



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA E DE COMPUTAÇÃO

Leard de Oliveira Fernandes

**PLATAFORMA DE CONTROLE E ANÁLISE PARA DISPOSITIVOS
DE AQUISIÇÃO DE SINAIS E ESTIMULAÇÃO DE SISTEMAS
BIOLÓGICOS**

Campinas
2013



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA E DE COMPUTAÇÃO**

LEARD DE OLIVEIRA FERNANDES

**PLATAFORMA DE CONTROLE E ANÁLISE PARA DISPOSITIVOS
DE AQUISIÇÃO DE SINAIS E ESTIMULAÇÃO DE SISTEMAS
BIOLÓGICOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Engenharia Elétrica da Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação da Universidade Estadual de Campinas como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica. Área de concentração: Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Santos Mühlen

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pelo aluno Leard de Oliveira Fernandes, e orientada pelo Prof. Dr. Sérgio Santos Mühlen.

Campinas
2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Elizangela Aparecida dos Santos Souza - CRB 8/8098

P391p Fernandes, Leard de Oliveira, 1984-
Plataforma de controle e análise para dispositivos de aquisição de sinais e
estimulação de sistemas biológicos / Leard de Oliveira Fernandes. – Campinas,
SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Sérgio Santos Mühlen.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Engenharia Elétrica e de Computação.

1. Instrumentação e controle. 2. Virtualização. 3. Planejamento de
experimentos. 4. Eletrônica - Instrumentos digitais. 5. Sistemas biológicos. I.
Mühlen, Sérgio Santos, 1956-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade
de Engenharia Elétrica e de Computação. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Platform for controlling and analyzing both signal acquisition devices and stimulation of biological systems

Palavras-chave em inglês:

Instrumentation and Control

Virtualization

Experimental planning

Electronic - Digital instruments

Biological systems

Área de concentração: Engenharia Biomédica

Titulação: Mestre em Engenharia Elétrica

Banca examinadora:

Sérgio Santos Mühlen [Orientador]

Pedro Xavier de Oliveira

Carlos Marcelo Gurjão de Godoy

Data de defesa: 24-06-2013

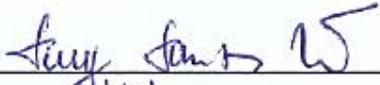
Programa de Pós-Graduação: Engenharia Elétrica

COMISSÃO JULGADORA – TESE DE MESTRADO

Candidato: Leard de Oliveira Fernandes

Data da Defesa: 24 de Junho de 2013

Título da Tese: “Plataforma de Controle e Análise para Dispositivos de Aquisição de Sinais e Estimulação de Sistemas Biológicos”

Prof. Dr. Sérgio Santos Muhlen (Presidente):  _____

Prof. Dr. Carlos Marcelo Gurjao de Godoy:  _____

Prof. Dr. Pedro Xavier de Oliveira:  _____

“Great men are not born great, they grow great...”

“Grandes homens não nascem grandes, tornam-se grandes...”

Mario Puzo, The Godfather

Aos meus Pais, Irmãos e Namorada

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer aos meus pais, Rosilene e Armando, e minhas irmãs, Amanda e Kécya, pelo apoio e suporte necessário em todos os momentos de minha vida,

à minha namorada, Helane França, pela compreensão, pelo suporte e pelo amor que me ajuda a seguir no trilhar de meus sonhos,

ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Mühlen, pela orientação, confiança e apoio necessários para o desenvolvimento deste projeto,

ao Prof. Dr. Pedro Xavier, pela amizade e conselhos constantes,

ao Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa e à Prof. Dra. Rosana Almada Bassani, pela oportunidade de desenvolver o projeto em seus laboratórios,

aos amigos Paulo Inforçatti e Frederico David, pelo acolhimento, amizade e o convívio ao longo destes anos,

aos amigos e colegas de Mestrado Jair Goulart, Fernando Andrade, Tiago Paggi, por todos os momentos em que me ajudaram,

a todos os amigos e funcionários do Departamento de Engenharia Biomédica e Centro de Engenharia Biomédica da Unicamp,

a todos os meus amigos, em especial a Charles Miranda e Wilton Lacerda pelos conselhos e apoio durante esta jornada,

e à CAPES, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Em experimentos que envolvem estimulação de preparações biológicas e cuja resposta é representada por um ou mais sinais, o controle do processo de estimulação e o monitoramento dos sinais resultantes são essenciais para um melhor entendimento de como o sistema biológico responde à estimulação. Assim, este trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver um instrumento virtual para uso em experimentos com preparações biológicas, capaz de gerar estímulos, adquirir e processar os sinais biológicos decorrentes dos estímulos, a fim de proporcionar um único ambiente que atenda ao máximo os requisitos de qualquer protocolo experimental que possa envolver estimulação, aquisição e análise de sinais. Foi então desenvolvida uma plataforma virtual para experimentos em preparações biológicas de modo a automatizar o protocolo experimental de um *setup*. Todo o desenvolvimento dos sistemas de controle, estimulação, aquisição e processamento do sinal do instrumento virtual foram concebidos de modo a maximizar a flexibilidade no manuseio e a generalidade nas aplicações. O sistema desenvolvido foi capaz de controlar a geração e a aplicação de estímulos (pulsos de ultrassom de potência) em preparações *in vitro* de corações de ratos, tornando possível automatizar todo o protocolo experimental de estimulação, adquirir os sinais de temperatura e força de contração da preparação de forma síncrona ao estímulo e pós-processar os sinais adquiridos. O instrumento virtual pode ser aplicado em diferentes *setups* experimentais de preparações biológicas.

Palavras-chave: Instrumentação e Controle, Virtualização, Planejamento de experimentos, Instrumentos digitais, Sistemas Biológicos.

ABSTRACT

In experiments involving stimulation of biological preparations and their response expressed by a given acquired signal, control of the stimulation and monitoring of the signal are essential to better understand how the biological system reacts to the stimulation. This study was conducted with the aim of developing a virtual instrument for use in experiments with biological preparations, capable of generating stimuli, acquire and process the biological signals from stimulation, providing a unique environment that meets the maximum requirements from any experimental protocol that might involve stimulation, acquisition and signal analysis. A virtual platform was developed for controlling experiments with biological preparations, making possible to automate the setup. All the development of control, stimulation and acquisition systems, and signal processing of the virtual instrument was designed to maximize the flexibility in the use, and the generality of the applications. The developed system is capable of controlling the generation and application of stimuli (pulses of power ultrasound) in an *in vitro* preparation of rat hearts, automating the whole experimental protocol of stimulation, acquisition of temperature and contractile force signals synchronized to the stimuli, and post-process the acquired signals. The virtual instrument can be applied in different experimental setups with biological preparations.

Keywords: Instrumentation and Control, Virtualization, Experimental Planning, Digital Instrument, Biological Systems.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Modelo básico de um instrumento de medição. O elemento sensor transforma a grandeza de interesse em um sinal que pode ser utilizado por um sistema de visualização e assim, interpretador pelo observador.	1
Figura 1.2 - Blocos funcionais de um instrumento analógico. O processo de medição em um instrumento analógico se inicia com a transformação da grandeza de interesse em um sinal elétrico equivalente por meio do elemento sensor, logo após o sinal passa por um circuito de condicionamento e filtragem, sendo então transmitido para um sistema de saída.....	5
Figura 1.3 - Blocos funcionais de um instrumento digital. Nos instrumentos digitais, o processo de transformação da grandeza de interesse e condicionamento do sinal resultante se assemelha aos dos instrumentos analógicos, a principal diferença está no bloco de conversão analógico/digital, onde o sinal é digitalizado. Após sua digitalização o sinal pode sofrer qualquer tipo de processamento, assim como visualizado ou armazenado. O sinal digital também pode ser convertido novamente em um sinal analógico.	5
Figura 1.4 - Modelo de instrumentação virtual (Jerome, 2010).	6
Figura 1.5 - Esquema genérico de um instrumento virtual. O sistema de aquisição e controle é composto pelos circuitos de condicionamento, amplificação, filtragem, conversão analógico/digital ou digital/analógico. No instrumento virtual o sistema de aquisição e controle possui parâmetros de funcionamento configuráveis, sendo estes acessados por meio do <i>software</i> de controle no computador.....	6
Figura 1.6 - Estrutura gráfica de codificação da linguagem G.....	8
Figura 3.1 - Diagrama em blocos do instrumento virtual. O instrumento virtual é baseado no <i>software</i> de controle do VI e nos equipamentos que podem ser controlados, além do computador, que neste caso, é o equipamento responsável por controlar todos os dispositivos periféricos do sistema. As linhas tracejadas no diagrama são ligações opcionais, que podem ser utilizadas conforme a necessidade do usuário.	13
Figura 3.2 - Diagrama em blocos representado os subsistemas de <i>software</i> do VI.	13
Figura 3.3 - Representação dos parâmetros de medição de um biopotencial (Cobbold, 1974).....	15
Figura 3.4 - Estrutura de operação DAQ (adaptado de Sumathi e Surekha, 2007).	16

Figura 3.5 - Gerador de sinal utilizado no VI (Rigol Technologies, 2008).	18
Figura 3.6 - Painel de entrada e saída de dados. No canto direito superior encontra-se o painel de conexões para reutilização do instrumento virtual.	20
Figura 3.7 - Padrão de desenvolvimento de estrutura de eventos (National Instruments, 2008).	21
Figura 3.8 - Padrão de desenvolvimento de laços paralelos (National Instruments, 2005).	21
Figura 3.9 - Padrão de desenvolvimento produtor/consumidor (National Instruments, 2005).	22
Figura 3.10 - Tela de controle e visualização do sistema de aquisição de sinais..	24
Figura 3.11 - Janela para entrada de eventos do usuário sincronizado com o sinal de entrada.	24
Figura 3.12 - Lista de eventos inseridos pelo usuário.	25
Figura 3.13 - <i>Display</i> para análise manual e automática do sinal adquirido.....	25
Figura 3.14 - Interface do sistema de controle e estimulação da preparação biológica.	26
Figura 3.15 - Exemplo de um sinal senoidal no modo <i>Burst</i> com ciclo de trabalho de 40%.	28
Figura 3.16 - Configuração do protocolo no modo <i>Burst</i>	28
Figura 3.17 - Sinal AM com frequência da portadora fixa em 10 Hz e modulada em amplitude por um sinal de 1 Hz.	30
Figura 3.18 - Sinal FM com frequência da portadora centrada em 10 Hz e amplitude constante, modulada em frequência por um sinal de 1 Hz.	30
Figura 3.19 - Sinal FSK com frequência de marcação em 10 Hz e frequência de espaço em 2 Hz, modulado em chaveamento por deslocamento de frequência. .	31
Figura 3.20 - Configuração do protocolo estimulação no modo <i>Modulation</i>	31
Figura 3.21 - Configuração do protocolo no modo <i>Signal</i>	32
Figura 3.22 - Sinal no Modo <i>Sweep (Chirp)</i> , com frequência inicial 2 Hz e frequência final em 22 Hz.	33

Figura 3.23 - Configuração do protocolo de estimulação no modo <i>Sweep</i>	34
Figura 3.24 - Configuração da linha de sinal digital do dispositivo DAQ.	35
Figura 3.25 - Configuração do protocolo de acionamento das linhas de sinal digital do dispositivo DAQ.	35
Figura 3.26 - Sistema de processamento e análise do VI desenvolvido.	36
Figura 3.27 - Módulo de análise em frequência.	38
Figura 3.28 - Região para configuração da função de janela.	39
Figura 3.29 - Região para configuração da FFT.	39
Figura 3.30 - Módulo de estatística descritiva.	40
Figura 3.31 - Módulo de filtragem digital.	42
Figura 3.32 - Região para configuração do tipo de filtro.	44
Figura 3.33 - Região para configuração dos parâmetros do filtro IIR.	44
Figura 3.34 - Região para configuração dos parâmetros do filtro FIR.	44
Figura 3.35 - Módulo Histograma, apresentando um sinal com uma distribuição próxima da normal.	45
Figura 3.36 - Módulo de remoção de tendência do sinal. Sinal superior com componente CC em aproximadamente 1,5 V no início da aquisição e 1 V no final. Sinal inferior sem o componente CC.	46
Figura 3.37 - Módulo de reamostragem de sinal. Reamostrando o sinal de 1 kHz (superior) para 100 Hz (inferior).	47
Figura 3.38 - Imagem do sistema de aquisição em funcionamento, durante testes de aquisição de uma onda quadrada de 2 Hz, taxa de aquisição em 1 kHz e filtro passa-baixas de entrada com frequência de corte em 10 Hz. No início da onda pode ser observado o efeito da resposta à onda quadrada no condicionador de sinais.	48
Figura 3.39 - Imagem do gerador de sinais em funcionamento, durante os testes de aquisição. Sinal de saída: triangular (rampa em 50%) de 2 Hz, amplitude de 50 mVpp, filtro passa-baixas na saída com frequência de corte em 10 Hz.	49
Figura 3.40 - Sistema de controle atuando conforme o protocolo na tabela de configuração. Cada linha da tabela refere-se aos parâmetros de controle	

(configuração e duração) do sinal a ser gerado. Quatro tipos de onda foram configurados (senoidal, quadrada, rampa e ruído).....	50
Figura 3.41 - Sinal senoidal em 2 Hz e 50 mVpp adquirido por 20 segundos. Para análise deste sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala linear e representada pela magnitude do sinal.	51
Figura 3.42 - Onda quadrada de 2 Hz e 50 mVpp adquirido por 40 segundos. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala dB e representada pela magnitude do sinal.	51
Figura 3.43 - Onda triangular 2 Hz e 50 mVpp digitalizada por 40 s. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela Hanning, amplitude em escala dB e representada pela magnitude do sinal.	52
Figura 3.44 - Onda quadrada (1 Hz) utilizada para aplicação de um filtro passa-baixa de 4ª ordem do tipo Butterworth com frequência de corte em 10 Hz.....	52
Figura 3.45 - Sinal senoidal (1 Hz) utilizado na validação do módulo de Histograma.	53
Figura 3.46 - Ruído branco digitalizado pelo sistema de aquisição para verificação de sua distribuição via o módulo Histograma.	53
Figura 3.47 - <i>Setup</i> experimental utilizado no estudo do efeito do ultrassom de potência na força de contração do coração de ratos (Coiado, 2012).	54
Figura 3.48 - <i>Setup</i> experimental, transdutor de força acoplado ao coração de rato por meio de um fio (Coiado, 2012).	55
Figura 3.49 - Transdutor de ultrassom em contato com a câmara de acrílico (Coiado, 2012).....	55
Figura 3.50 - Tela do sistema de aquisição utilizado nos primeiros experimentos. O sistema funcionava apenas para gravação dos dados e visualização do sinal biológico (Coiado, 2012).	56
Figura 3.51 - Diagrama geral do protocolo experimental utilizado na validação do sistema proposto.	57
Figura 4.1 - Sinal senoidal com frequência de 2 Hz e amplitude 50 mVpp.	59
Figura 4.2 - Onda quadrada com componente de frequência principal em 2 Hz e amplitude em 50 mVpp.	60

Figura 4.3 - Onda triangular com sua componente de frequência principal em 2 Hz e amplitude em 50 mVpp.	60
Figura 4.4 - Sinais captados pelo sistema de aquisição para teste do sistema de controle. Cada tipo de onda possui um tempo de 21 s de ativação, e um tempo de 2 s de inativação.	61
Figura 4.5 - Onda senoidal captada; conforme esperado o sinal apresenta sua frequência principal em 1 Hz e tempo total de ativação em aproximadamente 21 s.	61
Figura 4.6 - Onda quadrada captada; conforme esperado o sinal apresenta sua frequência principal em 1 Hz e tempo total de ativação em aproximadamente 21 s.	62
Figura 4.7 - Onda triangular captada; conforme esperado o sinal apresenta sua frequência principal em 1 Hz e tempo total de ativação em aproximadamente 21 s.	62
Figura 4.8 - Ruído branco captado; conforme esperado o tempo total de ativação é de aproximadamente 21 s.	63
Figura 4.9 - Espectro de frequências do sinal senoidal apresentado na Figura 4.1. Para análise deste sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala linear e representação pela magnitude do sinal.	64
Figura 4.10 - Espectro de frequências da onda quadrada apresentada na Figura 4.2. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala dB e representação pela magnitude do sinal.	64
Figura 4.11 - Espectro de frequências da onda triangular apresentada na Figura 4.3. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela Hanning, amplitude em escala dB e representação pela magnitude do sinal.	65
Figura 4.12 - Comparativo do módulo de análise em frequência, apresentando a magnitude do espectro de frequências (inferior) de uma onda quadrada em escala logarítmica (esquerda) e linear (direita).	65
Figura 4.13 - Aplicação de um filtro passa-baixa de 4ª ordem do tipo Butterworth com frequência de corte em 10 Hz em sinal quadrado (1 Hz). É possível observar uma pequena alteração no sinal (inferior), quanto às suas componentes de alta frequência.	66

Figura 4.14 - Análise em frequência de uma onda quadrada (1 Hz) após sua aquisição. Apesar do filtro de entrada possuir frequência de corte em 10 Hz é possível observar componentes de alta frequência, destacando-se o componente de 60 Hz.....	67
Figura 4.15 - Análise em frequência de uma onda quadrada (1 Hz), após a aplicação de um filtro digital com frequência de corte em 10 Hz. É possível observar a remoção completa dos componentes de alta frequência da onda amostrada, estando todos estes atenuados de aproximadamente 80 dB em relação ao sinal de interesse, a partir de 20 Hz.	67
Figura 4.16 - Histograma de um sinal senoidal. Conforme esperado, observam-se dois picos nas amplitudes de pico a pico do sinal amostrado.	68
Figura 4.17 - Histograma de sinal típico de ruído branco, próximo de uma distribuição gaussiana.....	69
Figura 4.18 - Remoção de componente CC de uma onda quadrada.	70
Figura 4.19 - Reamostragem de uma onda quadrada. Sinal reamostrado de 1 kHz (superior) para 20 Hz (inferior). Nota-se que vários componentes de alta frequência desaparecem no sinal reamostrado.....	71
Figura 4.20 - Diagrama geral do setup experimental reestruturado após aplicação do VI proposto. O computador passar a controlar o gerador de sinais e sincronizar com o sinal captado pela placa de aquisição.	72
Figura 4.21 - Sinal de força (gráfico superior) captado pelo sistema de aquisição antes da aplicação dos pulsos de ultrassom sobre o coração.	73
Figura 4.22 - Sinal de força (branco) captado pelo sistema de aquisição durante a fase de aplicação dos pulsos de ultrassom (sinal verde) sobre o coração.....	73
Figura 4.23 - Sinal de força captado pelo sistema de aquisição ao término do protocolo experimental de aplicação do ultrassom de potência sobre o coração.	74
Figura 4.24 - Módulo de análise em frequência sendo utilizado com o conjunto de dados que foram gravados durante a aplicação de ultrassom de potência no coração do rato. No gráfico superior (domínio do tempo) é possível observar arritmias durante a aplicação dos pulsos de ultrassom. No gráfico inferior (domínio da frequência) observa-se a distribuição de energia espectral ao longo do eixo de frequências.....	74

LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1 - Características do dispositivo DAQ USB-6009 (National Instruments, 2010).	17
Quadro 3.2 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo <i>Burst</i>	29
Quadro 3.3 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo <i>Modulation</i>	32
Quadro 3.4 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo <i>Signal</i>	33
Quadro 3.5 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo <i>Sweep</i>	34

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADC	<i>Analog-to-Digital Converter</i>
AM	<i>Amplitude Modulation</i>
CC	Componente Contínua
CEB	Centro de Engenharia Biomédica
CMOS	<i>Complementary Metal–Oxide–Semiconductor</i>
CRT	<i>Cathode Ray Tube</i>
CSV	<i>Comma-Separated Values</i>
DAQ	<i>Data Acquisition</i>
DTFT	<i>Discrete-Time Fourier Transform</i>
EMG	Eletromiografia
FFT	<i>Fast Fourier Transform</i>
FIR	<i>Finite Impulse Response</i>
FM	<i>Frequency Modulation</i>
FSK	<i>Frequency-Shift Keying</i>
GPIO	<i>General Purpose Interface Bus</i>
GSD	<i>Graphical System Design</i>
IIR	<i>Infinite Impulse Response</i>
OMG	<i>Object Management Group</i>
PC	<i>Personal Computer</i>
PID	<i>Proportional-Integral-Derivative</i>
PM	<i>Phase Modulation</i>
RAM	<i>Random Access Memory</i>
RMS	<i>Root Mean Square</i>
STFT	<i>Short-Time Fourier Transform</i>
TDMS	<i>Technical Data Management Streaming</i>
TTL	<i>Transistor-Transistor Logic</i>
UML	<i>Unified Modeling Language</i>
USB	<i>Universal Serial Bus</i>

VI *Virtual Instrument*
VISA *Virtual Instrument Software Architecture*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 OS INSTRUMENTOS DE MEDIÇÃO E CONTROLE	3
1.1.1 Instrumentos Analógicos	4
1.1.2 Instrumentos Digitais	5
1.1.3 Instrumentos Virtuais	5
1.1.3.1 A Linguagem de Programação G	7
2 OBJETIVO	9
3 MATERIAIS E MÉTODOS	11
3.1 DESENVOLVIMENTO DO INSTRUMENTO VIRTUAL.....	11
3.2 REQUISITOS	12
3.3 DIAGRAMA EM BLOCOS DO SISTEMA.....	12
3.4 SUBSISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS.....	14
3.4.1 Transdutor de Sensoriamento.....	14
3.4.2 Circuito de Condicionamento	14
3.4.3 Dispositivo de Aquisição	15
3.5 SUBSISTEMA DE ESTIMULAÇÃO	17
3.5.1 Gerador de Sinais	17
3.5.2 Amplificador	18
3.5.3 Transdutor / Eletrodo de Estimulação	19
3.6 ATUADORES.....	19
3.7 COMPUTADOR	19
3.8 PLATAFORMA DE DESENVOLVIMENTO	20
3.9 DESCRITIVO DO SISTEMA DESENVOLVIDO	22
3.9.1 Sistema de Aquisição e Armazenamento de Dados	23
3.9.2 Sistema de Estimulação e Controle	26
3.9.2.1 Sistema de Estimulação	27
3.9.2.2 Sistema de Controle	35
3.9.3 Sistema de Processamento e Análise de Sinais.....	36
3.9.3.1 Módulo de Análise em Frequência	37
3.9.3.2 Módulo de Estatística Descritiva.....	39
3.9.3.3 Módulo de Filtragem Digital	42
3.9.3.4 Módulo Histograma.....	44
3.9.3.5 Módulo de Remoção de Tendência	46
3.9.3.6 Módulo de Reamostragem.....	47
3.10 VALIDAÇÃO.....	48
3.10.1 Aquisição e Controle de Sinais	48
3.10.2 Avaliação das Ferramentas de Processamento Digital.....	50
3.10.3 Aquisição de Sinais e o Controle de Experimentos Biológicos	53
4 RESULTADOS.....	59

4.1 AQUISIÇÃO E CONTROLE DE SINAIS	59
4.2 AVALIAÇÃO DAS FERRAMENTAS DE PROCESSAMENTO DIGITAL	63
4.3 AQUISIÇÃO DE SINAIS E O CONTROLE DE EXPERIMENTOS BIOLÓGICOS.....	71
5 DISCUSSÃO	75
5.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS E TRABALHOS FUTUROS	76
6 CONCLUSÃO	79
APÊNDICE.....	87

1 INTRODUÇÃO

O termo 'instrumentação' refere-se a todo conjunto de sistemas e dispositivos que auxiliam a medição e o controle dos processos. Os sistemas de medição são instrumentos capazes de representar uma grandeza física de interesse em uma forma quantificada desejável ao observador ou a outros dispositivos; já os sistemas de controle são compostos por instrumentos capazes de controlar a realimentação de um determinado processo (NADI, 2007).

O modelo mais simples de um instrumento de medição consiste de um elemento sensor e um sistema de visualização ou armazenamento, conforme pode ser observado na Figura 1.1. O sensor possui como principal função converter uma grandeza física de entrada em um sinal de saída proporcional (geralmente elétrico), enquanto o sistema de visualização ou armazenamento é utilizado na leitura da medição pelo observador (HANSMAN, 1999).

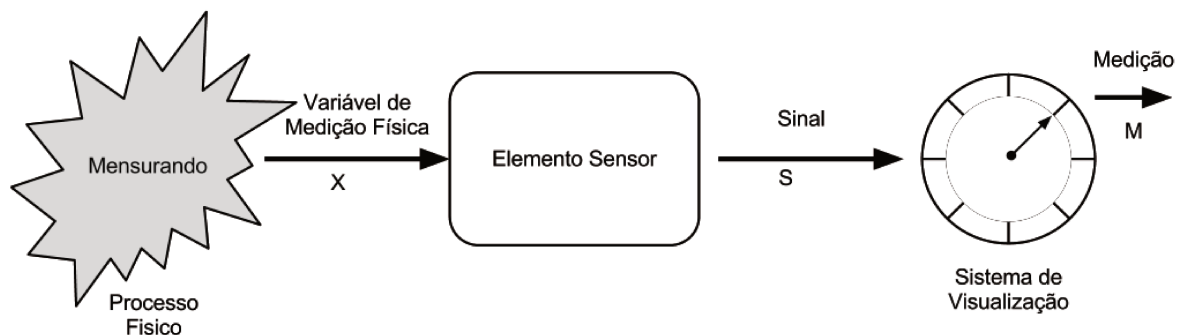


Figura 1.1 - Modelo básico de um instrumento de medição. O elemento sensor transforma a grandeza de interesse em um sinal que pode ser utilizado por um sistema de visualização e assim, interpretador pelo observador.

Os instrumentos de medição podem ser analógicos, digitais, ou uma combinação de ambos (DURDEN e EREN, 2006). Em sua grande maioria, os instrumentos atuais são digitais, mesmo os que possuem um *front-end* analógico compatível com as características da grandeza de entrada, ou seja, os blocos iniciais de condicionamento e processamento dos sinais dos sensores e transdutores são analógicos.

Em experimentos que envolvem estimulação de preparações biológicas e cuja resposta é representada por um ou mais sinais, o controle do processo de estimulação e o monitoramento dos sinais resultantes são essenciais para um melhor entendimento de como o sistema biológico responde à estimulação.

O desenvolvimento tecnológico tem propiciado a aplicação de novas técnicas de medição e automatização em experimentos biológicos, resultando no desenvolvimento de diversos arranjos experimentais (*setups*) que incorporam um conjunto de diferentes equipamentos e instrumentos de medição.

O ciclo de desenvolvimento do *setup* experimental pode exigir frequentes mudanças – em função do seu aperfeiçoamento ou de novas ideias que surgem durante a avaliação dos experimentos realizados – o que ocasiona inevitáveis adaptações, ou mesmo a total reconstrução do *software* de controle do *setup*. É comum também que o *software* desenvolvido para um *setup* específico não seja compatível ou reaproveitável em outros experimentos, o que resulta em retrabalho e gasto de tempo. Desta forma, o projeto de um sistema que possa ser reaproveitado em outros *setups* contribuiria para a redução do tempo de desenvolvimento do *setup* experimental.

Dado o aumento da capacidade de processamento e a redução nos custos dos computadores, tornou-se cada vez mais comum a sua incorporação com os instrumentos de medição e controle, como parte integrante da instrumentação utilizada em laboratórios de pesquisa (GOLDBERG, 2000). Esta integração leva a um novo conceito, o de instrumento virtual (*virtual instrument* – VI), onde o *software* controla o sistema computacional e os instrumentos. O conceito de instrumento virtual surgiu por volta de 1970, decorrente do avanço dos microprocessadores, o que facilitou as alterações nas funções dos instrumentos por meio de mudanças no *software* (SUMATHI e SUREKHA, 2007).

Para a realização de experimentos envolvendo preparações biológicas, onde o controle e monitoramento são críticos, a escolha dos instrumentos envolvidos no experimento pode ser determinada pelo tipo de controle do ambiente, da estimulação da preparação biológica e pelas características da detecção e quantifica-

ção dos sinais de interesse. Desta forma, o pesquisador deverá escolher os equipamentos, que proporcionarão as funcionalidades necessárias para o experimento. Caso a escolha seja a instrumentação virtual, torna-se possível o desenvolvimento de um único instrumento virtual (ou diversos), focado em cada problema do experimento e utilizando um único sistema de aquisição e controle.

A possibilidade de adaptar um instrumento virtual às necessidades particulares do experimento sem a necessidade de mudanças significativas no sistema de *hardware* e, principalmente, no seu controle torna-o bastante flexível. Esta vantagem sobre os instrumentos tradicionais permite que correções e a adição de novas funcionalidades no instrumento virtual não sejam fatores impactantes no projeto.

Uma característica comum em *setups* tradicionais é que, em sua grande maioria, as mudanças nos parâmetros de controle durante o experimento sejam realizadas manualmente. Assim, incertezas no experimento e consumo de tempo adicional podem surgir dos frequentes ajustes manuais dos parâmetros de *hardware* e, além disso, das transições entre as diversas ferramentas de *software*.

Um dos principais motivadores para a realização deste trabalho está em demonstrar que a utilização de instrumentação virtual em experimentos biológicos é uma solução viável quando bem planejada, e que pode ser reutilizada em diversos tipos de preparações biológicas. Um controle preciso do experimento e um número menor de diferentes ferramentas de *software* utilizadas na análise dos resultados adquiridos possibilita economia de tempo e redução de incertezas experimentais.

1.1 OS INSTRUMENTOS DE MEDIÇÃO E CONTROLE

Desde o seu surgimento, os sistemas de instrumentação são caracterizados por sua constante evolução em flexibilidade e escalabilidade de aplicação. Observam-se as seguintes fases na evolução da instrumentação analógica/digital (SUMATHI e SUREKHA, 2007):

- Dispositivos de medição analógica;
- Dispositivos de aquisição e processamento de dados;
- Processamento digital baseado em plataformas computacionais de uso geral.

Desde o seu surgimento e até meados do século XX, os instrumentos de medição eram puramente analógicos, ou seja, a informação de interesse era apresentada na forma de deslocamento de ponteiros sobre escalas fixas (e.g. galvanômetros), em monitores de raios catódicos (e.g. osciloscópios), ou impressa em fita de papel (e.g. polígrafos).

Por volta de 1950 os instrumentos já incorporavam sistemas de controle rudimentares utilizando relés, detectores de variação e integradores. Com o advento dos primeiros sistemas digitais, se inicia a digitalização dos sinais medidos, permitindo assim o seu processamento e armazenamento por via digital.

No final da década de 1960, com a criação da interface de comunicação GPIB (interface de barramento de uso geral) foi possível o controle de instrumentos por meio de um computador. Inicialmente os computadores eram utilizados apenas como instrumentos *off-line*, ou seja, os dados eram primeiramente gravados em discos de armazenamento, e só então eram recuperados para o pós-processamento necessário. Dado o avanço e a padronização dos computadores, tornou-se possível a realização de medições e controle em tempo real.

1.1.1 Instrumentos Analógicos

Um instrumento puramente analógico apresenta uma saída contínua no tempo, que varia de acordo as mudanças que ocorrem na grandeza de entrada. Desta forma, a sua saída pode assumir um número infinito de valores dentro da faixa de valores que o instrumento é capaz de medir.

Instrumentos analógicos de medição realizam o processamento da grandeza, convertida em sinal elétrico, por meio de componentes analógicos. Tais componentes formam os blocos funcionais de um instrumento analógico, conforme

pode ser observado na Figura 1.2. Os filtros, amplificadores, moduladores, limitadores de tensão, e osciladores são exemplos de blocos funcionais de instrumentos analógicos.



Figura 1.2 - Blocos funcionais de um instrumento analógico. O processo de medição em um instrumento analógico se inicia com a transformação da grandeza de interesse em um sinal elétrico equivalente por meio do elemento sensor, logo após o sinal passa por um circuito de condicionamento e filtragem, sendo então transmitido para um sistema de saída.

1.1.2 Instrumentos Digitais

Em um instrumento digital, o sinal de uma grandeza física analógica é convertido na forma digital. Para tanto, torna-se necessário a utilização de um dispositivo ou circuito capaz de realizar esta conversão, denominado conversor analógico / digital. Conforme é possível observar na Figura 1.3, um instrumento digital possui os mesmos blocos funcionais de entrada de um instrumento analógico, com a adição dos blocos de conversão analógico / digital e processamento, característicos de um instrumento digital.

