

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

**PROJETO DE UM SISTEMA DE REGISTRO DE
SINAIS DE NEURÔNIOS EM MATRIZ DE
MICROELETRODOS COM RESSONÂNCIA
ESTOCÁSTICA**

FRANCISCO FAMBRINI

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ HIROKI SAITO

São Carlos - SP
Setembro/2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

PROJETO DE UM SISTEMA DE REGISTRO DE SINAIS DE NEURÔNIOS EM MATRIZ DE MICROELETRODOS COM RESSONÂNCIA ESTOCÁSTICA

FRANCISCO FAMBRINI

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciência da Computação, área de concentração: Arquitetura e Processamento de Imagens e Sinais.

Orientador: Dr. José Hiroki Saito.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

São Carlos – SP
Setembro/2019.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Francisco Fambrini, realizada em 11/09/2019:

Prof. Dr. José Hiroki Saito
UFSCar

Prof. Dr. Paulo Matias
UFSCar

Prof. Dr. Alexandre Luis Magalhães Levada
UFSCar

Prof. Dr. Adilson Gonzaga
USP

Prof. Dr. Odemir Martinez Bruno
IFSC/USP

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelas seguintes agências de pesquisa brasileiras: FAPESP e CAPES. O Equipamento de Amplificação e Registro de Sinais Convencional para Matrizes de microeletrodo descrito no Capítulo 3 é financiado através da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Projeto PIPE nº 2017/50270-5, a quem o autor agradece profundamente.

O autor agradece ao prof. Dr. José Hiroki Saito, pelo financiamento de grande parte destas pesquisas com recursos próprios, pelas orientações valiosas ao longo de quase 5 anos de pesquisa e pela revisão minuciosa de todos os textos. O professor Saito é um verdadeiro Mestre, que nunca permite que seus orientados possam se tornar menos do que o que cada um pode ser. Nenhum conjunto de palavras seria suficiente para agradecer seu imenso trabalho, parceria, amizade e apoio.

Agradecimentos também aos professores Dr. João Batista Destro Filho e Dra. Celina Lotufo, pelo apoio imenso prestado na Universidade Federal de Uberlândia. E ao professor Dr. João Fernando Mari, pelo desenvolvimento do *software* mea-sig utilizado em conjunto com este sistema.

O autor agradece a todos que indiretamente participaram da elaboração deste trabalho, e sobretudo ao Grande Arquiteto do Universo, que permite que os seres humanos compreendam e contemplem a grandiosidade de sua Criação.

RESUMO

Esta tese de Doutorado tem como objetivo o estudo e a implementação prática de um sistema completo capaz de registrar os sinais elétricos provenientes de uma Matriz de microeletrodo. Essa matriz planar com múltiplos microeletrodos conhecida como MEA (MicroElectrode Array), é construída com a mesma tecnologia dos circuitos integrados em nanoescala, e permite que seja efetuada em seu centro uma cultura biológica de células neurais. Através dos estudos em MEAs pode-se entender melhor o padrão de *spikes* e *bursts* gerados pelos neurônios em culturas *in vitro*. Os sinais elétricos capturados e registrados pelos microeletrodos tem amplitude da ordem de microvolts (μV) e precisam ser amplificados por circuitos especiais, dotados de filtros capazes de permitir selecionar a banda de frequências de interesse. Entretanto, muitas vezes os níveis elétricos dos sinais capturados em MEAs são tão pequenos que não é possível amplificá-los através das técnicas convencionais, pois estes são da mesma ordem do nível de ruído aleatório produzido pelos circuitos amplificadores. Alguns sinais elétricos são impossíveis de serem registrados através dos amplificadores operacionais convencionalmente usados em eletrônica. Neste trabalho, é descrita a aplicação do Fenômeno de Ressonância Estocástica (RE), para registrar sinais de intensidade muito pequena, em comparação com os métodos de amplificação convencionais para sinais capturados em MEA. Para tanto, o trabalho desta tese consiste no desenvolvimento do sistema de aquisição e gravação de sinais de neurônios cultivados *in vitro* em MEA, usando métodos convencionais e RE; realização de medidas elétricas do sistema desenvolvido em bancada e comparação com os valores obtidos na simulação, testando amplificadores convencionais e sistemas RE e a validação de todo o sistema em um experimento real com uma cultura *in vitro* de neurônios, que foi efetuada em laboratório de eletrofisiologia na Universidade Federal de Uberlândia. Os resultados destes experimentos mostraram que a ressonância estocástica é útil para detectar sinais de amplitude inferior a $100 \mu\text{V}$ p-p. Para sinais de maior amplitude, não existe vantagem no uso da RE como elemento de amplificação, devido à distorção produzida nos sinais.

Palavras-chave: matriz de microeletrodos, sinais eletrofisiológicos, culturas de neurônios *in vitro*, Ressonância Estocástica, amplificadores.

ABSTRACT

This PhD thesis aims at the study and practical implementation of a complete system capable of recording electrical signals from a Microelectrode Array. This multi-electrode planar matrix known as MEA (MicroElectrode Array), is built with the same technology as nanoscale integrated circuits, and allows a biological culture of neural cells to be performed at its center. Through studies on MEAs, we can better understand the pattern of *spikes* and *bursts* generated by neurons on *in vitro* cultures. The electrical signals captured and recorded from microelectrodes have an amplitude of the order of microvolts (μV) and need to be amplified by special circuits, with filters capable of selecting the frequency band of interest. However, often the electrical levels of the signals captured in MEAs are so small that they cannot be amplified by conventional techniques, as they are of the same order as the random noise level produced by the amplifier circuits. Some electrical signals are impossible to record through operational amplifiers conventionally used in electronics. In this paper, we describe the application of the *Stochastic Resonance Phenomenon* (SR) to record signals of very low intensity compared to conventional amplification methods for signals captured in MEA. Therefore, the work of this thesis consists in the development of the acquisition and recording system of signals from *in vitro* cultured neurons in MEA, using conventional and SR methods; electrical measurements of the developed bench system and comparison with the values obtained in the simulation, testing conventional amplifiers and SR amplification systems and validation of the entire device in a real experiment with an *in vitro* culture of neurons, which was performed in an electrophysiology laboratory at the Federal University of Uberlândia. The results of these experiments showed stochastic resonance is useful for detecting signals below 100 μV p-p. For higher amplitude signals, there is no advantage in using the RE as an amplification element due to the distortion produced in the signals.

