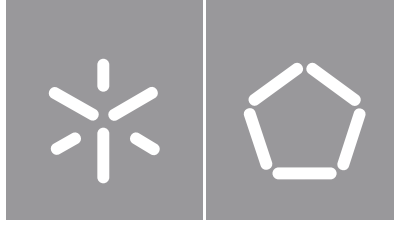




Universidade do Minho
Escola de Engenharia

João Pedro Carvalho Fernandes

**Técnicas de Medição de Oximetria e
Batimento Cardíaco em Animais Marinhos**



Universidade do Minho

Escola de Engenharia

João Pedro Carvalho Fernandes

**Técnicas de Medição de Oximetria e
Batimento Cardíaco em Animais Marinhos**

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Engenharia Eletrónica Industrial e
Computadores
Instrumentação e Microssistemas Eletrónicos

Trabalho efetuado sob a orientação do
Professor Doutor Luís Gonçalves

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações
CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Universidade do Minho, 30/06/2022

Assinatura: 

Este trabalho foi cofinanciado por fundos nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e Tecnologia no âmbito do Projeto de Investigação “ASTRIIS .: Atlantic Sustainability Through Remote and Integrated In-situ Solutions, ref.: POCI-01-0247-FEDER-046092,cofinanciado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional –FEDER, através do SI&IDT Programas Mobilizadores, Programa Operacional de Competitividade e Internacionalização (POCI) -COMPETE 2020, do Portugal 2020,tendo como Organismo Intermédio de acompanhamento à realização do investimento, a Agência Nacional de Inovação –ANI

Agradecimentos

A presente dissertação de mestrado só foi possível devido ao apoio de todos, que de uma maneira ou de outra, ajudaram na realização desta fase da minha vida académica.

Quero começar por agradecer aos meus pais por todo, o aconselhamento, carinho e apoio sem nunca em nenhum momento duvidarem de mim apoiando sempre as minhas decisões e às minhas irmãs Andreia e Marisa pela disponibilidade e companheirismo em todos os minutos da minha vida.

Ao orientador, Professor Doutor Luís Gonçalves, queria agradecer todo o apoio, conhecimento e fascínio pela eletrónica conseguindo cativar um mero estudante a gostar e querer saber sempre mais da área.

Aos amigos que a Universidade do Minho me trouxe por todos os momentos que passamos juntos desde as longas noites de diversão às longas noites de estudo passadas na biblioteca com um carinho especial ao Xico, Piggy, Lidl, Dimitri, Merkel, Rocky, Tecnão e Ponto em suma a todos com quem partilhei imensas memórias que jamais serão esquecidas.

À Bruna aquela que me atura todos os dias quer nos momentos felizes que nos momentos mais tristes um carinho especial a ti que seja mais uma conquista das muitas que teremos de alcançar ao longo da vida.

Aos colegas de laboratório quero agradecer por todo o apoio naquelas dúvidas que surgiam a meio da tarde e por toda a demonstrada naqueles dias em que nada funcionava principalmente ao João e à Maria.

Por fim a todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram na realização desta dissertação.

O meu sincero obrigado

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Universidade do Minho, 30/06/2022

Assinatura 

Resumo

O planeta está numa mutação constante. A temperatura está a aumentar, os glaciares estão a derreter, a poluição está a acumular-se nos mares e nos organismos marinhos. Sendo que as respostas dos animais marinhos são as mais difíceis de se entender e explicar, ao contrário das mais fáceis de se observar, como atrasos migratórios ou a não migração sugerindo mudanças extremas nos seus habitats. Monitorizar animais marinhos é um desafio, por um lado existe uma necessidade de adquirir, armazenar e transmitir os dados do oceano em dispositivos não invasivos, por outro lado, estes sistemas têm de conseguir suportar o ambiente hostil do oceano durante períodos longos de funcionamento sem existir falhas. Alguns dispositivos de monitorização estão disponíveis principalmente para rastreamento de alguns animais marinhos, no entanto, a monitorização de parâmetros fisiológicos destes seres (por exemplo, oxigenação e batimento cardíaco) é ainda uma visão futura para grande parte dos biólogos oceanográficos, o que irá permitir, descobrir grandes mistérios que os biólogos não conseguem explicar até os dias de hoje.

Com o supracitado em mente, pretende-se utilizar técnicas existentes para a medição de oximetria e batimento cardíaco em humanos e realizar as devidas adaptações para a utilização em animais marinhos.

A presente dissertação é uma tentativa para colmatar estes problemas, através da realização de um sensor transmissivo de oximetria e batimento cardíaco. Este, foi realizado para otimizar a sua sensibilidade utilizando técnicas de amplificação *LOCK-IN* sendo que não foi encontrado nenhum tipo de oxímetro com esta tecnologia na literatura. O sensor desenvolvido foi realizado para durar 10 dias em modo de medição não contínua. Sendo que a sua gama de leitura de batimentos cardíacos é entre 30 até 300 batimentos por minuto sendo considerado o suficiente para o protótipo em questão.

Palavras-Chave: Amplificador *LOCK-IN*, Animais marinhos, Batimento Cardíaco, Oximetria

Abstract

The planet is in constant mutation, and it is heating up, glaciers are melting, and pollution is accumulating in the seas and marine organisms. Since the responses of marine animals are the most difficult to understand and explain, however, the easiest to observe, such as migratory delays or non-migration suggest extreme changes in their habitats. Monitoring marine animals is a challenge, on the one hand, there is a need to acquire, store and transmit ocean data in non-invasive devices, on the other hand, these systems must be able to withstand the harsh environment of the ocean for long periods of operation without failure. Some monitoring devices are available mainly for tracking some marine animals, however, the monitoring of physiological parameters of these beings (for example, oxygenation and heartbeat) is still a future vision for most oceanographic biologists. Allowing us to discover great mysteries that biologists are unable to explain to this day.

With the above in mind, it is intended to use existing techniques for measuring oximetry and heart rate in humans and make the necessary adaptations for use in marine animals.

The present dissertation is an attempt to overcome these problems, the realization of a transmissive sensor for oximetry and heart rate. This was performed to optimize its sensitivity using LOCK-IN amplification techniques, no type of oximeter with this type of technology was found in the literature. The developed sensor was made to last 10 days in non-continuous measurement mode, and its heart rate reading range between 30 to 300 beats per minute is considered sufficient for the prototype in question.

Keywords: Heartbeat, LOCK-IN Amplifier, Marine animals, Oximetry

Índice

Agradecimentos.....	iv
Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Índice de Figuras.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ACRÓNIMOS E ELEMENTOS QUÍMICOS	xiv
1. Introdução	1
1.1 Enquadramento	1
1.2 Oxigenação sanguínea.....	1
1.3 Breve história do oxímetro de pulso.	3
1.4 Motivação	5
1.5 Objetivos.....	6
1.6 Organização da dissertação.....	6
2. Revisão da literatura.....	8
2.1 Métodos de análise de oximetria invasivos	8
2.1.1 Métodos colorimétricos.....	8
2.1.2 Métodos químicos	8
2.1.3 Espectrofotometria	9
2.2 Método não invasivo, Fotopletismografia	9
2.3 Fotopletismograma e aquisição de sinais vitais	9
2.4 Curvas de calibração do oxímetro de pulso	11
2.5 Funcionamento do oxímetro de pulso	13
2.6 Oxímetros comerciais	14
2.7 Limitações do uso do oxímetro de pulso	15
2.8 Utilização de oxímetros em animais.....	16

2.9	Raias	17
3.	Análise e desenho do protótipo.....	20
3.1	Requisitos funcionais e não funcionais do sistema	20
3.2	Arquitetura do protótipo desenvolvido	20
3.2.1	Aquisição de sinal.....	22
3.2.2	Amplificação LOCK-IN.....	23
3.2.3	Filtros analógicos.....	25
4.	Testes e Desenvolvimento de Hardware.....	27
4.1	Projeto de Hardware.....	27
4.1.1	LED.....	27
4.1.2	Fotodíodo	28
4.1.3	Amplificador operacional.....	28
4.1.4	Amplificador de transimpedância	29
4.1.5	Amplificador LOCK-IN	31
4.1.6	Filtros analógicos.....	33
4.1.7	Regulador de tensão	36
4.1.8	Bateria	37
4.2	Etapas realizadas	38
4.3	Teste ao sistema de aquisição de sinal	41
4.4	Consumos teóricos e consumos reais.....	44
5.	Testes em ambiente controlado.....	46
5.1	Testes em Humanos	46
5.2	Testes Raias.....	52
6.	Conclusões e Trabalho Futuro	57
6.1	Conclusões	57
6.2	Trabalho Futuro	58

7. BIBLIOGRAFIA..... 60

Índice de Figuras

Figura 1.1 Imagem representativa da oxigenação sanguínea.	2
Figura 2.1 Representação de um fotopleletismograma e uma comparação com o ritmo cardíaco adaptado de [16].	10
Figura 2.2 Taxa de absorção Molar em relação ao comprimento de onda adaptado de [19].	11
Figura 2.3 Fotopleletismograma adaptado de [21].	12
Figura 2.4 Curva de calibração adaptado de [3].	13
Figura 2.5 Imagem representativa do funcionamento do oxímetro de pulso.	13
Figura 2.6 Sensor de batimento cardíaco e temperatura.	14
Figura 2.7 Oxímetros comerciais.	15
Figura 2.8 Aplicação de oximetria em animais adaptado de [26].	16
Figura 2.9 Fisionomia das Raias adaptado de [27][28].	17
Figura 2.10 Desenho de Raia de altura adaptado de [28] e espécime capturado.	18
Figura 2.11 desenho de raia curva adaptada de [29] e imagem do espécime estudado.	19
Figura 3.1 Imagem representativa de todo o sistema a desenvolver.	21
Figura 3.2 Diagrama de blocos do sistema a desenvolver.	22
Figura 3.3 Circuito do LED.	23
Figura 3.4 Circuito de transimpedância.	23
Figura 3.5 – PIN-OUT ADA2200.	24
Figura 3.6 Diagramas de bode dos Filtros Passa Baixo.	25
Figura 3.7 Diagrama de Bode filtro passa-banda.	25
Figura 4.1 Chip e PIN-OUT do MCP6291	29
Figura 4.2 Diagrama de bode do circuito de transimpedância.	30
Figura 4.3 placa de desenvolvimento e chip utilizado.	31
Figura 4.4 Vários subsistemas do amplificador LOCK-IN.	31
Figura 4.5 Zona amarela do LOCK-IN.	32
Figura 4.6 Região laranja do LOCK-IN.	32
Figura 4.7 Pulso do LED fornecido pelo LOCK-IN.	33
Figura 4.8 Esquemático dos filtros desenvolvidos.	33
Figura 4.9 Filtro Sallen Key de 3ª ordem.	34
Figura 4.10 Filtro Sallen Key de 2ª ordem.	35
Figura 4.11 Filtro passa-banda.	35

Figura 4.12 Esquemático do circuito do regulador e PIN-OUT.....	36
Figura 4.13 Bateria utilizada no protótipo.....	38
Figura 4.14 BreadBoard, Veroboard e PCB respetivamente.....	38
Figura 4.15 VeroBoard de testes.....	39
Figura 4.16 Esquemático da PCB realizada.....	39
Figura 4.17 Camada em 2D e em 3D.....	40
Figura 4.18 Diferença da PCB com e sem componentes soldados.....	40
Figura 4.19 CLOCK IN e pulso do LED.....	41
Figura 4.20 Teste ao circuito de transimpedância.....	42
Figura 4.21 Saída do amplificador LOCK-IN.....	43
Figura 4.22 Sinal pletismográfico retirado da literatura adaptado de [30] e sinal pletismográfico de laboratório.....	43
Figura 5.1 LED infravermelho e LED vermelho respetivamente a escala de tensão é diferente.....	46
Figura 5.2 Montagem das duas PCB.....	47
Figura 5.3 Resultado do teste com os dois LED.....	47
Figura 5.4 Resultado do teste em Excel.....	48
Figura 5.5 Sinais sobrepostos em Excel com aplicação do filtro média.....	48
Figura 5.6 Fotodíodo testado e fotodíodo utilizado.....	49
Figura 5.7 Pinça adaptada aos diferentes testes.....	49
Figura 5.8 Fotodíodo da HAMAMATSU VS fotodíodo utilizado.....	50
Figura 5.9 1 LED comparado com 3 LED.....	51
Figura 5.10 Testes realizados a voluntários.....	51
Figura 5.11 Contentor de armazenamento da raia.....	52
Figura 5.12 Montagem realizada no primeiro teste.....	53
Figura 5.13 Resultado do primeiro teste realizado.....	53
Figura 5.14 Protótipo adaptado para os testes.....	54
Figura 5.15 Teste realizado na raia viva.....	54
Figura 5.16 Teste com resultado erróneo na raia.....	55
Figura 5.17 Teste com semelhança ao resultado obtido em humanos.....	55
Figura 5.18 Teste ampliado em local de interesse.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 Requisitos funcionais e não funcionais do protótipo.....	20
Tabela 4.1 Consumos teóricos dos componentes.....	37
Tabela 4.2 Consumo real e consumo teórico	44

LISTA DE ACRÓNIMOS E ELEMENTOS QUÍMICOS

AC	Corrente alternada.
BPM	Batimentos por Minuto.
CO_2	Dióxido de Carbono.
DC	Corrente Continua.
EEPROM	Electrically Erasable Programmable Read-Only Memory.
ECG	Eletrocardiograma.
<i>Hb</i>	Hemoglobina.
$HbCO_2$	Hemoglobina Desoxigenada.
HbO_2	Hemoglobina Oxigenada.
I2C	Inter-Integrated Circuit.
LED	Light Emitting Diode.
O_2	Dioxigênio
PCB	Printed Circuit Board.
R	Rácio de Rácios.
SPI	Serial Peripheral Interface.
SpO_2	Saturação de Oxigênio

1. Introdução

Neste capítulo é contextualizado o enquadramento da dissertação, onde se demonstra a necessidade de sensores para obtenção de oximetria e ritmo cardíaco em animais marinhos. Definem-se resumidamente os objetivos propostos e a motivação para os alcançar. O capítulo finaliza com a organização temática de toda a dissertação.

1.1 Enquadramento

O clima do planeta está a ser alterado a uma velocidade sem precedentes. O planeta está a aquecer, o gelo dos glaciares está a quebrar, o nível da água do mar está a subir e os resíduos poluentes estão a acumular-se nos ecossistemas e nos organismos marítimos[1].

As respostas dos animais marinhos às mudanças climáticas são as mais difíceis de entender, mas, por outro lado, as mais evidentes. A leste do Pacífico Norte, estão a surgir evidências de que as baleias cinzentas estão a atrasar a migração para o sul e algumas até permanecem nas águas polares durante o inverno. Isto, sugere uma mudança extrema nas calotes polares[1].

Por exemplo, a infraordem dos cetáceos esta a ser ameaçada por muitos fatores tais como caça furtiva, consumo, desporto, caça acidental (por exemplo acidentalmente quando os navios de pesca perdem as suas redes), perda de alimento devido à pesca, captura para exibição, investigação e por fim a degradação do *habitat* destes seres, quer pela poluição industrial, plásticos, químicos quer pela exposição a biotoxinas e alterações climáticas[2]. É uma necessidade conhecer melhor os fenómenos biológicos associados aos seres marinhos para se perceber como estas alterações os estão a afetar.

1.2 Oxigenação sanguínea

O oxigénio no sangue é o elemento em torno do qual gira a técnica da oximetria e é indispensável para a vida dos seres vivos. Sem ele, os processos de respiração e metabolismo dos organismos aeróbicos, estariam comprometidos. Assim, a Oximetria é o procedimento utilizado para medir a quantidade de oxigénio que é transportado no sangue[3].

O químico francês Antoine-Laurent de Lavoisier em 1778, descobriu o oxigénio e transmitiu a ideia de que a respiração animal se equiva a uma combustão lenta. O carbono presente na matéria orgânica do tecido converte-se em dióxido de carbono quando o oxigénio é consumido. Apesar de ser um processo um pouco mais complexo, consegue-se relacionar a um processo de combustão lenta[4].

Para se falar da oxigenação sanguínea, tem de se falar acerca de uma proteína chamada Hemoglobina (*Hb*). Esta, tem a função de transportar o oxigénio em praticamente todos os animais com recurso aos glóbulos vermelhos, transportando cerca de 98% do oxigénio necessário para a sobrevivência [4][5].

O dióxigénio (O_2) que se encontra presente no ar, entra para os pulmões através da inspiração. Aí, através de trocas gasosas, a hemoglobina transporta o dióxigénio dos pulmões para os tecidos formando a hemoglobina oxigenada (HbO_2). No momento em que o oxigénio é consumido pelos tecidos, estes, libertam o dióxido de carbono (CO_2). Por outro lado, o CO_2 é transportado dos tecidos para os pulmões de duas maneiras. Uma percentagem como um ião bicarbonato que se dissolve no plasma sanguíneo e a restante junta-se à hemoglobina criando a hemoglobina desoxigenada ($HbCO_2$) que novamente através de trocas gasosas expelle o dióxido de carbono para o meio ambiente através da expiração[4].

Na Figura 1.1 estão presentes as trocas gasosas necessárias para uma melhor compreensão do processo da oxigenação sanguínea.

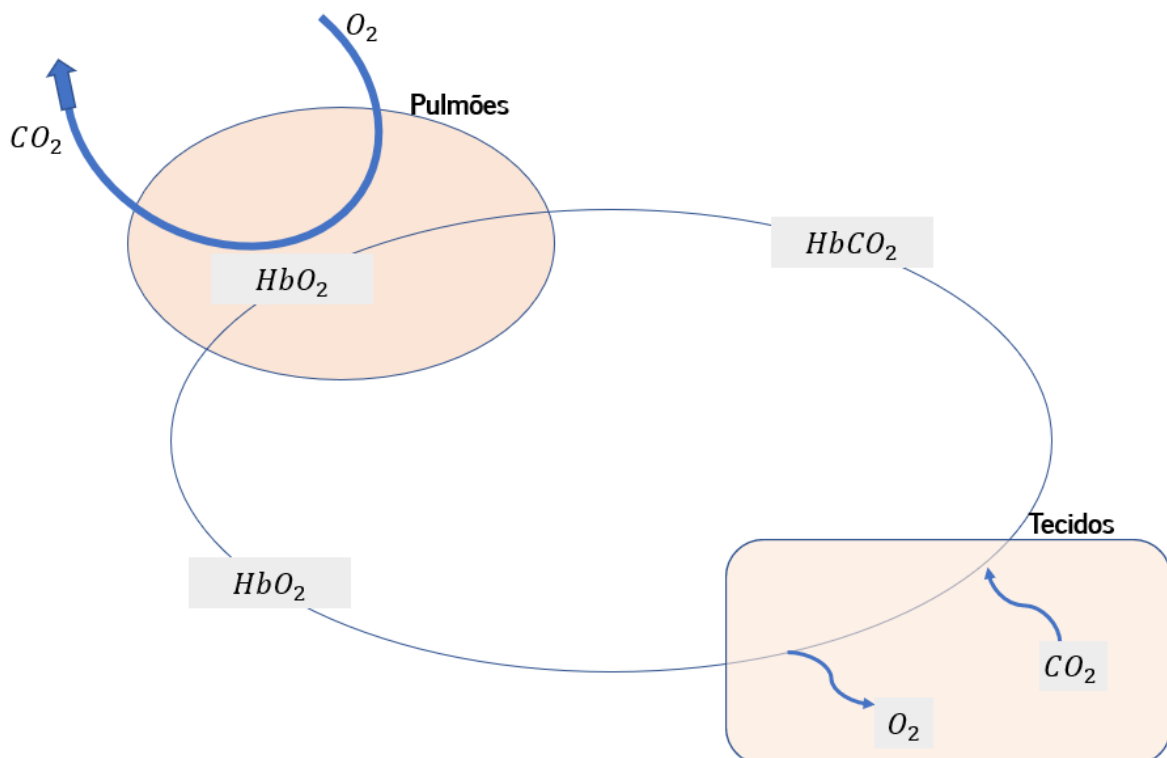


Figura 1.1 Imagem representativa da oxigenação sanguínea.

1.3 Breve história do oxímetro de pulso.

O oxímetro de pulso pode ser considerado uma das mais importantes inovações tecnológicas para verificar o bem-estar e a segurança dos pacientes. Antes desta inovação, a única maneira de verificar o oxigénio presente no sangue era através de análises clínicas cujas desvantagens serão faladas ao longo deste subcapítulo.

A oximetria mede a saturação de oxigénio presente no sangue. Os alicerces para a existência de um sensor deste tipo começaram a ser descobertos no século XVIII pelo Johann Lambert que, formulou uma lei afirmando que a intensidade da luz emitida, decresce exponencialmente à medida que a espessura do meio absorvente aumenta aritmeticamente. Expressa pela seguinte equação[6].

$$I = I_0 \cdot 10^{-x}$$

Onde:

I = Intensidade da luz transmitida

I_0 = Intensidade da luz incidente

X = coeficiente de absorção

l = Espessura do meio absorvente

August Beer em 1852, observou a relação existente entre a transmissão e a concentração do meio onde passa o feixe de luz. Uma certa solução absorve a luz proporcionalmente à concentração molecular do soluto que nela se encontra, isto é, a intensidade de um feixe de luz monocromático decresce exponencialmente à medida que a concentração da substância absorvente aumenta aritmeticamente.[6] Expressa pela seguinte equação:

$$I = I_0 \cdot 10^{-kc}$$

Onde:

I = Intensidade da luz transmitida

I_0 = Intensidade da luz incidente

k = Constante do coeficiente de absorção

c = Concentração do meio absorvente

Ao juntar estas duas leis, forma-se a lei de Lambert-Beer que descreve a atenuação da luz nas propriedades do material que atravessa.

Gustav Kirchhoff e Robert Bunsen, utilizando a lei de Lambert-Beer, realizaram um espectrómetro capaz de examinar detalhadamente o espectro de compostos químicos, através da queima e observação da passagem de luz. Kirchhoff e Bunsen estabeleceram uma ligação entre os químicos e os padrões espectrais. Dando origem a espectroscopia analítica que veio dar resposta a muitas questões em aberto durante séculos[6].