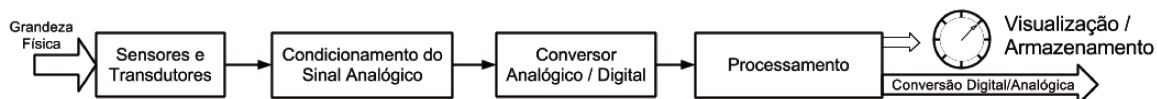


Figura 1.3 - Blocos funcionais de um instrumento digital. Nos instrumentos digitais, o processo de transformação da grandeza de interesse e condicionamento do sinal resultante se assemelha aos dos instrumentos analógicos, a principal diferença está no bloco de conversão analógico/digital, onde o sinal é digitalizado. Após sua digitalização o sinal pode sofrer qualquer tipo de processamento, assim como visualizado ou armazenado. O sinal digital também pode ser convertido novamente em um sinal analógico.

1.1.3 Instrumentos Virtuais

Um VI é definido como uma combinação de *hardware* genérico e um *software* definido pelo usuário, com a finalidade de implementar um sistema personalizado de componentes de aquisição, análise e apresentação dos sinais de interesse. Desta forma, como pode ser observado na Figura 1.4, o modelo de instru-

mento virtual é baseado em três processos básicos: aquisição de dados, análise ou processamento, e apresentação dos dados.



Figura 1.4 - Modelo de instrumentação virtual (Jerome, 2010).

Em um VI (Figura 1.5), o *hardware* é um sistema pouco especializado, que consiste de um PC e um conjunto de dispositivos para geração, medição e controle do sinal, enquanto o *software* é responsável pelo controle do *hardware*, visualização e processamento dos dados adquiridos (SUMATHI e SUREKHA, 2007).

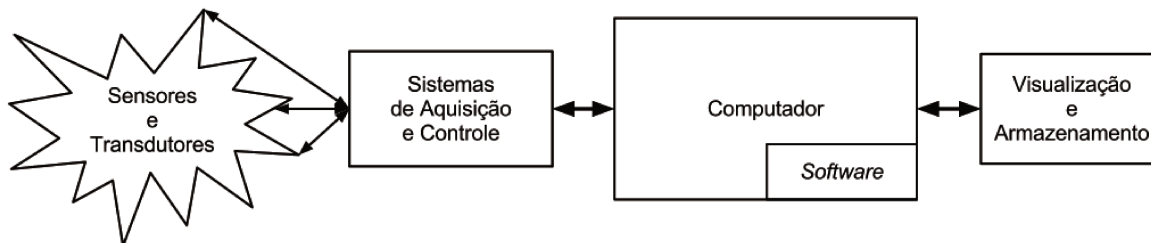


Figura 1.5 - Esquema genérico de um instrumento virtual. O sistema de aquisição e controle é composto pelos circuitos de condicionamento, amplificação, filtragem, conversão analógico/digital ou digital/analógico. No instrumento virtual o sistema de aquisição e controle possui parâmetros de funcionamento configuráveis, sendo estes acessados por meio do *software* de controle no computador.

O LabVIEW® (*Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench*) é uma das mais populares e poderosas ferramentas disponíveis atualmente para implementação de instrumentos virtuais. É uma plataforma de programação gráfica, desenvolvida em 1986 pela National Instruments, na qual nenhum código é escrito.

Observa-se que os processos de estimulação e aquisição de dados em um experimento biológico, quando controlados por meio de *software* desenvolvido na plataforma LabVIEW®, são muito especializados e funcionam apenas para o *setup* em questão. Com isso, para os processos de análise e classificação de dados, frequentemente são utilizadas diferentes ferramentas de *software*. Eickenscheidt

et al. (2012) desenvolveram um sistema de estimulação e análise de dados para estudos de neurônios retinais. Laguna *et al.* (2011) construíram um instrumento para estimulação elétrica nervosa superficial por meio de pulsos modulados, consistindo de um eletrodo de aquisição e um eletrodo de estimulação. Dayton *et al.* (2004) desenvolveram um sistema para análise de agentes de contraste ultrassônicos, onde utilizaram o LabVIEW® para aquisição de dados por meio de um osciloscópio digital, enquanto para análise dos dados utilizaram o MATLAB®. Em todos estes exemplos o *software* desenvolvido é restrito ao equipamento utilizado no experimento, não sendo possível sua reutilização em outro *setup*.

1.1.3.1 A Linguagem de Programação G

Conforme apresentado, um instrumento virtual é um sistema baseado em *hardware* e *software*. Para que o *software* seja desenvolvido é necessário utilizar um tipo especial de codificação para construção de programas, responsável por enviar instruções para uma máquina ou computador. Este tipo de codificação é conhecido como uma linguagem artificial, ou simplesmente linguagem de programação. Cada tipo de linguagem se diferencia por suas duas componentes principais: léxicas (forma) e semânticas (significado).

A linguagem de programação Gráfica ou simplesmente G, é uma linguagem de uso geral que possui grande diversidade de bibliotecas e ferramentas de desenvolvimento e que podem ser utilizadas nas mais variadas tarefas de programação. É a principal linguagem utilizada pela plataforma de desenvolvimento LabVIEW®, e dentre as diversas funções disponíveis encontram-se as bibliotecas de aquisição de dados e controle de instrumentos. Na Figura 1.6 é apresentada a estrutura de codificação de um VI.

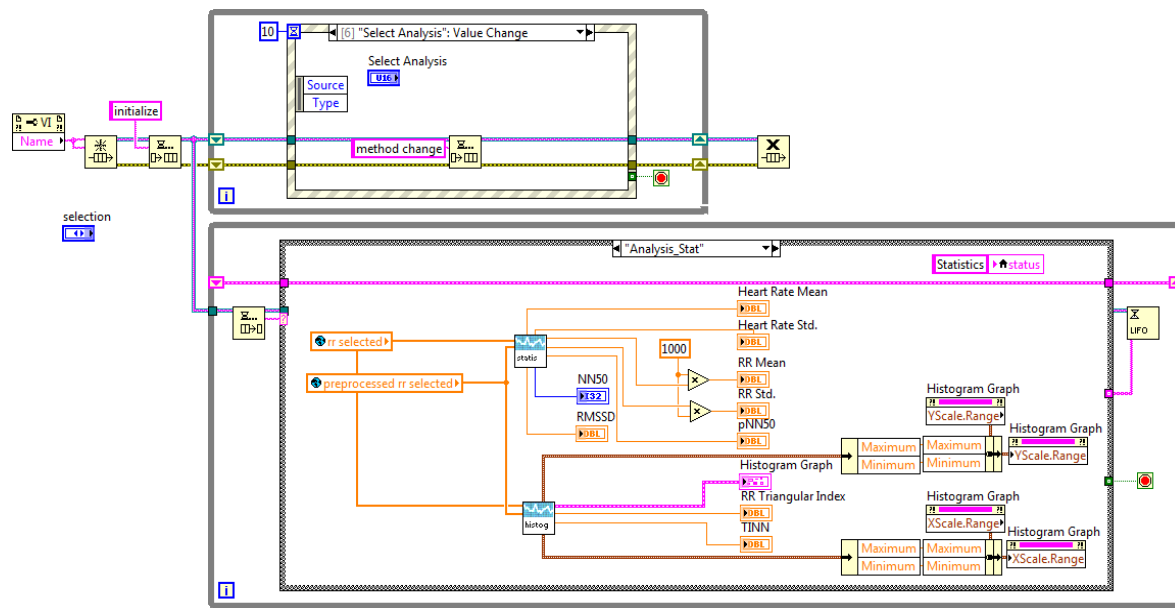


Figura 1.6 - Estrutura gráfica de codificação da linguagem G.

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um instrumento virtual para uso em experimentos com preparações biológicas, capaz de gerar estímulos, adquirir e processar os sinais biológicos decorrentes dos estímulos, a fim de propiciar um único ambiente que atenda aos mínimos requisitos de protocolos experimentais que envolvam estimulação, aquisição e análise de sinais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DESENVOLVIMENTO DO INSTRUMENTO VIRTUAL

O desenvolvimento do VI proposto neste trabalho foi fundamentado no modelo de projeto gráfico de sistemas (*graphical system design* – GSD), e tem como foco acelerar o ciclo de desenvolvimento. Cada fase é baseada no modelo de instrumento virtual descrito na introdução deste trabalho. O modelo GSD é composto por três fases principais: projeto, prototipagem e implantação (JEROME, 2010).

A fase de Projeto inclui a modelagem do sistema e a simulação em torno de diferentes situações. No caso do sistema proposto neste trabalho, foram avaliados: em quais preparações biológicas o sistema seria aplicado; quais equipamentos de aquisição e estimulação poderiam ser utilizados; o sistema computacional com a mínima configuração utilizável; os sensores e atuadores a serem utilizados; o ambiente gráfico necessário para o utilizador; e as ferramentas básicas para o processamento do sinal adquirido. Nesta fase foi possível avaliar o desempenho e aperfeiçoar o modelo proposto, sendo que toda e qualquer modificação nesta fase pôde ser realizada com base nos resultados e observações durante a fase de prototipagem.

Durante a fase de Prototipagem foi realizado o desenvolvimento e teste do sistema em laboratório, conforme as especificações da fase de Projeto. Foi possível realizar as otimizações e modificações necessárias no modelo do sistema proposto (principalmente no ajuste da apresentação dos sinais captados), retornando sempre que necessário à fase de Projeto. Outra característica importante desta fase foi a solução dos problemas no laboratório de ultrassom do CEB (interferências, instalações, espaço, etc.), que seriam apenas resolvidos durante ou após a fase de implantação.

Na Implantação o sistema foi inserido no laboratório em conjunto com os sistemas de *hardware* de aquisição e controle. A transição entre a fase de prototipagem e de implantação foi muito rápida e eficiente, levando aproximadamente trinta dias entre o desenvolvimento e a primeira utilização no laboratório. Dada a natureza da prototipagem, onde o desenvolvimento é realizado em campo e as alterações necessárias são rapidamente aplicadas no sistema em desenvolvimento. A fase de Implantação do sistema foi importante na caracterização das ferramentas de processamento, uma vez que durante a sua utilização foi possível observar novas demandas que caracterizavam os experimentos aplicados.

3.2 REQUISITOS

Para o desenvolvimento de qualquer tipo de *software* é imprescindível que ocorra o levantamento dos requisitos. Seu principal objetivo é determinar o que o sistema deve fazer com base no que o usuário necessita (SOMMERVILLE, 2007).

O levantamento dos requisitos de usuário foi realizado por meio de duas abordagens. A primeira foi através de entrevistas, nas quais os pesquisadores do CEB (usuários do sistema) definiram as necessidades básicas e descreveram possíveis cenários das atividades realizadas durante os experimentos. A segunda abordagem levou em conta a fase de prototipagem, haja vista que uma vez desenvolvidos os requisitos básicos do sistema, o usuário poderia definir possíveis correções e sugerir novos requisitos e funcionalidades.

3.3 DIAGRAMA EM BLOCOS DO SISTEMA

Após o levantamento de requisitos do sistema foi possível desenvolver o diagrama em blocos do instrumento virtual. Na Figura 3.1 é apresentado o VI no diagrama em blocos, com *software*, *hardware* e a preparação biológica envolvida no experimento. Destacam-se dois subsistemas principais: o subsistema de aquisição do sinal biológico e o subsistema de estimulação da preparação biológica.

Estes dois subsistemas são independentes entre si, o que permite utilizá-los separadamente, ou em conjunto, dependendo das características do experimento a ser realizado.

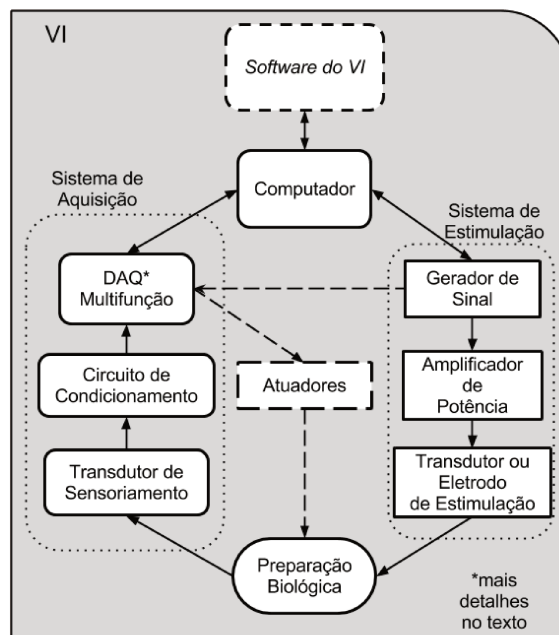


Figura 3.1 - Diagrama em blocos do instrumento virtual. O instrumento virtual é baseado no *software* de controle do VI e nos equipamentos que podem ser controlados, além do computador, que neste caso, é o equipamento responsável por controlar todos os dispositivos periféricos do sistema. As linhas tracejadas no diagrama são ligações opcionais, que podem ser utilizadas conforme a necessidade do usuário.

O bloco “*Software do VI*” é responsável pelo controle dos sistemas de aquisição e de estimulação, além do armazenamento dos dados captados e do sistema de pós-processamento do sinal. O diagrama em blocos do sistema de *software* é apresentado na Figura 3.2.

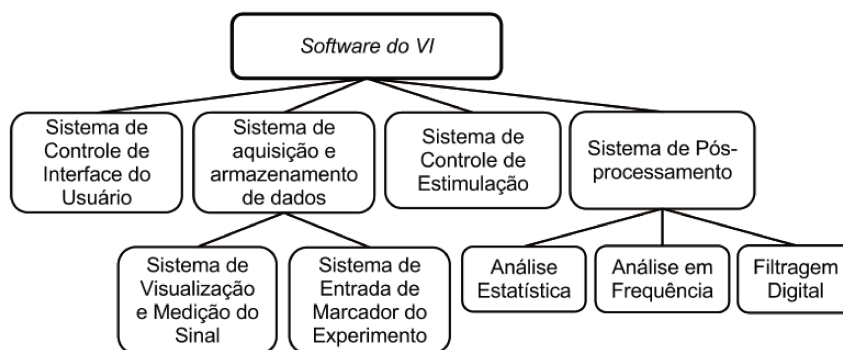


Figura 3.2 - Diagrama em blocos representado os subsistemas de *software* do VI.

3.4 SUBSISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS

A aquisição de sinais é um dos processos mais importantes na caracterização dos sistemas biológicos. A aplicação de diferentes estímulos e a utilização de ferramentas para análise dos sinais adquiridos possibilita a compreensão e registro do funcionamento do sistema biológico em questão.

O sistema de aquisição de dados é composto por três dispositivos: Transdutor de Sensoriamento, Circuito de Condicionamento e o DAQ.

3.4.1 Transdutor de Sensoriamento

O elemento transdutor é responsável por converter a grandeza de interesse num sinal elétrico. A escolha do transdutor é realizada em função do tipo de grandeza, suas características estáticas e dinâmicas e do tipo de estudo a ser realizado na preparação biológica. Para validar o sistema desenvolvido foi considerado o sensoriamento dos efeitos na força de contração da aplicação de ultrassom de alta potência numa preparação biológica com coração isolado de rato, utilizando um transdutor isométrico de força (Narco Bio-Systems, modelo Myograph F-60).

3.4.2 Circuito de Condicionamento

O circuito de condicionamento é responsável pela amplificação e filtragem dos sinais captados pelos transdutores de sensoriamento na preparação biológica. Os parâmetros de tais circuitos (ganho, impedância, quantidade de canais e a sua largura de banda, etc.) são geralmente definidos pelo tipo de sinal biológico a ser captado.

Conforme o tipo de experimento o nível de tensão de um sinal captado pode ser muito baixo, variando entre 1 μV e 100 mV, e o nível de corrente pode ser da ordem de 10^{-12} A. Isto requer circuitos com alto ganho de sinal e alta impedância de entrada, para que não ocorram alterações no sinal fonte da medição (Figura

3.3). Além disso, a definição do circuito de condicionamento deve satisfazer às especificações de saída do transdutor e de entrada do dispositivo DAQ.

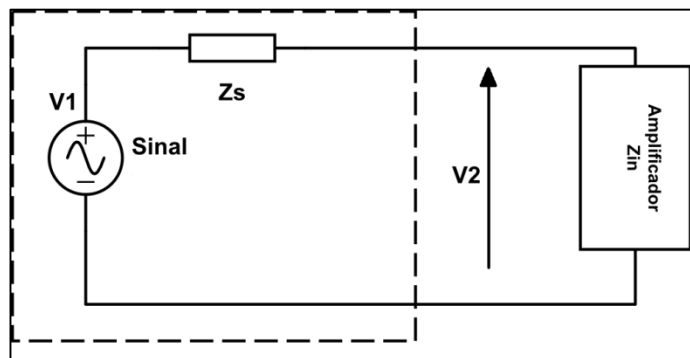


Figura 3.3 - Representação dos parâmetros de medição de um biopotencial (Cobbold, 1974).

De maneira geral, a relação entre o sinal medido (tensão no terminal do amplificador) e o sinal sem perturbação é dado por (COBBOLD, 1974):

$$\frac{\text{Tensão medida}}{\text{Tensão sem perturbação}} = \frac{1}{Z_s/Z_{in} + 1} \quad 3.1$$

Onde, Z_s é a impedância da fonte de sinal e Z_{in} é a impedância de entrada do amplificador.

Para validação do sistema foi utilizado um amplificador de sinais fisiológicos (OS 01-2575), desenvolvido na área de pesquisa e desenvolvimento – APD do CEB / UNICAMP.

3.4.3 Dispositivo de Aquisição

O dispositivo de aquisição de dados ou simplesmente DAQ (*Data Acquisition*), é responsável pela conversão de uma grandeza física em um sinal elétrico que pode ser medido e convertido para um formato digital (PARK e MACKAY, 2003). De maneira geral, um dispositivo DAQ é capaz de realizar três funções básicas (MATHIVANAN, 2007): conversão analógico / digital; conversão digital / analógico; e o controle de entrada e saída digital.

Em função da arquitetura empregada no desenvolvimento do instrumento virtual é possível utilizar outros modelos de dispositivos DAQ, desde que sejam compatíveis com o *driver* NI-DAQmx, fornecido pela própria National Instruments.

O diagrama da Figura 3.4 apresenta a estrutura de comunicação entre o computador e a placa DAQ. O instrumento virtual efetua a chamada ao *driver* (NI-DAQmx) enviando as configurações de controle da placa DAQ, que pode iniciar a aquisição do sinal, ou controlar a saída analógica, ou ainda configurar as portas de entrada/saída digitais. Observa-se que em função do modelo de DAQ é possível sincronizar suas operações de controle e aquisição por meio do *trigger* externo, ou internamente por *software*.

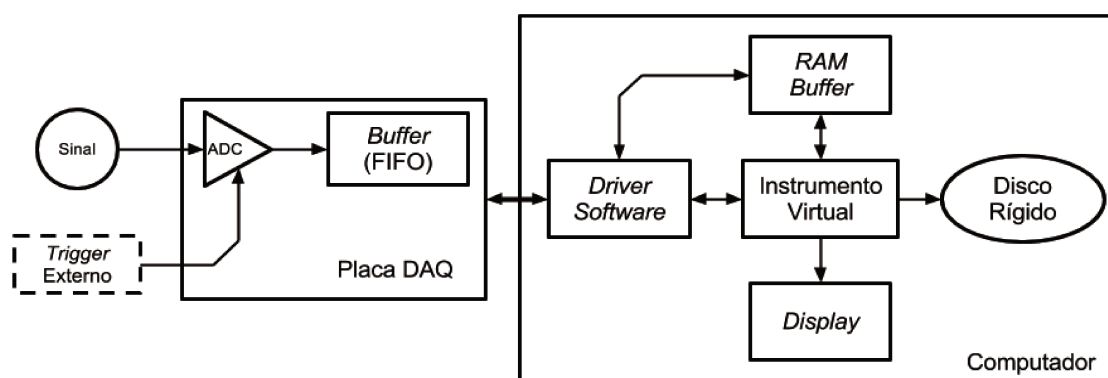


Figura 3.4 - Estrutura de operação DAQ (adaptado de Sumathi e Surekha, 2007).

Após a digitalização do sinal, a placa DAQ armazena temporariamente os dados no *buffer* local. Desta forma os dados podem ser enviados para o PC por meio da porta de comunicação USB, sem que ocorram atrasos na digitalização do sinal. Os dados são enviados do *driver* para a memória RAM do PC, que atua como segundo *buffer*. O instrumento virtual pode então utilizar os dados que se encontram na memória para apresentá-los na tela ou gravá-los no disco rígido do PC.

No Quadro 3.1 são apresentadas algumas características do dispositivo DAQ USB-6009 utilizado neste trabalho.

Quadro 3.1 - Características do dispositivo DAQ USB-6009 (National Instruments, 2010).

Entrada Analógica	
Conversor	Aproximação sucessiva
Entradas Analógicas	8 (terminal único), 4 (diferenciais)
Resolução	14 bits (diferenciais), 13 bits (terminal único)
Taxa de Amostragem Máxima	48 kS/s
Faixa Dinâmica	± 10 V (terminal único) ± 20 V, ± 10 V, ± 5 V, ± 4 V, $\pm 2,5$ V, ± 2 V, $\pm 1,25$ V, ± 1 V (diferenciais)
Impedância de Entrada	144 k Ω
Saída Analógica	
Saídas Analógicas	2
Resolução	12 bits
Taxa de Atualização	150 Hz, temporização por <i>software</i>
Faixa de Saída	0 a +5 V
Corrente de Saída	5 mA
Entrada/Saída Digital	
Entradas/Saídas	12
Controle de Direção	Programável individualmente
Compatibilidade	TTL/CMOS

3.5 SUBSISTEMA DE ESTIMULAÇÃO

Este subsistema é responsável pelo controle do sinal de estimulação da preparação biológica, e é composto por três dispositivos: Gerador de Sinais; Amplificador e o Transdutor / Eletrodo de estimulação.

3.5.1 Gerador de Sinais

Este dispositivo deve gerar os sinais de estímulo da preparação biológica a partir dos parâmetros enviados pelo *software* de controle do VI. Quatro formas de ondas podem ser geradas: senoidal, quadrada, triangular e rampa, além dos modos pulso e formas de onda arbitrárias, onde o usuário poderá carregar qualquer

padrão de sinal periódico. Os sinais também podem ser disponibilizados em três modos: modulação, varredura (*Sweep*); e disparo (*Burst*).

O gerador de sinais utilizado (Rigol Technologies Inc., modelo DG 1022) é mostrado na Figura 3.5. Seu controle é realizado por meio de uma conexão USB com o PC, sob a arquitetura de *software* de instrumento virtual (VISA). O instrumento possui duas saídas com impedâncias que podem variar de 1 Ω a 10 k Ω , controláveis por *software*. Conta com uma saída de sinal de sincronismo, que pode ser ligado a um canal de digitalização do dispositivo DAQ, permitindo relacionar o momento de aplicação do sinal de estimulação com os possíveis efeitos observados no sinal biológico adquirido.

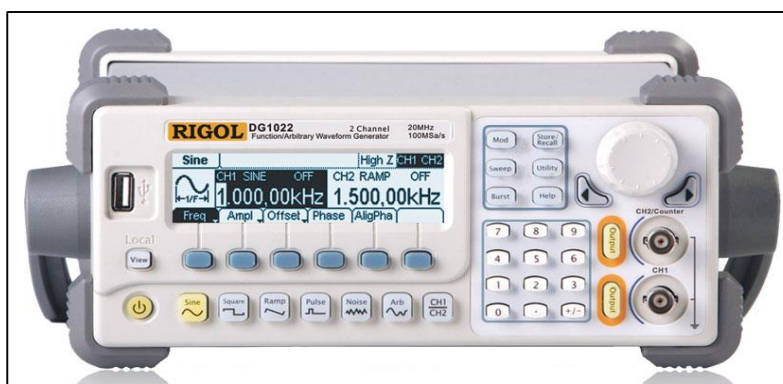


Figura 3.5 - Gerador de sinal utilizado no VI (Rigol Technologies, 2008).

3.5.2 Amplificador

O amplificador deve adequar o sinal fornecido pelo gerador de sinais às especificações do transdutor ou eletrodo de estimulação, e com as necessidades do experimento. A escolha do dispositivo amplificador depende dessas características e deve respeitar a impedância de saída do gerador de sinais. Na validação do sistema desenvolvido foi utilizado um amplificador de RF (radiofrequências) (Amplifier Research, modelo 75A-250).

3.5.3 Transdutor / Eletrodo de Estimulação

O transdutor de estimulação é responsável por transformar o sinal elétrico amplificado no tipo de energia desejado para estimulação. No caso de eletrodos, o sinal elétrico é transmitido diretamente para a preparação biológica. A escolha do transdutor ou eletrodo de estimulação deve ser feita conforme o tipo de estímulo a ser aplicado na preparação biológica. Para efeito de validação do sistema foi utilizado um transdutor de ultrassom para estimulação das preparações biológicas.

3.6 ATUADORES

Caso seja necessário, é possível adicionar ao VI múltiplos atuadores destinados a controlar outros aspectos do sistema biológico, tais como: sistemas de aquecimento / resfriamento, dispensadores de fluidos, iluminação, etc.

3.7 COMPUTADOR

O computador é o elemento principal para funcionamento do instrumento virtual, responsável pela interface entre o usuário e o VI, e pela interface entre os sistemas de aquisição e estimulação com o *software* de controle. Também é responsável por todo o processamento que envolve o instrumento virtual. Dentro da enorme diversidade de equipamentos disponíveis, a escolha do tipo de computador deve satisfazer às demandas de velocidade, capacidade de armazenamento, ser do tipo portátil (*laptop*) ou estação de trabalho fixa (*desktop*), e dispor de um sistema operacional compatível com o instrumento virtual.

O computador utilizado no VI desenvolvido é um PC *desktop* com processador Intel Core i7®, com o sistema operacional Windows 7®. Esta plataforma foi escolhida pela capacidade de processamento, estabilidade do sistema, familiaridade do desenvolvedor e disponibilidade nas instalações.

3.8 PLATAFORMA DE DESENVOLVIMENTO

A plataforma gráfica utilizada para o desenvolvimento do instrumento virtual foi o LabVIEW®, onde cada rotina é armazenada como um VI, com três componentes principais: o painel de entrada e saída de dados (Figura 3.6) como principal interface com o usuário; o diagrama em blocos onde o programa é codificado; e o painel de conexão usado na reutilização do VI, passando a ser chamado de *subVI* (ELLIOTT *et al.*, 2007). Uma das principais vantagens do LabVIEW® é sua integração com sistemas de controle e aquisição de dados externos ao PC, sejam eles disponíveis comercialmente ou desenvolvidos pelo usuário, uma vez que a plataforma suporta múltiplos protocolos de comunicação, tais como: RS232, RS485, TCP/IP, USB, PCI, GPIB, VXI e PXI.

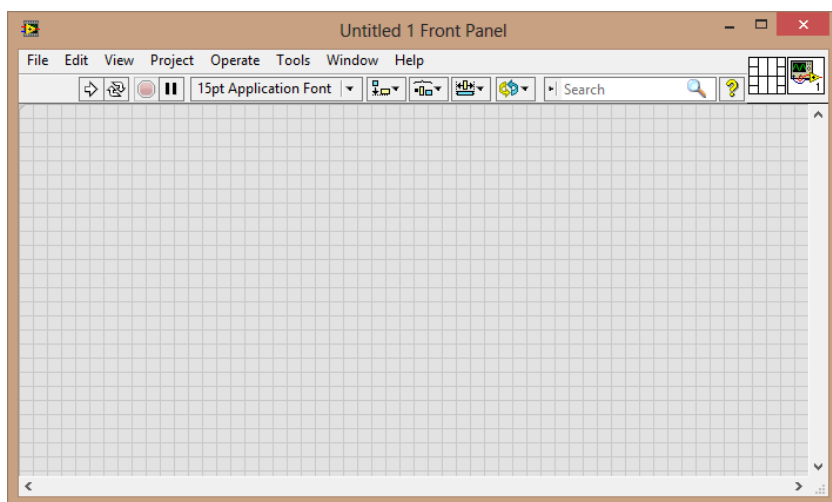


Figura 3.6 - Painel de entrada e saída de dados. No canto direito superior encontra-se o painel de conexões para reutilização do instrumento virtual.

Para o desenvolvimento do VI foi necessário identificar a arquitetura de programação necessária para o *software*. Foram escolhidos os padrões: estrutura de eventos, laços paralelos e produtor/consumidor.

O padrão de estrutura de eventos foi utilizado para execuções de código em resposta a um comando ou evento produzido pelo usuário, cujo esquema pode ser observado na Figura 3.7. Neste padrão, cada subdiagrama, somente será executado quando ocorrer um evento no painel de controle. Desta forma, o programa

somente será finalizado quando o usuário fechar a janela ou selecionar o botão de parada (*stop*), da mesma forma em que cada funcionalidade do painel somente será configurada ou executada quando o usuário interagir com a interface.

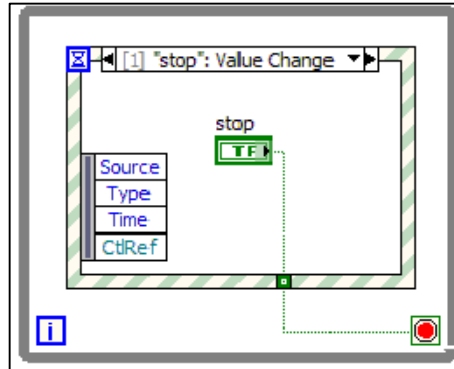


Figura 3.7 - Padrão de desenvolvimento de estrutura de eventos (National Instruments, 2008).

Ainda, o padrão de laços paralelos (Figura 3.8) foi utilizado em códigos que precisam ser executados paralelamente, por exemplo, os sistemas de aquisição e estimulação. Neste tipo de estrutura, os dois laços são executados de forma simultânea, assim, o processo de aquisição não ficará preso ao sistema de controle, e vice-versa, de tal forma que a finalização do sistema irá depender do término de execução de cada laço de repetição.

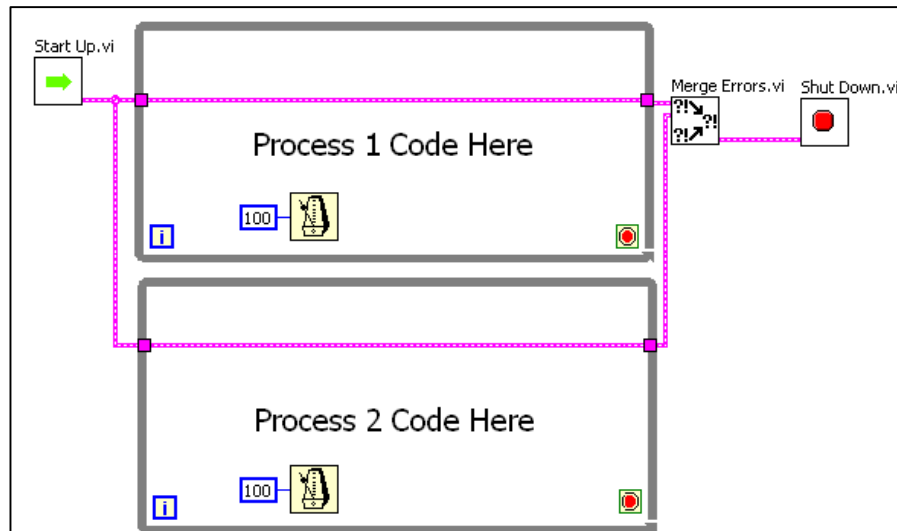


Figura 3.8 - Padrão de desenvolvimento de laços paralelos (National Instruments, 2005).

Já o padrão produtor/consumidor (Figura 3.9) foi utilizado em códigos onde existe a concorrência de dados, tais como a aquisição de dados, visualização, armazenamento e análise do sinal biológico. Esta estrutura funciona de forma parecida ao padrão de laços paralelos, diferenciando-se pela dependência dos dados gerados no laço produtor pelo laço consumidor.