Keywords: microelectrode array, electrophysiological signals, *in vitro* neuron culture, stochastic resonance, amplifiers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1: Componentes mínimos para um sistema de registro MEA em 60 canais.....21
- Figura 1.2: (a) MEA60, região central; (b) detalhe ampliado dos microeletrodos, ao centro da MEA60.....22
- Figura 1.3: Experimento proposto por Potter et al. Fonte: Adaptado de (POTTER, WAGENAAR e DEMARSE, 2006).....23
- Figura 2.1: Diagrama ilustrativo de um neurônio. Em (1) são ilustrados os dendritos, em (2) o núcleo da célula, no interior do citoplasma, em (3) a bainha de mielina que recobre o axônio e em (4) a porção final do axônio, que realiza conexões elétricas com dendritos de outros neurônios. Fonte: Adaptado de (PURVES, 2010).26
- Figura 2.2: Impulso elétrico proveniente de um neurônio de hipocampo de rato Wistar. Quando em repouso o sinal elétrico situa-se entre -70 e -50mV; quando ocorre um disparo, este sinal aumenta de nível até cerca de +10mV, invertendo sua polaridade e à seguir, retorna ao nível basal de repouso. Fonte: adaptado de (LEWANDOWSKA, 2015).....29
- Figura 2.3: Registro do potencial extracelular de neurônios de gânglio dorsal de ratos Wistar. Em vermelho, a curva teórica e em preto, o sinal registrado. Nota-se que o sinal em vermelho se assemelha à curva obtida à partir da derivada segunda da função degrau. Isso ocorre em função da maneira com que os equipamentos efetuam os registros dos sinais, pois tais registros dependem da carga elétrica dos capacitores usados no acoplamento dos circuitos amplificadores.30
- Figura 2.4: Sinais elétricos provenientes de dois cardiomiócitos (fibroblastos). A curva C mostra um cardiomiócito com nível basal em torno de -70mV, que dispara um pulso elétrico atingindo o nível de +20mV e à seguir retorna à condição de repouso. A curva F mostra outro cardiomiócito cujo nível de repouso situa-se em torno de -45mV e se eleva até cerca de 0 volts antes de retornar ao nível basal.....31
- Figura 2.5: Um múltiplo inteiro da amplitude de tensão do desvio padrão da atividade basal é considerado um spike. Em (A) pode-se observar um spike aproximadamente igual ao dobro da média do ruído e em (B) outro spike, de maior amplitude, aproximadamente 4 vezes maior do que o nível de ruído médio. Fonte: (RODRIGUEZ, 2012).33

Figura 2.6: O registro de um único canal é mostrado no lado esquerdo, com ampliação do trecho apontado pela seta, à direita. Fonte: (WAGENAAR, 2005).....	34
Figura 2.7: Esquema ilustrando IBI (intervalo entre <i>bursts</i>) e ISI (intervalo entre <i>spikes</i>). O primeiro <i>burst</i> , à esquerda, contém 6 <i>spikes</i> e apresenta um intervalo ISI entre os <i>spikes</i> . O segundo <i>burst</i> apresenta 4 <i>spikes</i> , com mesmo intervalo ISI entre os <i>spikes</i> . O intervalo de tempo entre o primeiro <i>burst</i> e o segundo é chamado IBI, como mostrado na figura.	35
Figura 2.8: Registros elétricos feito em 6 eletrodos em fatia de hipotálamo de rato. Na Figura central cada ponto marcado com A, B, C, D, E e F é um microeletrodo. Fonte:(WHITSON et al, 2006).....	36
Figura 3.1: Diagrama de blocos ilustrando os subsistemas descritos neste Capítulo.....	38
Figura 3.2: Diagrama esquemático de um único canal pré-amplificador, em simulação. Um circuito integrado do tipo OPA2376 é usado na configuração não inversor.	39
Figura 3.3: Sinal senoidal é aplicado na entrada (1) e o resultado é visto na saída (2).	40
Figura 3.4: Circuito interno de proteção de entrada do ADC do microcontrolador PIC12F683. Este circuito de proteção com os diodos D1 e D2 existe nas entradas de todos os ADCs, e impede a leitura de sinais de tensões negativas. Fonte: (MICROCHIP, 2015).....	42
Figura 3.5: Simulação do circuito de um canal do pré-amplificador. Em paralelo com o capacitor C2 foi acrescentada uma chave, que quando acionada provoca um curto-circuito neste capacitor.	43
Figura 3.6: Forma de onda na saída do circuito pré-amplificador mostrado na Figura 3.5, com a chave S1 ligada (sem o capacitor C2). Observa-se a simetria da onda senoidal em relação à linha de terra, central. O sinal de saída apresenta semi-ciclos positivos e negativos. Cada divisão no eixo vertical representa 10 mV.....	43
Figura 3.7: Resultado da simulação do circuito mostrado na Figura 3.5, porém com a chave S1 desligada (com capacitor C2). Observa-se o deslocamento do nível de tensão de <i>off-set</i> . Cada divisão no eixo vertical representa 20 mV.....	44
Figura 3.8: Fonte de Terra Virtual, construída a partir de um CI do tipo OPA4376.....	45
Figura 3.9: Vista do <i>lay-out</i> da placa de circuito impresso que aloja os 59 canais de pré-amplificadores.....	46

Figura 3.10: Outra visão do <i>lay-out</i> da placa de circuito impresso <i>multi-layer</i> do Módulo Pré-Amplificador.	47
Figura 3.11: Placa de circuito impresso multi-camadas do módulo Pré-amplificador, vista pelo lado dos componentes, ou lado inferior.	48
Figura 3.12: Placa do Pré-Amplificador alojada no interior do soquete mecânico.	48
Figura 3.13: Placa do Conversor Analógico/Digital, com 64 entradas, construídos a partir de 8 circuitos integrados MCP3208. Cada CI apresenta 8 entradas multiplexadas e controlados através de entradas do tipo SPI, conforme descrito no texto.	49
Figura 3.14: Diagrama de blocos do Conversor AD e condicionador de sinais, descritos neste Capítulo. Em conjunto, estes blocos formam o Digitalizador.	50
Figura 3.15: Disposição dos pinos do circuito integrado MCP3208. No desenvolvimento deste conversor A/D foram utilizadas 8 unidades deste chip. Fonte: (MICROCHIP, 2010).	51
Figura 3.16: Diagrama de blocos funcionais mostrando os blocos internos do circuito integrado conversor AD modelo MCP3208 do fabricante Microchip. Fonte: (MICROCHIP, 2010).	51
Figura 3.17: As duas opções de configuração para dispositivos escravo em portas SPI: Em (A) conexão em cascata, todos os escravos na cadeia compartilham de uma única linha de seleção; (B) cada dispositivo tem sua própria linha de entrada de seleção de chip exclusiva vinda do mestre.	53
Figura 3.18: Sinais nos pinos de comunicação do chip conversor A/D MCP3208. Fonte: (MICROCHIP, 2010).	54
Figura 3.19: Diagrama elétrico de um amplificador PGA montado a partir dos circuitos integrados TL074. No total, foram construídos 60 amplificadores iguais e divididos em 3 placas de circuito impresso onde cada placa comporta 15 circuitos amplificadores.	55
Figura 3.20: Desenho das placas de circuito impresso mostrando 20 amplificadores PGA. Cada um dos circuitos integrados TL074 montados nas placas mostradas nesta Figura contém internamente 4 amplificadores operacionais. Um total de 3 placas iguais foram construídas e interligadas à entrada do conversor A/D.	56
Figura 3.21: Implementação prática dos blocos mostrados no diagrama da Figura 3.14.	57

