

Programabilni pulsni strujni izvor za *in vitro* ispitivanja jontoforeze

Petar Atanasijević i Željko Janićijević

Apstrakt—U ovom radu je predstavljena inovativna realizacija jeftinog programabilnog pulsno strujnog izvora namenjenog laboratorijskim *in vitro* ispitivanjima procesa jontoforeze. Uređaj je zasnovan na Arduino UNO platformi i LabVIEW korisničkom interfejsu čime je omogućena potpuna kontrola parametara pravougaonih strujnih impulsa kao što su faktor ispunjenosti, amplituda koju je moguće varirati u opsegu od oko 100 μA do oko 4.5 mA i učestanost čiji opseg seže od 1 Hz do 10 kHz bez značajne degradacije oblika signala. Digitalna kontrola strujnih impulsa je ostvarena primenom JFET tranzistora kao naponski kontrolisanih otpornika. Izvršena je karakterizacija performansi pulsno strujnog izvora pri različitim rezistivnim opterećenjima. Strujni izvor je testiran i u realnim eksperimentalnim uslovima u laboratoriji čime su demonstrirana njegova odlična svojstva, efikasnost i upotrebljivost u istraživačkoj praksi.

Ključne reči—pulsni strujni izvor; Arduino Uno; jontoforeza

I. UVOD

JONTOFOREZA je metoda transdermalne dostave lekova u obliku jona ili naelektrisanih molekula lokalnim dejstvom električne struje malog intenziteta. Naelektrisana formulacija leka se kontrolisano oslobađa iz rezervoara u kontaktu sa jednom od elektroda i prenosi kroz kožu podešavanjem trenutnog intenziteta struje. Ova tehnika je dugo podrazumevala primenu stalne struje za šta su korišćeni jednostavni strujni izvori. Novija istraživanja su pokazala da je talasni oblik struje od posebnog značaja za poboljšanje transdermalne dostave jontoforezom [1]–[3]. Jedan od značajnih talasnih oblika je serija pravougaonih impulsa sa definisanom frekvencijom i faktorom ispunjenosti. Prema tome, digitalno kontrolisani strujni izvor predstavlja ključnu komponentu modernih uređaja za jontoforezu. Relativno visoka cena medicinskih uređaja za jontoforezu čini ih nepogodnim za laboratorijske testove. U ovom radu su prikazani dizajn, implementacija i karakterizacija jeftinog programabilnog pulsno strujnog izvora namenjenog za *in vitro* ispitivanja procesa jontoforeze. Strujni izvor je zasnovan na Arduino UNO platformi i LabVIEW korisničkom interfejsu. Uređaj pruža mogućnosti podešavanja intenziteta, frekvencije i faktora ispunjenosti pravougaonih strujnih

impulsa u relevantnim opsezima za testiranje procesa jontoforeze u laboratorijskim uslovima.

II. DIZAJN I IMPLEMENTACIJA HARDVERA

Električna šema predloženog uređaja je prikazana na Sl. 1. Uređaj je napajan stabilisanim naponom korišćenjem L7812A naponskog regulatora. Arduino UNO R3 razvojna ploča je upotrebljena za generaciju naponskih pulseva amplitude 5 V, promenljive frekvencije i faktora ispunjenosti (ARDUINO_PWM-9 na Sl. 1). Varijacija amplitude naponskih pulseva je implementirana u vidu razdelnika napona u kome je otpornost ulaznog otpornika 10 k Ω , dok je otpornik prema masi zamenjen p-kanalnim JFET tranzistorom (2N5460) čija je radna tačka u triodnoj oblasti strujno-naponske karakteristike. Poznato je da se u ovoj oblasti, pri dovoljno niskim naponima između sorsa i drejna, JFET ponaša kao otpornik čija se otpornost može kontrolisati varijacijom napona između gejta i sorsa tranzistora. Distorzija signala na izlazu ovako dizajniranog naponskog razdelnika (koja se javlja usled nelinearnosti strujno naponske karakteristike u oblasti bliskoj zasićenju JFET-a) se može ukloniti uvođenjem povratne sprege implementacijom dva otpornika otpornosti 680 k Ω kao na Sl. 1. Na ovaj način se jednosmerni napon za kontrolu gejta sabira sa polovinom vrednosti napona na sorsu čime se izbegavaju izobličenja u prenosu signala [4].

