

CARACTERIZAÇÃO DE GELATINA COMO FANTOMA PARA MEDIÇÕES DE ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELÉTRICA

Ana M. R. Pinto^{*,**}, Pedro Bertemes-Filho^{*} e Aleksander S. Paterno^{*}

^{*}Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Elétrica, Joinville, Santa Catarina, Brasil.

^{**}INESC P&D Brasil, Santos, São Paulo, Brasil.

e-mail: ana.pinto@joinville.udesc.br

Resumo: Os fantasmas que simulam tecidos biológicos são muito usados em medicina para avaliar, analisar e melhorar dispositivos médicos. Neste trabalho propõe-se usar gelatina como fantoma em medições de espectroscopia de impedância elétrica. Os resultados preliminares da caracterização da gelatina são apresentados, em termos do módulo e fase de sua impedância elétrica. Observa-se que ao alterar a concentração de gelatina ou de sal é possível alterar o espectro de impedância. Adicionalmente, é apresentada uma comparação entre o módulo da impedância da pele do calcanhar e a gelatina com uma concentração de 10%, demonstrando a similaridade dos espectros. A flexibilidade de adaptação e modelagem dos espectros da gelatina indica a sua viabilidade como fantoma, facilitando os testes de bioimpedância elétrica.

Palavras-chave: Bioimpedância Elétrica, Fantoma, Gelatina.

Abstract: Tissue-mimicking phantoms are widely used in medicine in order to evaluate, analyze and improve medical devices. In this paper, gelatin is proposed as a phantom for electrical impedance spectroscopy. The preliminary results of the characterization of gelatin with impedance modulus and phase are presented. It can be observed that the impedance spectrum can be tailored by changing the gelatin or salt concentration. Moreover, a comparison between the impedance modulus of the heel skin and gelatin with a concentration of 10% is given, showing the spectra similarity. The flexibility of adaptation and tuning shown in gelatin's spectra indicates its viability as a phantom, simplifying electrical bioimpedance tests.

Keywords: Electric Bioimpedance, Phantom, Gelatin.

Introdução

Os fantasmas (*phantoms* em inglês) são objetos que simulam tecidos biológicos. São amplamente utilizados em vários campos relacionados com a medicina a fim de avaliar, analisar e melhorar o desempenho de dispositivos médicos [1]. Existe uma grande quantidade comercial desses materiais. Porém, devido à sua alta demanda em distintas áreas de aplicação da medicina é importante encontrar soluções de menor custo e adaptadas a cada aplicação.

A gelatina é um material fácil de obter, sendo de baixo custo, não tóxica e permite uma fácil modelagem da forma final do fantoma. Visto ser derivada do colágeno, apresenta características como biodegradação e baixa antigenicidade, sendo uma boa base para biomateriais em aplicações biomédicas, farmacêuticas e cosméticas [2]. Como fantoma, a gelatina já foi utilizada em espectroscopia ótica, imageamento e dosimetria [1], elastografia [3], e até na determinação de comportamento balístico [4].

Contudo, as propriedades dielétricas da gelatina têm sido estudadas de forma bastante incipiente. Um estudo da variação da permissividade e condutividade nas frequências 10, 27, 50 MHz foi realizado em gelatinas com diferentes concentrações [5]. Mais recentemente, a caracterização da permissividade, perda dielétrica e módulo dielétrico de gelatina foi realizada entre 10 mHz e 1 MHz [6]. A resistividade foi também caracterizada para uma gelatina com uma concentração de 25 % nas frequências entre 10 kHz e 50 MHz [7].

Neste manuscrito são apresentados os resultados preliminares de uma abordagem a usar a gelatina como fantoma em medições de espectroscopia de impedância elétrica. Para isso, foi realizada a caracterização de gelatinas com distintas concentrações e distintos valores de sal adicionado. Os espectros do módulo e fase da impedância elétrica são apresentados e discutidos. Uma breve discussão é apresentada comparando os resultados obtidos com as características dos tecidos biológicos humanos.