Figura 3.22: Foto da placa de circuito impresso contendo o FPGA modelo EP2C5 ALTERA <i>Cyclone II</i> , que foi adquirida pronta no comércio e é de procedência chinesa.	58
Figura 3.23: Descrição das entradas e saídas em linguagem VHDL. Parte do código implementado na placa mostrada na Figura 3.22.....	59
Figura 3.24: Descrição comportamental em código VHDL mostrando parte do código que descreve as interfaces SPI.	60
Figura 3.25: Trecho do código VHDL que carrega o vetor de saída, que será enviado para a placa <i>Orange PI</i>	62
Figura 3.26: Trecho do código VHDL que concatena os dados de todas as entradas de todos os conversores A/D e monta o vetor de saída de dados, chamado de “amostra”.....	62
Figura 3.27: Aspecto da placa <i>Orange PI</i> , mostrando os detalhes do barramento para acesso da interface SPI. Fonte: (ORANGE, 2018).	64
Figura 3.28: Trecho inicial do código em C que inicializa a interface SPI da placa <i>Orange PI</i>	65
Figura 3.29: Laço de execução infinita que envia o vetor de dados para o computador PC.	66
Figura 3.30: Módulo Digitalizador em fase de montagem; Em (A), (B) e (C) são mostradas as placas dos amplificadores ilustrados na Figura 3.20; Em (D) é vista a placa do conversor AD; em (E) mostra-se a placa <i>Orange PI</i> , em (F) a placa do FPGA e em (G) finalmente, o módulo gerador de clock de 4MHz. Este módulo de 4MHz poderia ter sido suprimido caso se utilizasse o PLL interno presente no FPGA.....	67
Figura 3.31: Aspecto final do protótipo do Digitalizador para Matriz de Microeletrodos: em (A) é mostrado o Digitalizador, com os fios interligando todos os módulos e em (B) o Digitalizador é ligado ao soquete que faz a conexão com a MEA.....	68
Figura 3.32: Tela resultado da conexão SSH entre a <i>Orange PI</i> e o computador PC.	69
Figura 3.33: Tela de apresentação do Login e da Senha do usuário.....	70
Figura 3.34: Tela que mostra o espaço disponível no computador.....	70
Figura 3.35: Tela inicial para gravação dos dados.....	71
Figura 3.36: Tela confirmando que a gravação está ocorrendo e que a interface SPI da <i>Orange PI</i> está conectada com taxa máxima igual a 32MHz.	71
Figura 3.37: Tela confirmando que a gravação cessou pela ação do usuário, através das teclas Control + C.	72

Figura 3.38: Arquivos gravados na pasta “C:meas” do computador PC.	72
Figura 3.39: Programa “RAW to CSV”, que abre os arquivos .txt gravados na pasta meas e os transforma em números de 12 bits, no formato .CSV, adequado à leitura do software que foi desenvolvido por outro pesquisador para este mesmo projeto.	73
Figura 3.40: Interface gráfica do Software “RAW to CSV” mostrando a conversão dos arquivos do formato .txt para o formato .CSV.	73
Figura 3.41: Dados já convertidos, enviados para o computador e abertos no programa Excel.	74
Figura 4.1: Uma representação esquemática do ruído caótico: (a) o circuito Chua; (b) a Equação característica do sistema; (c) O sinal de saída do sistema.	77
Figura 4.2: Histograma para o ruído branco uniforme; (b) Histograma para ruído branco Gaussiano. O eixo das abscissas representa o nível de ruído e o eixo das ordenadas representa a frequência de cada componente do mesmo sinal. Fonte:(ANDÒ, 1999).	80
Figura 4.3: Gráfico mostrando a relação Sinal-Ruído em função da magnitude do ruído de entrada em um sistema não-linear. O ponto de máximo mostra o nível ótimo de ruído e ilustra o fenômeno de ressonância estocástica, conforme descreve a literatura. Fonte: adaptado de (ANDÒ, 1999).	83
Figura 4.4: Esquema para medições de ressonância estocástica.	83
Figura 4.5: Gráfico que ilustra a energia potencial de uma partícula em movimento Browniano, na ausência de ruído aditivo e de forças externas.	86
Figura 4.6: Modelo de um sistema RE baseado em Limiar, SL (BARRETO, 2015).	88
Figura 4.7: (a) Sinal de entrada periódico, com nível de intensidade abaixo do limiar T, resultando em saída zero; (b) Entrada de ruído, resultando em saída proporcional à quantidade de vezes que o ruído atinge o limiar T (MCDONNEL, 2009).	89
Figura 4.8: Sinal de entrada periódico com ruído, resultando em uma saída discriminando a frequência do sinal de entrada (MCDONNEL, 2009).	89
Figura 4.9: Diagrama de um arranjo de SLs em paralelo (MCDONNEL, 2009).	90
Figura 4.10: (a) Curva de Transferência de um comparador com histerese (<i>Schmitt trigger</i>); (b) Diagrama elétrico de um amplificador operacional ligado como comparador, que exibe a curva mostrada em (a). Fonte:(CHIGA et. al., 2015).	96

Figura 4.11: Diagrama de blocos mostrando o experimento de Ressonância Estocástica descrito por Chiga: Receptor RX de RF digital sem modificações, usando o dispositivo de Ressonância Estocástica RE. Fonte: adaptado de (CHIGA et. al, 2015).....	97
Figura 4.12: (a) Esquema elétrico do comparador com histerese; (b) aspecto do protótipo construído por (CHIGA et. al, 2015).	97
Figura 4.13: Medições utilizando-se o circuito mostrado na Figura 4.11. Dois CIs <i>Schmitt trigger</i> foram testados. A Curva "Proposed" foi obtida com o uso do ADCMP607 e a curva "Conventional" foi obtida com o LM7171. Fonte: (CHIGA et. al, 2015).....	99
Figura 4.14: Proposta de um Espectrômetro melhorado, muito mais sensível. O efeito RE é introduzido a partir de uma segunda fonte luminosa (<i>CW Laser</i>) que apresenta ruído acrescentado por um disco rotativo difusor (<i>Rotary diffuser</i>). Fonte:Adaptado de (UFJF, 2016).....	100
Figura 4.15: Esquema de um espectroscópio fotoacústico convencional. Adaptado de (HUIYU et. al., 2001).....	100
Figura 4.16: Esquema de um Espectroscópio fotoacústico melhorado através da implementação de RE, conforme proposto por Huiyu. O disco rotativo " <i>Chopper</i> " acrescenta ruído no feixe de luz incidente, melhorando a relação SNR através do fenômeno RE. Adaptado de (HUIYU et. al., 2001).....	101
Figura 5.1: Resultado das simulações para produção de sinais senoidais de amplitude (a) $A=0,1V$, (b) $A=0,2V$, (c) $A=0,3V$ e (d) $A=0,4V$ feitas com o software MATLAB. Na coluna da direita pode-se observar o espectro de amplitude para cada sinal, obtido a partir da Transformada Rápida de Fourier.	104
Figura 5.2: Código MATLAB utilizado para simular os sinais puros e os gráficos de FFT.....	105
Figura 5.3: Os mesmos sinais senoidais puros mostrados na Figura 5.1, agora aparecem corrompidos pela adição do ruído aleatório. À direita, o resultado da aplicação da FFT unilateral a cada sinal. Pode-se observar pelo gráfico no domínio da frequência a presença do ruído. Nestes casos, o sinal ainda é identificável, porque o nível de ruído não é muito elevado.....	106
Figura 5.4: Código-fonte utilizando MATLAB para simular sinal+ruído gerado através da função <i>rand()</i>	107
Figura 5.5: Gráficos mostrando em (a) o sinal senoidal de amplitude $0,4V$; (b) ruído produzido através da função <i>rand()</i> com amplitude igual a $2,0V$; (c) resultado da adição sinal+ruído e (d) gráfico do espectro de amplitude no domínio da frequência.	107