Operacioni pojačavač opšte namene LM358 je korišćen u sklopu aktivnog filtra niskopropusnika čiji je otpornik otpornosti 100 k Ω , a kondenzator kapacitivnosti 4.7 μF . Filtar je namenjen konverziji širinski moduliranih naponskih pulseva učestanosti 490 Hz generisanih na PWM izlazu Arduino razvojne ploče u jednosmerne vrednosti napona u opsegu od 0 do 5 V. Izlaz filtra je direktno povezan na otpornik prema gejtu JFET-a. Na ovaj način se širinskom modulacijom naponskih pulseva generisanih na PWM izlazu postiže jednostavna digitalna kontrola otpornosti kanala JFET-a i inherentno digitalna kontrola amplitude izlaznog napona razdelnika.

Signal se nakon stepena za kontrolu amplitude baferuje operacionim pojačavačem (CA3140) radi smanjenja izlazne impedanse, a zatim se dovodi na ulaz transkonduktansnog stepena koji predstavlja izlazni stepen uređaja. Transkonduktanski stepen se sastoji iz operacionog pojačavača (CA3140), MOSFET-a (AP40T03GJ-HF-3T) i tri paralelno vezana p-kanalna JFET-a (2N5460) za kontrolu struje kroz opterećenje koje je povezano između drejna MOSFET-a i napona napajanja, kao na Sl. 1.

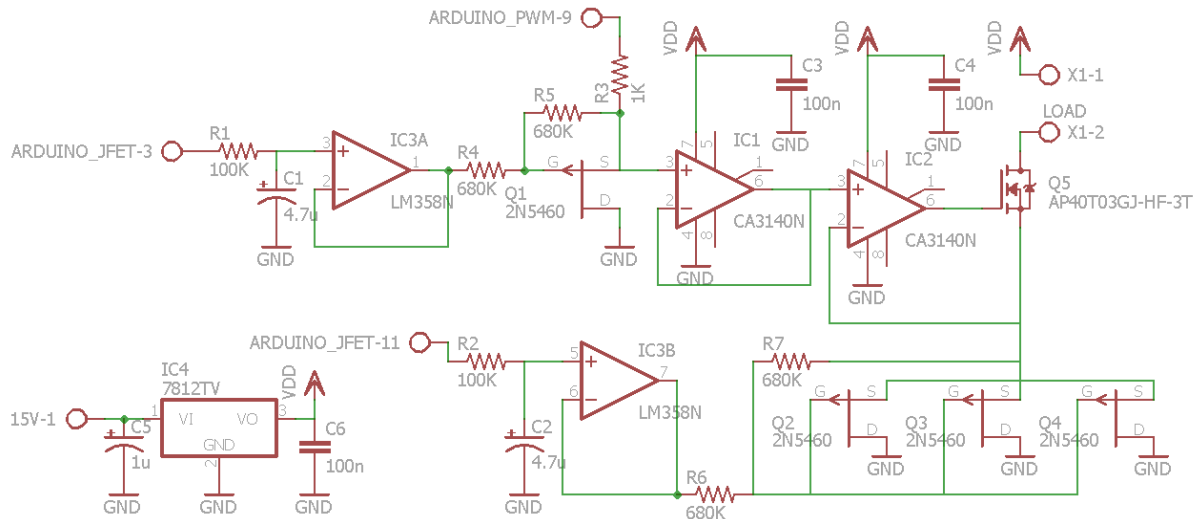
Petar Atanasijević – Elektrotehnički fakultet, Univerzitet u Beogradu, Bulevar Kralja Aleksandra 73, 11120 Beograd, Srbija (e-mail: petarat94@gmail.com).

