuro.

A dissertação apresenta o dimensionamento, modulação e desenvolvimento de um biorreator magnético para usos em engenharia de tecidos. Este biorreator distingue-se pelos tipos de estímulos que é capaz de fornecer aos cultivos celulares, com a devida utilização de materiais apropriados.

Este projeto foi sem dúvida um projeto desafiante pela variedade de áreas de conhecimentos necessários para o seu desenvolvimento desde de mecânica, biologia, materiais, física até à eletrónica, abrangidos nas várias etapas do desenvolvimento do sistema proposto. O desenho e modelação da estrutura do biorreator, o estudo e implementação de um sistema magnético, o desenvolvimento de um mecanismo de oscilação para o sistema magnético assim como o seu *hardware* e *firmware* de controlo, o sistema de sensorização das diferentes variáveis do biorreator e o *hardware* e *firmware* necessário para a aquisição de dados e a interface gráfica integrando um *touch wheel*, foram as várias etapas que se desenvolveram nesta dissertação.

Relativamente aos objetivos do trabalho, para o primeiro objetivo, foi desenhada e modelada uma caixa para o biorreator de modo a suportar os processos de lavagem a jato e esterilização, tendo sido modelado em polietileno de alta densidade. Juntamente com a caixa, foram desenhadas e modeladas as tampas para o biorreator, tampa superior, modelada em policarbonato transparente compacto, de forma a permitir a visualização interior do biorreator, não perdendo a resistência, e a tampa frontal foi modelada no mesmo material da caixa, criando a estanquicidade do biorreator, de forma a permitir estes processos sem qualquer danificação do sistema. O objetivo seguinte, consistiu no estudo da forma mais viável de criação de um conjunto de campos magnéticos variáveis, onde foram estudados ímanes permanentes e eletroímans para cada placa de cultivo, chegando à conclusão que os ímanes permanentes são mais viáveis, obtendo um campo magnético muito superior, um peso inferior e um consumo de corrente bastante inferior, evitando assim um aumento da temperatura interna do biorreator. O terceiro objetivo vai em conta ao segundo, onde foi criado um sistema mecânico capaz de variar os campos magnéticos, ou seja, a frequência de oscilação da plataforma magnética e a densidade de fluxo magnético. Para tal, foi desenhado e modelado um sistema que permitisse o acoplamento entre a plataforma magnética e o motor (comandado pelo controlador PID), de modo a variar a frequência de oscilação da plataforma

magnética e foi criado um sistema para a elevação da plataforma magnética, fazendo assim variar a densidade de fluxo magnético. Relativamente ao quarto objetivo, foi desenvolvido um sistema de sensorização para o biorreator, onde foram projetados, na modelação mecânica do biorreator, os locais específicos para a sua colocação, tendo sido dimensionadas as PCB de acordo com cada sensor e a sua posição da estrutura. Foram inseridos sensores óticos, limitando o movimento da plataforma magnética; um sensor de posição rotativo sem contacto (*encoder* magnético), de forma a medir a posição e velocidade da plataforma magnética; um sensor de temperatura, medindo a temperatura interior do biorreator; por fim, um sensor de campo magnético, que permite a medição do campo magnético que estimula as células. Quanto ao quinto objetivo, que passava pelo desenvolvimento de uma interface gráfica com um *touch wheel*/integrado para a monitorização e controlo local do biorreator, foi desenhada e desenvolvida uma PCB circular que servisse de *touch* capacitivo permitindo a navegação intuitiva na interface gráfica, para tal foi utilizado um LCD de forma a mostrar a monitorização e a interface gráfica do sistema. A interface gráfica foi desenvolvida a fim de permitir ao utilizador configurar todos os parâmetros necessários ao cultivo celular e monitorizar as variáveis inerentes ao cultivo. Relativamente ao sexto e último objetivo proposto, que passava pelo dimensionamento do sistema, para um futuro controlo através de aplicação android para monitorização e controlo remoto do biorreator, foi introduzido um módulo que permite a comunicação por Bluetooth com um telemóvel, ou qualquer outro aparelho que disponha da tecnologia Bluetooth, possibilitando o controlo do biorreator remotamente. Para o controlo de todo o biorreator, foram utilizados dois microcontroladores da STMicroelectronics, um com a arquitetura ARM Cortex M0 e outro ARM Cortex M4, a fim de programar (em C) cada um para as suas funções específicas.