Figura 5.6: Gráfico mostrando o ponto de RE: o eixo horizontal representa valores do desvio padrão do ruído (amplitude do ruído) e o eixo vertical mostra os valores de SNR(db) calculados através do MATLAB para a simulação mostrada na Figura 5.5.....	108
Figura 5.7: Poço de duplo potencial, ilustrando a energia potencial de uma partícula que executa movimento Browniano em processos estocásticos.....	110
Figura 5.8: Trecho do código MATALAB usado para resolver a equação de Langevin, baseado no método de Runge-Kutta.	111
Figura 5.9: Solução da equação (5.8) de trajetória para uma partícula em movimento Browniano realizando ressonância estocástica com o ruído aditivo. Nesta simulação os valores dos parâmetros escolhidos foram: $\alpha = 2$, $\beta = 1$, $t_{m\acute{a}x} = 100$, $\Delta t = 0.01$ e $x_0 = 0$	112
Figura 5.10: Espectro de amplitude para o gráfico mostrado na Figura 5.9, mostrando o valor da frequência de excitação, $f = 0.1\text{Hz}$, que corresponde ao sinal fraco que se deseja detectar.	112
Figura 5.11: Resultado da solução da equação (5.9) de Langevin discreta para diferentes valores dos parâmetros α e β . (a) $\alpha = 2$ e $\beta = 1$; (b) $\alpha = 0.5$ e $\beta = 2$; (c) $\alpha = 5$ e $\beta = 0.5$; (d) $\alpha = 0.5$ e $\beta = 5$; À direita são mostrados os espectros de frequência de cada sinal usando-se FFT.....	113
Figura 5.12: Três circuitos que foram simulados em computador.....	115
Figura 5.13: Printscreen da tela mostrando as especificações do simulador de circuitos em versão gratuita utilizado nas simulações neste trabalho.	115
Figura 5.14: Esquema elétrico de um circuito Schmitt trigger genérico, construído a partir de um amplificador operacional.....	116
Figura 5.15: Esquema elétrico adotado no protótipo. Observar o uso de um potenciômetro digital modelo X9313 do fabricante Xicor, o qual permite atenuar ou ampliar a amplitude do ruído branco Gaussiano aplicado à entrada do <i>Schmitt trigger</i> , para fins de controle do efeito de RE através de um computador PC.....	118
Figura 5.16: Diagrama interno do circuito integrado X9313.	119
Figura 5.17: Simulação para o circuito Schmitt trigger clássico. Em (A) é mostrado o circuito simulado e em (B) o resultado das simulações. O sinal mostrado em (C) é o sinal senoidal aplicado à entrada do circuito e o sinal mostrado em (D) é o resultado do sinal não-linear produzido na saída do ST.	120

Figura 5.18: Simulação para o AO não-linear com curva “N”. Em (A) é mostrado o circuito simulado e em (B) o resultado das simulações. O sinal mostrado em (C) é o sinal senoidal aplicado à entrada do circuito e o sinal mostrado em (D) é o resultado do sinal não-linear produzido na saída do circuito N.....	121
Figura 5.19: Simulação para o AO não-linear com curva de formato “S”. Em (A) é mostrado o circuito simulado e em (B) o resultado das simulações. O sinal mostrado em (C) é o sinal senoidal aplicado à entrada do circuito e o sinal mostrado em (D) é o resultado do sinal não-linear produzido na saída do circuito S.	122
Figura 5.20: Diagrama esquemático referente à simulação do circuito que produz o ruído branco. Observar o transistor Q1 à esquerda na Figura, que é ligado como um diodo, tendo seu terminal coletor desligado.....	123
Figura 5.21: Resultado da simulação computacional do circuito mostrado na Figura 5.18. A saída produz ruído branco Gaussiano, cuja frequência central é determinada pelos valores dos resistores e capacitores escolhidos para os filtros RC no circuito.	124
Figura 5.22: Circuito detector de envoltória.....	125
Figura 5.23: Circuito demodulador de amplitude.....	125
Figura 5.24: Saída do demodulador de amplitude.....	126
Figura 5.25: a) Descarga do capacitor C quando $RC \ll 1/f$;.....	126
Figura 5.26: Resposta ao degrau para o circuito simulado mostrado na Figura 5.22.Em (A) é representado o pulso degrau e em (B) a resposta do circuito a este pulso. Esta resposta é característica de um circuito de primeira ordem.	127
Figura 5.27: Resposta à um sinal dente-de-serra de frequência 1kHz para o circuito simulado mostrado na Figura 5.22.....	128
Figura 6.1: Diagrama em blocos de um sistema não-linear sujeito a ruído Gaussiano aditivo. Fonte: (MCDONELL, 2018).....	133
Figura 6.2: Diagrama de blocos do SASMARE, Sistema de Aquisição de Sinais em MEA Assistido por Ressonância Estocástica, com ênfase no subsistema REAC, descrito neste Capítulo.....	135
Figura 6.3: Diagrama de blocos representando os circuitos eletrônicos que compõe o subsistema REAC.....	137
Figura 6.4: Aspecto da interface gráfica do Software de controle do equipamento REAC.....	138
Figura 6.5: Circuito <i>buffer</i> , com amplificador operacional.	139

Figura 6.6: Circuito misturador, baseado em três transistores NPN de uso geral. Observar o uso de potenciômetros digitais IC1 e IC2 em suas entradas.	139
Figura 6.7: Diagrama esquemático do circuito Gerador de Ruído Branco.	140
Figura 6.8: Diagrama esquemático do circuito demodulador de amplitude e frequência. A finalidade deste circuito, que é acionado opcionalmente através do botão “ <i>Hw On</i> ” e “ <i>Hw Off</i> ” na interface gráfica do REAC, é extrair de modo analógico informações codificadas em amplitude (AM) ou em frequência (FM) que eventualmente estejam contidas nos sinais dos neurônios.....	140
Figura 6.9: : Foto placa de circuito impresso <i>Tiva Launchpad</i> contendo o microcontrolador TM4C123G fabricada por <i>Texas Instruments</i> , utilizada para controlar os potenciômetros digitais do módulo REAC e também para transformar os sinais analógicos em sinais digitais, somente para a interface gráfica poder calcular os valores de SNR....	141
Figura 6.10: Aspecto da IDE do software Energia, utilizado para programar o microcontrolador TM4C123G contido na placa <i>Tiva Launchpad</i> , fornecida por <i>Texas Instruments</i>	142
Figura 6.11: Aspecto da Interface gráfica do módulo REAC em funcionamento.....	143
Figura 6.12: Layout da placa de circuito impresso do subsistema REAC.	143
Figura 6.13: Placa de circuito impresso do subsistema REAC.....	144
Figura 6.14: Diagrama elétrico completo do subsistema REAC.....	145
Figura 6.15: Esboço de uma blindagem do tipo "Gaiola de Faraday". O equipamento deverá ser colocado no interior desta blindagem durante os experimentos com MEA.	146
Figura 7.1: Aspecto macroscópico das 3 culturas de neurônios de gânglio dorsal de ratos Wistar, efetuadas em três matrizes de microeletrodos, com 60 eletrodos (MEA60), fornecidas pelo fabricante MultiChannel.....	148
Figura 7.2: Aspecto do simulador eletrônico MEASim (A), desenvolvido pelo autor durante seu trabalho de Mestrado; ao lado, em (B), é mostrada uma MEA60 padrão, fornecida por MultiChannel.	150
Figura 7.3: Equipamento de registro dos sinais em MEA, montado no interior da Gaiola de Faraday, desenvolvida pelo autor neste projeto.	151
Figura 7.4: Foto mostrando o protótipo do equipamento de registro durante o experimento nº 9. Observar o Soquete elétrico cuja descrição foi feita no Capítulo 3 deste trabalho.....	152