Željko Janićijević – Elektrotehnički fakultet, Univerzitet u Beogradu, Bulevar Kralja Aleksandra 73, 11120 Beograd, Srbija (e-mail: zeljkj@etf.bg.ac.rs).

Kontrola otpornosti JFET-ova je izvedena na osnovu prethodno opisanog koncepta. JFET-ovi su povezani paralelno zarad efektivnog smanjenja minimalne otpornosti strukture naponski kontrolisanog otpornika. Na ovaj način se takođe osigurava da struja kroz kanal pojedinačnih JFET-ova ne prelazi maksimalnu dozvoljenu struju navedenu u specifikacijama proizvođača. Uvođenjem kontrolabilnog otpornika u ovaj deo strukture, uvodi se drugi stepen slobode za ostvarivanje zadate struje.

su usko povezane, i razmenjuju podatke serijskim prenosom, putem USB (*Universal Serial Bus*) kabla kojim je Arduino Uno R3 povezan sa računarom. Atmel ATmega328P mikrokontroler Arduino Uno R3 razvojne ploče je programiran u standardnom razvojnom okruženju Arduino IDE v1.6.9.

Program koji izvršava mikrokontroler u svakoj iteraciji petlje učitava string poslat putem serijskog porta. Svaki poslati string sadrži jedan karakter i brojnu vrednost. U



Sl. 1. Električna šema programabilnog pulsno strujnog izvora (nacrtna u programskom paketu Autodesk EAGLE).

Struja kroz opterećenje je tada data relacijom:

$$I_{load} = \frac{3V_{in}}{R_{JFET}}, \quad (1)$$

gde V_{in} predstavlja amplitudu naponskih pulseva nakon razdelnika, odnosno napon na ulazu u transkonduktansni stepen, dok R_{JFET} predstavlja promenljivu otpornost kanala pojedinačnog JFET-a.

Nizak napon praga, mala otpornost kanala, kao i odlične karakteristike tranzijenta MOSFET-a AP40T03GJ-HF-3T bile su ključne pri izboru ove komponente.

Izabrani operacioni pojačavač CA3140 karakteriše puni izlazni naponski opseg, dok ulazni napon može obuhvatiti i negativni pol napajanja što je bilo neophodno u planiranoj primeni. Operacioni pojačavač se takođe odlikuje visokom ulaznom impedansom, kao i niskim naponskim i strujnim ofsetima. Ova komponenta poseduje internu kompenzaciju koja ograničava propusni opseg na 4.5 MHz, dok brzina promene napona na njenom izlazu iznosi 9 V/μs što se ispostavilo kao zadovoljavajuće u eksperimentalnim testovima uređaja.

III. DIZAJN I IMPLEMENTACIJA SOFTVERA

Softver pulsno strujnog izvora je koncipiran tako da sadrži dve celine. Prvu celinu predstavlja program koji se izvršava na mikrokontroleru, dok je druga celina program koji se pokreće korišćenjem personalnog računara. Programske celine

zavisnosti od poslanog karaktera, izvršava se posebna sekcija programa u kojoj se upotrebljava zadata brojna vrednost. Postoje sekcije programa za podešavanje sledećih parametara ili procesa: frekvencije, faktora ispunjenosti impulsa, perioda impulsa, širine impulsa, akvizicije zadanog broja odbiraka, kontinualne akvizicije, kao i faktora ispunjenosti impulsa koji upravljaju gejtoovima JFET-ova. Program predstavlja nadogradnju i implementaciju različitih programskih rešenja koja se mogu pronaći u literaturi (na primer videti [5]).

Planirana primena zahteva kontinualnu generaciju naponskih impulsa koja se izvršava nezavisno od izvršavanja ostalih programskih celina. Nezavisna kontinualna generacija impulsa je omogućena direktnim pristupanjem prvom hardverskom tajmeru mikrokontrolera rezolucije od 16 bita, a koji upravlja devetim i desetim digitalnim izlazom mikrokontrolera. Pristupanje prvom hardverskom tajmeru i podešavanje izlaznih karakteristika pulseva na njegovim izlazima je omogućeno uključivanjem biblioteke TimerOne.h koja je besplatno dostupna na zvaničnoj Arduino internet stranici (<http://playground.arduino.cc/Code/Timer1>).