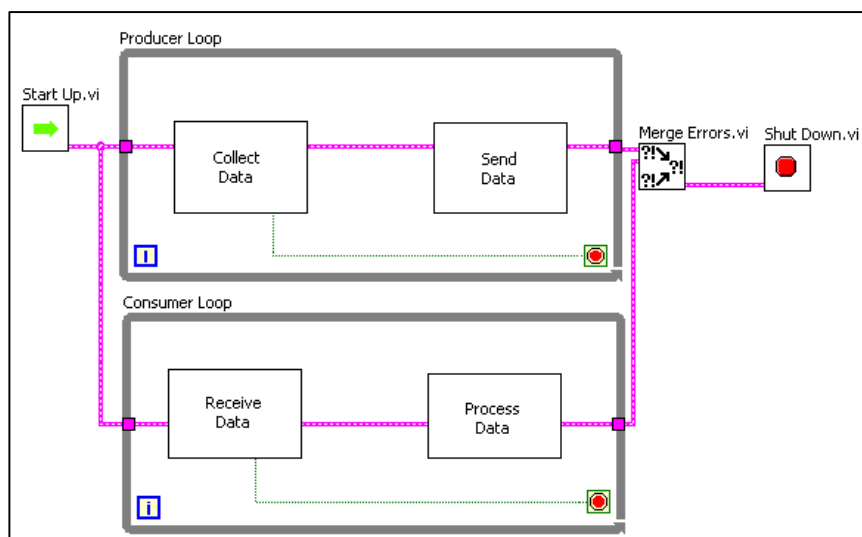


Figura 3.9 - Padrão de desenvolvimento produtor/consumidor (National Instruments, 2005).

3.9 DESCRITIVO DO SISTEMA DESENVOLVIDO

O *software* do VI desenvolvido, conforme apresentado na seção 3.3 (Figura 3.2), apresenta quatro sistemas principais: Sistema de Controle de Interface do Usuário; Sistema de Aquisição e Armazenamento de dados; Sistema de Controle de Estimulação; e o Sistema de Pós-processamento. O Sistema de Controle de Interface do Usuário compõem todos os sistemas, e está diretamente atrelado à interação do usuário com a máquina. Os sistemas de Aquisição e Armazenamento de Dados, e o de Controle de Estimulação podem ser utilizados de forma integrada ou individualmente, conforme interesse do usuário.

3.9.1 Sistema de Aquisição e Armazenamento de Dados

O sistema de aquisição do VI funciona com qualquer dispositivo DAQ compatível nativamente com a plataforma LabVIEW®. Desta forma, o sistema de aquisição não limita os parâmetros de aquisição (taxa de amostragem, resolução, etc.) baseando-se nas características de um único dispositivo de aquisição. Os parâmetros de aquisição podem então ser configurados em função do dispositivo DAQ utilizado pelo usuário.

A interface de controle e visualização do sistema de aquisição do VI pode ser observada na Figura 3.10. Na região superior esquerda estão localizados os parâmetros de configuração do dispositivo DAQ, o endereço de armazenamento dos sinais adquiridos, a configuração de escala, e os botões para início da aquisição, gravação e visualização dos dados adquiridos.

Na região inferior esquerda está localizado o *display* para plotagem dos sinais adquiridos. No *display* o sinal é visualizado conforme a seleção do usuário, ou seja, cada sinal é apresentado de forma independente. Com isto a configuração das escalas de amplitude e de tempo também são próprias para cada sinal. Na mesma região do *display* há um botão para entrada de eventos, onde o usuário pode inserir uma marcação que estará sincronizada com sinal adquirido. Desta forma, ao adquirir os sinais durante um experimento, o usuário terá total controle do sistema de visualização do sinal e, além disso, a possibilidade de inserir eventos textuais relacionados ao experimento (injeção ou limpeza de substâncias, medições manuais, etc.) sincronizados com o sinal captado.

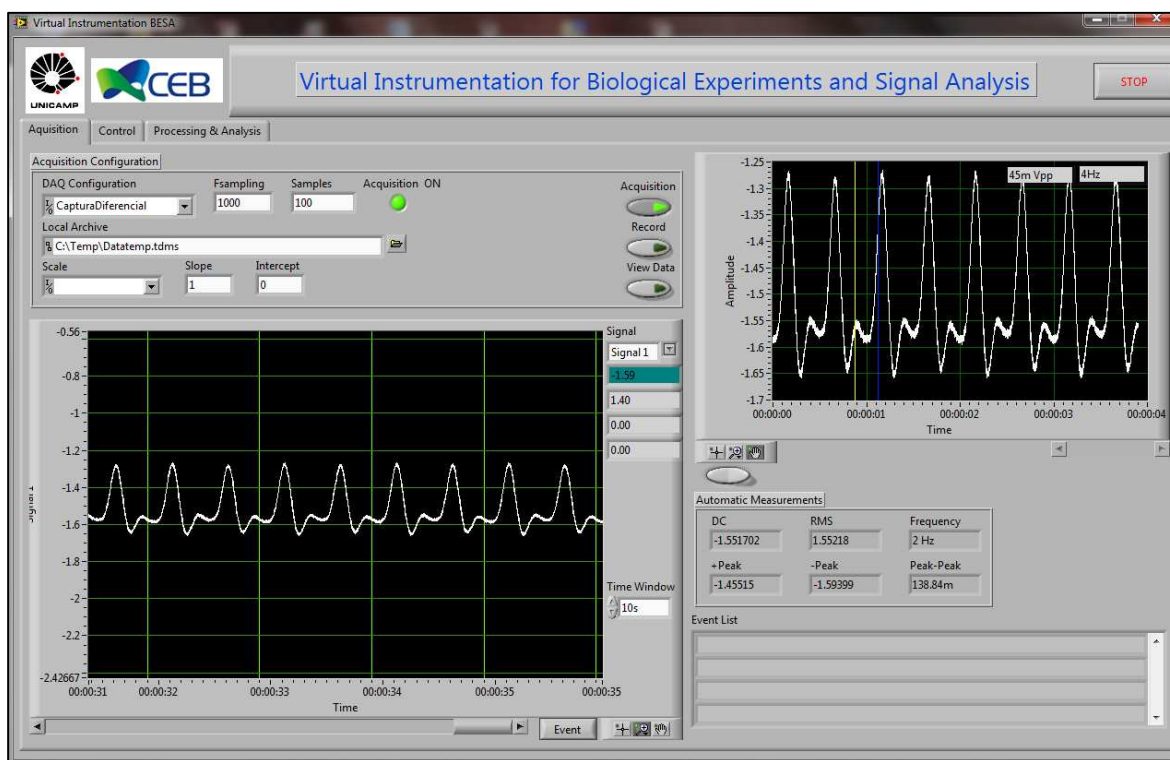


Figura 3.10 - Tela de controle e visualização do sistema de aquisição de sinais.

A entrada de eventos pelo usuário possui a seguinte estrutura: nome (campo de texto para inserir o nome do evento); descrição (campo de texto para inserir a descrição do evento gerado); tempo (campo para inserir um valor temporal, caso o usuário deseje um valor diferente do tempo sincronizado com o sinal). A janela para entrada de eventos é apresentada na Figura 3.11.

Figura 3.11 - Janela para entrada de eventos do usuário sincronizado com o sinal de entrada.

Após o usuário inserir o evento, os dados são gravados em um arquivo de texto no endereço utilizado para a gravação dos sinais em disco e inseridos numa lista de eventos (Figura 3.12), localizada na região inferior direita da interface de controle e visualização do sistema de aquisição.

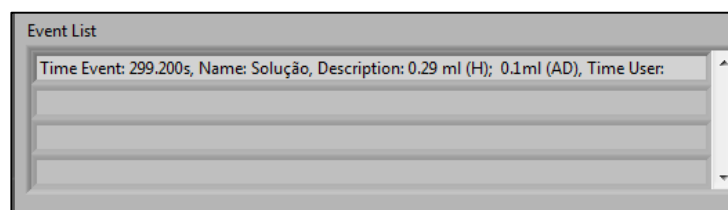


Figura 3.12 - Lista de eventos inseridos pelo usuário.

Na região superior direita da interface de controle e visualização do sistema de aquisição está localizado um *display*, onde o usuário realiza medições de amplitude e frequência por meio de indicadores. O usuário também poderá visualizar os valores das medições automáticas dos seguintes componentes do sinal: valor médio do sinal, valor eficaz, maior pico positivo, maior pico negativo, e a maior amplitude entre picos. A Figura 3.13 apresenta os valores das medições de um sinal arbitrário obtidos de um gerador de ondas.

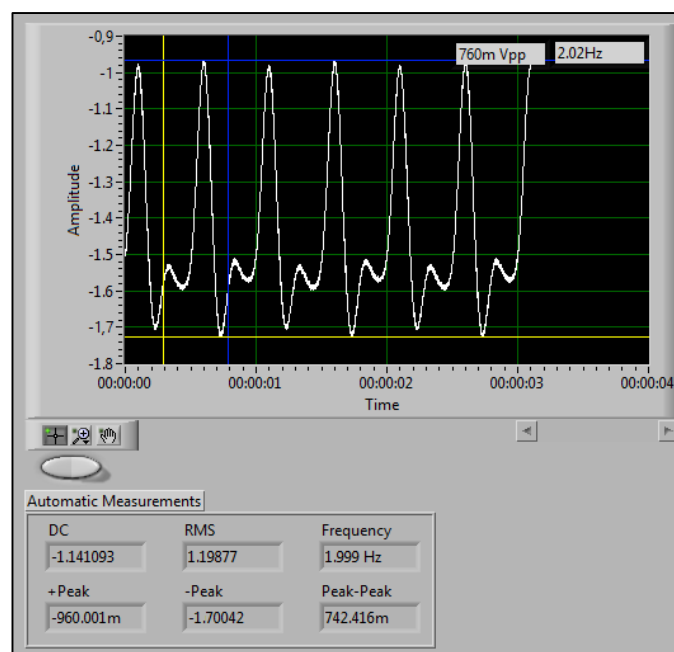


Figura 3.13 - *Display* para análise manual e automática do sinal adquirido.

Após o início da aquisição o usuário poderá gravar os dados em disco, informando o local de armazenamento e selecionando o botão para gravação. Ao iniciar a gravação, é gerado um arquivo em formato TDMS (*Technical Data Management Streaming* – Gerenciador de Dados Técnicos de Transmissão) contendo os sinais digitalizados. Para finalizar a aquisição basta que o usuário interrompa o processo por meio do botão de gravação ou pelo botão de parada geral. Assim, o arquivo poderá ser utilizado nas ferramentas de processamento do VI, apresentadas nas próximas seções, ou poderá ser exportado para outras ferramentas (Microsoft Excel®, MATLAB® ou DIAdem®).

3.9.2 Sistema de Estimulação e Controle

O sistema de controle do VI é composto pelo dispositivo DAQ e pelo gerador de ondas apresentados nas seções 3.4.3 e 3.5.1 respectivamente. Na Figura 3.14 é apresentada a interface do sistema de controle e estimulação, onde é possível destacar três regiões principais: configuração de protocolo de estimulação, controle digital manual, e controle digital automático.

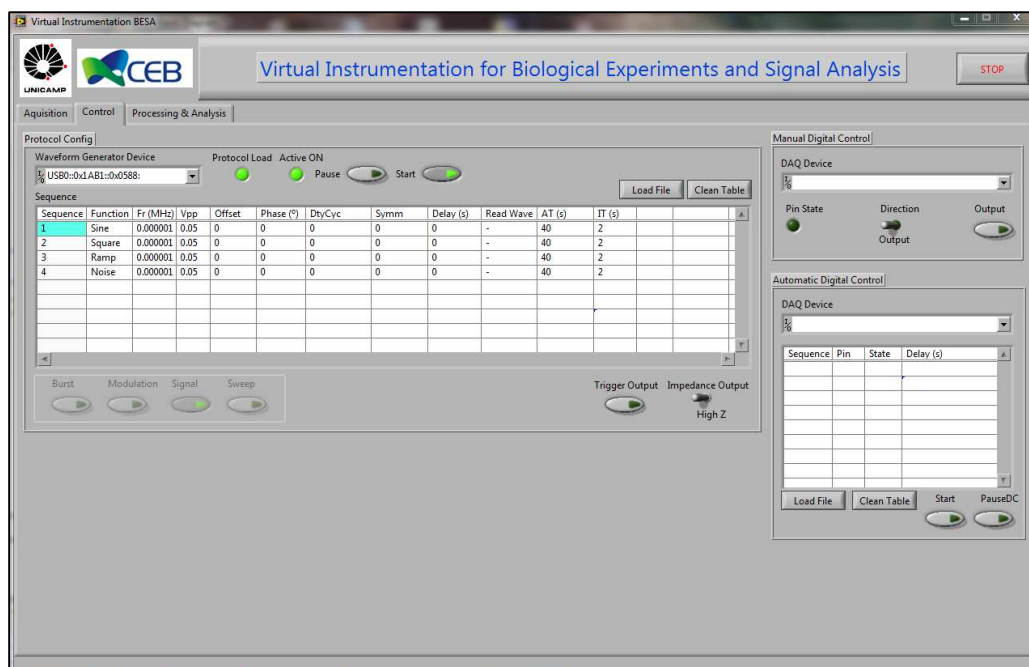


Figura 3.14 - Interface do sistema de controle e estimulação da preparação biológica.

3.9.2.1 Sistema de Estimulação

A região configuração de protocolo é utilizada na configuração dos parâmetros necessários para o funcionamento do gerador de sinais, este por sua vez responsável pelo sinal de estimulação da preparação biológica. Conforme observado na Figura 3.14, esta região possui uma tabela que recebe os parâmetros para configuração do sinal utilizado na estimulação; estes parâmetros podem ser preenchidos individualmente ou carregados por meio de um arquivo de planilha com extensão CSV (*Comma-Separated Values* – valores separados por vírgula). Todos os parâmetros morfológicos são enviados para o equipamento, o sinal é configurado e, baseado no protocolo experimental, o sistema determina o padrão temporal de aplicação do estímulo, além das reconfigurações necessárias durante o experimento (e.g. duração e frequência dos pulsos, forma de onda, trens de pulsos, etc.).

O conjunto de parâmetros depende do modo como o sinal será modulado (ou não). Sete parâmetros são comuns a todos os modos: sequência; função (tipo de sinal a ser configurado); tensão pico a pico; deslocamento vertical; tempo de ativação (AT); e o intervalo de tempo (IT) entre cada sequência. Cada linha da tabela de configuração corresponde à escolha da forma de onda do sinal de estimulação, tempo de aplicação e intervalo entre estímulos. Assim, o sistema possui um total de quatro modos: *Burst*, *Modulation*, *Signal* e *Sweep*.

No modo *Burst* o sinal configurado é transmitido de forma pulsada, conforme visualizado na Figura 3.15. O sinal em modo *Burst* é utilizado em diversas aplicações biomédicas, desde estimulação elétrica em tecidos (PECKHAM e PRIMOZ, 1999), a aplicações de ultrassom, tanto na formação de imagens quanto na estimulação de tecidos excitáveis (FERRARA *et al.*, 1999).

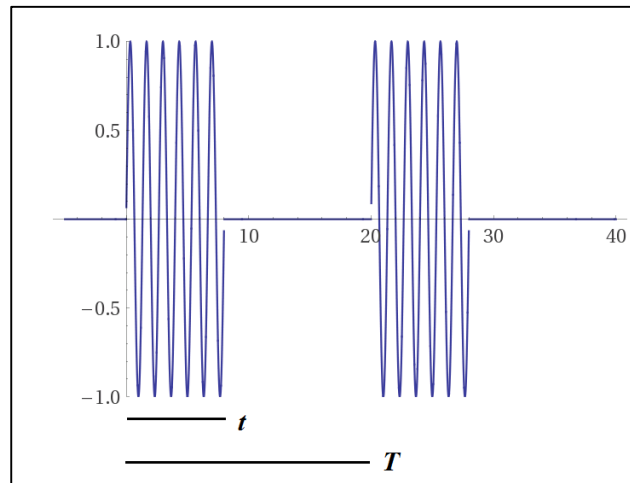


Figura 3.15 - Exemplo de um sinal senoidal no modo *Burst* com ciclo de trabalho de 40%.

Diferentemente do modo contínuo, onde o sinal é entregue ininterruptamente, no modo *Burst* o ciclo de trabalho (*duty cycle – D*) é dado pela equação 3.2.

$$D = \frac{t}{T} \times 100 \quad 3.2$$

Onde D = ciclo de trabalho; t = intervalo de tempo no qual a função é não nula; T = período de repetição dos pulsos.

Assim, para configurar os parâmetros de ativação do modo *Burst*, o usuário poderá inserir diretamente os parâmetros de configuração do sinal em cada campo da tabela ou carregar um arquivo, conforme observado na Figura 3.16.

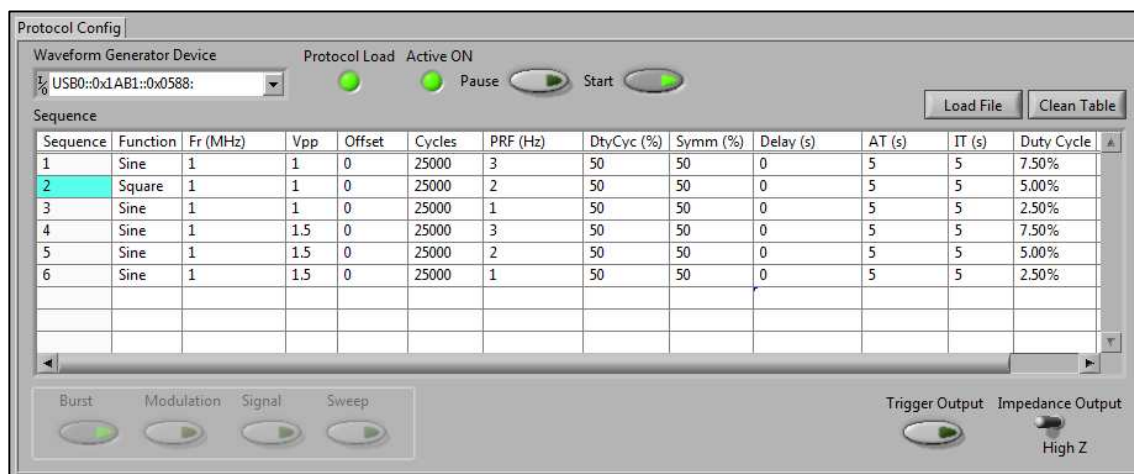


Figura 3.16 - Configuração do protocolo no modo *Burst*.

No Quadro 3.2 são apresentados os parâmetros e suas respectivas descrições para utilização do modo *Burst*.

Quadro 3.2 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo *Burst*.

Campo	Descrição
<i>Sequence</i>	Número sequencial do protocolo de estimulação
<i>Function</i>	Forma de onda
<i>Fr (MHz)</i>	Frequência da onda
<i>Vpp</i>	Tensão de pico a pico do sinal
<i>Offset</i>	Componente CC do sinal
<i>Cycles</i>	Número de ciclos do sinal a serem disparados
<i>PRF (Hz)</i>	Frequência de disparo do sinal
<i>DtyCyc (%)</i>	Tempo de ativação do sinal (apenas para a onda quadrada)
<i>Symm (%)</i>	Simetria do sinal (apenas para a onda rampa)
<i>Delay (s)</i>	Tempo de atraso para aplicação do sinal
<i>AT (s)</i>	Tempo total de ativação do sinal
<i>IT (s)</i>	Tempo total de inativação do sinal
<i>Duty Cycle</i>	Campo que apresenta o tempo de ativação total do sinal em modo <i>Burst</i>

No modo *Modulation* o sinal configurado pode ser transmitido nas seguintes modulações: modulação em amplitude (AM), modulação em frequência (FM), e modulação em chaveamento por deslocamento de frequência (FSK).

No sinal modulado em amplitude, o sinal de interesse modula a amplitude de uma portadora de frequência constante, ou seja, a portadora terá sua amplitude modificada linearmente conforme o sinal de interesse. Na Figura 3.17 é observado um sinal AM típico. O sinal modulado em amplitude pode ser utilizado em diversas aplicações, desde estimulações neuromusculares (PECKHAM e PRIMOZ, 1999), estimulação da cóclea (MIDDLEBROOKS, 2008), e aplicações de estimulação (UDDIN *et al.*, 2011) e imageamento por ultrassom (ECKERSLEY *et al.*, 2005).

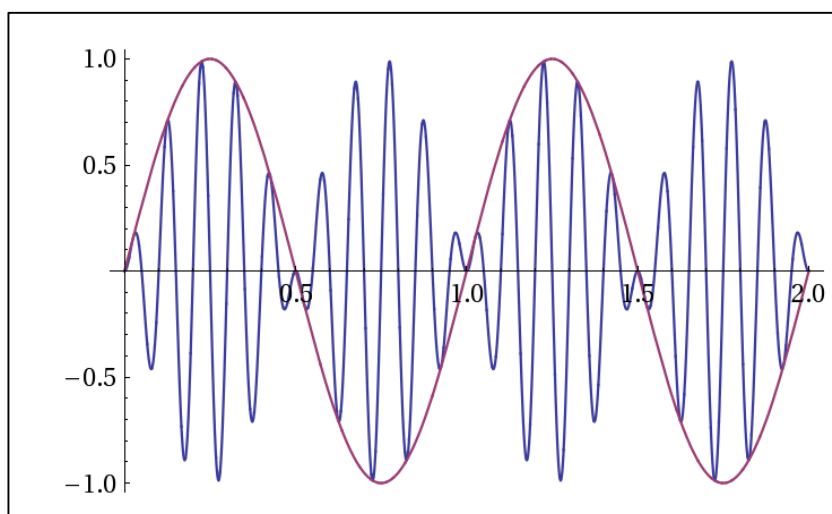


Figura 3.17 - Sinal AM com frequência da portadora fixa em 10 Hz e modulada em amplitude por um sinal de 1 Hz.

Para o sinal modulado em frequência, a frequência instantânea da portadora irá variar conforme a amplitude do sinal de interesse (Figura 3.18). Este tipo de modulação também pode ser utilizado em diversas aplicações biomédicas, tais como: estimulação elétrica nervosa (CHEN e JOHNSON, 2009), estimulação eletromagnética neural (BOSI *et al.*, 2005) e aplicações em ultrassom (URBAN *et al.*, 2010).

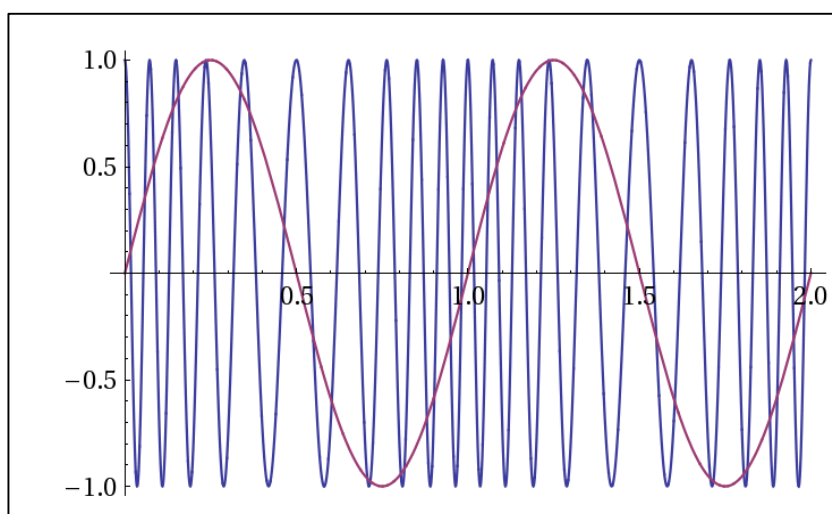


Figura 3.18 - Sinal FM com frequência da portadora centrada em 10 Hz e amplitude constante, modulada em frequência por um sinal de 1 Hz.

Já para o sinal modulado em chaveamento por deslocamento de frequência, o sinal de interesse desloca a frequência do sinal da portadora de forma binária, ou seja, a frequência da portadora assume uma das duas frequências discretas (frequência de marcação e de espaço), conforme pode ser visto na Figura 3.19. Este tipo de modulação é utilizado em sistemas de comunicação e em diversas aplicações em ultrassom (URBAN *et al.*, 2010).

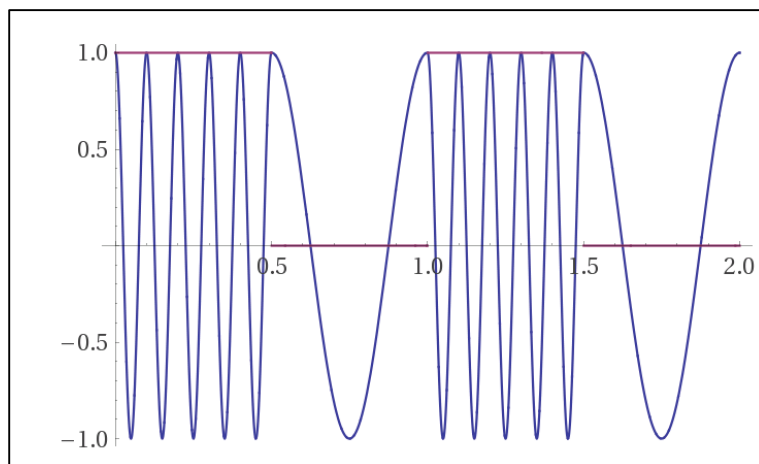


Figura 3.19 - Sinal FSK com frequência de marcação em 10 Hz e frequência de espaço em 2 Hz, modulado em chaveamento por deslocamento de frequência.

Da mesma forma que o modo *Burst*, os parâmetros de configuração para aplicação do sinal de estimulação no modo *Modulation* podem ser inseridos diretamente na tabela do protocolo de configuração ou por meio de arquivo, conforme mostrado na tabela de configuração da Figura 3.20.

Protocol Config

Waveform Generator Device: USB0::0x1AB1::0x0588: Protocol Load: Active ON

Pause Start

Load File Clean Table

Sequence	Function	FmFreq (MHz)	Vpp	Offset	Phase (°)	DtyCyc (%)	Symm (%)	Type	Depth(%) FD(Hz)/PD(Hz)	Shape	CrFreq (Hz)	AT (s)
1	Sine	10	1	0	0	0	0	AM	100	Sine	1000	5
2	Square	0.1	1	1	0	50%	0	AM	100	Sine	50	5
3	Sine	10	1	0	0	0	0	FM	50	Sine	1000	5
4	Sine	10	1.5	0	0	0	0	PM	90	Sine	1000	5
5	Sine	10	1.5	0	0	0	0	AM	100	Sine	1000	5
6	Sine	10	1.5	0	0	0	0	AM	100	Sine	1000	5

Burst Modulation Signal Sweep

Trigger Output Impedance Output High Z

Figura 3.20 - Configuração do protocolo estimulação no modo *Modulation*.

No Quadro 3.3 são apresentados os parâmetros e suas respectivas descrições para utilização do modo *Modulation*.

Quadro 3.3 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo *Modulation*.

Campo	Descrição
<i>Sequence</i>	Número sequencial do protocolo de estimulação
<i>Function</i>	Forma de onda portadora
<i>FmFreq (MHz)</i>	Frequência da portadora
<i>Vpp</i>	Tensão de pico a pico da portadora
<i>Offset</i>	Componente CC do sinal
<i>Phase (°)</i>	Fase do sinal da portadora
<i>DtyCyc (%)</i>	Ciclo de trabalho do sinal da portadora (apenas para onda quadrada)
<i>Symm (%)</i>	Simetria do sinal da portadora (apenas para onda rampa)
<i>Type</i>	Tipo de modulação (AM, FM ou PM)
<i>Depth (%)</i>	Porcentagem de Modulação
<i>FD (Hz)/PD (Hz)</i>	Desvio de frequência (no caso de FM)
<i>Shape</i>	Forma de onda do sinal modulante
<i>CrFreq (Hz)</i>	Frequência da onda modulante
<i>AT (s)</i>	Tempo total de ativação do sinal
<i>IT (s)</i>	Tempo total de inativação do sinal

No modo *Signal* o sinal de excitação configurado é transmitido continuamente, ou seja, sem modulação. Neste modo é possível utilizar sinais de seis formatos: senoidal, quadrado, rampa, pulso, ruído e onda arbitrária. Os parâmetros para configuração do sinal podem ser vistos na Figura 3.21.

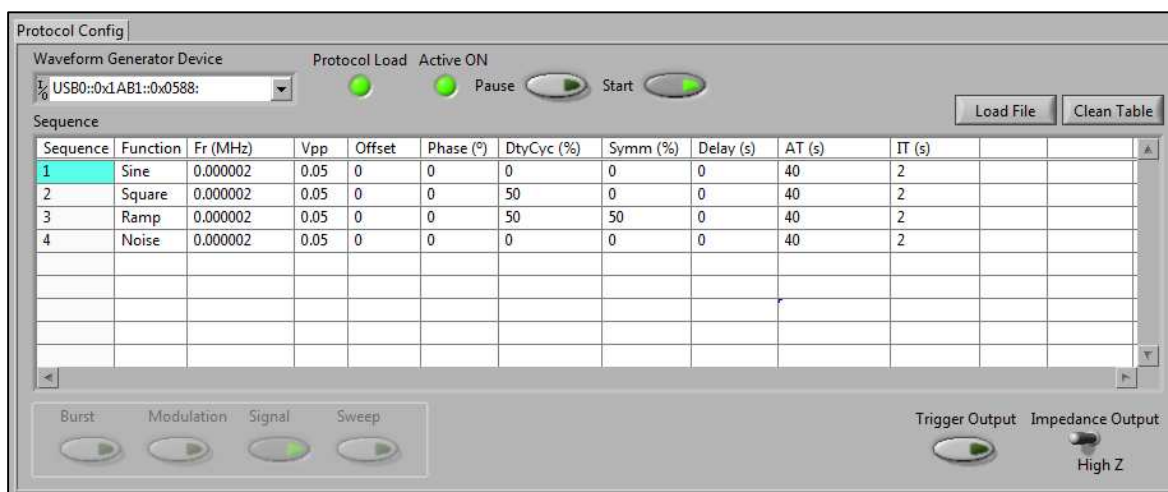


Figura 3.21 - Configuração do protocolo no modo *Signal*.

No Quadro 3.4 são apresentados os detalhes dos parâmetros para utilização do modo *Signal*.

Quadro 3.4 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo *Signal*.

Campo	Descrição
<i>Sequence</i>	Número sequencial do protocolo de estimulação
<i>Function</i>	Forma de onda
<i>Fr (MHz)</i>	Frequência da onda
<i>Vpp</i>	Tensão de pico a pico do sinal
<i>Offset</i>	Componente CC do sinal
<i>Phase (°)</i>	Configuração de fase do sinal
<i>DtyCyc (%)</i>	Tempo de ativação do sinal (apenas para a onda quadrada)
<i>Symm (%)</i>	Simetria do sinal (apenas para a onda rampa)
<i>Delay (s)</i>	Tempo de atraso para aplicação do sinal
<i>AT (s)</i>	Tempo total de ativação do sinal
<i>IT (s)</i>	Tempo total de inativação do sinal

No modo *Sweep*, também conhecido como onda *Chirp*, o sinal sofre uma variação de sua frequência ao longo do tempo, ou seja, por meio dos parâmetros de frequência inicial, frequência final e o tempo de duração, o sinal gerado varre os limites de frequência durante o período configurado, conforme aparece na Figura 3.22.

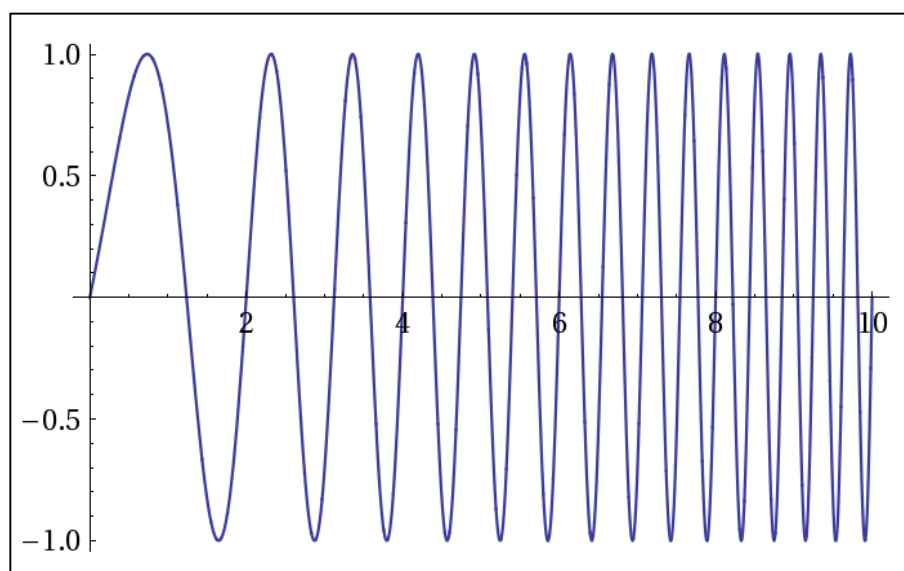


Figura 3.22 - Sinal no Modo *Sweep (Chirp)*, com frequência inicial 2 Hz e frequência final em 22 Hz.

