



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV TELEKOMUNIKACÍ

DEPARTMENT OF TELECOMMUNICATIONS

ŘÍZENÝ ZDROJ VYSOKÉHO NAPĚTÍ

CONTROLLED HIGH VOLTAGE SOURCE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jiří Chloupek

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Jaroslav Koton, Ph.D.

BRNO 2017



Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor **Telekomunikační a informační technika**

Ústav telekomunikací

Student: Bc. Jiří Chloupek

ID: 146837

Ročník: 2

Akademický rok: 2016/17

NÁZEV TÉMATU:

Řízený zdroj vysokého napětí

POKyny PRO VYPRACOVÁNÍ:

Prostudujte problematiku generování bipolárních impulsů vysokého napětí, které jsou vhodné pro proces vratné a nevratné elektroporace. Popište principy realizace takových zdrojů a vzájemně je porovnejte z pohledu efektivity provozu a účinnosti vlastní elektroporace. Na základě tohoto popisu vyberte vhodné řešení, které je možné elektronicky řídit a toto realizujete. Vlastnosti navrženého zdroje prakticky ověřte.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] NOVICKIJ, V., GRANYS, A., NOVICKIJ, J., TOLVAISIENE, S., MARKOVSKAJA, S.: Compact Electro-Permeabilization System for Controlled Treatment of Biological Cells and Cell Medium Conductivity Change Measurement, Measurement Science Review, roč. 14, č. 5, s. 279-284, 2014.

[2] CRONJE, T.F., GAYNOR, P. T.: High Voltage and Frequency Bipolar Pulse Generator Design for Electroporation-based Cancer Therapy, in Proc. Australasian Universities Power Engineering Conference, AUPEC, Hobart, 2013.

Termín zadání: 1.2.2017

Termín odevzdání: 24.5.2017

Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Koton, Ph.D.

Konzultant:

doc. Ing. Jiří Mišurec, CSc.
předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Abstrakt

Cílem této diplomové práce je návrh zdroje vysokého napětí určeného pro generování bipolárních impulzů, které jsou vhodné pro proces vratné a nevratné elektroporace. Dále navrhnout elektronické řízení zdroje. V první části práce jsou rozebrány teoretické poznatky o procesu elektroporace, ve druhé části jsou popsány principy realizace takových zdrojů, další část se zabývá návrhem zdroje a jeho řízením. Předposlední částí je popis uživatelského manuálu a poslední část je věnována měření.

Klíčová slova

Elektroporace, pulzní elektrické pole, zdroj, spínač

Abstract

The aim of this master thesis is to design a high voltage source for the generation of bipolar pulses, which are suitable for the process of reversible and irreversible electroporation. Further design is electronic control. The first part of the thesis analyzes the theoretical knowledge about the process of electroporation, the second part describes the principles of realization of such sources, the next part deals with the design of the source and its control. The penultimate part is a description of the user manual and the last part is dedicated to the measurement.

Keywords

Electroporation, pulsed electric field, source, switch

CHLOUPEK, J. *Řízený zdroj vysokého napětí*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2017. 68 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Jaroslav Koton, Ph.D..

Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma „Řízený zdroj vysokého napětí“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této diplomové práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědom následku porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona c.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne

.....

podpis autora

Výzkum popsáný v této diplomové práci byl realizován v laboratořích podpořených projektem Centrum senzorických, informačních a komunikačních systémů (SIX); registrační číslo CZ.1.05/2.1.00/03.0072, operačního programu Výzkum a vývoj pro inovace.

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Jaroslavu Kotonovi, Ph.D. za velmi užitečnou metodickou pomoc a cenné rady při zpracování práce.

V Brně dne

.....
podpis autora

Obsah

SEZNAM OBRÁZKŮ	11
ÚVOD.....	12
1 ELEKTROPORACE.....	13
1.1 VRATNÁ ELEKTROPORACE	13
1.1.1 <i>Aplikace vratné elektroporace</i>	14
1.2 NEVRATNÁ ELEKTROPORACE	15
1.2.1 <i>Aplikace nevratné elektroporace v lékařství</i>	15
1.2.2 <i>Nevratná elektroporace v potravinářském průmyslu</i>	16
2 GENEROVÁNÍ PULZŮ VHODNÝCH PRO ELEKTROPORACI	19
2.1 OBECNÉ KONCEPTY GENEROVÁNÍ IMPULZŮ.....	19
2.2 SPÍNAČE PRO VYTVÁŘENÍ ELEKTRICKÝCH IMPULZŮ	22
2.2.1 <i>Bipolární tranzistory</i>	22
2.2.2 <i>Tranzistory MOSFET</i>	22
2.2.3 <i>Tranzistory IGBT</i>	23
2.2.4 <i>Tyristory</i>	23
2.3 EXISTUJÍCÍ ELEKTROPORAČNÍ ZAŘÍZENÍ	24
3 VLASTNÍ KONCEPCE ZDROJE	25
3.1 HARDWAROVÁ ČÁST.....	25
3.1.1 <i>Deska výkonových spínačů</i>	25
3.1.2 <i>Deska pro napájení nízkonapěťových částí</i>	28
3.1.3 <i>Vysokonapěťová deska</i>	30
3.1.4 <i>Zařízení pro generování impulzů</i>	31
3.1.5 <i>Kompletní zapojení</i>	32
3.2 SOFTWAREVÁ ČÁST	33
3.2.1 <i>Program pro generování pulzů</i>	34
4 UŽIVATELSKÝ MANUÁL.....	40
5 MĚŘENÍ	43
5.1 MĚŘENÍ ŘÍDICÍCH SIGNÁLŮ	43
5.2 MĚŘENÍ NA DESCE VÝKONOVÝCH SPÍNAČŮ	47
5.2.1 <i>Měření na pravé horní části H-můstku</i>	47
5.2.2 <i>Měření na zátěži</i>	48
5.3 ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ MĚŘENÍ	50
6 ZÁVĚR.....	51
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	52
SEZNAM ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN.....	55
SEZNAM PŘÍLOH.....	56
A SCHÉMATA NAVRHOVANÝCH DPS	57
A.1 SCHÉMA NAPÁJECÍ ČÁSTI DESKY VÝKONOVÝCH SPÍNAČŮ.....	57
A.2 SCHÉMA SIGNÁLOVÉ ČÁSTI DESKY VÝKONOVÝCH SPÍNAČŮ	58

A.3	SCHÉMA DESKY PRO NAPÁJENÍ NÍZKONAPĚŤOVÝCH ČÁSTÍ.....	59
A.4	SCHÉMA VYSOKONAPĚŤOVÉ DESKY	60
B	ČASOVÉ PRŮBĚHY.....	61
B.1	PRŮBĚHY PRO $N = 5$, $T_A = 20000$, $F_H = 2000$ A $F_L = 250$	61
B.2	PRŮBĚHY PRO $N = 10$, $T_A = 10000$, $F_H = 5000$ A $F_L = 200$	62
B.3	PRŮBĚHY PRO $N = 16$, $T_A = 7500$, $F_H = 10000$ A $F_L = 400$	63
B.4	PRŮBĚHY PRO $N = 4$, $T_A = 2000$, $F_H = 12500$ A $F_L = 1000$	64
B.5	PRŮBĚHY PRO $N = 4$, $T_A = 5000$, $F_H = 20000$ A $F_L = 2000$	65
B.6	PRŮBĚHY MĚŘENÝCH ZPOŽDĚNÍ NA HL ČÁSTI H-MŮSTKU	66
B.7	PRŮBĚHY MĚŘENÝCH ZPOŽDĚNÍ NA LL ČÁSTI H-MŮSTKU.....	67
C	OBSAH PŘILOŽENÉHO CD	68

Seznam obrázků

Obr. 1.1: Vratná elektroporace [1].....	14
Obr. 1.2: Nevratná elektroporace [1].....	15
Obr. 2.1: Typické průběhy pulzů používaných pro elektroporaci, a) exponenciální; b) obdélníkový [12].....	19
Obr. 2.2: Schéma obvodu pro exponenciální pulzy [12].....	20
Obr. 2.3: Schéma obvodu pro generování obdélníkových pulzů [12].....	21
Obr. 2.4: Bipolární tranzistory.....	22
Obr. 2.5: Schéma tranzistoru MOSFET	23
Obr. 2.6: Schéma tyristoru.....	24
Obr. 3.1: Zapojení H-můstku.....	26
Obr. 3.2: Časové průběhy napětí na H-můstku	26
Obr. 3.3: DPS výkonové desky ze strany TOP (vlevo) a BOTTOM (vpravo), 55% původní velikosti.....	27
Obr. 3.4: Osazovací výkres výkonové desky, strana TOP (vlevo), strana BOTTOM (vpravo), 55% původní velikosti	28
Obr. 3.5: Osazená deska výkonových spínačů	28
Obr. 3.6: DPS pro napájení nízkonapěťových částí ze strany BOTTOM	29
Obr. 3.7: Osazovací výkres desky pro napájení nízkonapěťových částí, strana TOP	29
Obr. 3.8: DPS vysokonapěťové části ze strany BOTTOM	30
Obr. 3.9: Osazovací výkres vysokonapěťové desky.....	30
Obr. 3.10: Vývojový kit Arduino Mega 2560	31
Obr. 3.11: LCD Keypad Shield	31
Obr. 3.12: Kompletní zapojení navrhovaného zdroje.....	32
Obr. 3.13: Vývojové prostředí Arduino IDE.....	33
Obr. 3.14: Blokové schéma programu.....	34
Obr. 3.15: Inicializace displeje, časovače a deklarace proměnných	35
Obr. 3.16: Nastavení parametru počtu pulzů.....	37

Obr. 3.17: Stavový automat.....	38
Obr. 3.18: Funkce <i>krok()</i> sloužící pro generování pulzů.....	39
Obr. 4.1: Zobrazované hodnoty po zapnutí displeje.....	40
Obr. 4.2: Struktura menu a podmenu	40
Obr. 4.3: Podmenu pro změnu počtu pulzů	41
Obr. 5.1: Průběhy řídicích pulzů pro hodnoty $N = 3$, $T_A = 15000$, $f_H = 1000$, $f_L = 200$	44
Obr. 5.2: Průběhy řídicích pulzů pro hodnoty $N = 7$, $T_A = 4800$, $f_H = 15625$, $f_L = 625$	45
Obr. 5.3: Průběhy řídicích pulzů pro hodnoty $N = 12$, $T_A = 4000$, $f_H = 25000$, $f_L = 1000$	46
Obr. 5.4: Měření zpoždění za optočlenem při sestupné hraně (vlevo), při náběžné hraně (vpravo).....	47
Obr. 5.5: měření zpoždění za budičem při sestupné hraně (vlevo), při náběžné hraně (vpravo)	48
Obr. 5.6: Měření na zátěži H-můstku	49

Úvod

V posledních letech dochází k masivnímu rozvoji využívání pulzního elektrického pole (PEF) [1]. Takzvaná elektroporace, ať již vratná nebo nevratná se využívá v čím dál více oborech lidské činnosti. Největšího rozmachu se jí dostává v oblasti chemického [2] a potravinářského průmyslu [3] a v lékařství [4].

Tato diplomová práce se zabývá návrhem zdroje vysokého napětí a jeho řízením a je členěna do několika částí.

V první části jsou rozebrány teoretické poznatky o procesu elektroporace a její využití v praxi. Ve druhé části jsou popsány obecné koncepty generování impulzů vhodných pro elektroporaci, spínací prvky a existující elektroporační zařízení. Další část je věnována návrhu zdroje a konstrukci jeho hardwarových částí. V neposlední řadě je zde popsán software pro řízení navrženého zdroje. V další části je sepsán uživatelský manuál k ovládání zdroje. Poslední část se zabývá měřením.

1 Elektroporace

Elektroporace je fyzikální jev, při kterém dochází ke zvýšení elektrické vodivosti a propustnosti buněčných membrán. K tomuto jevu dochází při působení silného pulzního elektrického pole na živou buňku.

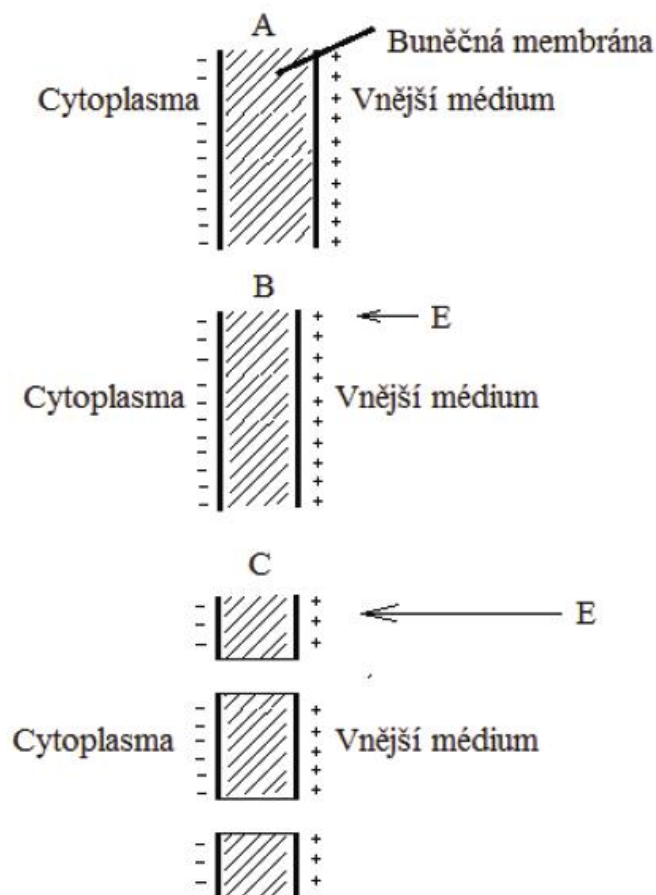
V případě, že je na buňku působeno velmi krátkými pulzy (v řádech mikrosekund – milisekund) o vysoké intenzitě elektrického pole několika kV/cm, vznikají v její membráně mikroskopické trhlinky a póry. Jejich velikost a četnost roste se zvyšováním intenzity elektrického pole, kterým je na danou buňku působeno. Pokud je intenzita elektrického pole vysoká, počet pórů je tak velký, že může dojít k nestabilitě buněčné membrány a jejímu rozpadu. Buňka tak není chráněna před okolními vlivy prostředí a umírá. Tohoto procesu se v posledních letech využívá čím dál častěji. Rychlému rozvoji procesu elektroporace brání fakt, že různé typy buněk jsou vždy rozdílně odolné vůči působení elektrického pole. Toto chování ovlivňuje například pružnost membrány dané buňky, její velikost a další. Proto je zapotřebí nejprve zjistit, při jakých parametrech jsou elektroporační účinky nejefektivnější, čehož je docíleno formou zdlouhavých testů [1].

Elektroporace se dělí na vratnou a nevratnou, podle toho, zda vlivem působení elektrického pole dojde k poškození buněčné membrány nebo ne.

1.1 Vratná elektroporace

Při vratné neboli reversibilní elektroporaci nedochází k odumření buňky a k rozpadu její membrány. V případě, že nedojde k překročení určité kritické hranice intenzity elektrického pole, kterým je na buňku působeno, dojde pouze k zeslabení její membrány a vytvoření mikroskopických pórů. Po ukončení procesu vystavení buňky elektrickému poli se póry vzniklé v membráně zacelí.

Na obrázku 1.1 je zobrazen průběh vratné elektroporace, kdy v části A na buňku není působeno elektrickým polem, a její membrána vykazuje normální stav. V části B je na buňku působeno elektrickým polem, avšak jeho intenzita je nízká, na což membrána reaguje jejím zúžením. V části C je buňka vystavena silnějšímu elektrickému poli, její membrána se už nemůže více zúžit a dochází k vytváření trhlinek a pórů. Jelikož nedošlo k překročení kritické hranice intenzity elektrického pole, po ukončení aplikace se póry zacelí a buněčná membrána vykazuje opět normální stav [1].



Obr. 1.1: Vratná elektroporace [1]

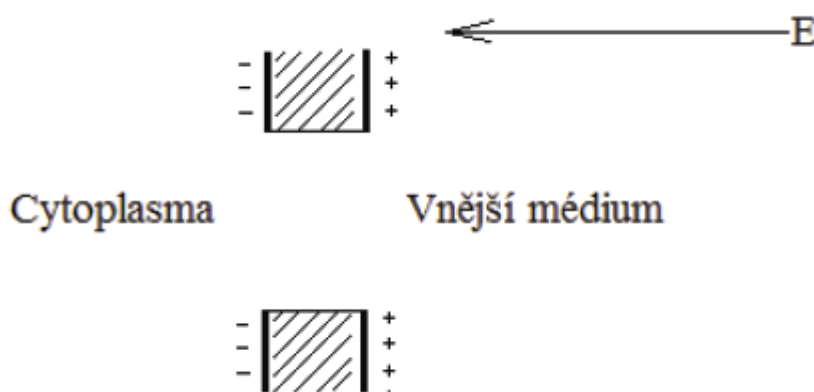
1.1.1 Aplikace vratné elektroporace

Účinků vratné elektroporace je v současné době využíváno například v molekulární fyzice, kde dochází k úpravám buněčné DNA [5].

Dle studie elektrotransformace E.coli bylo dosaženo vysoké účinnosti při přenosu DNA a po elektroporaci převzala většina buněk cizí DNA [2]. Nejprve bylo nutné provést sérii testů a zjistit, při jakém nastavení parametrů dochází k největší účinnosti. Pomocí elektroporace byl také proveden přenos DNA do neporušené tkáně myšího mozku. Tento proces byl ovšem velmi komplikovaný, neboť při nesprávném nastavení parametrů intenzity elektrického pole a délky pulzů docházelo k poškození buněk [5].

1.2 Nevratná elektroporace

Při tomto druhu elektroporace je na buněčnou membránu působeno elektrickým polem tak vysoké intenzity, že je nenávratně poškozena. Je překročena kritická hranice, kterou je buněčná membrána schopna snést a vzniklé póry jsou tak velké, že již nemohou být zaceleny ani po ukončení aplikace elektroporace. Membrána je tedy zničena a buňka odumírá, jelikož není chráněna před vnějšími vlivy prostředí [1].



Obr. 1.2: Nevratná elektroporace [1]

Na obrázku 1.2 je vidět, že póry vzniklé působením elektrického pole vysoké intenzity již není možné zacelit.

1.2.1 Aplikace nevratné elektroporace v lékařství

Aplikace nevratné elektroporace se testuje například v oblasti onkologie při odstraňování zhoubných a nezhoubných nádorových buněk [6]. Silné elektrické pole ve formě pulzů je aplikováno na nádorovou buňku pomocí elektrod. Její membrána je nenávratně poškozena a dochází k odumření nádoru. Tato metoda je výhodná, protože je možné přesně zaměřit nádorovou buňku a pulzy aplikovat pouze na ni. Nedochází tedy k narušení a poškození okolní tkáně, jako je tomu u současné termální léčby. Nejprve je však nutné provést simulaci a přesný výpočet pro průběh zákroku [4]. Je třeba vytvořit 3D obraz nádoru pomocí počítačové tomografie (CT), který je následně analyzován. Během analýzy nádorových buněk jsou zjištěny parametry pulzů potřebných pro destrukci nádoru. Po zjištění počtu pulzů, jejich amplitudě a počtu opakování následuje simulace průběhu zákroku. Pokud je dosaženo požadovaných výsledků, dochází již k samotnému zákroku,

který je velmi rychlý, což je další výhodou oproti termální léčbě. Při prvních pokusech této elektroporační aplikace docházelo u pacientů k nežádoucím svalovým křečím. Před aplikací pulzů jim musela být podávána paralytická látka a tento postup byl tedy rizikový. Bylo zjištěno, že křeče jsou způsobovány použitím impulzů o nízkém kmitočtu. Nově je používána vysokofrekvenční metoda, u které je využíváno bipolárních pulzů. U této metody již nedochází ke svalovým křečím a není za potřebí používání paralytických látek. Tyto elektroporační aplikace vykazují lepších výsledků oproti dosud používaným metodám, avšak jsou stále ve stádiu testování [7].

1.2.2 Nevratná elektroporace v potravinářském průmyslu

KONZERVACE

V současné době se pro konzervaci potravin používá metoda tzv. teplotní sterilizace. Její princip spočívá v zahřívání potravin na teplotu nad 100 °C po delší dobu, čímž dochází k usmrcení škodlivých mikroorganismů, které způsobují kontaminaci a zkažení potravin. Nevýhodou této metody je, že během sterilizace dochází mimo jiné ke ztrátě části zdraví prospěšných vitamínů a minerálů, které potravina obsahuje. Další nevýhodou je vysoká energetická náročnost. Oproti tomu při aplikaci nevratné elektroporace dochází pouze k odstranění nežádoucích mikroorganismů a potravina tak neztrácí svoji kvalitu [8].