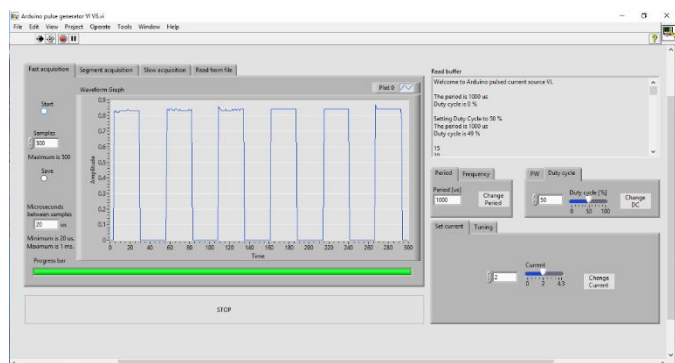
Za kontrolu gejtova JFET-ova je korišćen drugi hardverski tajmer Arduina 8-bitne rezolucije koji upravlja trećim i jedanaestim digitalnim izlazom. Tajmer sa indeksom 0 nije korišćen zbog povezanosti sa funkcijama za merenje vremena.

Programom je omogućena akvizicija napona na specifičanom analognom ulazu Arduino Uno R3 razvojne ploče. Vreme potrebno za izvršavanje analogno-digitalne (AD) konverzije je smanjeno sa oko 110 μs na oko 20 μs pristupanjem ADCSRA registru preko koga se konfigurise

AD konvertor Arduina. Utvrđeno je da ovaj pristup dovodi do smanjenja rezolucije konvertora, ali da promene nisu značajne.

Zarad poboljšanja brzine AD konverzije, implementiran je kod za brzu akviziciju napona uzastopnim upisivanjem definisanog broja odbiraka u niz. Broj elemenata niza zavisi isključivo od dostupne radne memorije Arduina. U našim merenjima dužinu niza bi trebalo ograničiti na 500 elemenata. Niz dobijen akvizicijom se zatim šalje računaru i obavlja se vizualizacija. Frekvencija odabiranja u ovom slučaju se može podešavati putem korisničkog interfejsa menjanjem vremenskog intervala između akvizicija uzastopnih odbiraka u opsegu od 20 μ s koliko je ograničenje brzine konverzije, do 1 ms koliko je podešeno programom. Signali frekvencije do 10 Hz se mogu pratiti akvizicijom u realnom vremenu uz direktnu vizuelizaciju signala.

Druga programska celina koju pokreće računar je namenjena korisniku koji nema uvid u programski kod mikrokontrolera. Ona omogućava jednostavno, intuitivno podešavanje parametara pulsnog strujnog izvora. Program je napisan u softveru za grafičko programiranje mernih i kontrolnih sistema NI LabVIEW 2014. Pri pokretanju programa je potrebno u padajućoj listi naznačiti COM port računara na koji je povezan mikrokontroler. Korisnički interfejs programa tokom rada je prikazan na Sl. 2.



Sl. 2. Prikaz korisničkog interfejsa snimljen tokom eksperimentalnog testa na realnom opterećenju.

Na slici su na levoj strani naznačene kartice za različite vrste akvizicije. Na desnoj strani su naznačene kartice za podešavanje karakteristika strujnih impulsa kao što su frekvencija i faktor ispunjenosti i njima analogne kartice za podešavanje periode i širine pulseva. Na kartici u gornjem desnom uglu se ispisuje string koji je poslat sa Arduino-a. Kartica *Set current* omogućava jednostavno podešavanje amplitude strujnih pulseva na osnovu kalibracione funkcije, dok kartica *Tuning* omogućava fina podešavanja strujne amplitude direktnom promenom faktora ispunjenosti pulseva koji kontrolišu gejt prvog i drugog JFET-a.