Figura 7.5: Arquivos de formato .CSV de registro dos sinais elétricos provenientes da MEA do experimento número 3, que foram visualizados por meio do programa Microsoft Excel. Observar na primeira linha de cada coluna a marcação do chip e do canal do chip do qual provém cada sinal presente em cada coluna.	155
Figura 7.6: Interface gráfica do software mea-sig, em desenvolvimento. Esta interface permite visualizar o sinal elétrico presente em cada um dos 59 canais da MEA, bem como proceder análise de <i>spikes</i> , <i>bursts</i> e outras análises estatísticas nos sinais. Agradecimentos ao prof. Dr. João Fernando Mari (UFV).	157
Figura 7.7: Grade que representa as posições verdadeiras de cada eletrodo na MEA: na interface gráfica do software mea-sig é possível escolher visualizar um canal em particular, clicando em cima da sua posição nesta grade.	158
Figura 7.8: Gráficos correspondendo aos registros dos 8 primeiros canais do experimento nº 1. Observar o sinal correspondente ao ruído elétrico gerado pelo aparelho.	159
Figura 7.9: Registro do canal 13 (eletrodo na posição 53 da MEA) durante o experimento nº1. Neurônios em atividade basal não produziram sinais elétricos.	159
Figura 7.10: Registro do canal 13 da MEA 1, durante o Experimento nº 2. Nenhuma atividade elétrica foi registrada neste experimento, nem neste, e nem em nenhum outro canal, comparando a Figura 7.10 com a Figura 7.9 – ambas representam o mesmo canal, antes e após o estímulo.	160
Figura 7.11: Registro da atividade elétrica em torno do eletrodo na posição 76 da MEA nº 2 no Experimento nº 3. Este registro é feito sem estímulos.	161
Figura 7.12: Registro do sinal elétrico do eletrodo 76 da MEA nº 2 no momento da aplicação do estímulo químico com solução de KCl na cultura do Experimento nº 4.	162
Figura 7.13: Registro da atividade elétrica em torno do eletrodo na posição 76 da MEA nº 2, Experimento nº 4, cerca de 2 minutos após a aplicação do estímulo químico de KCl.	163
Figura 7.14: Registro da atividade elétrica dos neurônios nas posições 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72 e 82 da MEA nº 3, Experimento 5.	164
Figura 7.15: Registro de atividade elétrica nos canais 1, 2, 4 e 5 (posições 12, 22, 42 e 53 na MEA) para a MEA nº 3, Experimento nº 6, após o estímulo químico.	165
Figura 7.16: Registro do sinal elétrico sem a presença da cultura na MEA nº 2.	166

Figura 7.17: Resultado do registro dos sinais “branco 2” para MEA nº 3, correspondendo aos canais de 1 até 8 (posições 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72 e 82 dos eletrodos da MEA).....	167
Figura 7.18: Sinais referentes aos 60 canais visualizados com o <i>software</i> mea-sig.....	168
Figura 7.19: Resultado do registro dos sinais do simulador MEASim no canal 3 do chip 6 (posição 37 da MEA).	169
Figura 7.20: Setup experimental para validação do subsistema REAC.	170
Figura 7.21: (A) Diagrama esquemático mostrando os resistores que compõe o divisor de tensão que foram alterados no projeto do simulador MEASim, de modo a produzir senóides de amplitude indetectáveis sem o uso de amplificadores. Em (B) é mostrada a posição dos resistores substituídos na placa de circuito impresso do MEASim.....	171
Figura 7.22: (A) Sinal gerado pelo simulador MEASim antes da substituição dos resistores divisores de tensão; (B) Sinal gerado após a substituição dos resistores: observar que o sinal se torna indetectável, pois o ruído de instrumentação é de maior amplitude do que o sinal senoidal gerado.....	171
Figura 7.23: Testes efetuados com o módulo REAC. Pode-se observar que o ponto de ressonância estocástica foi obtido no gráfico em (C).	173
Figura 7.24: Gráfico mostrando a relação Sinal/Ruído (SNR) em decibéis em função do nível de ruído ajustado no módulo REAC, em mVp-p.	174
Figura 7.25: Gráfico ilustrando o ganho total de amplificação obtido em função da amplitude do ruído aplicado à entrada do sistema.	175
Figura 7.26: Gráfico mostrando a forma de onda escolhida para os testes comparativos entre o sistema convencional de amplificação e o sistema por ressonância estocástica. Esta forma de onda foi escolhida por ser semelhante a um <i>burst</i> proveniente do disparo de neurônios naturais.....	176
Figura 7.27: Sinal utilizado para os testes de comparação, detalhando os intervalos de tempo envolvidos.	176
Figura 7.28: Resultados dos testes comparativos entre o sistema de amplificação por ressonância estocástica (REAC) e o sistema amplificador linear convencional.	178
Figura 7.29: Comparação entre os ganhos (dB) do sistema de amplificação por ressonância estocástica (REAC) e o sistema amplificador linear convencional.	179

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Principais pesquisas em MEA, de 1972 a 1998.	19
Tabela 1.2: Pesquisas mais recentes em MEA, de 2001 até 2018.	19
Tabela 3.1: Bits de configuração a serem enviados para o chip MCP3208.	54
Tabela 4.1: Relação dos ruídos aleatórios mais comuns que ocorrem em circuitos eletrônicos.	77
Tabela 5.1: Valores de SNR variando o nível do ruído para a simulação da Figura 5.5.	108
Tabela 7.1: Níveis de ruído em cada um dos 8 primeiros canais.	166
Tabela 7.2: Resultados para os testes mostrados na Figura 7.23.	172
Tabela 7.3: Resultados dos testes comparativos entre os sistemas.	179

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/D	- <i>Analog to Digital</i>
ADC	- <i>Analog to Digital Converter</i>
AO	- Amplificador Operacional
BCI	- <i>Brain Computer Interface</i>
CI	- Circuito Integrado
CSV	- <i>Comma Separated Values</i>
DAQ	- <i>Digital Analogic Acquisitor</i>
DSP	- <i>Digital Signal Processor</i>
DDP	- Diferença de Potencial
ECG	- EletroCardioGrama
EEG	- EletroEncéfaloGrama
EMI	- <i>EletroMagnetic Interference</i>
FAC	- Função de Auto-Correlação
FET	- <i>Field Effect Transistor</i>
FFT	- <i>Fast Fourier Transformer</i>
FlexMEA	- <i>Flexible MEA</i>
FPGA	- <i>Field Programming Gate Array</i>
GND	- <i>Ground</i> (terra elétrico)
IBI	- <i>Inter-burst Interval</i>
ISI	- <i>Interspike Interval</i>
MCS	- <i>Multi Channel System</i>
MEA	- <i>Multi Electrode Array, MicroElectrode Array</i>
MEASim	- <i>Multi Electrode Array Signal Simulator</i>
MUX	- Multiplexador
PAD	- Contato elétrico na borda de uma placa de circuito impresso
PGA	- <i>Programmable Gain Amplifier</i>
PSD	- <i>Power Spectral Density</i>
RC	- Resistor e Capacitor
RE	- Ressonância Estocástica
REAC	- Ressonador Estocástico Assistido por Computador
REF	- Eletrodo de Referência de tensão em um circuito
SASMARE	- Sistema de Aquisição de Sinais MEA com Ressonância Estocástica
SAR	- <i>Successive Approximation Register</i>
SMD	- <i>Surface Mounting Device</i>
SNC	- Sistema Nervoso Central
SNP	- Sistema Nervoso Periférico
SNR	- <i>Signal Noise Ratio</i>
SPI	- <i>Serial Peripheral Interface</i>
SPICE	- <i>Simulated Program with Integrated Circuits Emphasis</i>
SR	- <i>Slew Rate</i>
SSH	- <i>Secure Shell</i>
ST	- <i>Schmitt trigger</i>
VHDL	- <i>VHSIC Hardware Description Language</i>