SUŠENÍ

Další využití nachází elektroporace v oblasti sušení potravin. Zničením buněčných membrán dochází ke snadnějšímu odstraňování intracelulární složky, obsahující vodu a rozpuštěné látky. Ošetřením zeleniny a ovoce účinky nevratné elektroporace docházelo k rychlejšímu úbytku vody oproti neošetřeným vzorkům při sušení.

Testování bylo provedeno na vzorcích brambor, u kterých byly zkoumány vzorky krychlí o velikosti 1 cm. Intenzita působícího elektrického pole se pohybovala v rozmezí 0,3 – 3 kV/cm s počtem pulzů mezi 15 – 30. Bylo zjištěno, že při počtu 25 pulzů o intenzitě pole 1,1 kV/cm docházelo k nejlepším výsledkům a doba sušení klesla přibližně na třetinu na rozdíl od doby sušení neošetřených vzorků [3].

Dále testování probíhalo na vzorcích červené papriky, jejíž plátky šířky 1 cm byly před samotným sušením nejprve ošetřeny různými metodami. Při ošetření elektroporací, pulzy o intenzitě 2,4 kV/cm a délce 300 μ s, bylo dosaženo jednoho z nejlepších výsledků. Lepšího

výsledku dosáhla metoda blanšírování ve vroucí vodě. Při této metodě ovšem docházelo ke zhoršování kvality vzorků a nevýhodou byla vysoká energetická náročnost. Vzorky ošetřené elektroporací vykazovaly přibližně o čtvrtinu vyšší efektivitu sušení vzhledem k ostatním metodám [3].

ÚPRAVA CUKROVÉ ŘEPY

Elektroporace pronikla i do oblasti zpracování cukrové řepy. Zde bylo zkoumáno při jakých nastaveních intenzity elektrického pole a počtu pulzů dochází k největšímu rozpadu buněk. Počet pulzů byl nastavován v rozmezí 1 – 200 impulzů s intenzitou 1,2 – 3,6 kV/cm, charakter pulzů byl exponenciální s kmitočtem opakování 1 Hz. Bylo zjištěno, že k největšímu rozpadu buněk docházelo při intenzitě elektrického pole v rozmezí 1,2 až 2,4 kV/cm a počtem 1 – 5 pulzů. Při dalším navyšování intenzity i počtu pulzů již nedocházelo k výraznému navyšování rozpadu buněk [9].

Výsledky této metody byly porovnány s klasickou tepelnou metodou a bylo zjištěno, že rozpad buněk, který byl zaznamenán při aplikaci elektroporace s nastavením 20 exponenciálních pulzů o intenzitě 2,4 kV/cm, odpovídá rozpadu buněk, ke kterému je zapotřebí při standardní tepelné metodě vzorek ohřívat na teplotu 72 °C po dobu 15 minut. Při elektroporaci byla extrakce cukru z cukrové řepy přibližně dvakrát až třikrát rychlejší, než při použití klasické metody [9].

ZÍSKÁVÁNÍ MOŠTŮ

Při získávání moštů a ovocných extraktů se rovněž využívá nevratné elektroporace za účelem vyšší výnosnosti. Proces probíhá tak, že ovoce je nejdříve rozdrobeno na malé kusy, které jsou následně vystaveny intenzivnímu elektrickému poli, díky kterému dojde poškození buněčných membrán. Poté je takto ošetřené ovoce lisováno [10].

Tato metoda byla testována a výsledkem bylo zjištění, že při aplikování elektroporace bylo dosaženo vyšší výnosnosti i při nižším tlaku lisování. Dále bylo zjištěno, že se zvyšujícím se počtem pulzů stoupal také výnos. To však bylo pozorováno pouze do počtu 50 pulzů, poté již ke zvyšování výnosu nedocházelo.

V současné době je pro větší výnosnost při získávání moštů používána tepelná a enzymatická metoda. Tepelná metoda spočívá v lisování ovoce při vyšších teplotách, čímž dochází k navýšení výnosnosti. Její nevýhodou je, že při ohřívání dochází k odumírání zdraví prospěšných látek a vitamínů a samotný proces zahřívání je energeticky náročný. Základem enzymatické metody je přidávání enzymů do rozdrobeného ovoce, které rozkládají

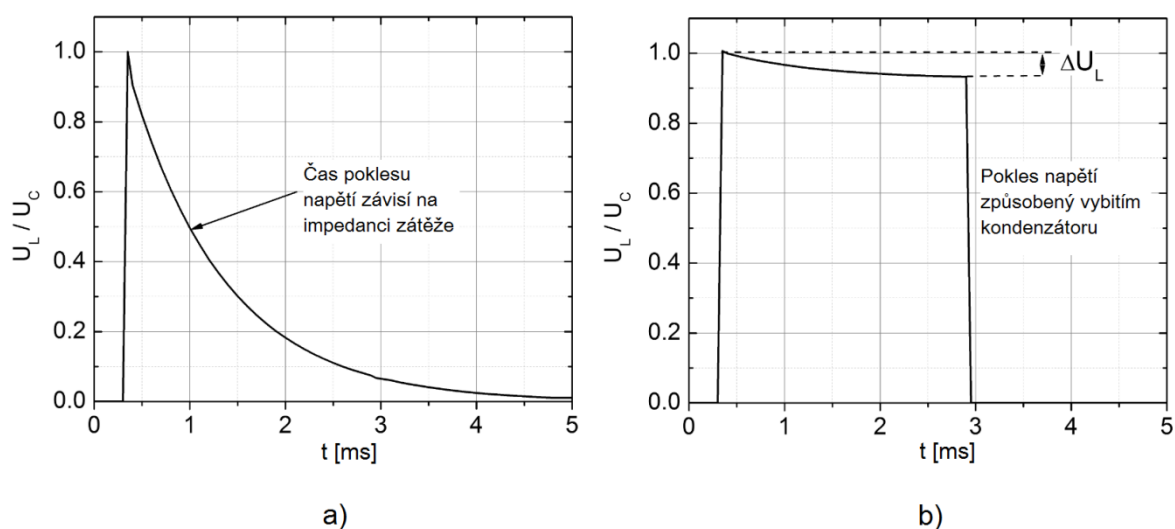
buňky. Nevýhodou této metody je, že působením enzymů dochází ke snížení kvality získávaného moštu. Na rozdíl od procesu elektroporace jsou obě dosud používané metody časově mnohem náročnější [11].

2 Generování pulzů vhodných pro elektroporaci

Pro elektroporaci biologických buněk jsou vyžadovány nanosekundové, mikrosekundové a milisekundové pulzy vysoké intenzity elektrického pole. V této kapitole bude popsána koncepce takovýchto generátorů pulzů.

2.1 Obecné koncepty generování impulzů

V současné době se tvarování pulzů pro elektroporační techniku rozděluje na dvě hlavní kategorie: exponenciální a obdélníkové pulzy. Časové průběhy těchto pulzů jsou zobrazeny na obrázku 2.1, kde U_L – napětí na zátěži, U_C – nabíjecí napětí, Z_L – impedance zátěže, ΔU_L – úbytek napětí na zátěži.



Obr. 2.1: Typické průběhy pulzů používaných pro elektroporaci, a) exponenciální; b) obdélníkový [12]

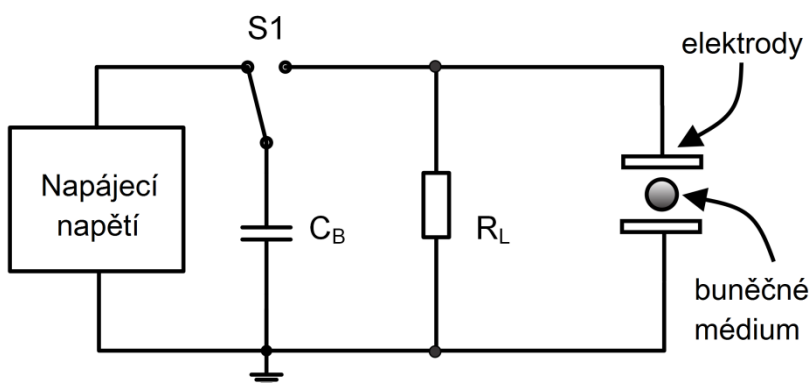
V obou případech by měla být amplituda generovaného elektrického pole dostatečně vysoká, aby překročila prahovou úroveň, kdy je transmembránový potenciál schopen způsobit výskyt pórů v membráně.

Exponenciální doba poklesu pulzu závisí na impedanci zátěže Z_L dle rovnice (2.1):

$$U_L = U_C e^{-t/Z_L C}, \quad (2.1)$$

kde U_L – napětí na zátěži, U_C – nabíjecí napětí, C – celková kapacita RC obvodu [12].

Náhradní schéma obvodu pro vytvoření exponenciálního pulzu je zobrazeno na obrázku 2.2. Jedná se o jednu z nejstarších a snadno realizovatelných koncepcí elektroporátoru. Skládá se z banky kondenzátorů C_B , nabíjecího zdroje napětí, spínače, odporové zátěže R_L a kvivety pro vzorek buněčného média s elektrodami, které dodávají impulzy.



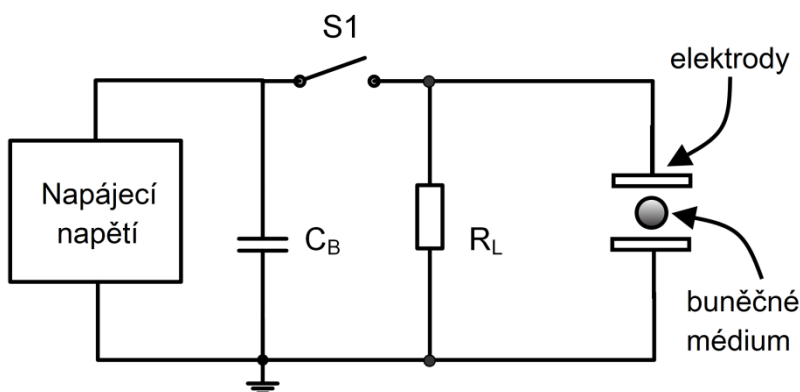
Obr. 2.2: Schéma obvodu pro exponenciální pulzy [12]

Tato zařízení pracují ve dvou stavech: 1 – nabíjení banky kondenzátorů a 2 – plné vybíjení nahromaděné energie elektrolytickou zátěží. Impedance elektrolytu je ovlivněna koncentrací biologických buněk, teplotou a dalšími parametry buňky, což napovídá, že průběh pulzů bude pokaždé jiný[13]. Z těchto důvodů se používá odpor R_L , který je typicky řádově menší ve srovnání s minimální impedancí buněčného média. V důsledku toho je snazší definovat časovou konstantu pro experimenty.

Zařízení pro generování exponenciálních impulzů by mohlo být úspěšně aplikováno pro většinu aplikací elektroporace včetně přenosu genů do biologických buněk. Nicméně kvůli omezenému nastavení parametrů pulzů je obtížnější tento proces aplikovat na různých experimentech. Další nevýhodou tohoto systému je doba nabíjení banky kondenzátorů. Během jednoho impulzu je kondenzátor plně vybíjen přes zátěž a musí být znovu nabit rychleji, než je délka zpoždění mezi dvěma impulzy. Výsledkem je rychlejší degradace kondenzátorových bank[14].

Za účelem zlepšení kvality a účinnosti elektroporačních experimentů byly vyvinuty generátory obdélníkových pulzů. Jejich koncept je také založen na vybíjení kondenzátoru do zátěže, avšak v tomto případě je spínač sepnut pouze po omezenou dobu, což zabraňuje úplnému vybití kondenzátoru. Náhradní schéma systému pro generování obdélníkových

impulzů je zobrazeno na obrázku 2.3. Během pulzu dochází k úbytku napětí ΔU_L , což je způsobeno vybíjením kondenzátoru a výsledný pulz tedy nemá ideální obdélníkový průběh, viz obrázek 2.1b. Stejně jako u generátoru exponenciálních pulzů musí být kondenzátor plně nabitý mezi dvěma pulzy, avšak díky větší bance kondenzátorů nedojde k úplnému vybití, což pozitivně ovlivňuje životnost kondenzátorů [14].



Obr. 2.3: Schéma obvodu pro generování obdélníkových pulzů [12]

Pokles napětí během jednoho impulzu závisí na velikosti kondenzátoru, délce impulzu a impedanci zátěže. Tuto závislost popisuje rovnice (2.2):

$$\Delta U_C \sim \frac{t}{Z_L C}. \quad (2.2)$$

Tento koncept má tedy omezenou aplikaci. Aby se minimalizoval pokles napětí, musí být nalezena rovnováha mezi typem buněčného média, hodnotou kondenzátorů a maximální podporovanou šířkou pulzu. Velká kapacitní pole jsou nevýhodná vzhledem k jejich velikosti a velkému množství nahromaděné energie, což může představovat nebezpečí při používání tohoto elektroforačního zařízení. Navzdory těmto problémům umožňuje použití elektroforátorů obdélníkových pulzů přesné řízení procesu elektroforace [12].

Další možné dělení pro generování impulzů vhodných pro proces elektroforace je na unipolární a bipolární průběhy. Nevýhodou unipolárních průběhů je, že tyto průběhy způsobují oxidaci elektrod způsobenou vlivem elektrolyzy. V případě generování bipolárních pulzů dochází ke snižování oxidace elektrod a také elektrolyzy ošetřovaného materiálu. Dochází také ke zvýšení účinnosti samotné elektroforace, což je ovšem vykoupeno větší složitostí celého zapojení [12].

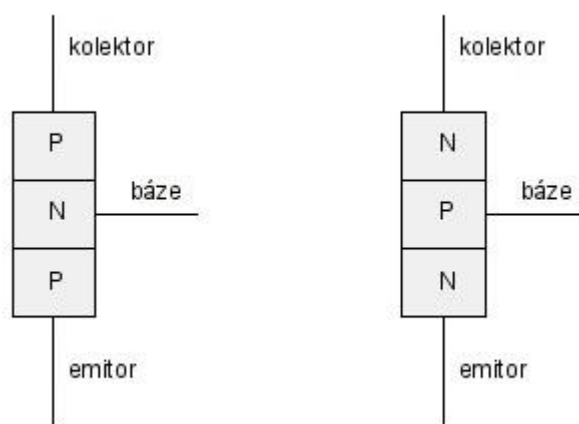
2.2 Spínače pro vytváření elektrických impulzů

Jednou z nejdůležitějších částí zdrojů pro generování impulzů jsou spínače. Na základě výběru spínače jsou definovány pulzní formy, špičkový proud, maximální a minimální šířka a amplituda pulzu. Pro generování exponenciálních i obdélníkových pulzů jsou vyžadovány vysokopříkonové, vysokonapěťové manipulační spínače s vysokou spolehlivostí a jednoduchým zapojením [15].

V ideálním případě se spínač zapíná a vypíná okamžitě, pro spolehlivý vysokofrekvenční provoz. V praxi však tyto spínače nejsou ideální a jejich schopnosti se liší v každém zařízení.

2.2.1 Bipolární tranzistory

Bipolární tranzistory jsou ovládány proudem a skládají se z NPN a PNP přechodů. Prostřední oblast se nazývá báze, krajní emitor a kolektor. Při vhodném zapojení je velikost elektrického proudu tekoucího mezi emitorem a kolektorem řízena malými změnami proudu tekoucího mezi bází a emitorem. Používají se do kmitočtů 10 kHz. Na obrázku 2.4 je vidět schéma bipolárních tranzistorů [16].



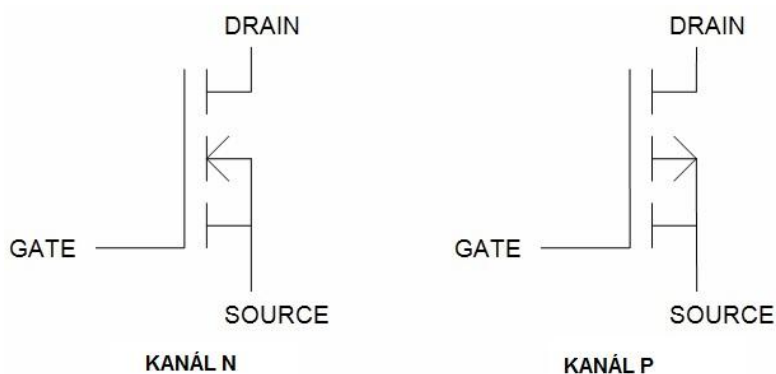
Obr. 2.4: Bipolární tranzistory

2.2.2 Tranzistory MOSFET

Tranzistory MOSFET jsou řízené polem, kde je vodivost kanálu mezi elektrodami Source a Drain ovládána elektrickým polem, napětím přiloženým mezi hradlo Gate a Source. Hradlo je od polovodiče odděleno vrstvou oxidu křemíku. Odtud je odvozen název tohoto typu tranzistoru. Tranzistory MOSFET vyžadují méně energie pro spínání ovládání, což je ideální pro rychlé přepínání a nízké spínací ztráty. Běžně se používají na vyšších

kmitočtech až do cca 1 MHz a jsou vhodné pro spínání vzestupných a sestupných hran v řádech několika nanosekund.

Moderní vysokonapěťové MOSFETy jsou dimenzovány na napětí až cca 2kV. Obecně platí, že výkonové tranzistory MOSFET vykazují malý spínací odpor, vysoké rychlosti přepínání a nižší požadavky na napájení oproti bipolárním tranzistorům. Schéma tranzistoru MOSFET zobrazuje obrázek 2.5 [16].



Obr. 2.5: Schéma tranzistoru MOSFET

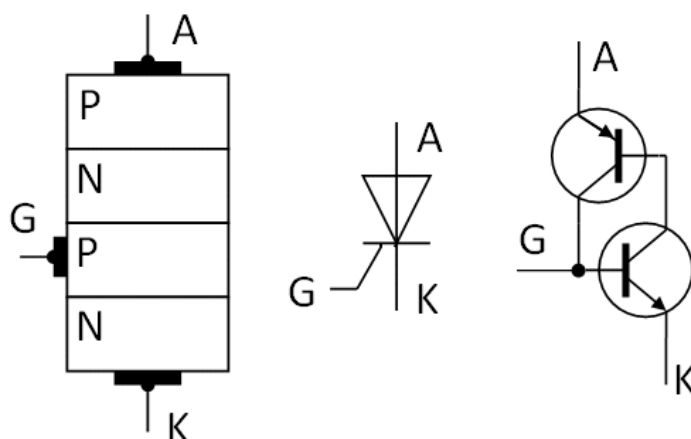
2.2.3 Tranzistory IGBT

Jedná se o bipolární tranzistory s izolovaným hradlem. IGBT je integrovaná kombinace unipolární a bipolární součástky. Tyto tranzistory jsou považovány za kompromis mezi tranzistory MOSFET a bipolárními tranzistory. Výhody těchto dvou skupin tranzistorů jsou implementovány do IGBT. Stejně jako MOSFET je IGBT řízený napětím, když jeho fyzikální struktura je podobná bipolárním tranzistorům. Tranzistory IGBT se aplikují na kmitočtech okolo 100 kHz. Vykazují nízké ztráty v sepnutém stavu, nízký budící výkon a mají větší rozsah pracovních napětí a proudu oproti tranzistorům MOSFET [17].

2.2.4 Tyristory

Tyristor je polovodičová součástka sloužící ke spínání elektrického proudu nejčastěji ve výkonových obvodech. Jde o čtyřvrstvou spínací součástku (obvykle PNPN), která nevykazuje usměrňovací účinky jako dioda, avšak je možné ji ovládat pomocí impulsu do řídicí elektrody Gate. Anoda a katoda se v obvodu nesmí zaměnit, zátěž je vždy připojena k anodě. Tyristory se využívají pro řízení velmi výkonných elektrických strojů např. k řízení motoru nebo v elektrárnách [15].

Náhradní schéma tyristoru a jeho schematickou značku zobrazuje obrázek 2.6.