Entre as diversas aplicações de uma onda *Chirp*, pode-se citar: estimulação sonora auditiva (DAU *et al.*, 2000), análise de bioimpedância (MIN *et al.*, 2011), imageamento por ultrassom (ARIF *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2009; URBAN *et al.*, 2010). Os parâmetros de configuração do modo *Sweep* podem ser observados na Figura 3.23.

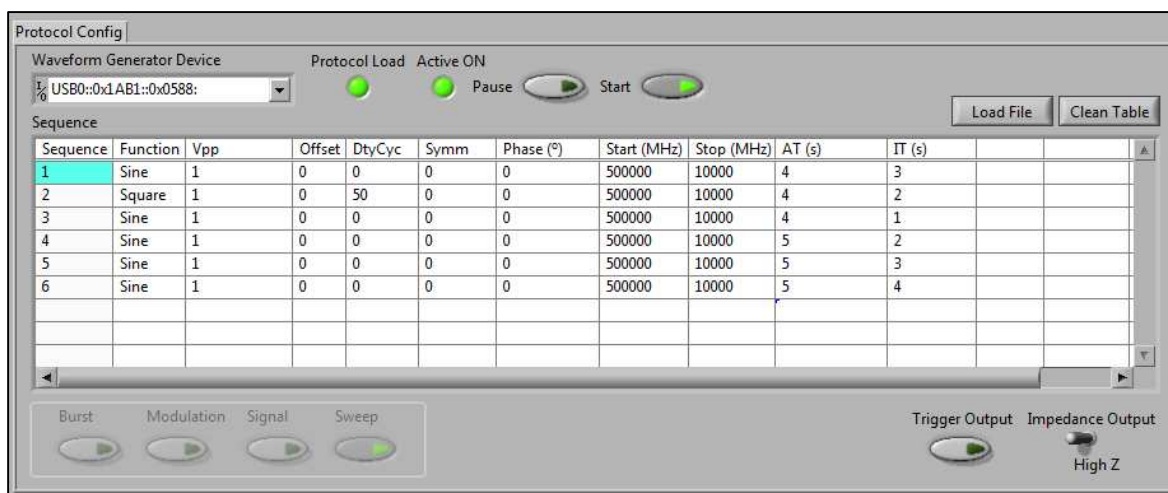


Figura 3.23 - Configuração do protocolo de estimulação no modo *Sweep*.

No Quadro 3.5 são apresentados os parâmetros e suas respectivas descrições para utilização do modo *Sweep*.

Quadro 3.5 - Descrição dos campos de configuração para aplicação do modo *Sweep*.

Campo	Descrição
<i>Sequence</i>	Número sequencial do protocolo de estimulação
<i>Function</i>	Forma de onda
<i>Vpp</i>	Tensão de pico a pico do sinal
<i>Offset</i>	Componente CC do sinal
<i>DtyCyc (%)</i>	Tempo de ativação do sinal (apenas para a onda quadrada)
<i>Symm (%)</i>	Simetria do sinal (apenas para a onda rampa)
<i>Phase (°)</i>	Configuração de fase do sinal
<i>Start (Hz)</i>	Frequência inicial
<i>Stop (Hz)</i>	Frequência final
<i>AT (s)</i>	Tempo total de ativação do sinal
<i>IT (s)</i>	Tempo total de inativação do sinal

3.9.2.2 Sistema de Controle

Caso seja necessário acondicionar ou controlar algum parâmetro do sistema biológico, é possível adicionar ao VI múltiplos atuadores, tais como: sistemas de aquecimento, dispensadores de fluidos, iluminação, etc. O controle destes dispositivos pode ser realizado por meio das linhas de saída de sinal digital (nível TTL) do DAQ, e pode ser executado de duas formas: manual ou automática.

No controle manual, o usuário seleciona a linha de saída associada ao dispositivo, na qual ele pode escolher ativar ou desativar o sinal. A interface de configuração aparece na Figura 3.24.

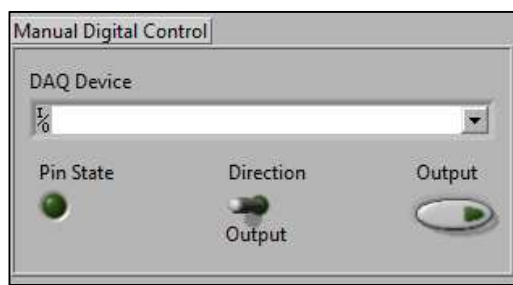


Figura 3.24 - Configuração da linha de sinal digital do dispositivo DAQ.

Para o controle automático o usuário deverá escolher o dispositivo no qual o protocolo será carregado. Após inserir as sequências (ligado ou desligado e o tempo na tabela de protocolo, o protocolo de acionamento digital poderá ser executado por meio do botão *Start* (Figura 3.25).

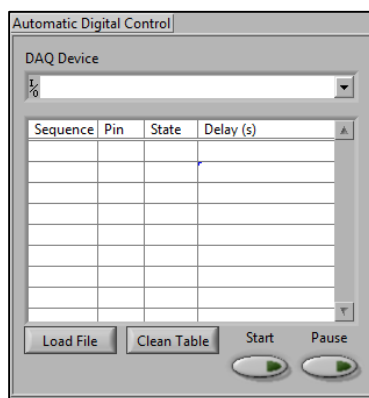


Figura 3.25 - Configuração do protocolo de acionamento das linhas de sinal digital do dispositivo DAQ.

3.9.3 Sistema de Processamento e Análise de Sinais

Os sinais adquiridos podem ser avaliados nos domínios do tempo e da frequência. Cada tipo de avaliação contribui na caracterização funcional de um sistema biológico, principalmente em aplicações que envolvem análise de variabilidade de sinais de pressão arterial e frequência cardíaca (PAGANI *et al.*, 1986; PINNA *et al.*, 1996), do sistema nervoso (BAYLY, 1968), análise do reflexo vestibulo-ocular (TOMLINSON *et al.*, 1980), análise sonora muscular (ORIZIO *et al.*, 1990), avaliação muscular (MANNION *et al.*, 1997), e análise de velocidade fluxo sanguíneo na artéria renal (NORRIS e BARNES, 1984).

O sistema de processamento e análise de sinais é composto por sete ferramentas: módulo de análise em frequência; módulo de estatística descritiva; módulo de filtros digitais; módulo de geração de histograma; módulo de cálculo de média; módulo de remoção de tendência; e o módulo de reamostragem. O arquivo gerado pelo sistema de aquisição de sinais em formato TDMS pode ser carregado e processado por cada uma destas ferramentas de forma independente. A interface para seleção das ferramentas pelo usuário é apresentada na Figura 3.26.

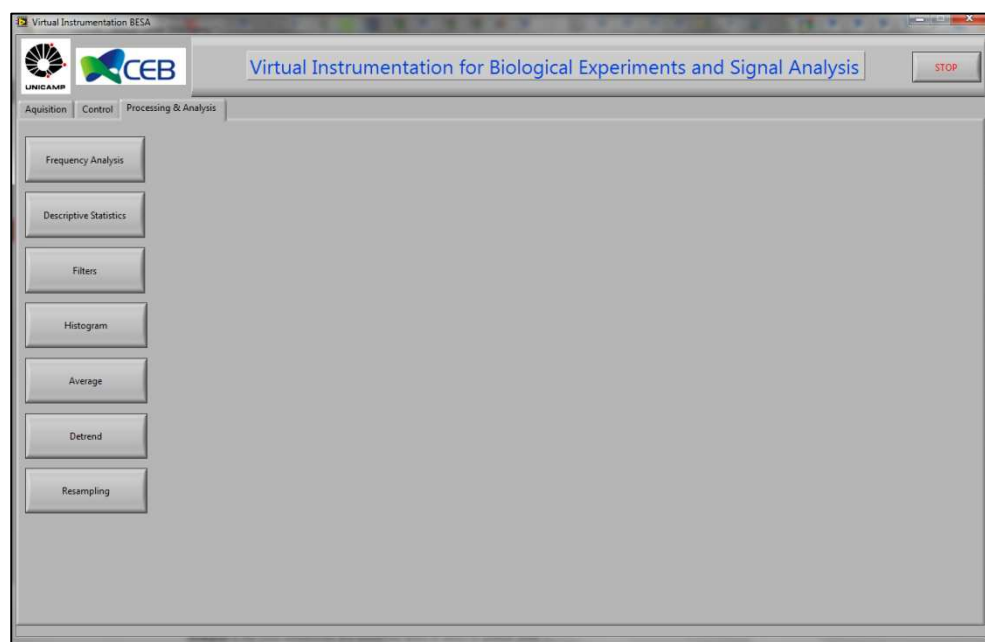


Figura 3.26 - Sistema de processamento e análise do VI desenvolvido.

3.9.3.1 Módulo de Análise em Frequência

Uma das principais técnicas utilizadas na análise de sinais consiste em decompor o sinal em seus componentes de frequência. Cada técnica de análise espectral irá oferecer a melhor estimativa e resolução em função da classificação (estacionário, não estacionário, determinístico, aleatório, curta duração, etc.) do sinal e do ruído no qual esteja envolvido.

A Transformada Rápida de Fourier (FFT) é uma técnica utilizada comumente na análise do conteúdo espectral dos sinais (KAY e MARPLE, 1981). A FFT é uma simplificação numérica da Transformada de Fourier de Tempo Discreto (DTFT), o que acelera o tempo de cálculo computacional (COOLEY e TUKEY, 1965).

O módulo de análise em frequência apresentado na Figura 3.27 dispõe de três regiões principais. Na primeira (parte superior esquerda) o usuário realiza a seleção do arquivo que contém o sinal gravado pelo sistema de aquisição em formato TDMS; caso o arquivo possua múltiplos sinais o usuário poderá selecionar o sinal a ser analisado. O sinal carregado poderá ser visualizado no *display* localizado na região central, onde o usuário poderá manipular a forma de visualização e também selecionar trechos específicos do sinal, por meio de dois cursores verticais, para aplicação da FFT. O resultado da aplicação da FFT é apresentado no *display* inferior do módulo.

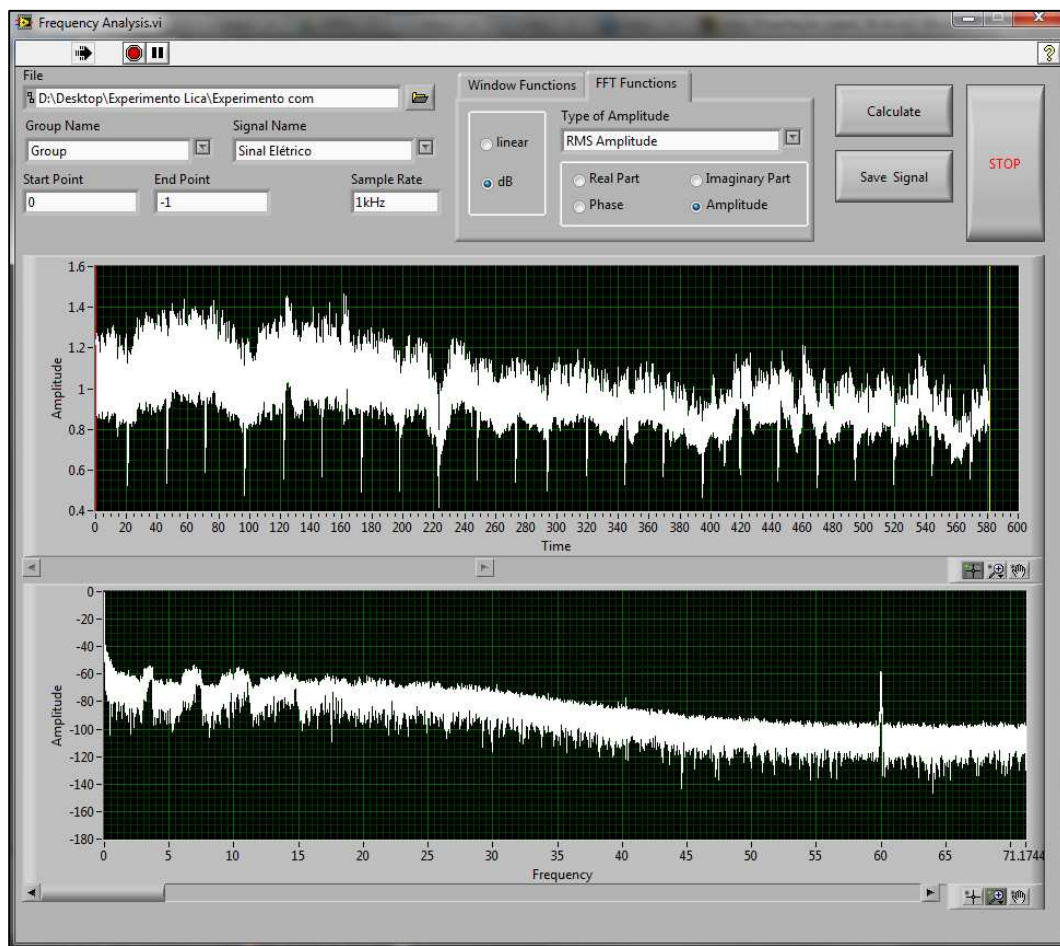


Figura 3.27 - Módulo de análise em frequência.

Para aplicação da FFT no sinal selecionado o usuário poderá escolher seis funções de janela diferentes: Retangular, Hanning, Hamming, Blackman, *Flat Top*, e Gaussiana. Cada janela possui uma aplicação específica que pode evidenciar determinadas características de um sinal, e.g. espalhamento e vazamento espectral (HARRIS, 1978). Na Figura 3.28 é apresentada a região para seleção da função de janela para aplicação da FFT.

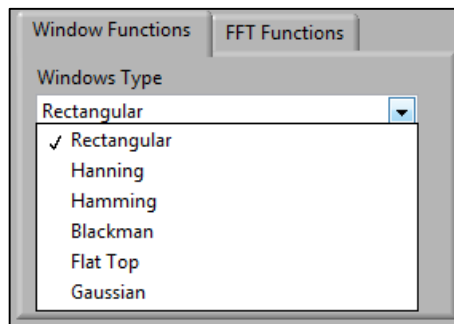


Figura 3.28 - Região para configuração da função de janela.

Após selecionar a função de janela o usuário poderá configurar as características de visualização do espectro que será gerado pela aplicação da FFT, conforme mostrado na Figura 3.29. Pode ainda configurar a escala (linear ou logarítmica), o tipo de FFT e a parte do espectro (parte real, imaginária, fase ou amplitude) que será visualizada no *display* localizado na região inferior da Figura 3.27.

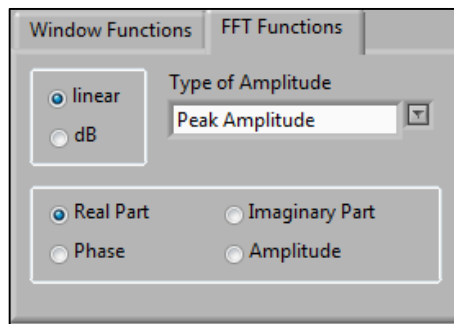


Figura 3.29 - Região para configuração da FFT.

O usuário pode configurar quatro tipos de medição baseado na FFT: amplitude de pico, valor eficaz – RMS, espectro de potência e densidade de energia de espectro. Todas as equações são descritas em (HARRIS, 1978; NATIONAL INSTRUMENTS, 2004).

3.9.3.2 Módulo de Estatística Descritiva

Uma das formas mais comuns para caracterizar um sinal biológico são seus parâmetros estatísticos. Eles são importantes para identificar a natureza do conjunto de dados em análise, dando indicações da sua validade para análise, ou os

limites do que mostram. A estatística descritiva apresenta as principais características de um conjunto de dados de maneira quantitativa.

O módulo de estatística descritiva, apresentado na Figura 3.30, é composto por uma região para carregamento do arquivo de sinais, onde o usuário deve escolher o sinal a ser analisado. O módulo também dispõe de uma região (esquerda) para escolha dos cálculos, uma região (direita) para apresentação dos resultados, e uma região (inferior) contendo um *display* para apresentação e seleção de regiões do sinal, onde o cálculo estatístico será aplicado.

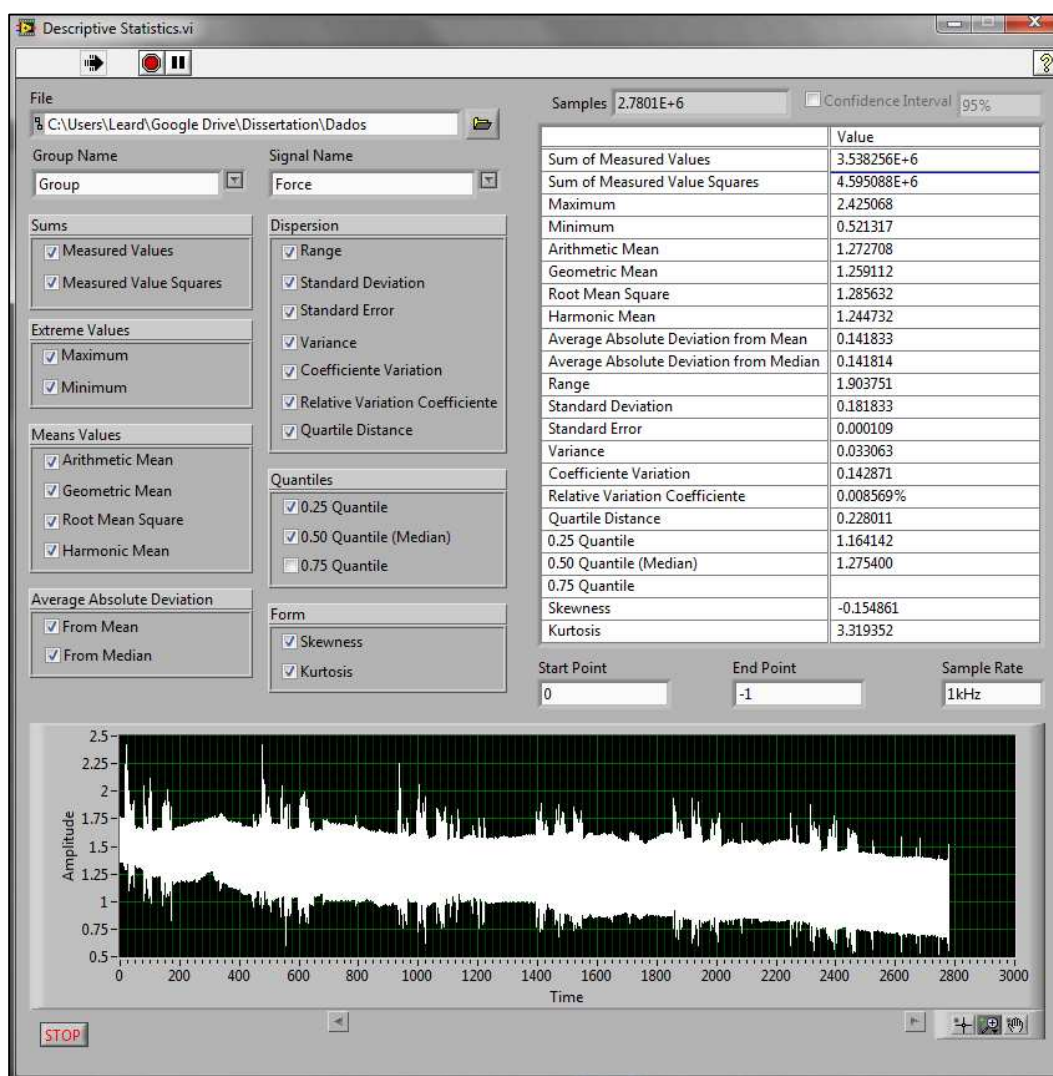


Figura 3.30 - Módulo de estatística descritiva.

Este módulo contém as seguintes ferramentas: somatório dos valores e de seus quadrados, valores extremos (máximos e mínimos), medidas de localização, medidas de dispersão, e medidas de simetria e achatamento.

Medidas de Localização

Uma das análises estatísticas mais importantes é a estimação dos parâmetros de localização de uma distribuição, ou seja, encontrar o melhor valor central que representa os dados (NIST/SEMATECH, 2012). As principais medidas de localização implementadas foram: valor médio, mediana, e quartil.

Medidas de Dispersão

Duas distribuições podem possuir as mesmas medidas de localização e apresentarem um agrupamento de dados em torno de uma localização totalmente diferentes. Desta forma, uma das principais questões na análise de sinais é a caracterização de variabilidade ou dispersão de um conjunto de dados (NIST/SEMATECH, 2012). Assim, foram implementadas as seguintes medidas de dispersão, cuja formulação matemática encontra-se no Apêndice:

- Desvio Absoluto Médio;
- Desvio Absoluto Mediano;
- Amplitude;
- Desvio Padrão;
- Erro Padrão;
- Variância;
- Coeficiente de Variação;
- Coeficiente de Variação Relativa;
- Distância Interquartil.

3.9.3.3 Módulo de Filtragem Digital

Um sistema de filtragem digital é responsável por processar, no domínio do tempo, um sinal amostrado em valores discretos, e como resultado levar a uma redução ou remoção de componentes espectrais do sinal (LYONS, 2010). Para o módulo de filtragem digital apresentado na Figura 3.31, foram implementados dois tipos de filtros digitais: FIR e IIR.

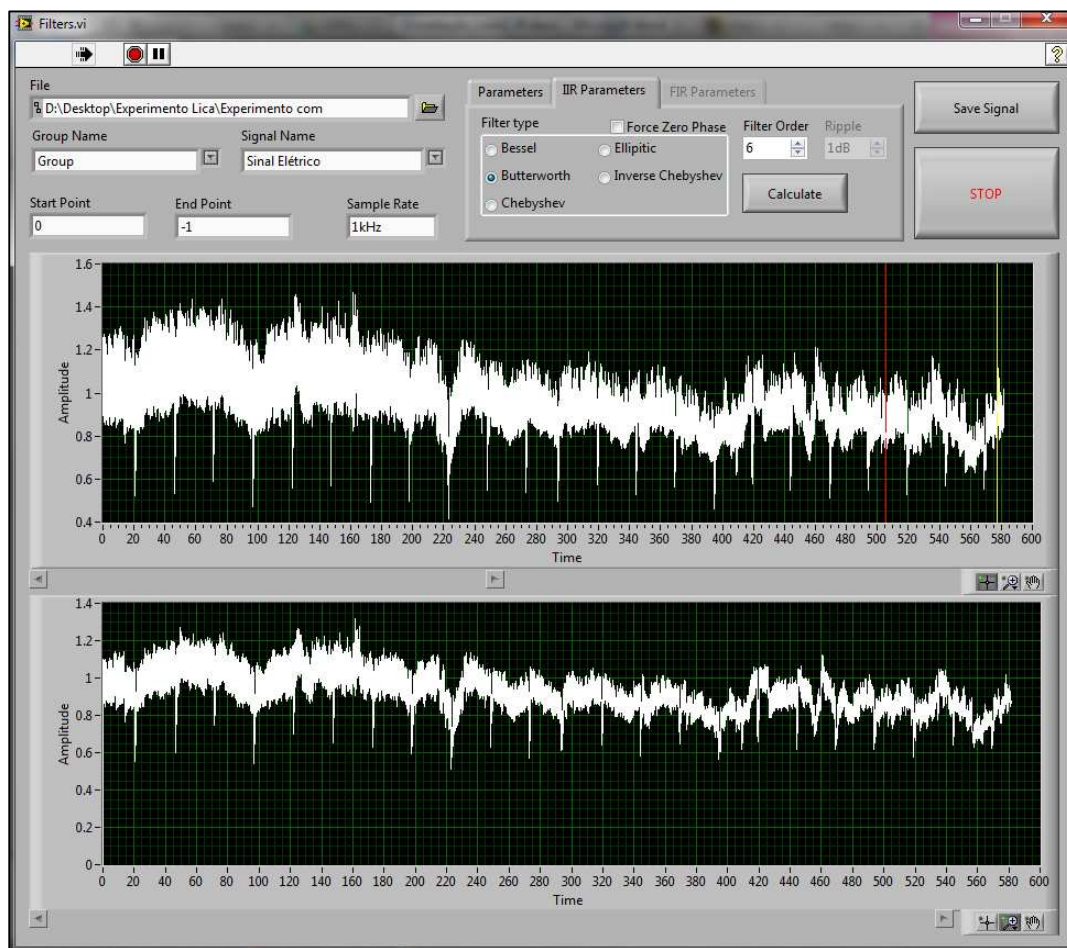


Figura 3.31 - Módulo de filtragem digital.

Os filtros do tipo FIR (*Finite Impulse Response*), também conhecidos como filtros não recursivos ou de convolução, são filtros que possuem uma resposta ao impulso finita, e são empregados em aplicações onde se deseja uma característi-

ca de resposta de fase linear com a frequência (LYONS, 2010). De maneira geral, um filtro FIR pode ser expresso conforme equação 3.3:

$$y[n] = \sum_{k=0}^N b_k \cdot x[n-k] \quad 3.3$$

Onde b_k são os coeficientes do filtro; x é o sinal de entrada; N é a ordem do filtro.

Filtros do tipo IIR (*Infinite Impulse Response*), também conhecidos como filtros recursivos, são filtros que possuem resposta ao impulso infinita, e diferem dos filtros FIR quanto a sua dependência ao sinal de entrada e de suas amostras passadas (realimentação do sinal de saída), e por não possuírem uma resposta de fase linear com a frequência (LYONS, 2010). Sua saída é dada pela equação 3.4:

$$y[n] = \sum_{k=0}^N b_k \cdot x[n-k] - \sum_{k=1}^M a_k \cdot y[n-k] \quad 3.4$$

Onde b_k e a_k são os coeficientes do filtro; M é o número de polos do filtro; N é a ordem do filtro.

Este módulo é dividido em três regiões principais. Na região superior concentram-se as ferramentas para carregamento do arquivo contendo o sinal e os parâmetros de configuração de entrada para aplicação do filtro no sinal selecionado. Na região central encontra-se o *display* onde o sinal carregado poderá ser visualizado pelo usuário, e onde também é possível selecionar regiões do sinal onde o filtro poderá ser aplicado. Na região inferior há um *display* para apresentar o resultado da aplicação do filtro no sinal.

Os parâmetros para a escolha do tipo de filtro, conforme a Figura 3.32, são: modo passa-baixas, passa-altas, passa-banda, e rejeita-faixa. O usuário também deverá selecionar o método (IIR ou FIR) e a frequência de corte que, para os filtros passa-banda e rejeita-faixa possuem dois limites de corte. Os parâmetros de configuração do filtro irão variar conforme o método selecionado pelo usuário. Na Figura 3.33 são apresentados os parâmetros para o método de filtragem IIR, e na Figura 3.34 são mostrados os parâmetros para o método FIR.

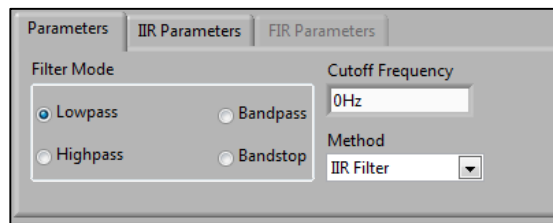


Figura 3.32 - Região para configuração do tipo de filtro.

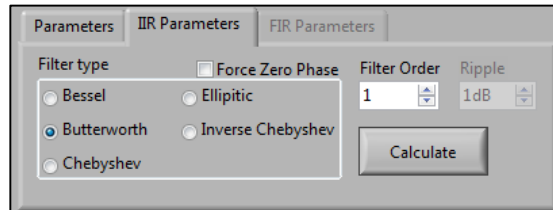


Figura 3.33 - Região para configuração dos parâmetros do filtro IIR.

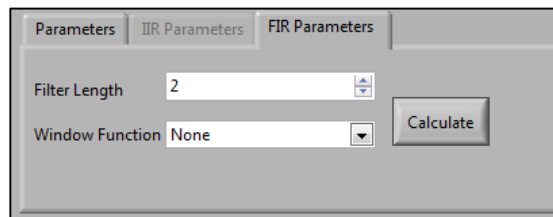


Figura 3.34 - Região para configuração dos parâmetros do filtro FIR.

Após a aplicação do filtro no sinal desejado, o usuário poderá efetuar a gravação deste novo sinal em disco, no formato TDMS.

3.9.3.4 Módulo Histograma

A representação gráfica de dados possui o objetivo de apresentá-los visualmente, facilitando a sua leitura e interpretação quando comparado com a apresentação em uma tabela. O histograma está entre as representações gráficas estatísticas mais comuns, fornecendo uma visualização da distribuição dos dados, ou seja, como estes dados estão agrupados. Os padrões de forma, centralização e espalhamento dos dados observados num histograma são essenciais para a correta interpretação dos dados pelo observador. Em sua forma mais comum, o histograma é obtido por meio da divisão da amplitude do conjunto de dados em clas-

ses de mesmo tamanho, contendo o número de pontos (frequência) do conjunto de dados relativo a cada classe (NIST/SEMATECH, 2012).

O módulo de histograma apresentado na Figura 3.35 é composto por três regiões principais. A região superior contém os parâmetros para carregamento dos sinais gravados em disco. O sinal selecionado será carregado no *display* localizado na região superior, onde o usuário pode ainda selecionar a região do sinal que será utilizada na geração dos dados para apresentação do histograma. O resultado do histograma é apresentado no *display* localizado na região inferior, juntamente com o teste de distribuição normal baseado na média e variância do sinal de entrada.

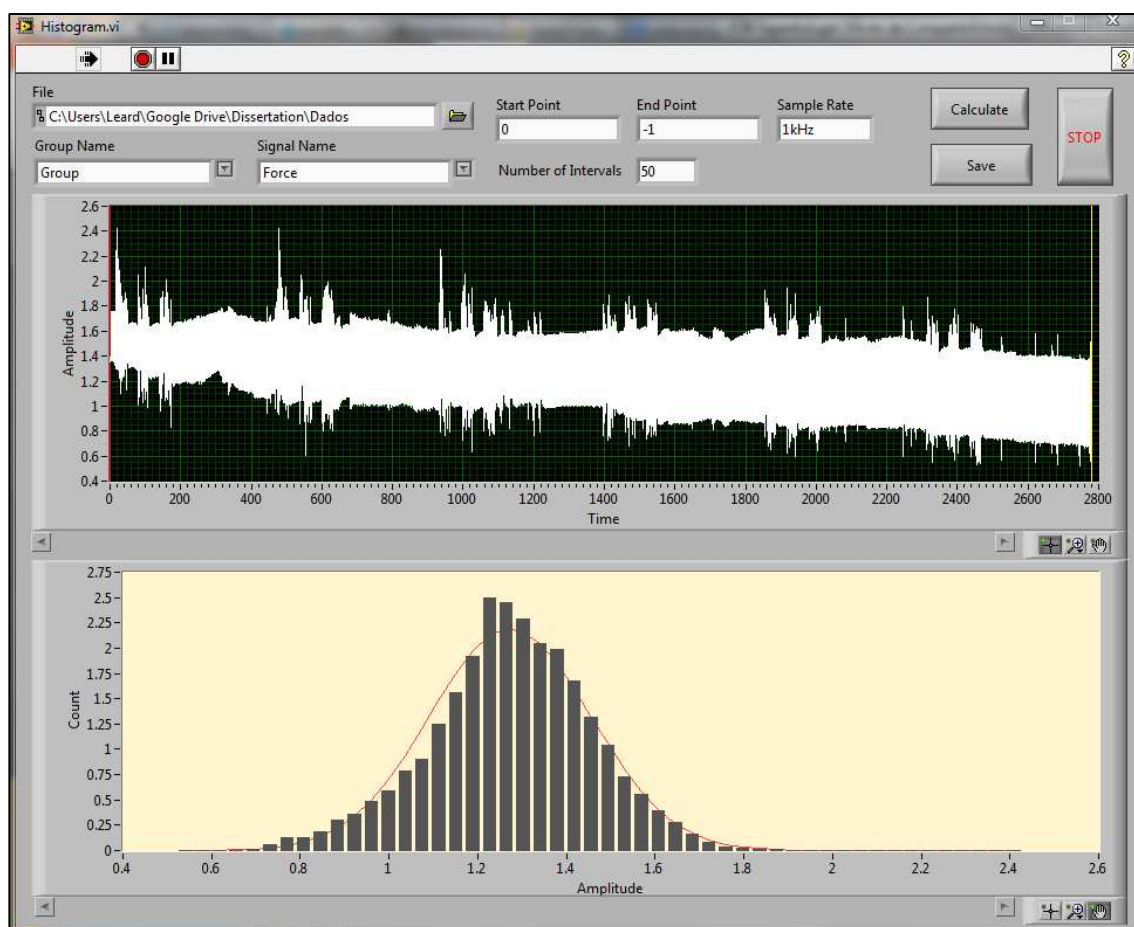


Figura 3.35 - Módulo Histograma, apresentando um sinal com uma distribuição próxima da normal.