Materiais e métodos

Preparação das gelatinas - O pó usado é uma gelatina comestível sem sabor (*Gelco Gelatinas do Brasil*). Na Tabela 1 são apresentadas algumas características físico-químicas da gelatina usada.

As gelatinas foram produzidas diluindo o pó em 100 ml de água destilada a 80 °C, em proporções de 10, 20 e 30 gramas, correspondendo às percentagens de 10, 20 e 30 %, respectivamente. Adicionalmente, foram fabricadas gelatinas com 10 % de concentração e distintas concentrações de sal. Nas soluções líquidas de 10 % de gelatina foram adicionados 1, 0,5 e 0,2 g de sal, obtendo-se soluções com 1, 0,5 e 0,2 % de sal, respectivamente.

Tabela 1: Características físico-químicas da gelatina usada.

Parâmetros	Resultados
Bloom*	228 g/Bl
Viscosidade	36,7 mP
Umidade	9,05 %
Cinzas**	0,28 %
pH	5,45
Cor	Amarelo claro

*Bloom - força de gelificação.

**Cinzas – resíduo mineral fixo.

Em todas as soluções líquidas foram adicionados 0,2 ml de formol (formaldeído 37 %, Quimidrol) a fim de aumentar a temperatura de fusão da gelatina, e consequentemente sua durabilidade. O formol permite o aumento da reticulação das fibras na matriz de gelatina, permitindo que a gelatina seja usada à temperatura ambiente sem necessidade de refrigeração [1]. As gelatinas solidificaram à temperatura ambiente, sendo posteriormente colocadas no refrigerador. As medições foram todas realizadas à temperatura ambiente, tendo as gelatinas sido retiradas do refrigerador com pelo menos 24 horas de antecedência às medições.

Medições de espectroscopia de impedância elétrica - As medições do espectro de impedância elétrica foram realizadas à temperatura ambiente com uma sonda tetrapolar fabricada no Laboratório de Instrumentação Eletrônica e Biomédica da UDESC (BIATRON I [8]), estando acoplada ao Analisador de Impedância Agilent (modelo 4294A), como ilustrado na Figura 1. A ponta da sonda contém quatro eletrodos de ouro igualmente separados por 2,4 mm, sendo o diâmetro dos eletrodos de 1,5 mm. Uma corrente sinusoidal de 1 mA_{pp} (pico a pico) é injetada por dois eletrodos e o potencial é medido através de outros dois eletrodos. As medições foram realizadas colocando a ponta da sonda em contacto com a gelatina, assegurando o contato dos quatro eletrodos com a mesma (sonda na posição perpendicular à superfície da gelatina, como ilustrado na Figura 1) e controlando a pressão aplicada.

Usando os terminais 3 e 4 do analisador de impedância, a corrente é injetada na sonda, e usando os terminais de 1 e 2, o potencial é medido. Empregando esta configuração, este analisador aplica a técnica de ponte auto-equilíbrio (*auto-balancing bridge technique*) que permite alta precisão e ampla faixa de impedância. As medições foram realizadas variando a frequência de 100 kHz a 15 MHz, usando 500 pontos de frequência. Esta faixa de frequência permite a realização de espectroscopia de impedância elétrica das membranas celulares e fluidos intracelulares. As medições em baixas frequências permitem analisar o material biológico que se encontra nos fluidos extracelulares. No

entanto, a reatância das membranas celulares, em baixas frequências, não permite que haja condução iônica no interior das células, tornando a análise do material intracelular impraticável. Porém, em altas frequências, há condução iônica através das membranas celulares, sendo possível chegar até aos fluidos intracelulares [9] e permitindo, assim, analisar os materiais biológicos intracelulares, tais como: proteínas, membranas e ácidos nucleicos.