Hoppe-Seyler aplicou espectroscopia por absorção. Esta, baseia-se no princípio físico de que as soluções apresentam cor devido à absorção e reflexão de comprimentos de onda específicos da luz incidente. Conseguindo assim demonstrar que a luz ao passar por uma solução de hemoglobina oxigenada, os comprimentos de onda que variam entre 540 nm e 560 nm, são absorvidos[6].

George G. Stokes aplicou a investigação de Hoppe-Seyler e descobriu que os picos de absorção de luz desaparecem à medida que o sangue fica sem oxigénio. Durante a desoxigenação a solução vermelha de hemoglobina passa a roxa e quando a solução fica em contacto com o ar retorna à cor vermelha novamente. Provando assim, que a hemoglobina tem dois estados, oxigenada e não oxigenada, tendo cada uma um espectro de absorção e reflexão próprio[6].

Anos mais tarde, no começo da Primeira Guerra Mundial houve um aumento tecnológico e um acréscimo significativo de voos de aviões não pressurizados a elevadas altitudes. Fazendo com que muitos dos pilotos perdessem a consciência devido à falta de oxigénio. Surgindo assim uma nova necessidade para os pilotos, a de saberem quando colocar a máscara de oxigénio antes de desmaiarem. Isto fez com que aumentassem as pesquisas sobre a oximetria financiadas pelo poder bélico [6][7].

Para colmatar esta necessidade, os investigadores Wathes e Milikan conseguiram obter os primeiros resultados da saturação do oxigénio, através de um dispositivo não invasivo que se prendia na orelha. Sendo que o termo oximetria foi definido por Milikan, no ano de 1942, quando criou um dispositivo prático e leve sensível à saturação de oxigénio[6][7].

Somente em 1972, Takuo Aoyagi, adicionou o “pulso” na oximetria. Aoyagi conseguiu entender que as variações causadas pelas pulsações representavam a mudança de sangue arterial para sangue venoso. Ao notar este facto, tornou possível medir a saturação de oxigénio arterial sem a necessidade de calibração com uma amostra de sangue. Aoyagi escolheu comprimentos de onda diferentes dos usados anteriormente, usando 630 nm (vermelho) e 900 nm (infravermelho).[6]

Uma década depois desta descoberta, o oxímetro de pulso estava disponível no mercado fornecendo uma medida contínua e não invasiva de oxigenação do paciente. Atualmente o oxímetro de pulso ainda utiliza os princípios de Aoygai, com o foco em reduzir o seu preço e tamanho para benefício da saúde pública. Em 2007, a organização mundial de saúde incluiu o oxímetro de pulso como sendo um equipamento essencial na lista de verificação de segurança cirúrgica[6][8].

1.4 Motivação

Atualmente, o desenvolvimento de sistemas para a monitorização dos oceanos está em constante evolução. Para além da necessidade de manter os oceanos saudáveis para as gerações futuras, também existe um interesse económico em fazê-lo, visto que “na Europa a economia azul contribui com 550 mil milhões de euros para a economia” referiu João Machado diretor-geral dos assuntos marítimos na conferência “*Ocean 2030: Sustainable Development Goals and the Ocean Business Community*”[9].

Assim, de forma a aumentar o conhecimento dos oceanos, surge a necessidade de registar o seu comportamento. Com este propósito, o desenvolvimento de dispositivos capazes de monitorizar animais marinhos, revela-se de extrema importância. Para isto, é essencial obter mais informações sobre estes animais para conseguir entender os seus hábitos, rotinas e entender como a alteração da qualidade do oceano afeta estas espécies.

Monitorizar animais marinhos em tempo real é um atualmente um desafio, pois, por um lado existe uma necessidade de adquirir, armazenar e transmitir os dados do oceano em dispositivos não invasivos de identificação, localização e comunicação. Por outro lado, estes sistemas têm de conseguir suportar o ambiente hostil do oceano durante longos períodos sem existir falhas no seu funcionamento. Alguns dispositivos de monitorização estão disponíveis principalmente para rastreamento de alguns animais marinhos, no entanto, a monitorização de parâmetros fisiológicos destes seres (por exemplo, oxigenação e batimento cardíaco) é ainda uma visão futura para grande parte dos biólogos oceanográficos[10].

Esta monitorização pode revelar, por exemplo, os fenómenos fisiológicos que ocorrem durante os profundos e longos mergulhos de alguns animais, com o objetivo de conhecer melhor estes hábitos biológicos e promover a conservação marinha. Apesar de algumas diferenças, os vasos sanguíneos dos peixes são análogos aos de outros vertebrados. No entanto, o coração de muitos peixes não bombeia

sangue oxigenado como o coração de um mamífero, mas sim o sangue venoso para as brânquias de modo a realizar as trocas gasosas correspondentes[2].

Com o supracitado em mente, pretende-se utilizar técnicas existentes para a medição de oximetria e batimento cardíaco em humanos e realizar as devidas adaptações para a utilização em animais marinhos.

1.5 Objetivos

O tema da dissertação tem como objetivo fulcral o desenvolvimento de um sensor de oximetria e batimentos cardíacos para animais marinhos.

Sendo que, este sistema terá de ser capaz de efetuar uma leitura eficiente, viável e autónoma debaixo de água. Deste modo, são apresentados os objetivos para a realização da presente proposta de dissertação:

- O desenvolvimento de técnicas não-invasivas para a medição do nível de oxigenação do sangue e batimento cardíaco em animais marinhos.
- Desenvolvimento de protótipo para testes em ambiente real.

1.6 Organização da dissertação.

O trabalho desenvolvido nesta dissertação está organizado em seis capítulos.

No capítulo um é apresentada uma breve introdução, onde está presente a motivação, objetivos e a estrutura da presente dissertação.

No capítulo dois está exposta a revisão da literatura, através do levantamento do estado da arte, estando presente os métodos de análise da oximetria, o funcionamento do oxímetro de pulso, o fotopletismograma e as limitações do oxímetro de pulso. Serão também expostas temáticas referentes a animais marinhos.

No capítulo três está presente o capítulo da análise e desenho do protótipo onde se expõem os requisitos do sistema, a projeção do circuito do sensor, a realização da simulação do mesmo e a especificação dos batimentos por minuto.

No capítulo quatro expõem-se os testes de *Hardware* e o seu desenvolvimento contendo a descrição de todos os componentes escolhidos, as etapas realizadas para a realização do protótipo, teste

das múltiplas etapas realizadas e por fim, os consumos teóricos e reais do protótipo final de aquisição de oximetria e batimento cardíaco em animais marinhos.

No capítulo cinco encontram-se os ensaios em ambiente controlado. Neste capítulo, constam os testes realizados em voluntários humanos e testes e em raias capturadas e mantidas *in VIVO* por uma equipa de investigação da Câmara Municipal da Apúlia.

O documento terminará com o capítulo seis, onde serão exibidas as principais conclusões da investigação realizada, assim como algumas sugestões para trabalhos futuros, que visam a melhoria e expansão do trabalho desenvolvido.

2. Revisão da literatura

Este capítulo apresenta uma visão geral dos principais conceitos abordados na dissertação, sendo o principal objeto de estudo o desenvolvimento de um sensor de medição de batimentos cardíacos e oximetria de animais marinhos.

É de extrema importância a clarificação e explicação dos conceitos fundamentais das principais temáticas que serão abordadas. Posto isto, neste capítulo serão apresentados, os principais métodos que são atualmente usados para medir a oximetria no sangue de seres humanos.

2.1 Métodos de análise de oximetria invasivos

Como já referido, no começo da análise da oximetria, eram utilizadas técnicas invasivas. Estas categorias de técnicas são bastante inconvenientes, visto que, é necessário retirar uma amostra de sangue do paciente e posteriormente analisar em laboratório causando incomodo, quer por não se poder obter resultados em tempo real, quer pelo aumento do tempo para se tomar uma decisão médica podendo todo o processo demorar até 20 minutos. Para além do exposto anteriormente, é de notar o aumento do risco de infeções [11].

Existem três tipos de técnicas invasivas que são as mais faladas na literatura, que serão exploradas de seguida.

2.1.1 Métodos colorimétricos

É uma técnica de medição de oxigénio com uma fiabilidade muito baixa, mas facilmente executável. Sucintamente esta técnica baseia-se na comparação diluída de uma amostra de sangue com uma amostra padrão pré-definida[11].

2.1.2 Métodos químicos

É uma técnica de medição de oxigénio que promove uma reação química de um ou vários compostos químicos com o intuito de libertar o oxigénio dissolvido no sangue. Estas reações podem demorar até vinte minutos e um dos métodos mais utilizados é o denominado "*Van Slyke*", onde uma amostra de sangue reage com ferrocianeto de potássio. O resultado desta reação faz libertar gases dissolvidos no sangue sendo um deles o oxigénio que é posteriormente calculado[11].

2.1.3 Espectrofotometria

Atualmente a base para toda a oximetria é a espectrofotometria. Esta técnica pode ser utilizada tanto em métodos invasivos como não invasivos, pois, baseia-se no coeficiente de absorbância presente em todas as substâncias. Isto é, cada substância apresenta um espectro de luz único para um determinado comprimento de onda. No caso da análise invasiva é retirada uma amostra de sangue, esta amostra é atravessada por uma luz. Parte dessa luz é absorvida, parte é espelhada e a restante é transmitida[12]. Seguidamente sensores óticos são responsáveis por medir a radiação transmitida e radiação incidente, transformando-as em corrente elétrica. Por fim, estas medições são sujeitas a um modelo que relaciona as diferentes substâncias presentes na solução[13]. No seguinte capítulo esta técnica será falada com mais detalhe.

2.2 Método não invasivo, Fotopletismografia

A fotopletismografia não é uma descoberta recente, foi descrita pela primeira vez por Alrick Hertzman em 1937 [14]. A teoria de Hertzman foi derivada da lei de Beer-Lambert cuja suposição primária era que a absorção da luz seria diretamente proporcional à distância a percorrer, à concentração das substâncias e à absorção da luz por cada uma dessas substâncias[15].

Nesta técnica consegue-se não só obter os valores de oximetria, mas também obter o batimento cardíaco sendo que esta consegue fornecer informação acerca das variações do volume de sangue que marcam o ritmo cardíaco. A forma de onda correspondente é denominada fotopletismograma. Esta, é até mesmo conhecida como a forma de onda do oxímetro, representando as variações na absorção de luz nos tecidos e no sangue[14][16].

A técnica fotopletismografica tem inúmeras vantagens tais como a versatilidade, capacidade de estimar a saturação de oxigénio do sangue, de medir o batimento cardíaco, de reproduzir a forma de onda fotopletismografica, ter dimensões reduzidas, facilidade de manusear, baixo consumo assim como pode ser aplicada em tecnologia portátil.

2.3 Fotopletismograma e aquisição de sinais vitais

O fotopletismograma é a forma de onda resultante da fotopletismografia e é normalmente usado para detetar alterações do volume sanguíneo. Os sinais de onda do fotopletismograma variam sincronamente conforme o ciclo respiratório [16].

Atualmente as origens do sinal fotopleletismográfico ainda não são totalmente compreendidos devido a vários sinais biológicos, (atividade cerebral, sistema nervoso, termorregulação), mas é aceite que este sinal fornece informações valiosas sobre o sistema cardiovascular de uma forma simples, barata e portátil[17].

Na Figura 2.1, está presente um fotopleletismograma com as duas componentes, a Componente Alternada (AC) e a Componente Contínua (DC). É possível atentar também uma comparação com o ciclo cardíaco tal como exposto na Figura 2.1.

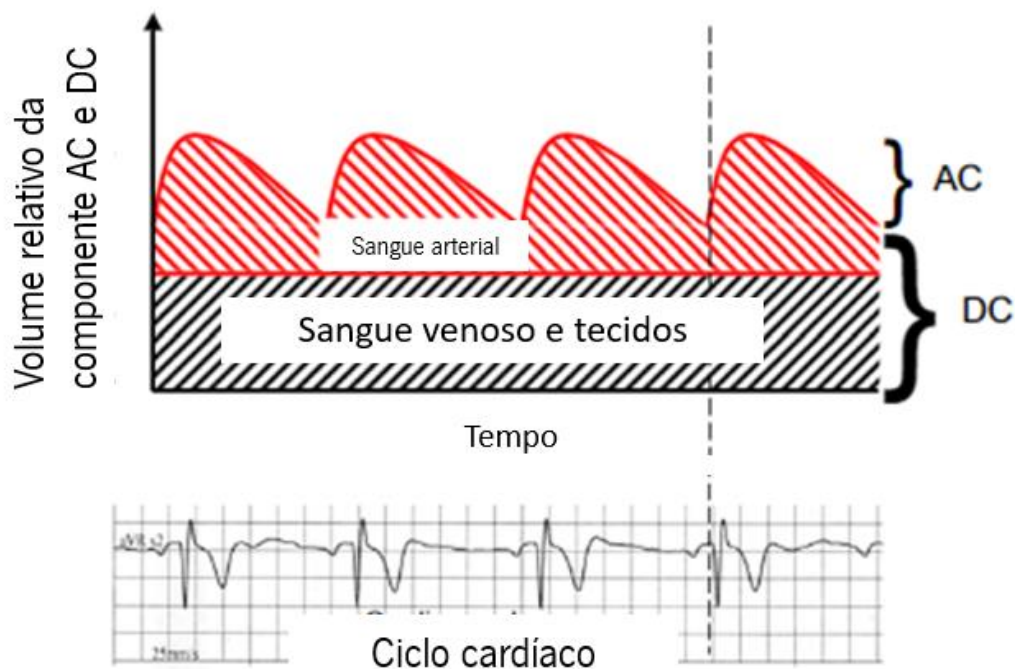


Figura 2.1 Representação de um fotopleletismograma e uma comparação com o ritmo cardíaco adaptado de [16].

- A componente AC tem periodicidade cíclica coincidente com o ritmo do batimento cardíaco[16].
- A componente DC está relacionada com a absorção de luz por parte dos tecidos e com a média do volume de sangue. A respiração faz com que a componente DC varie lentamente ao longo do tempo[16].

Assim, um aumento do volume de sangue e o correspondente aumento da dilatação do diâmetro dos vasos sanguíneos num determinado tecido, implica um aumento do caminho ótico da luz e conseqüentemente, uma diminuição da intensidade da luz transmitida. A curva de absorção pode ser observada na Figura 2.1[18].

Sabendo do equilíbrio existente entre a hemoglobina oxigenada e a hemoglobina não oxigenada, o sensor de oximetria vai se basear na diferença de absorção de luz proveniente dessas duas moléculas, sendo que a hemoglobina oxigenada absorve mais luz no espectro do infravermelho e permite a passagem de mais luz no espectro vermelho. A hemoglobina desoxigenada tem precisamente a reação oposta, permite mais a passagem de luz no espectro infravermelho e absorve mais a luz no espectro vermelho[18].

Na Figura 2.2 é possível observar esta relação anteriormente exposta. Através desta relação é possível realizar cálculos para obter o SpO_2 .

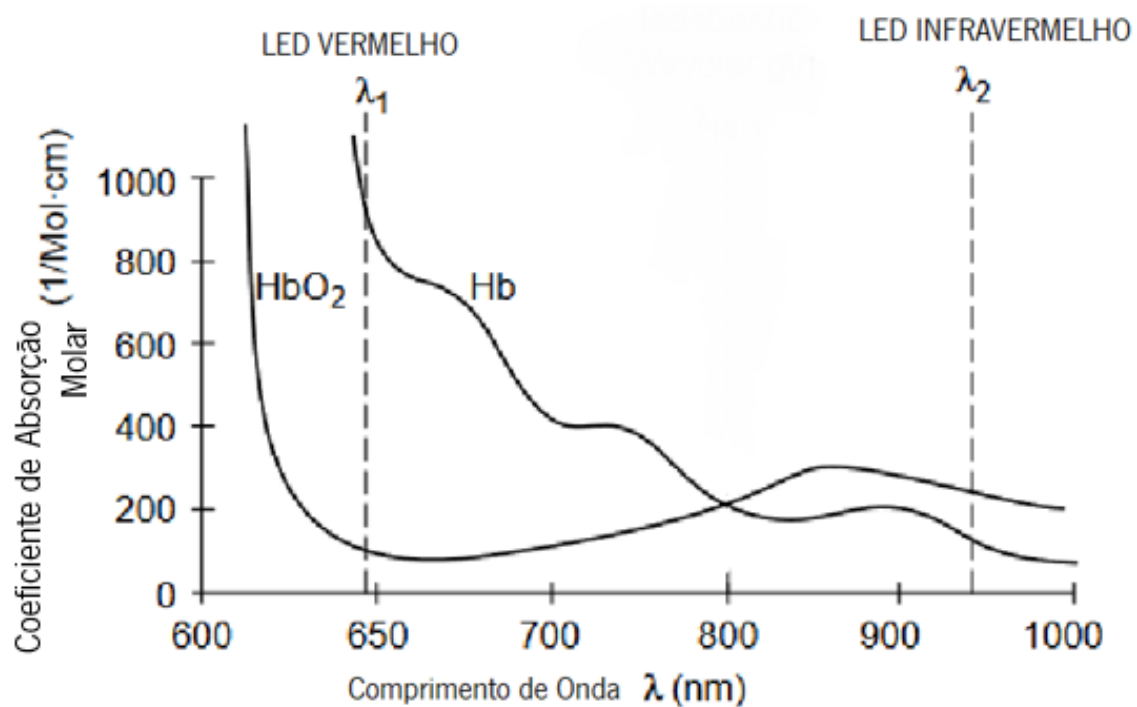


Figura 2.2 Taxa de absorção Molar em relação ao comprimento de onda adaptado de [19].

2.4 Curvas de calibração do oxímetro de pulso

A teoria convencional para a calibração do oxímetro de pulso é descrita em vários artigos e nesta secção vão ser expostos os mais relevantes. Para a leitura do fotopletismograma é necessário conhecer o parâmetro R que é um rácio de rácios[20]. Na Figura 2.3 está presente um fotopletismograma para uma melhor compreensão do que vai ser explicado.

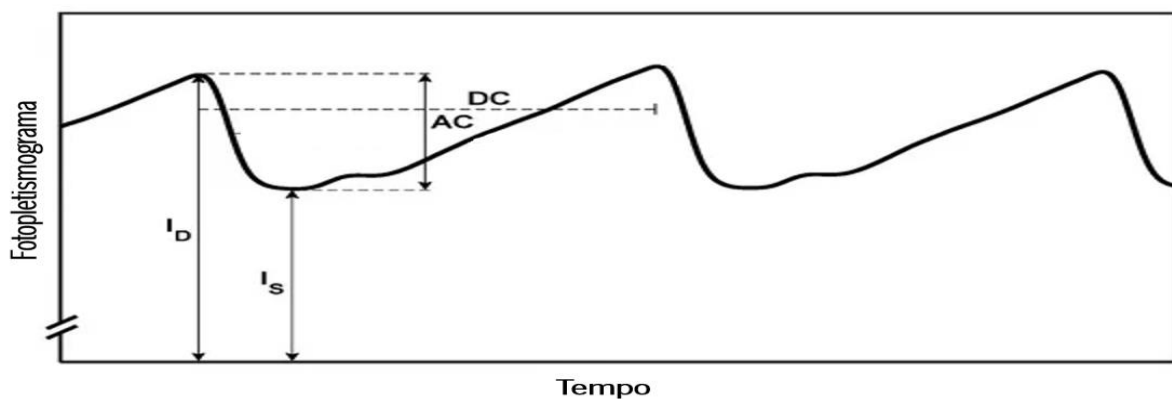


Figura 2.3 Fotopletismograma adaptado de [21].

O parâmetro R é definido por:

$$R = \frac{\left(\frac{AC}{DC}\right)_{LEDV}}{\left(\frac{AC}{DC}\right)_{LEDIV}}$$

Onde AC e DC são os picos de amplitude e valor médio do Fotopletismograma e o LEDIV e LEDV correspondem aos comprimentos de onda infravermelho e vermelho respetivamente, pois para estes comprimentos de onda os picos de absorção são relativamente grandes[21].

Os oxímetros comerciais são calibrados a partir de dados tirados *in vivo*. Para obter resultados mais precisos estes dados são retirados com auxílio a ensaios clínicos que contém informações acerca do rácio R e das absorbâncias calculadas pelo oxímetro de pulso[21][20].

Assim, para relacionar os valores medidos do R e das leituras do oxímetro de pulso surge a equação teórica da calibração da curva baseada na lei de Beer-Lambert[3].

$$SpO_2 = \frac{k_1 - k_2R}{k_3 - k_4R}$$

As constantes k são constantes de absorbância que são retiradas através de testes clínicos para conseguirem determinar qual a curva de calibração que melhor se enquadra para cada caso.

Atualmente grande parte dos fabricantes utiliza abordagens polinomiais para representar estes rácios e constantes de absorbância. Definidos pela seguinte expressão[3]:

$$SpO_2 = k_1 + k_2R + k_3R^2$$

Na Figura 2.4 pode-se atentar a curva de calibração, consoante o R calculado pode verificar-se a percentagem de saturação de oxigénio no sangue. De notar que a curva a tracejado é uma curva

empírica e a curva contínua é uma curva teórica retirada através das leis de Beer-Lambert. A grande parte das diferenças entre as duas curvas deve-se maioritariamente aos fenómenos de dispersão da luz[3].