Por fim, não foi possível obter a totalidade dos resultados dos testes com o protótipo final, em particular os testes de cultivo, uma vez que estes requerem alargados períodos de tempo, na ordem dos vários meses.

Apesar de todos os objetivos inicialmente propostos terem sido cumpridos, existem alguns aspetos que poderão ser melhorados no futuro, podendo, portanto, melhor caracterizar e expandir o trabalho desenvolvido. Sugere-se o seguinte:

- Desenvolvimento da aplicação android permitindo o controlo remoto do biorreator, permitindo ao utilizador um controlo e monitorização dos cultivos celulares à distância com seu o telemóvel pessoal;
- Certificação da resistência do biorreator contra poeiras e líquidos junto a uma entidade certificadora do certificado de conformidade IP69K.

- Realização de testes de cultivos celulares com o protótipo final de forma a melhor caracterizar os resultados da utilização do biorreator magnético em células.
- Melhoramento da interface gráfica de acordo com o *feedback* dado pelos utilizadores do sistema.

Referências

- [1] Y. Luo, G. Engelmayr, D. T. Auguste, L. da S. Ferreira, J. M. Karp, and R. Saigal, *Principles of Tissue Engineering*. 2007.
- [2] Â. Borlido, “Engenharia de tecidos para regeneração da pele : retrospectiva e perspectivas futuras,” pp. 1–69, 2014.
- [3] B. J. Gordon *et al.*, *Anatomy and Physiology*. 2016.
- [4] R. J. Gonçalves Brito, “Tailoring Magnetolectric materials for biomedical applications,” Universidade do Minho, 2016.
- [5] National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research, “The 3Rs.” [Online]. Available: <http://nc3rs.org.uk/the-3rs>. [Accessed: 17-Jul-2017].
- [6] C. Vacanti and A. Charles, “The history of tissue engineering,” *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 10, no. 3, pp. 569–576, 2006.
- [7] D. Howard, L. D. Buttery, K. M. Shakesheff, and S. J. Roberts, “Tissue engineering: strategies, stem cells and scaffolds,” *J. Anat.*, vol. 213, no. 1, pp. 66–72, Jul. 2008.
- [8] C. E. Schmidt and J. M. Baier, “Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 21, no. 22, pp. 2215–2231, Nov. 2000.
- [9] Y. Nakase *et al.*, “Tissue Engineering of Small Intestinal Tissue Using Collagen Sponge Scaffolds Seeded with Smooth Muscle Cells,” *Tissue Eng.*, vol. 12, no. 2, pp. 403–412, Feb. 2006.
- [10] C. E. Schmidt and J. B. Leach, “Neural Tissue Engineering: Strategies for Repair and Regeneration,” *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 5, no. 1, pp. 293–347, Aug. 2003.
- [11] J. W. Shay and W. E. Wright, “The use of telomerized cells for tissue engineering.”
- [12] J. Mansbridge, “Skin tissue engineering,” *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 19, no. 8, pp. 955–968, Jan. 2008.
- [13] G. S. Jack, F. G. Almeida, R. Zhang, and Z. C. Alfonso, “Processed Lipoaspirate Cells for Tissue Engineering of the Lower Urinary Tract : Implications for the Treatment of Stress Urinary Incontinence and Bladder Reconstruction,” *J. Urol.*, vol. 174, no. November, pp. 2041–2045, Nov. 2005.
- [14] C. R. M. Black, V. Goriainov, D. Gibbs, J. Kanczler, R. S. Tare, and R. O. C. Oreffo, “Bone Tissue Engineering,” *Curr. Mol. Biol. Reports*, vol. 1, no. 3, pp. 132–140, Sep. 2015.

