

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS TECNOLÓGICAS – CCT  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA ELÉTRICA – DEE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA ELÉTRICA - PPGEEL**

Formação: Mestrado Profissional em Engenharia Elétrica

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO OBTIDA POR

Carlos Toshiyuki Matsumi

**PROJETO E CONSTRUÇÃO DE UM ELETROPERMEABILIZADOR  
DE CÉLULAS BIOLÓGICAS**

Joinville  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS TECNOLÓGICAS – CCT  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA ELÉTRICA – DEE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA ELÉTRICA - PPGEEL**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL  
Mestrando: CARLOS TOSHIYUKI MATSUMI – Engº Eletricista  
Orientador: Prof. Dr. AIRTON RAMOS  
Co-orientador: Prof. Dr. PEDRO BERTEMES FILHO  
CCT/UDESC - JOINVILLE**

**PROJETO E CONSTRUÇÃO DE UM ELETROPERMEABILIZADOR  
DE CÉLULAS BIOLÓGICAS**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA PARA  
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE  
EM ENGENHARIA ELÉTRICA DA  
UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA  
CATARINA, CENTRO DE CIÊNCIAS  
TECNOLÓGICAS – CCT, ORIENTADA  
PELO PROF. DR. AIRTON RAMOS.

Joinville  
2009

**CARLOS TOSHIYUKI MATSUMI**

**PROJETO E CONSTRUÇÃO DE UM ELETROPERMEABILIZADOR  
DE CÉLULAS BIOLÓGICAS**

‘Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Elétrica – Automação Industrial e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade do Estado de Santa Catarina’.

**Banca Examinadora:**

Orientador:

---

Prof. Dr. Airton Ramos  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membros:

---

Prof. Dra. Daniela Ota Hisayasu Suzuki  
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

---

Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho (Co-orientador)  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

---

Prof. Dr. Fabio Rodrigues De La Rocha  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

**Joinville, SC, Julho de 2009.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

<b>NOME:</b> MATSUMI, Carlos Toshiyuki	
<b>DATA DEFESA:</b> 31/07/2009	
<b>LOCAL:</b> Joinville, CCT/UDESC	
<b>NÍVEL:</b> Mestrado	<b>Número de ordem:</b> 16 – CCT/UDESC
<b>FORMAÇÃO:</b> Engenharia Elétrica	
<b>ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:</b> Automação de Sistemas	
<b>TÍTULO: “Projeto e Construção de um Eletropermeabilizador de Células Biológicas”</b>	
<b>PALAVRAS – CHAVE:</b> Eletropermeabilização. Eletropermeabilizador. Amplificador de alta tensão. Condutividade de suspensão de células.	
<b>NÚMERO DE PÁGINAS:</b> 65p.	
<b>CENTRO/UNIVERSIDADE:</b> Centro de Ciências Tecnológicas da UDESC	
<b>PROGRAMA:</b> Pós-graduação em Engenharia Elétrica – PPGEEL	
<b>Nº CAPES:</b> 41002016012P-0	
<b>ORIENTADOR:</b> Dr. Airton Ramos	
<b>CO- ORIENTADOR:</b> Dr. Pedro Bertemes Filho	
<b>PRESIDENTE DA BANCA:</b> Dr. Airton Ramos	
<b>MEMBROS DA BANCA:</b> Dra. Daniela Ota Hisayasu Suzuki, Dr. Pedro Bertemes Filho e Dr. Fabio Rodrigues De La Rocha	

À Deus.  
Aos meus filhos e minha esposa.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida e por ter me iluminado por mais esta fase da minha vida.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Airton Ramos, pela orientação, dedicação, amizade e pelos ensinamentos durante esta dissertação.

À Dra. Daniela, pela atenção, supervisão e orientação nos procedimentos experimentais realizados no Centro de Ciências Biológicas – CCB/UFSC.

A empresa ELETROSPARK em nome do Sr. Arlindo Benvenuti e Sr. Jair Sedrez, pelo apoio e amizade dispensados sempre que solicitados.

A empresa AMDS4, representante da LEM transdutores pela doação do transdutor, em nome do Sr. José Eduardo Antonio e Simone Antonio Ciambelli.

A SEMIKRON SEMICONDUCTORES LTDA, em nome do Sr. Dirceu Soncini, pela doação do dissipador indispensável para este trabalho.

Ao colega de mestrado Rodrigo Alécio Stiz pela amizade e apoio durante o mestrado.

Ao bolsista Jean Ricardo Ruscak do Laboratório de Instrumentação Eletrônica e Biomédica do CCT-UDESC, pela amizade e auxílio no desenvolvimento do software.