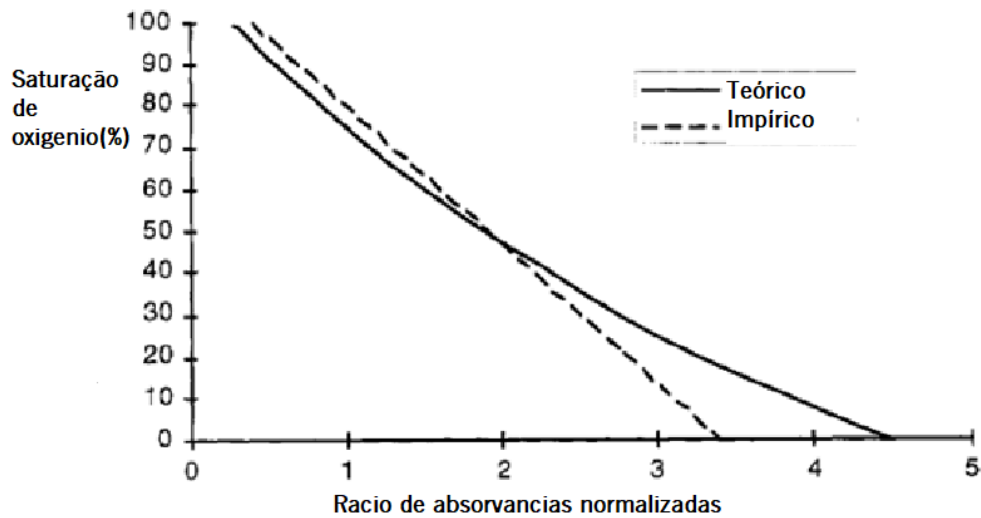


Figura 2.4 Curva de calibração adaptado de [3].

2.5 Funcionamento do oxímetro de pulso

Existem dois tipos distintos de oxímetro de pulso. Um que funciona por técnicas refletivas e outro que funciona através de técnicas transmissivas. O modo de funcionamento entre estas duas técnicas é bastante semelhante sendo a diferença mais notável a posição onde o LED se encontra. Na Figura 2.5 podem observar-se as diferenças e o modo de funcionamento de ambas as técnicas[3].

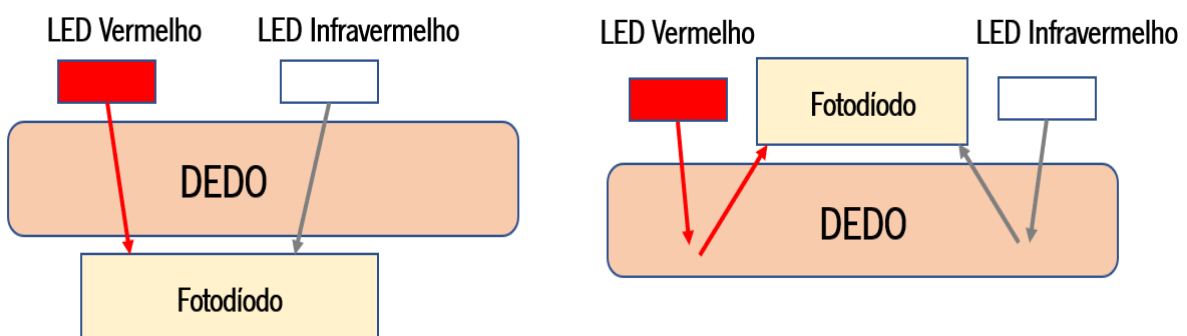


Figura 2.5 Imagem representativa do funcionamento do oxímetro de pulso.

Na Figura 2.5 do lado esquerdo podemos verificar o oxímetro de pulso transmissivo que utiliza dois LED a pulsar a frequências intercaladas. Aí, o fotodíodo presente na parte de baixo do dedo transforma as mudanças de luz devido ao fluxo de sangue em mudanças de corrente elétrica[3].

Na Figura 2.5 do lado direito podemos verificar o oxímetro de pulso por reflexão o objetivo é o mesmo, mas com a diferença da posição do fotodíodo que se encontra do mesmo lado que os LED de modo a que a luz estudada seja a luz refletida[3].

Em ambos os casos conforme a fonte luminosa incidente no fotodíodo existe a alteração da corrente elétrica que passa por um circuito de transimpedância para que as alterações de corrente se convertam em alterações de tensão. Por fim aplicam-se dois filtros, um passa alto com frequência de corte 0.5Hz para eliminar alguns ruídos que estão presentes por atividade cerebral e ruídos associados à própria eletrônica, aplica-se também um outro filtro passa baixo com frequência de corte 5Hz para eliminar os restantes ruídos e ficar apenas a onda fotopleletismografica. Por fim, este sinal é enviado para um microprocessador para o tratamento do sinal ou para a exibição do mesmo digitalmente[3][22].

2.6 Oxímetros comerciais

Como já referido, não existem sensores de oximetria e batimento cardíaco para animais marinhos através de métodos não invasivos. Sendo apenas possível encontrar um sensor de temperatura e batimentos cardíacos para animais marinhos de porte médio. O sensor é comercializado pela empresa STAR ODI e utiliza um método invasivo, isto é, é necessária uma pequena cirurgia para a implementação deste no animal, o que acarreta vários riscos para este.

Na Figura 2.6 pode-se atentar o sensor comercializado tendo como aspetos positivos o seu tamanho extremamente pequeno, a medição automática do sinal ECG e a sua bateria que tipicamente dura até 8 meses[23].

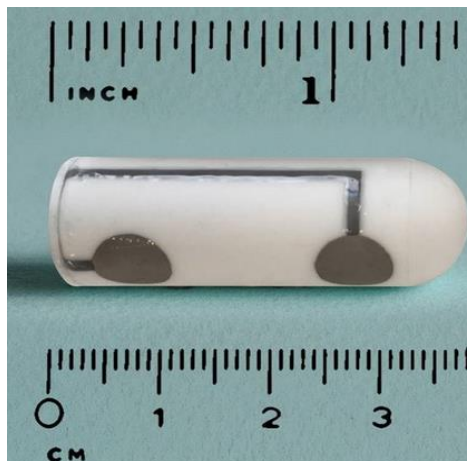


Figura 2.6 Sensor de batimento cardíaco e temperatura.

Considerando que não existe nenhum sensor de oximetria para animais marinhos na literatura, o protótipo desenvolvido foi inspirado na tecnologia utilizada em seres humanos. Os sensores normalmente comercializados para utilização hospitalar, doméstica ou ensaios em laboratório estão presentes na Figura 2.7.



Figura 2.7 Oxímetros comerciais.

Na Figura 2.7 do lado esquerdo está apresentado um oxímetro hospitalar que utiliza técnicas de transmissão. Este, por norma, tem uma eficácia maior sendo o mais utilizado em ambientes críticos em que a falha deste aparelho possa levar a perigos humanos. No centro da Figura 2.7 observa-se um oxímetro refletivo que, devido à implementação da sua tecnologia tornam-se mais aptos para serem embutidos em peças de utilização diária tal como relógios. Por fim, no lado direito da Figura 2.7 está presente uma placa de testes de oximetria e batimento cardíaco, sendo este exemplo de placa muito útil para ajudar nas áreas de investigação.

2.7 Limitações do uso do oxímetro de pulso

Como não existe nenhuma referência absoluta na oxigenação sanguínea, mas sim múltiplas curvas de normalização e por se tratar de um aparelho de medicina, a precisão tem um padrão muito elevado que se torna dependente da calibração inicial[24]. Assim, neste subcapítulo serão abordados algumas limitações e causas que podem tornar o dispositivo inviável.

Para começar a explicar as limitações do oxímetro de pulso tem de se ter em mente que este é um dispositivo de alta sensibilidade que fica suscetível a interferências óticas ou elétricas. Perde também algum do seu desempenho quando o sinal é de baixa amplitude, podendo acontecer na presença de

tecidos mais grossos em que a luz não perfura com tanta intensidade luminosa o tecido, tornando o desempenho não tão ideal, quando o paciente tem uma baixa amplitude de pulso[24].

Mais fatores que podem induzir erros na leitura são o movimento no momento da leitura que provocam resultados errados. Taxas de saturação inferiores a 80% também são consideradas errôneas, pois as curvas de calibração são retiradas de amostras reais e eticamente os seres humanos não devem ser sujeitos a uma concentração de oxigênio inferior a este valor porque nestas taxas de saturação sanguínea podem criar-se riscos irreversíveis para a saúde [24].

2.8 Utilização de oxímetros em animais

O oxímetro com âmbito de medição de parâmetros biológicos de mamíferos já não é de toda uma novidade na medida que já se realizam testes veterinários como uma prática recorrente[25].

Normalmente são utilizados em pequenos mamíferos desde alguns roedores até a cães, gatos, ovelhas e porcos para estimar a saúde destes animais, sendo que avanços nesta área também já permitiram utilizar técnicas de oximetria em alguns répteis[25][26].

A medição de SpO_2 é normalmente realizada no lobo da orelha ou na língua do animal, pois normalmente estas zonas são de fácil acesso e com uma espessura não muito elevada facilitando a penetração da luz pelo tecido dos animais e a colocação do sensor[25].

Na Figura 2.8 é possível ver um oxímetro a ser utilizado numa tartaruga, num cão e num roedor. De notar que nem todos os resultados são ideais, pois muitas vezes a medição é dificultada devido ao movimento do animal ou na colocação das pinças de aquisição de sinal.



Figura 2.8 Aplicação de oximetria em animais adaptado de [26].

2.9 Raias

Com auxílio de uma equipa de investigação da Câmara Municipal de Apúlia que estudava o efeito de redes de pesca biodegradáveis, surgiu a hipótese de se fazer testes em ambiente controlado em raias vivas. Para uma melhor realização de testes foi necessário aprofundar o conhecimento destes seres. Os testes em ambiente controlado foram realizados em duas espécies de raias com o objetivo de obter um melhor conhecimento do animal.

Aqui vai ser exposta a fisionomia da raia de maneira que se consiga entender de que modo os testes foram realizados. A Figura 2.9 é a representação genérica da fisionomia de uma raia.

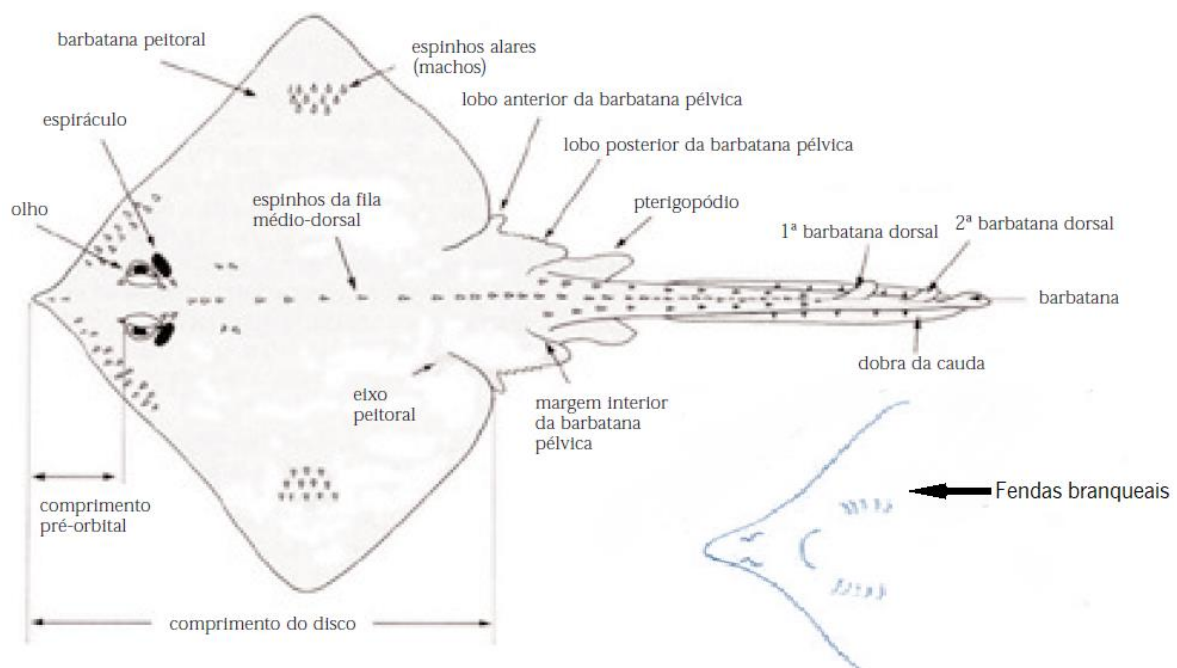


Figura 2.9 Fisionomia das Raias adaptado de [27][28].

Com a Figura 2.9 deu para entender que a melhor forma de aplicar a tecnologia seria de fazer medições nas zonas:

- Da barbatana peitoral, pois é uma zona menos espessa, porém menos vascularizada.
- Junto das fendas branqueais por esta zona ser a localização em que acontecem as trocas gasosas, logo é uma área bastante vascularizada.
- Do comprimento pré-orbital devido ao facto de ser um local bastante vascularizado devido à proximidade das fendas branqueais e pela sua espessura.

Em seguida, vai ser abordado com mais detalhe as espécies de raias estudadas em ambiente controlado. O primeiro espécime estudado chama-se “raia de altura” e está presente na Figura 2.10 com uma imagem em desenho adaptado de um artigo científico [28].

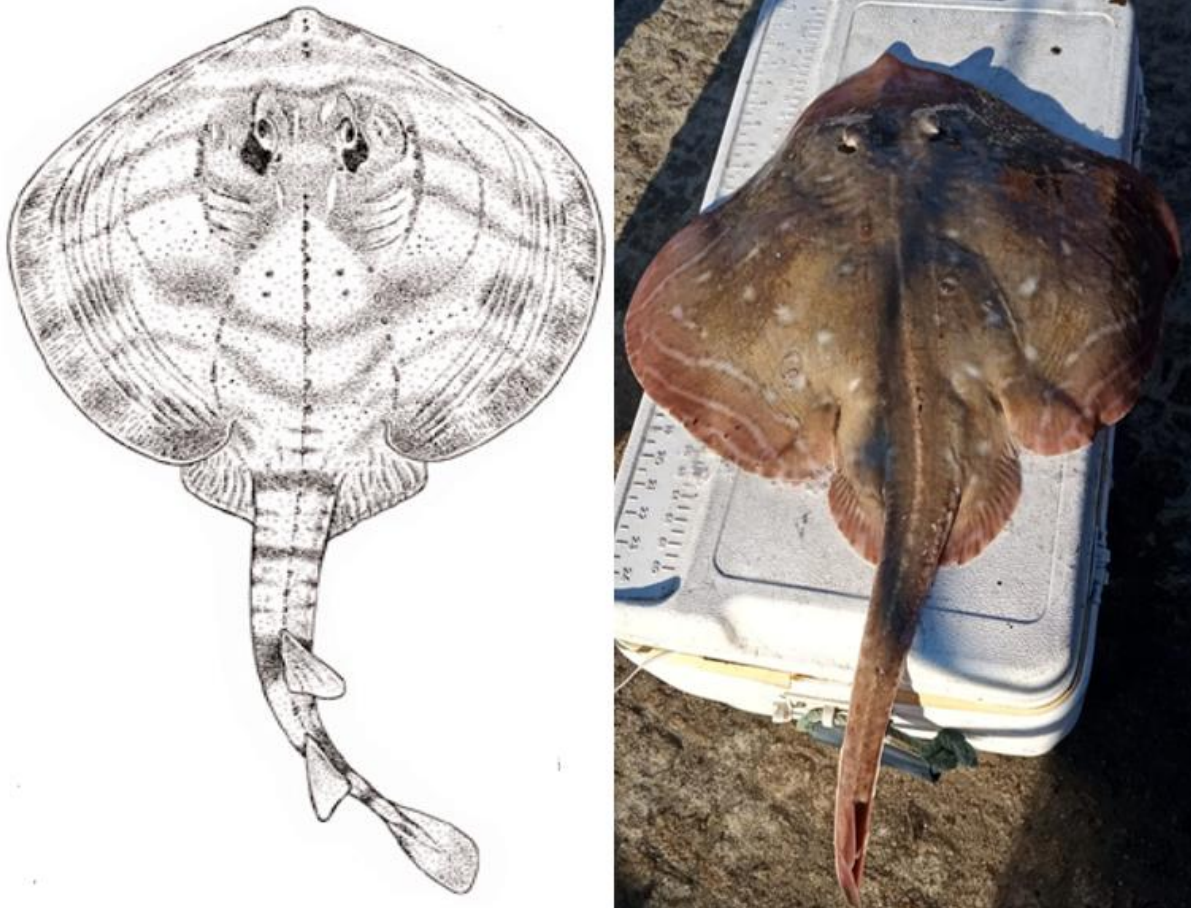


Figura 2.10 Desenho de Raia de altura adaptado de [28] e espécime capturado.

Esta espécie estudada presente na Figura 2.10 tem como principais características [28]:

- Disco quase circular;
- Focinho obtuso;
- Cauda bem demarcada do disco;
- Pequenos dentículos espinhosos no disco;
- Dorso castanho acinzentado com bandas transversais castanho-escuras;
- Pele com aspeto seboso.

O outro espécime estudado é denominado “raia curva” que, pode ser comparada com imagens da literatura na Figura 2.11.

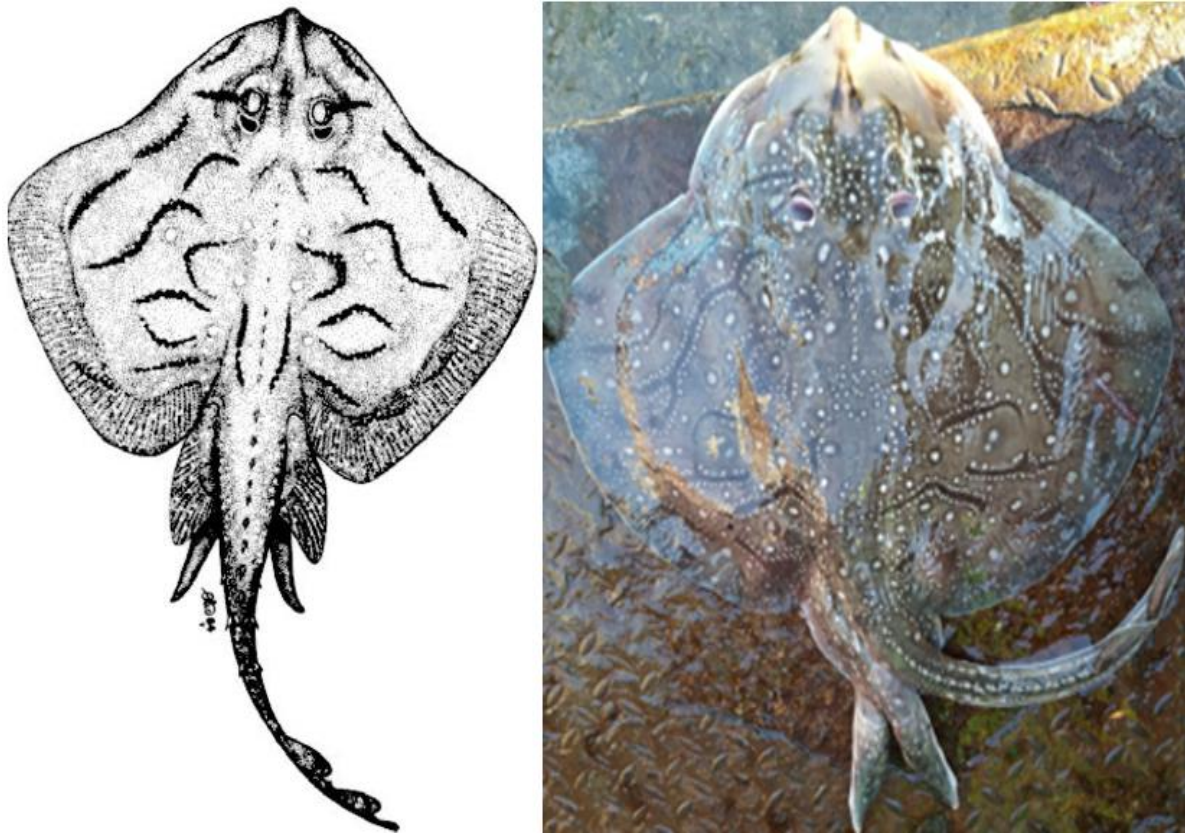


Figura 2.11 desenho de raia curva adaptada de [29] e imagem do espécime estudado.

Esta espécie estudada presente na Figura 2.11 tem como principais características [29]:

- Disco quase circular;
- Focinho obtuso;
- Coloração dorsal variável;
- Apresenta pontos brancos e irregulares na zona dorsal;
- Pele com aspeto seboso.

No capítulo de testes em ambiente controlado serão expostos os passos realizados para os testes nestas espécies e serão também expostos os resultados obtidos.

3. Análise e desenho do protótipo

O capítulo três está dividido em duas subsecções: uma breve parte com os requisitos do protótipo e um sumário dos circuitos que serão realizados para melhor compreensão deste. Na segunda subsecção está representada a análise dos múltiplos sistemas que serão desenvolvidos.

3.1 Requisitos funcionais e não funcionais do sistema

Os requisitos funcionais e não funcionais do sistema foram discutidos e propostos perante reuniões ao longo do projeto em que esta dissertação está inserida. É necessário o sensor ser pequeno e leve para não prejudicar a atividade marinha normal do animal, conseguir obter leituras eficientes de batimento cardíaco e oximetria em animais marinhos e resistência à água. Perante o exposto a Tabela 3.1 demonstra os requisitos assinalados:

Tabela 3.1 Requisitos funcionais e não funcionais do protótipo.

Requisitos funcionais	Requisitos não funcionais
Medição do batimento cardíaco.	Baixo custo.
Medição da oximetria.	Dimensões reduzidas.
Eletrónica resistente à água.	Não prejudicial ao animal nem ao ambiente marinho.

3.2 Arquitetura do protótipo desenvolvido

Para que o protótipo realizado possa cumprir os requisitos para o qual foi concebido é necessário o estudo e análise de todos os circuitos a implementar. Já em mente que será necessária uma fonte luminosa e um fotodiodo para se conseguir validar na prática a lei de Beer-Lambert.

Assim sendo, o oxímetro de pulso está dividido em duas partes fulcrais, a parte emissora e a parte recetora de sinal. Estando presente na parte emissora as fontes luminosas com comprimento de onda na região do vermelho e infravermelho.