Obr. 2.6: Schéma tyristoru

2.3 Existující elektroporační zařízení

V současné době jsou na trhu snadno dostupná elektroporační zařízení. Americká společnost BTX vyrábí zařízení pro generování impulzů vhodných pro transfekci buněk a bakteriální elektroporaci. Tato zařízení jsou v oblasti výzkumu použitelná pro elektrofuzi a pro bakteriální a kvasinkovou elektroporaci s nízkou energetickou náročností. Systém ECM 830 od společnosti BTX je zařízení pro generování obdélníkových pulzů a má nastavení pro nízké a vysoké napětí. Nastavení nízkého napětí umožňuje generovat pulzy do šířky 10 μs a napětí 500 V, zatímco nastavení vysokého napětí je schopné generovat pulzy o amplitudě až 3000 V s šířkou pulzu 1 μs . Jedná se o stejnosměrný pulzní systém, který využívá topologii vybíjení kondenzátorů. Bylo však prokázáno, že pro efektivnější elektroporaci jsou vhodnější systémy se střídavým pulzním elektrickým polem [18].

3 Vlastní koncepce zdroje

Tato část se zabývá vlastním návrhem vysokonapěťového zdroje a jeho řízením. Na základě popisu realizace generátorů impulzů vhodných pro elektroporaci byly parametry výstupních pulzů zvoleny následovně:

- bipolární obdélníkové pulzy
- amplituda pulzů 1700 V
- nastavitelný počet pulzů ve shluku
- nastavitelný kmitočet pulzů ve shluku
- nastavitelný kmitočet shluků

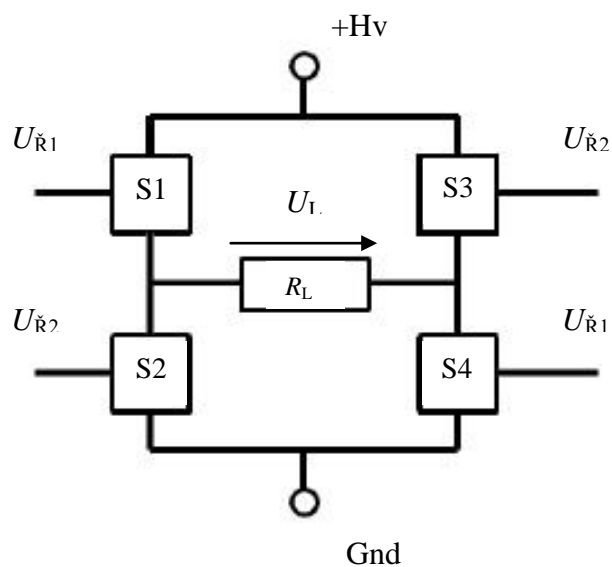
3.1 Hardwarová část

Celý návrh zdroje je rozdělen na několik částí a je realizován na několika deskách plošných spojů (DPS). Jejich návrh byl prováděn v programu Eagle.

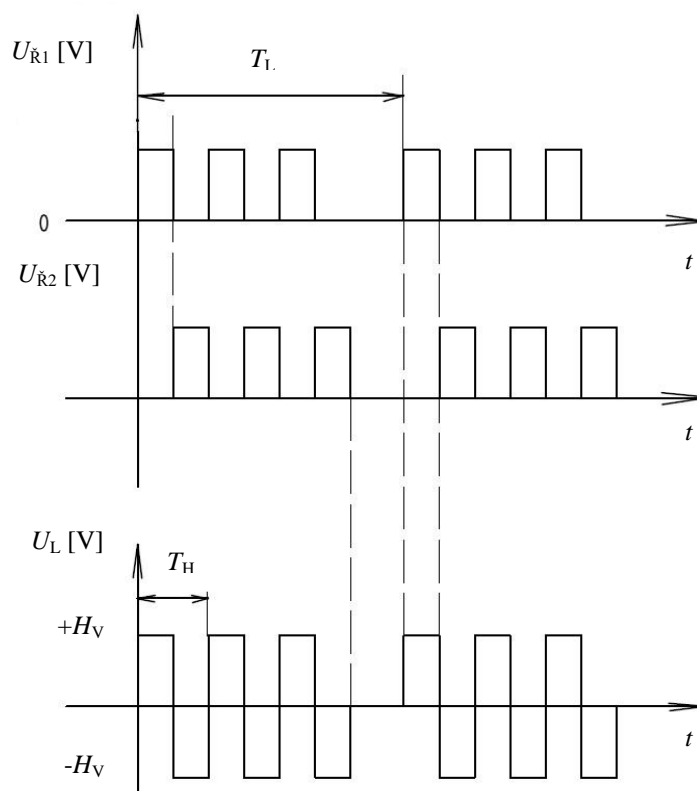
3.1.1 Deska výkonových spínačů

Hlavní částí této desky je takzvaný H-můstek, který se skládá ze čtyř spínačů, které se střídavě otevírají a zavírají. Vhodnými spínacími zařízeními pro elektroporační aplikace jsou výkonové MOSFET tranzistory nebo tranzistory IGBT, protože poskytují rychlé přepínací schopnosti. Realizace H-můstku je zobrazena na obrázku 3.1.

Bloky S1 – S4 reprezentují spínací jednotku, R_L je užitečná zátěž. Celý můstek pracuje ve 2 stavech tak, že v 1. stavu jsou otevřeny spínače S1 a S4, S2 a S3 jsou zavřeny a obvodem tak prochází kladné napětí U_{R1} přes zátěž R_L . Ve 2. stavu jsou otevřeny spínače S2 a S3, spínače S1 a S4 jsou zavřeny a zátěží tedy prochází záporné napětí U_{R2} . Tyto dva stavy se neustále střídají. Tím je zajištěno generování bipolárních pulzů. Průběhy jednotlivých napětí jsou zobrazeny na obrázku 3.2, kde T_L je celková perioda shluků pulzů a T_H je doba jednoho pulzu.



Obr. 3.1: Zapojení H-můstku



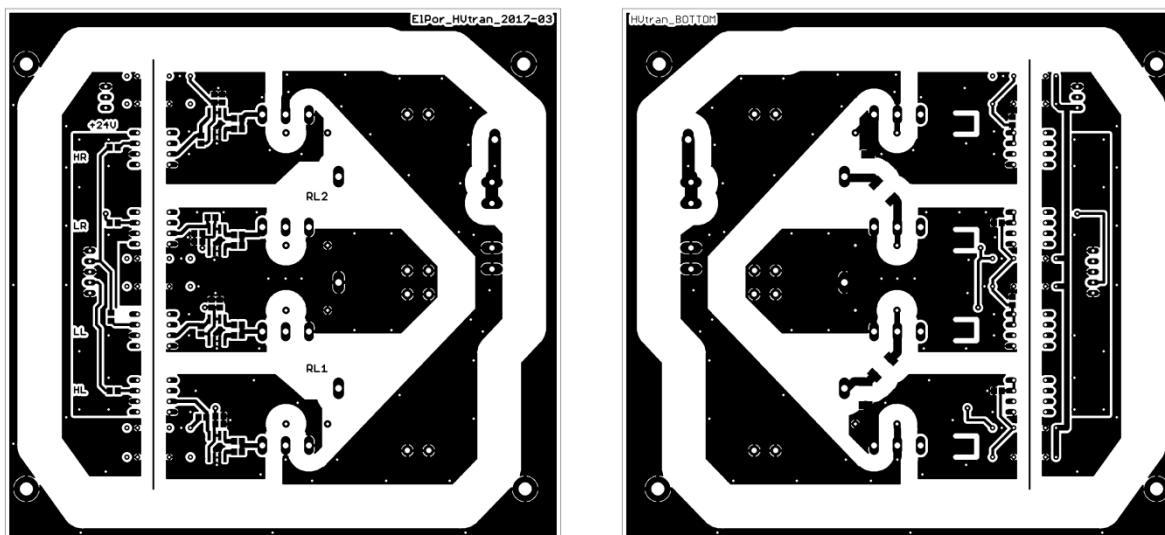
Obr. 3.2: Časové průběhy napětí na H-můstku

V praxi je nutné počítat s tím, že při přepínání spínacích prvků dochází ke zpoždění a výsledný průběh není ideální, jako na obrázku 3.2. Aby nedošlo ke zkratu při přepínání jednotlivých stavů na H-můstku, byla zvolena střída generovaných pulzů 25%, aby byla zajištěna dostatečně dlouhá doba na přechod mezi stavy 1 a 2.

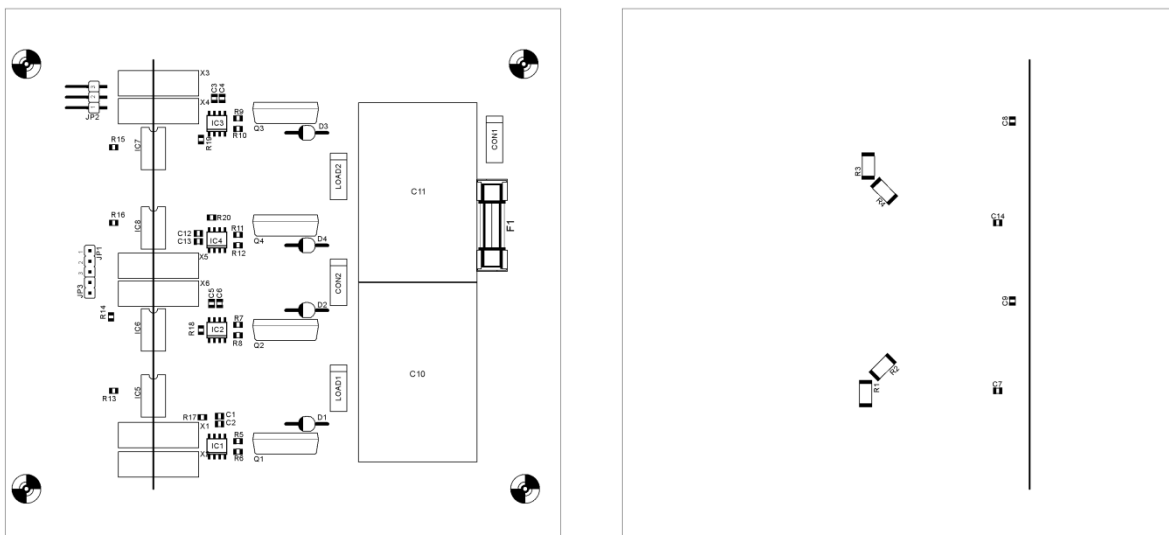
Schéma obvodů desky výkonových spínačů je zobrazeno v příloze A.1 a A.2.

Jako spínací prvek H-můstku byl zvolen výkonový tranzistor MOSFET s označením C2M1000170D, protože dokáže spínat napětí dle navrhovaných parametrů a má rychlé přepínací schopnosti [19]. Mezi elektrody Drain a Source byla připojena dioda SF 1600, která slouží jako ochranná dioda příslušného tranzistoru. Další důležitou součástí obvodu je budič tranzistoru, kterým se řídí spínání a vypínání tranzistoru. Na základě použitých tranzistorů byl vybrán budič NCP81074. O galvanické oddělení vysokonapěťové a nízkonapěťové části obvodu se stará optočlen HCNW2601OPTO. Mezi další obvody výkonové desky patří DC/DC měniče, které slouží ke změně napájecího napětí a napájení ostatních obvodů desky. Pro tyto účely byly vybrány měniče ITV2405SA a ITV2412SA, které mění napětí z přiváděných 24 V na 5 V, resp. 12 V. Zapojení ostatních pasivních prvků, mezi které patří rezistory a kondenzátory vychází z doporučených zapojení dle katalogových listů popisovaných obvodů [19] [20] [21] [22].

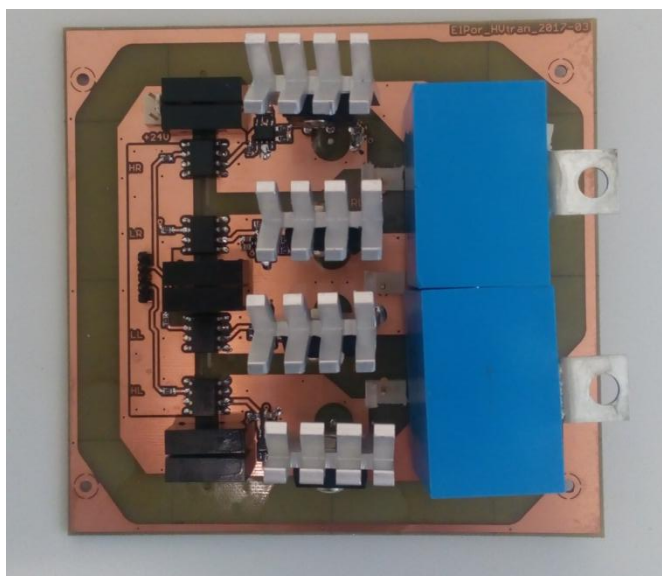
Výkonová deska byla navržena jako dvouvrstvá a je zobrazena na obrázku 3.3. Její osazovací výkres zobrazuje obrázek 3.4 a vyrobená a osazená deska je pak vidět na obrázku 3.5.



Obr. 3.3: DPS výkonové desky ze strany TOP (vlevo) a BOTTOM (vpravo), 55% původní velikosti



Obr. 3.4: Osazovací výkres výkonové desky, strana TOP (vlevo), strana BOTTOM (vpravo), 55% původní velikosti



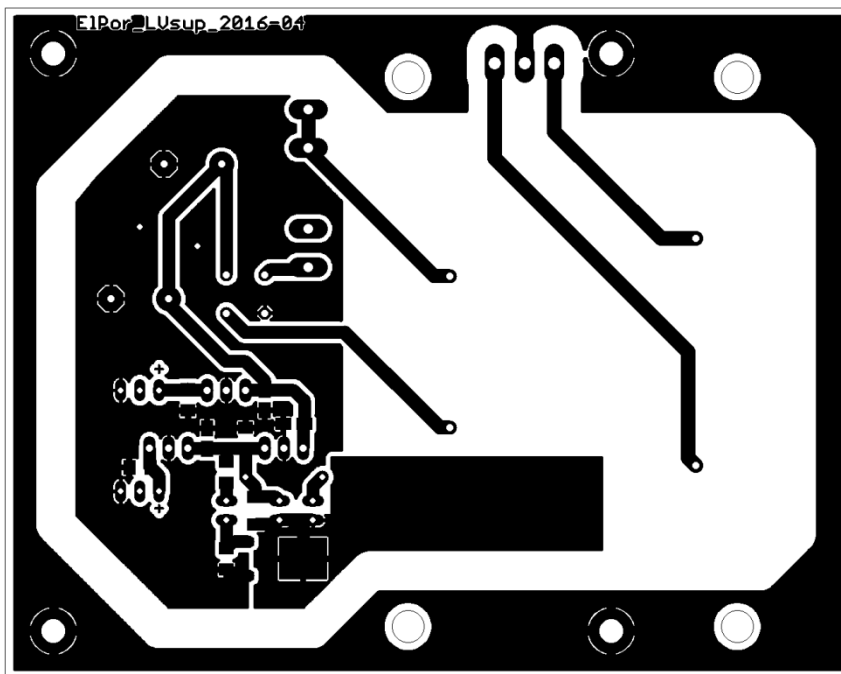
Obr. 3.5: Osazená deska výkonových spínačů

3.1.2 Deska pro napájení nízkonapětových částí

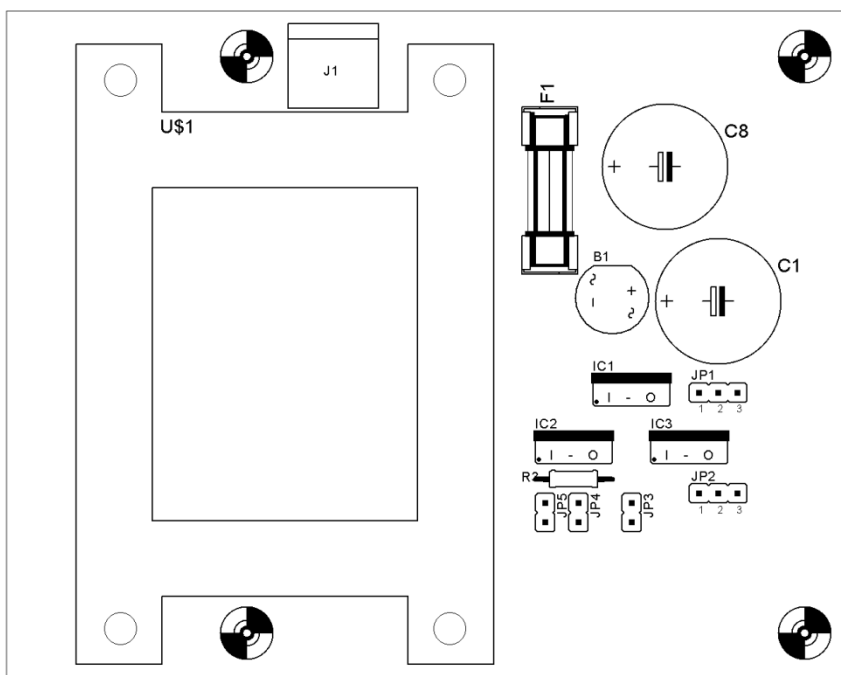
Druhou navrženou deskou je deska sloužící k napájení nízkonapětových částí obvodů. Schéma této desky je zobrazeno v příloze A.3. Obvod obsahuje transformátor pro změnu napětí, které je po usměrnění a vyfiltrování stabilizováno na požadovanou hodnotu. Konektor JP1 slouží pro napájení DC/DC měničů výkonové desky. Deska obsahuje i ochrannou část s MOSFET tranzistorem IRLR024N. Konektor JP3 slouží pro připojení

mikrospínače, kterým bude hlídáno, aby elektrody nebyly volně dostupné, když je zařízení v chodu. Konektor JP4 je pro připojení stykače a JP5 pro kontrolní LED diodu.

Deska byla navržena jako jednovrstvá a je zobrazena na obrázku 3.6. Její osazovací výkres zobrazuje obrázek 3.7.



Obr. 3.6: DPS pro napájení nízkonapětových částí ze strany BOTTOM

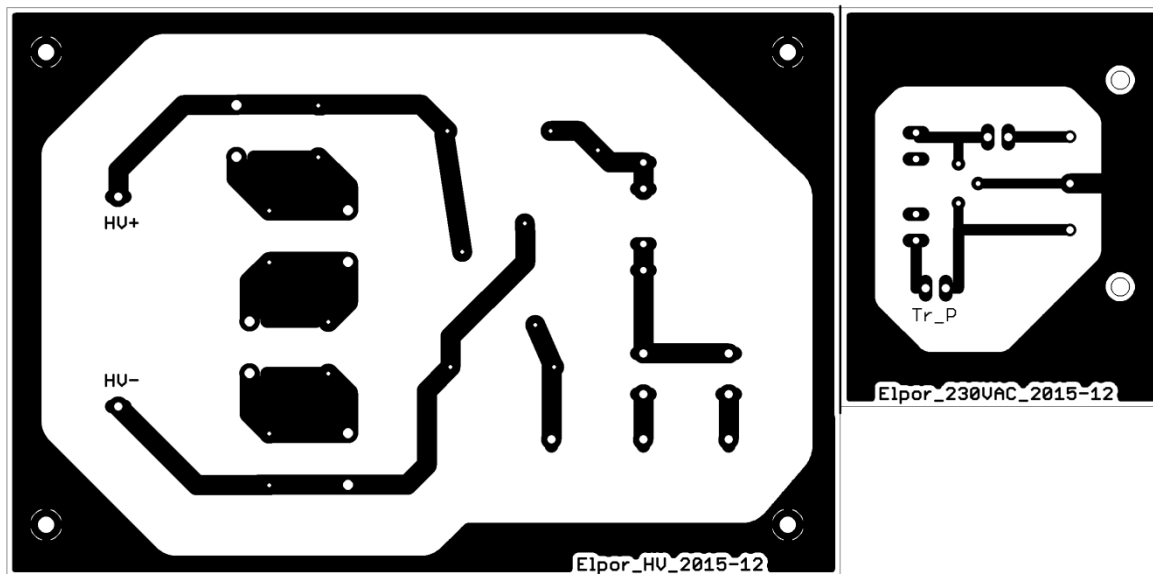


Obr. 3.7: Osazovací výkres desky pro napájení nízkonapětových částí, strana TOP

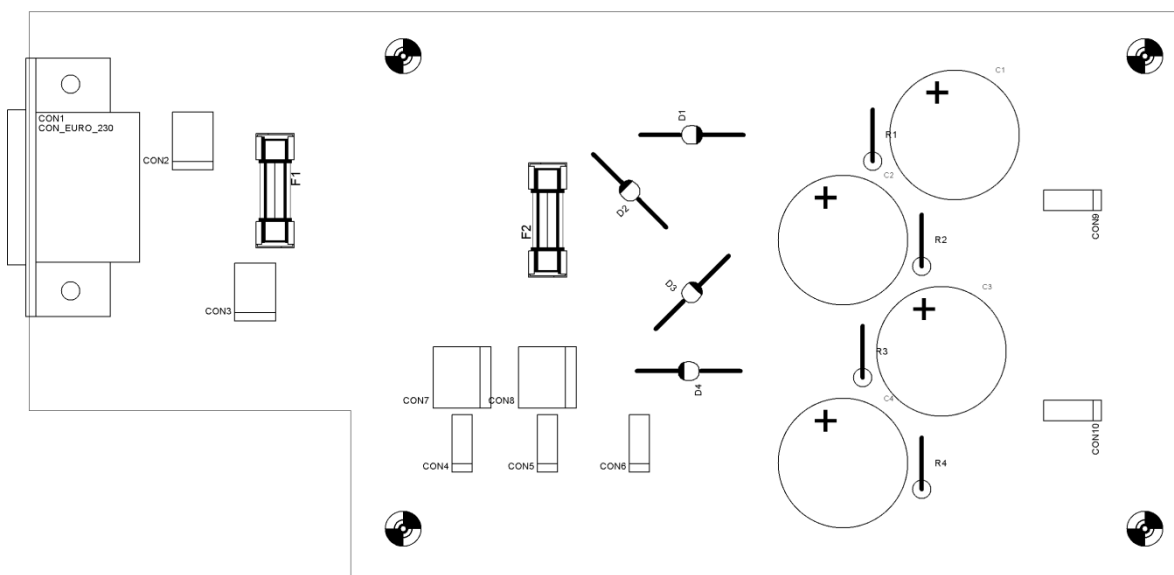
3.1.3 Vysokonapětiová deska

Další navrženou deskou je vysokonapětiová deska, jejíž schéma je zobrazeno v příloze A.4. Tato deska se skládá z usměrňovačů a filtračních kondenzátorů a slouží pro přivedení vysokého napětí 1700 V z transformátoru. Součástí je i malá přívodní deska 230 V, kde je jen pojistka a konektory do transformátoru.