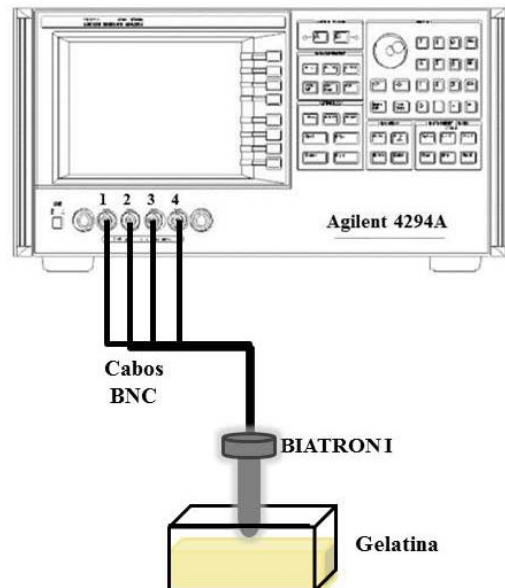


Figura 1: Diagrama esquemático do sistema de medição de impedância elétrica, onde 1,2,3,4 são os terminais BNC para injeção de corrente e medição de potencial.

Para cada gelatina foram realizadas 10 medições. Os resultados apresentados são a média aritmética dessas medições. Este conjunto de medições foi repetido em 3 momentos distintos do tempo (ao largo de 3 meses) usando amostras de gelatinas fabricadas em momentos distintos. Os resultados obtidos para todos os conjuntos de medições são consistentes, confirmando a reprodutibilidade dos resultados.

Para a medida comparativa com tecido biológico humano, foi efetuada a medição na pele do calcanhar da autora, após remoção do estrato córneo da região avaliada.

Resultados

Durante o processo de fabricação, observou-se que gelatinas com maior concentração têm maior consistência mecânica (dureza). Observou-se também que a adição de formol, não só faz com que as gelatinas solidifiquem à temperatura ambiente e tenham maior durabilidade, mas também aumenta sua consistência mecânica.

As medições do módulo e fase da impedância em diferentes gelatinas são apresentadas nas Figuras 2 e 3, respectivamente. Pode-se observar que o módulo da impedância elétrica apresenta decaimento com a frequência, tendendo a um valor constante em altas frequências. A fase da impedância é maior para maiores concentrações de gelatina, apresentando uma rodada de fase em $\text{Log}_{10}f \approx 0,5$ ($f = 3,1$ MHz), como se pode ver na Figura 3. Na Figura 2, pode-se também observar que os espectros apresentam descontinuidades próximas a 1 MHz. Esta irregularidade nos espectros deve-se a uma anomalia na conexão usada entre a sonda de bioimpedância e o analisador de impedância.

Ao adicionar diferentes concentrações de sal em gelatina com 10 % de concentração, observou-se que o espectro da impedância elétrica é bastante sensível ao sal. Observa-se na Figura 4 que quanto mais sal a gelatina contém, maior é a alteração apresentada pelo seu espectro do módulo da impedância para uma mesma frequência. O perfil do espectro da impedância da gelatina muda rapidamente para pequenos valores de sal adicionado. Já o valor da fase da impedância é tanto maior, para uma mesma frequência, quanto maior é a concentração de sal na gelatina, como pode ser visto na Figura 5.

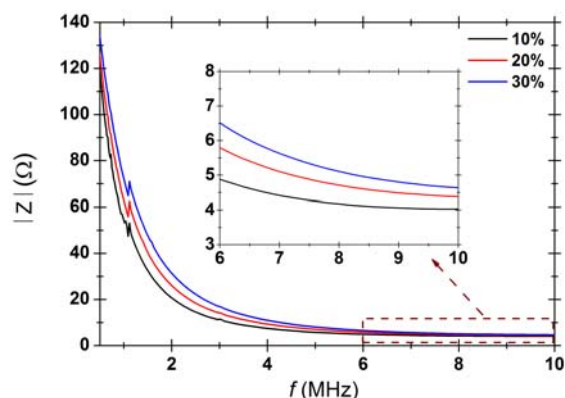


Figura 2: Variação do módulo da impedância com a frequência, para gelatinas com diferentes concentrações. Gráfico interno: detalhe do módulo da impedância para as frequências mais altas.