Na parte recetora, é necessária a sensibilidade aos dois comprimentos de onda distintos emitidos pela parte emissora. Para colmatar esta necessidade, foram usados amplificadores de transimpedância (TIA) aliados a dois amplificadores *LOCK-IN* com *CLOCK* de frequências distintas com o intuito de só serem captadas as frequências desejadas pulsadas pelas fontes luminosas. De notar também que a utilização do amplificador *LOCK-IN* permite a aquisição de um sinal pulsado com baixa amplitude de uma

fonte bastante ruidosa. Para assim, conseguir uma elevada sensibilidade que é um requisito crucial do protótipo, tal como o tamanho e a capacidade de resposta rápida, quer para otimizar espaço, quer para a resposta do sistema em relação aos estímulos. Por fim, é necessário realizar filtros analógicos para a obtenção do sinal de batimento cardíaco e oximetria.

Na Figura 3.1 está representado todo o protótipo a desenvolver sendo que as diferenças entre os dois sistemas são da frequência de *CLOCK* e do comprimento de onda do LED, por isso, para uma facilidade de compreensão, não serão distinguidos o sistema vermelho do infravermelho. Será apenas descrito um deles sempre em mente que o outro é igual.

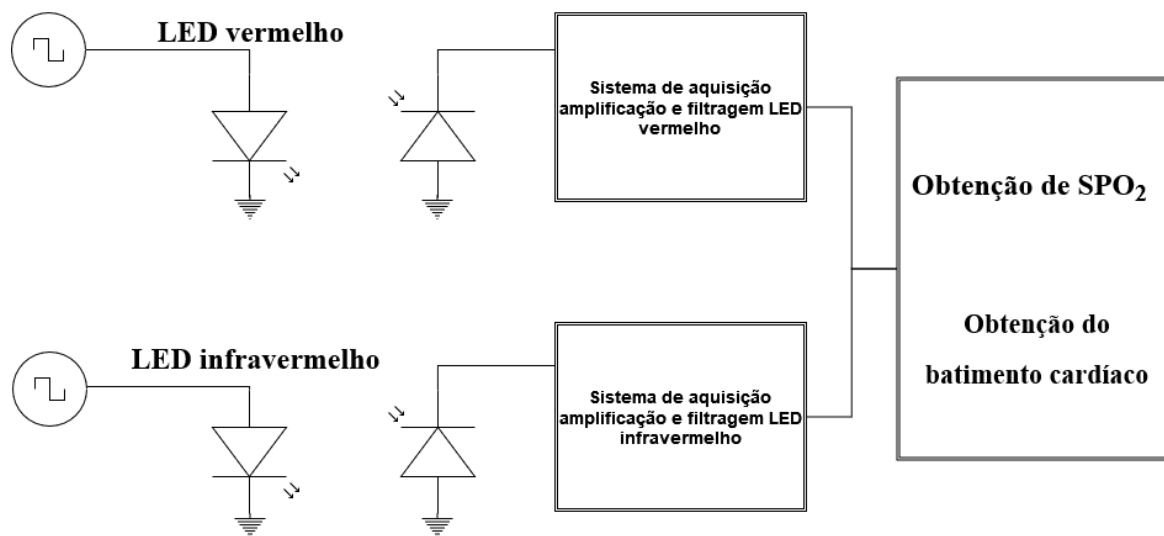


Figura 3.1 Imagem representativa de todo o sistema a desenvolver.

Após a obtenção do sinal, por norma, na literatura passar-se-ia para a parte de filtragem do sinal, mas no caso concreto desta dissertação, utilizou-se dois circuitos integrados para fazer de efeito *LOCK-IN*, tendo como vantagem poder-se utilizar dois LED a emitir uma onda quadrada em simultâneo, mas com frequências distintas e amplitudes mais elevadas conseguindo assim penetrar as espessas camadas adiposas presentes em alguns animais marinhos. Outra vantagem que se encontra com a utilização do amplificador *LOCK-IN* é o próprio modo de funcionamento do mesmo, isto é, a utilidade primária de um amplificador *LOCK-IN*, é de obter um sinal com frequência conhecida de um meio muito ruidoso, tendo sido considerado uma boa solução para o problema em questão.

Como saída final é esperado adquirir o sinal como uma percentagem de SpO_2 tornando-se crucial filtrar o sinal de saída do amplificador *LOCK-IN* para se obter a onda útil de percentagem de SpO_2 . Em suma, o circuito recetor vai ter três subsistemas cruciais para o bom funcionamento do mesmo que podem ser observados no diagrama de blocos da Figura 3.2.

O primeiro subsistema é o sistema de aquisição do sinal representado a cor-de-rosa na Figura 3.2, com a função principal de garantir que a intensidade luminosa é capaz de atravessar a superfície a ser estudada conseguindo ser captada pelo fotodiodo. É necessária a garantia que o pulso do LED é efetivamente realizado a uma frequência constante.

O segundo subsistema representado pela cor azul da Figura 3.2 é o sistema de amplificação *LOCK-IN*. O sistema amplificador *LOCK-IN* é normalmente utilizado para detetar e medir sinais AC com amplitude bastante baixa mesmo que este sinal esteja obstruído com ruído de elevada amplitude. Este subsistema tem a função específica de captar apenas e simplesmente a frequência do sinal pulsado pelo sistema de transmissão proporcionando uma redução drástica do ruído visto que todas as outras frequências espectrais são eliminadas.

Por fim na Figura 3.2 a amarelo tem-se a filtragem do sinal. Este subsistema é muito importante, pois sem ele não se conseguiria obter a percentagem de SpO_2 , tendo sido dimensionados filtros com largura de banda passante entre 0.5Hz a 5Hz sendo que estes valores serão aprofundados posteriormente.

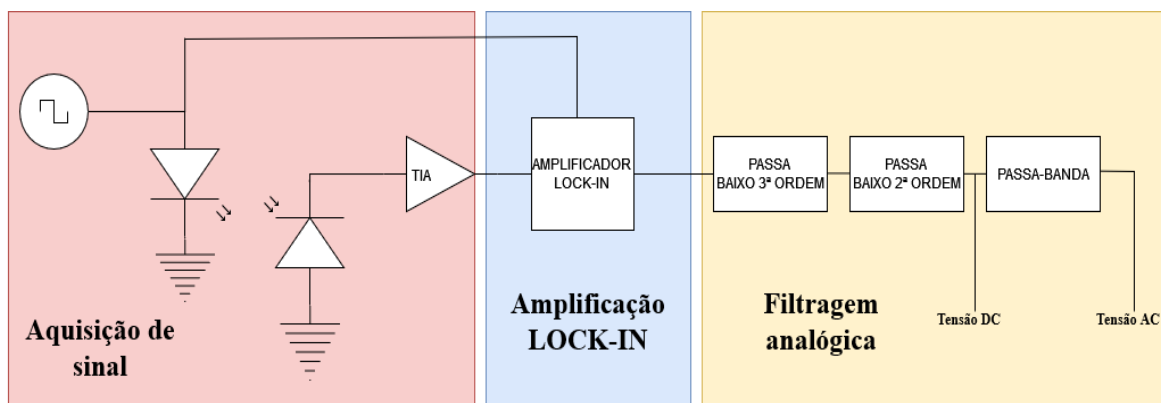


Figura 3.2 Diagrama de blocos do sistema a desenvolver

Este subcapítulo vai ser dividido em três partes menores, uma parte para o sistema de transmissão e receção, outra para a amplificação *LOCK-IN* e por fim será falado acerca dos filtros analógicos implementados. Neste último, serão abordadas as temáticas do que se pretende desenvolver, como será desenvolvido e os requisitos que este deve cumprir.

3.2.1 Aquisição de sinal

Como já estudado anteriormente existem duas técnicas de funcionamento do oxímetro de pulso: a técnica refletiva e a técnica transmissiva. No protótipo realizado foi escolhida a técnica transmissiva, visto que o sinal é muito afetado pelo movimento, tornando-se mais fácil num sistema transmissivo a

fixação do protótipo sem ser afetado pelo movimento do animal. Com este tipo de sistema consegue-se cumprir o requisito do projeto do protótipo, o de ser não invasivo. Sendo simplesmente necessária uma pinça para os testes iniciais.

O sistema de transmissão de luz é constituído por um LED a piscar a uma frequência definida pelo amplificador *LOCK-IN*. Sendo que o método para o LED pulsar foi realizado com a aplicação de um transistor NPN com a montagem que se encontra na Figura 3.3.

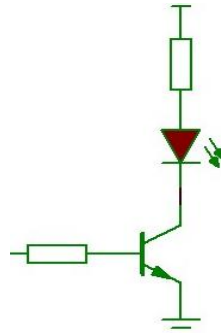


Figura 3.3 Circuito do LED.

No circuito recetor tem-se dois fotodíodos sem polarização, isto é, a tensão aplicada ao ânodo e cátodo do fotodíodo são idênticas. Este, funciona como uma fonte de corrente, que ao receber a luz gera uma corrente elétrica proporcional à intensidade de luz recebida. Seguidamente, este fotodíodo é ligado a um circuito de transimpedância como pode ser observado na Figura 3.4, com o intuito de converter a diferença de corrente elétrica numa diferença de tensão elétrica proporcional. Este circuito também incorpora um filtro passa baixo com frequência regulável através da resistência e do condensador.

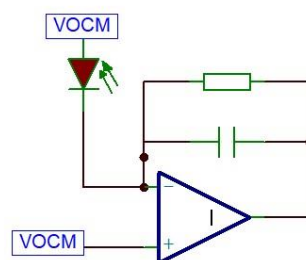


Figura 3.4 Circuito de transimpedância.

3.2.2 Amplificação LOCK-IN

Para se conseguir obter dois sinais de frequências distintas pulsadas em simultâneo foi utilizado um amplificador *LOCK-IN*. O amplificador *LOCK-IN* utilizado nesta dissertação foi o *ADA2200* da *ANALOG DEVICES* cujo *PIN-OUT* deste integrado pode ser observado na Figura 3.5.

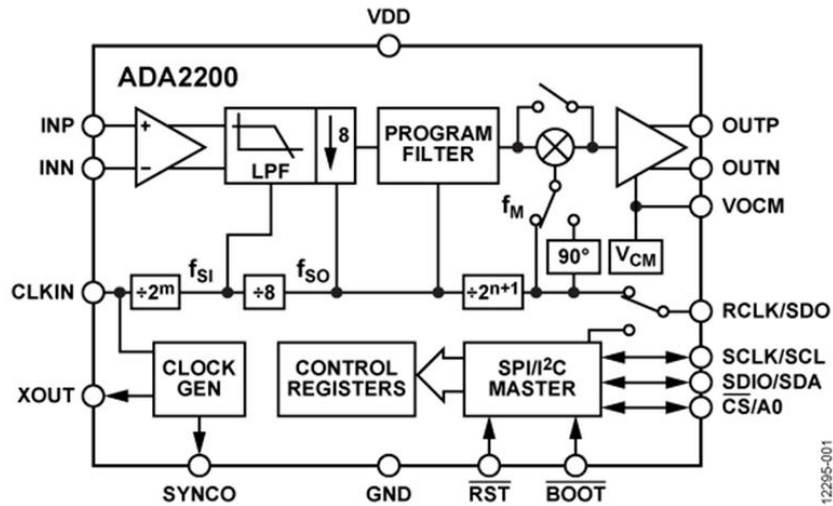


Figura 3.5 – PIN-OUT ADA2200

As principais características retiradas do *DATASHEET* são:

- Desmodular sinais de entrada com larguras de banda de 30kHz;
- Filtros programáveis para diversas bandas passantes;
- Sistema de interface, entradas e saídas diferenciais;
- *RAIL-2-RAIL*;
- Detetor de fase;
- Interface com SPI;
- *Boot* com I2C em EEPROM;
- Operação em baixo consumo(395µa);

Este integrado pode ser utilizado em:

- Desmodulação síncrona de sinais;
- Acondicionamento de sinais;
- Amplificadores *LOCK-IN*;
- Detetores de fase;
- Recuperação de sinais;
- Sistemas de controlo.

Na entrada *INP* e na entrada *INN* tem-se a saída do circuito de transimpedância e a saída de um *buffer* inversor, respetivamente. É também necessário fornecer um sinal de *CLOCK* para todo o sistema funcionar. Este sinal é ligado ao porto *CLKIN* e por registos internos no circuito integrado é dividido por

64 sendo este o sinal que faz o pulso do LED do sistema de transmissão. Por fim, está a utilizar-se o porto *OUTP* para se obter o sinal final antes da filtragem analógica.

3.2.3 Filtros analógicos

O primeiro filtro desenvolvido foi um filtro passa baixo Sallen Key de terceira ordem de ganho unitário e frequência de corte 10Hz aproximando-o do sinal útil de um batimento cardíaco. Em seguida, aplicou-se um segundo filtro passa baixo Sallen Key de segunda ordem com ganho de trinta e quatro, *offset* de 1.5V e frequência de corte de 10Hz. Os diagramas de Bode de ambos os filtros Sallen Key podem ser observados na Figura 3.6 respetivamente.

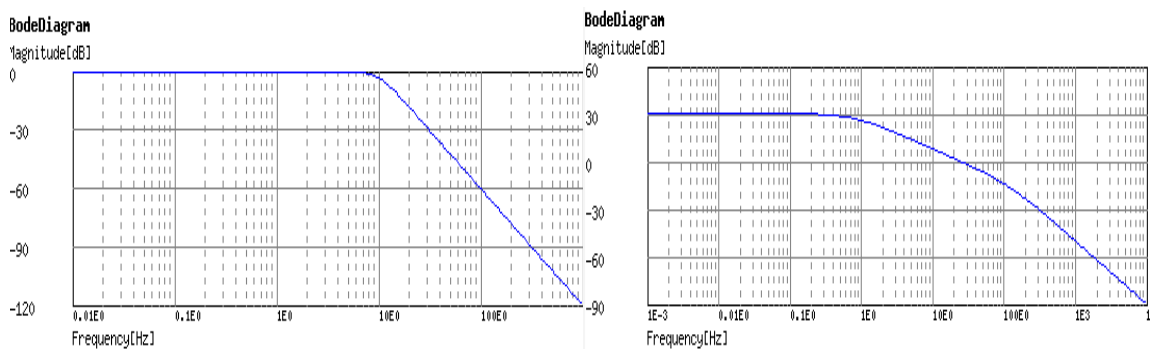


Figura 3.6 Diagramas de bode dos Filtros Passa Baixo.

Por fim, com o objetivo de limitar a largura do espectro de frequências, aplicou-se um filtro passa-banda conseguindo eliminar algum do ruído restante, quer de ordem de frequências superior e inferior com banda passante entre 0.5Hz a 5 Hz, permitindo na Figura 3.7 atentar o seu diagrama de bode.

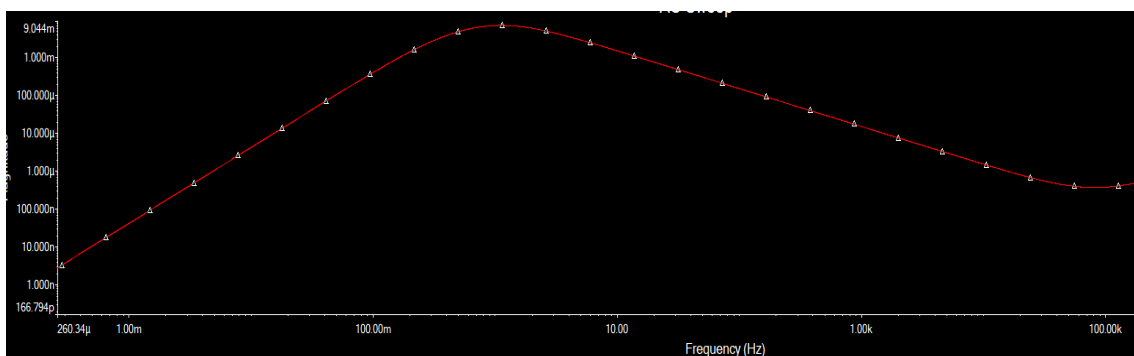


Figura 3.7 Diagrama de Bode filtro passa-banda.

Estas frequências de corte do filtro passa banda, $0.5\text{Hz} < f < 5\text{Hz}$, permitem estimar a gama de batimentos cardíacos que o protótipo permite leitura, em batimentos por minuto da seguinte maneira:

$$BPM = 0.5 * 60 = 30$$

$$BPM = 5 * 60 = 300$$

Assim, o protótipo desenvolvido está projetado para ler eficazmente batimentos cardíacos entre 30 e 300 batimentos por minuto, sendo que esta escala é considerada suficiente para o estudo em questão.

4. Testes e Desenvolvimento de Hardware

Neste capítulo serão abordados o dimensionamento de todo o hardware e os testes realizados numa fase inicial para verificar se o sistema funciona na totalidade, assim como todas as etapas de desenvolvimento que o protótipo apresentou. Ambas estas temáticas vão ser abordadas de modo intercalado. Os testes vão ser realizados passo a passo para uma melhor verificação do conceito apresentado.

4.1 Projeto de Hardware

A escolha do hardware do circuito é um elemento crucial quer para o funcionamento do protótipo desenvolvido, quer para questões como o consumo energético sendo determinante uma boa conjugação de todos os parâmetros para se conseguir a melhor eficiência e o consumo mais baixo.

4.1.1 LED

A escolha dos LED é de carácter crítico para este protótipo, pois é necessário que o pico de comprimento de onda seja de 660 nm para o LED vermelho e 940 nm para o LED infravermelho, o consumo não pode ser demasiado elevado, tem que ter uma boa intensidade luminosa para conseguir atravessar a superfície a ser estudada e um ângulo de incidência relativamente baixo para não se dissipar luz para uma zona que não seja estudada. Assim foi escolhido o CMD333URC-2 da VCC para o LED vermelho com as seguintes características:

- Comprimento de onda de pico de 660nm
- Ângulo de visualização de 24°
- Corrente direta de 30mA
- Fluxo luminoso de 0.274lm

E o SIR-563ST3F da RHOM par o LED infravermelho que apresenta as seguintes características:

- Comprimento de onda de pico de 940nm.
- Ângulo de visualização de 15°.
- Corrente direta 50mA
- Fluxo luminoso de 0.770 lm

Considerou-se que o LED vermelho foi bastante adequado para o projeto em questão na sua relação de consumo, luminosidade, ângulo de incidência e comprimento de onda de pico, mas que o

LED infravermelho poderia ter um consumo um pouco menor para melhorar o desempenho da bateria apesar de apresentar comprimento de onda de pico desejável e um ângulo de incidência ideal.

4.1.2 Fotodíodo

Para conseguir converter a luz incidente pelo LED numa grandeza elétrica foi necessário escolher um fotodíodo com características adaptadas ao projeto em questão, tais como uma corrente baixa de escuridão, tempo de subida e descida elevado e um grau de incidência acentuado. Para colmatar estas características foi escolhido o fotodíodo SFH 206 K da *ARMS OSRAM*, apresentando como características:

- Adaptado para aplicações entre 400 nm e 1100 nm.
- Tempo de resposta baixo, tipicamente 20ns.
- Baixa corrente no escuro 2nA.

Tendo em conta que as características apresentadas, considera-se este fotodíodo ideal devido à sua sensibilidade aos comprimentos de onda necessários para o projeto, a rapidez de resposta e uma baixa corrente no escuro.

4.1.3 Amplificador operacional

Relativamente ao amplificador operacional utilizado nos vários circuitos já descritos, foi requerido que este contivesse entrada e saída *RAIL-2-RAIL*, que pudesse ser alimentado a uma tensão de 3.3V e a capacidade de amplificar centenas de vezes. A entrada e a saída devem ser *RAIL-2-RAIL* para permitir a operação com tensões de alimentação mais baixas e ter uma gama de funcionamento até ao seu valor de alimentação sem saturar. A alimentação é um parâmetro importante, devido aos restantes componentes de *hardware* do protótipo que serão alimentados a esta tensão e o ganho na ordem de centenas deve-se ao facto dos sinais vindos do circuito de transimpedância serem na ordem das unidades de milivolts, portanto, pretende-se amplificar estes para uma gama nas unidades de Volts.

Para colmatar estas características, foi escolhido o MCP6291 da MICROSHIP TECHNOLOGY cujas principais características retiradas do *DATASHEET* são:

- GPB de 10 MHz.
- Corrente de consumo de 1mA.
- Tensão de alimentação entre 2.4V e 6.0V.
- RAIL-2-RAIL INPUT/OUTPUT.
- Corrente de entrada baixa, 1pA.

De notar que as principais aplicações deste amplificador operacional são:

- Equipamentos portáteis.
- Circuitos de transimpedância.
- Filtros analógicos.
- Sistemas alimentados por bateria.

Na Figura 4.1 está presente o integrado utilizado no decorrer de todos os testes até à PCB e o seu respetivo *PIN-OUT*.

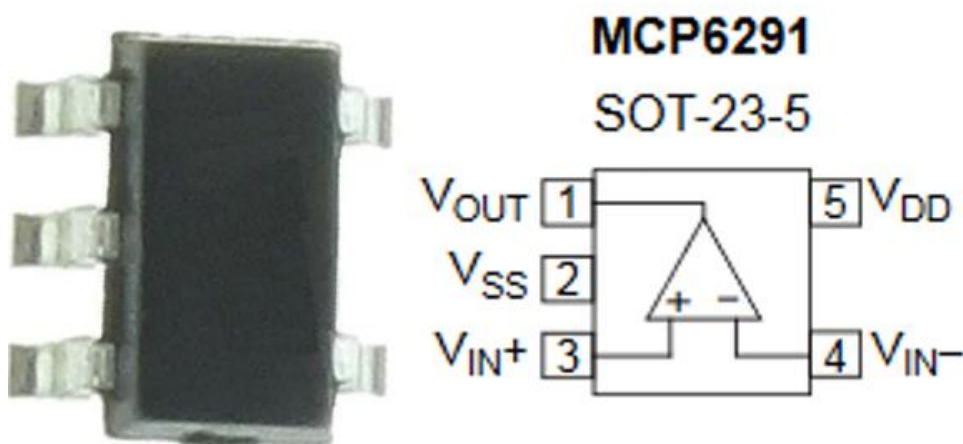


Figura 4.1 Chip e PIN-OUT do MCP6291

4.1.4 Amplificador de transimpedância

Um amplificador de transimpedância é um amplificador de corrente para tensão, normalmente implementado com recurso a amplificadores operacionais. Este, tem uma vasta gama de aplicações entre elas os fotodetectores.