Nakon akvizicije je moguće sačuvati dobijene vrednosti u tekstualnoj datoteci koju je potrebno zadati pri pokretanju programa. Sačuvane grafike je moguće ponovo iscrtači pristupanjem kartici za čitanje podataka iz datoteke.

U dizajnu i implementaciji nije korišćen dostupni LabVIEW interfejs za Arduino zbog njegove ograničene funkcionalnosti. Umesto toga je komunikacija LabVIEW-a sa Arduinoom obezbeđena korišćenjem VISA potprograma za konfiguraciju serijskog porta. Na ovaj način je obezbeđena i modularnost programa koji više nije ograničen izborom mikrokontrolera, te može podržati i mikrokontrolere sa boljim performansama ukoliko su programirani tako da održe istu formu komunikacije sa računarem.

IV. KARAKTERIZACIJA PULSNOG STRUJNOG IZVORA

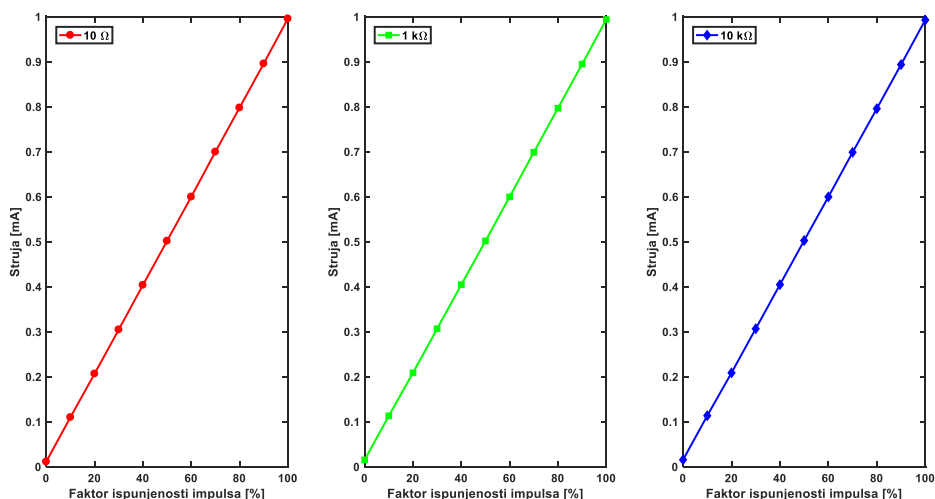
Karakterizacija performansi pulsnog strujnog izvora je obavljena sa nekoliko aspekata. Autori su razmatrali linearnost digitalnog podešavanja struje, kalibraciju uređaja u različitim opsezima pri različitim otpornostima opterećenja i svojstva talasnih oblika naponskih pulseva na opterećenju. Na kraju je primenljivost uređaja testirana u demonstracionom eksperimentu koji oslikava tipične *in vitro* eksperimentalne uslove u kojima se očekuje primena pulsnog strujnog izvora za ispitivanje jontoforeze. Za merenja i kalibraciju su korišćeni digitalni multimetar (SMA92) i digitalni osciloskop (INSTRUSTAR ISDS205A).

A. Modulacija širine impulsa

Na Sl. 3 su prikazane reprezentativne zavisnosti prosečne izlazne struje u opsegu do 1 mA u zavisnosti od zadatog faktora ispunjenosti impulsa za različita rezistivna opterećenja. Učestanost impulsa pri merenju je iznosila 1 kHz. Može se uočiti da postoji odlična linearnost u celom opsegu faktora ispunjenosti impulsa nezavisno od otpornosti opterećenja. Ovaj rezultat ukazuje da se kompletan opseg faktora ispunjenosti impulsa može efikasno koristiti za podešavanje strujnog izlaza.