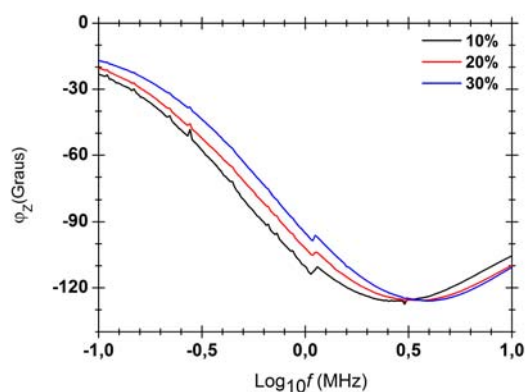


Figura 3: Variação da fase da impedância com a frequência, para gelatinas com diferentes concentrações.

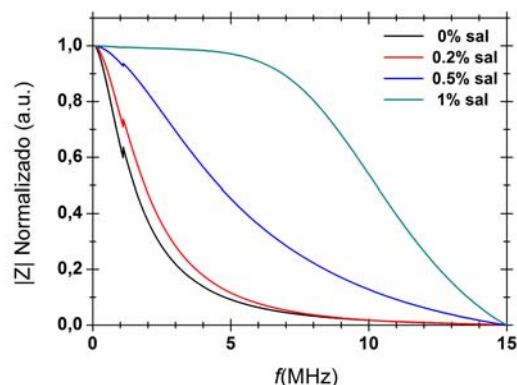


Figura 4: Variação do módulo da impedância normalizado de gelatina com 10% de concentração com a frequência, para distintos valores de sal adicionado.

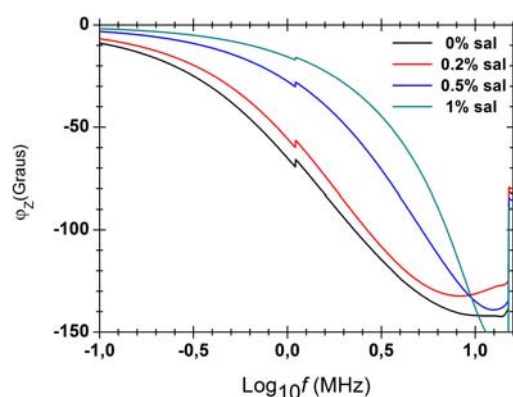


Figura 5: Variação da fase da impedância de gelatina com 10% de concentração com a frequência, para distintos valores de sal adicionado.

Discussão

Durante a fabricação de gelatinas, observou-se que há a necessidade de um estudo mais detalhado a fim de verificar quanti e qualitativamente a relação da consistência mecânica das gelatinas em função das suas concentrações, assim como do formol adicionado. Estes estudos serão realizados num próximo trabalho, com a finalidade de obter um modelo apropriado de dureza da gelatina (similares à pele humana) e medir a influência da pressão aplicada pela sonda na gelatina. Isto permitirá que a gelatina possa ser usada como fantoma em espectroscopia de impedância elétrica, aproximando-se a um caso real clínico de medição.

Uma análise dos espectros obtidos para diferentes concentrações de gelatina permite constatar que o módulo da impedância elétrica apresenta uma diminuição brusca com a frequência. A gelatina é formada através da reticulação de cadeias de polímeros que formam uma rede interligada a três dimensões, a qual está disposta em hélice tripla através de ligações intermoleculares de hidrogênio [10]. Há componentes orgânicos da gelatina que podem favorecer a dispersão da condução iônica do material a baixas frequências. A

causa desta elevada resistividade da gelatina em baixas frequências será objeto de futuros estudos, através de técnicas de caracterização de materiais. A variação observada no aumento da concentração das gelatinas permite adaptar os valores do módulo e fase da impedância, pois quanto maior for a concentração de gelatina maior será o módulo e fase da impedância. Além disso, as gelatinas com 10 % concentração demonstraram uma alteração bastante acentuada no perfil e valores espectrais do módulo e fase de impedância com distintas concentrações de sal.

Esta sensibilidade observada no espectro da impedância elétrica permite uma adaptação da gelatina para uma dada aplicação como, por exemplo, um fantoma de pele. Como se pode ver na Figura 6, comparando diretamente o módulo da impedância da pele do calcanhar (tecidos *in vivo*) com a gelatina a 10%, é possível verificar que os espectros são aproximadamente similares. Isto permite concluir que há muita similaridade da gelatina com a pele, em termos de espectroscopia de impedância elétrica. Esta similaridade permite acreditar que a gelatina pode ser adaptada como fantoma de pele humana.