Jedná se o jednovrstvou desku, která je zobrazena na obrázku 3.8 a její osazovací výkres je zobrazen na obrázku 3.9.



Obr. 3.8: DPS vysokonapětiové části ze strany BOTTOM



Obr. 3.9: Osazovací výkres vysokonapětiové desky

3.1.4 Zařízení pro generování impulzů

Jako zařízení pro generování impulzů posloužil vývojový kit Arduino Mega 2560. Na obrázku 3.10 je zobrazena ukázka tohoto vývojového kitu.

Arduino je otevřená elektronická platforma, založená na uživatelsky jednoduchém, flexibilním hardware (tvořen platformou Atmel) a software. Je určena pro všechny, kteří se zajímají o vytváření nových interaktivních objektů nebo prostředí.

Mikroprocesor na desce Arduina lze programovat pomocí speciálního Arduino programovacího jazyka ve vlastním Arduino vývojovém prostředí. Arduino projekty mohou být samostatné nebo mohou komunikovat se softwarem v počítači [23].



Obr. 3.10: Vývojový kit Arduino Mega 2560

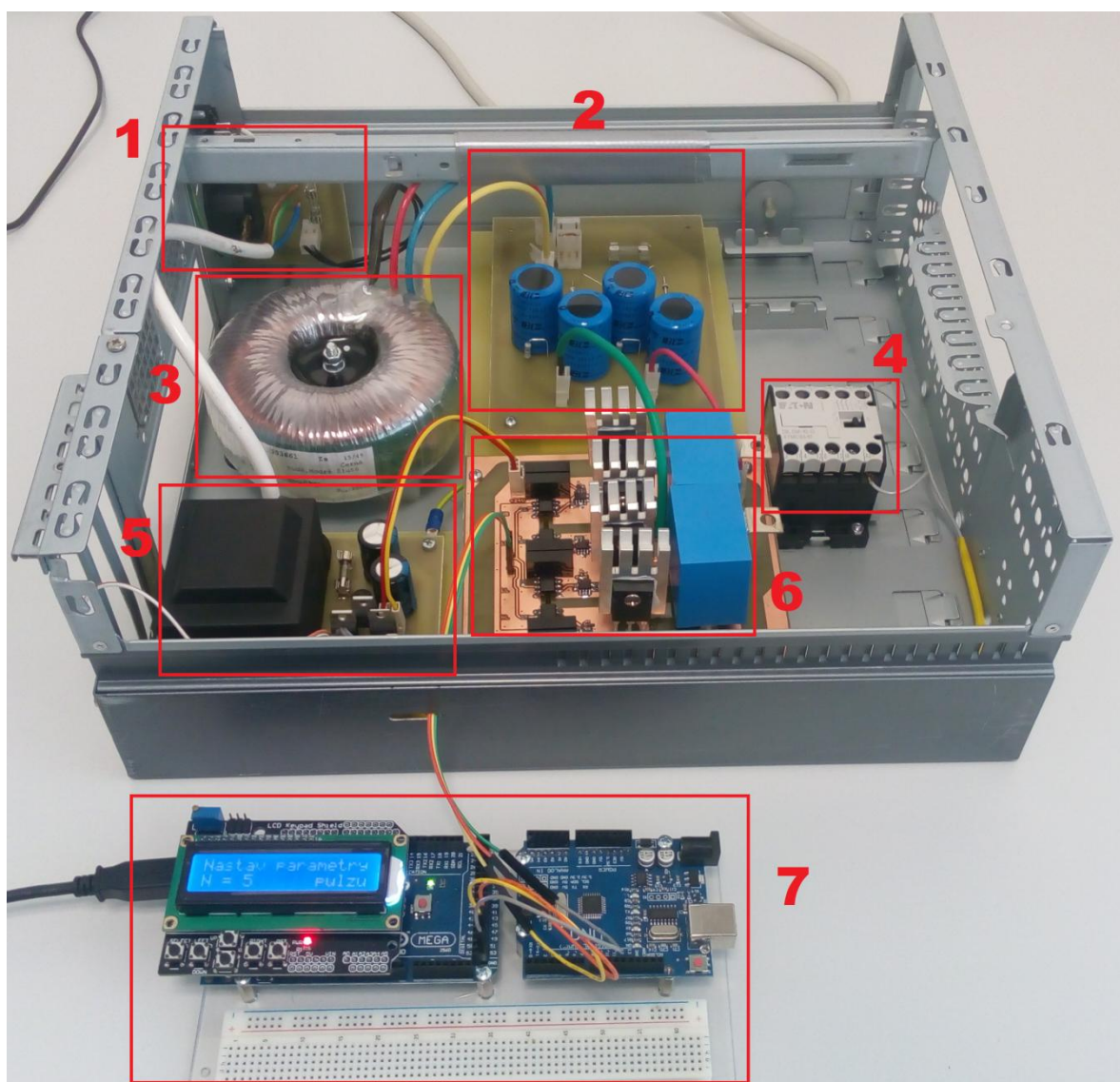
Pro možnosti ovládání generovaných pulzů a vizuální zobrazení bez použití počítače byl vývojový kit Arduino rozšířen o tzv. LCD Keypad Shield, který je zobrazen na obrázku 3.11. Jedná se o rozšiřující obvod, který obsahuje LCD displej programovatelná tlačítka, která slouží pro obsluhu programu.



Obr. 3.11: LCD Keypad Shield

3.1.5 Kompletní zapojení

Všechny desky kromě Arduino kitu s ovládáním byly umístěny do jednoho boxu, jak je zobrazeno na obrázku 3.12, kde část 1 je přívodní deska 230 V, část 2 je vysokonapěťová deska s usměrňovači a filtračními kondenzátory, třetí částí je transformátor dodávající vysoké napětí, část 4 je stykač, 5. část je deska pro napájení nízkonapěťových obvodů, 6. část je výkonová deska s tranzistory MOSFET a poslední 7. částí je vývojový kit Arduino s rozšiřujícím shieldem s LCD displejem a ovládacími tlačítky.



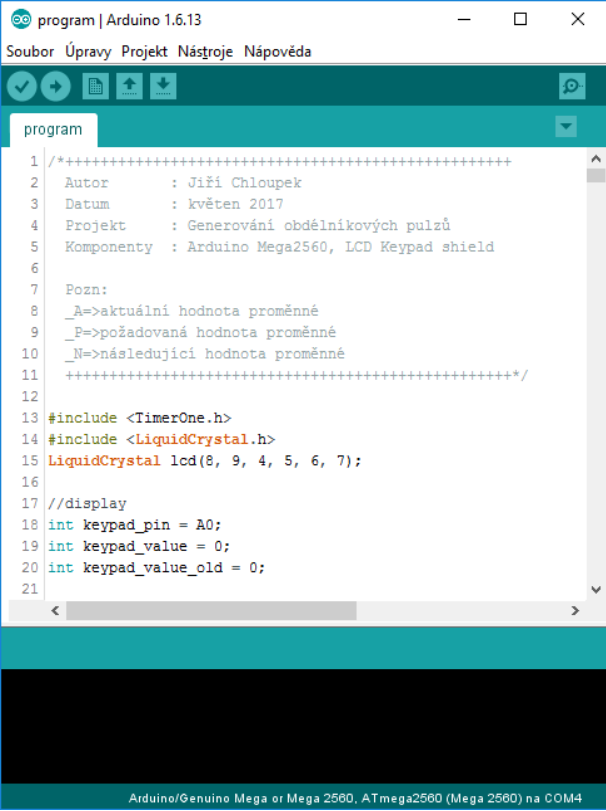
Obr. 3.12: Kompletní zapojení navrhovaného zdroje

3.2 Softwarová část

Pro programování vývojových kitů Arduino slouží vývojové prostředí Arduino IDE. Jedná se o software vzniklý z výukového prostředí Processing. Jazyk používaný pro programování Arduina se nazývá Wiring a je velmi podobný programování v jazyce C [23].

Základní strukturu tohoto programovacího jazyka tvoří 2 funkce, *setup()* a *loop()*. Funkce *setup()* je přípravná a provádí se jen jednou na začátku programu, funkce *loop()* je výkonová a provádí se neustále dokola. Pro správnou činnost programu je nutné použít obě tyto funkce. Funkce *setup()* by měla být volána až po deklaraci všech proměnných na začátku programu. Tato funkce se používá k nastavení pinů Arduino na vstup nebo výstup, nastavení parametrů sériové komunikace apod. Tělo funkce *loop()* pak obsahuje programový kód, který se opakuje v nekonečné smyčce. Tato funkce je jádrem všech programů Arduino a vykonává většinu činností [23].

Na obrázku 3.13 je zobrazena ukázka vývojového prostředí Arduino.



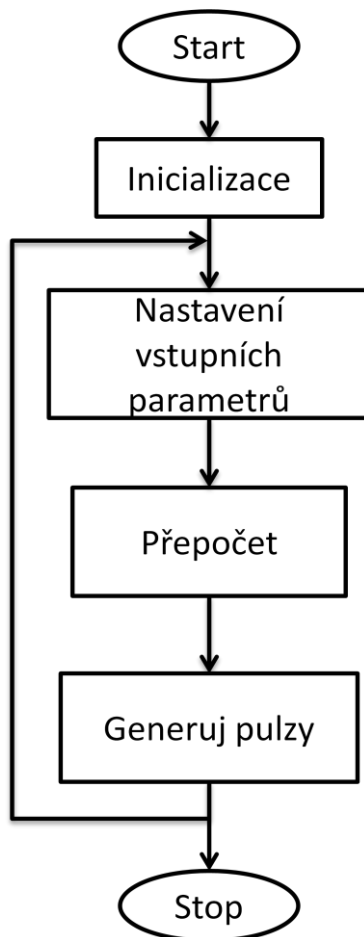
```
1 /*+++++
2 Autor   : Jiří Chloupek
3 Datum   : květen 2017
4 Projekt  : Generování obdélníkových pulzů
5 Komponenty : Arduino Mega2560, LCD Keypad shield
6
7 Pozn:
8 _A=>aktuální hodnota proměnné
9 _P=>požadovaná hodnota proměnné
10 _N=>následující hodnota proměnné
11 +++++*/
12
13 #include <TimerOne.h>
14 #include <LiquidCrystal.h>
15 LiquidCrystal lcd(8, 9, 4, 5, 6, 7);
16
17 //display
18 int keypad_pin = A0;
19 int keypad_value = 0;
20 int keypad_value_old = 0;
21
```

Arduino/Genuino Mega or Mega 2560, ATmega2560 (Mega 2560) na COM4

Obr. 3.13: Vývojové prostředí Arduino IDE

3.2.1 Program pro generování pulzů

Řídící program byl napsán v jazyce Wiring v prostředí Arduino IDE. Blokové schéma programu je zobrazeno na obrázku 3.14. Jednotlivé bloky programu jsou popsány níže.



Obr. 3.14: Blokové schéma programu

Blok Inicializace

V tomto bloku dochází k inicializaci LCD displeje, deklaraci proměnných a stavového automatu, nastavení časovače a příznaku přerušení. Dále se zde nastavují výstupní piny, na které jsou vysílány generované pulzy. Jsou to digitální piny číslo 47 a 49 vývojového kitu Arduino 2560. Část kódu, kde dochází k těmto nastavením, je zobrazena na obrázku 3.15.

```

13 #include <TimerOne.h>
14 #include <LiquidCrystal.h>
15 LiquidCrystal lcd(8, 9, 4, 5, 6, 7);
16
17 //display
18 int keypad_pin = A0;
19 int keypad_value = 0;
20 int keypad_value_old = 0;
21
22 int N = 2, Nj = 2, Nd = 0;
23 long TAJ = 0, TAd = 0, TAs = 0, TAt = 5, TAdt = 1, TAst = 0, TAm = 0;
24 long fHj = 0, fHd = 0, fHs = 0, fHt = 1, fHdt = 0;
25 long fLj = 0, fLd = 0, fLs = 2, fLt = 0, fLdt = 0;
26 long TA = 15000;
27 long FH = 1000;
28 long FL = 200;
29
30 char btn_push;
31 byte mainMenuPage = 1;
32 byte mainMenuPageOld = 1;
33 byte mainMenuTotal = 6;
34
35 // pulzy
36 const byte Pulzy_pin1 = 47; // pin pro generování pulzů
37 const byte Pulzy_pin2 = 49; // pin pro generování pulzů
38 long sirka_pulzu = 50;
39 unsigned int pocet_pulzu_A = 1;
40 unsigned int pocet_pulzu_P = 2;
41 unsigned int pocet_pauz_A = 1;
42 unsigned int pocet_pauz_P = 2;
43 unsigned int pocet_opakovani_A = 1;
44 unsigned int pocet_opakovani_P = 2;
45 unsigned int pocitadlo_pulzu = 1;
46 unsigned int pocitadlo_pauz = 1;
47 unsigned int pocitadlo_opakovani = 1;
48
49 volatile boolean start = false;
50 volatile boolean zastav = false;
51 volatile boolean konec = false;
52
53 enum Stav { READY, STAV1, STAV2, STAV3, STAV4, PAUZA, RESET }; // stavový automat
54 volatile Stav stav_A = READY;
55 volatile Stav stav_N = READY;
56
57 void setup()
58 {
59 //display
60 lcd.begin(16, 2); //Inicializace LCD displeje 2x16
61 MainMenuDisplay();
62 delay(1000);
63
64 // pulzy
65 pinMode(Pulzy_pin1, OUTPUT); // nastavení pinu jako výstupní
66 pinMode(Pulzy_pin2, OUTPUT);
67 Timer1.initialize(sirka_pulzu); // nastavení časovače
68 Timer1.attachInterrupt( Krok ); // při přerušení skok do podprogramu
69 }

```

Obr. 3.15: Inicializace displeje, časovače a deklarace proměnných

Blok Nastavení vstupních parametrů

Zde dochází k nastavování vstupních parametrů generovaných pulzů uživatelem. Nastavuje se počet pulzů ve shluku (N), celková doba aplikace pulzů (T_A), kmitočet pulzů ve shluku (f_H) a kmitočet shluků pulzů (f_L). Podrobný návod pro zadávání vstupních parametrů pulzů je popsán v kapitole 4.

Na obrázku 3.16 je vidět část kódu, kde dochází k nastavení jednoho ze vstupních parametrů, konkrétně proměnné N , tedy počtu pulzů ve shluku. Po vypsání textu na displeji program čeká na stisk tlačítka a po stisknutí vyhodnocuje, které tlačítko bylo stisknuto. Z části kódu vyplývá, že při stisknutí tlačítka UP se přičítají hodnoty N podle aktuální pozice. Jako ukazatel pozice slouží pomocná proměnná s . Pokud se její hodnota rovná 1, mění se jednotky počtu pulzů a pokud se její hodnota rovná 2, dochází ke změně desítek N . Stisknutím tlačítka DOWN dochází k podobným dějům s tím rozdílem, že na rozdíl od přičítání počtu pulzů jsou pulzy odečítány. Tlačítka LEFT a DOWN se mění hodnota proměnné s , čímž je zajištěna změna pozice mezi jednotkami a desítkami. Zároveň se mění pomocná proměnná ukazatele kurzoru. Ten slouží pro indikaci aktuální pozice na displeji. Následně dochází k výpisu proměnné N na displej a zobrazení kurzoru.

Blok Přepoččet

V tomto bloku se zadané parametry přepočítávají na vnitřní proměnné, se kterými program následně pracuje při generování pulzů. První vnitřní proměnnou je *sirka_pulzu*. Jak již její název napovídá, jedná se o šířku (délku) generovaného pulzu a její hodnota je vypočítána pomocí rovnice (3.1). Jelikož program počítá se šířkou pulzu v mikrosekundách, výsledná hodnota je vynásobena 1000000.

$$sirka_pulzu = \frac{1}{4f_H} . \quad (3.1)$$

Další vnitřní proměnnou je *pocet_pulzu*. Tato proměnná se rovná zadávané hodnotě N , což je počet pulzů ve shluku.

Následuje vnitřní proměnná *pocet_pauz*. Slouží pro výpočet délky pauzy mezi jednotlivými shluky pulzů a její hodnota je vypočítána dle rovnice (3.2).

$$pocet_pauz = \frac{4f_H}{f_L} - 4N . \quad (3.2)$$

Poslední vnitřní proměnnou je *pocet_opakovani*. Hodnota proměnné se vypočítá dle rovnice (3.3) a slouží pro počet opakování shluků pulzů.

```

127 void MenuA() // podmenu pro změnu parametru N
128 {
129     lcd.clear(); // vymaž displej
130     lcd.setCursor(0, 0); // nastav kurzor na počátek
131     lcd.print("Zmena parametru"); // vypiš text
132     lcd.setCursor(0, 1); // kurzor na začátek druhého řádku
133     lcd.print("N="); // vypiš text
134     lcd.setCursor(11, 1); // kurzor na pozici 11, řádek 2
135     lcd.print("pulzu"); // vypiš text
136     int s = 1, cur = 9; // pomocné proměnné
137
138     while (ReadKeypad() != 'S') // dokud nestisknu SELECT
139     {
140         WaitBtnRelease(); // čekání na stisk tlačítka
141         if (keypad_value < 195 & keypad_value > 50 & s == 1) // stisknuto UP + pozice jednotek
142         {
143             Nj++; // přičítej jednotky N
144             if (Nj > 9)
145             { Nj = 0; }
146         }
147
148         if (keypad_value < 380 & keypad_value > 195 & s == 1) // stisknuto DOWN + pozice jednotek
149         {
150             Nj--; // odečítej jednotky N
151             if (Nj < 0)
152             { Nj = 9; }
153         }
154
155         if (keypad_value < 555 & keypad_value > 380 ) // stisknuto LEFT
156         {
157             s++; // inkrementuj pomocnou proměnou
158             if (s > 2)
159             { s = 2; }
160             cur--; // sniž hodnotu ukazatele kurzoru
161             if (cur < 8)
162             { cur = 8; }
163         }
164
165         if (keypad_value < 50 ) // stisknuto RIGHT
166         {
167             s--; // dekrementace pomocné proměně
168             if (s < 1)
169             { s = 1; }
170             cur++; // inkrementace ukazatele kurzoru
171             if (cur > 9)
172             { cur = 9; }
173         }
174
175         if (keypad_value < 195 & keypad_value > 50 & s == 2) // stisknuto UP + pozice desítek
176         {
177             Nd++; // přičítej desítky N
178             if (Nd > 1)
179             { Nd = 0; }
180         }
181
182         if (keypad_value < 380 & keypad_value > 195 & s == 2) // stisknuto DOWN + pozice desítek
183         {
184             Nd--; // odečítej desítky N
185             if (Nd < 0)
186             { Nd = 1; }
187         }
188
189         delay(50);
190         lcd.setCursor(9, 1); // nastav kurzor na pozici
191         lcd.print(Nj); // vypiš hodnotu jednotek
192         lcd.setCursor(8, 1); // kurzor o 1 vlevo
193         lcd.print(Nd); // vypiš hodnotu desítek
194         N = 10 * Nd + Nj; // výsledný počet pulzů
195         lcd.setCursor(cur, 1); // nastav kurzor na pozici ukazatele
196         lcd.cursor(); // zobraz kurzor podle akt. pozice
197     }
198 }
199
200 //----- End of MenuA() -----
201

```

Obr. 3.16: Nastavení parametru počtu pulzů

$$pocet_opakovani = T_A \times f_L . \quad (3.3)$$

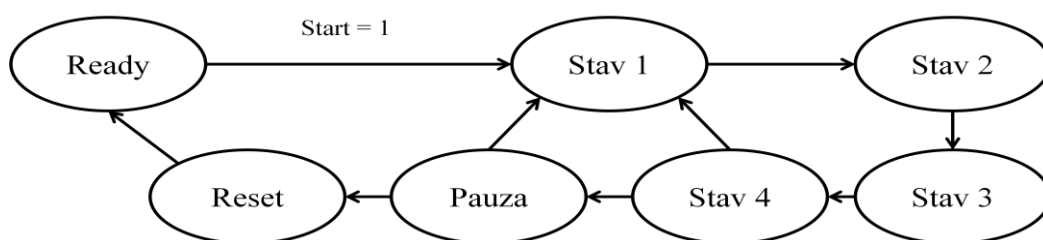
Jelikož je vstupní proměnná T_A zadávána v mikrosekundách, je nutné ji převést do základních jednotek – tedy podělit 1000000.