- [15] M. Zhang and B. Guo, "Electroactive 3D Scaffolds Based on Silk Fibroin and Water-Borne Polyaniline for Skeletal Muscle Tissue Engineering," *Macromol. Biosci.*, p. 1700147, Jul. 2017.
- [16] "Sistemas do Corpo Humano - Toda Matéria." [Online]. Available: <https://www.todamateria.com.br/sistemas-do-corpo-humano/>. [Accessed: 03-Aug-2017].
- [17] E. S. Place *et al.*, "Synthetic polymer scaffolds for tissue engineering," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 38, no. 4, p. 1139, Mar. 2009.
- [18] K. N. H. RUSLAN, "Protein Hydrogels As Tissue Engineering Scaffolds," The University of Manchester Faculty of Engineering and Physical Sciences, 2015.
- [19] F. J. O'Brien, "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering," *Mater. Today*, vol. 14, no. 3, pp. 88–95, Mar. 2011.
- [20] D. A. Lyons, S. G. Naylor, S. Mercurio, C. Dominguez, and W. S. Talbot, "KBP is essential for axonal structure, outgrowth and maintenance in zebrafish, providing insight into the cellular basis of Goldberg-Shprintzen syndrome," *Development*, vol. 135, no. 3, pp. 599–608, Jan. 2008.
- [21] E. Oragui, "The Role of Bioreactors in Tissue Engineering for Musculoskeletal Applications," *Open Orthop. J.*, vol. 5, no. 1, pp. 267–270, 2011.
- [22] E. M. Darling and K. A. Athanasiou, "Biomechanical Strategies for Articular Cartilage Regeneration," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 31, no. 9, pp. 1114–1124, Oct. 2003.
- [23] L. E. Freed *et al.*, "Advanced Tools for Tissue Engineering: Scaffolds, Bioreactors, and Signaling," *Tissue Eng.*, vol. 12, no. 12, pp. 3285–3305, Dec. 2006.
- [24] D. J. P. Dr. Domokos Bartis, "Three dimensional tissue cultures and tissue engineering | Digital Textbook Library." [Online]. Available: http://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop425/0011_1A_3D_en_book/ch01s03.html. [Accessed: 24-Aug-2017].
- [25] S. Partap, N. A., and F. J., "Bioreactors in Tissue Engineering," in *Tissue Engineering*, InTech, 2010.
- [26] G. Vunjak-Novakovic, L. E. Freed, R. J. Biron, and R. Langer, "Effects of mixing on the composition and morphology of tissue-engineered cartilage," *AIChE J.*, vol. 42, no. 3, pp. 850–860, Mar. 1996.
- [27] R. P. Schwarz, T. J. Goodwin, and D. A. Wolf, "Cell culture for three-dimensional modeling in rotating-wall vessels: An application of simulated microgravity," *J. Tissue Cult. Methods*, vol. 14, no. 2, pp. 51–57, Jun. 1992.
- [28] I. Martin, D. Wendt, and M. Heberer, "The role of bioreactors in tissue engineering," *Trends*