A todos os colegas do IF-SC – Instituto Federal de Educação Tecnológica – Unidade Joinville, em especial à Prof<sup>a</sup> Dra. Ana Barbara K. Sambaqui e Prof<sup>o</sup> Msc. José Flávio Dums pelo apoio e compreensão dispensados sempre que solicitados.

Aos técnicos do IF-SC: José Adriano Damacena Diesel, Ludgério Pereira Neto e Márcio Roberto Nunes pelo auxílio.

A todos os amigos, que abdicaram de tão importante tempo da nossa amizade.

E principalmente, aos meus filhos Vinicius, Guilherme e Alexandre e à minha esposa, Fabiana pelo amor e carinho.

## **PRODUÇÃO ACADÊMICA**

Artigos completos em Anais de Congresso

MATSUMI, C. T.; RUSZAK, J. R.; RAMOS, A.; SUZUKI, D. O. H.; MARQUES, J. L.

**B.; Desenvolvimento de um eletroporador de células biológicas.** XXI Congresso

Brasileiro de Engenharia Biomédica, pg. 649-652, novembro de 2008. Salvador, Bahia.



## RESUMO

Eletropermeabilização é o processo de aumento transitório da permeabilidade das membranas de células biológicas submetidas a campos elétricos intensos. Esta é uma técnica atualmente ainda em desenvolvimento e que possui importantes aplicações clínicas e tecnológicas tais como a eletroquimioterapia e a transferência genética. Os eletropermeabilizadores são equipamentos usados na geração e aplicação desses campos intensos. Esta dissertação apresenta o projeto, construção e teste de um eletropermeabilizador para uso em pesquisa biomédica. O equipamento proposto apresenta versatilidade e desempenho adequados para permitir a realização de diferentes tipos de ensaios com tecidos biológicos ou suspensões de células. É constituído de um gerador de tensão com forma de onda programável, um amplificador de alta tensão e alta corrente de saída e um sistema de transdução de tensão e corrente na amostra analisada. Tanto a geração de sinal quanto os valores medidos na carga são monitorados por um programa construído em ambiente *LabVIEW*<sup>®</sup> que aciona uma placa de aquisição de dados com 16 bits de resolução. O desempenho do sistema eletrônico desenvolvido atende completamente os requisitos de projeto. O amplificador pode fornecer até 500V de amplitude de tensão com 5A de corrente de carga durante intervalos de tempo suficientes para os ensaios de eletropermeabilização. A banda passante pouco maior que 100KHz e os tempos de resposta ao degrau da ordem de 1 $\mu$ s são adequados para a realização de experimentos com diferentes formas de onda e diferentes tamanhos de células. Uma importante aplicação do equipamento construído é exemplificada com um experimento de eletropermeabilização em suspensão de hemácias de rato, sendo demonstrada a ocorrência de aumento da condutividade da amostra durante a estimulação com campo elétrico de alta intensidade.

**Palavras-chave:** Eletropermeabilização. Eletropermeabilizador. Amplificador de alta tensão. Condutividade de suspensão de células.

## ABSTRACT

Electropermeabilization is the process of transient increase in the permeability of biological membranes of cells subjected to intense electric fields. This technique is currently still in development and has important clinical and technological applications such as electrochemotherapy and gene transfer. Electroporator is the equipment used in the generation and application of such intense fields. This dissertation presents the design, construction and testing of an electroporator for use in biomedical research. The proposed equipment presents versatility and performance appropriate to allow for different types of experiments with biological tissues or cell suspensions. It consists of a voltage generator with programmable wave form, a high voltage amplifier with high output current capability and a system for transduction of voltage and current in the sample. Both the generation of signal as the measured values in the load are monitored by a program built in LabVIEW<sup>®</sup> environment that triggers a data acquisition card with 16 bits of resolution. The performance of the electronic system developed fully meets the requirements of project. The amplifier can deliver up to 500V and 5A to the load during a time interval enough for the testing of electropermeabilization. The bandwidth, slightly higher than 100kHz and the step response time of the order of 1 $\mu$ s are suitable for performing experiments with different waveforms and different sizes of cells. An important application of the equipment built is demonstrated with an experiment of electropermeabilization in suspension of red cells of rats. This result demonstrated the occurrence of increased conductivity of the sample during stimulation with high-intensity electric field.