Blok Generuj pulzy

Generování bipolárních pulzů probíhá při přerušení hlavního programu ve funkci *Krok()*, která je realizována pomocí stavového automatu. Zjednodušený diagram stavového automatu je na obrázku 3.17.

Automat čeká ve stavu *Ready* na změnu proměnné *start*, ke které dojde výběrem položky START hlavního menu zobrazovaného na LCD displeji, viz kapitola 4. Při startu dojde k přepsání aktuálně nastavených hodnot na nově požadované hodnoty zadané uživatelem a automat prochází jednotlivými stavy. Ve *Stavu 1* nastaví na výstupní pin č. 47 hodnotu log1, ve *Stavu 2* vrátí pin č. 47 do log0, ve *Stavu 3* nastaví log1 na druhý výstupní pin (č. 49) a ve *Stavu 4* vrátí tento pin do log0. Střída generovaného signálu je tedy 25%. Tyto 4 stavy se opakují podle nastaveného počtu pulzů ve shluku. Následuje stav *Pauza*, ve kterém se vygeneruje pauza mezi shluky pulzů a tato sekvence se opakuje počínaje *Stavem 1* podle nastaveného počtu opakování. Po provedení požadovaného počtu opakování nebo při vynuceném výběru položky STOP hlavního menu přejde automat do stavu *Reset*, ve kterém jsou oba výstupní piny nastaveny do log0. Následující stav je *Ready*, kde automat opět čeká na povolení startu generování pulzů.

Funkce *Krok()*, ve které jsou generovány pulzy je zobrazena na obrázku 3.18.



Obr. 3.17: Stavový automat

```

759 void Krok() { // funkce pro generování pulzů
760     if (zastav == true) { // při stisku STOP skoč do stavu RESET
761         stav_A = RESET;
762     }
763     else {
764         if (stav_A == PAUZA && stav_N == RESET) { // pokud jsem v těchto stavech-> konec generování
765             konec = true;
766         }
767         stav_A = stav_N;
768     }
769
770     if (stav_A == READY && start == true) { // při stisku START nastav požadované hodnoty a generuj pulzy
771         start = false;
772         Timer1.setPeriod(sirka_pulzu); // nastavení časovače na hodnotu šířky pulzu
773         pocet_pulzu_A = pocet_pulzu_P; // nastavení požadovaného počtu pulzů
774         pocet_pauz_A = pocet_pauz_P; // nastavení požadované délky pauzy
775         pocet_opakovani_A = pocet_opakovani_P; // nastavení požadovaného počtu opakování
776         stav_N = STAV1; // následující stav je STAV1
777     }
778
779     else if (stav_A == STAV1) { // pokud jsem ve STAVU1
780         PORTL |= B00000100; // první výstupní pin do log1
781         stav_N = STAV2; // následuje STAV2
782     }
783
784     else if (stav_A == STAV2) { // pokud jsem ve STAVU2
785         PORTL &= B11111011; // první výstupní pin do log0
786         stav_N = STAV3; // následuje STAV3
787     }
788
789     else if (stav_A == STAV3) { // pokud jsem ve STAVU3
790         PORTL |= B00000001; // druhý výstupní pin do log1
791         stav_N = STAV4; // následuje STAV4
792     }
793
794     else if (stav_A == STAV4) { // pokud jsem ve STAVU4
795         PORTL &= B11111110; // druhý výstupní pin do log0
796         if (pocitadlo_pulzu >= pocet_pulzu_A) // pokud se provedl požadovaný počet pulzů
797             stav_N = PAUZA; // následuje pauza
798         else {
799             stav_N = STAV1; // jinak generuj další pulz
800             pocitadlo_pulzu++;
801         }
802     }
803
804     else if (stav_A == PAUZA) { // pauza mezi shluky
805         if (pocitadlo_pauz >= pocet_pauz_A) { // pokud se provedl požadovaný počet pauz
806             if (pocitadlo_opakovani >= pocet_opakovani_A) { // i opakování
807                 stav_N = RESET; // následuje reset
808             }
809             else { // jinak opakování celé sekvence, STAV1
810                 pocitadlo_pauz = 1;
811                 pocitadlo_pulzu = 1;
812                 pocitadlo_opakovani++;
813                 stav_N = STAV1;
814             }
815         }
816     }
817     else { // pokud není požadovaný počet pauz
818         pocitadlo_pauz++; // přidej další pauzu
819         stav_N = PAUZA;
820     }
821 }
822
823 else if (stav_A == RESET) { // při stavu RESET resetuj počítadla a výstupy do log0
824     pocitadlo_pulzu = 1;
825     pocitadlo_pauz = 1;
826     pocitadlo_opakovani = 1;
827     PORTL &= B11111011; //pin 47 LO
828     PORTL &= B11111110; //pin 49 LO
829     zastav = false;
830     stav_N = READY; // čekej ve stavu READY
831 }
832 } //----- End of Krok() -----

```

Obr. 3.18: Funkce *krok()* sloužící pro generování pulzů

4 Uživatelský manuál

Tato kapitola se zabývá sepsáním manuálu pro snadnější obsluhu uživatelem.

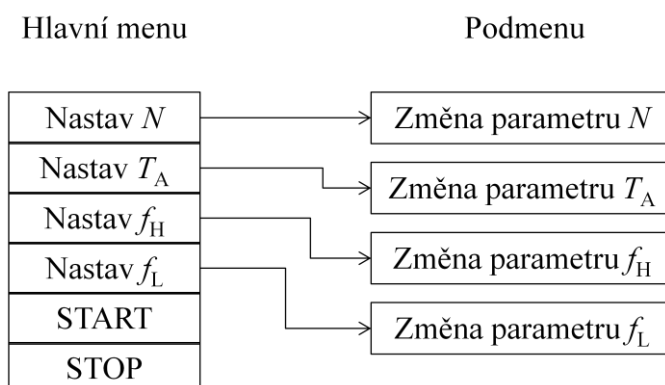
Po připojení napájení a inicializaci LCD se na displeji objeví první položka hlavního menu a uživatel je vyzván k nastavení parametrů generovaných pulzů, viz obrázek 4.1.



Obr. 4.1: Zobrazované hodnoty po zapnutí displeje

Pod displejem se nachází 6 tlačítek, která slouží pro ovládání, nastavování požadovaných hodnot a spuštění generování pulzů. Úplně vlevo se nachází tlačítko SELECT, které slouží pro potvrzení a výběr hodnoty. Následují 4 tlačítka – LEFT, UP, DOWN a RIGHT, která umožňují pohyb v menu. Posledním tlačítkem je RST, což je resetovací tlačítko. Při jeho stisku dojde k restartování celého Arduina a program běží od začátku s výchozími hodnotami.

Hlavní menu obsahuje celkem 6 položek, kterými se lze dostat do 4 podmenu. Jejich struktura je zobrazena na obrázku 4.2.



Obr. 4.2: Struktura menu a podmenu

K listování mezi položkami hlavního menu slouží tlačítka UP a DOWN, kterými se cyklicky mění jednotlivé položky. Pro výběr položky nebo změnu parametru je třeba stisknout tlačítko SELECT.

Pokud chce uživatel změnit počet generovaných pulzů, musí v hlavním menu nalistovat na položku N a stisknout tlačítko SELECT, čímž se dostane do podmenu pro změnu příslušného parametru. Zde se pomocí tlačítek UP a DOWN mění hodnota proměnné N , tedy počtu pulzů. Tlačítka LEFT a RIGHT se mění pozice pro nastavování jednotek a desítek pulzů. Aktuální pozice je zobrazena kurzorem (podtržením), viz obrázek 4.3. Maximální počet bipolárních pulzů, který je možné zadat je 19, hodnotu 0 nemá smysl zadávat. Po nastavení požadovaného počtu pulzů se stisknutím tlačítka SELECT provede potvrzení nové hodnoty a návrat do hlavního menu.



Obr. 4.3: Podmenu pro změnu počtu pulzů

Obdobně funguje i změna ostatních nastavovaných parametrů pro generované pulzy. Proměnná f_H slouží pro zadání kmitočtu pulzů ve shluku a je zadávána v hertzech. Její maximální hodnota lze nastavit na 29999 Hz. Další nastavitelnou proměnnou je f_L , což je kmitočet shluků pulzů. Je zadávána rovněž v hertzech a její maximální nastavitelná hodnota je 29999 Hz. Následuje nastavení doby aplikace pulzů T_A . Její hodnota je zadávána v mikrosekundách. Maximální dobu aplikace je možné nastavit na hodnotu 9999999 μs , tedy přibližně 10 s. Tuto hodnotu je vhodné nastavovat v násobcích periody shluků T_L , což je převrácená hodnota kmitočtu shluků ($T_L = f_L^{-1}$).

Po nastavení požadovaných parametrů pulzů je třeba pro spuštění generování nalistovat v hlavním menu položku *START* a potvrdit spuštění tlačítkem SELECT. Na displeji se objeví text „Spoustim !“ a na výstupní piny, kterými jsou digitální piny Arduina č. 47 a 49 jsou vysílány pulzy dle nastavených parametrů. Po skončení generování pulzů je na displej vypsán text „Konec aplikace !“, který zůstane vypsán. Pro návrat do hlavního menu musí uživatel stisknout tlačítko UP nebo DOWN. Následně může změnit parametry pulzů nebo znovu spustit generování se stejnými vstupními hodnotami.

Poslední položkou hlavního menu je *STOP*. Tato položka slouží pro vynucené zastavení generování pulzů. Pokud během generování pulzů dojde k neočekávanému

chování programu, je možné výběrem položky STOP program zastavit. Po jejím vybrání je na displeji zobrazena informace o zastavení generování pulzů.

5 Měření

Tato kapitola se zabývá měřením navrženého zdroje a testováním jeho vlastností. Měření probíhalo ve školních laboratořích.

5.1 Měření řídicích signálů

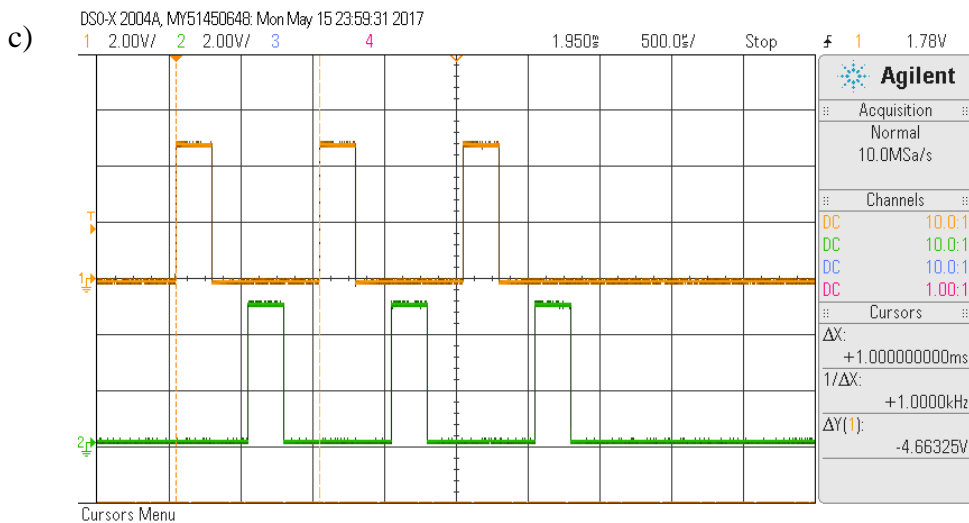
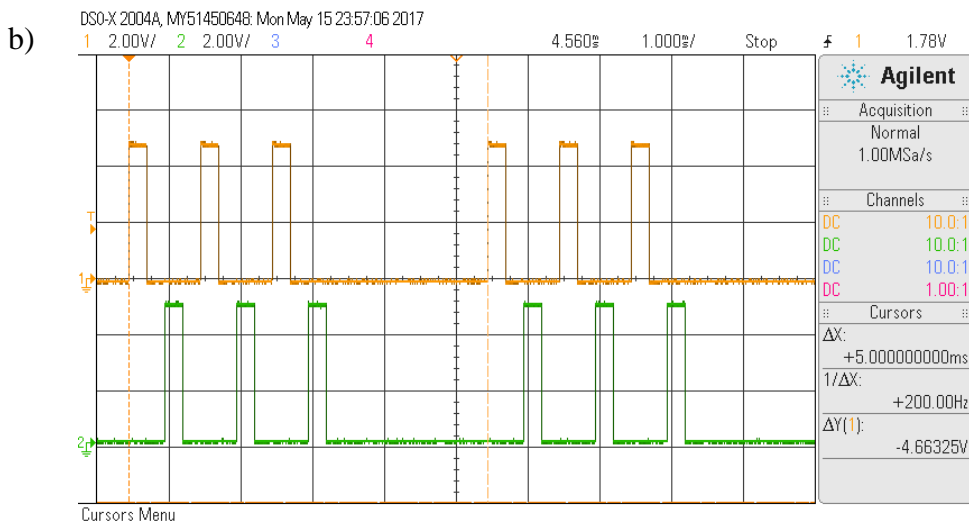
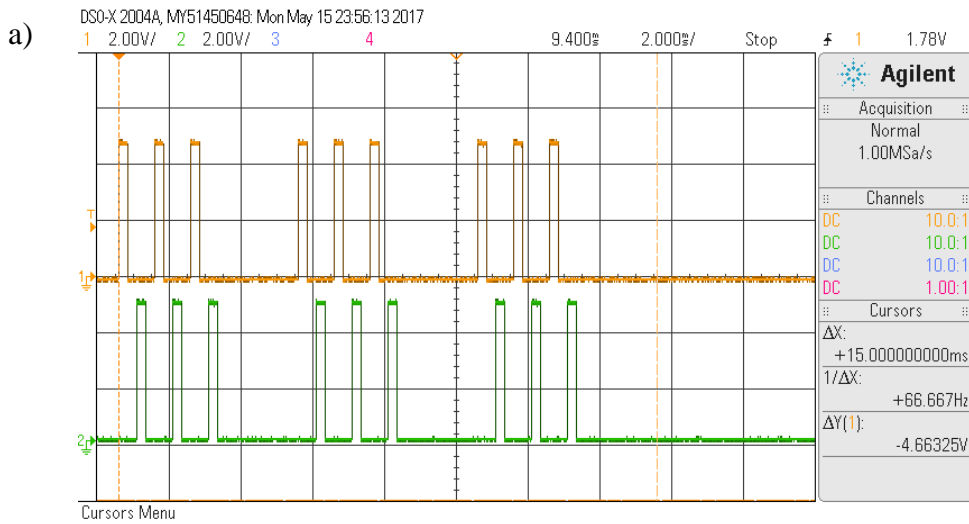
Nejprve byly měřeny generované řídicí impulzy na výstupech Arduina pomocí osciloskopu. Sondy osciloskopu byly připojeny na výstupní piny Arduina, na které byly odesílány generované pulzy.

Časové průběhy pro počet pulzů $N = 3$, dobu aplikace $T_A = 15000 \mu\text{s}$, kmitočet pulzů ve shluku $f_H = 1000 \text{ Hz}$ a kmitočet shluků $f_L = 200 \text{ Hz}$ jsou zobrazeny na obrázku 5.1, kde jsou v části a) vidět 3 shluky po 3 pulzech na obou kanálech. Kanál 1 zobrazuje pulzy z výstupního pinu 47 a kanál 2 zobrazuje pulzy z výstupního pinu 49. Pomocí kurzorů je zde vyznačena doba aplikace pulzů. Na obrázku 5.1b) je zobrazeno přiblížení na jednotlivé shluky pulzů a kurzory je zde vyznačena perioda shluků. V pravé dolní části obrázku je vidět kmitočet shluků, který je 200 Hz , což odpovídá zadané hodnotě. Obrázek 5.1c) zobrazuje detail jednoho shluku pulzů, kde byl pomocí kurzorů zjištěn kmitočet pulzů ve shluku, který odpovídá zadané hodnotě – tedy 1000 Hz .

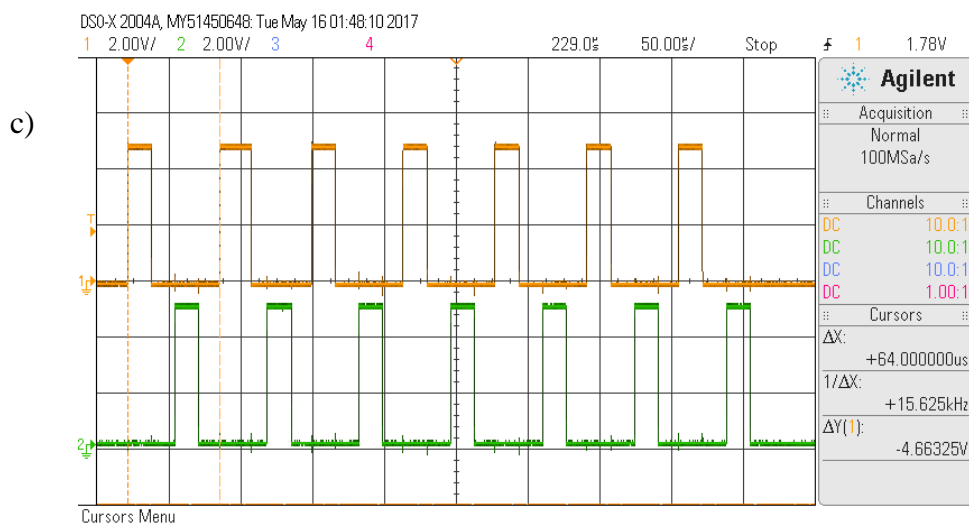
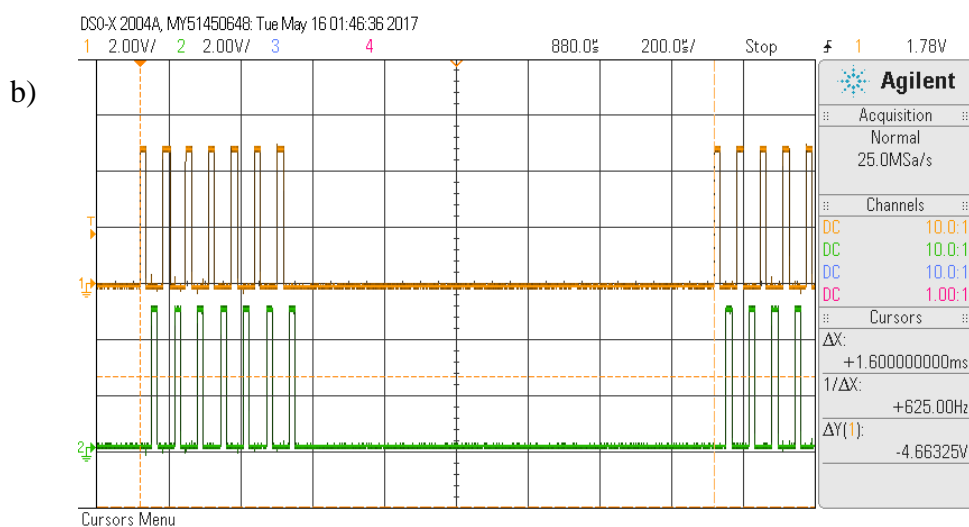
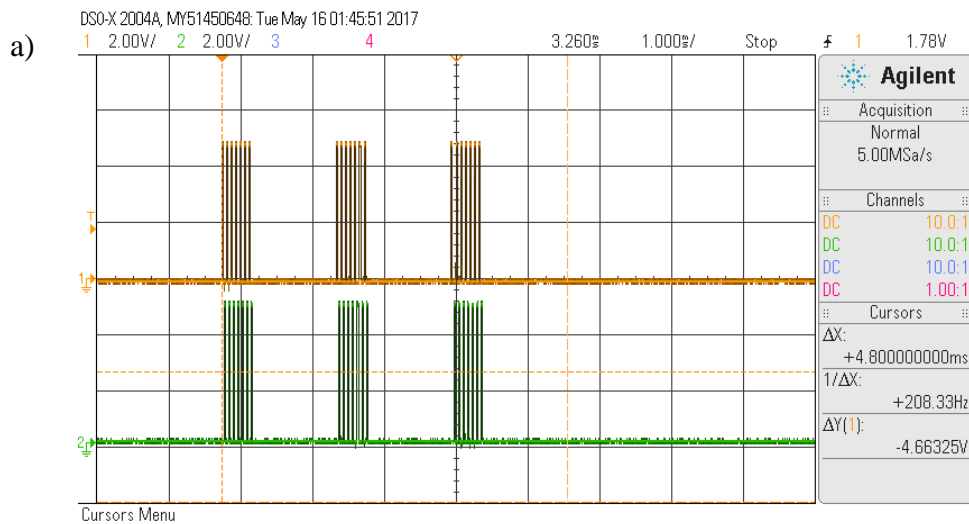
Pro zadané parametry pulzů $N = 7$, $T_A = 4800 \mu\text{s}$, $f_H = 15625 \text{ Hz}$ a $f_L = 625 \text{ Hz}$ jsou výsledné časové průběhy zobrazeny na obrázku 5.2. V části a) jsou vidět 3 shluky pulzů s vyznačenou dobou aplikace kurzory, část b) zobrazuje kmitočet shluků a část c) zobrazuje detail jednoho shluku, kde je vidět vždy 7 pulzů na každém kanálu, dle nastavené hodnoty. Z těchto obrázků vyplývá, že generované pulzy odpovídají nastaveným parametrům.