B. Kalibracija uređaja

Kalibracija uređaja je sprovedena za četiri komplementarna opsega struje, čime je omogućena varijacija amplitude strujnih pulseva u opsegu od oko 100 μ A do oko 4.5 mA. Faktor ispunjenosti impulsa za kontrolu JFET-a u naponskom razdelniku je u svakom pojedinačnom opsegu održavan konstantnim, dok je faktor ispunjenosti impulsa za kontrolu ostalih JFET-ova variran do granica u kojima komponente zadržavaju adekvatni režim rada. Kalibracione krive za podešavanje struje su prikazane na Sl. 4 za različite vrednosti opterećenja u okviru istih opsega. Pokazuje se da su dobijene krive praktično nezavisne od otpornosti opterećenja. Jednačine kalibracionih krivih su implementirane u LabVIEW program čime je korisniku u potpunosti pojednostavljena



Sl. 3. Grafici zavisnosti prosečne izlazne struje od faktora ispunjenosti impulsa signala za otpornosti opterećenja 10 Ω, 1 kΩ i 10 kΩ respektivno. Frekvencija pulseva pri merenju je iznosila 1 kHz.

kontrola amplitude strujnih impulsa. Autori smatraju da je relevantno naglasiti da najvažnije ograničenje strujnog izvora u pogledu otpornosti opterećenja postavlja napon napajanja uređaja.

C. Karakteristike tranzijenta

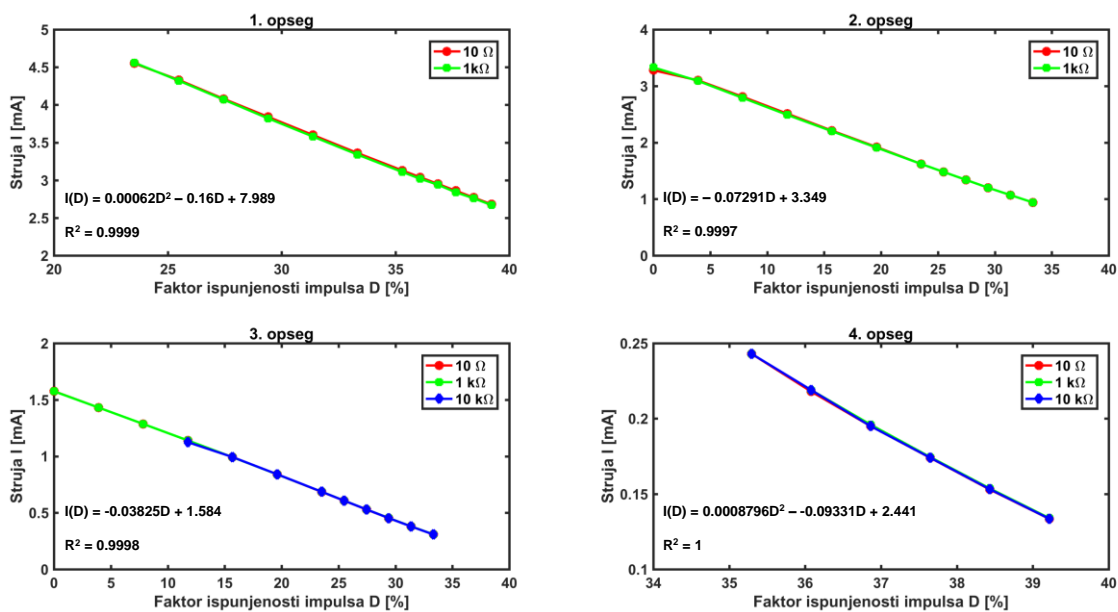
Karakteristike tranzijenta strujnog impulsa su određene posredno na osnovu poznate vrednosti otpornosti opterećenja i karakteristika naponskog impulsa. Vrednosti karakterističnih vremena tranzijenta pravouganog impulsa su date u Tabeli I. Trajanja ivica impulsa su oko 1 μs što postavlja gornju granicu frekvencije pravougaonih impulsa na približno 10 kHz. Za donju granicu frekvencije pravougaonih impulsa se može usvojiti vrednost od 1 Hz jer niže vrednosti nisu od značaja za jontoforezu. Vreme smirivanja je oko 2 μs i praktično ne zavisi od tipa ivice impulsa.