**Keywords:** Electropermeabilization. Electroporator. High voltage amplifier. Conductivity of cell suspensions.

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1	OBJETIVOS .....	14
1.2	ESTRUTURA DO TRABALHO.....	14
<b>2</b>	<b>ELETROPERMEABILIZAÇÃO E ELETROPERMEABILIZADORES.....</b>	<b>16</b>
2.1	ELETROPERMEABILIZAÇÃO .....	16
2.2	TERAPIAS E TÉCNICAS DE APLICAÇÃO DA ELETROPERMEABILIZAÇÃO.....	18
2.2.1	<i>Eletroquimioterapia.....</i>	<i>18</i>
2.2.2	<i>Eletrotransferência ou Transferência genética .....</i>	<i>19</i>
2.2.3	<i>Eletroinserção .....</i>	<i>19</i>
2.2.4	<i>Eletrofusão .....</i>	<i>19</i>
2.2.5	<i>Administração de medicamentos via transdérmica .....</i>	<i>20</i>
2.2.6	<i>Eletroesterilização.....</i>	<i>20</i>
2.3	ELETROPERMEABILIZADORES .....	21
2.3.1	<i>Gerador de onda exponencial decrescente (Descarga capacitiva).....</i>	<i>22</i>
2.3.2	<i>Geradores de onda quadrada.....</i>	<i>22</i>
2.3.3	<i>Gerador analógico unipolar de sinais arbitrários. ....</i>	<i>24</i>
2.3.4	<i>Gerador analógico bipolar de sinais arbitrários .....</i>	<i>25</i>
2.3.5	<i>Geradores modulares de alta tensão.....</i>	<i>26</i>
2.4	PROPOSTA DE UM SISTEMA ELETRÔNICO A SER APLICADO NA PESQUISA EM ELETROPERMEABILIZAÇÃO .....	28
<b>3</b>	<b>PROJETO DO SISTEMA ELETRÔNICO.....</b>	<b>30</b>
3.1	O AMPLIFICADOR.....	30
3.1.1	<i>Análise do Funcionamento do Amplificador .....</i>	<i>31</i>
3.1.2	<i>Análise do Amplificador .....</i>	<i>32</i>
3.1.3	<i>Potência dissipada no amplificador .....</i>	<i>34</i>
3.1.4	<i>Análise dinâmica do Amplificador .....</i>	<i>36</i>
3.2	FONTES DE ALIMENTAÇÃO DO AMPLIFICADOR .....	40
3.2.1	<i>Fonte de Alimentação Fixa.....</i>	<i>40</i>
3.2.2	<i>Fonte de Alimentação Ajustável.....</i>	<i>40</i>
3.3	SISTEMA DIGITAL DE GERAÇÃO E AQUISIÇÃO DE SINAIS .....	41
3.4	TRANSDUTOR DE TENSÃO E CORRENTE .....	43
3.5	IMAGEM DO SISTEMA COMPLETO DE ELETROPERMEABILIZAÇÃO .....	45
<b>4</b>	<b>MÉTODOS E RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>46</b>
4.1	TESTE DO SOFTWARE .....	46
4.2	TESTES DO AMPLIFICADOR .....	49
4.2.1	<i>Resposta no tempo ao pulso de tensão .....</i>	<i>49</i>
4.2.2	<i>Resposta em frequência para uma onda quadrada .....</i>	<i>51</i>
4.3	ESTABILIDADE TÉRMICA.....	53
4.4	CURVA DE RESPOSTA DO TRANSDUTOR DE TENSÃO.....	54
4.5	CURVA DE RESPOSTA DO TRANSDUTOR DE CORRENTE .....	55
4.6	EXPERIMENTO COM MATERIAL BIOLÓGICO .....	56
4.6.1	<i>Preparação das amostras e Estrutura de teste .....</i>	<i>56</i>
4.6.2	<i>Resultados.....</i>	<i>57</i>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>62</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeitos da exposição de células a um campo elétrico intenso. Modificado de Puc <i>et al</i> , 2004. ....	17
Figura 2 - Representação esquemática de uma célula esférica de raio “a” e espessura de membrana “h”. ....	17
Figura 3 - Etapas de funcionamento do gerador de forma de onda exponencial decrescente, 1ª Etapa - carga do capacitor, 2ª Etapa - descarga com a constante de tempo $\tau = (R // R_L).C$ .....	22
Figura 4 - Gerador de pulsos quadrados com transistor, onde Q1 é um transistor MOSFET do tipo N. ....	23
Figura 5 - Gerador de onda quadrada com transformador de pulso. ....	23
Figura 6 - Gerador analógico unipolar de sinais arbitrários, onde Vin é a tensão de saída do gerador com forma de onda arbitrária. ....	24
Figura 7 - Distorção do sinal para amplificação superior aos limites da região linear. ....	25
Figura 8 - Gerador analógico bipolar. ....	25
Figura 9 - Gerador modular de alta tensão, onde a tensão aplicada na amostra é a soma das tensões dos módulos utilizados. ....	26
Figura 10 - Representação esquemática de um sistema de geração e aquisição de sinal para estudo da eletropermeabilização de células biológicas. ....	29
Figura 11 - Diagrama esquemático do amplificador implementado. ....	30