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Contextualização.....	13
1.2 Objetivos da Pesquisa.....	14
1.3 Possíveis contribuições.....	15
1.4 Estruturação do Texto.....	15
1.5 Revisão bibliográfica sobre a cultura de neurônios em MEA.....	16
1.6 Sistemas de registros comerciais.....	20
1.7 Considerações finais.....	24
CAPÍTULO 2 - FUNDAMENTOS SOBRE NEURÔNIOS, SISTEMA NERVOSO, SPIKES E BURSTS.....	25
2.1 Neurônios.....	25
2.2 Características dos sinais elétricos dos neurônios.....	28
2.3 <i>Spikes e bursts</i>	32
2.4 Exemplo de aplicação prática.....	35
2.5 Considerações Finais.....	37
CAPÍTULO 3 - PROJETO DO SISTEMA DE REGISTRO CONVENCIONAL USADO EM MEA.....	38
3.1 Diagrama de blocos.....	38
3.2 Módulo Pré-Amplificador.....	39
3.3 Tensões negativas em relação ao Terra virtual.....	42
3.4 Fonte de Alimentação Simétrica a partir de uma fonte simples.....	44
3.5 Descrição dos blocos que integram o Digitalizador.....	49
3.6 Circuito integrado Conversor AD.....	50
3.7 Barramento SPI.....	52
3.8 Amplificadores para condicionamento de sinais.....	55
3.9 Implementação prática do Digitalizador.....	57
3.10 Código em linguagem VHDL.....	59
3.11 Módulo Orange PI.....	63
3.12 Código-fonte em linguagem C.....	65

3.13	Execução final do protótipo do Digitalizador.....	67
3.14	Considerações Finais.....	74
CAPÍTULO 4 - RUÍDO E RESSONÂNCIA ESTOCÁSTICA.....		75
4.1	Introdução	75
4.2	Classificação dos Ruídos	76
4.2.1	Função Densidade de Probabilidade	79
4.2.2	Ruído branco uniforme e ruído branco Gaussiano.....	80
4.3	Ressonância Estocástica	81
4.4	Movimento Browniano e a Equação de Langevin	84
4.5	Análise numérica da Equação de Langevin	87
4.6	Sistema de Ressonância Estocástica Baseado em Limiar (SL).....	88
4.7	<i>Dithering</i>	91
4.8	Medidas de performance para RE.....	93
4.9	Relação Sinal/Ruído.....	94
4.10	Aplicações práticas da Ressonância Estocástica.....	95
4.11	Aplicações de RE em Biomedicina.....	101
4.12	Considerações Finais.....	102
CAPÍTULO 5 - SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS.....		103
5.1	Simulações matemáticas.....	103
5.1.1	Geração do ruído branco aditivo	103
5.1.2	Equação de Langevin.....	109
5.2	Simulação de Circuitos não-lineares	114
5.3	Schmitt trigger	116
5.3.1	Circuito 1: Simulação para Schmitt trigger clássico.....	120
5.3.2	Circuito 2: Simulação para amplificador não-linear com curva de transferência no formato “N”.....	121
5.3.3	Circuito 3: Simulação para o amplificador não-linear com curva de transferência no formato “S”	122
5.4	Circuito Gerador de Ruído Branco	123
5.5	Circuito Detector de Envoltória.....	124
5.6	Considerações Finais.....	128

CAPÍTULO 6 - DESENVOLVIMENTO DO SUBSISTEMA RESSONADOR ESTOCÁSTICO - REAC	129
6.1 Valor RMS de um sinal.....	129
6.2 Cálculo da Relação Sinal-Ruído.....	130
6.3 Informação mútua	131
6.4 Entropia da Informação	133
6.5 Diagrama de blocos do Sistema de Aquisição e Registro de Sinais em MEA com Ressonância Estocástica (SASMARE).....	135
6.6 Diagrama de blocos do REAC.....	136
6.7 Sistema de Blindagem Eletromagnética.....	146
6.8 Considerações Finais	147
CAPÍTULO 7 - RESULTADOS EXPERIMENTAIS	148
7.1 <i>Setup</i> experimental	148
7.1.1 Preparação das culturas em MEA.....	152
7.1.2 Leitura dos dados registrados	155
7.2 <i>Software</i> para leitura e análise de dados	157
7.3 Gráficos dos registros	158
7.3.1 Experimento nº 1	158
7.3.2 Experimento nº 2.....	160
7.3.3 Experimento nº 3.....	161
7.3.4 Experimento nº 4.....	162
7.3.5 Experimento nº 5.....	163
7.3.6 Experimento nº 6.....	164
7.3.7 Experimento nº 7.....	165
7.3.8 Experimento nº 8.....	167
7.3.9 Experimento nº 9.....	168
7.4 Ensaios com o subsistema REAC (Ressonador Estocástico Assistido por Computador)	170
7.5 Comparações entre o Sistema de Amplificação Convencional e o Sistema por Ressonância Estocástica	175
7.6 Considerações Finais.....	179
CAPÍTULO 8 - CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS.....	180

8.1 Conclusões.....	180
8.2 Trabalhos Futuros	182
REFERÊNCIAS.....	184
APÊNDICE A.....	197
APÊNDICE B - DIAGRAMA ELÉTRICO SOQUETE.....	198
APÊNDICE C - DIAGRAMA FONTE DE ALIMENTAÇÃO.....	199
APÊNDICE D - DESENHO MECÂNICO SOQUETE MEA	200
APÊNDICE E - DESENHO MECÂNICO TAMPA DO SOQUETE.....	201
APÊNDICE F - DESENHO SOQUETE (INTERNO).....	202
APÊNDICE G - DIAGRAMA ELETRÔNICO MEASIM	203
APÊNDICE H - DIAGRAMAS E PLACA AMPLIFICADOR.....	204
APÊNDICE I - CÓDIGO-FONTE EM VHDL.....	205
APÊNDICE J - CÓDIGO-FONTE ORANGE PI.....	209
APÊNDICE K - CÓDIGO-FONTE PLACA TIVA (REAC)	211
APÊNDICE L - DIAGRAMA ELETRÔNICO REAC	214
APÊNDICE M - PLACA SUBSISTEMA REAC.....	215
APÊNDICE N - CÓDIGO-FONTE DELPHI (REAC).....	216
APÊNDICE O - LISTA DE PUBLICAÇÕES.....	223