De uma forma geral o amplificador de transimpedância tem uma resistência de realimentação com um valor elevado. Sendo o ganho deste circuito definido por

$$-R_f = \frac{V_{OUT}}{I_{In}}$$

Sendo:

R_f Resistência de referência.

I_{In} Corrente na entrada do amplificador.

V_{OUT} Tensão de saída do amplificador.

Este amplificador também incorpora um filtro passa-baixo quando aliado a um condensador em paralelo com a resistência de realimentação sendo a sua frequência de corte definida por:

$$F_c = \frac{1}{2\pi R_f C_f}$$

Sendo:

F_c = Frequência de corte.

R_f = Resistência de referência

C_f = Condensador de referência.

Assim, para o caso desta dissertação foram escolhidos os valores de resistência de 68k Ω e um condensador de 10nF.

Com estes valores obtém-se uma frequência de corte de aproximadamente 235kHz. Assim se o LED estiver a pulsar a esta frequência máxima, o amplificador escolhido ainda consegue amplificar o sinal cerca de 42 vezes sem ultrapassar o valor de GPB. O diagrama de bode simulado em MultiSim pode ser observado na Figura 4.2.

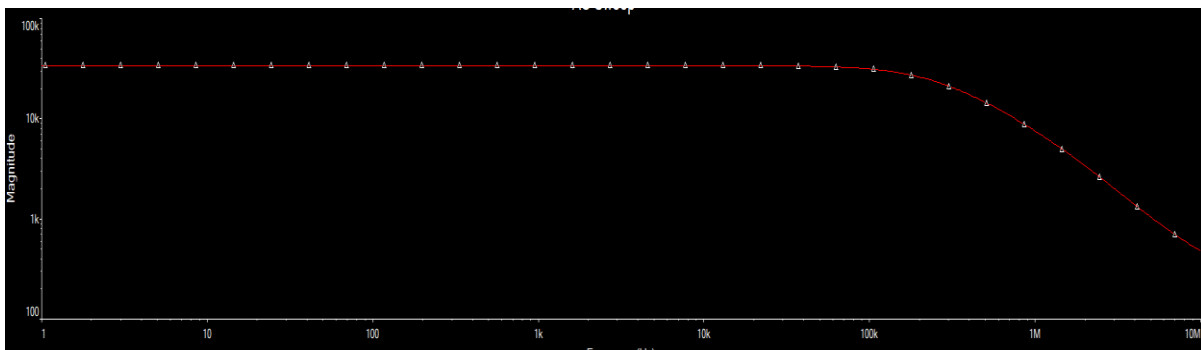


Figura 4.2 Diagrama de bode do circuito de transimpedância.

Para concluir, o amplificador escolhido na secção anterior consegue satisfazer as características necessárias para a aplicação do circuito de transimpedância na medida de suportar ganho em frequências altas, ter uma baixa corrente de entrada, crucial para circuitos de transimpedância e a o seu modo de funcionamento em *RAIL-2-RAIL*.

4.1.5 Amplificador LOCK-IN

O amplificador *LOCK-IN* escolhido foi o ADA2200 da *ANALOG DEVICES* pois, no começo dos testes foi usada uma placa que continha este *chip*. Assim, a facilidade de utilização, funcionalidade de amplificador *LOCK-IN*, operação *RAIL-2-RAIL* e um pino com valor de metade da alimentação do integrado (VOCM) foram critérios que favoreceram a continuação do uso deste chip

Na Figura 4.3 está presente a placa de desenvolvimento utilizada na fase de testes iniciais e o *chip* utilizado na PCB (do inglês *Printed Circuit Board*) realizada.

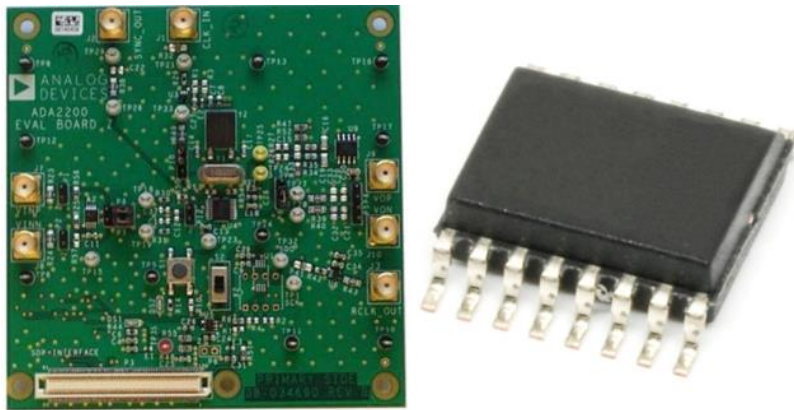


Figura 4.3 placa de desenvolvimento e chip utilizado.

Depois de escolhido o integrado com intuito de amplificador *LOCK-IN* foi necessário realizar toda a eletrônica em torno deste. Na Figura 4.4 estão representados os vários circuitos em torno do amplificador *LOCK-IN* diferenciados por cores.

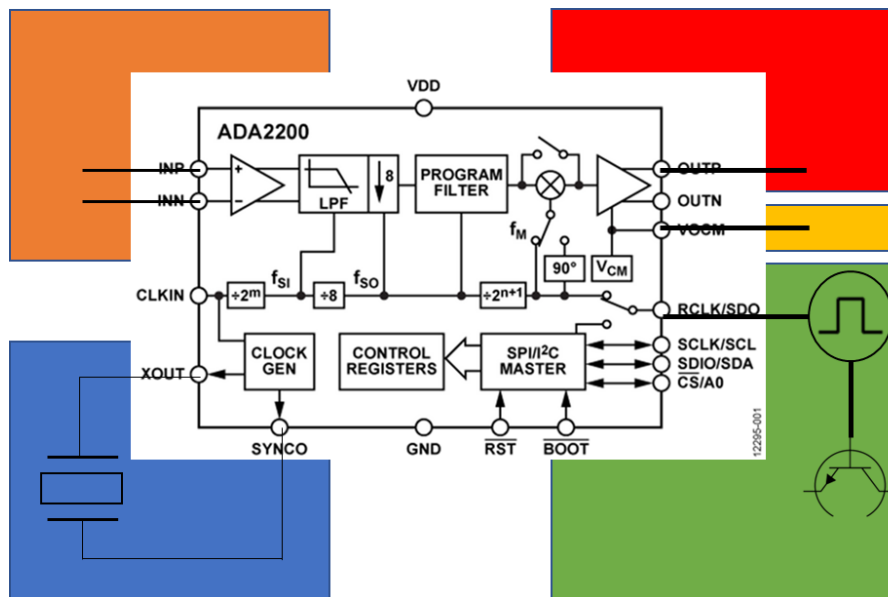


Figura 4.4 Vários subsistemas do amplificador *LOCK-IN*.

Na zona amarela da imagem está presente o VOVM. Este pino do integrado fornece uma tensão igual à metade da alimentação do sistema. Isto é, se o sistema é alimentado a 3.3V no pino VOVM encontra-se presente uma tensão de 1.65V sendo muito útil para gerar offset no decorrer dos múltiplos circuitos do protótipo. Para garantir que a tensão fornecida se mantém constante o pino VOVM é ligado a um seguidor de tensão semelhante ao presente na Figura 4.5.

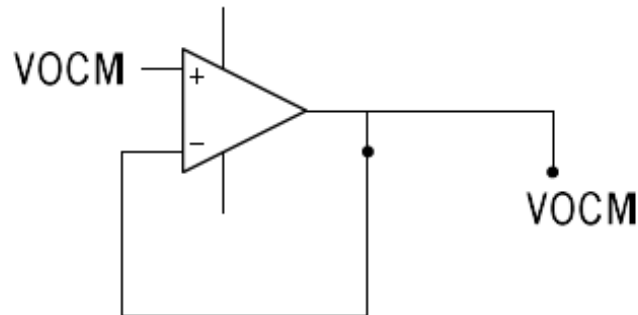


Figura 4.5 Zona amarela do LOCK-IN.

Na zona laranja estão presentes as entradas do *LOCK-IN* sendo que na entrada INP se encontra a saída do circuito de transimpedância anteriormente já exposto e no INN encontra-se um seguidor de tensão inversor com ganho unitário. A montagem realizada pode ser observada na Figura 4.6.

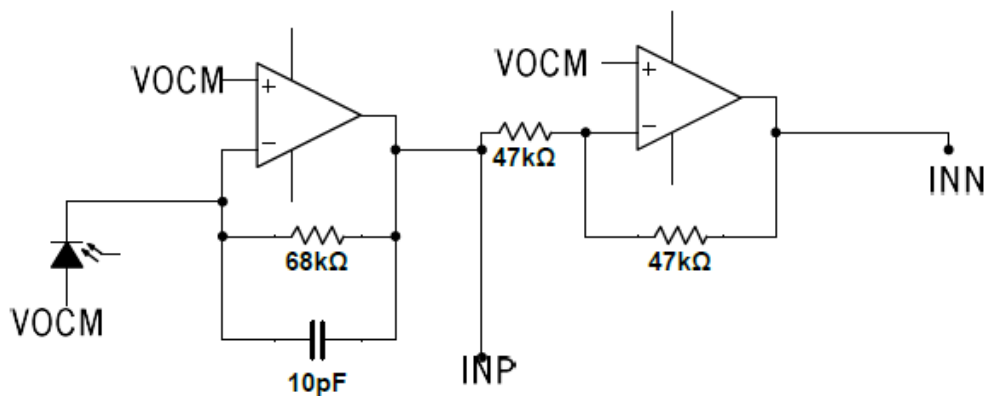


Figura 4.6 Região laranja do LOCK-IN.

Na zona azul está representado o cristal de *CLOCK*. Este tem como função garantir que o *LOCK-IN* se encontra a funcionar na frequência pretendida, sendo este sistema que difere entre a placa com o LED Vermelho e a placa com o LED infravermelho. Escolheram-se então dois cristais com frequências e harmónicos diferentes um deles com 2.5MHz e outro com 1.4832MHz.

Na zona verde, está presente a onda quadrada que faz pulsar o LED. Esta onda por defeito é a divisão por 64 da frequência do cristal escolhido. Este pino é ligado à base de um transistor NPN para fazer com que o LED que se encontra em serie com uma resistência no coletor pulse. Estando este fenómeno presente na Figura 4.7

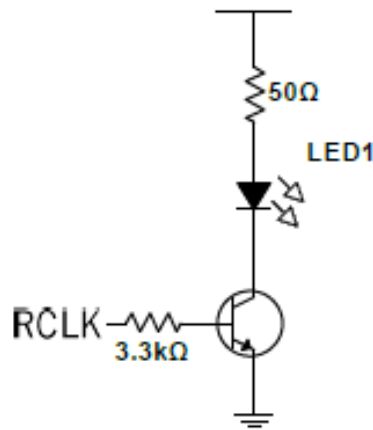


Figura 4.7 Pulso do LED fornecido pelo LOCK-IN.

Por fim na zona a vermelho tem-se a saída do *LOCK-IN* denominada OUPV esta saída esta ligada ao sistema de filtros que será explicado mais aprofundadamente na próxima secção.

4.1.6 Filtros analógicos

Os filtros analógicos são circuitos eletrónicos com função de atenuar frequências indesejadas de um sinal de entrada e manter o as frequências desejadas.

Na Figura 4.8 estão presentes os filtros realizados com o intuito de se obter o sinal pleetismográfico para os cálculos da percentagem de oximetria. Estes filtros por ordem são um passa-baixo Sallen Key de terceira ordem, passa-baixo Sallen Key de segunda ordem e por fim um filtro passa-banda.

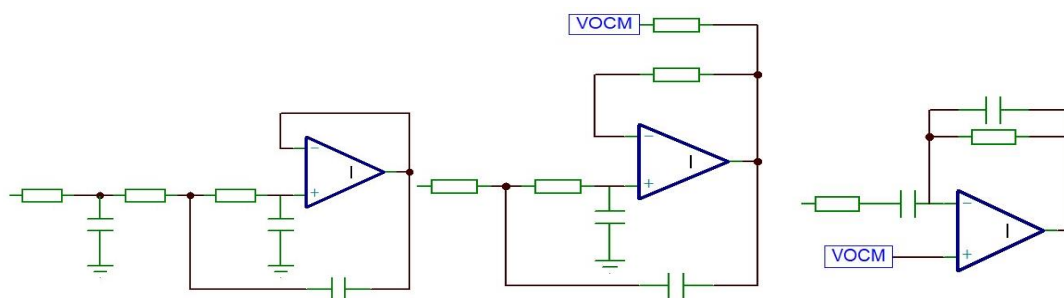


Figura 4.8 Esquemático dos filtros desenvolvidos.

O primeiro filtro pode ser observado com mais detalhe na Figura 4.9. Foram escolhidos estes valores de resistências e condensadores para se conseguir obter uma frequência de corte de aproximadamente 10Hz sendo que a fórmula para obtenção desta frequência é:

$$F_c = \frac{1}{2\pi\sqrt{R1 * R2 * R3 * C1 * C2 * C3}}$$

$$F_c = 9.96Hz$$

Sendo:

F_c = Frequência de corte.

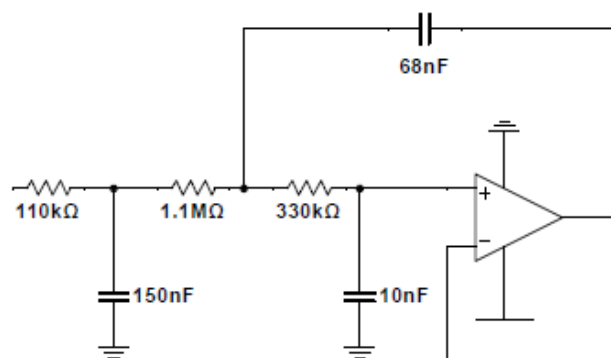


Figura 4.9 Filtro Sallen Key de 3ª ordem.

Este filtro foi simulado em MultiSim para garantia do seu funcionamento sendo que o resultado foi o expectável começando a atenuar por volta dos 10Hz.

Surgiu a necessidade de utilizar um segundo filtro passa-baixo, sendo este um Sallen Key de segunda ordem, pois, para calcular a percentagem de SPO_2 é necessário, obter a componente DC sendo que só com o primeiro filtro passa-baixo esta componente ainda apresentava algum ruído que poderia ser eliminado. Com este segundo filtro foi possível implementar ganho de tensão e permite a implementação de um *offset* para que o sinal apresentado se situe em metade do valor da alimentação do protótipo. O dimensionamento deste filtro encontra-se na Figura 4.10 tendo sido dimensionado para se obter uma frequência de corte de 10Hz pelo seguinte método:

$$F_c = \frac{1}{2\pi\sqrt{R1 * R2 * C1 * C2}}$$

$$F_c = 9.84 Hz$$

Foi aplicado um ganho de tensão neste filtro para se conseguir obter um sinal de maior amplitude sendo este ganho definido pela expressão:

$$G = \frac{R3 + R4}{R3}$$

$$G = 34$$

Sendo :

G = Ganho

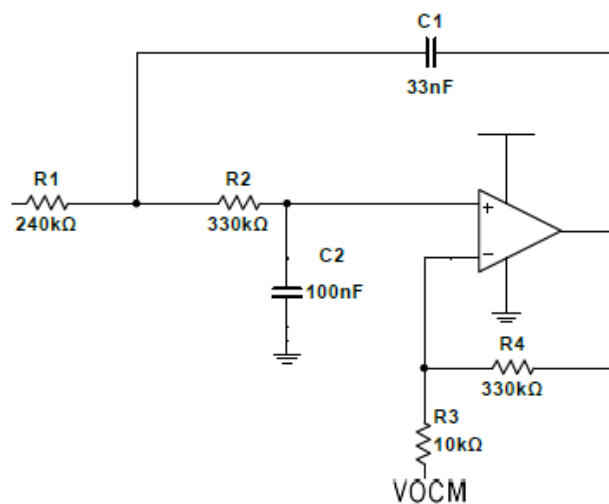


Figura 4.10 Filtro Sallen Key de 2ª ordem.

Por fim foi necessário realizar o filtro passa-banda para eliminar o restante ruído presente no sinal. Na Figura 4.11 está presente o filtro passa-banda implementado.

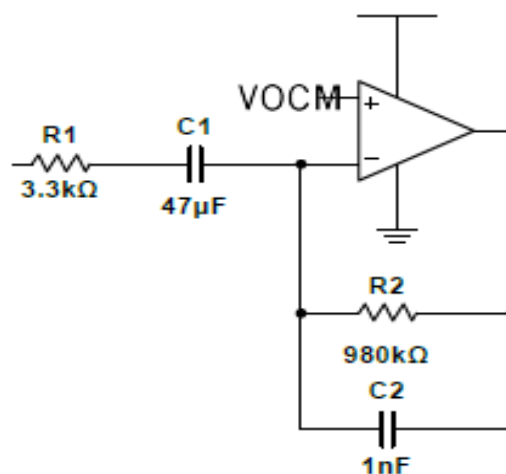


Figura 4.11 Filtro passa-banda.

Os cálculos para realizar a frequência de corte do filtro passa-baixo são:

$$F_{cb} = \frac{1}{2\pi\sqrt{R2 * C2}}$$

$$F_{cb} = 5 \text{ Hz}$$

Os cálculos para realizar a frequência de corte do filtro passa-alto são:

$$F_{ca} = \frac{1}{2\pi\sqrt{R1 * C1}}$$

$$F_{ca} = 0.4 \text{ Hz}$$

O ganho está representado por:

$$G = -\frac{R2}{R1}$$

$$G = 296$$

4.1.7 Regulador de tensão

O protótipo é alimentado com uma tensão de 3.3V, porém a bateria utilizada tem um desvio de tensão entre 2.7V a 4.2V, quando a carga é mínima ou máxima respetivamente. Assim, para normalizar a tensão que alimenta todo o protótipo foi usado um regulador de tensão para regular até 3.3V. O esquemático do circuito e o *PIN-OUT* está representado na Figura 4.12.

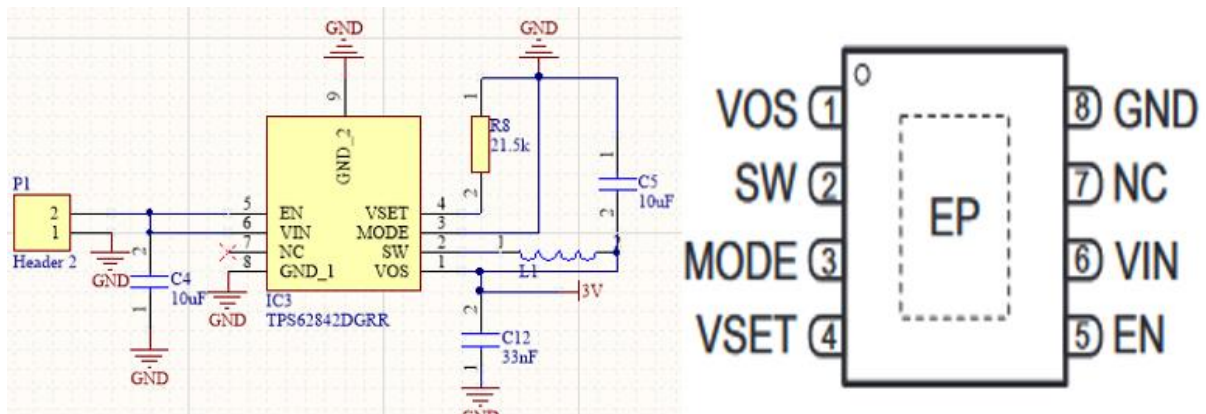


Figura 4.12 Esquemático do circuito do regulador e PIN-OUT.

O regulador escolhido foi o TPS62842DGRR devido ao facto da sua alta eficiência e o seu consumo extremamente baixo.

Os componentes utilizados neste regulador de tensão, foram maioritariamente retirados do *DataSheet* que, serão seguidamente referidos. O condensador C4, C5 e C12 são condensadores de desacoplamento tendo como função eliminar picos de tensão instantâneos(c12) e os condensadores (C4 e C5) para eliminar o ruído de baixas frequências.

A resistências R8 com o valor de 21.5k Ω foi escolhida através do *DataSheet* para se obter um valor na saída do regulador de tensão de 3.3V. A bobina L1 também foi escolhida do mesmo método correspondendo à indutância efetiva do regulador de tensão.

4.1.8 Bateria

Para otimizar a escolha da bateria é necessário estimar o consumo teórico e o consumo real do sistema desenvolvido sendo que um requisito do sistema é de aguentar 3 dias em operação não contínua. Isto é, o sistema principal liga o sensor durante cerca de dez minutos algumas vezes ao dia.

Na Tabela 4.1 pode-se verificar os consumos teóricos dos componentes utilizados, estes valores foram retirados dos *DATASHEET* dos respetivos. Cada PCB utiliza um ADA2200, seis amplificadores operacionais e um LED. Sendo que o consumo é distinto em cada uma delas devido ao consumo do LED.

Tabela 4.1 Consumos teóricos dos componentes

Componente	Consumo
ADA2200	395 μ A*2
Amplificadores operacionais	1mA*6*2
LED vermelho	30mA*0.5
LED infravermelho	50mA*0.5
Regulador de tensão	120nA
Total	52mA

O consumo do LED é dividido por 2 por este estar a pulsar com um *DUTY-CICLE* de 50% fazendo com que o LED esteja a *ON* metade do tempo e a *OFF* a outra metade.

Tendo em conta este consumo expectável de 52mA e a autonomia requerida para o projeto, foi necessário escolher uma bateria. Assim, para alimentar o protótipo é utilizada a bateria INR18650F1L da *LG CHEM* que apresenta uma tensão nominal de 3.63V e uma capacidade de cerca de 3350mAh. Foi escolhida esta bateria pelo compromisso entre o tamanho e capacidade apresentada. O cálculo para

a duração do protótipo será exposto na secção de consumos. Na Figura 4.13 é possível observar a bateria utilizada no desenvolvimento do protótipo.