3.9.3.5 Módulo de Remoção de Tendência

Em diversas aplicações a presença de uma tendência no sinal pode mascarar certas informações que poderiam ser apresentadas. Nestas circunstâncias, a sua remoção torna-se necessária.

O módulo de remoção de tendência do sinal é apresentado na Figura 3.36, e possui duas regiões principais. Na região superior estão os parâmetros para carregamento do sinal e de configuração da ferramenta de remoção de tendência do sinal. Após a seleção do sinal, o mesmo será apresentado no *display* localizado na região superior, onde o usuário poderá escolher o intervalo no qual o sinal de tendência será removido e aplicar a sua remoção. O resultado será apresentado no *display* localizado na região inferior, podendo este ser salvo caso o usuário selecione o botão salvar localizado no painel.

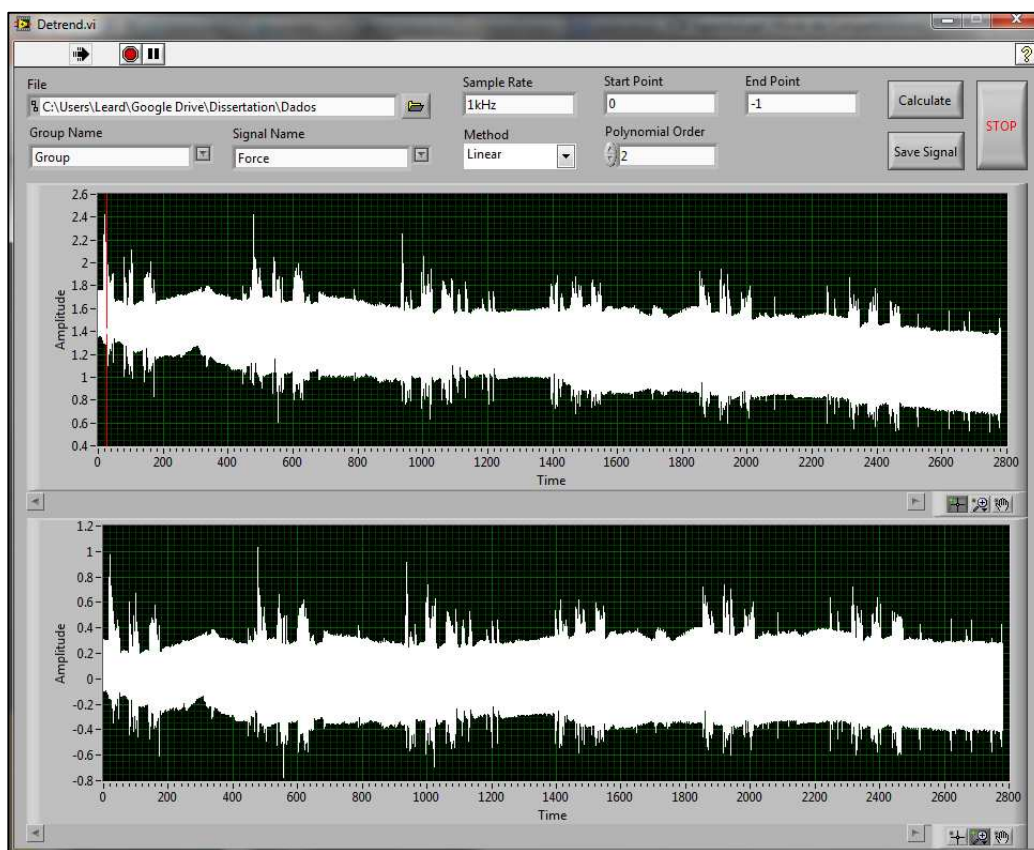


Figura 3.36 - Módulo de remoção de tendência do sinal. Sinal superior com componente CC em aproximadamente 1,5 V no início da aquisição e 1 V no final. Sinal inferior sem o componente CC.

3.9.3.6 Módulo de Reamostragem

Em certas aplicações torna-se interessante realizar a reamostragem dos sinais para realização de outras análises. Pode-se realizar uma redução na taxa de amostragem, em função do alto poder de processamento necessário para o sistema e do elevado tamanho dos arquivos gerados para longas aquisições utilizando grandes taxas de amostragem.

Na Figura 3.37 é apresentado o módulo para reamostragem de sinal, composto por uma região (superior) para carregamento do sinal gravado em formato TDMS e entrada do parâmetro de reamostragem a ser aplicado no sinal. Uma vez carregado, o sinal será apresentado no *display* superior e, se necessário, o usuário pode escolher a região na qual deverá ser aplicada a reamostragem. O resultado será apresentado no *display* inferior e poderá ser gravado após a seleção do botão salvar.

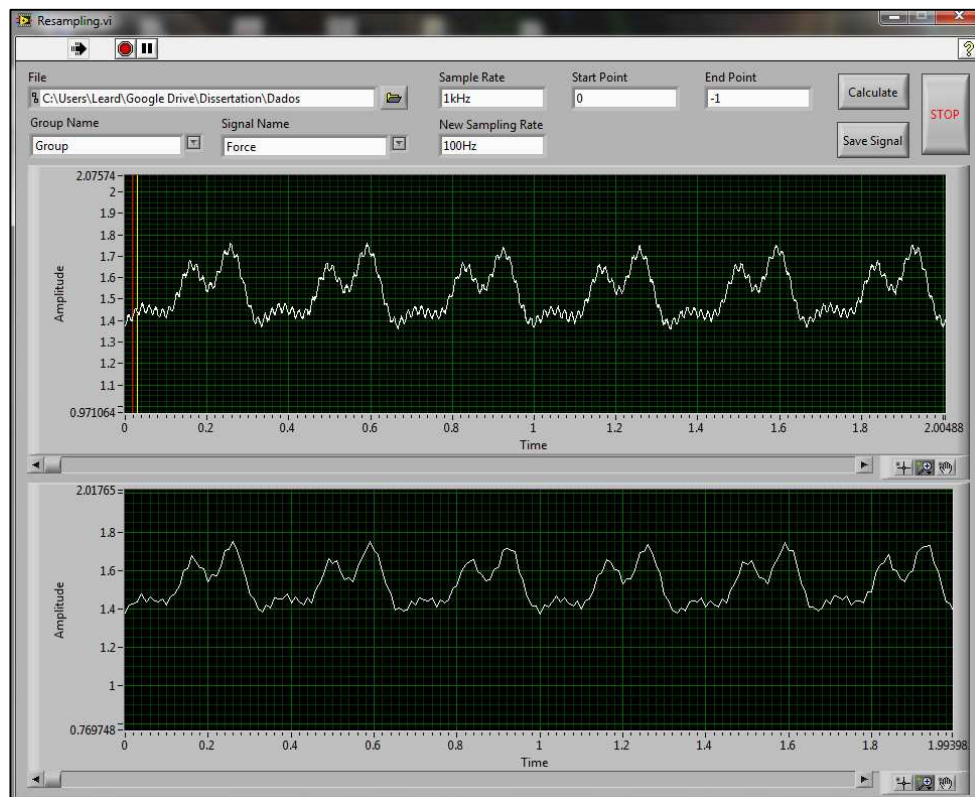


Figura 3.37 - Módulo de reamostragem de sinal. Reamostrando o sinal de 1 kHz (superior) para 100 Hz (inferior).

3.10 VALIDAÇÃO

A validação do sistema consistiu em três etapas principais: aquisição e controle de sinais padrão; avaliação das ferramentas de processamento; e aquisição de sinais e controle de experimentos biológicos reais.

3.10.1 Aquisição e Controle de Sinais

Para validação do sistema de aquisição e controle foram utilizados sinais padrão (ondas senoidal, quadrada e triangular), uma vez que o conhecimento prévio destes sinais auxilia na avaliação do sinal adquirido e controlado pelo sistema desenvolvido. Considerou-se a utilização de um filtro passa-baixas entre o gerador de sinais e a placa de aquisição funcionando como limitador de banda e elevador de impedância, já que a placa de aquisição possui uma baixa impedância de entrada ($\sim 140\text{ k}\Omega$). Para todos os sinais adquiridos foi utilizado uma frequência de amostragem de 1 kHz e 14 bits de resolução. Estas configurações foram escolhidas de forma que pudessem representar parte dos sinais biológicos conhecidos. Nas Figuras 3.38 e 3.39 é possível observar o sistema em funcionamento durante a aquisição dos sinais padrão, em nível de *software* e *hardware*, respectivamente.

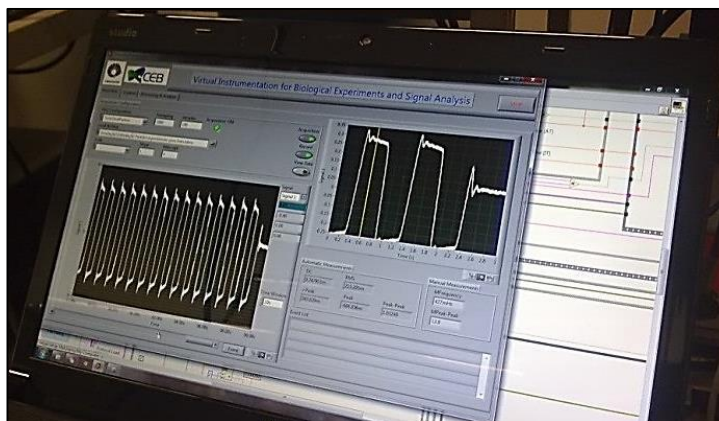


Figura 3.38 - Imagem do sistema de aquisição em funcionamento, durante testes de aquisição de uma onda quadrada de 2 Hz, taxa de aquisição em 1 kHz e filtro passa-baixas de entrada com frequência de corte em 10 Hz. No início da onda pode ser observado o efeito da resposta à onda quadrada no condicionador de sinais.



Figura 3.39 - Imagem do gerador de sinais em funcionamento, durante os testes de aquisição. Sinal de saída: triangular (rampa em 50%) de 2 Hz, amplitude de 50 mVpp, filtro passa-baixas na saída com frequência de corte em 10 Hz.

No teste do sistema de controle, o gerador de sinais foi acoplado no sistema de aquisição (USB-6009 DAQ) para verificação. Para configuração dos sinais, foi inserido o protocolo na tabela de configuração do sistema de controle do VI (Figura 3.40), sendo configurados quatro tipos de sinais padrão: onda senoidal, quadrada, triangular, e um ruído branco. Para os três primeiros sinais, foram aplicadas as mesmas configurações de frequência (1 Hz), amplitude (50 mVpp) e fase (0°); enquanto o tempo de ativação de 21 s e o tempo de inativação de 2 s foram aplicados a todos os sinais. Tais configurações foram escolhidas para verificação de conformidade entre o sinal configurado via protocolo e a saída efetiva do sistema. Após o utilizador iniciar a execução do protocolo, aparece uma marca azul a cada linha da tabela, para que o processo possa ser acompanhado durante sua aplicação.

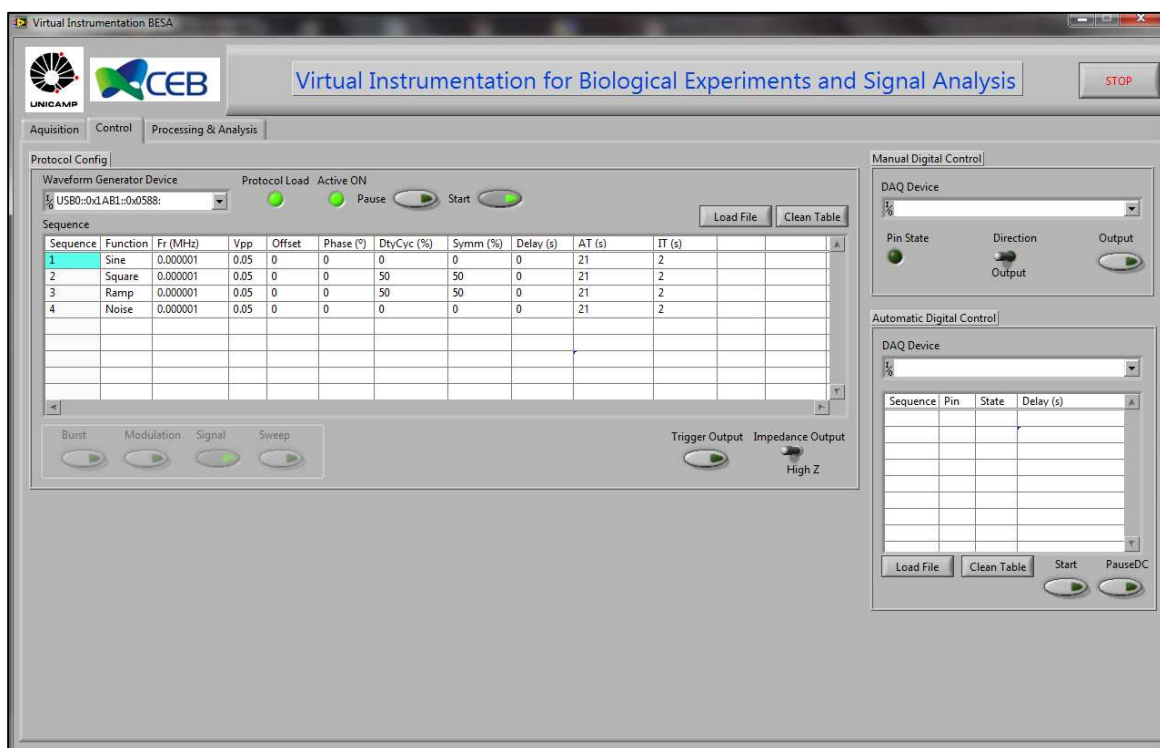


Figura 3.40 - Sistema de controle atuando conforme o protocolo na tabela de configuração. Cada linha da tabela refere-se aos parâmetros de controle (configuração e duração) do sinal a ser gerado. Quatro tipos de onda foram configurados (senoidal, quadrada, rampa e ruído).

3.10.2 Avaliação das Ferramentas de Processamento Digital

Para validar o sistema de processamento digital foram analisados os sinais padrão (ondas senoidal, quadrada, triangular, e ruído branco), dado o conhecimento prévio destes tipos de sinais. Neste contexto, foram avaliados os módulos de análise em frequência, filtragem digital, histograma, análise de estatística descritiva, remoção de tendência (conhecido também como linha de base ou componente CC), e reamostragem.

Para o módulo de análise em frequência, os testes foram realizados com os três tipos de sinais disponíveis (ondas senoidal, quadrada e triangular), conforme observado nas Figuras 3.41, 3.42 e 3.43. Os sinais utilizados para validação do sistema de análise em frequência foram digitalizados e gravados em disco. Cada sinal, configurado em 2 Hz e amplitude de 50 mVpp, foi digitalizado a uma frequência de amostragem de 1 kHz, totalizando assim uma média 500 amostras por

período. Nesta etapa foram avaliadas as distintas características para obtenção e avaliação do espectro de um sinal, tais como: função de janelamento, escala de amplitude, e parte do espectro (real, imaginaria, fase, e magnitude).

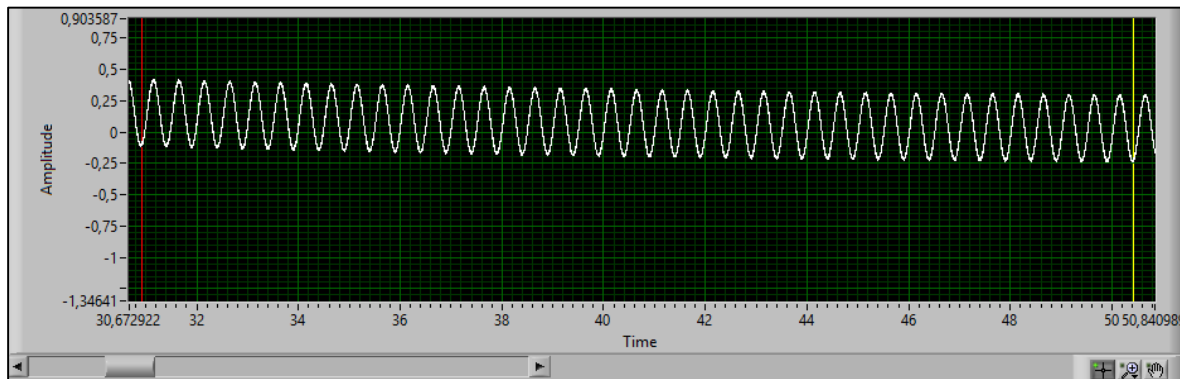


Figura 3.41 - Sinal senoidal em 2 Hz e 50 mVpp adquirido por 20 segundos. Para análise deste sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala linear e representada pela magnitude do sinal.

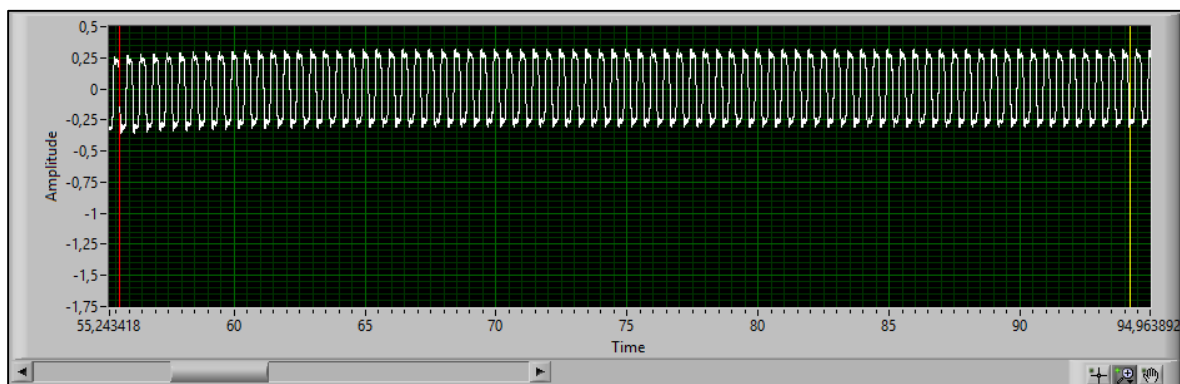


Figura 3.42 - Onda quadrada de 2 Hz e 50 mVpp adquirido por 40 segundos. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala dB e representada pela magnitude do sinal.

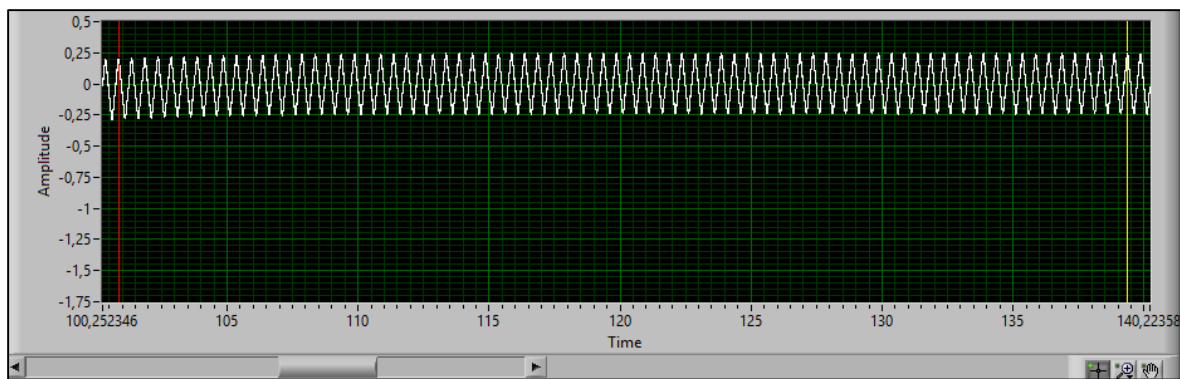


Figura 3.43 - Onda triangular 2 Hz e 50 mVpp digitalizada por 40 s. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela Hanning, amplitude em escala dB e representada pela magnitude do sinal.

Para validação do módulo de filtragem digital utilizou-se um sinal de onda quadrada de 1 Hz, amostrado a 1 kHz (Figura 3.44). O sinal foi configurado em um gerador de funções, com a saída acoplada a um condicionador de sinais (filtro passa-baixas de 6ª ordem e frequência de corte em 10 Hz), que por sua vez foi conectado à placa de aquisição do VI. Assim, o sinal foi digitalizado e armazenado por aproximadamente 40 s (40.000 amostras de 14 bits cada). Posteriormente o sinal foi carregado no módulo de filtragem digital, no qual foi ajustada a aplicação de um filtro passa-baixas de 4ª ordem do tipo Butterworth com frequência de corte em 10 Hz. Após aplicação do filtro digital no sinal adquirido, o mesmo foi salvo em arquivo para realização da análise de seu espectro de frequências (no próprio módulo de análise em frequência).

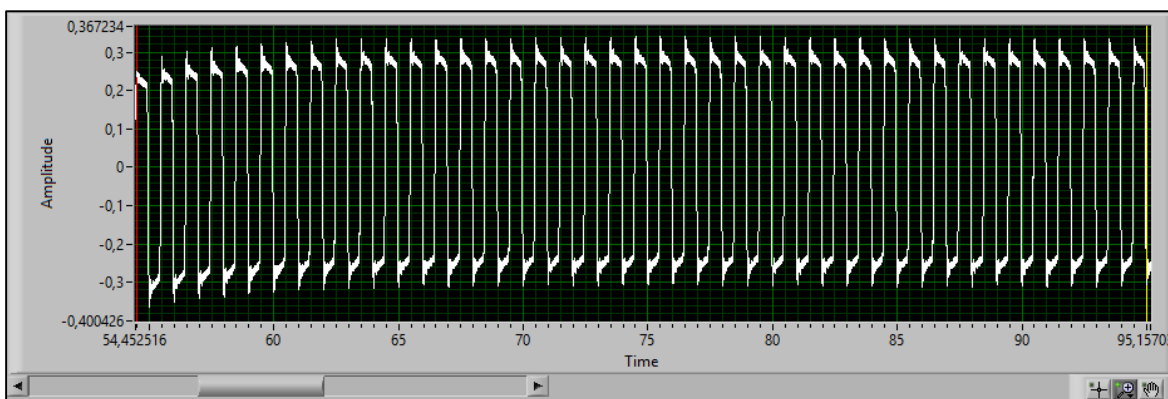


Figura 3.44 - Onda quadrada (1 Hz) utilizada para aplicação de um filtro passa-baixa de 4ª ordem do tipo Butterworth com frequência de corte em 10 Hz.

Para o teste do módulo de Histograma, foi utilizado um sinal senoidal de 1 Hz amostrado a 1 kHz (Figura 3.45) e um ruído branco (Figura 3.46), ambos os sinais foram digitalizados pelo sistema de aquisição do sistema e disponibilizado por um gerador de ondas.

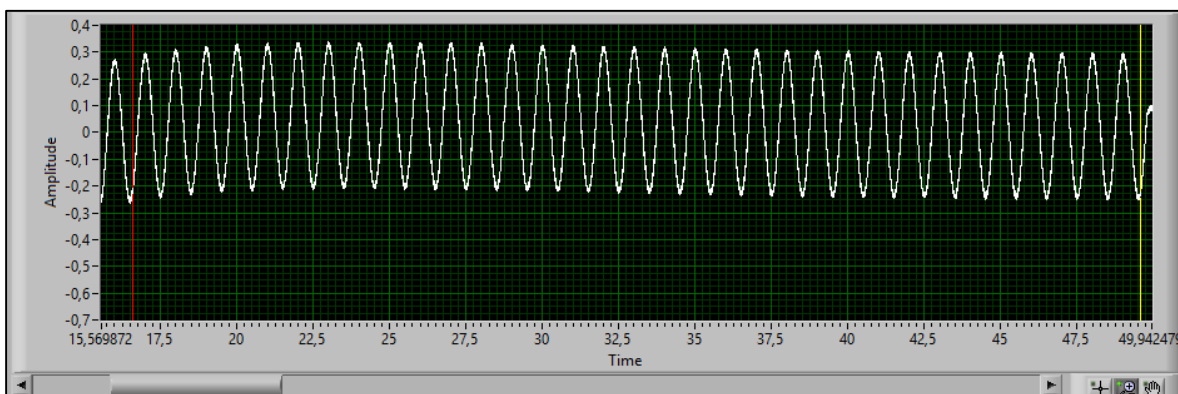


Figura 3.45 - Sinal senoidal (1 Hz) utilizado na validação do módulo de Histograma.

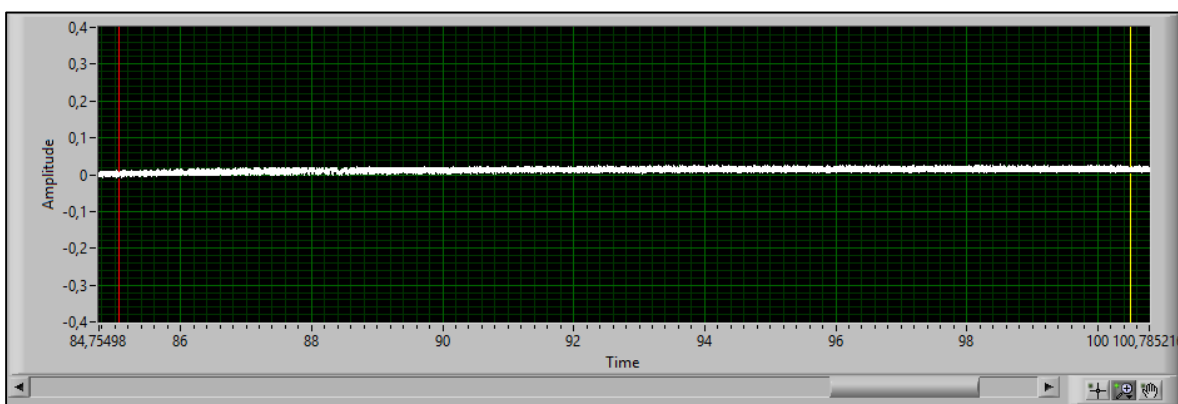


Figura 3.46 - Ruído branco digitalizado pelo sistema de aquisição para verificação de sua distribuição via o módulo Histograma.

Para a validação do módulo de remoção de tendência e do módulo de reamostragem, utilizou-se um sinal quadrado, de 50 mVpp e 1 Hz.

3.10.3 Aquisição de Sinais e o Controle de Experimentos Biológicos

Para validação do sistema proposto, optou-se por automatizar o protocolo experimental de um *setup* destinado a estudar os efeitos de ultrassom de alta potência na força de contração do coração isolado de rato.

Originalmente o laboratório não contava com um sistema de controle automatizado, o que obrigava o pesquisador a controlar todos os parâmetros do experimento (tempo de aplicação do sinal, potência aplicada, controle e registro de temperatura, registro dos efeitos, etc.). Além disso, o sinal elétrico proporcional à força de contração do coração, captado por uma placa de aquisição, servia como sistema de controle visual do experimento. Uma visualização geral do sistema experimental é apresentada na Figura 3.47

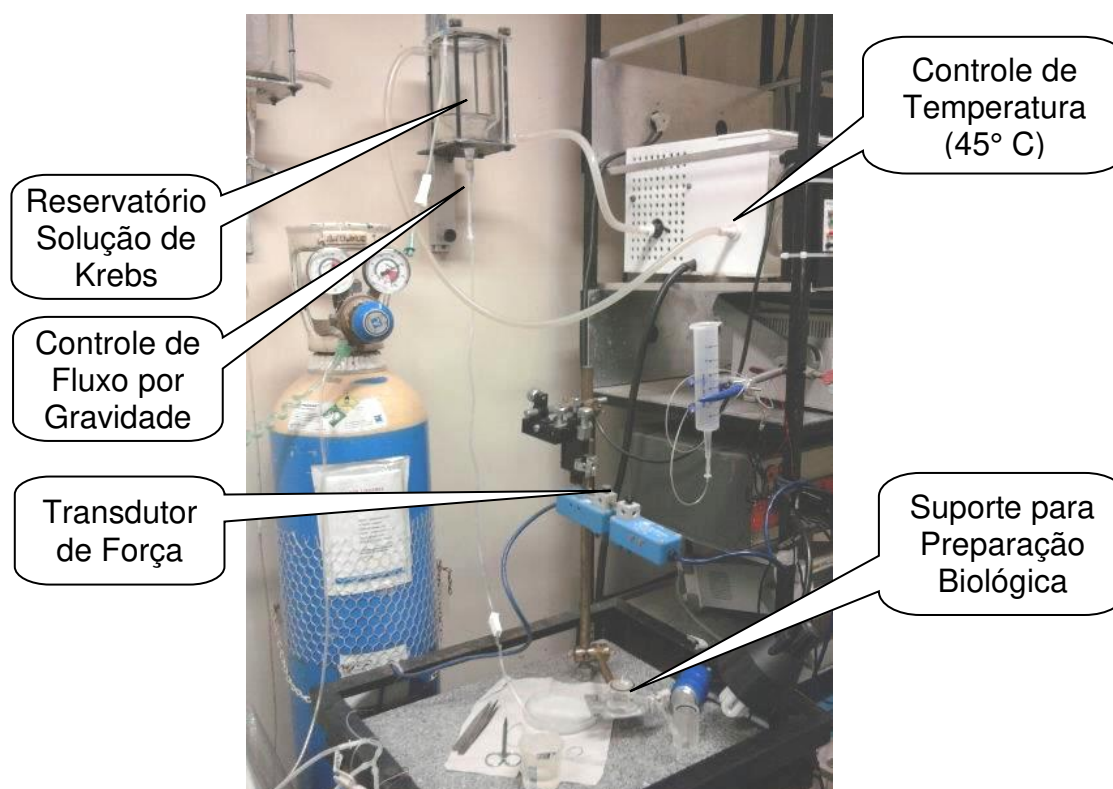


Figura 3.47 - *Setup* experimental utilizado no estudo do efeito do ultrassom de potência na força de contração do coração de ratos (Coiado, 2012).

Durante os experimentos (protocolo nº 2479-1, Comissão de Ética no Uso de Animais/Instituto de Biologia/UNICAMP) foram utilizados corações de ratas Wistar ($N = 7$), removidos após aplicação da concussão cerebral seguida da eutanásia por exsanguinação. Cada coração foi canulado e imerso na câmara contendo solução de Krebs-Henseleit modificada. A mesma solução (saturada com carbogênio) foi utilizada para perfusão do coração via aorta (Figuras 3.48 e 3.49).