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

CAPÍTULO 1 -

A idéia inovadora apresentada nesta tese de Doutorado é explorar o conceito de Ressonância Estocástica (RE) em circuitos elétricos amplificadores não-lineares (Schmitt triggers) para estudar os sinais elétricos produzidos pelos neurônios cultivados in vitro em Matrizes de Microeletrodos (MEA), comparando-o com os sistemas convencionais de aquisição em MEA. Para que ocorra o fenômeno de Ressonância Estocástica (o qual permite amplificar sinais muito fracos em meio a níveis controlados de ruído) é necessário que exista um ruído Gaussiano aditivo misturado com o sinal fraco, e que ambos sejam aplicados a algum sistema não-linear. Explora-se também o fato de que os próprios neurônios são dispositivos não-lineares naturais, pela própria biologia dos disparos de seus impulsos elétricos. Assim, um ruído Gaussiano aplicado à própria MEA produz ressonância estocástica naturalmente, valendo-se de uma propriedade natural das células neurais. Inicialmente é feita uma contextualização descrevendo os fundamentos do dispositivo MEA. Em seguida são apresentados os objetivos do projeto de pesquisa, possíveis contribuições, estruturação do texto e uma revisão bibliográfica sobre cultura de neurônios em MEA

1.1 Contextualização

MEA é um acrônimo para *Micro-Electrode Array* e *Multielectrode Array* em inglês, ou Matriz de Microeletrodos, em português. A sua versão de interface fabricada com a finalidade de se fazer uma cultura de neurônios (ou de outras células que produzem atividade elétrica, como por exemplo os cardiomiócitos) possui normalmente uma superfície plana, que possui eletrodos, desenhados por processo de litografia de Raios X. Essa técnica é a mesma empregada na fabricação de circuitos integrados (SEABRA, 1997). Existe atualmente grande interesse no estudo e no reconhecimento do padrão dos sinais elétricos produzidos pelos neurônios e pelos tecidos nervosos, não apenas visando o entendimento e a relação entre a topologia das redes neurais biológicas e seus sinais, mas sobretudo visando

aplicações práticas, como por exemplo, a construção de Interfaces Cérebro-Máquinas (BCI) e implantes bioeletrônicos. Um dos problemas é a amplificação desses sinais, que podem ter amplitude muito pequena. Neste trabalho, o autor propõe um método inovador e pouco usual para melhorar a relação sinal-ruído de sinais de muito baixa intensidade. Este método (denominado Ressonância Estocástica, RE) faz uso colaborativo do ruído, que quando adicionado de modo controlado a um sinal de muito baixa intensidade, pode torná-lo detectável. As características importantes do sinal, que são os *spikes*, *bursts* e os intervalos de tempo entre eles, ficam preservadas apesar do ruído intencionalmente adicionado pelo método RE e das distorções introduzidas nos sinais devido aos necessários circuitos não-lineares. Este método é descrito nos Capítulos 4 a 6 desta tese. Além desse método inovador, é descrito no Capítulo 3 a construção da parte convencional do sistema de registro de sinais da interface MEA, incluindo a parte de amplificação. O desenvolvimento deste sistema convencional é importante pois trata-se de uma contribuição tecnológica para o desenvolvimento da captação de sinais eletrofisiológicos no Brasil.

1.2 Objetivos da Pesquisa

O principal objetivo desta tese de Doutorado, é o desenvolvimento de um método de medição de sinais de neurônios cultivados em MEA, com a possibilidade de capturar sinais de amplitude muito pequena, que se mistura aos ruídos. Esse método é baseado no uso do próprio ruído como elemento que auxilia na obtenção do sinal, um fenômeno conhecido como Ressonância Estocástica.

Como objetivos específicos podemos citar:

- a) Construção de um sistema convencional de registro de sinais de neurônios cultivados em MEA;
- b) Construção de um circuito de ressonância estocástica que aumenta a sensibilidade do sistema convencional de amplificação de sinais, mas não substitui este último na análise de sinais em MEA;
- c) Comparação dos dois sistemas construídos.

1.3 Possíveis contribuições

Como contribuições deste projeto de pesquisa cita-se:

- Implementação de um sistema de captura de sinais eletrofisiológicos em níveis de muito baixa amplitude;
- Construção de um circuito de captação de sinais impossíveis de serem obtidos por um método convencionalmente empregado, explorando o fenômeno RE.
- Pesquisar sinais de neurônios provenientes de matrizes de microeletrodos, relacionando os sinais e a distribuição espacial dos neurônios sobre a MEA;
- Determinar uma relação entre a intensidade dos sinais de interesse e do ruído gaussiano que, quando adicionado a tais sinais, melhora a relação sinal-ruído.
- Obtenção de um sistema de controle computadorizado capaz de controlar automaticamente níveis de sinais e ruído, obtendo o ponto de ressonância estocástica;
- Contribuir para a pesquisa de processamento de sinais, obtendo um tratamento matemático pormenorizado para o fenômeno de ressonância estocástica.

1.4 Estruturação do Texto

O presente texto está subdividido em 8 Capítulos. O Capítulo 1 apresenta uma revisão bibliográfica sobre as pesquisas em MEA durante os últimos 50 anos e o Capítulo 2 apresenta uma breve revisão sobre neurônios, sistema nervoso, *spikes*, *bursts* e também traz as características elétricas importantes dos sinais que devem ser medidos e registrados neste trabalho. A descrição de uma plataforma convencional para registro, aquisição e processamento de sinais em matrizes de microeletrodos é apresentada no Capítulo 3. O Capítulo 4 apresenta os fundamentos sobre ressonância estocástica e cita algumas de suas aplicações práticas. O Capítulo 5 apresenta os resultados de diversas simulações matemáticas e computacionais dos circuitos eletrônicos implementados. O Capítulo 6 apresenta a utilização da RE como ferramenta de amplificação dos sinais em

MEA e o desenvolvimento de um protótipo denominado REAC (Ressonador Estocástico Assistido por Computador). O Capítulo 7 descreve os resultados experimentais dos ensaios efetuados tanto com a plataforma convencional de registro de dados em MEA quanto com o subsistema de ressonância estocástica REAC. As conclusões do estudo comparativo entre os dois métodos são apresentadas no Capítulo 8, com notadas vantagens para o método que faz uso da RE.

1.5 Revisão bibliográfica sobre a cultura de neurônios em MEA

Diversas culturas em MEA têm sido estudadas, tais como as culturas de tecidos de cérebros de animais como os ratos da espécie Wistar (POTTER, 2001, MAROM e SHAHAF, 2002; MORIN, TAKAMURA e TAMIYA, 2005; STEGENGA LE FEBER, et al., 2008), de neurônios da retina (JONES, IAN, et al., 2015), culturas destinadas ao estudo de efeitos de drogas (BOIDO, FARISELLO, et al., 2010) e análise de reações farmacológicas (EGERT E HAMMERLE, 2002; STETT, EGERT, et al., 2003). Pioneiramente, em 1972, Thomas e colaboradores desenvolveram o primeiro sistema de matriz de microeletrodos (THOMAS, 1972) que consistia em uma matriz de duas linhas de 15 eletrodos em ouro, separados por uma distância de 100 μm entre si, desenhadas sobre um substrato de vidro. No centro deste substrato, Thomas et al. cultivaram células de neurônios de gânglio de raiz dorsal de ratos. Entretanto, somente em 1980, Jerome Pine e colaboradores reportaram os resultados da primeira pesquisa utilizando neurônios dissociados sobre MEA (PINE, 1980), utilizando MEA com 16 eletrodos medindo 10 μm de largura, em linhas paralelas que guardavam entre si uma distância de 250 μm . Neurônio dissociado é aquele separado da fatia (*slice*) de tecido cerebral extraída de algum animal (BARRETO, 2015). Neste experimento, Pine e colaboradores registraram atividade neural de neurônios provenientes de gânglios cervicais de ratos em cultura de 3 semanas, capturando sinais com amplitude em torno de 50 mV (após amplificação), com relação sinal ruído variando entre 5:1 a 15:1 (PINE, 1980). Pine também verificou que os