Figura 4.13 Bateria utilizada no protótipo.

4.2 Etapas realizadas

O protótipo passou por três fases de desenvolvimento, sendo a primeira a realização de um esquema de circuitos em *BreadBoard*, passando o protótipo para *Veroboard* e finalmente o *design* e implementação de um circuito impresso mais conhecido por PCB. Cada uma destas placas de desenvolvimento pode ser constatada na Figura 4.14.

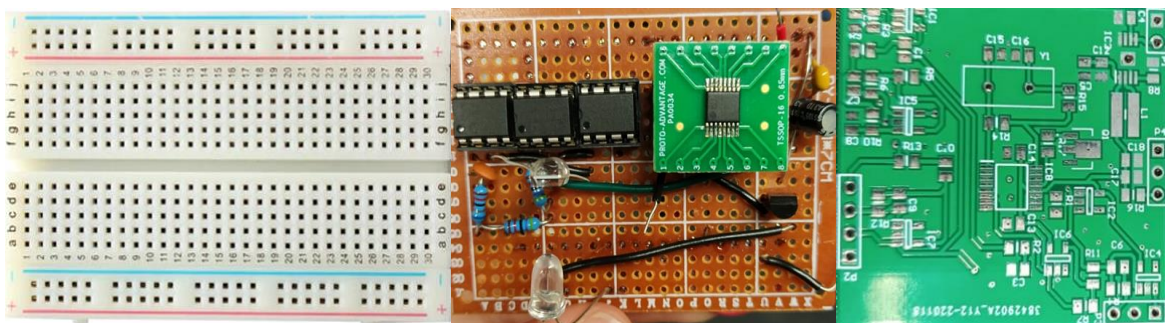


Figura 4.14 BreadBoard, Veroboard e PCB respetivamente.

A *BeardBoard* na Figura 4.14 à esquerda é considerada uma placa de testes eletrónicos visando construir protótipos sem qualquer solda facilitando a inserção e remoção de componentes sendo esta a sua principal vantagem. Por outro lado, esta vantagem também se torna uma desvantagem pois é possível a ocorrência de maus contactos e alguns difíceis de encontrar. Foi precisamente este o motivo o que levou a evolução do protótipo para uma *VeroBoard*.

A *VeroBoard* presente no centro da Figura 4.14 é também considerada uma placa de desenvolvimento, com a desvantagem de utilizar soldas, mas com a garantia que já não existem maus contactos, pois os componentes não podem ser removidos sem remover a solda. Tendo sido este o método utilizado para os testes iniciais do protótipo. Podendo ser vista na Figura 4.15 a *VeroBoard* que foi fabricada. De notar que para suporte do fotodiodo e do LED foi utilizada uma pinça que se encontra na imagem.

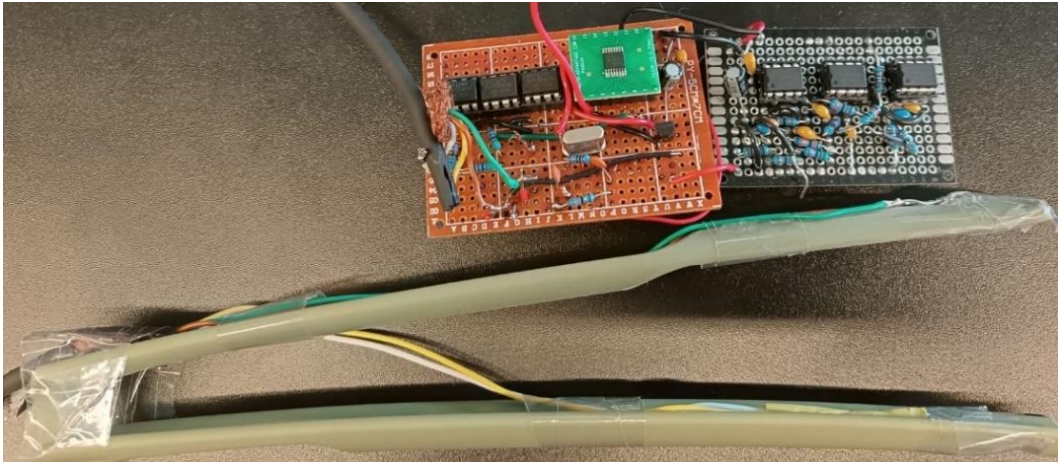


Figura 4.15 *VeroBoard* de testes.

De maneira a otimizar espaço e melhorar o desempenho foi realizada uma PCB do género da que pode ser observada na Figura 4.14 e o circuito final deste protótipo considera-se um sistema bastante evoluído devido à excelente performance, segurança e eficácia. Para realizar uma PCB é necessário começar com o desenho do esquemático dos circuitos visível na Figura 4.16.

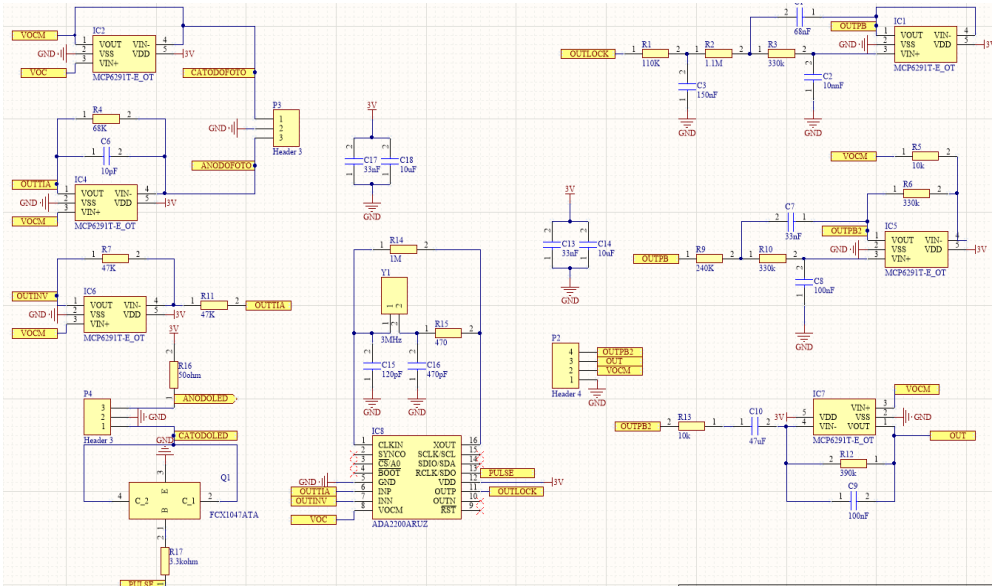


Figura 4.16 Esquemático da PCB realizada.

Aquando da realização do esquemático e da escolha de todos os componentes quer da sua gama de funcionamento, quer no seu tamanho concreto, torna-se necessário agrupar estes componentes de modo mais eficiente e de maneira a otimizar espaço. Este passo na realização da PCB pode ser observado na Figura 4.17 em duas categorias de visualizações uma 2D e outra 3D.

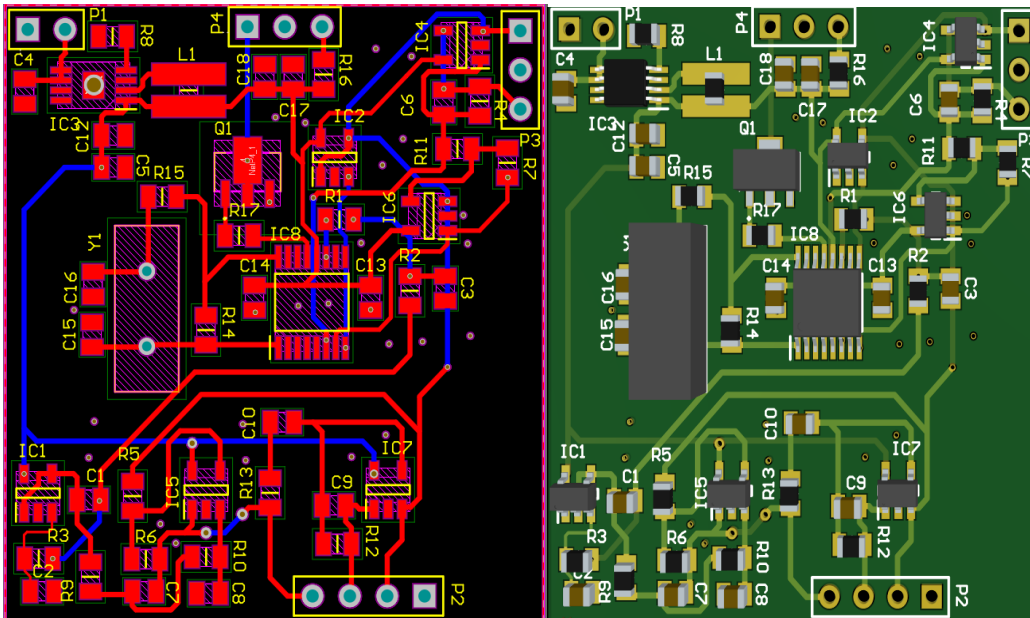


Figura 4.17 Camada em 2D e em 3D.

Por fim mandou-se imprimir a PCB numa empresa privada para se conseguir realizar os testes. Nesta etapa foi necessário soldar todos os componentes sendo na sua larga maioria do tipo SMD. Na Figura 4.18 pode-se verificar as diferenças entre a PCB sem os componentes e com os componentes soldados.

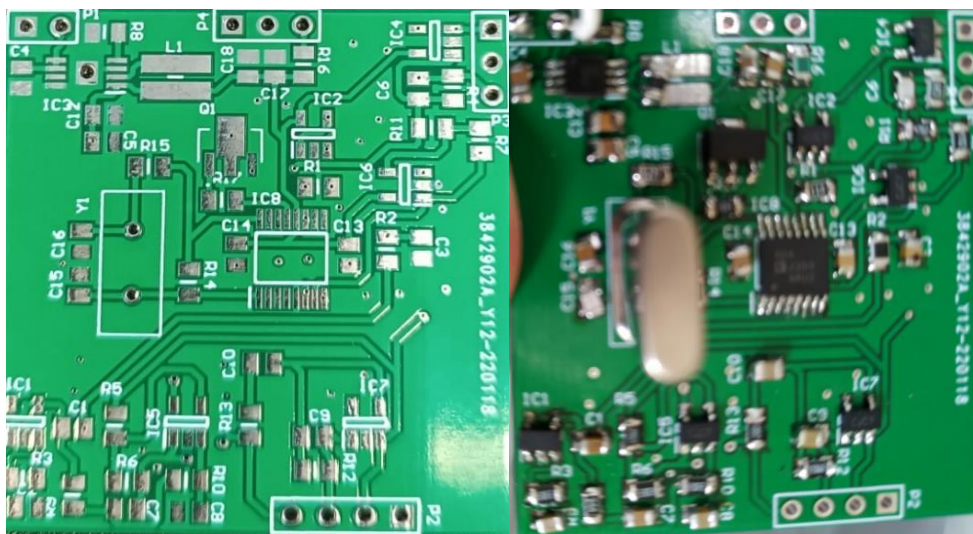


Figura 4.18 Diferença da PCB com e sem componentes soldados.

4.3 Teste ao sistema de aquisição de sinal

Para uma melhor compreensão das etapas supracitadas vai ser demonstrado todos os testes iniciais realizados ao protótipo.

O primeiro teste realizado foi para garantir que o LED pulsa na frequência desejada, pois sem esta frequência o amplificador *LOCK-IN* não consegue processar o sinal. O sinal de entrada presente na Figura 4.19 à esquerda tem como frequência de 360kHz, esta frequência foi escolhida com base no *DATASHEET* do amplificador *LOCK-IN*. Este, por processos internos faz com que o sinal de entrada se divida por 64 fazendo com que a frequência do pulso do Led seja de aproximadamente 360kHz a dividir por 64 dando um valor de 5.6kHz. Como se pode ver na Figura 4.19 o LED funciona nas conformidades do que foi descrito.

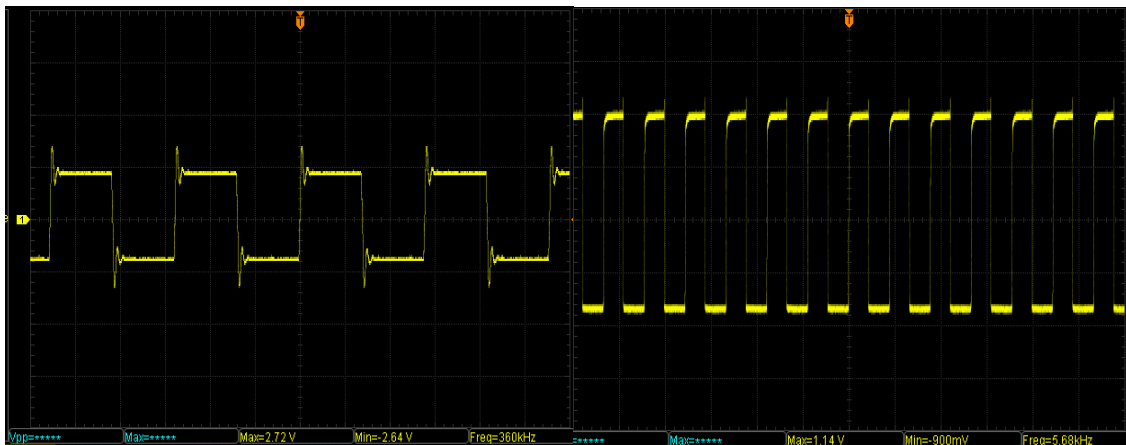


Figura 4.19 CLOCK IN e pulso do LED.

Em seguida, para verificar se a recepção da luz emitida pelo LED estava como previsto, verificou-se a saída do circuito de transimpedância. Nesta fase foram realizados dois tipos de testes: um em que a passagem de luz é máxima e outro com o dedo de um voluntário entre o LED e o fotodíodo. Na Figura 4.20 está presente o resultado dos testes e uma imagem representativa dos testes.

Nos dois momentos, os testes estão como esperado. No teste com a passagem de luz máxima, o sistema está em saturação o que não é crítico tendo em conta que na passagem total da luz não se pode fazer qualquer medição, com o dedo do voluntário no meio, é criado um obstáculo no caminho da luz na frequência em que o LED está a pulsar a onda tende a se encontrar no valor de metade da escala de tensão. Provando deste modo, que o sistema de transimpedância funciona.

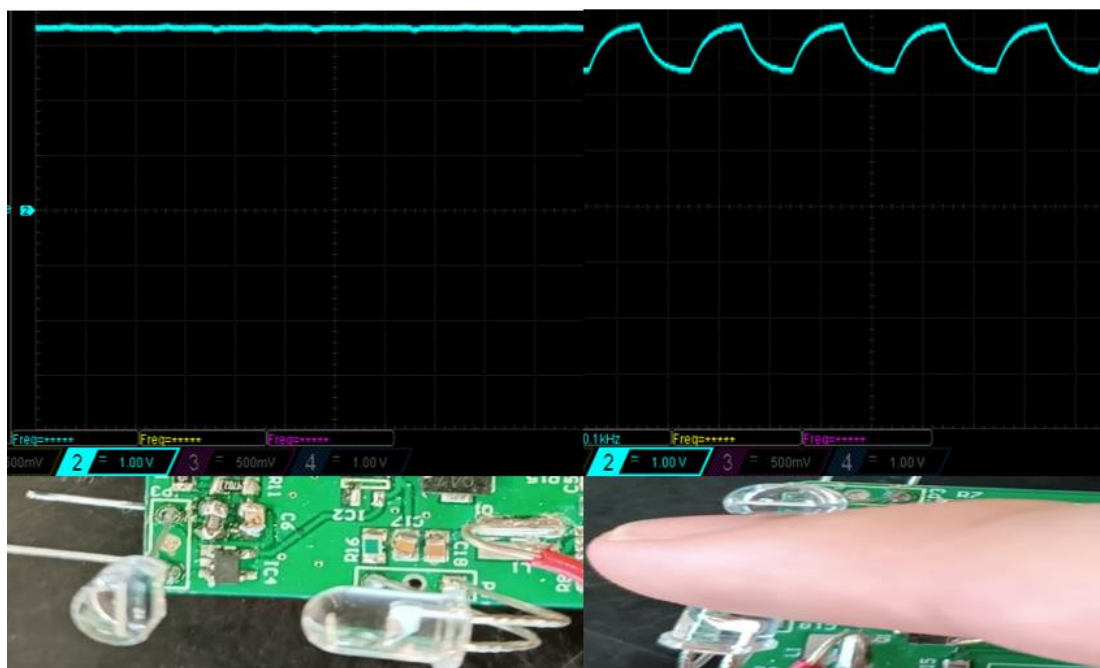


Figura 4.20 Teste ao circuito de transimpedância

Neste momento da dissertação é necessário estudar a saída do circuito amplificador *LOCK-IN* para verificar se este, está a funcionar nas conformidades necessárias. Assim, para a verificação teve de ser observado se o valor médio do sinal de entrada variava proporcionalmente com a saída do *LOCK-IN* para isso foram realizados dois testes: um com o dedo polegar e outro com o dedo mindinho para verificar que amplitude do sinal variava na saída consoante a intensidade de luz incidente no fotodíodo na entrada, sendo que com uma menor luz incidente a amplitude do sinal deve ser menor.

Na Figura 4.21 estão presentes estes mesmos testes, na direita, o teste com o dedo mindinho, na parte de cima pode-se observar uma amplitude de pico com cerca de 500mV e na parte de baixo o seu respetivo valor DC medido na saída do filtro passa baixo. Na esquerda da Figura 4.21 pode-se atentar o teste com o dedo polegar, este apresenta uma amplitude de cerca de 250mV confirmando que a intensidade de luz é menor com este dedo no fotodíodo logo a amplitude de saída no amplificador *LOCK-IN* também é menor. Na parte de baixo à esquerda também se confirma o valor DC do dedo polegar tendo uma amplitude de cerca de 200mV mais baixo do que o dedo mindinho.



Figura 4.21 Saída do amplificador LOCK-IN.

Com este teste foi possível verificar que o Amplificador *LOCK-IN* está a funcionar conforme o esperado podendo se passar para a próxima fase de testes.

Para finalizar os testes foram testados os filtros realizados. Na saída do segundo filtro tem-se a componente DC do circuito utilizado para realizar os cálculos de SpO_2 e na saída do filtro passa-banda tem-se o sinal pletoisomográfico, como se pode atentar na Figura 4.22.

Para realizar este teste foi necessário um voluntário colocar um dedo entre o Led e o fotodiodo para verificar se o circuito conseguia de facto realizar um sinal de onda pletoisomográfica. Na Figura 4.22 consegue-se verificar em cima o sinal pletoisomográfico retirado da literatura e a baixo o resultado obtido em laboratório.

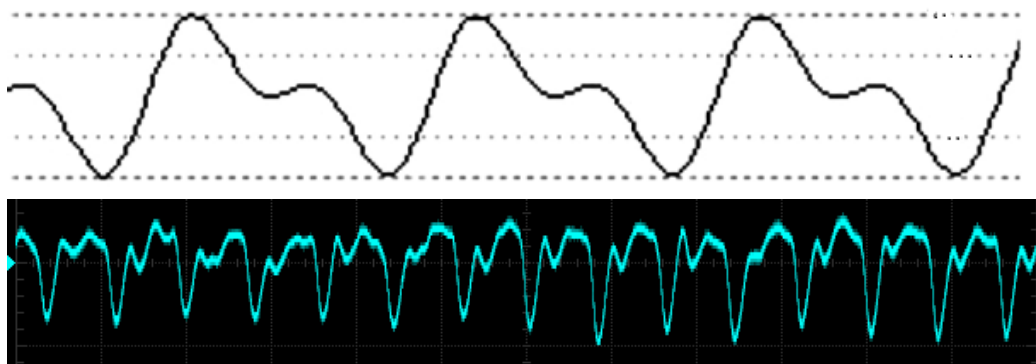


Figura 4.22 Sinal pletoisomográfico retirado da literatura adaptado de [30] e sinal pletoisomográfico de laboratório.

A grande diferença entre estes dois sinais é uma inversão do sinal. Isto acontece devido à saída *LOCK-IN* escolhida no decorrer dos testes realizados. No Capítulo de testes em ambiente controlado será descrito de uma maneira mais aprofundada os testes realizados.

4.4 Consumos teóricos e consumos reais

Tabela 4.2 estão presentes os consumos reais e consumos teóricos do protótipo desenvolvido em funcionamento contínuo.

Tabela 4.2 Consumo real e consumo teórico

Consumo real	Consumo teórico
55mA	52mA

Como já referido anteriormente, um requisito do protótipo é deste durar 3 dias em funcionamento não contínuo. Assim, com o consumo real do sistema e a capacidade da bateria é possível estimar o tempo que o protótipo dura em operação contínua. O cálculo para realizar o tempo estimado que a bateria vai durar é o seguinte:

$$T = \frac{C}{I}$$

$$T = \frac{3,350}{0,055}$$

$$T = 60.9$$

Sendo que o T é o tempo que a bateria dura em horas, o C é a capacidade da bateria em Ampere/Hora e por fim o I é a corrente consumida pelo circuito em Ampere.

Convertendo para dias:

$$D = \frac{60.9}{24}$$

$$D = 2.5$$

Sendo D a conversão de horas para dias.

Assim, a duração em tempo contínuo do protótipo é de cerca de 2 dias e meio. Se se considerar que o protótipo é apenas utilizado uma vez por hora em intervalos de 15 minutos, tem-se que o sistema é utilizado 360 minutos por dia, ou seja, 6 horas por dia.

$$D = \frac{60.9}{6}$$

$$D = 10.15$$

Na condição supracitada obtém-se uma duração de cerca 10 dias de bateria satisfazendo na totalidade o requisito da bateria necessário.