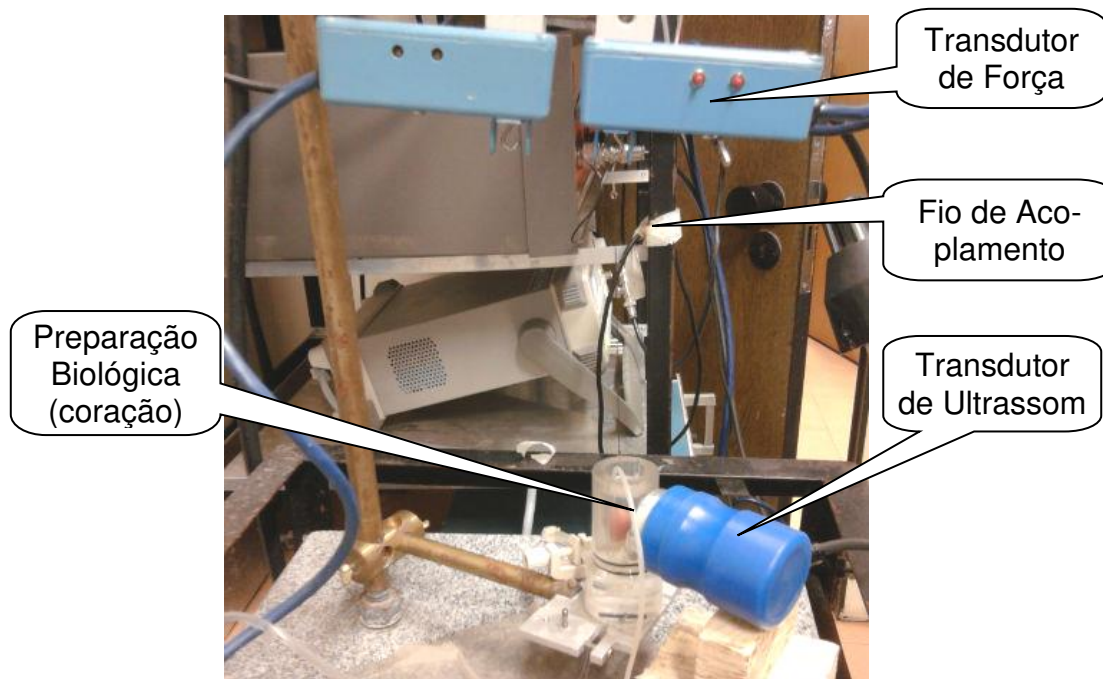


Figura 3.48 - *Setup* experimental, transdutor de força acoplado ao coração de rato por meio de um fio (Coiado, 2012).

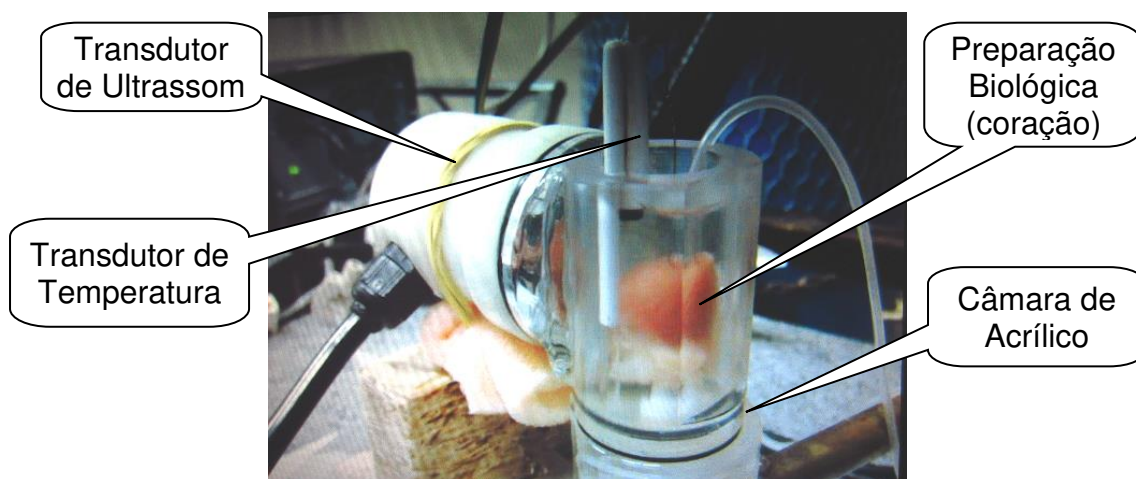


Figura 3.49 - Transdutor de ultrassom em contato com a câmara de acrílico (Coiado, 2012).

Na primeira fase dos experimentos, sem o sistema proposto neste projeto, o computador funcionava apenas como um sistema de registro e visualização dos dados (Figura 3.50), sendo a placa de aquisição a única interface com o computador. Conforme o experimento acontecia, era necessário efetuar ajustes no equi-

pamento de condicionamento de sinais para possibilitar a visualização do sinal adquirido, não havendo nenhum controle diretamente no computador.

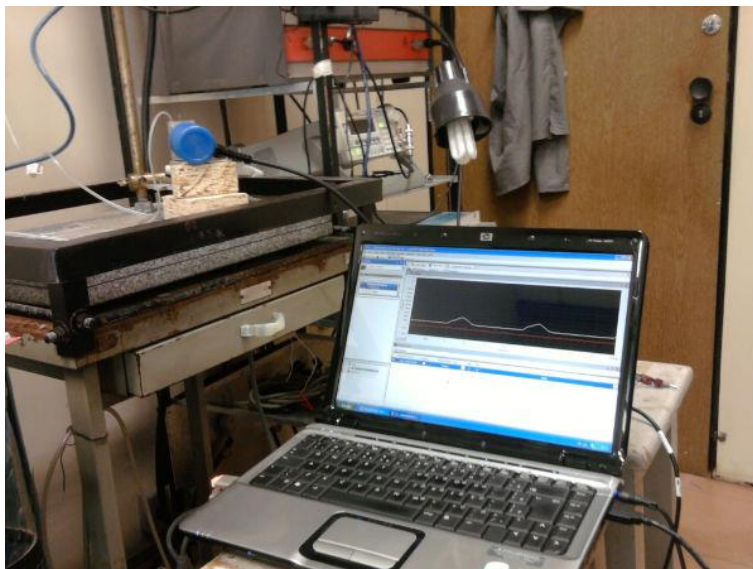


Figura 3.50 - Tela do sistema de aquisição utilizado nos primeiros experimentos. O sistema funcionava apenas para gravação dos dados e visualização do sinal biológico (Coiado, 2012).

Da mesma maneira, o sistema de estimulação não possuía controle automatizado, obrigando o pesquisador a tentar sincronizar a aplicação do ultrassom (estímulo) no coração, ligando ao mesmo tempo o gerador de sinal (previamente configurado) e uma chave ligada a uma bateria de 9 V, onde o sinal era emitido no segundo canal de aquisição da DAQ, conforme observado no esquema geral da Figura 3.51.

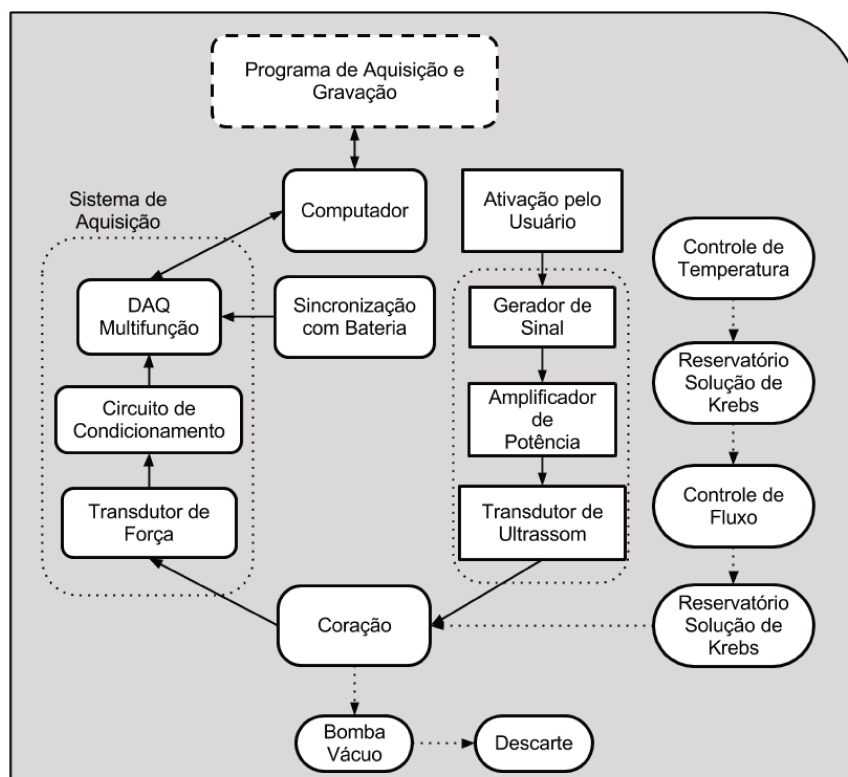


Figura 3.51 - Diagrama geral do protocolo experimental utilizado na validação do sistema proposto.

Para a validação do sistema proposto este *setup* foi alterado, mas sem a necessidade de acoplar novos equipamentos. Foi parte da validação avaliar o impacto do novo sistema no processo experimental e as mudanças necessárias para adequação às necessidades do usuário.

4 RESULTADOS

Os resultados foram organizados seguindo as três etapas de validação do sistema: aquisição e controle de sinais padrão; avaliação das ferramentas de processamento; e aquisição de sinais e controle de um experimento biológico real.

4.1 AQUISIÇÃO E CONTROLE DE SINAIS

Conforme pode ser observado (Figura 4.1, Figura 4.2, e Figura 4.3), três padrões distintos de ondas produzidas pelo gerador de sinais foram adquiridos a uma taxa de amostragem de 1 kHz. Os três sinais foram configurados no gerador de sinais com os mesmos parâmetros: componente de frequência principal em 2 Hz e amplitude 50 mVpp. A saída do gerador de sinais foi ligada a um condicionador de sinais fisiológicos com ganho 10 e frequência de corte do filtro passa-baixas em 10 Hz (CEB/UNICAMP, OS 01-2575), cuja saída foi conectada à DAQ do sistema desenvolvido.

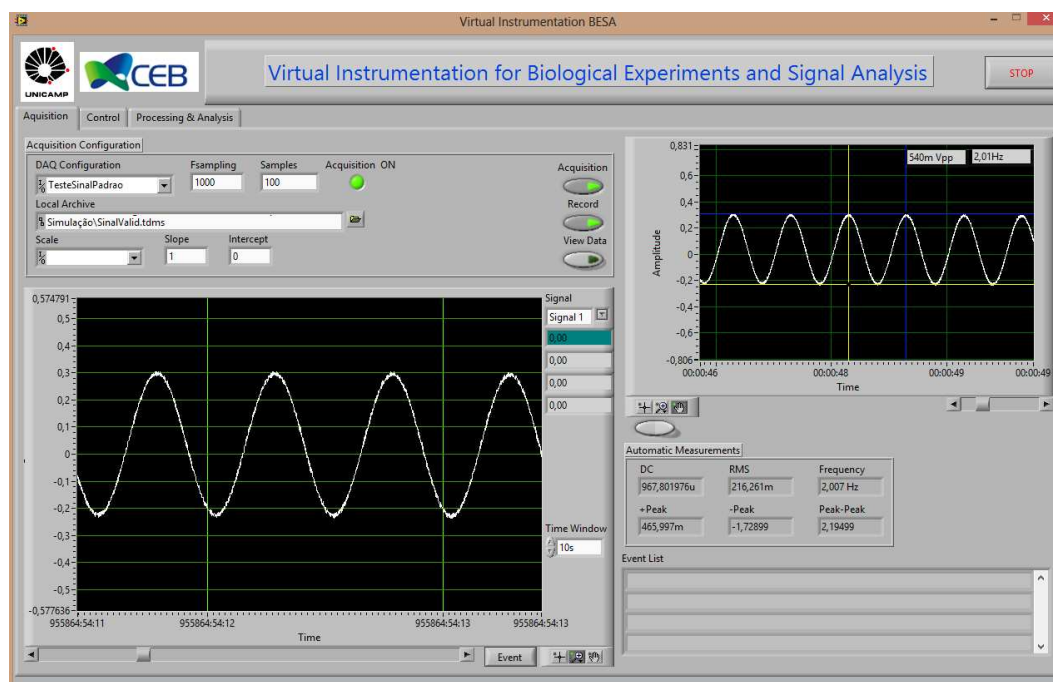


Figura 4.1 - Sinal senoidal com frequência de 2 Hz e amplitude 50 mVpp.

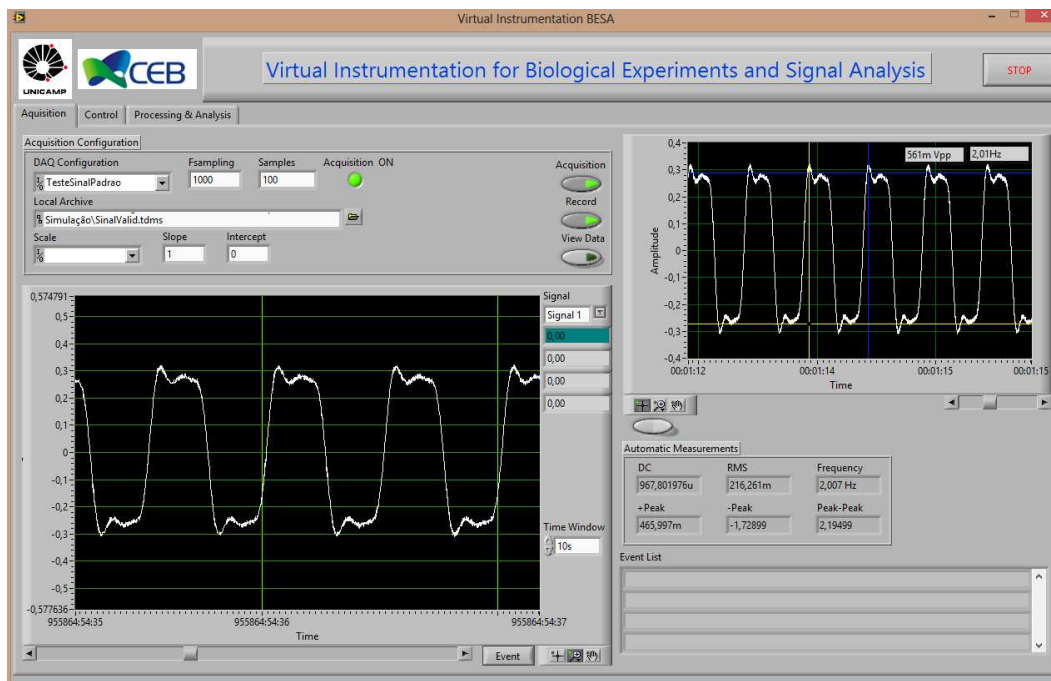


Figura 4.2 - Onda quadrada com componente de frequência principal em 2 Hz e amplitude em 50 mVpp.

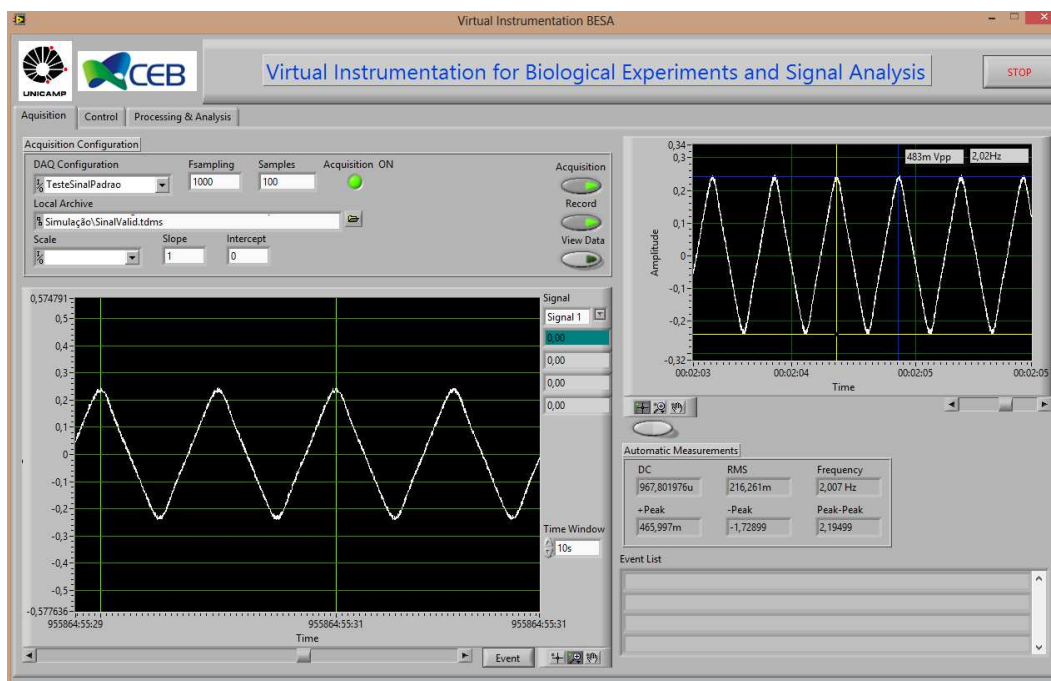


Figura 4.3 - Onda triangular com sua componente de frequência principal em 2 Hz e amplitude em 50 mVpp.

Na Figura 4.4 é apresentado o resultado dos sinais captados pela placa de aquisição durante o teste do sistema de controle. Para este teste foram configurados quatro tipos de onda: senoidal (Figura 4.5), quadrada (Figura 4.6), triangular (Figura 4.7) e ruído branco (Figura 4.8).

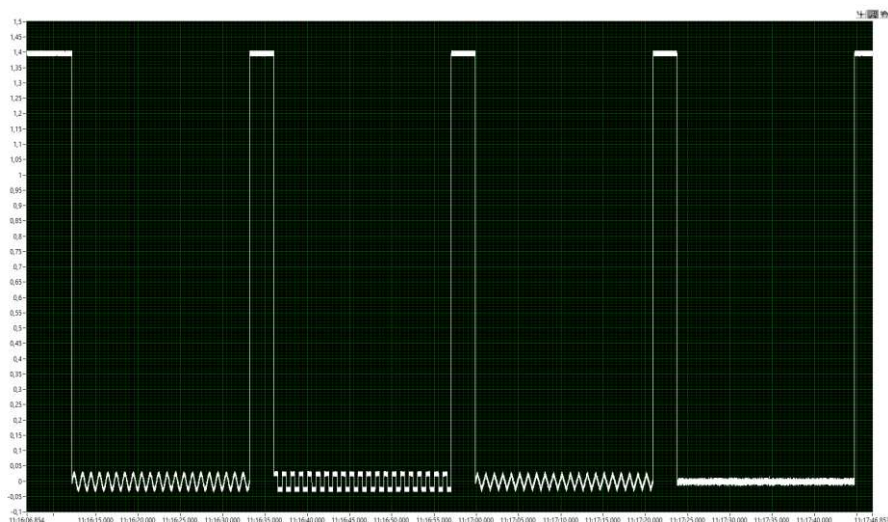


Figura 4.4 - Sinais captados pelo sistema de aquisição para teste do sistema de controle. Cada tipo de onda possui um tempo de 21 s de ativação, e um tempo de 2 s de inativação.

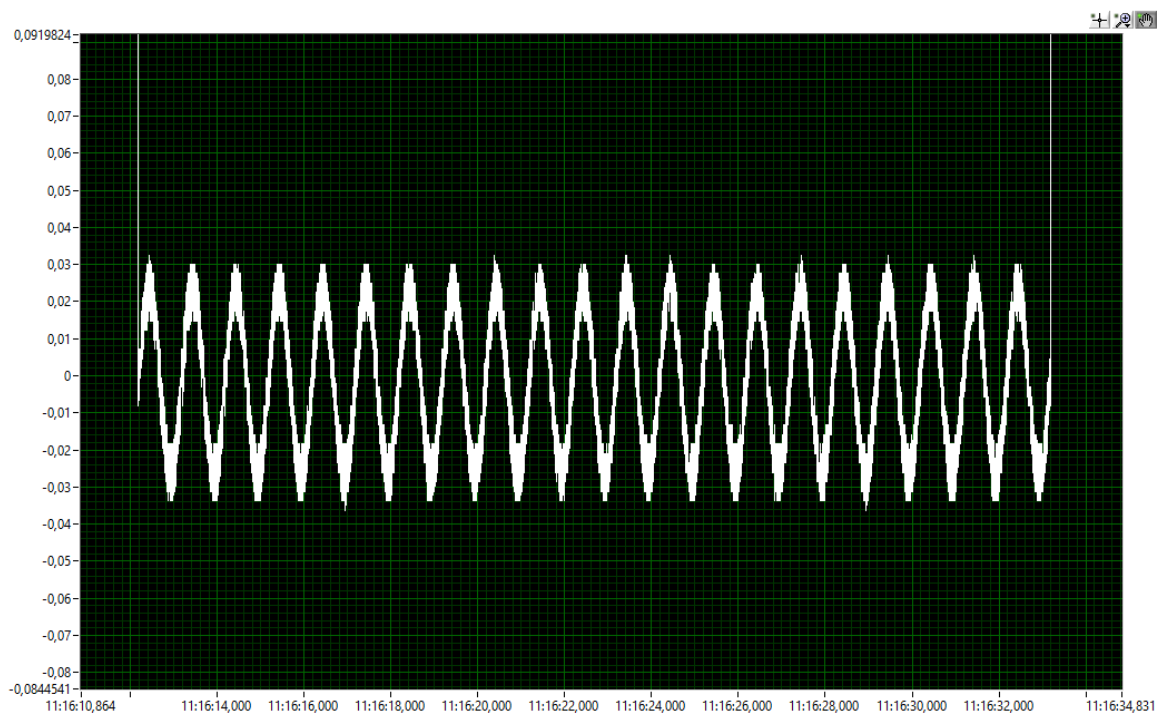


Figura 4.5 - Onda senoidal captada; conforme esperado o sinal apresenta sua frequência principal em 1 Hz e tempo total de ativação em aproximadamente 21 s.

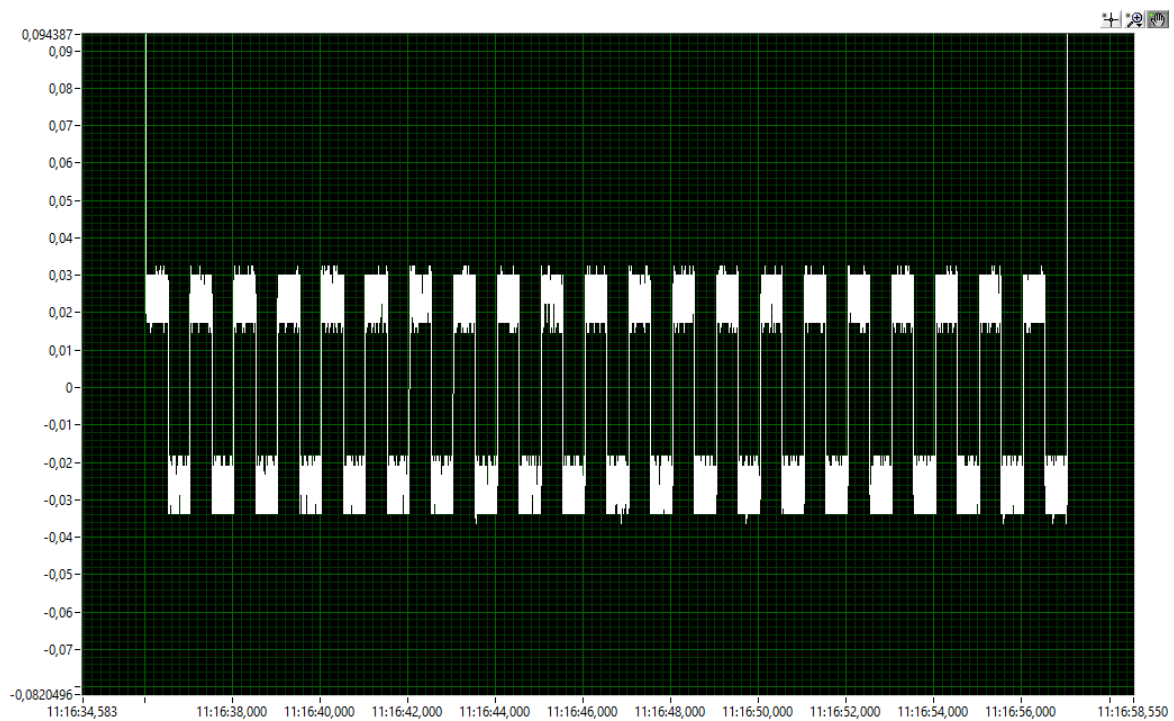


Figura 4.6 - Onda quadrada captada; conforme esperado o sinal apresenta sua frequência principal em 1 Hz e tempo total de ativação em aproximadamente 21 s.

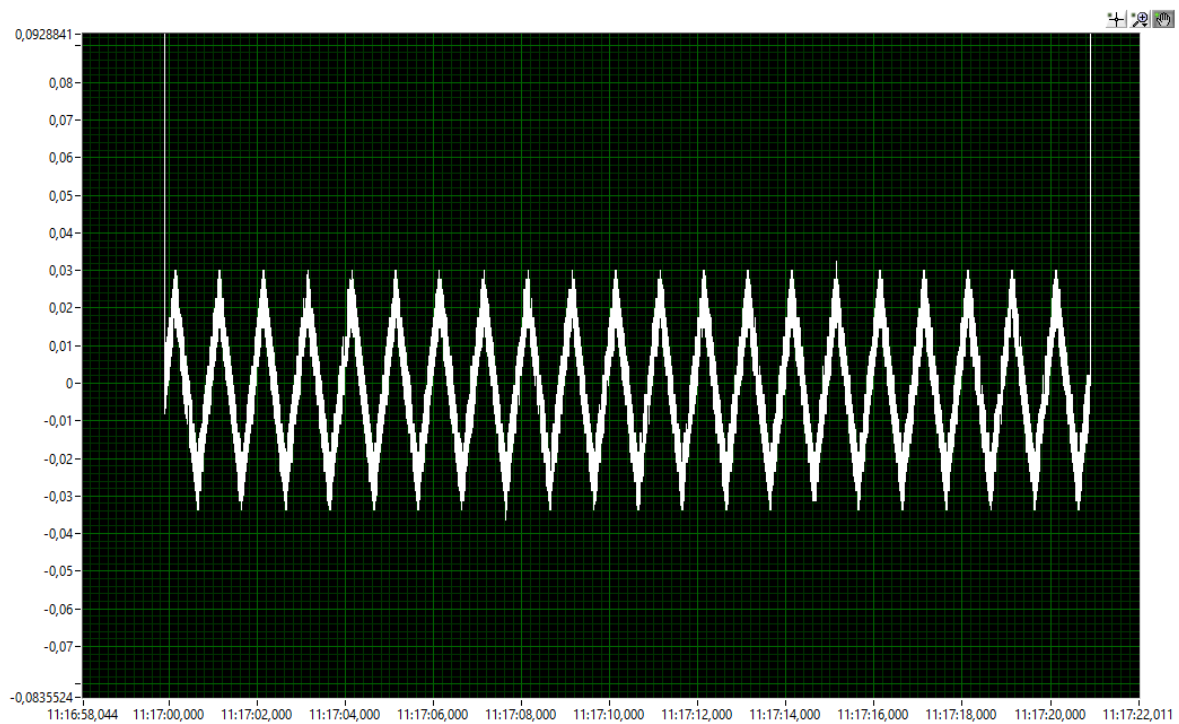


Figura 4.7 - Onda triangular captada; conforme esperado o sinal apresenta sua frequência principal em 1 Hz e tempo total de ativação em aproximadamente 21 s.

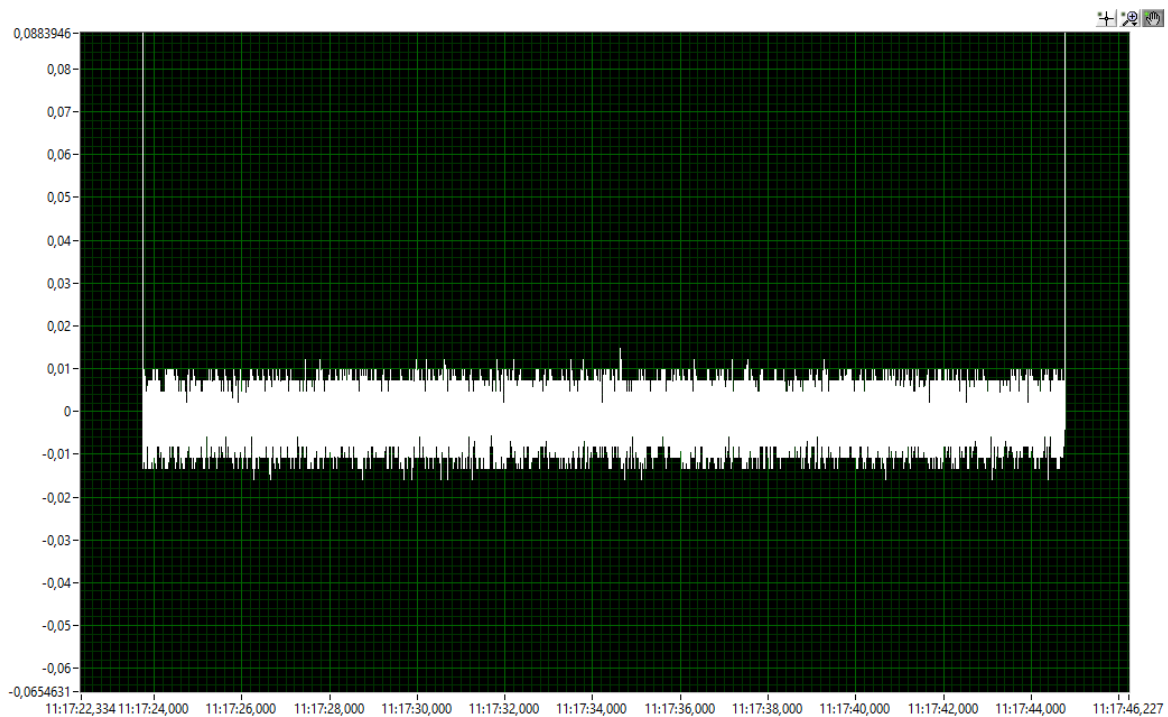


Figura 4.8 - Ruído branco captado; conforme esperado o tempo total de ativação é de aproximadamente 21 s.

4.2 AVALIAÇÃO DAS FERRAMENTAS DE PROCESSAMENTO DIGITAL

Para o módulo de análise em frequência, os resultados podem ser observados nas Figuras 4.9, 4.10 e 4.11, onde cada sinal é apresentado no domínio do tempo (gráfico superior), no domínio da frequência (gráfico inferior), e com diferentes configurações: tipo do espectro, tipo de função de janela, e escala de magnitude.

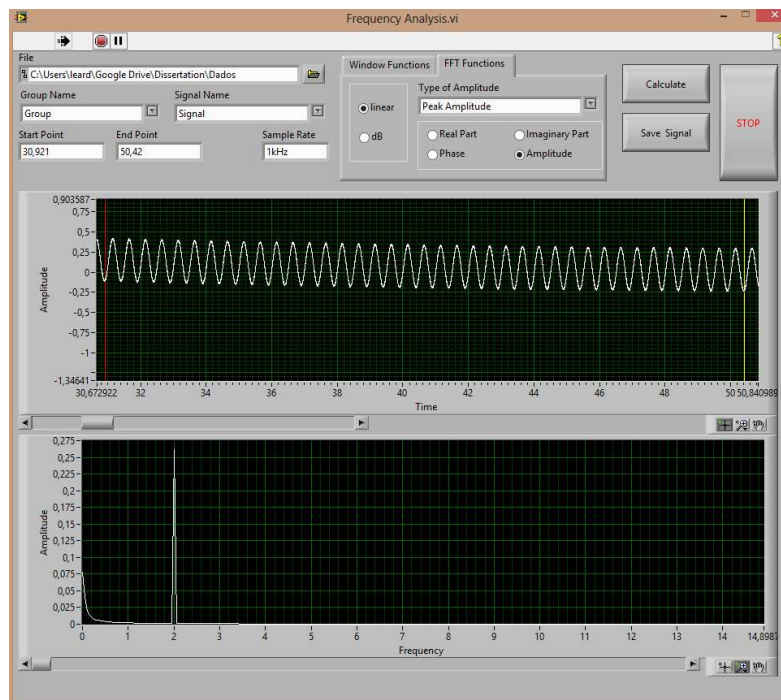


Figura 4.9 - Espectro de frequências do sinal senoidal apresentado na Figura 4.1. Para análise deste sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala linear e representação pela magnitude do sinal.