Na obrázku 5.3 jsou zobrazeny průběhy pro nastavení $N = 12$, $T_A = 4000 \mu\text{s}$, $f_H = 25000 \text{ Hz}$ a $f_L = 1000 \text{ Hz}$. V části a) jsou vidět 4 shluky pulzů s vyznačenou dobou aplikace, část b) zobrazuje kmitočet shluků, který je přibližně 919 Hz a liší se tedy od hodnoty nastavené uživatelem. V části c) je vidět jeden shluk pulzů. Počet pulzů ve shluku odpovídá nastavené hodnotě. Dále byl kurzory změřen kmitočet pulzů ve shluku. Jeho hodnota byla 25641 Hz . Tato hodnota neodpovídá zadanému kmitočtu.

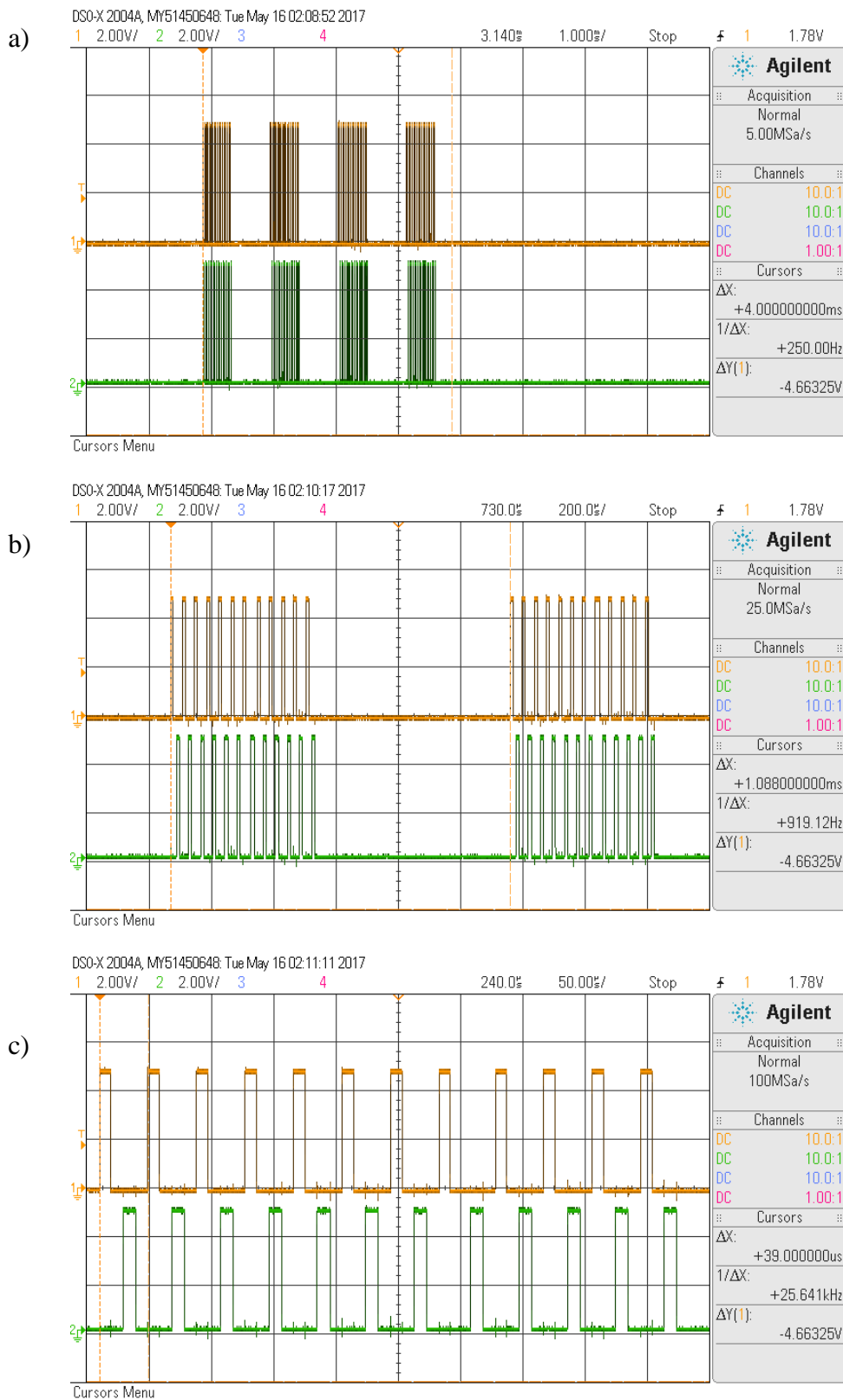
Časové průběhy pro další nastavení jednotlivých parametrů generovaných pulzů jsou zobrazeny v přílohách B.1 – B.5.



Obr. 5.1: Průběhy řídicích pulzů pro hodnoty $N = 3$, $T_A = 15000$, $f_H = 1000$, $f_L = 200$



Obr. 5.2: Průběhy řídicích pulzů pro hodnoty $N = 7$, $T_A = 4800$, $f_H = 15625$, $f_L = 625$



Obr. 5.3: Průběhy řídicích pulzů pro hodnoty $N = 12$, $T_A = 4000$, $f_H = 25000$, $f_L = 1000$

5.2 Měření na desce výkonových spínačů

Další měření probíhalo na výkonové desce s H-můstkem. Nejprve bylo měřeno zpoždění jednotlivých obvodů oproti řídicímu signálu a náběžné a sestupné hrany. Poté došlo k měření výstupních bipolárních pulzů na zátěži.

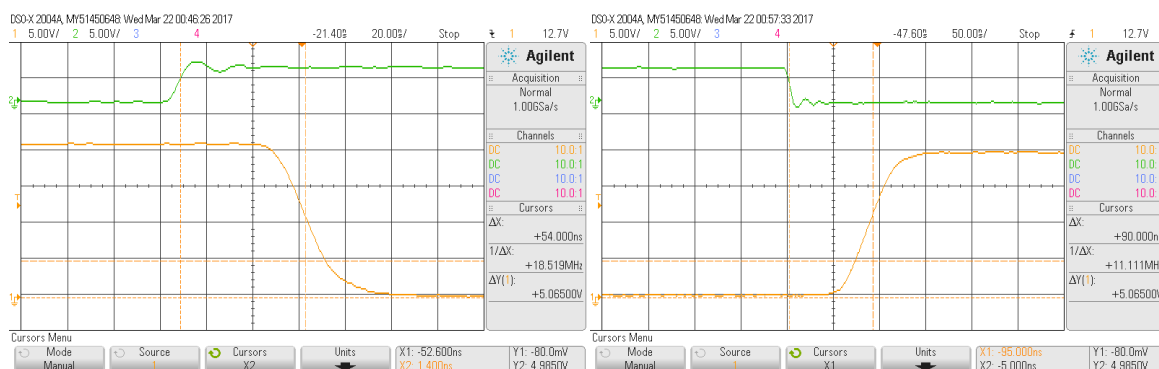
5.2.1 Měření na pravé horní části H-můstku

Zpoždění a náběžné a sestupné hrany byly měřeny na části H-můstku označené HR, tedy pravá horní část.

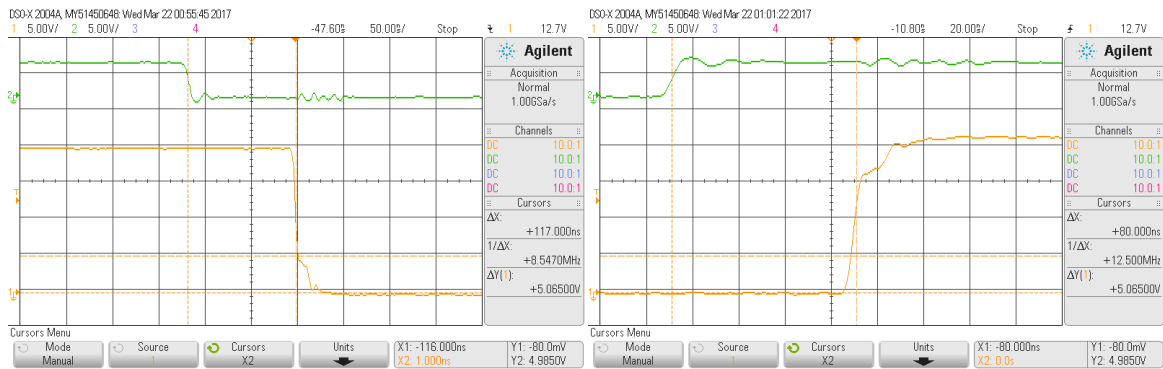
Na obrázku 5.4 je vidět, jak probíhalo měření zpoždění oproti řídicímu signálu. Kanál 1 zobrazuje signál měřený na výstupu optočlenu, který je invertován oproti řídicímu signálu generovaným Arduinem (kanál 2). To je způsobeno vlastnostmi optočlenu. Při sestupné hraně bylo změřeno zpoždění $t_{d1} = 54$ ns, při náběžné hraně pak $t_{d2} = 90$ ns. Samotná sestupná hrana optočlenu byla změřena $t_{f1} = 26,5$ ns, náběžná hrana $t_{r1} = 41,5$ ns. Tyto hodnoty přibližně odpovídaly katalogovým.

Následně bylo měřeno zpoždění za budičem. Naměřené hodnoty jsou zobrazeny na obrázku 5.5. Kanál 1 zobrazuje signál měřený na výstupu budiče, kanál 2 zobrazuje řídicí napětí výstupu Arduina. Signál byl budičem znovu invertován, proto má stejný charakter, jako řídicí signál. Zpoždění při sestupné hraně $t_{d3} = 117$ ns, při náběžné hraně bylo změřeno $t_{d4} = 80$ ns. Sestupná hrana budiče byla $t_{r2} = 17,5$ ns, náběžná hrana $t_{f2} = 18,1$ ns.

Měření na ostatních částech H-můstku je zobrazeno v příloze B.6 a B.7. Naměřené hodnoty na ostatních částech H-můstku se téměř nelišily od výše popsaných.



Obr. 5.4: Měření zpoždění za optočlenem při sestupné hraně (vlevo), při náběžné hraně (vpravo)

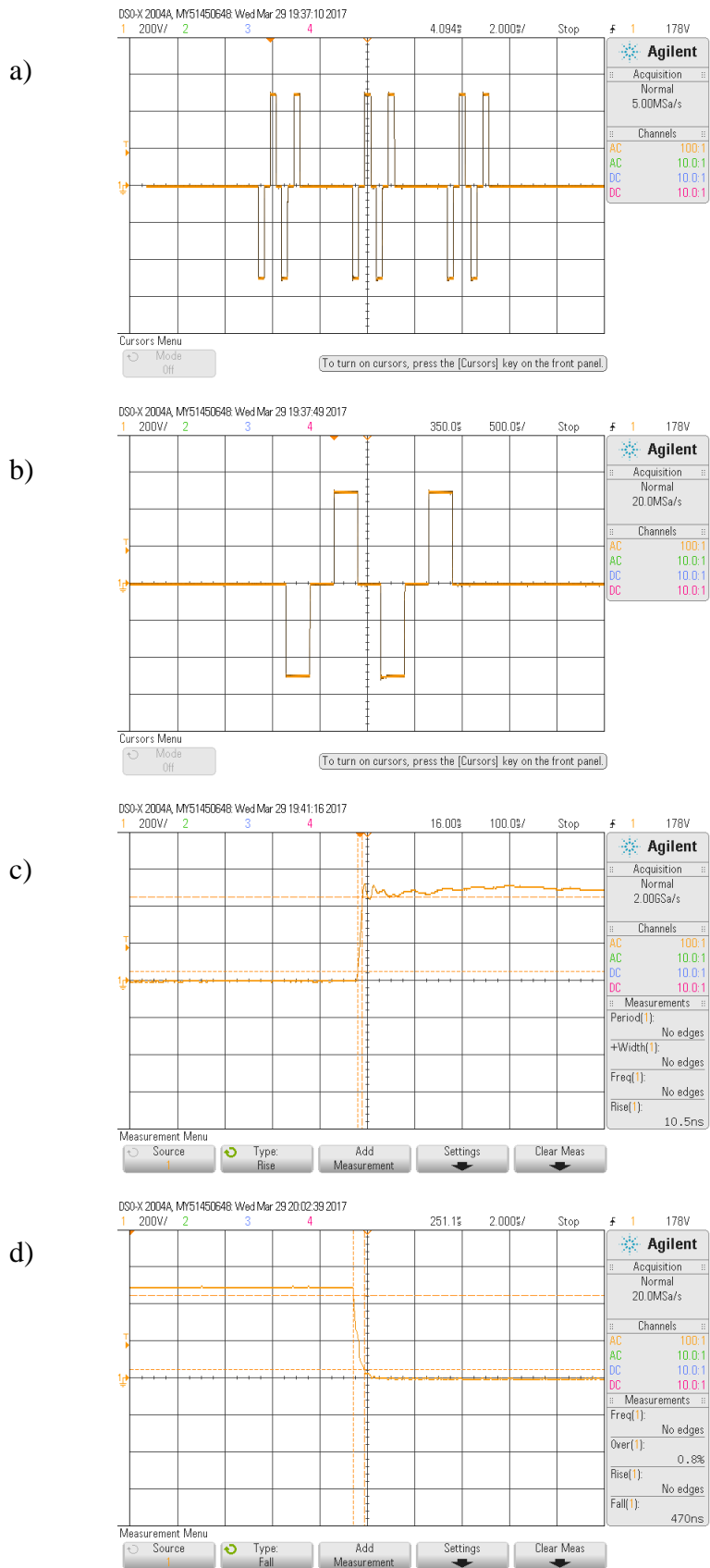


Obr. 5.5: měření zpoždění za budičem při sestupné hraně (vlevo), při náběžné hraně (vpravo)

5.2.2 Měření na zátěži

Pro měření na zátěži výkonové desky byl využit laboratorní zdroj, který byl schopen dodat maximální výstupní napětí 500 V, což pro její otestování dostačovalo. Pro vstupní proměnné $N = 2$, $T_A = 12000 \mu\text{s}$, $f_H = 1000 \text{ Hz}$ a $f_L = 250 \text{ Hz}$ byly získány průběhy z osciloskopu, které jsou zobrazeny na obrázku 5.6, kde v části a) jsou zobrazeny 3 shluky bipolárních pulzů. V části b) je přiblíženo na jeden shluk, kde jsou vidět 2 bipolární pulzy s amplitudou 500 V. V části c) byla změřena náběžná hrana tranzistoru $t_{r3} = 10,5 \text{ ns}$, což je hodnota, kterou udává i katalogový list. V části d) byla změřena sestupná hrana $t_{f3} = 470 \text{ ns}$. Katalogový list udává hodnotu sestupné hrany 60 ns při vypínacím napětí $V_{GS} = -5 \text{ V}$. Tranzistor výkonové desky je v navrženém zdroji vypínán hodnotou $V_{GS} = 0 \text{ V}$. Tím může být způsobeno, že sestupná hrana trvá déle, než udává katalogová hodnota.

Při dalším měření na výkonové desce došlo ke zkratu a zničení většiny obvodů výkonové desky, proto nejsou doloženy další výsledky měření.



Obr. 5.6: Měření na zátěži H-můstku

5.3 Zhodnocení výsledků měření

Měřením řídicích signálů generovaných Arduinem bylo zjištěno, že při nastavení vstupních hodnot, které po přepočtu na vnitřní proměnné vychází v celých číslech, dochází ke generování správných průběhů dle parametrů zadaných uživatelem. Pokud jsou zadány vstupní hodnoty, které po přepočtu na vnitřní proměnné vychází v desetinných číslech, jsou tyto proměnné zaokrouhleny na celá čísla a výsledné pulzy se liší od parametrů zadaných uživatelem. Dále bylo zjištěno, že při generování pulzů s kmitočtem vyšším než $f_H = 25000$ Hz dochází ke snížení odezvy programu a zpomalení celého Arduina, což je patrné na LCD displeji. Patrně je to způsobeno tím, že při vyšších kmitočtech se nestíhá vykonat celá rutina generování pulzů v přerušení a program je pak nestabilní. Tyto problémy by bylo možné vyřešit optimalizací kódu. To se bohužel do doby sepisování této práce nepodařilo.

Z měření výkonové desky vyplývá, že navržený zdroj generuje požadované bipolární obdélníkové pulzy. Během dalšího měření došlo při zkratu k jejímu zničení. Byla tedy vyrobena nová deska, která byla při testování také zničena. Následně bylo zjištěno, že k destrukcím desek docházelo z důvodu špatné volby DC/DC měničů, kvůli jejich vysoké izolační kapacitě, která je 50 pF. Na navrhované desce jsou použity vždy 2 měniče pro každou větev H-můstku. To tedy zvyšuje zmiňovanou indukční kapacitu dvojnásobně v jednotlivých větvích. Tato kapacita se pak projevuje do celého obvodu. Do doby sepisování této práce se nepodařilo navrhnout novou desku jinými DC/DC měniči.

6 Závěr

Cílem této práce bylo navrhnout zdroj vysokého napětí a jeho řízení na základě prostudování problematiky generování bipolárních impulzů vhodných pro proces vratné a nevratné elektroporace.

První část se zabývala teoretickými poznatky o procesu vratné a nevratné elektroporace a jejím využití v potravinářském a chemickém průmyslu a v lékařství.

Druhá část byla věnována popisu obecných konceptů generování impulzů vhodných pro elektroporaci. Dále byly představeny spínací prvky, které se používají při konstrukci těchto zařízení a následně byly popsány již existující elektroporační zařízení.

V další části proběhl samotný návrh zdroje. Bylo zde popsáno navrhování dílčích částí zdroje a realizace jednotlivých desek plošných spojů. Poté byl popsán software, pomocí kterého je možné zdroj elektronicky řídit.

Předposlední část se zabývala sepsáním uživatelského manuálu, kde bylo popsáno ovládání elektronického řízení a nastavování hodnot pro generované pulzy.

Poslední část je věnována měření. Jsou zde zobrazeny časové průběhy řídicích signálů a měření na desce výkonových spínačů.

Výsledkem této práce je funkční elektronické řízení zdroje pro generování obdélníkových pulzů do kmitočtu 25 kHz.