- Biotechnol.*, vol. 22, no. 2, pp. 80–86, Feb. 2004.
- [29] E. M. Darling and K. A. Athanasiou, “Articular Cartilage Bioreactors and Bioprocesses,” *Tissue Eng.*, vol. 9, no. 1, pp. 9–26, Feb. 2003.
- [30] V. Correia *et al.*, “Design and validation of a biomechanical bioreactor for cartilage tissue culture,” *Biomech. Model. Mechanobiol.*, vol. 15, no. 2, pp. 471–478, 2016.
- [31] C.-Y. C. Huang, K. L. Hagar, L. E. Frost, Y. Sun, and H. S. Cheung, “Effects of Cyclic Compressive Loading on Chondrogenesis of Rabbit Bone-Marrow Derived Mesenchymal Stem Cells,” *Stem Cells*, vol. 22, no. 3, pp. 313–323, May 2004.
- [32] BISS TGT Compression Bioreactor Systems, “Mechanical Compression Bioreactor Systems.” [Online]. Available: http://www.tissuegrowth.com/prod_cartilage.cfm. [Accessed: 27-Aug-2017].
- [33] “Types Of Fermenters - Bioprocessing.” [Online]. Available: <http://bioprocessing.weebly.com/types-of-fermenters.html>. [Accessed: 31-Aug-2017].
- [34] J. A. Asenjo and J. C. Merchuk, *Bioreactor System Design*. 1994.
- [35] J. Sá da Silva, “Biorreator wave como alternativa para expansão de células estromais mesenquimais,” Universidade Federal De São Carlos, 2015.
- [36] GE, “Sterile Tube Fuser.” 2006.
- [37] A. C. Badino, C. E. Mendes, M. O. Cerri, M. N. Esperança, and R. Béttega, “Biorreatores Pneumáticos : Simples e,” *Rev. Bras. Eng. Química*, no. September, pp. 24–33, 2016.
- [38] Zhonggang Feng, T. Matsumoto, Y. Nomura, and T. Nakamura, “An electro-tensile bioreactor for 3-D culturing of cardiomyocytes,” *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, vol. 24, no. 4, pp. 73–79, Jul. 2005.
- [39] A. J. Hafeeza El Haj and J. P. Dobson, “Culturing tissue using magnetically generated mechanical stresses,” US 7553662 B2, 2009.
- [40] C. Ribeiro, V. Correia, P. Martins, F. M. Gama, and S. Lanceros-Mendez, “Proving the suitability of magnetoelectric stimuli for tissue engineering applications,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 140, pp. 430–436, Apr. 2016.
- [41] J. Park and S. Mackay, *Practical Data Acquisition for Instrumentation and Control Systems*. Elsevier, 2003.
- [42] Enrique Z.L., “Digital Data Acquisition Flow Chart,” 2016. [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:DigitalDAQv2.pdf>. [Accessed: 08-Sep-2017].
- [43] “Analog to Digital Converters - ADC | Mouser Europe.” [Online]. Available: <http://eu.mouser.com/search/refine.aspx?N=7283644>. [Accessed: 08-Sep-2017].

- [44] M. Di Paolo Emilio, *Data Acquisition Systems*. New York, NY: Springer New York, 2013.
- [45] L. M. V Serrano, C. J. O. P. J. Alcobia, M. L. O. S. Mateus, and M. C. G. Silva, “Sistemas de Aquisição, Processamento e Armazenamento de Dados.”
- [46] P. Garrido, *Elementos de Teoria dos Sistemas 4 – Sistemas Realimentados e de Controlo*. .
- [47] B. Alves, F. Soares, and C. Leão, “Controlo Digital: da Teoria à Simulação Numérica,” 2011.
- [48] Kong Wai Weng, “PID for Embedded Design - Tutorial by Cytron.” [Online]. Available: <http://tutorial.cytron.com.my/2012/06/22/pid-for-embedded-design/>. [Accessed: 28-Sep-2017].
- [49] National Instruments, “PID Theory Explained - National Instruments,” *Mar 29*, 2011. [Online]. Available: <http://www.ni.com/white-paper/3782/en/#toc2>. [Accessed: 03-Oct-2017].
- [50] Almaqua, “Polietileno de Alta Densidade (PEAD) - Almaqua - Tecnologias do Ambiente.” [Online]. Available: <http://almaqua.com/polietileno-de-alta-densidade-pead/>. [Accessed: 15-Oct-2017].
- [51] “Tecast T (Nylon Fundido Natural) da Maxfer, diversas possibilidades.” [Online]. Available: <http://www.maxfer.com.br/tecast-t-nylon-fundido-natural/>. [Accessed: 15-Oct-2017].
- [52] “PA 6 C - TECAST T natural | Engine.” [Online]. Available: <https://www.ensingerplastics.com/en-gb/shapes/products/pa6-tecast-t-natural>. [Accessed: 15-Oct-2017].
- [53] “NEST® Cell Culture Plates (all sizes) Lab Equipment & Supplies.” [Online]. Available: <https://www.socalbiomed.com/nestr-cell-culture-plates-all-sizes.html>. [Accessed: 21-Sep-2017].
- [54] “Glass Bottom Multi-well Plates - MatTek Corporation.” [Online]. Available: <https://www.mattek.com/store-category/cultureware/glass-bottom-multi-well-plates/>. [Accessed: 21-Sep-2017].
- [55] Dagol, “Policarbonato compacto.”
- [56] “Disc magnet 10x5 mm N52 - supermagnete.” [Online]. Available: https://www.supermagnete.de/eng/disc-magnets-neodymium/disc-magnet-diameter-10mm-height-5mm-neodymium-n52-nickel-plated_S-10-05-N52N?img=1. [Accessed: 14-Oct-2017].
- [57] Power Stream, “American Wire Gauge table and AWG Electrical Current Load Limits with skin depth frequencies and wire breaking strength,” 2016. [Online]. Available: http://www.powerstream.com/Wire_Size.htm. [Accessed: 20-Oct-2017].
- [58] “DC 6V 100RPM 50mA 0.05A Powerful High Torque Gear Box Motor Torque 0.8KG.CM | eBay.” [Online]. Available: <http://www.ebay.com/itm/DC-6V-100RPM-50mA-0-05A-Powerful-High-Torque-Gear-Box-Motor-Torque-0-8KG-CM->