Figura 12 - Estrutura da metade do amplificador, composta de: (a) amplificador de tensão e (b) amplificador de potência. ....	31
Figura 13 - Associação em série e paralelo de resistores de 15k $\Omega$ /3 W para R1. ....	32
Figura 14 - Análise “CC” das tensões e correntes do amplificador de tensão simulado. ....	33
Figura 15 - Circuito equivalente do pré-amplificador para análise “CA”. ....	34
Figura 16 - Resposta no tempo do amplificador. (a) onda senoidal. (b) onda quadrada. ....	37
Figura 17 - Resposta no tempo para pulso positivo. (a) Detalhe da subida do sinal na carga. (b) Detalhe da descida do sinal na carga. ....	38
Figura 18 - Resposta em frequência do Amplificador, (a) Espectro de Módulo. (b) Espectro de Fase. ....	39
Figura 19 - Fonte de alimentação Fixa $\pm 300$ V. ....	40
Figura 20 - Fonte de alimentação Ajustável nos valores: $\pm 63$ , $\pm 127$ , $\pm 191$ , $\pm 254$ e $\pm 325$ V. ....	41
Figura 21 - Placa PCI 6251 utilizada no sistema de geração e aquisição dos sinais. ....	41
Figura 22 - Diagrama de blocos do programa de geração e aquisição dos sinais para o eletropermeabilizador em LabVIEW®. ....	42
Figura 23 - Transdutor de Tensão com divisor resistivo e amplificador de instrumentação INA 111BP. ....	44
Figura 24 - Transdutor de Corrente por Efeito Hall LTSP 25-NP e amplificador de instrumentação INA111BP. ....	45
Figura 25 - Sistema de Eletropermeabilização contendo amplificador, fontes de alimentação, transdutores e sistema de geração e aquisição de sinais desenvolvidos em ambiente LabVIEW® para uma placa PCI-6251. ....	45
Figura 26 - Tela do usuário do aplicativo Gerador de Sinais 1.0. ....	46
Figura 27 - Concatenação de três formas de onda, e apresentação da tela do usuário. ....	47
Figura 28 - Pulso de onda quadrada com razão cíclica de 10%. ....	48
Figura 29 - Implementação de forma de onda com fórmula matemática. ....	49
Figura 30 - Pulso retangular de 50 $\mu$ s aplicado em uma carga resistiva de 205,59 $\Omega$ . V <sub>e</sub> em amarelo e V <sub>s</sub> em vermelho. ....	50
Figura 31 - Tempo de subida para pulso retangular de 50 $\mu$ s. V <sub>e</sub> em amarelo e V <sub>s</sub> em vermelho. ....	50
Figura 32 - Tempo de descida para pulso retangular de 50 $\mu$ s. V <sub>e</sub> em amarelo e V <sub>s</sub> em vermelho. ....	51
Figura 33 - Resposta em frequência do amplificador obtida pela análise de Fourier com onda quadrada de 1Hz. ....	52
Figura 34 - Resposta em frequência do amplificador obtida pela análise de Fourier com onda quadrada de 1kHz. ....	53
Figura 35 - Verificação da Estabilidade Térmica do Amplificador de tensão. ....	54
Figura 36 - Curva de resposta do transdutor de tensão. ....	55
Figura 37 - Curva de resposta do transdutor de corrente. Curva em cor preta para frequência de 1 kHz e curva em vermelho para frequência de 10 kHz. ....	56
Figura 38 - Sistema de Eletrodos utilizado nos experimentos. ....	57
Figura 39 - Formas de onda na Carga obtidas para a solução Kbr. Pulso com 100V e 500 $\mu$ s. ....	58
Figura 40 - Tela do usuário com pulso retangular aplicado na solução com material biológico. ....	58

Figura 41 - Comportamento da tensão e corrente na carga durante a aplicação do pulso de eletropermeabilização. ....	59
Figura 42 - Comportamento da Condutividade da amostra .....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quadro Comparativo entre eletropermeabilizadores (Modificado de Puc <i>et al</i> , 2004). .....	26
Tabela 2 - Equipamentos comercialmente produzidos (Modificado de Puc <i>et al</i> , 2004), onde BT é baixa tensão, AT é alta tensão e NA é sem descrição.....	27
Tabela 3 - Características dos transistores.....	32
Tabela 4 - Potência dissipada nos transistores principais .....	35
Tabela 5 - Temperatura de junção máxima .....	36

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)