5. Testes em ambiente controlado

No capítulo de testes em ambiente controlado, vai se expor os testes protótipo que foram realizados. É necessário ter em conta que existiram dois géneros de testes em ambiente controlado, os testes iniciais, feitos em laboratório em seres humanos para verificar se o hardware está corretamente desenvolvido e os testes em ambiente controlado, tendo sido estes realizados numa raia.

5.1 Testes em Humanos

Assim como descrito, começou-se por testar o sistema em seres humanos para verificar se foi possível obter o sinal pletoisomográfico em cada um do sistema com cada um dos LED. Na Figura 5.1 é possível verificar a onda pletoisomográfica realizada num dedo humano com o LED infravermelho e com o LED vermelho respetivamente.

A amplitude presente no LED vermelho é inferior à do LED infravermelho, pelo facto do LED infravermelho escolhido ter uma corrente e intensidade luminosa maior que a do LED vermelho, este fenómeno faz com que menos luz seja recebida no circuito de transimpedância e por consequência exista uma amplitude maior do sinal. Sendo que não existe qualquer tipo de problema, pois, o R é calculado através de proporções inerentes a cada um dos LED e a relações entre os LED.

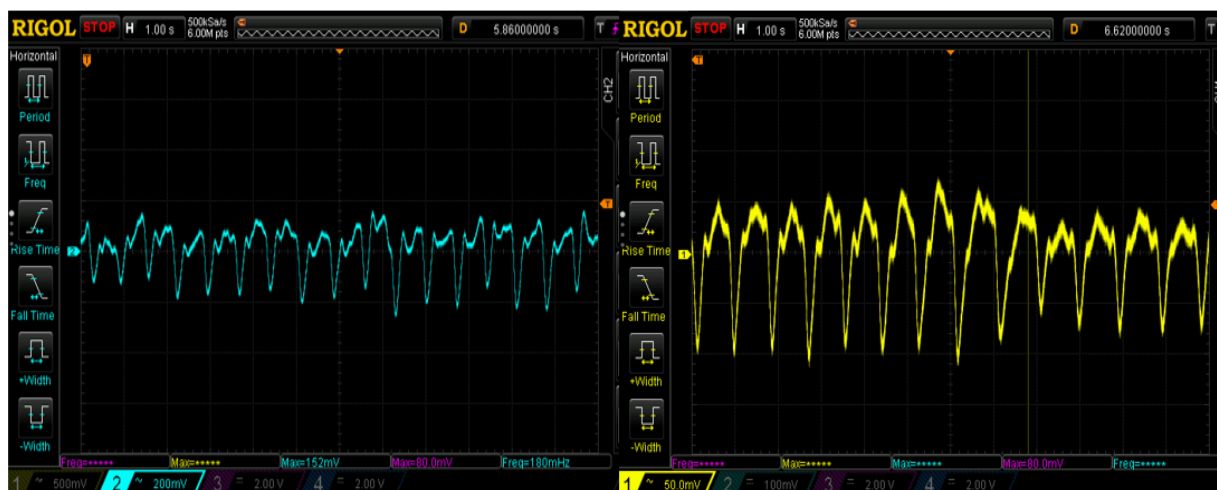


Figura 5.1 Sinal obtido através do LED infravermelho (esquerda) e do LED vermelho (direita). Note-se que a escala de tensão é diferente.

Como na dissertação se utiliza um sistema com 2 fotodiodos e 2 LEDs em simultâneo, é importante ter a certeza que as frequências de oscilação dos LED não interferem uma com a outra na medida em que o fotodiodo preparado para a frequência do LED vermelho não tem interferência com o pulsar do Led infravermelho. Esta interferência poderia causar um ruído crítico fazendo com que o

protótipo deixasse de funcionar. Na Figura 5.2 pode-se ver a montagem realizada para avaliar esta interferência.

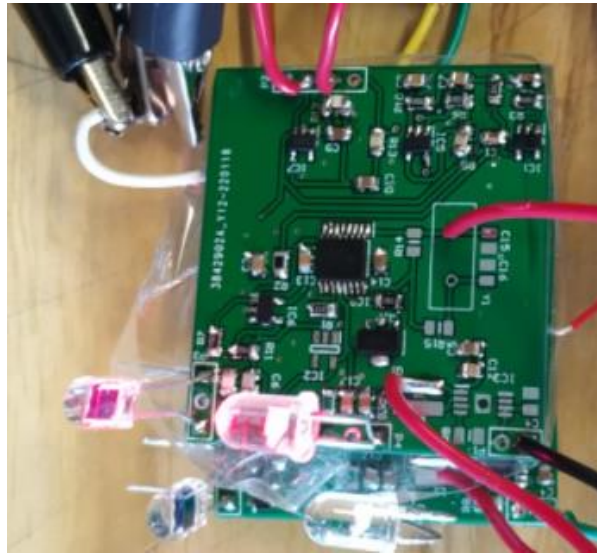


Figura 5.2 Montagem das duas PCB

O resultado é positivo e pode ser visto na Figura 5.3 na medida em que o pulsar do LED vermelho não interfere com o pulsar do LED infravermelho e vice-versa tratando se assim de uma corroboração do funcionamento do *LOCK-IN* implementado. A amplitude do LED vermelho é inferior à do LED infravermelho como já foi falado anteriormente.

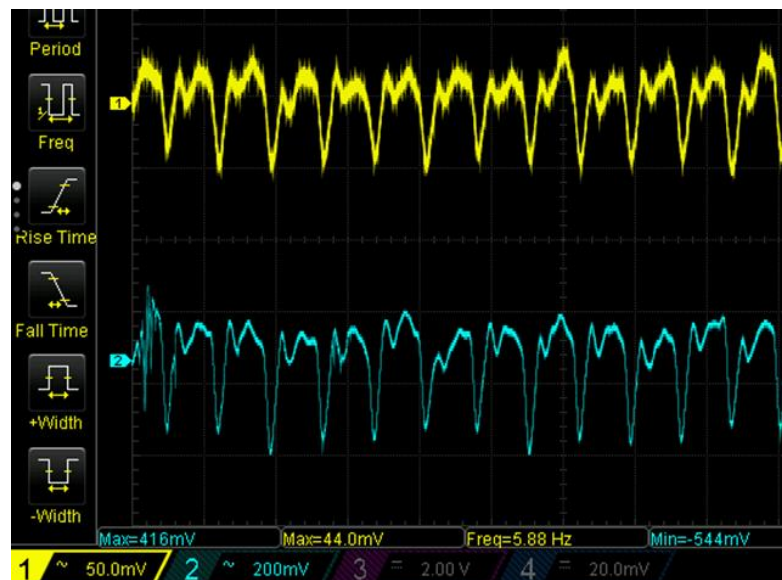


Figura 5.3 Resultado do teste com os dois LED.

Para uma melhor compreensão da Figura 5.3 passaram-se os dados para Excel com o intuito de verificar se os picos do sinal estavam realmente sincronizados. Na Figura 5.4 têm-se um gráfico linear com todos os valores adquiridos no osciloscópio sendo a escala horizontal o tempo em segundos.

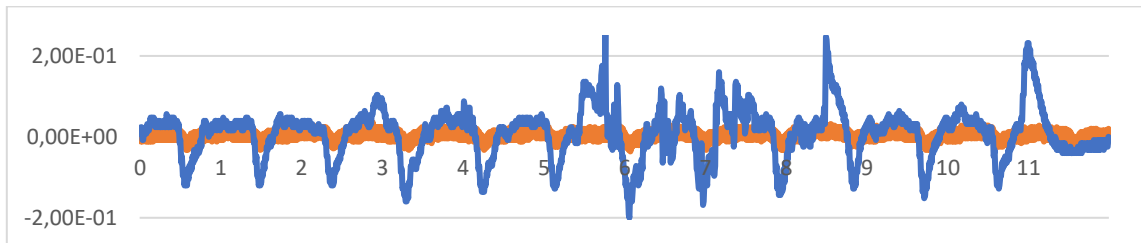


Figura 5.4 Resultado do teste em Excel.

O sinal presente na Figura 5.4 tem um ruído bastante elevado não sendo possível tirar conclusões. Assim com o intuito de melhorar a qualidade do sinal e verificar se os picos são totalmente coincidentes, utilizou-se o comando *media* para realizar um filtro com a média de 3 valores. Realizando assim um filtro passa-baixo tornando o sinal mais limpo como se pode verificar na Figura 5.5.

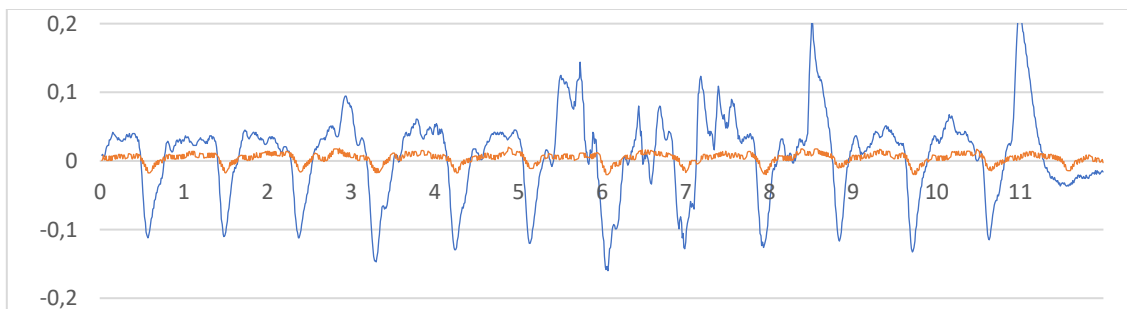


Figura 5.5 Sinais sobrepostos em Excel com aplicação do filtro média.

Com o gráfico da Figura 5.5 é possível obter o batimento cardíaco do voluntário em questão sendo o seu batimento cardíaco de:

$$BPM = \frac{n^{\circ} \text{ de picos} * 60}{11}$$

$$BPM = 71$$

Deste modo pode-se inferir que o voluntário estava com cerca de 71 batimentos por minuto.

Durante a fase de testes surgiu a oportunidade de se testar o protótipo com um diferente fotodiodo que apresenta umas características superiores ao referido na escolha do *hardware* com um tamanho muito superior e custo mais elevado. Assim, nesta fase de testes, vão ser expostos os diferentes resultados obtidos com os diferentes fotodiodos. Foi também testado a utilização de múltiplos LED em

vez da utilização de só um com o intuito de verificar se existe uma melhoria no sinal que compense o consumo mais elevado com os LED extra.

Assim, o fotodíodo que surgiu a oportunidade de ser testado é o fotodíodo da *HAMAMATSU* o modelo S1223-01 presente na Figura 5.6 no lado direito e o utilizado no protótipo encontra-se à esquerda. De notar que a figura não está à escala, porém no *DATASHEET* dos fotodíodos encontram-se as respetivas áreas fotossensíveis sendo que o utilizado no protótipo apresenta cerca de metade desta área, porém o preço do S1223-01 é cerca de 40 vezes maior.



Figura 5.6 Fotodíodo testado e fotodíodo utilizado.

Foi necessário preparar a pinça utilizada para este tipo de testes com diferentes números de LED e com os diferentes fotodíodos. Na Figura 5.7 pode-se verificar a pinça adaptada, na parte de cima desta, realizaram-se 3 furos com o diâmetro dos LED utilizados para se poderem fazer testes com um LED ou três LED em simultâneo. À esquerda pode-se verificar o fotodíodo utilizado no decorrer da dissertação e à direita o fotodíodo da *HAMAMATSU*.

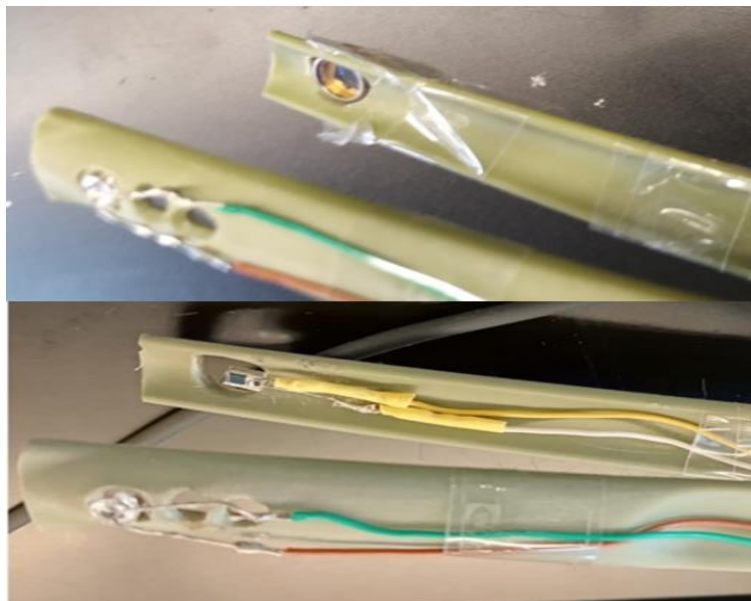


Figura 5.7 Pinça adaptada aos diferentes testes.

O primeiro teste realizado foi um teste para verificar os fotodíodos e entender se valeria a pena alterar o fotodíodo escolhido no protótipo considerando o tamanho e o preço do da *HAMAMATSU*. Assim, foi realizado um teste com a alteração dos fotodíodos. Os resultados podem ser vistos na Figura 5.8 sendo que estes variam muito pouco consoante a alteração dos fotodíodos. A onda representada na parte de baixo é do fotodíodo utilizado ao longo de toda a dissertação e a de cima é do fotodíodo da *HAMAMATSU*.

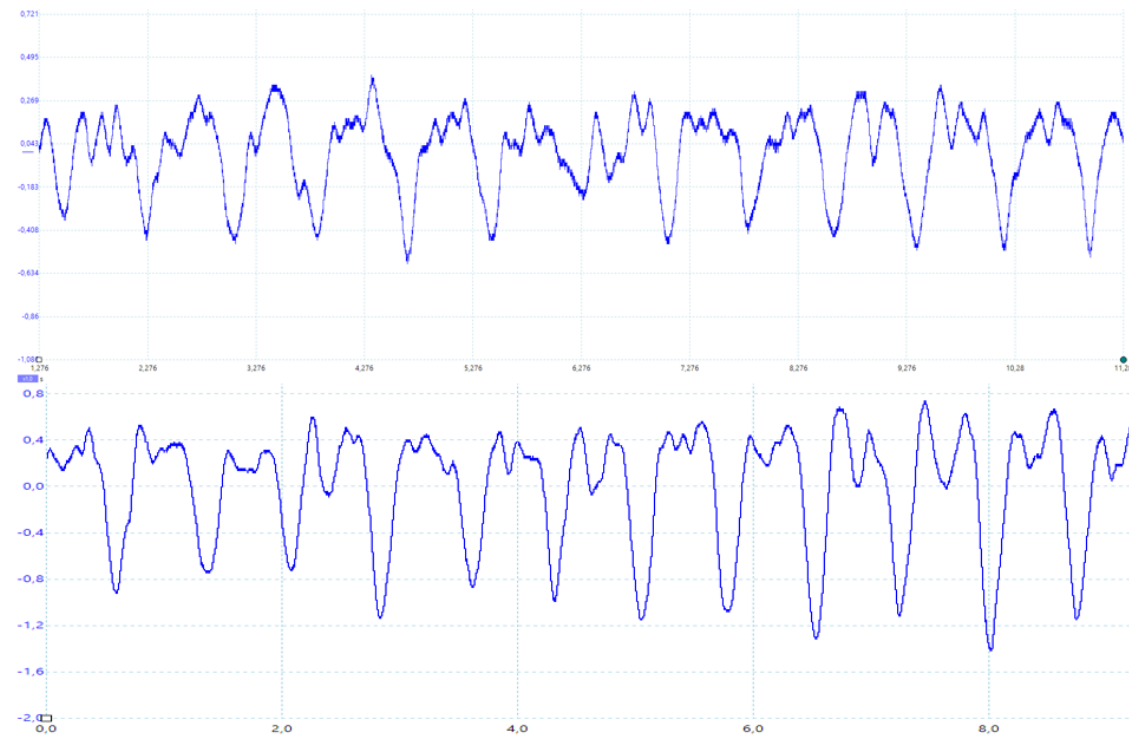


Figura 5.8 Sinal obtido com o fotodíodo da HAMAMATSU (cima) VS fotodíodo utilizado.

O resultado deste primeiro teste demonstrou que não existia um melhor resultado ao utilizar o fotodíodo da *HAMAMATSU* verificando-se o contrário, pois, o resultado com o fotodíodo utilizado na dissertação apresentou um pico de amplitude maior.

O segundo teste realizado foi com a utilização de mais LEDs, neste caso 3 em paralelo, para verificar se o acréscimo de ângulos de luz incidente no fotodíodo influenciaria de maneira a melhorar o sinal obtido. Na Figura 5.9 demonstra os resultados obtidos, estando presente na parte de cima o resultado com os 3 LED e na parte de baixo o resultado com apenas um LED.

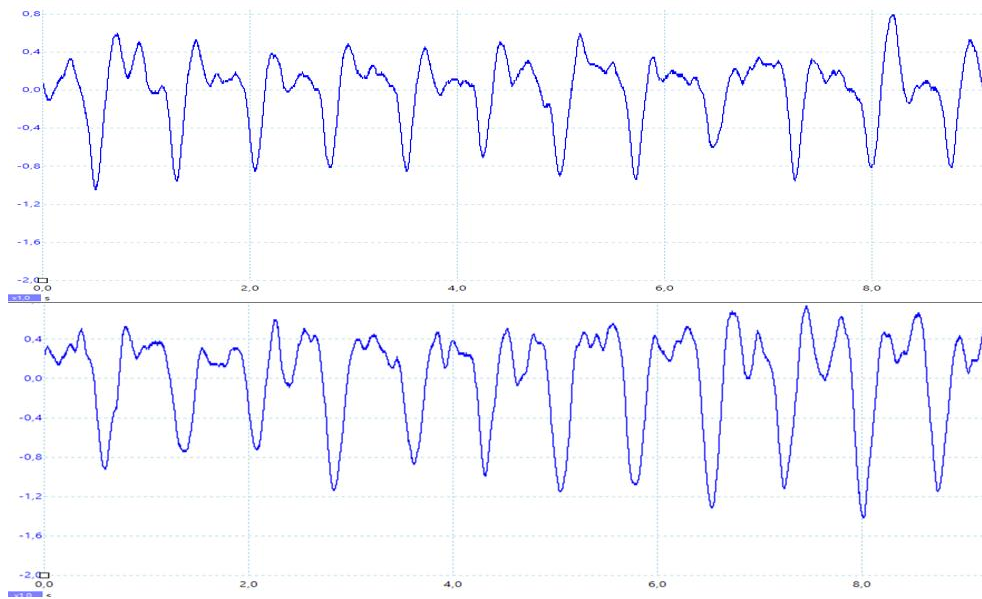


Figura 5.9 1 Sinal obtido com 3 LEDs (em cima) comparado com apenas um LED (baixo).

A conclusão a que se chegou neste teste foi que não é necessário este acréscimo de LED em paralelo não havendo alterações muito visíveis no resultado, não compensando este acréscimo de LED.

Seguidamente, o protótipo foi testado por diferentes voluntários para verificar se este funciona com diferentes tipos de pele. O primeiro teste foi realizado numa voluntária de 22 anos presente na Figura 5.10 à direita, o segundo foi realizado num voluntário de 25 anos.



Figura 5.10 Testes realizados a voluntários.

É possível concluir assim que a tecnologia desenvolvida funciona em seres humanos sendo possível obter sinais pletoimográficos com amplitudes bastante visíveis com variações entre os diferentes voluntários como seria de esperar.

5.2 Testes Raias

Para que os testes fossem o mais simples e eficazes possível e para serem realizados da melhor maneira foi necessário otimizar o método de como e em que local seriam realizados. Optou-se, como já referido anteriormente, por locais que pareciam ser mais vascularizados sendo estes o comprimento pré-orbital, junto ao espiráculo e em alguns locais do disco da raia.

Graças a uma equipa de investigação da câmara de Esposende, que conseguiu capturar duas espécies de raias de água salgada em dias diferentes, foi possível a realização destes testes. Cada uma das espécies foi armazenada num contentor com água do mar recolhida no local de captura. Este contentor pode ser observado na Figura 5.11 tendo como grande vantagem a facilidade da remoção do animal para fora de água conseguindo controlar sempre o ambiente e os testes em questão.



Figura 5.11 Contentor de armazenamento da raia.

A oportunidade da realização dos testes teve lugar numa fase inicial desta dissertação, sendo que todos os resultados a partir deste ponto da escrita foram retirados da *VeroBoard*.

No primeiro teste, realizado no passadiço da praia da Apúlia, o protótipo ainda necessitava da utilização de um gerador de sinais, osciloscópio de laboratório e uma fonte de tensão tendo sido necessário alimentar estes instrumentos de investigação. Para solucionar este problema, utilizou-se um inversor ligado à bateria do carro, que serviu para converter a tensão da bateria de 12V para a tensão nominal da rede elétrica de 220V. Na Figura 5.12 consegue-se observar toda a montagem para fazer este teste.