TABELA I
KARAKTERISTIČNA VREMENA TRANZIJENTA NAPONSKOG PULSA NA REZISTIVNOM OPTEREĆENJU

Trajanje usponske ivice	0.81 μs
Trajanje silazne ivice	1.14 μs
Maksimalno vreme smirivanja	2.10 μs

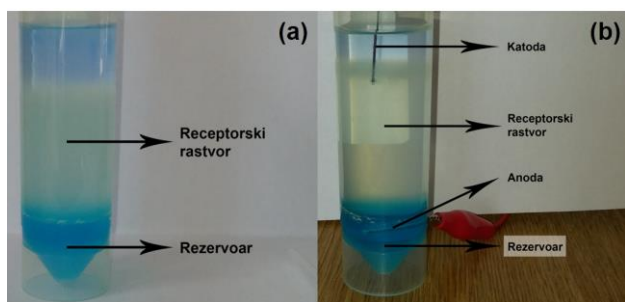
D. Eksperimentalni test na realnom opterećenju

Za demonstraciju funkcionalnosti uređaja u laboratorijskom okruženju upotrebljena je eksperimentalna postavka prikazana na Sl. 5. Opterećenje se sastoji od provodnog rezervoara u formi hidrogela, provodnog receptorskog rastvora i cilindričnih grafitnih elektroda prečnika 0.5 mm pomoću kojih se ostvaruje električni kontakt sa pulsним strujnim izvorom. Rezervoar se sastoji od 5 ml hidrogela formiranog pomoću govedeg želatina (3% w/v) u kome je rastvoreno 1.659 g



Sl. 4. Kalibracione krive za podešavanje amplitude struje pulsog strujnog izvora snimljene za različite otpornosti opterećenja. Faktor ispunjenosti impulsa za kontrolu JFET-a u naponskom razdelniku iznosi za prvi opseg $D = 58.82\%$, za drugi opseg $D = 29.41\%$, dok je za treći i četvrti opseg $D = 5.88\%$. Jednačine kalibracionih funkcija, kao i kvalitet fita prikazani su pojedinačno u donjem levom uglu grafika za svaki opseg.

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ koji disosuje u vodenom rastvoru čime se stvaraju katjoni Cu^{2+} . Prisustvo ovih katjona u vodenom rastvoru se uočava pojavom plave obojenosti, i oni se razmatraju kao naelektrisana formulacija od interesa za jontoforezu. Receptorski rastvor se sastoji od 30 ml 1 M rastvora KCl kome je dodato 0.5 ml 25% NH_4OH bez mešanja kako bi se uočilo stvaranje čvrstog precipitata $\text{Cu}(\text{OH})_2$ svetlo plave boje u slučaju prisustva manjih koncentracija Cu^{2+} jona. Anoda se uranja u rezervoar, dok se katoda uranja u receptorski rastvor. Eksperiment jontoforetske dostave Cu^{2+} jona je trajao 60 min sa sledećim parametrima strujne eskcitacije: amplitudom od 2 mA, frekvencijom od 1 kHz i faktorom ispunjenosti impulsa od 50%. U ovom periodu je impedansa opterećenja ispoljavala spore promene u opsegu od približno 3 k Ω do 3.5 k Ω . Dinamička stabilnost strujnog izvora tokom trajanja eksperimenta je bila $\pm 0.2\%$ od zadate srednje vrednosti amplitude struje. Istovremeno je sproveden i kontrolni eksperiment bez prisustva jontoforetske pobude gde se joni Cu^{2+} prenose u receptorski rastvor difuzijom iz hidrogela. Sl. 5 ilustruje razlike između ova dva transporta i pokazuje uticaj jontoforeze nakon 60 min od početka eksperimenta.



Sl. 5. Prikaz eksperimentalne postavke za testiranje pulsog strujnog izvora na realnom opterećenju uz uočljive razlike u rezultatima eksperimenata: (a) bez jontoforetske pobude i (b) sa jontoforetskom pobudom, nakon 60 min.