- /182177728416?hash=item2a6aa387a0:g:u8cAAOSwuMFUmWtZ. [Accessed: 26-Sep-2017].
- [59] "25GA DC 12V 1000RPM 0.25A/250mA High Torque Electric Gear Box Motor 1.5 kgf.cm | eBay." [Online]. Available: <http://www.ebay.com/itm/181635279753>. [Accessed: 26-Sep-2017].
- [60] Trinamic motion control GmbH, "QMOT QSH4218 Manual," pp. 1–13, 2011.
- [61] MOUSER ELETRONICS, "DRV8872DDARQ1 Texas Instruments | Mouser Portugal." [Online]. Available:
<http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=DRV8872DDARQ1virtualkey59510000virtualkey595-DRV8872DDARQ1>. [Accessed: 04-Oct-2017].
- [62] Texas Instruments, "DRV8872-Q1 Automotive 3 . 6-A Brushed DC Motor Driver With Fault Reporting," 2016.
- [63] "10 Pcs 4 Pins 5/32" Gap Slotted Optical Switch HY301-19 | eBay." [Online]. Available: http://www.ebay.com/itm/10-Pcs-4-Pins-5-32-Gap-Slotted-Optical-Switch-HY301-19-/391218854329?hash=item5b1675f9b9:m:mKe_1rwhgFfwoSSf90aqjg. [Accessed: 04-Oct-2017].
- [64] "AS5030-ATST ams | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=AS5030-ATSTvirtualkey58040000virtualkey985-AS5030-ATST>. [Accessed: 05-Oct-2017].
- [65] "AD22151YRZ Analog Devices | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=AD22151YRZvirtualkey58430000virtualkey584-AD22151YRZ>. [Accessed: 05-Oct-2017].
- [66] "MSP430FR2633IRHBT Texas Instruments | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Texas-Instruments/MSP430FR2633IRHBT/?qs=sGAEpiMZZMsp%252bcahb6g%252bWzKoeyEZWdgmSMZ3ue6bL1F3rxVtN823Q%3D%3D>. [Accessed: 06-Oct-2017].
- [67] "New 240x320 SPI TFT LCD Touch Panel Serial Port Module 2.8" +PCB ILI9341 5V/3.3V." [Online]. Available: <http://www.ebay.com/itm/New-240x320-SPI-TFT-LCD-Touch-Panel-Serial-Port-Module-2-8-PCB-ILI9341-5V-3-3V-/361863818914?hash=item5440c3aea2:g:Ye8AAOSwaA5Wk1WO>. [Accessed: 10-Oct-2017].
- [68] "Worldsemi Com, Limited." [Online]. Available: <http://www.world-semi.com/>. [Accessed: 11-Oct-2017].