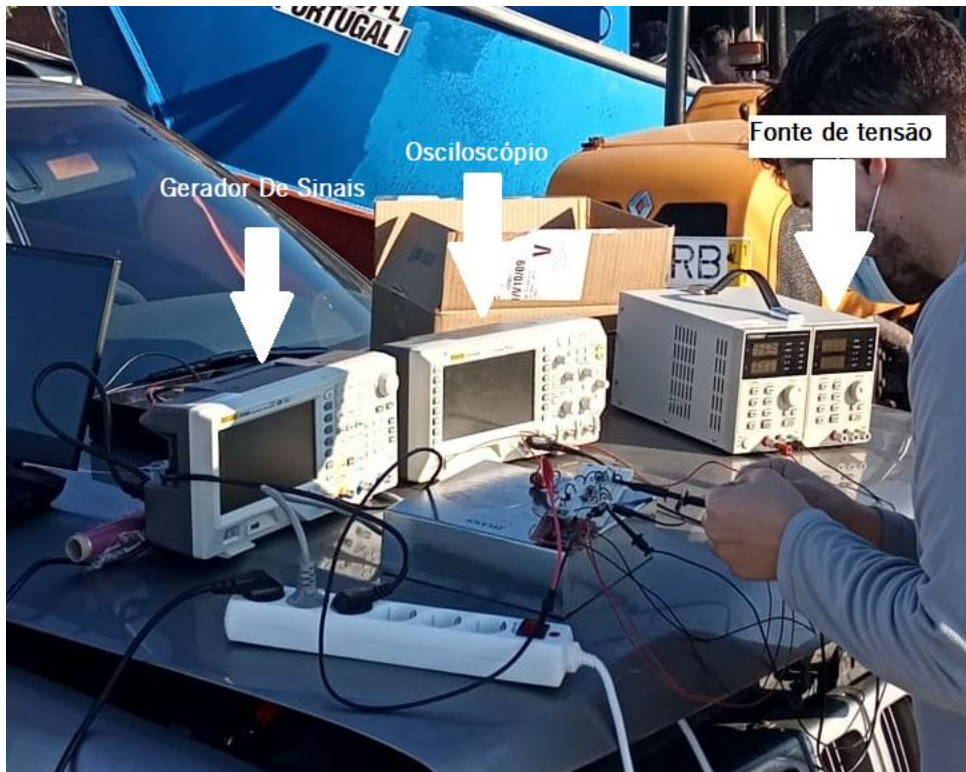


Figura 5.12 Montagem realizada no primeiro teste.

Este primeiro teste, não correu como esperado não tendo sido possível obter qualquer tipo de resultado. Supõe-se que alguns fatores para o insucesso foram, como por exemplo, o inversor introduzir ruído na rede elétrica e o próprio carro a funcionar criava bastante movimento podendo fazer com que o circuito não funcionasse como o esperado. O resultado deste teste pode ser observado na foto da Figura 5.13 apesar deste não conter qualquer tipo de informação útil.



Figura 5.13 Resultado do primeiro teste realizado.

Assim para realizar o segundo teste foi necessário substituir os aparelhos de medida como o osciloscópio de bancada, a fonte de tensão e o gerador de sinais. Para substituir a fonte de tensão e o gerador de sinais utilizou-se um *Arduíno uno* para alimentar o sistema e gerar uma onda quadrada para

o funcionamento do *LOCK-IN*. Para a substituição do osciloscópio de bancada utilizou-se o PicoScope sendo que este, é um osciloscópio com a possibilidade de analisar os sinais no computador sendo bastante útil para este tipo de testes em que só é necessária a bateria do computador e o *software PicoScope 6* para obter em tempo real e armazenar o sinal de todo o protótipo. Na Figura 5.14 pode-se atentar o protótipo modificado.

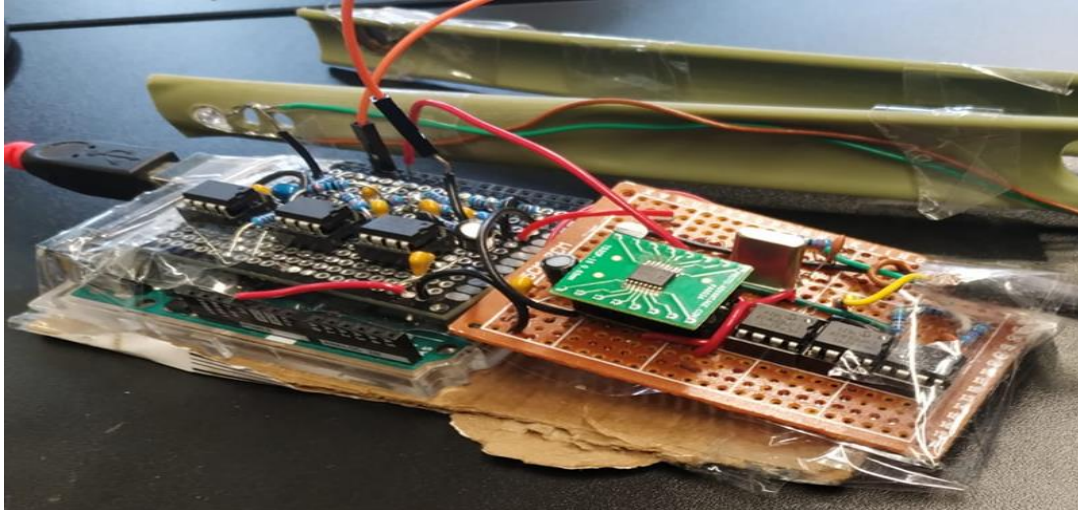


Figura 5.14 Protótipo adaptado para os testes.

Durante a realização dos testes experimentou-se alterar os locais onde se colocava a pinça móvel para tentar entender em qual destes é que o sinal pletoisomográfico apresentava melhores resultados, tendo sido os melhores junto ao respiráculo. Os testes foram realizados como se pode ver na Figura 5.15 com a raia na parte de fora do contentor que a mantinha viva. A pinça de teste foi isolada de modo que não ocorressem curto-circuitos inesperados devido à humidade e viscosidade presente no animal.



Figura 5.15 Teste realizado na raia viva.

Depois de realizados e guardados os testes com auxílio do software fornecido pela PicoScope na Figura 5.16 tem-se presente um teste realizado na raia em que não é possível obter qualquer tipo de dados referentes ao batimento cardíaco ou forma de onda pletismográfica. Estes resultados aconteceram devido ao facto de a raia estar em stress e por causa de isso não parar de se mexer.

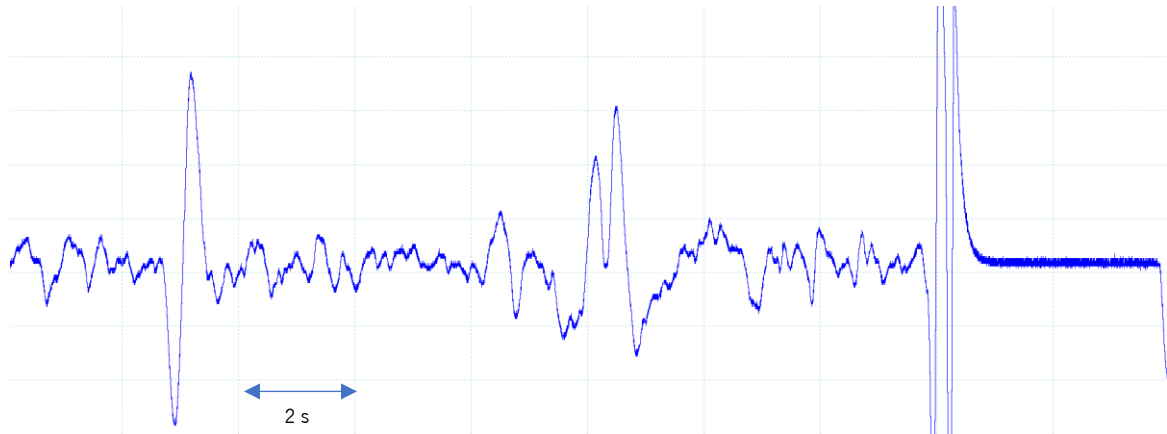


Figura 5.16 Teste com resultado erróneo na raia.

No sinal obtido da Figura 5.17 o animal já estava mais calmo e consegue-se observar uns pulsos cíclicos com semelhanças ao batimento cardíaco.

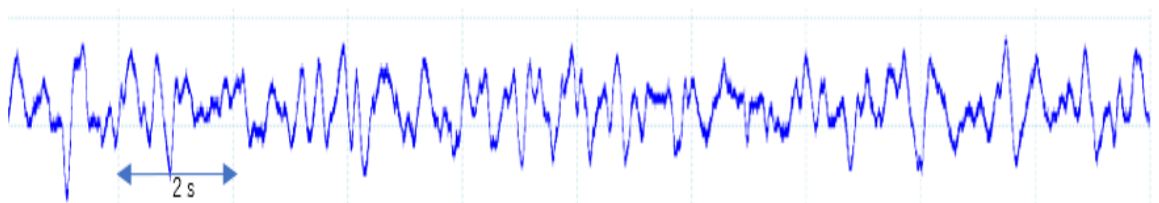


Figura 5.17 Teste com semelhança ao resultado obtido em humanos

Por fim, para uma melhor análise da Figura 5.17 decidiu-se ampliar o sinal para realizar o cálculo do batimento cardíaco. Podendo esta imagem ampliada ser observada na Figura 5.18 considerando que a escala tem um valor de 0.5 segundos

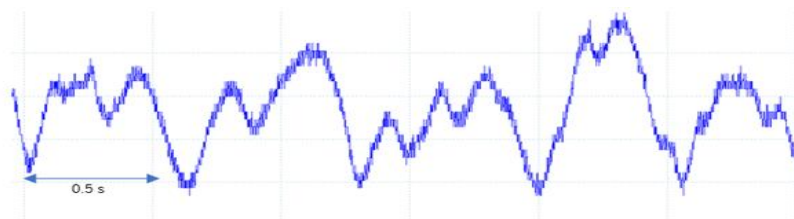


Figura 5.18 Teste ampliado em local de interesse.

É possível obter o batimento cardíaco teórico desta raia utilizando a seguinte expressão:

$$BPM = \frac{n^{\circ} \text{ de picos} * 60}{3}$$

$$BPM = 100$$

Assim, consegue-se estimar que a raia estaria com um batimento de 100 pulsações por minuto. Este valor parece fazer sentido visto que a raia se encontrava numa situação de stress fora do seu habitat natural.

6. Conclusões e Trabalho Futuro

Neste último capítulo são apresentadas as conclusões referente ao desenvolvimento desta dissertação. Serão expostos os resultados e será feita uma reflexão referente ao que melhorar no protótipo desenvolvido e que outra abordagem poderia ter sido considerada.

6.1 Conclusões

Esta dissertação descreve todo o processo de desenvolvimento, desde o estudo do hardware até ao desenvolvimento do protótipo e testes em ambiente controlado de um sensor de batimento cardíaco e oximetria. No decorrer do trabalho realizado foi estudado o funcionamento da oxigenação sanguínea, a história da oximetria de pulso, que métodos existem para obtenção de oximetria desde os invasivos até aos não invasivos, como realizar as curvas de calibração, que tipos de oxímetros existem no mercado e as suas limitações, o que existe acerca de oximetria em animais e por fim a fisionomia das raias, sendo este o ser que foi estudado em testes em ambiente controlado.

Relativamente aos requisitos que são esperados do protótipo, este conseguiu eficazmente obter sinais pletismográficos com os diferentes comprimentos de onda, o do vermelho e do infravermelho. Com este sinal já é possível obter o batimento cardíaco através da observação dos picos e para obter a oximetria seria necessário integrar um microcontrolador para realizar os cálculos que foram expostos. A duração da sua bateria cumpre o requisito do projeto de durar três dias em modo não contínuo sendo que a sua duração neste modo é de cerca de 10 dias.

Para validar o funcionamento do protótipo foi necessário estudar como funciona a aquisição do sinal, como se poderia utilizar um amplificador LOCK-IN e como adaptar os filtros estudados ao longo do decorrer do curso para o efeito pretendido. Concluindo-se que a técnica transmissiva deveria ser utilizada, pois para ter um LED a pulsar para um fotodiodo integrado a um circuito de transimpedância seria de maior facilidade da fixação com a utilização de uma pinça. A utilização de amplificadores LOCK-IN seria um ótimo recurso para aumentar a sensibilidade do protótipo pelo facto de se puderem utilizar dois LED a pulsar em simultâneo com maiores amplitudes desde que em frequências diferentes e por fim com os filtros utilizados nas frequências estudadas seria possível obter o sinal pletismográfico.

Para testar o funcionamento do protótipo testou-se todo o hardware realizado começando por ter a certeza de que o pulso de LED estava correto, que o sinal estava a ser recebido no circuito de transimpedância, o funcionamento do amplificador LOCK-IN, a verificação dos filtros analógicos, e por

fim os consumos reais e esperados. Em suma, todos estes testes estavam na conformidade do que seria esperado tendo sido considerados uma passagem para realizar testes em seres humanos.

Em seres humanos, o protótipo realizado foi testado para verificar a sua capacidade de realizar a leitura de ondas pletismográficas em diferentes indivíduos surgindo também nesta fase a possibilidade de testar diferentes tipos de fotodíodos e quantidades de LED. Chegando a conclusão de que o protótipo está em funcionamento para diferentes indivíduos e que o acréscimo de fotodíodos com características superiores ou um maior número de LED não surtiu melhoria na aquisição dos sinais.

Por fim foram realizados testes em ambiente controlado em raias. Este teste demonstrou-se positivo na medida em que a tecnologia desenvolvida parece funcionar apesar de não existir a garantia que o sinal medido é de facto o sinal real. No entanto, o movimento do animal e a fixação insuficiente do sensor torna difícil a obtenção dos sinais pletismográficos.

6.2 Trabalho Futuro

Para começar este capítulo considera-se importante frisar que existem melhorias a ser realizadas, quer pelo que poderia ter sido alterado no decorrer da dissertação, quer por maneiras de melhorar o protótipo realizado para que no futuro este consiga obter melhores resultados.

Para trabalho futuro espera-se integrar este sensor desenvolvido com um microcontrolador para ter a capacidade de realizar os cálculos de oximetria e batimento cardíaco em tempo real e armazenar esses dados para análise futura. É esperada uma melhoria na pinça, pois, o movimento é sem dúvida uma grande limitação do oxímetro e o animal marinho no seu habitat esta em movimento constante. Assim, a melhoria da pinça tem como intuito a melhor fixação no animal para que os problemas relativos ao movimento sejam reduzidos.

Uma melhoria drástica do protótipo seria também juntar as duas PCB numa única fazendo que somente uma placa disponha dos dois fotodíodos, dois LED, e dois *LOCK-IN* esperando-se encontrar LED com menores consumos e com as mesmas características, sendo que, estes são o elemento que mais corrente consome no protótipo realizado no decorrer da dissertação.

Para se realizar testes em ambiente real, será necessário envolver o protótipo em epóxi para este se tornar resistente às diversas condições presentes nos oceanos onde se encontram os animais marinhos.

Por fim, em diálogo com um biólogo surgiu a hipótese da pinça utilizada ser removida e passar-se para uma abordagem um pouco invasiva, isto é, a utilização de duas agulhas espaçadas entre si cerca de 2cm sendo que numa das agulhas estarão presentes os LED e na outra agulha os fotodíodos, estando ligadas ao restante protótipo que se encontra encostado ao animal. Esta abordagem é algo a ser estudado visto que, ao espetar uma agulha nas espessas camadas adiposas de alguns animais marinhos estes, o seu comportamento é habitualmente inalterado (não há dor) e o risco de infecção é também muito baixo, não comprometendo o animal em nenhum momento.

Concluindo, o protótipo desenvolvido no decorrer da dissertação apresenta uma tecnologia promissora para o estudo de oximetria e batimentos cardíacos em animais marinhos sendo que é necessário fazer mais testes, como por exemplo arranjar ambientes controlados com diversos animais marinhos, realizar testes em ambiente real (sem o animal estar capturado) e por fim calcular a curva de calibração do sensor para cada animal estudado, afim de calcular a percentagem de oxigénio dissolvido. Para futuro, a esperança de que este projeto consiga ajudar biólogos e investigadores a tentar entender o que acontece nos longos e profundos mergulhos de alguns seres marinhos para ajudar, quer na preservação dos seres, quer na preservação do oceano.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] S. E. Moore, "Marine mammals as ecosystem sentinels," *J. Mammal.*, vol. 89, no. 3, pp. 534–540, 2008, doi: 10.1644/07-MAMM-S-312R1.1.
- [2] B. D. Smith, E. A. Crespo, and G. Notarbartolo di Sciara, *Dolphins, whales and porpoises : 2002-2010 conservation action plan for the world's cetaceans*. 2003.
- [3] P. King, "Design Of Pulse Oximeters," *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.*, vol. 17, no. 3, p. chapter 4, 2005, doi: 10.1109/memb.1998.677180.
- [4] K. R. Dumenes, L. Federico, R. R. Acad, C. Exact, and F. Nat, "LA HEMOGLOBINA UNA MOLECULA PRODIGIOSA 1."
- [5] R. BRAUN and T. SEEBECK, "RNA Metabolism," *Cell Biol. Physarum Didymium*, pp. 162–171, 1982, doi: 10.1016/b978-0-12-049601-3.50017-1.
- [6] A. Van Meter *et al.*, "Beat to Beat: A Measured Look at the History of Pulse Oximetry," *J. Anesth. Hist.*, vol. 3, no. 1, pp. 24–26, 2017, doi: 10.1016/j.janh.2016.12.003.
- [7] T. L. Rusch, R. Sankar, and J. E. Scharf, "Signal processing methods for pulse oximetry," *Comput. Biol. Med.*, vol. 26, no. 2, pp. 143–159, 1996, doi: 10.1016/0010-4825(95)00049-6.
- [8] A. C. Kwok *et al.*, "Implementation of the World Health Organization Surgical Safety Checklist and pulse oximetry in a resource-limited setting," *J. Am. Coll. Surg.*, vol. 213, no. 3, p. S113, 2011, doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2011.06.266.
- [9] "Oceano sustentável requer empenho das empresas," *Jornal da economia do mar*, 2017. <http://www.jornaldaeconomiamar.com/ce-oceano-sustentavel-requer-empenho-das-empresas/>.
- [10] M. F. McKenna, J. Calambokidis, E. M. Oleson, D. W. Laist, and J. A. Goldbogen, "Simultaneous tracking of blue whales and large ships demonstrates limited behavioral responses for avoiding collision," *Endanger. Species Res.*, vol. 27, no. 3, pp. 219–232, 2015, doi: 10.3354/esr00666.
- [11] J G Webster, *Design of Pulse Oximeters*. Published by Institute of Physics Publishing, wholly owned by The Institute of Physics, London Institute of Physics Publishing, Dirac House, Temple Back, Bristol BS1 6BE, UK US Editorial Office: Institute of Physics Publishing, The Public Ledger Building, 1997.
- [12] B. S. Ehrhardt and M. Graham, "Pulse oximetry," *Nursing (Lond).*, vol. 20, no. 3, pp. 50–54, 1990, doi: 10.1097/00152193-199003000-00019.
- [13] P. Vaz, T. Pereira, E. Figueiras, C. Correia, A. Humeau-Heurtier, and J. Cardoso, "Which wavelength is the best for arterial pulse waveform extraction using laser speckle imaging?," *Biomed. Signal Process. Control*, vol. 25, pp. 188–195, 2016, doi: 10.1016/j.bspc.2015.11.013.
- [14] A. A. Alian and K. H. Shelley, "Photoplethysmography," *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.*, vol. 28, no. 4, pp. 395–406, 2014, doi: 10.1016/j.bpa.2014.08.006.
- [15] M. M. Hustedt, "EliScholar – A Digital Platform for Scholarly Publishing at Yale Improving Documentation In Shoulder Dystocia," no. January, 2013.

- [16] P. H. Charlton *et al.*, “Breathing Rate Estimation from the Electrocardiogram and Photoplethysmogram: A Review,” *IEEE Rev. Biomed. Eng.*, vol. 11, no. October, pp. 2–20, 2018, doi: 10.1109/RBME.2017.2763681.
- [17] T. Review, “Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement,” 2007, doi: 10.1088/0967-3334/28/3/R01.
- [18] A. J. Deacon and O. W. Pratt, “Measurement of pulse oximetry, capnography and pH,” *Anaesth. Intensive Care Med.*, vol. 18, no. 12, pp. 639–643, 2017, doi: 10.1016/j.mpaic.2017.09.004.
- [19] J. Webster G., *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation*. John Wiley & Sons Inc, 2006.
- [20] O. Y. Hay *et al.*, “Pulse oximetry with two infrared wavelengths without calibration in extracted arterial blood,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 18, no. 10, 2018, doi: 10.3390/s18103457.
- [21] M. Nitzan *et al.*, “Calibration-free pulse oximetry based on two wavelengths in the infrared - A preliminary study,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 14, no. 4, pp. 7420–7434, 2014, doi: 10.3390/s140407420.
- [22] G. Ateş and K. Polat, “Measuring of oxygen saturation using pulse oximeter based on fuzzy logic,” *MeMeA 2012 - 2012 IEEE Symp. Med. Meas. Appl. Proc.*, pp. 51–56, 2012, doi: 10.1109/MeMeA.2012.6226620.
- [23] “STAR ODDI.” <https://www.star-oddi.com/products/archival-tags?sensors=heart-rate>.
- [24] A. C. RALSTON, R. K. WEBB, and W. B. RUNCIMAN, “Potential errors in pulse oximetry: I. Pulse oximeter evaluation,” *Anaesthesia*, vol. 46, no. 3, pp. 202–206, 1991, doi: 10.1111/j.1365-2044.1991.tb09410.x.
- [25] W. Erhardt, C. Lendl, R. Hipp, G. Von Hegel, and H. Wiesner, “The use of pulse oximetry in clinical veterinary anaesthesia,” vol. 17, 1990.
- [26] “Pulse Oximetry in Exotic Animal Species - LafeberVet.” <https://www.lafeber.com/vet/pulse-oximetry/> (accessed May 31, 2022).
- [27] R. From and T. H. E. Azores, *Catálogo Ilustrado dos Tubarões e Raias dos Açores*. 2011.
- [28] B. Séret, *Guia de identificação das principais espécies de raias e tubarões do Atlântico oriental tropical, para observadores de pesca e biólogos*. 2006.
- [29] B. G. E. (1802) Lacepède, “Raja undulata Lacepède, 1802,” *Histoire Naturelle des Poissons. Plassan, Paris, 4: i–xliv, 1–728, pls 1–16*. <https://shark-references.com/species/view/Raja-undulata> (accessed May 28, 2022).
- [30] G. L. de A. Penna *et al.*, “Comparação entre as variações respiratórias da amplitude de onda pletismográfica da oximetria de pulso e do pulso arterial em pacientes com e sem uso de norepinefrina,” *Rev. Bras. Ter. Intensiva*, vol. 21, no. 4, p. 470, 2009, doi: 10.1590/s0103-507x2009000400003.