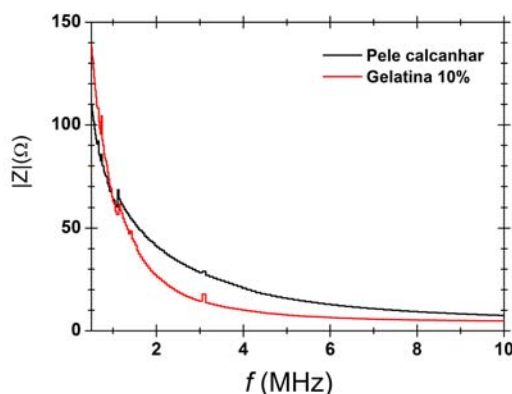


Figura 6: Variação do módulo da impedância com a frequência, para a pele do calcanhar e gelatina a 10%.

Estes resultados preliminares demonstram que a gelatina permite flexibilidade na sua modelagem, o que abre a possibilidade de poder adaptar totalmente o seu espectro ao da pele. Para esta adaptação muitos outros materiais podem ser adicionados na gelatina, tais como: pó de osso, fibras de vidro, sangue, tintas, entre outros. Desta forma considera-se viável usar a gelatina como fantoma de pele em medições de espectroscopia de impedância elétrica.

Conclusão

Neste trabalho foram apresentados os resultados preliminares da caracterização de gelatina como fantoma em medições de espectroscopia de impedância elétrica. Conclui-se que é viável usar a gelatina como fantoma de pele em impedância dada a sua similaridade espectral com a pele e sua flexibilidade de modelagem, estimulando mais a pesquisa nesta área.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da Universidade do Estado de Santa Catarina, da CAPES (proj. A060/2013 BJT-CSF) e da FAPESC (proj. 2013/3447).

Referências

- [1] Pogue BW, Patterson M. S. Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *Journal of Biomedical Optics*. 2006; 11:041102.
- [2] Zhang Z, Li G, Shi B. Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*. 2006; 90(1): 23-28.
- [3] Hall TJ, Bilgen M, Insana MF, Krouskop T. Phantom Materials for Elastography. *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency control*. 1997;44(6): 13655-13665.
- [4] Shepherd CJ, Appleby-Thomas GJ, Hazell PJ, Allsop DF. The dynamic behavior of ballistic gelatin. In: *Proceedings of the AIP Conference*; 2009 28 June-3 July; Nashville, Tennessee, USA. 2009. p. 1399.
- [5] Marchal C, Nadi M, Tossier AJ, Roussey C, Gaulard ML. Dielectric properties of gelatin phantoms used for simulations of biological tissues between 10 and 50 MHz. *International Journal of Hyperthermia*. 1989;5(6): 725-732.
- [6] Neagu AM, Ciuchi IV, Curecheriu LP, Mitoseriu L. Impedance spectroscopy characterization of collagen samples. *Journal of advanced Research in Physics*. 2010; 1(1):0141006.
- [7] Grewal PK, Shokoufi M, Liu J, Kalpagam K, Kohli KS. Electrical characterization of bolus material as phantom for use in electrical impedance and computed tomography imaging. *Journal of Electrical Bioimpedance*. 2014; 5: 34-39.
- [8] Bertemes-Filho P, Veiga EA. The Santa Catarina Mark 1 Bioimpedance System: Preliminary Results. *International Journal of Engineering Research and Applications*. 2013; 3 (4): 2399-2403.
- [9] Bera T. K.. Bioelectrical Impedance Methods for Noninvasive Health Monitoring: A Review. *Journal of Medical Engineering*. 2014; 2014: 381251 (28).
- [10] Chatterjee S, Bohidar H B, Effect of salt and Temperature on the viscoelasticity of gelatin hydrogels, *Journal of Surface Science Technology*. 2006; 22(1-2): 1-13.