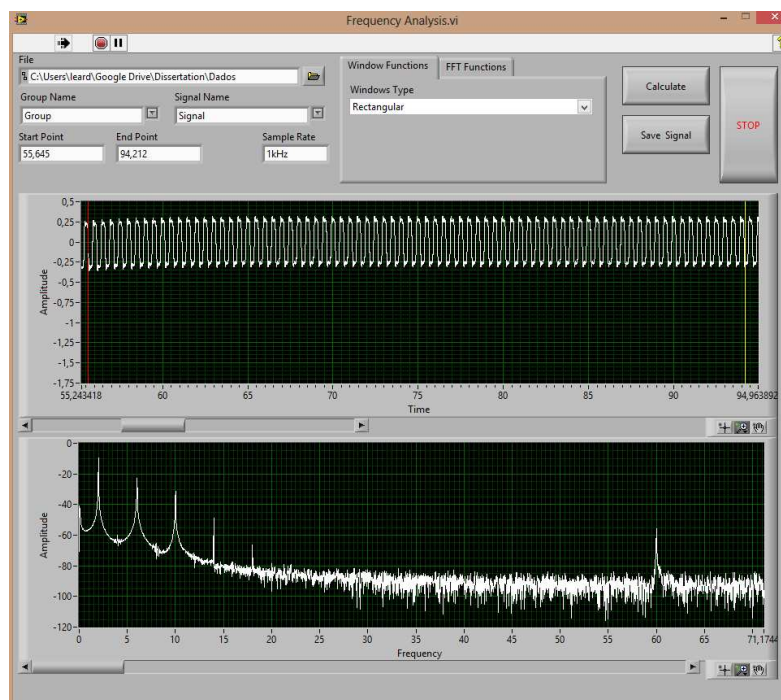


Figura 4.10 - Espectro de frequências da onda quadrada apresentada na Figura 4.2. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela retangular, amplitude em escala dB e representação pela magnitude do sinal.

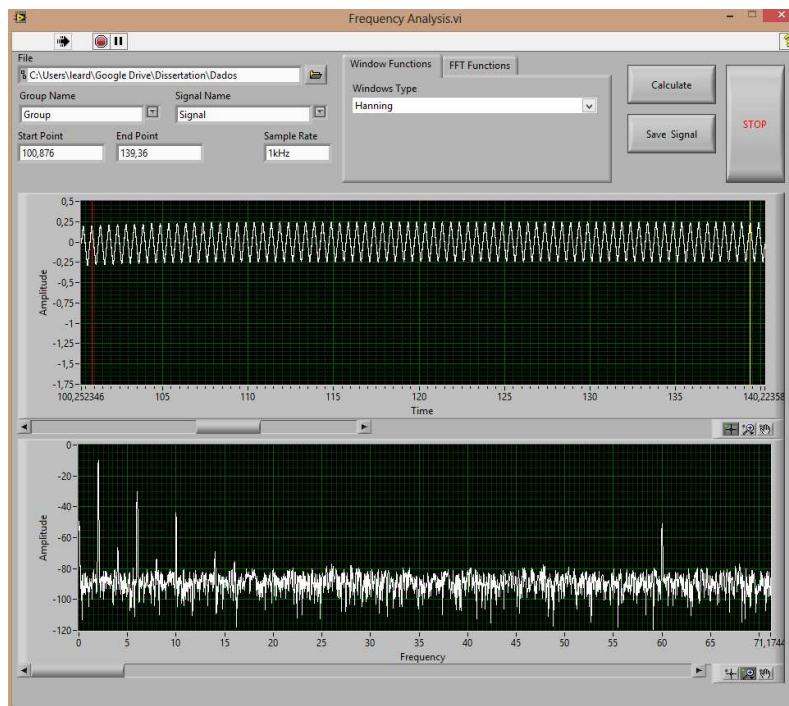


Figura 4.11 - Espectro de frequências da onda triangular apresentada na Figura 4.3. Para análise do espectro do sinal foram utilizadas as seguintes configurações: janela Hanning, amplitude em escala dB e representação pela magnitude do sinal.

Na Figura 4.12 é apresentada a comparação da magnitude do espectro de uma mesma onda (quadrada) quanto à sua escala. Enquanto na escala logarítmica é possível observar diversos componentes de frequência, na escala linear tais componentes não são observáveis.

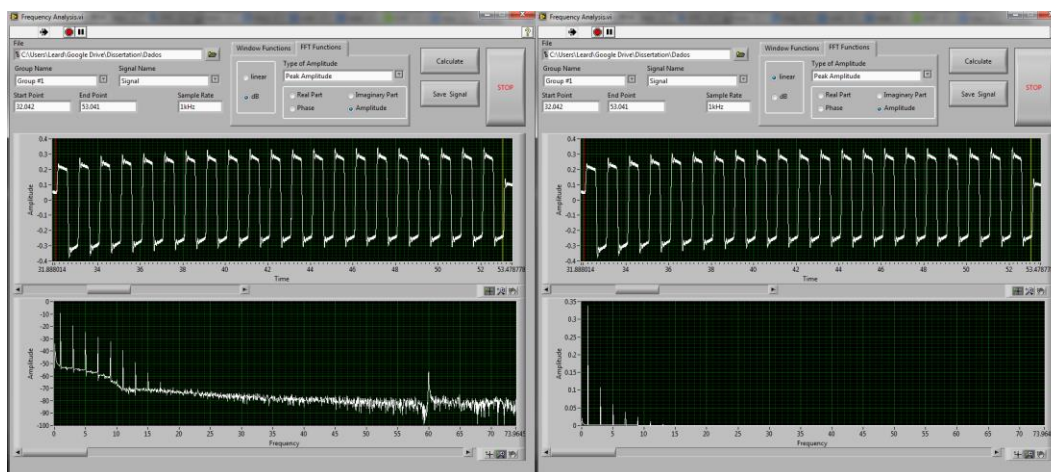


Figura 4.12 - Comparativo do módulo de análise em frequência, apresentando a magnitude do espectro de frequências (inferior) de uma onda quadrada em escala logarítmica (esquerda) e linear (direita).

A Figura 4.13 mostra o resultado da aplicação do módulo de filtragem digital em uma onda quadrada, cujo resultado foi gravado em disco para realização de uma nova análise espectral.

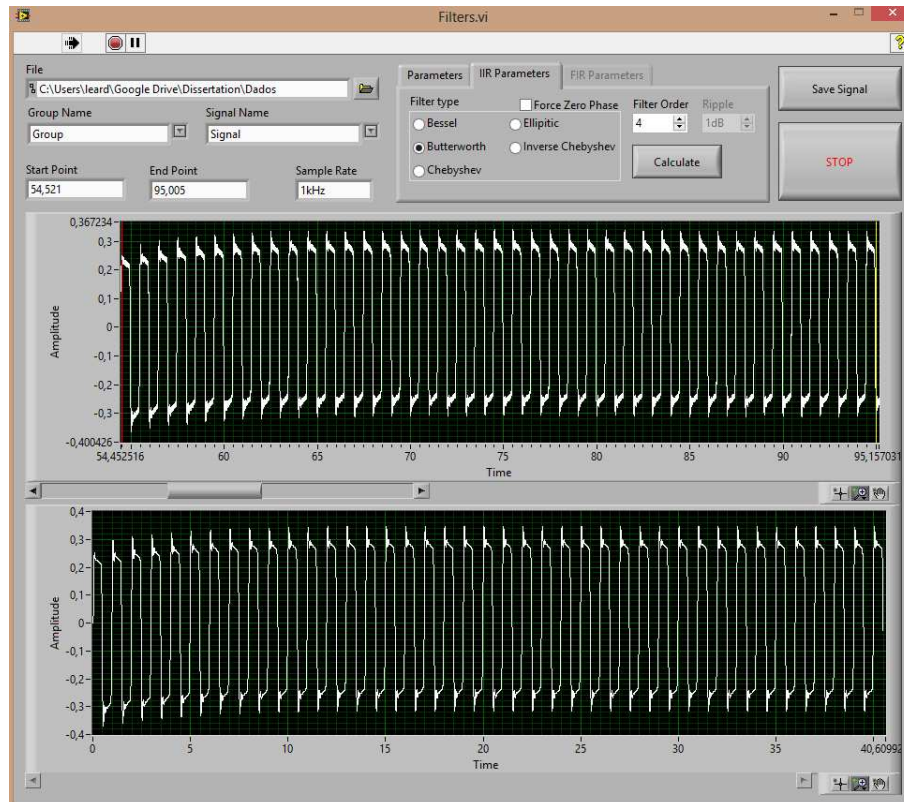


Figura 4.13 - Aplicação de um filtro passa-baixa de 4ª ordem do tipo Butterworth com frequência de corte em 10 Hz em sinal quadrado (1 Hz). É possível observar uma pequena alteração no sinal (inferior), quanto às suas componentes de alta frequência.

Assim, para efeito de comparação foi realizada a análise em frequência do sinal antes (Figura 4.14) e após a aplicação do filtro passa-baixas (Figura 4.15). É possível observar a remoção completa dos componentes de alta frequência que estavam no sinal apesar da filtragem analógica na entrada da placa de aquisição.

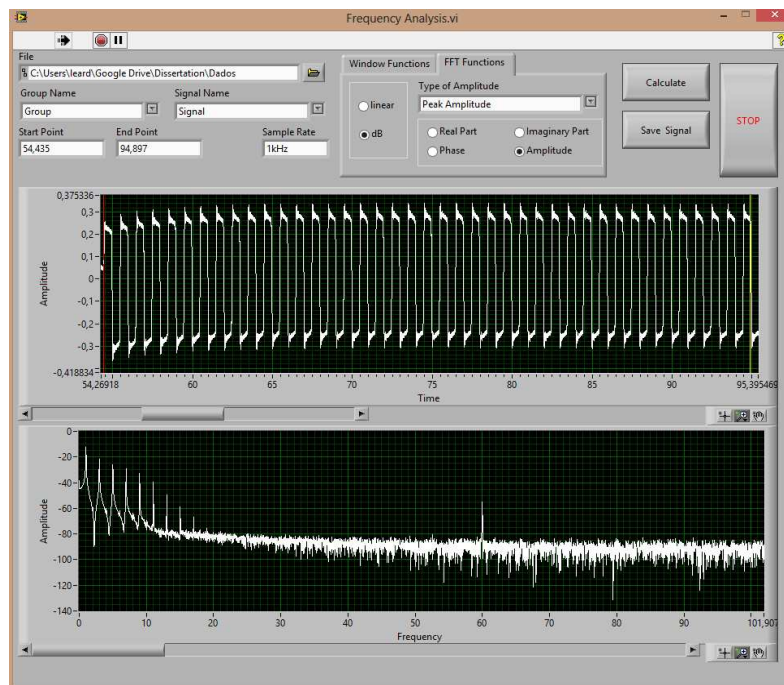


Figura 4.14 - Análise em frequência de uma onda quadrada (1 Hz) após sua aquisição. Apesar do filtro de entrada possuir frequência de corte em 10 Hz é possível observar componentes de alta frequência, destacando-se o componente de 60 Hz.

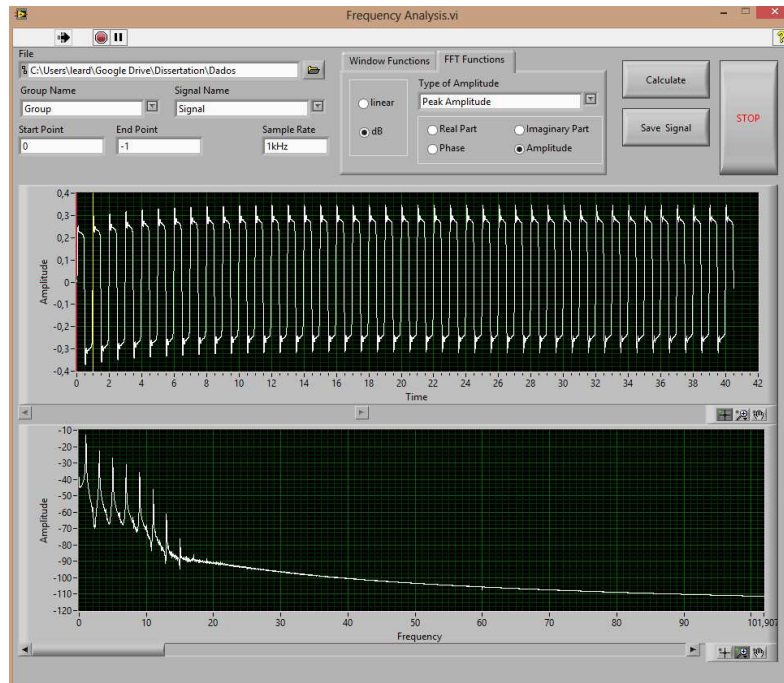


Figura 4.15 - Análise em frequência de uma onda quadrada (1 Hz), após a aplicação de um filtro digital com frequência de corte em 10 Hz. É possível observar a remoção completa dos componentes de alta frequência da onda amostrada, estando todos estes atenuados de aproximadamente 80 dB em relação ao sinal de interesse, a partir de 20 Hz.

Na Figura 4.16 pode-se observar o resultado da aplicação do sinal senoidal de 1 Hz módulo de Histograma em, no qual é possível identificar dois picos característicos do histograma da onda senoidal. Na Figura 4.17 é exposto outro resultado do módulo de Histograma, no qual é possível observar a distribuição de um ruído branco, que pode ser aproximado por uma distribuição gaussiana.

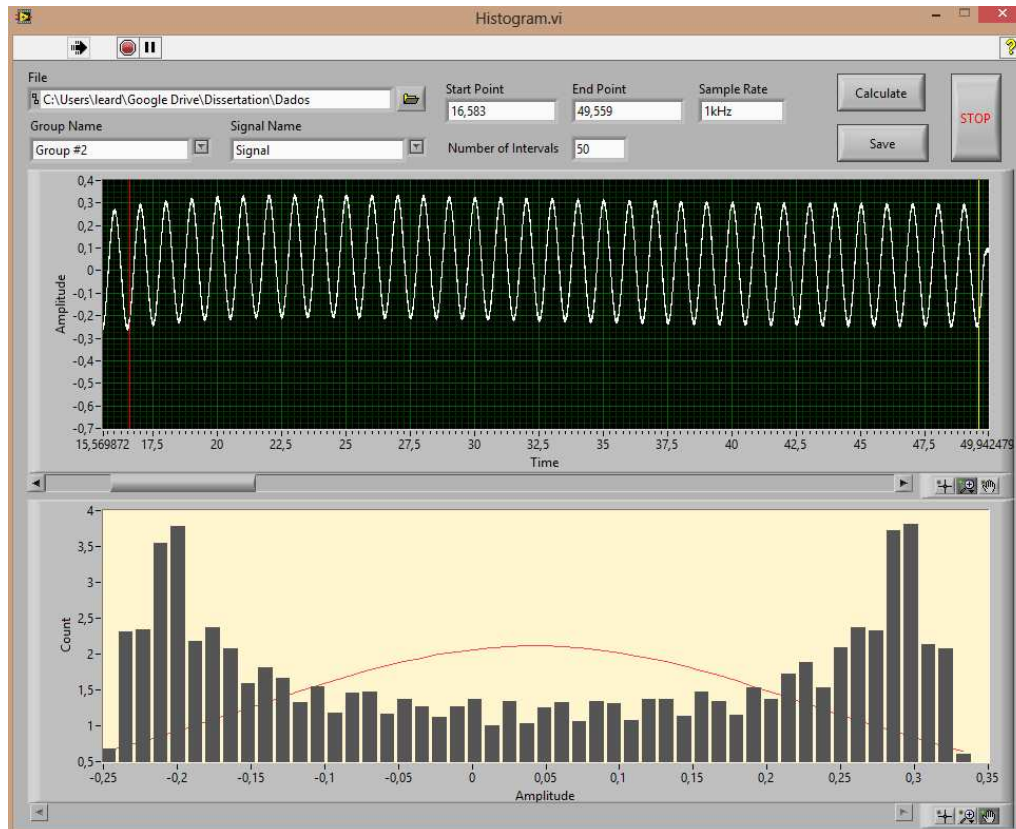


Figura 4.16 - Histograma de um sinal senoidal. Conforme esperado, observam-se dois picos nas amplitudes de pico a pico do sinal amostrado.

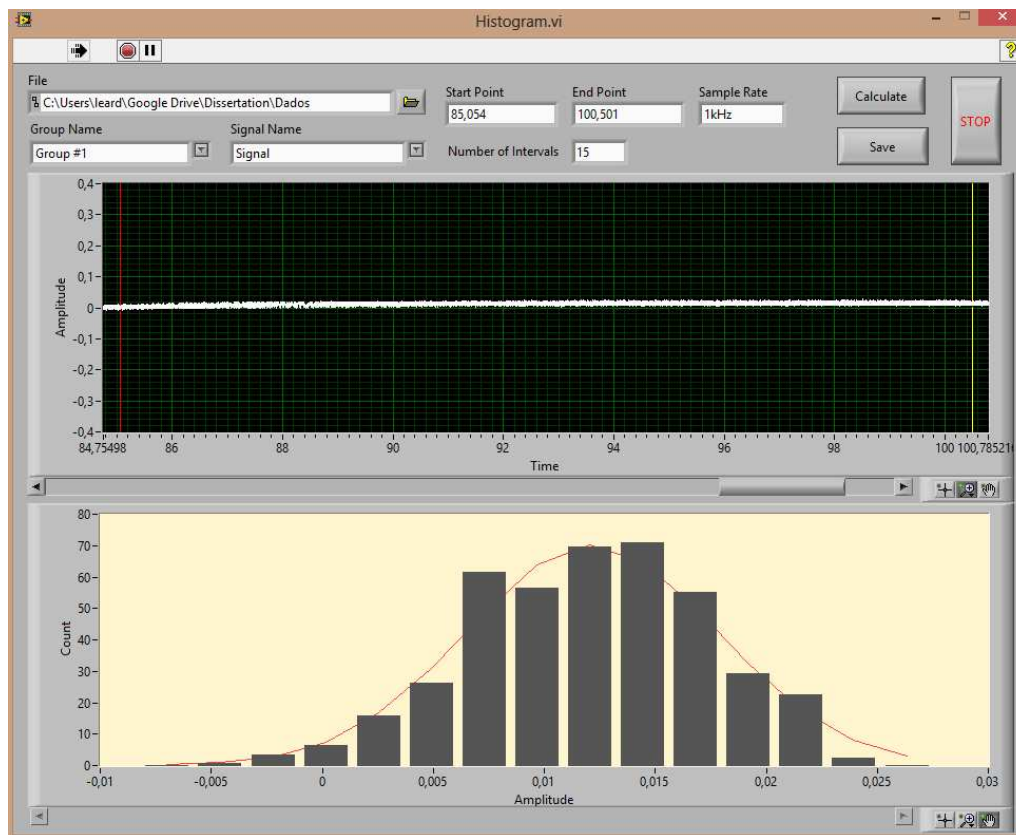


Figura 4.17 - Histograma de sinal típico de ruído branco, próximo de uma distribuição gaussiana.

Na validação do módulo de remoção de tendência, utilizou-se um sinal quadrado de 50 mVpp e 1 Hz. Dadas as características do módulo de condicionamento, o sinal de entrada sofreu um pequeno desvio de base (componente CC). Conforme observado na Figura 4.18, após a aplicação da remoção de tendência, o sinal foi reajustado para o seu centro, em zero.

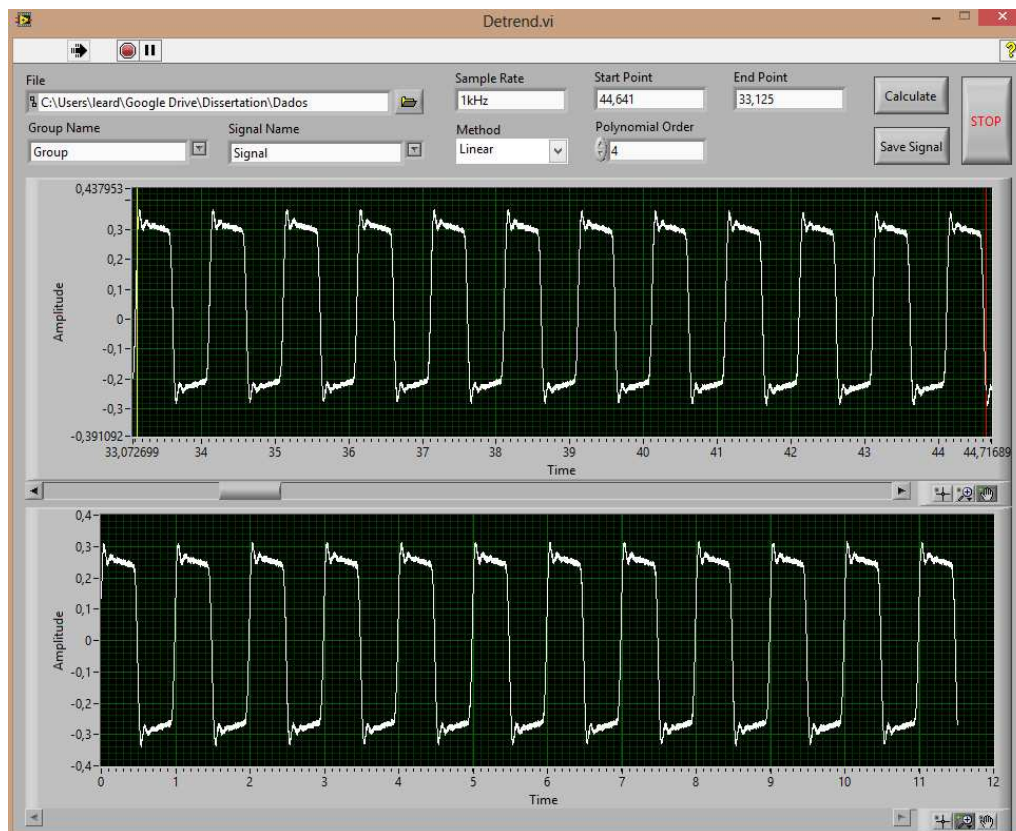


Figura 4.18 - Remoção de componente CC de uma onda quadrada.

Para validação do módulo de reamostragem, também foi utilizado um sinal quadrado de 50 mVpp e 1 Hz. Conforme observado na Figura 4.19, o sinal original (superior) é reamostrado de 1 kHz para 20 Hz (inferior). Assim, o sinal que antes possuía 1.000 amostras por período, passa a possuir 20 amostras no mesmo período. Desta forma, vários componentes de alta frequência que eram observados deixam de existir no novo sinal reamostrado.

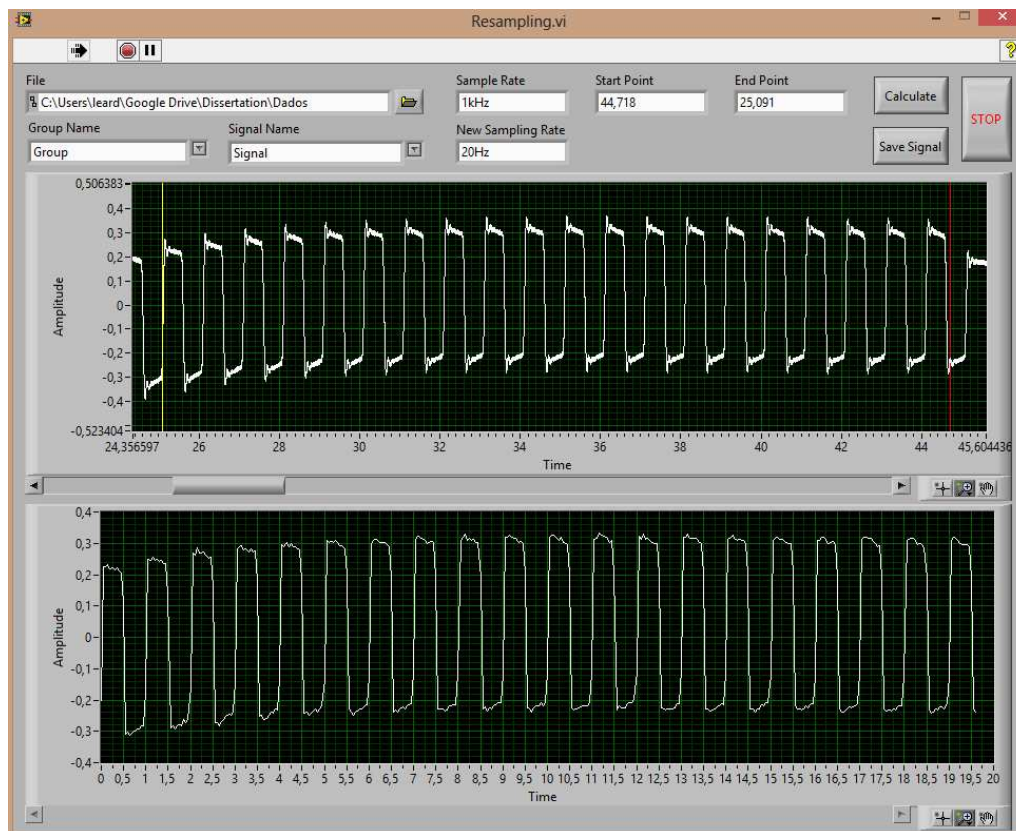


Figura 4.19 - Reamostragem de uma onda quadrada. Sinal reamostrado de 1 kHz (superior) para 20 Hz (inferior). Nota-se que vários componentes de alta frequência desaparecem no sinal reamostrado.

4.3 AQUISIÇÃO DE SINAIS E O CONTROLE DE EXPERIMENTOS BIOLÓGICOS

O principal resultado obtido com a aplicação do sistema proposto no experimento biológico, apresentado na seção 3.10.3, foi a reestruturação dos equipamentos para tornar o controle do sistema mais autônomo, eliminando assim os erros ocasionados pelo pesquisador durante o experimento. Antes da automação era necessária a realização de constantes modificações nos parâmetros de configuração do sinal e de sua aplicação na preparação biológica, o que exigia dois pesquisadores para realização do experimento. O resultado desta alteração pode ser observado na Figura 4.20.

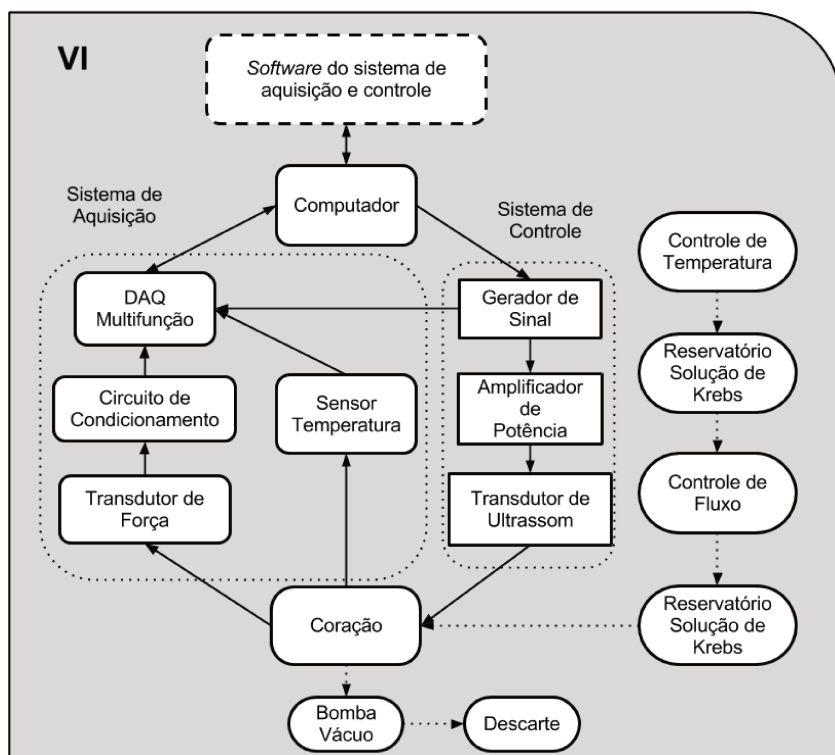


Figura 4.20 - Diagrama geral do setup experimental reestruturado após aplicação do VI proposto. O computador passar a controlar o gerador de sinais e sincronizar com o sinal captado pela placa de aquisição.

Nas Figuras 4.21, 4.22 e 4.23 é possível observar os resultados do sinal de força captado pela placa de aquisição antes, durante e após a aplicação de pulsos de ultrassom no coração do rato, respectivamente. Na Figura 4.24 observa-se o resultado da aplicação do módulo de análise em frequência desenvolvido.

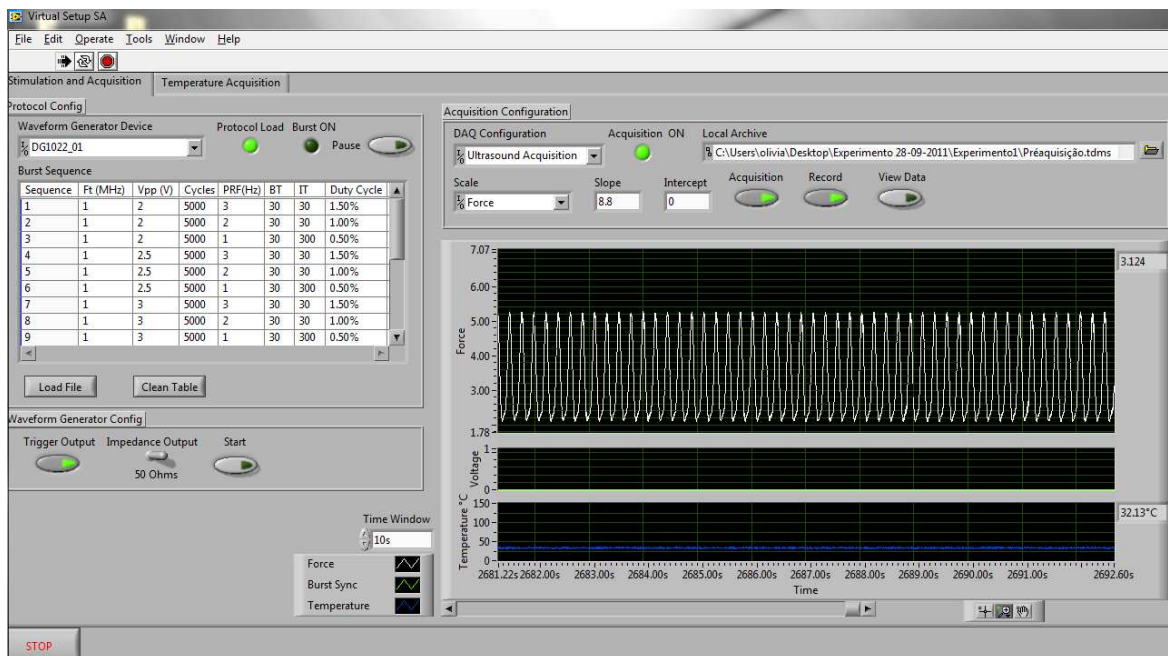


Figura 4.21 - Sinal de força (gráfico superior) captado pelo sistema de aquisição antes da aplicação dos pulsos de ultrassom sobre o coração.