Seznam použitých zdrojů

- [1] KOROHODA, W.; GRYS, M.; MADEJA, Z. *Reversible and irreversible electroporation of cell suspensions flowing through a localized DC electric field*. Cellular and Molecular Biology Letters, Volume 18, Issue 1, 2013, Pages 102-119
- [2] SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. *Transformation of E. coli by Electroporation*. Cold Spring Harbor Protocols, Volume 200, Issue 1, 2006
- [3] De VITO, F.; DONSI, G. and FERRARI, G. *Effects of Pulsed Electric Field on permeabilization of cell membranes of fruits and vegetables*, in Proc. Intrafood, Innovations in Traditional Foods, Valencia, Spain, 2, 1515-1518, 2005.
- [4] YARMUSH, M.; GOLBERG, A.; SERŠA, G.; KOTNIK, T. and MIKLAVČIČ, D. *Electroporation-Based Technologies for Medicine: Principles, Applications, and Challenges*. Annual Review of Biomedical Engineering, Volume 16, 2014, pages 295-320
- [5] LESSARD, J. *Transformation of E. coli Via Electroporation*. Methods in Enzymology, Volume 529, 2013, Pages 321-327
- [6] IVORRA, A.; MAOR, E.; RUBINSKY, B. *Non Thermal Irreversible Electroporation: Novel Technology for Vascular Smooth Muscle Cells Ablation*. PLoS ONE 4(3): e4757. doi:10.1371/journal.pone.0004757.
- [7] DAVALOS, R.V.; MIR, L.M.; RUBINSKY, B. *Tissue Ablation with Irreversible Electroporation*. Annals of Biomedical Engineering, Vol. 33, No. 2, February 2005, Pages 223–231.
- [8] KANDUŠER, M.; MIKLAVČIČ, D. *Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview*, 2009.
- [9] BOUZRARA, H.; VOROBIEV, E. *Beet juice extraction by pressing and pulsed electric fields*. International Sugar Journal 2000 Vol. 102 No. 1216, Pages. 194-200

- [10] GRIMI, N.; LEOVKA, N. I.; VAXELAIRE, J.; VOROBIEV, E., *Effect of a Pulsed Electric Field Treatment on Expression Behavior and Juice Quality of Chardonnay Grape*. Food Biophysics September 2009, Volume 4, Issue 3, Pages 191-198.
- [11] LEOVKA, N.; MIETTON-PEUCHOT, M; PRAPORSCIC, I.; VOROBIEV, E.; *Pulsed electric field enhanced expression and juice quality of white grapes*. Separation and Purification Technology, Volume 52, Issue 3, January 2007, Pages 520-526.
- [12] NOVICKIJ, V. *Development of High Power Square Wave Electroporators*: doctoral dissertation. Vilnius: Technika, 2015, 126 p.
- [13] MOISESCU, M.; RADU, M.; KOVACS, E and SAVOPOL, T. *Changes of cell electrical parameters induced by electroporation. A dielectrophoresis study*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes, Volume 1828, Issue 2, February 2013, Pages 365–372.
- [14] KALGREN, P.; BAYBUTT, M.; GINART, A.; MINNELLA, CH.; ROEMER, M. and DABNEY, T. *Application of Prognostic Health Management in Digital Electronic Systems*. Aerospace Conference. IEEE, 2007, Pages 1-9
- [15] MOHAN, N.; UNDELAND, T. and ROBBINS, W. (2003), *Power Electronics Converters, Applications and Design*, John Wiley and Sons Inc, 111 River Street, Hoboken, NJ, United State of America.
- [16] RASHID, M. H. *Power Electronics Handbook: Devices, Circuits, and Applications Handbook*, Third edition 2011
- [17] SATTAR, A. *Insulated Gate Bipolar Transistors (IGBT) Basics*, Technical Report, IXYS Corporation 1998
- [18] CHEN, C.; EVANS, J.; ROBINSON, M.; SMYE, S. and TOOLE, P., *Measurement of the efficiency of cell membrane electroporation using pulsed ac fields* Physics in Medicine and Biology, Volume 53, Number 17, August 2008, Pages 4747–4757.
- [19] Cree, *C2M1000170D Silicom Carbide power MOSFET*, 2015, 10s. Datasheet. [cit. 2017-05-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.farnell.com/datasheets/2047796.pdf>>

- [20] ON Semiconductor, *NCP81074A, NCP81074B Single Channel 10A High Speed Low-Side MOSFET Driver*, 12s. Datasheet. [cit. 2017-05-20]. Dostupný z WWW: <<http://www.onsemi.com/pub/Collateral/NCP81074-D.PDF>>
- [21] Agilent Technologies, *High CMR, High Speed TTL Compatible Optocouplers*, 20s. Datasheet. [cit. 2017-05-20]. Dostupný z WWW: <<http://pdf1.alldatasheet.com/datasheet-pdf/view/64557/HP/HCNW2601.html>>
- [22] XP Power, *ITV Series DC-DC Converter*, 3s. Datasheet. [cit. 2017-05-20]. Dostupný z WWW: <http://www.farnell.com/datasheets/1903574.pdf?_ga=2.107722690.1571992681.1495442380-930505599.1490713960>
- [23] VODA, Z. *Průvodce světem Arduina* [online]. Bučovice: Martin Stříž, 2015 [cit. 2017-05-21]. ISBN 978-80-87106-90-7. Dostupné z WWW: <<http://robotikabrno.cz/docs/arduino/Pr%C5%AFvodce-sv%C4%9Btem-Arduino-CZ.pdf>>

Seznam zkratk, symbolů a veličin

3D – trojrozměrný

CO₂ – chemická značka oxidu uhličitého

CT – computed tomography, počítačová tomografie

DC – direkt current, stejnosměrný proud

DNA – deoxyribonucleic acid, deoxyribonukleová kyselina

DPS – deska plošných spojů

IDE – integrated development enviroment, integrované vývojové prostředí

IGBT – insulated gate bipolar transistor, bipolární tranzistor s izolovaným hradlem

LCD – liquid crystal display, displej z tekutých krystalů

LED – light emitting diode, světloemitující dioda

MOSFET – Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor, Tranzistor řízený polem s hradlem izolovaným kyslíčkem

N₂ – chemická značka dusíku

PEF – pulse electric field, pulsní elektrické pole

°C – stupeň celsia, jednotka teploty

μs – mikrosekunda, jednotka času

Hz – hertz, jednotka kmitočtu

kV.cm⁻¹ – kilovolt na centimetr, jednotka intenzity elektrického pole

ns – nanosekunda, jednotka času

pF – pikofarad, jednotka kapacity

V – volt, jednotka napětí

Seznam příloh

A Schémata navrhovaných DPS

- A.1 Schéma napájecí části desky výkonových spínačů
- A.2 Schéma signálové části desky výkonových spínačů
- A.3 Schéma desky pro napájení nízkonapěťových částí
- A.4 Schéma vysokonapěťové desky

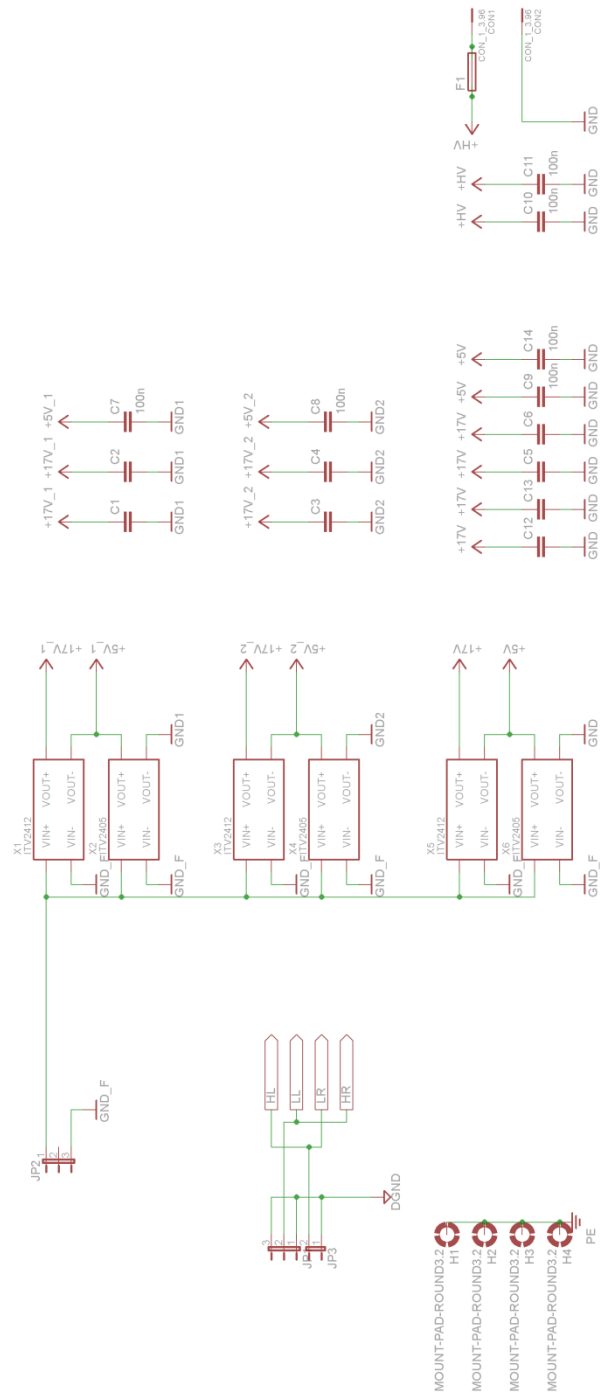
B Časové průběhy

- B.1 Průběhy pro $N = 5$, $T_A = 20000$, $f_H = 2000$ a $f_L = 250$
- B.2 Průběhy pro $N = 10$, $T_A = 10000$, $f_H = 5000$ a $f_L = 200$
- B.3 Průběhy pro $N = 16$, $T_A = 7500$, $f_H = 10000$ a $f_L = 400$
- B.4 Průběhy pro $N = 4$, $T_A = 2000$, $f_H = 12500$ a $f_L = 1000$
- B.5 Průběhy pro $N = 4$, $T_A = 5000$, $f_H = 20000$ a $f_L = 2000$
- B.6 Průběhy měřených zpoždění na HL části H-můstku
- B.7 Průběhy měřených zpoždění na LL části H-můstku

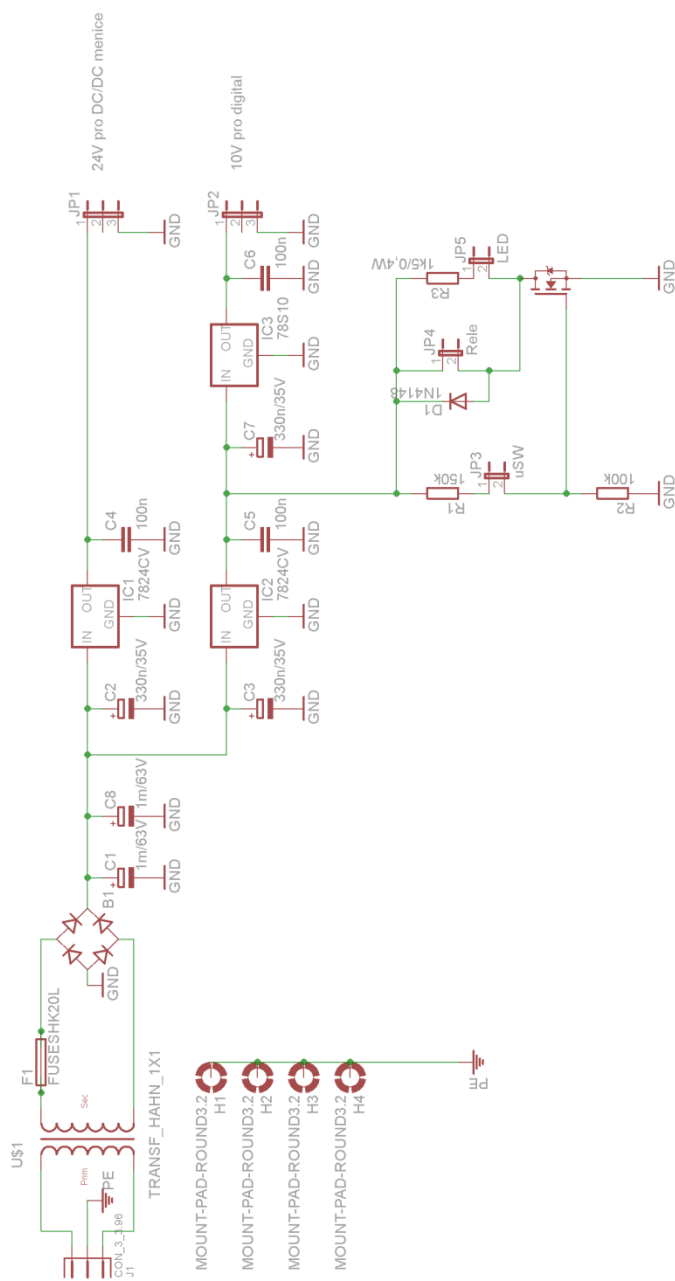
C Obsah přiloženého CD

A Schémata navrhovaných DPS

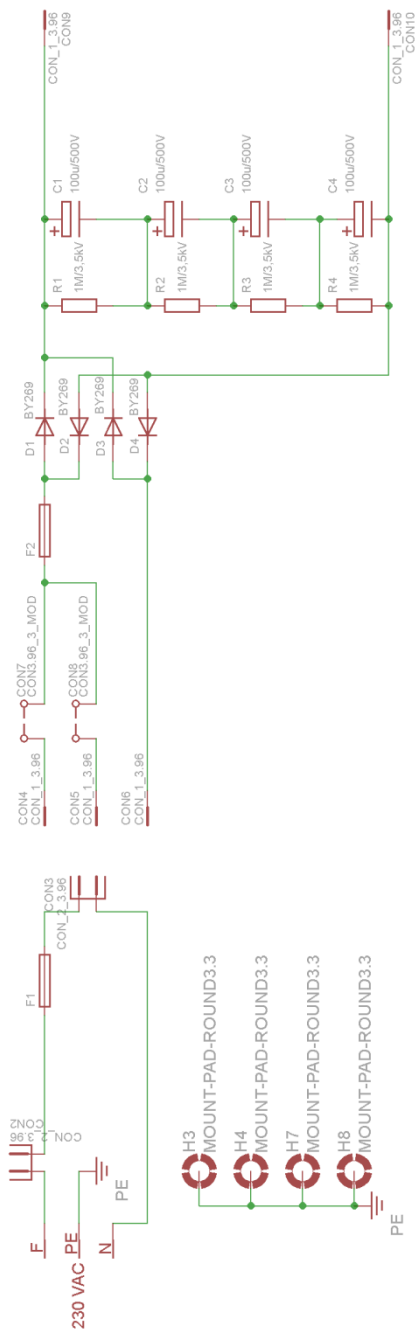
A.1 Schéma napájecí části desky výkonových spínačů



A.3 Schéma desky pro napájení nízkonapětových částí

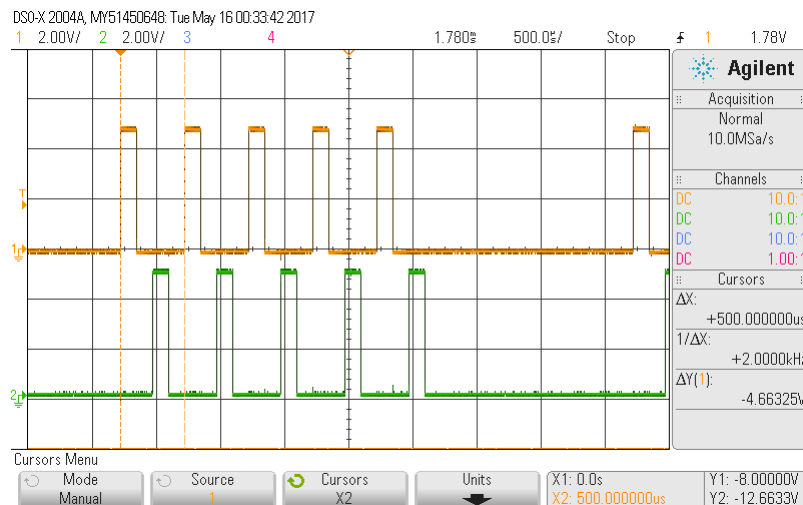
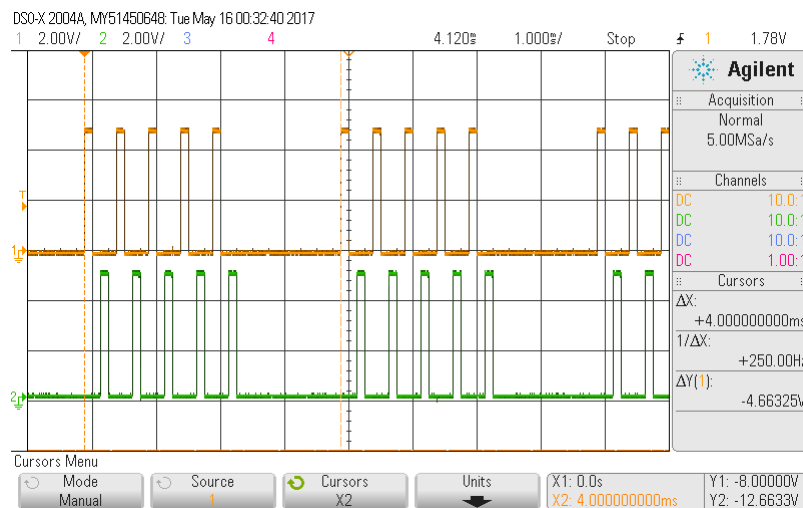
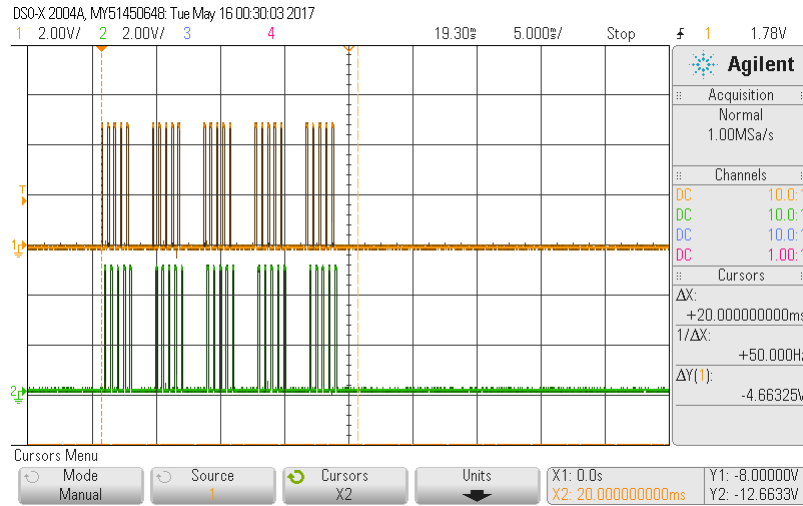