Zamućenje rastvora se javlja po čitavoj zapremini rastvora usled stvaranja precipitata iznad hidrogela u kontrolnom eksperimentu. Na Sl. 5 (a) koja predstavlja kontrolnu postavku se uočava i blago obojenje gela na samoj međupovršini gela i rastvora. S druge strane, na Sl. 5 (b) je očigledno formiranje lokalizovanog zamućenja u vidu prstena u okolini anode koje potiče od precipitata uz veoma malo zamućenje koje se prostire ka međupovršini gela i rastvora. U okolini anode unutar gela se izdvaja gas usled elektrolize što je i vizuelna potvrda protoka električne struje. Gel koji se nalazi iznad elektrode pokazuje značajno manju obojenost u odnosu na gel ispod anode. Na osnovu ovog eksperimenta se može potvrditi efikasnost i upotrebljivost konstruisanog pulsog strujnog izvora za jontoforezu u laboratorijskim uslovima.

V. ZAKLJUČAK

Predstavljeni programabilni pulsni strujni izvor je pokazao dobru stabilnost i pouzdanost u eksperimentalnim testovima.

Zbog modularnosti i jednostavnog korisničkog interfejsa, upotreba uređaja se može proširiti i na druge laboratorijske sisteme koji zahtevaju podesivu strujnu pobudu u vidu pulseva (npr. u elektrohemiji). Nastavak rada će prvobitno biti usmeren na detaljna ispitivanja performansi strujnog izvora u različitim *in vitro* sistemima. Strujni izvor se takođe može dalje nadograđivati kako bi se omogućila njegova primena u *in vivo* studijama. U tom kontekstu je neophodno pre svega proširiti naponski opseg pobudnog sistema, a zatim i implementirati mere bezbednosti koje odgovaraju standardima za medicinsku opremu.

ZAHVALNICA

Autori se pre svega zahvaljuju Institutu tehničkih nauka SANU na obezbeđivanju uslova za sprovođenje eksperimentalne demonstracije rada uređaja. Autori se takođe zahvaljuju i dr Filipu Radovanoviću sa Instituta tehničkih nauka SANU na korisnim diskusijama o eksperimentalnim merenjima i parametrima relevantnim za *in vitro* ispitivanja jontoforeze.

LITERATURA

- [1] M. J. Pikal and S. Shah, "Study of the mechanisms of flux enhancement through hairless mouse skin by pulsed DC iontophoresis," *Pharm. Res.*, vol. 8, no. 3, pp. 365–369, 1991.
- [2] G. Yan, S. K. Li, and W. I. Higuchi, "Evaluation of constant current alternating current iontophoresis for transdermal drug delivery," *J. Control. Release*, vol. 110, no. 1, pp. 141–50, Dec. 2005.
- [3] S. Pacini, T. Punzi, M. Gulisano, F. Cecchi, S. Vannucchi, and M. Ruggiero, "Transdermal delivery of heparin using pulsed current iontophoresis," *Pharm. Res.*, vol. 23, no. 1, pp. 114–20, Jan. 2006.
- [4] P. Horowitz and H. Winfield, "FETs as variable resistors," in *The Art of Electronics*, ch. 3, sec. 3.2.7, pp. 161–163, United States of America: CUP, 2015.
- [5] M. Margolis, *Arduino Cookbook*, 2nd ed. Sebastopol, United States of America: O'Reilly Media, Inc., 2012.

ABSTRACT

An innovative low-cost programmable pulse current source for *in vitro* laboratory investigations of the iontophoresis process is presented in this contribution. The device is based on the Arduino UNO platform and LabVIEW user interface, which provides complete control of the rectangular current pulse parameters in terms of duty cycle, amplitude which can be varied from 100 μA to 4.5 mA, and frequency that ranges from 1 Hz to 10 kHz without significant waveform degradation. Digital control of current pulses is accomplished by implementing JFET transistors as voltage controlled resistors. Pulse current source performance was characterized for different resistive loads. The current source was also tested under the realistic experimental conditions in the laboratory whereby its excellent properties, efficiency and applicability were demonstrated in research practice.

Programmable pulse current source for *in vitro* investigations of iontophoresis

Petar Atanasijević i Željko Janićijević