- [69] "HM-10 4.0 BLE Bluetooth Uart Transceiver Module cc2540 cc2541 Central Switching." [Online]. Available: <http://www.ebay.com/itm/HM-10-4-0-BLE-Bluetooth-Uart-Transceiver-Module-cc2540-cc2541-Central-Switching-/221673251446?hash=item339cc16276:g:EggAAOSwR5dXTP10>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [70] "STM32F098CCT6 STMicroelectronics | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/STMicroelectronics/STM32F098CCT6/?qs=sGAEpiMZZMuokKEcg8mMKGHUAmntboesDG1DnvcOguOil1QLzITUcw%3D%3D>. [Accessed: 07-Oct-2017].
- [71] "MSP430FR2633IRHBT Texas Instruments | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Texas-Instruments/MSP430FR2633IRHBT/?qs=sGAEpiMZZMsp%252bcahb6g%252bWzKoeyEZWdgmSMZ3ue6bL1F3rxvtN823Q%3D%3D>. [Accessed: 09-Oct-2017].
- [72] "ATSAM4LS2AA-AU Microchip Technology / Atmel | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Microchip-Technology-Atmel/ATSAM4LS2AA-AU/?qs=sGAEpiMZZMv%252bZqqdCpW8NzXGyHz5%252bHlu>. [Accessed: 07-Oct-2017].
- [73] "ATSAM4LS2AA-AU Microchip Technology / Atmel | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Microchip-Technology-Atmel/ATSAM4LS2AA-AU/?qs=sGAEpiMZZMv%252bZqqdCpW8NzXGyHz5%252bHlu>. [Accessed: 09-Oct-2017].
- [74] "STM32F098CCT6 STMicroelectronics | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/STMicroelectronics/STM32F098CCT6/?qs=sGAEpiMZZMuokKEcg8mMKGHUAmntboesDG1DnvcOguOil1QLzITUcw%3D%3D>. [Accessed: 09-Oct-2017].
- [75] "LM2596DSADJG ON Semiconductor | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=LM2596DSADJGvirtualkey58410000virtualkey863-LM2596DSADJG>. [Accessed: 09-Oct-2017].
- [76] "Mouser Electronics Portugal - Electronic Components Distributor." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/>. [Accessed: 07-Oct-2017].
- [77] "SSA23L-M3/5AT Vishay | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=SSA23L-M3%2F5ATvirtualkey61350000virtualkey78-SSA23L-M35AT>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [78] "EEE-FK1V820SP Panasonic | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Panasonic/EEE-FK1V820SP/?qs=%2Fha2pyFaduj%2FIt2M0EHCFNHWS06ndvHRnPouopukWSrNs3tMm3%2F4J>

- w%3D%3D. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [79] "OZCG0200AF2B Bel Fuse | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=OZCG0200AF2Bvirtualkey59810000virtualkey530-OZCG0200AF2B>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [80] "BLM21PG221SN1D Murata Electronics | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Murata/BLM21PG221SN1D/?qs=%2Fha2pyFadujxD5ks3AjdffkJP1zxWbOj5FSW5Vlu4iL4EWSt9I651Q%3D%3D>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [81] "VJ0805Y105KXQTW1BC Vishay / Vitramon | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Vishay-Vitramon/VJ0805Y105KXQTW1BC/?qs=sGAepiMZZMsh%252b1woXyUXj7IM2igjA789UFrvf0Kziow%3D>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [82] "7447714470 Wurth Electronics | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/Search/ProductDetail.aspx?R=7447714470virtualkey51110000virtualkey710-7447714470>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [83] "EEH-ZK1V101XP Panasonic | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/Panasonic/EEH-ZK1V101XP/?qs=sGAepiMZZMsh%252b1woXyUXj4baQioZNzGLHcJkBJMGUX4%3D>. [Accessed: 12-Oct-2017].
- [84] "STM32F098CCT6 STMicroelectronics | Mouser Portugal." [Online]. Available: <http://pt.mouser.com/ProductDetail/STMicroelectronics/STM32F098CCT6/?qs=sGAepiMZZMuokKEcg8mMKGHUAmntboesDG1DnvcOguOil1QLzITUcw%3D%3D>. [Accessed: 08-Oct-2017].
- [85] "Ebay." [Online]. Available: <https://www.ebay.com/>. [Accessed: 26-Sep-2017].