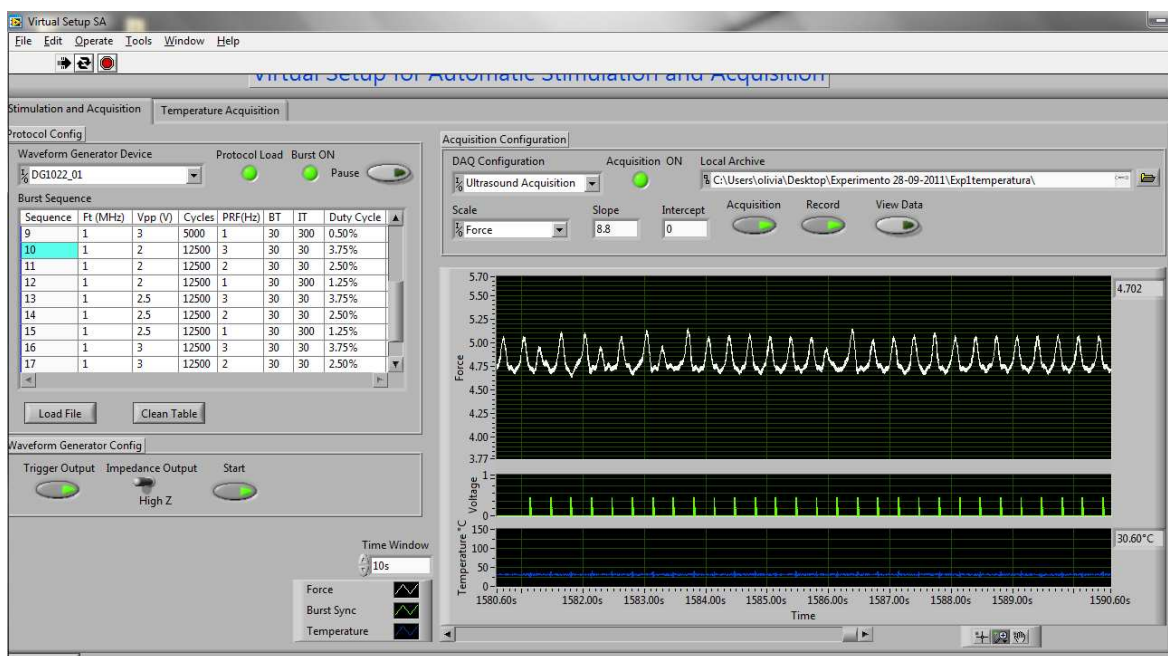


Figura 4.22 - Sinal de força (branco) captado pelo sistema de aquisição durante a fase de aplicação dos pulsos de ultrassom (sinal verde) sobre o coração.

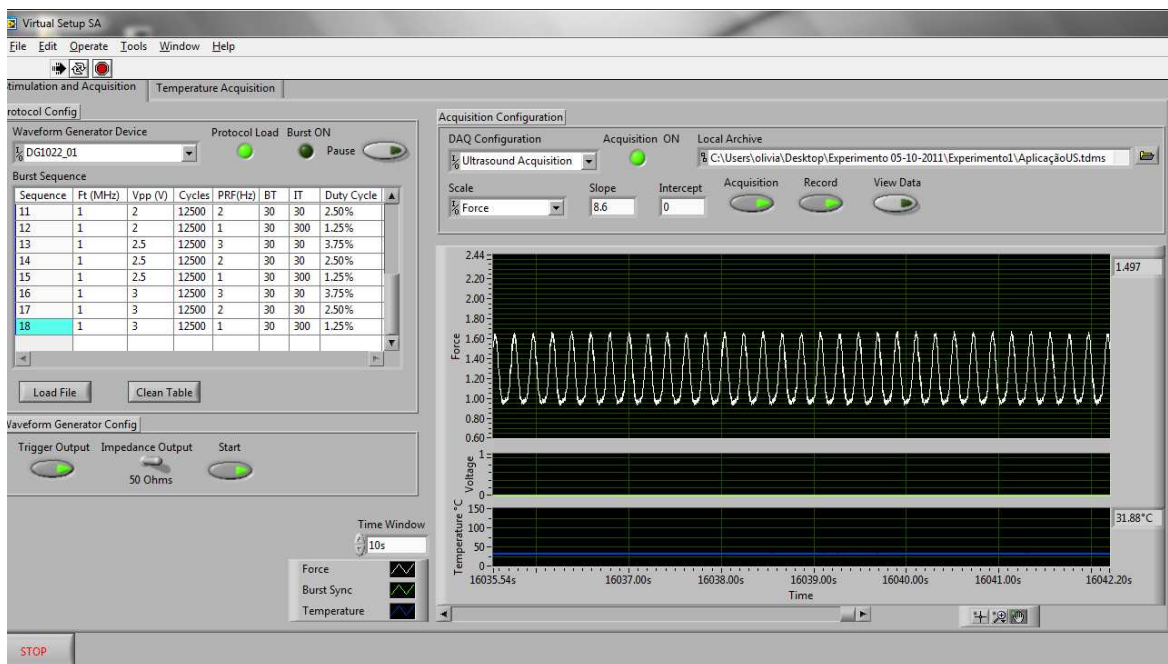


Figura 4.23 - Sinal de força captado pelo sistema de aquisição ao término do protocolo experimental de aplicação do ultrassom de potência sobre o coração.

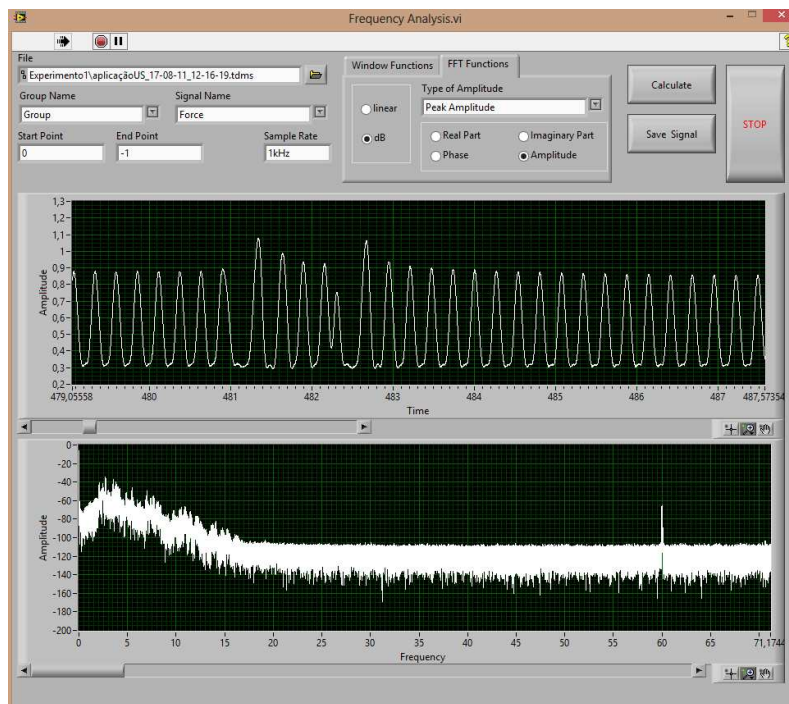


Figura 4.24 - Módulo de análise em frequência sendo utilizado com o conjunto de dados que foram gravados durante a aplicação de ultrassom de potência no coração do rato. No gráfico superior (domínio do tempo) é possível observar arritmias durante a aplicação dos pulsos de ultrassom. No gráfico inferior (domínio da frequência) observa-se a distribuição de energia espectral ao longo do eixo de frequências.

5 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados no capítulo 4 mostram que o Instrumento Virtual desenvolvido possui flexibilidade nos controles das funções, e generalidade, podendo ser aplicado em diferentes *setups* experimentais com preparações biológicas.

Os sinais utilizados nos testes de validação do sistema de aquisição (Figuras 4.1, 4.2 e 4.3) fornecem um padrão para avaliação do VI em relação às características de visualização e medição do sinal. É possível observar ainda, nos sinais apresentados, um pequeno desvio em torno do zero, que ocorre em função da resposta do sistema de condicionamento a cada sinal de entrada. Esta anomalia pode ser removida digitalmente por meio do processamento do sinal, ou por modificação dos parâmetros do dispositivo de condicionamento do sinal (ordem do filtro ou frequência de corte), o que demanda uma etapa de calibração prévia, em ambos os casos. É importante salientar que mudanças no equipamento de condicionamento do sinal de entrada não irão afetar o funcionamento do VI.

Para os testes de validação do sistema de estimulação (Figuras 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 e 4.8) os resultados apresentados estão em conformidade com o protocolo de programação (Figura 3.40), o que o torna capaz de ser utilizado em experimentos que demandem etapas de estimulação das preparações biológicas. Assim, para cada tipo de experimento basta que o usuário utilize o sistema de estimulação (amplificador e transdutor / eletrodo) próprio, sem que o *software* do VI seja afetado.

Ambos os sistemas (controle e aquisição) funcionam de forma independente, ou seja, caso o experimento não necessite do sistema de estimulação poderá ser utilizado apenas o sistema de aquisição, e vice-versa.

Para avaliação das ferramentas de processamento (seção 4.2), foram utilizados os sinais obtidos pelo sistema de aquisição, a fim de avaliar ambas as ferramentas. Nos testes do sistema de análise em frequência (Figuras 4.9, 4.10 e

4.11), o espectro obtido de cada sinal está em conformidade com o esperado, ou seja, os componentes de frequência que caracterizam o sinal estão de acordo com os parâmetros configurados no sinal adquirido (Figuras 3.42, 3.43 e 3.44). Na Figura 4.12 é possível comparar um mesmo sinal em duas configurações de visualização diferentes (linear e logarítmica) no eixo vertical. Observa-se que na escala linear diversas características do sinal são suprimidas, enquanto na escala logarítmica tais informações são realçadas e podem então ser observadas.

Também é possível notar que mesmo utilizando filtros de corte para frequências acima de 10 Hz na entrada da placa de aquisição, resíduos de 60 Hz e de altas frequências ainda permanecem no sinal. Isto se deve em grande parte à interferência da rede elétrica na entrada do conversor analógico digital (ADC) da placa DAQ, e ao ruído de amostragem que o próprio dispositivo de aquisição gera. Isto significa dizer que o VI não elimina problemas de *hardware*, apesar de oferecer inúmeras possibilidades de controle do *hardware* do *setup* e de diversas ferramentas de *software* para a resolução de problemas nos sinais de interesse. Os ruídos citados acima são passíveis de remoção, bastando para isso a aplicação de filtros digitais, conforme observado nas Figuras 4.13, 4.14 e 4.15.

5.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS E TRABALHOS FUTUROS

Todo o desenvolvimento dos sistemas de controle, aquisição e estimulação do VI, apresentado na seção 4.1, foi orientado de modo a maximizar a flexibilidade no uso e a generalidade nas aplicações. Quando comparado aos diversos sistemas descritos na literatura (LAGUNA *et al.*, 2011; MANRESA *et al.*, 2010; MASHBURN *et al.*, 2007; MYERS *et al.*, 2011; ROBINSON *et al.*, 2002; SHIGANG *et al.*, 2010), o VI desenvolvido se diferencia dos demais por não ser específico para uma dada aplicação e sim para uma utilização mais genérica possível no campo da estimulação e aquisição de sinais de preparações biológicas.

O sistema também promove um ambiente único ao usuário, no qual ele pode captar, processar e controlar os dados de um *setup* experimental, evitando assim os erros decorrentes da transposição dos dados de um sistema para outro.

Outra característica que merece destaque é que o VI desenvolvido pode ser continuamente expandido e aprimorado, aumentando a sua generalidade para outras situações experimentais. Ainda são necessários mais testes com outras preparações biológicas para aprimoramento do sistema e expansão das suas potencialidades, conforme um novo ambiente de aplicação. Para tanto, podem ser acrescentados módulos ao VI sem que seja necessária a sua reconstrução, utilizando o sistema atual como ferramenta-base de desenvolvimento, uma vez que a metodologia empregada na construção possibilita o seu reaproveitamento. Assim, novas ferramentas de análise e controle podem ser desenvolvidas, para aplicações em tempo real ou pós-processamento, tais como: sistema de *curve fitting* (ajuste de curvas), módulo para teste de hipóteses, sistema de *clamp* ou um sistema de aquisição e processamento de imagem integrado ao sistema de estimulação.

A interação com outros grupos de pesquisa possibilitará conhecer outras demandas e dispositivos de *hardware*, em uma evolução constante do VI desenvolvido, de maneira a torná-lo ainda mais útil e universal.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi proposto desenvolver um instrumento virtual capaz de gerar estímulos, adquirir e processar os sinais decorrentes dos estímulos em preparações biológicas, em uma única ferramenta integrada que ofereça o máximo de flexibilidade e generalidade.

O sistema desenvolvido se mostrou capaz de adquirir diversos sinais fidedignos de um gerador de funções, nos quais foi possível aplicar todas as ferramentas de análise desenvolvidas no projeto. O VI desenvolvido mostrou-se também capaz de controlar a geração e aplicação de estímulos (pulsos de ultrassom de potência) em corações de ratos extraídos, tornando possível automatizar todo o protocolo experimental de estimulação e adquirir todos os sinais (temperatura e força) da preparação de forma síncrona ao estímulo. Adicionalmente, o sistema de aquisição foi testado na captura do sinal elétrico do átrio direito isolado de um coração de rato, mostrando assim a flexibilidade quanto às diferentes características das preparações biológicas.

O VI desenvolvido apresenta características de expansibilidade e versatilidade na incorporação de novas funcionalidades, o que permite aumentar ainda mais a sua utilização nos ambientes de pesquisa experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIF, M.; COWELL, D.M.J.; FREEAR, S. Pulse compression of harmonic chirp signals using the fractional Fourier Transform. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 36, n. 6, p. 949-956, 2010. ISSN 0301-5629.

BAYLY, E.J. Spectral analysis of pulse frequency modulation in the nervous systems. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. BME-15, n. 4, p. 257-265, 1968. ISSN 0018-9294.

BERNSTEIN, S.; BERNSTEIN, R. **Schaum's Outline of Elements of Statistics I: Descriptive Statistics and Probability**. McGraw-Hill Education, 1998. ISBN 9780070050235.

BOSI, E.; CONTI, M.; VERMIGLI, C.; CAZZETTA, G.; PERETTI, E.; CORDONI, M.C.; GALIMBERTI, G.; SCIONTI, L. Effectiveness of frequency-modulated electromagnetic neural stimulation in the treatment of painful diabetic neuropathy. **Diabetologia**, v. 48, n. 5, p. 817-823, 2005. ISSN 0012-186X.

CHEN, C.-C.; JOHNSON, M.I. An investigation into the effects of frequency-modulated Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on experimentally-induced pressure pain in healthy human participants. **Journa of Pain**, v. 10, n. 10, p. 1029-1037, 2009. ISSN 1526-5900.

COBBOLD, R.S.C. **Transducers for biomedical measurements: principles and applications**. Wiley, 1974. ISBN 9780471161455.

COIADO, O.C. (2012). **Efeitos do Ultrassom de Potência sobre o coração: Experimentos *in vitro* e *in vivo***. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, Unicamp, Campinas, SP, Brasil

COOLEY, J.W.; TUKEY, J.W. An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series. **Mathematics of Computation**, v. 19, n. 90, p. 297-301, 1965. ISSN 00255718.

DAU, T.; WEGNER, O.; MELLERT, V.; KOLLMEIER, B. Auditory brainstem responses with optimized chirp signals compensating basilar-membrane dispersion. **Journal of the Acoustical Society of America.**, v. 107, n. 3, p. 1530-1540, 2000. ISSN 0001-4966.

DAYTON, P.A.; PEARSON, D.; CLARK, J.; SIMON, S.; SCHUMANN, P.A.; ZUTSHI, R.; MATSUNAGA, T.O.; FERRARA, K.W. Ultrasonic analysis of peptide- and antibody-targeted microbubble contrast agents for molecular imaging of

alphavbeta3-expressing cells. **Molecular Imaging**, v. 3, n. 2, p. 125-134, 2004. ISSN 1535-3508.

DURDEN, W.P.; EREN, H. **Process control and optimization**. Boca Raton: CRC, Taylor & Francis, 2006. ISBN: 9780849310812.

DYTHAM, C. **Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide**. John Wiley & Sons, 2011. ISBN 9781405198387.

ECKERSLEY, R.J.; CHIN, C.T.; BURNS, P.N. Optimising phase and amplitude modulation schemes for imaging microbubble contrast agents at low acoustic power. **Ultrasound in Medicine & Biology**, v. 31, n. 2, p. 213-219, 2005. ISSN 0301-5629.

EICKENSCHIEDT, M.; JENKNER, M.; THEWES, R.; FROMHERZ, P.; ZECK, G. Electrical stimulation of retinal neurons in epiretinal and subretinal configuration using a multicapacitor array. **Journal of Neurophysiology**, v. 107, n. 10, p. 2742-2755, 2012. ISSN 0022-3077.

ELLIOTT, C.; VIJAYAKUMAR, V.; ZINK, W.; HANSEN, R. National Instruments LabVIEW: A Programming Environment for Laboratory Automation and Measurement. **Journal of the Association for Laboratory Automation**, v. 12, n. 1, p. 17-24, February 1, 2007. ISSN 1540-2452 Disponível em: < <http://jla.sagepub.com/content/12/1/17.abstract> >. Acesso em: 15 ago. 2011.

FERRARA, K.W.; MOTTLEY, J.G.; GOLDBERG, R.L.; SMITH, S.W. Ultrasound. In: BRONZINO, J. D. (Ed.). **The Biomedical Engineering Handbook, Second Edition. 2 Volume Set**: CRC Press, 1999. cap. 65, (Electrical Engineering Handbook). ISBN 978-0-8493-8594-0.

GOLDBERG, H. What is virtual instrumentation? **IEEE Instrumentation Measurement Magazine**, v. 3, n. 4, p. 10-13, 2000. ISSN: 1094-6969.

HANSMAN, R.J. **The Measurement, Instrumentation and Sensors Handbook**. Boca Raton: CRC Press, 1999.

HARRIS, F.J. On the use of windows for harmonic analysis with the discrete Fourier transform. **Proceedings of the IEEE**, v. 66, n. 1, p. 51-83, 1978. ISSN 0018-9219.

HYNDMAN, R.J.; FAN, Y. Sample Quantiles in Statistical Packages. **The American Statistician**, v. 50, n. 4, p. 361-365, 1996. ISSN 0003-1305. Disponível em: < <http://www.jstor.org/stable/2684934> >. Acesso em: 20 Dez. 2012.

JEROME, J. **Virtual Instrumentation Using Labview**. New Delhi: PHI Learning Pvt. Ltd., 2010. ISBN 9788120340305.

KAY, S.M.; MARPLE JR., S.L., Spectrum analysis- A modern perspective. **Proceedings of the IEEE**, v. 69, n. 11, p. 1380-1419, 1981. ISSN 0018-9219.

KENNY, D.A. **Statistics for the Social and Behavioral Sciences**. Little, Brown, 1987. ISBN 9780316489157.

LAGUNA, Z.V.; CARDIEL, E.; GARAY, L.I.; HERNANDEZ, P.R. Electrical stimulator for surface nerve stimulation by using modulated pulses. **Pan American Health Care Exchanges (PAHCE)**. March 28 2011-April 1 2011. p.77-82.

LOVIE, P. Coefficient of Variation. In: (Ed.). **Encyclopedia of Statistics in Behavioral Science**: John Wiley & Sons, Ltd, 2005. ISBN 9780470013199.

LYONS, R.G. **Understanding Digital Signal Processing**. Prentice Hall, 2010. ISBN 9780132119375.

MANNION, A.F. CONNOLLY, B.; WOOD, K.; DOLAN, P. The use of surface EMG power spectral analysis in the evaluation of back muscle function. **Journal of Rehabilitation Research and Development Development**, v. 34, n. 4, p. 427-439, 1997.

MANRESA, J.A.B.; HANSEN, J.; ANDERSEN, O.K. Development of a data acquisition and analysis system for nociceptive withdrawal reflex and reflex receptive fields in humans. **Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)**. Aug. 31 2010-Sept. 4 2010. p.6619-6624.

MASHBURN, D.N. HINKSON, S.J.; WOODS, M.C.; GILLIGAN, J.M.; HOLCOMB, M.R.; WIKSWO, J.P. A high-voltage cardiac stimulator for field shocks of a whole heart in a bath. **Review of Scientific Instruments**, v. 78, n. 10, p. 104302, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1063/1.2796832> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

MATHIVANAN, N. **PC-based Instrumentation: Concepts and Practice**. Prentice-Hall of India Pvt.Ltd, 2007. ISBN: 8120330765.

MIDDLEBROOKS, J.C. Auditory cortex phase locking to amplitude-modulated cochlear implant pulse trains. **Journal of Neurophysiol**, v. 100, n. 1, p. 76-91, Jul 2008. ISSN 0022-3077. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18367697> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

MIN, M.; PAAVLE, T.; OJARAND, J. Time-frequency analysis of biological matter using short-time chirp excitation. **20th European Conference on Circuit Theory and Design (ECCTD)**. 29-31 Aug. 2011. p.298-301.

MYERS, F.B.; ABILEZ, O.J.; ZARINS, C.K.; LEE, L.P. Stimulation and artifact-free extracellular electrophysiological recording of cells in suspension. **Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC**. Aug. 30 2011-Sept. 3 2011. p.4030-4033.

NADI, M. **Fundamentals of Instrumentation and Measurement**. London: ISTE Ltd, 2007. ISBN: 1905209398.

NATIONAL INSTRUMENTS. **LabVIEW Analysis Concepts Handbook**. March 2004. Disponível em: < <http://www.ni.com/pdf/manuals/370192c.pdf> >. Acesso em: 15 Ago. 2011.

NATIONAL INSTRUMENTS. **Characteristic Statistical Values in DIAdem** 2011. Disponível em: < http://zone.ni.com/reference/en-XX/help/370859J-01/genmaths/genmaths/calc_statistics/ >. Acesso em 20 Dez. 2012.

NIST/SEMATECH. **NIST/SEMATECH e-Handbook of Statistical Methods** 2012. Disponível em: < <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/> >. Acesso em 20 Dez. 2012.

NORRIS, C.S.; BARNES, R.W. Renal artery flow velocity analysis: a sensitive measure of experimental and clinical renovascular resistance. **Journal of Surgical Research**, v. 36, n. 3, p. 230-236, 1984. ISSN 0022-4804. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022480484900921> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

ORIZIO, C.; PERINI, R.; DIEMONT, B.; MARANZANA-FIGINI, M.; VEICSTEINAS, A. Spectral analysis of muscular sound during isometric contraction of biceps brachii. **Journal of Applied Physiology**, v. 68, n. 2, p. 508-512, February 1, 1990. Disponível em: < <http://jap.physiology.org/content/68/2/508.abstract> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; GUZZETTI, S.; RIMOLDI, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDRONE, G.; MALFATTO, G.; DELL'ORTO, S.; PICCALUGA, E. Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. **Circulation Research**, v. 59, n. 2, p. 178-93, August 1, 1986 1986. Disponível em: < <http://circres.ahajournals.org/content/59/2/178.abstract> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

PARK, J.; MACKAY, S. **Practical data acquisition for instrumentation and control systems**. Elsevier, 2003. ISBN: 9780750657969.

PECKHAM, P.; PRIMOZ, S. Implantable Stimulators for Neuromuscular Control. In: BRONZINO, J. D. (Ed.). **The Biomedical Engineering Handbook, Second Edition. 2 Volume Set**: CRC Press, 1999. cap. 78, (Electrical Engineering Handbook). ISBN 978-0-8493-8594-0.

PINNA, G.D.; MAESTRI, R.; CESARE, A. Application of time series spectral analysis theory: analysis of cardiovascular variability signals. **Medical and Biological Engineering and Computing**, v. 34, n. 2, p. 142-148, 1996/03/01 1996. ISSN 0140-0118. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/BF02520019> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

ROBINSON, A.A.; SURESH, S.S.G.; ALOI, D.J.; FORTIN, D.A.; BLAISE, J.H.; BRONZINO, J.D. A GUI software suite for data acquisition and analysis of evoked field potentials: applications in biomedical and electrophysiological research. **Proceedings of the IEEE 28th Annual Northeast Bioengineering Conference**, 2002. p.123-124.

SHIGANG, C. XIONG, S.; GENGHUANG, Y.; LI, Z. Design and implementation of a virtual instrumentation based brain-computer interface. **Third International Workshop on Advanced Computational Intelligence (IWACI)**, 2010. 25-27 Aug. 2010. p.116-121.

SOMMERVILLE, I. **Software Engineering**. USA: Addison-Wesley Publishing Company, 2007. ISBN 9780321493750.

SPIEGEL, M.; STEPHENS, L. **Schaum's Outline of Statistics**. McGraw-Hill Companies, Incorporated, 2007. ISBN 9780071485845.

SUMATHI, S.; SUREKHA, P. **LabVIEW based Advanced Instrumentation Systems**. Springer Publishing Company, Incorporated, 2007. ISBN: 3540485007

SUN, J.; LINDVERE, L.; DORR, A.; VAN RAAIJ, M.; STEFANOVIC, B.; FOSTER, S. Functional imaging of the rat brain with micro-ultrasound. **IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)**. 20-23 Sept. 2009. p.325-328.

TOMLINSON, R.D.; SAUNDERS, G.E.; SCHWARZ, D.W.F. Analysis of Human Vestibulo-Ocular Reflex During Active Head Movements. **Acta Oto-laryngologica**, v. 90, n. 1-6, p. 184-190, 1980. Disponível em: < <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/00016488009131714> >. Acesso em: 25 Set. 2012.

UDDIN, S.Z.; CHENG, J.; LIN, W; QIN, Y. Low-Intensity Amplitude Modulated Ultrasound Increases Osteoblastic Mineralization. **Cellular and Molecular Bioengineering**, v. 4, n. 1, p. 81-90, 2011. ISSN 1865-5025. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12195-010-0153-8> >. Acesso em: 06 Dez. 2012.

URBAN, M.W.; FATEMI, M.; GREENLEAF, J.F. Modulation of ultrasound to produce multifrequency radiation force. **Journal of the Acoustical Society of America**, v. 127, n. 3, p. 1228-38, Mar 2010. ISSN 1520-8524. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20329821> >. Acesso em: 26 Set. 2012.

WAGENAAR, D.; DEMARSE, T.B.; POTTER, S.M. MeaBench: A toolset for multi-electrode data acquisition and on-line analysis. **2nd International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering Conference Proceedings**. 16-19 March 2005. p.518-521.

WEISS, N.A. **Introductory Statistics**. 9th. Boston, MA: Pearson Education, 2012. ISBN 9780321691224.

WILCOX, R.R. **Basic Statistics: Understanding Conventional Methods and Modern Insights: Understanding Conventional Methods and Modern Insights**. Oxford University Press, USA, 2009. ISBN 9780195315103.

Apêndice

APÊNDICE

Este apêndice apresenta as equações dos cálculos estatísticos implementados no VI que, por questão de praticidade, foram omitidas do texto principal.

Medidas de Localização

Valor Médio

O valor médio é um dos parâmetros mais utilizados na descrição da localização de uma distribuição de dados. O sistema conta com quatro tipos de cálculo para valor médio: média aritmética, média geométrica, média quadrática RMS e média harmônica (BERNSTEIN e BERNSTEIN, 1998; NIST/SEMATECH, 2012; SPIEGEL e STEPHENS, 2007).

A média aritmética é dada pela soma dos pontos da distribuição dividida pela quantidade de pontos, conforme a equação A.1:

$$\bar{Y} = \sum_{i=1}^N Y_i / N \quad \text{A.1}$$

Já a média geométrica é dada pela N -ésima raiz dos produtos dos N pontos de uma distribuição, conforme a equação A.2:

$$G = \sqrt[N]{\prod_{i=1}^N Y_i} \quad \text{A.2}$$

Para a média quadrática de uma distribuição, temos que o seu valor será a raiz quadrada da média aritmética do quadrado dos pontos de uma distribuição, conforme pode ser observado na equação A.3:

$$RMS = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N Y_i^2} \quad \text{A.3}$$

Conforme a equação A.4, a média harmônica é dada pelo recíproco da média aritmética dos recíprocos dos pontos de uma distribuição.

$$H = \frac{1}{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{Y_i}} \quad \text{A.4}$$

Mediana

A mediana é um valor que separa a metade inferior da metade superior de uma distribuição, ou seja, metade da distribuição possui valor inferior e a outra metade valor superior à mediana (NIST/SEMATECH, 2012). Dada uma distribuição aleatória de dados, e uma vez ordenada, a mediana pode ser definida como:

$$\begin{aligned} \tilde{Y} &= Y_{(N+1)/2} \quad \text{Se } N \text{ é ímpar} \\ \tilde{Y} &= (Y_{N/2} + Y_{(N/2)+1})/2 \quad \text{Se } N \text{ é par} \end{aligned} \quad \text{A.5} \quad \textbf{Quartil}$$

Assim como a mediana divide um conjunto de dados ao meio, se este conjunto de dados for dividido em quatro partes, cada uma delas é definida como quartil. O primeiro quartil (Q1) contém os 25% menores valores; o segundo quartil (Q2) divide a distribuição em 50% (e equivale à mediana); o terceiro quartil (Q3) divide em 25% a distribuição com os maiores valores (HYNDMAN e FAN, 1996; SPIEGEL e STEPHENS, 2007).

Medidas de Dispersão

Desvio Absoluto Médio e Mediano

As medidas de desvio absoluto médio e mediano são caracterizadas por não elevarem ao quadrado a distância da média, para o caso do desvio absoluto médio, ou a distância da mediana, para o caso do desvio absoluto mediano. Assim, valores extremos não afetam tanto a medida quanto as medidas de variância e desvio padrão (NIST/SEMATECH, 2012). Observa-se também que tais medidas podem ser utilizadas quando um conjunto de dados possui uma variância infinita (NATIONAL INSTRUMENTS, 2011). Os cálculos do desvio absoluto médio e mediano são apresentados nas equações A.6 e A.7, respectivamente.

$$\text{Desvio Absoluto Médio} = \sum_{i=1}^N (|Y_i - \bar{Y}|) / N \quad \text{A.6}$$

$$\text{Desvio Absoluto Mediano} = \sum_{i=1}^N (|Y_i - \tilde{Y}|) / N \quad \text{A.7}$$

Desvio Padrão, Erro Padrão e Variância

O desvio padrão é uma das medidas mais comuns para cálculo de dispersão, e indica o quanto as amostras de uma distribuição estão distantes da média (WEISS, 2012). Desta forma, o desvio padrão pode ser descrito pela equação A.8 como:

$$s = \sqrt{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2 / (N - 1)} \quad \text{A.8}$$

Para o erro padrão tem-se que sua definição é dada pela divisão do desvio padrão pela raiz quadrada do número de amostras de uma distribuição, conforme pode ser observado na equação A.9.

$$sd = \frac{s}{\sqrt{N}} \quad \text{A.9}$$

Assim como o cálculo de desvio padrão, o cálculo de variância é bastante comum, bastando para isso elevar o desvio padrão ao quadrado, conforme a equação A.10. A variância também é bastante afetada por *outliers* (valores muito pequenos ou muito grandes em uma distribuição), uma vez que os cálculos para ambas as medidas elevam os desvios da média ao quadrado (KENNY, 1987).

$$s^2 = \sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2 / (N - 1) \quad \text{A.10}$$

Coefficiente de Variação e de Variação Relativo

O coeficiente de variação é definido como a razão entre o desvio padrão de um conjunto de dados e sua média aritmética, na qual independe da unidade e da magnitude dos dados (LOVIE, 2005), equação A.11:

$$C_v = \frac{s}{\bar{Y}} \quad \text{A.11}$$

Para o coeficiente de variação relativo, divide-se o coeficiente de variação pela raiz quadrada do número de amostras (NATIONAL INSTRUMENTS, 2011), conforme a equação A.12:

$$C_{vr} = \frac{C_v}{\sqrt{N-1}} \quad \text{A.12}$$

Amplitude e Distância Interquartil

A amplitude de uma distribuição de dados é uma simples medida de variabilidade e é dada pela diferença entre os valores extremos, conforme equação:

$$Amplitude = Max(Y) - Min(Y) \quad \text{A.13}$$

A distância interquartil (equação A.14) é uma medida de variabilidade para valores localizados centralmente, e é dada pela diferença entre o terceiro e o primeiro quartis (WILCOX, 2009).

$$Q = Q_3 - Q_1 \quad \text{A.14}$$

Medidas de Assimetria e Curtose

Assimetria

Esta é uma medida de simetria para a distribuição de um conjunto de dados em torno do seu valor médio (DYTHAM, 2011). Para uma distribuição normal o valor de assimetria é zero. Assim, uma distribuição pode possuir assimetria à direita (valores positivos) ou à esquerda (valores negativos). O cálculo de assimetria é definido pela equação A.15:

$$Assimetria = \frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^3}{(N-1)s^3} \quad A.15$$

Curtose

A medida de curtose quantifica o ‘achatamento’ de uma distribuição, informando o quanto esta distribuição se compara (ou se distancia) de uma distribuição normal (DYTHAM, 2011). Seu cálculo é definido pela equação A.16:

$$Curtose = \frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^4}{(N-1)s^4} \quad A.16$$