A.4 Schéma vysokonapěťové desky

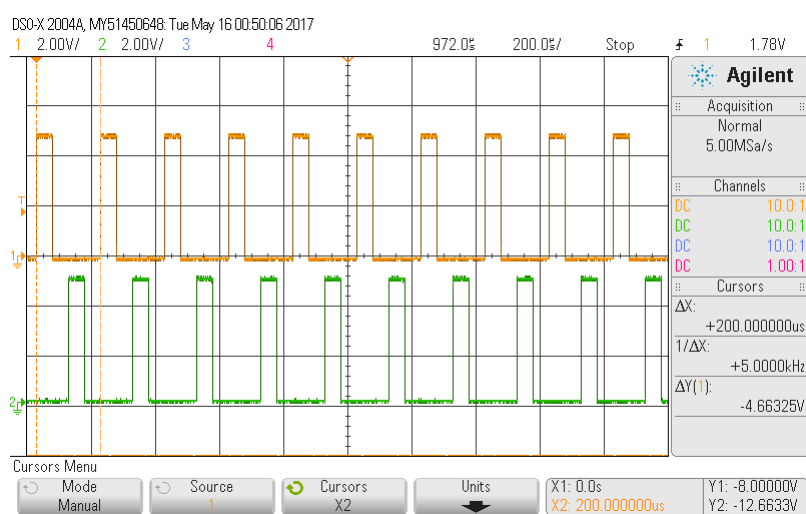
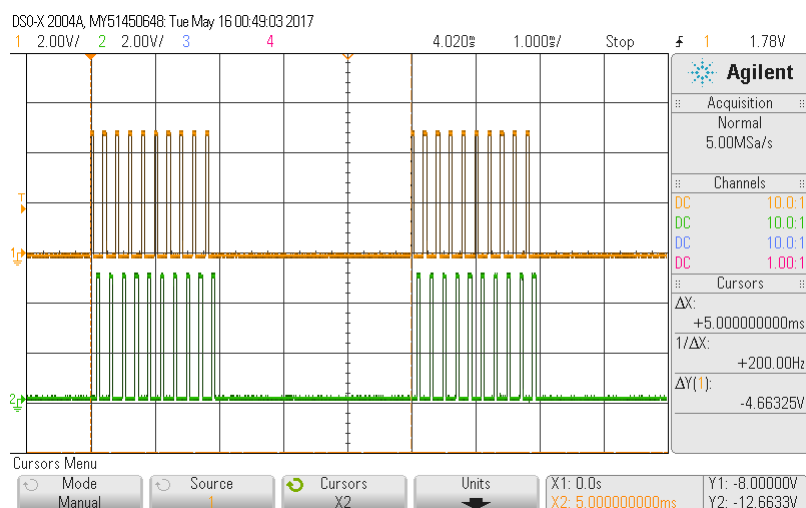
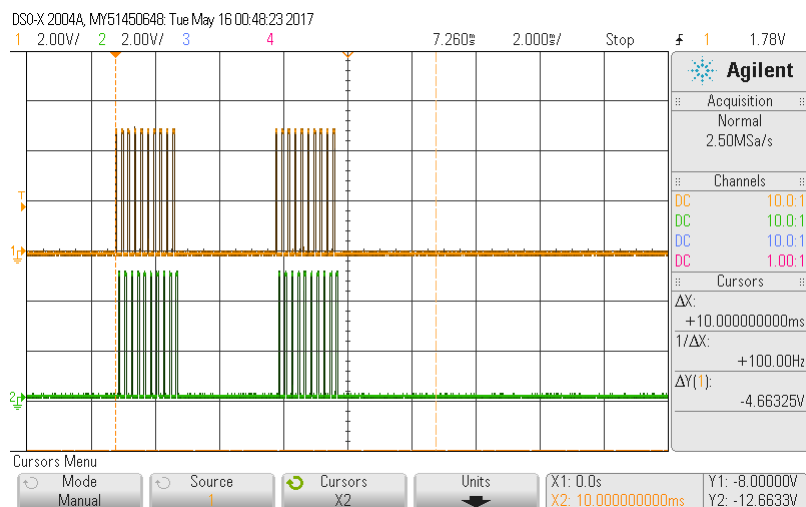


B Časové průběhy

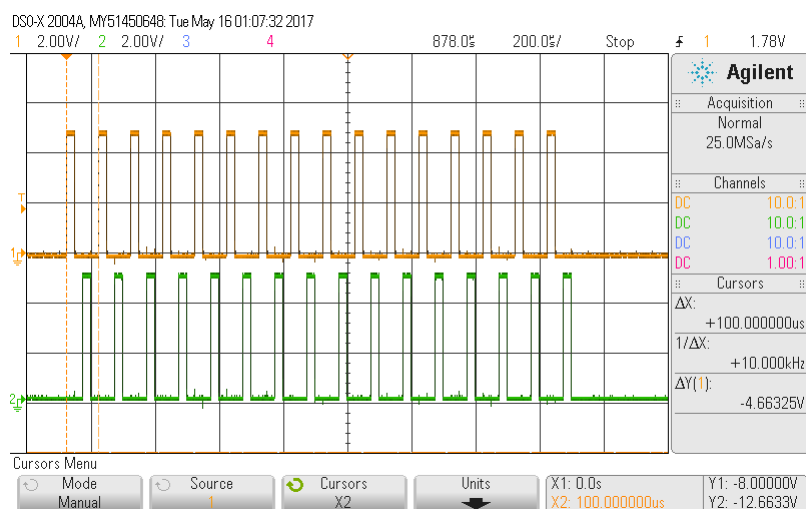
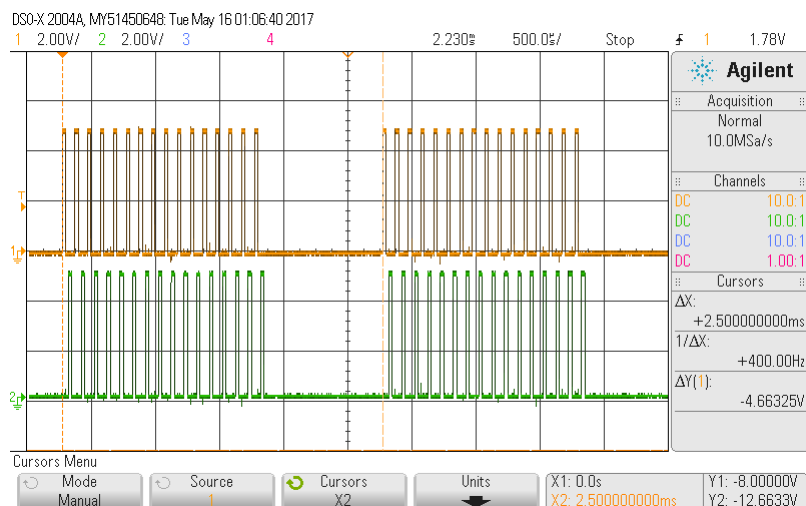
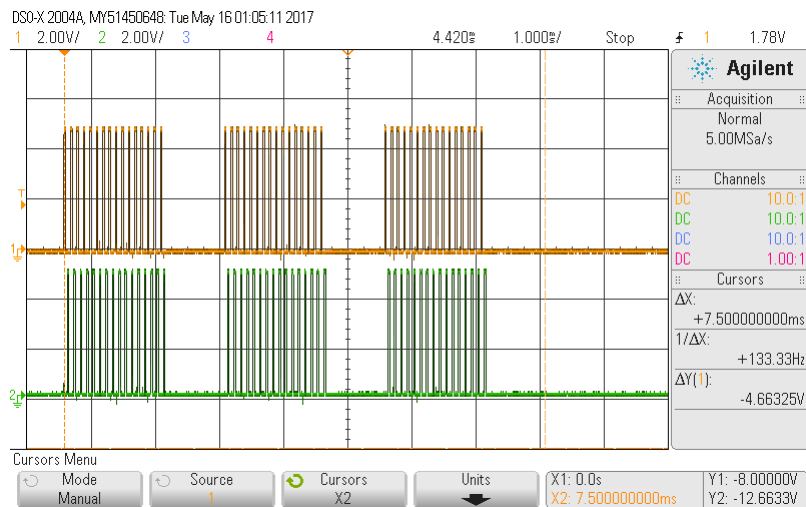
B.1 Průběhy pro $N = 5$, $T_A = 20000$, $f_H = 2000$ a $f_L = 250$



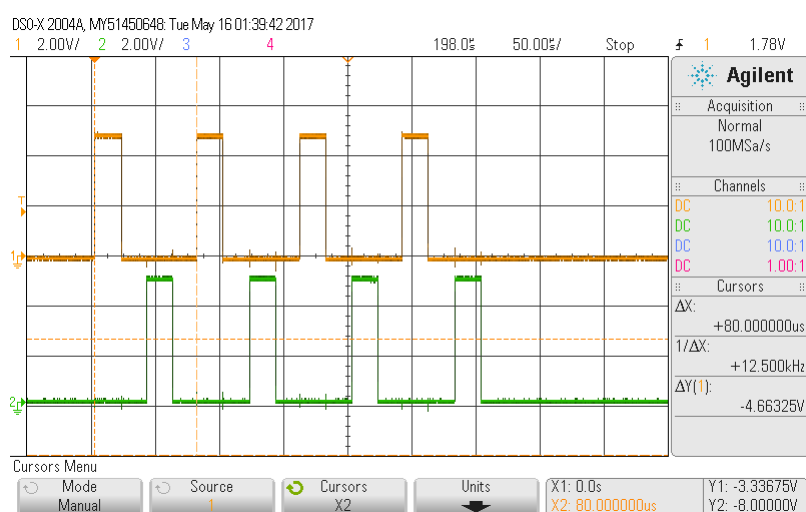
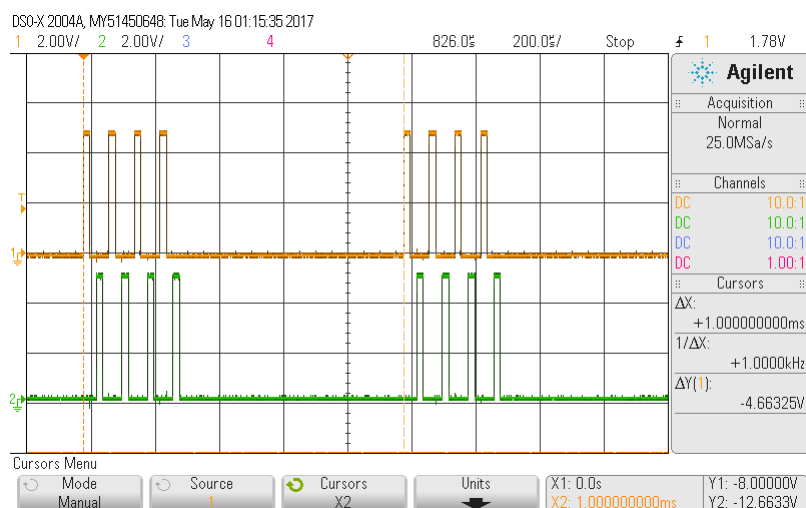
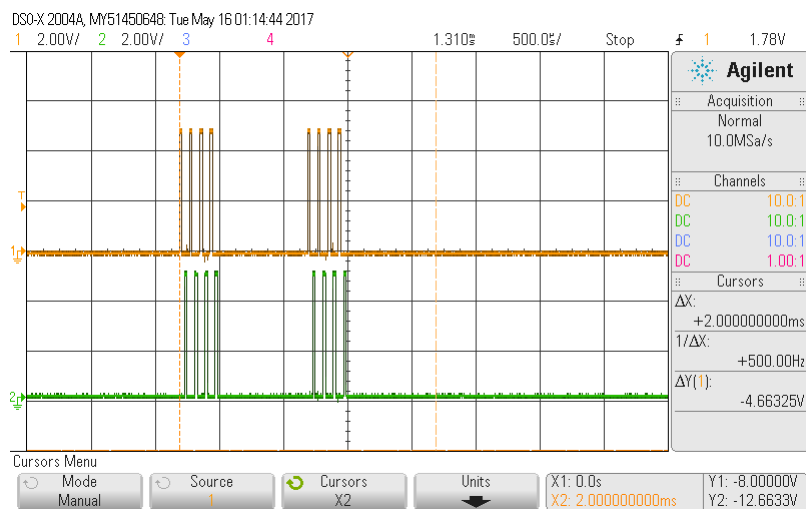
B.2 Průběhy pro $N = 10$, $T_A = 10000$, $f_H = 5000$ a $f_L = 200$



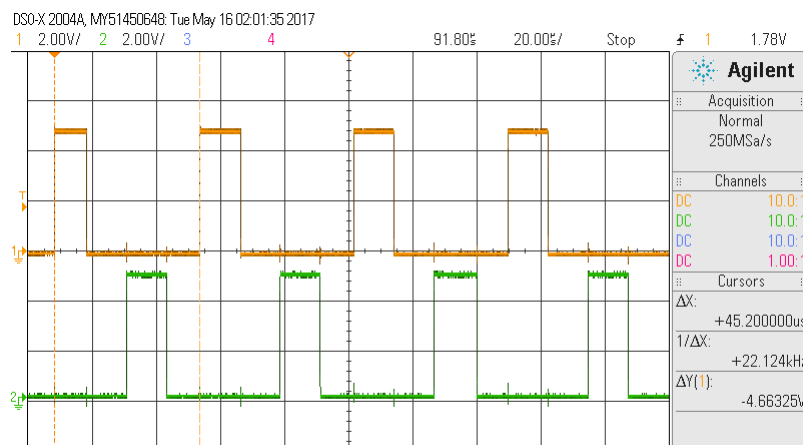
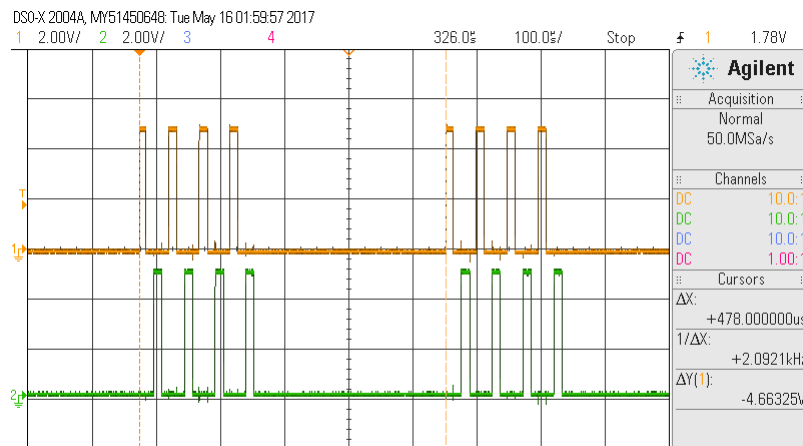
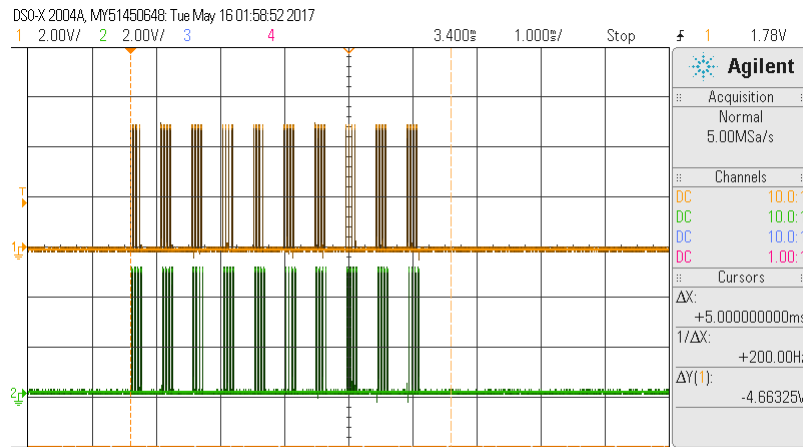
B.3 Průběhy pro $N = 16$, $T_A = 7500$, $f_H = 10000$ a $f_L = 400$



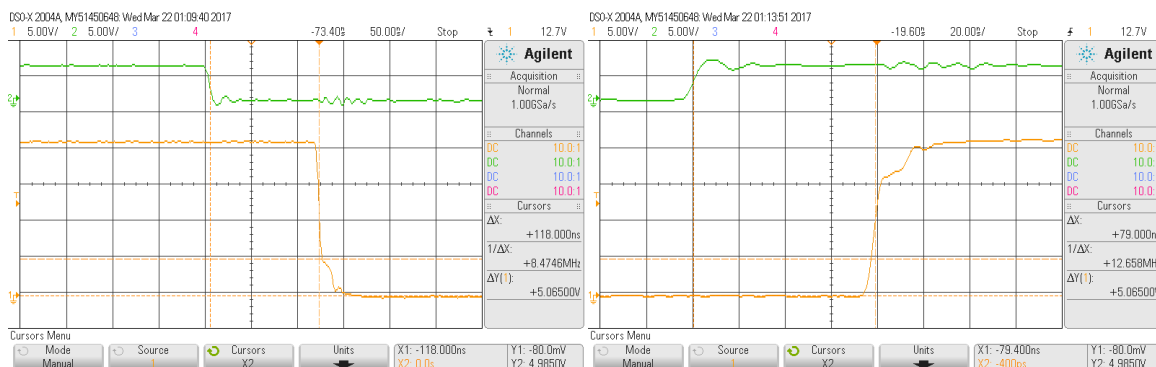
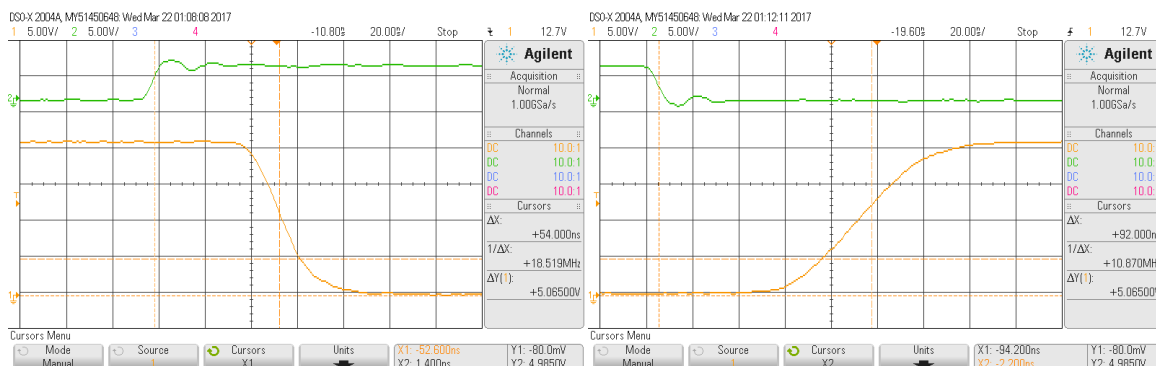
B.4 Průběhy pro $N = 4$, $T_A = 2000$, $f_H = 12500$ a $f_L = 1000$



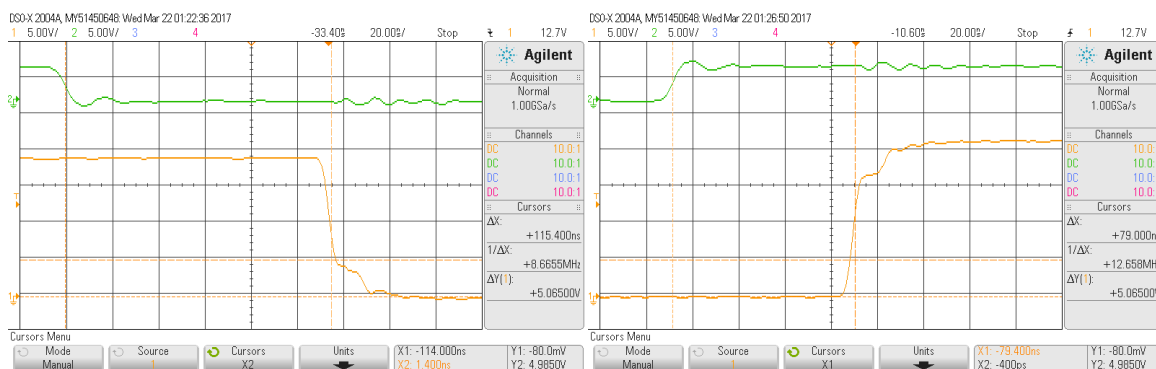
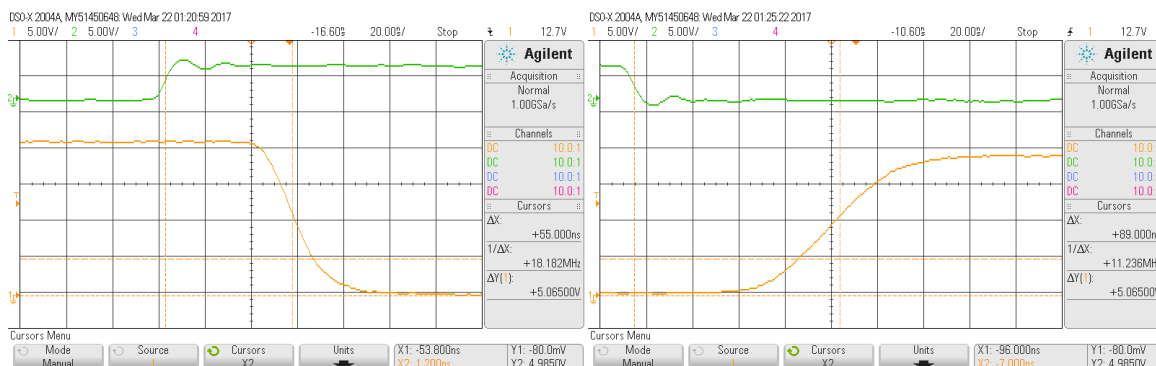
B.5 Průběhy pro $N = 4$, $T_A = 5000$, $f_H = 20000$ a $f_L = 2000$



B.6 Průběhy měřených zpoždění na HL části H-můstku



B.7 Průběhy měřených zpoždění na LL části H-můstku



C Obsah přiloženého CD

CD přiložené k diplomové práci obsahuje text práce ve složce *text*. Dále obsahuje program vytvořený v prostředí Arduino IDE a potřebné knihovny ve složce *program*. V neposlední řadě obsahuje navržené desky plošných spojů vytvořené v prostředí Eagle ve složce *desky*.