mesmos microeletrodos poderiam ser usados para aplicar estímulos elétricos e fez experiências aplicando pulsos de 0,5V de amplitude com duração de 1 ms. Em 1986, Wheeler e Novak desenvolveram outro modelo de MEA passiva (isto é, sem transistores ou circuitos integrados amplificadores) de 32 eletrodos, numa matriz de 8x4 e levaram adiante vários importantes experimentos adicionando picrotoxina na cultura e relatando os efeitos inibitórios da substância (WHEELER E NOVAK, 1986). Picrotoxina é um forte estimulante usado para reverter os efeitos de uma intoxicação por tranquilizantes como, por exemplo, barbitúricos. Pela primeira vez, foi relatado o uso da MEA para testes em farmacologia. Em 1991, Fromherz e colaboradores investigaram o uso de transistores FET (*Field Effect Transistors*) para registrar potenciais de ação de células de *aplysia Retzius*, de aproximadamente 50 μm de diâmetro (FROMHERZ, 1991). A porta isolada de um transístor FET, de 6 por 10 μm , foi completamente coberta pela célula. Uma grande quantidade de sinais foi registrada, supostamente resultante de variações no contato entre a célula e a porta. Isso deu início a uma série de pesquisas buscando a interface neurônio-FET. Ainda em 1991, Gross e colaboradores (GROSS, 1991) investigaram as relações entre os sinais produzidos pelos neurônios em MEA, a duração e a intensidade dos estímulos aplicados e produzidos pelas culturas. Outros trabalhos continuaram na mesma linha (CHIAPPALONE et al., 2003, JIMBO, 2000) estudando a dinâmica de culturas corticais de alta densidade e concluíram que um único estímulo pode produzir uma sequência de pulsos com pequeno intervalo de tempo, denominado *burst*. Em 1995, Welsh et al. (WELSH, 1995) publicaram experimentos em MEA desenvolvidos no laboratório de Jerome Pine, demonstrando a possibilidade do seu uso para registrar sinais de redes neurais por longo período de tempo. Os neurônios supraquiasmáticos, que geram o ritmo circadiano diurno em mamíferos, foram dissociados, cultivados e suas atividades espontâneas monitoradas durante vários dias com a MEA. Um resultado surpreendente é que a rede cultivada não sincroniza, mas cada neurônio exibiu oscilação independente com um período aproximado de 24 horas. Isso significa que cada neurônio pode ter o seu próprio gerador de ritmo circadiano. Em 2003, um trabalho descrito por Schnitzer concluiu que grupos de até 7 células de gânglios neurais disparam sincronamente e tais

grupos representam mais da metade de todos os registros de pulsos (*spikes*) de células de retina cultivadas *in vitro* em MEA (SCHNITZER, 2003). Em todos estes experimentos foi efetuado o registro simultâneo da atividade extracelular de um grande número de neurônios, sendo que o sinal gerado por um único neurônio pode ser detectado por muitos eletrodos, assim como um único microeletrodo pode captar sinais elétricos provenientes de vários neurônios distintos. Um trabalho de Desai et al. (DESAI, 2014) relata uma comparação do uso de macroeletrodos para estimulação profunda *in vivo* e múltiplos microeletrodos em hipocampo de ratos. Numa estimulação de 1 volt com frequência de 25 Hz, com microeletrodos de 33 μm de diâmetro, foi verificado um raio de ativação de 100 μm , que é 50% do que foi identificado com estimulação de macroeletrodo de 150 μm de diâmetro. Macroeletrodos ativaram aproximadamente 5,8 vezes mais neurônios que microeletrodos individuais, mas deslocaram 20 vezes mais tecidos neurais. A esfera de influência de microeletrodos de estimulação pode ser significativamente melhorada reduzindo a impedância da MEA. Os raios de ativação aumentaram 50 μm e mais que duplicaram o número de neurônios ativados. Recentemente, Jimbo et al. (JIMBO, 2015) estudaram a separação cega de fontes em neurônios corticais cultivados de acordo com o princípio de energia livre (*Free-Energy Principle*), (FRISTON, 2010). Apesar dos estudos anteriores de técnicas de separação cega de fontes terem revelado que o cérebro pode usar esse procedimento como uma estratégia para o processamento de sinais em percepção sensorial, e numerosos modelos matemáticos terem sido propostos, permanece a questão de como as redes neurais extraem fontes particulares de uma mistura complexa de entradas. Os autores sugerem que os neurônios em culturas de células corticais dissociadas podem aprender a representar fontes particulares enquanto filtram outros sinais. Especificamente, as classes distintas de neurônios na cultura aprenderam a responder a fontes distintas após repetir estimulações de treinamento. Além disso, as estruturas de redes neurais mudaram para reduzir a energia livre, conforme o princípio de energia livre, um candidato para a teoria unificada de aprendizado e memória, e pelo princípio de Jaynes de máxima entropia (JAYNES, 1957). Esses resultados são as primeiras demonstrações *in vitro* de redes neurais desempenhando separação cega

de fontes, e a primeira demonstração formal de auto-organização neural sob o princípio de energia livre. A Tabela 1.1 resume as principais pesquisas em MEA, desde 1972 até 1998. A Tabela 1.2 lista as pesquisas mais recentes sobre o assunto, a partir de 2001 até o ano de 2018.

Tabela 1.1: Principais pesquisas em MEA, de 1972 a 1998.

Autores	Ano	Tema	Tecnologia	Tipo de células
Thomas et al.	1972	Desenvolvimento da primeira MEA	Duas linhas de 15 microeletrodos	Ganglionares
Gross et al.	1977	Segundo desenvolvimento de MEA	36 microeletrodos de ouro	Ganglionares
Jerome Pine	1980	Registro em células dissociadas	Duas linhas de 16 microeletrodos	Ganglionares
Gross et al.	1982	Registro de células dissociadas	36 microeletrodos de ouro	Medula espinhal
Jobling et al.	1981	Desenvolvimento de arranjo comFET	Transistores FET	Hipocampo
Wheeler et al.	1986	MEA exclusiva para hipocampo	MEA de 32 microeletrodos	Hipocampo
Meister et al.	1989	Retina de salamandra	MEA do Laboratório de Pine	Retina
Fromherz et al.	1991	MEA de FET	Transistores FET	Aplysia Retzius
Welsh et al.	1995	Registro de ritmo circadiano	MEA do Laboratório de Pine	Supraquiasma
Taketani e Kawana	1990s	Desenvolvimento de MEA no Japão	MEA de 64 microeletrodos	Corticais
Jimbo et al.	1999	Estimulação tetânica	MEA de 64 microeletrodos	Corticais
Granados Fuentes et al.	2004	Ciclos circadianos	MEA60 da MultiChannel Systems	Supraquiasma
Maeda et al.	1995	Neurônios corticais	MEA de 64 microeletrodos	Corticais
Lewicki et al.	1998	Deteção de spikes	Múltiplos eletrodos	

Tabela 1.2: Pesquisas mais recentes em MEA, de 2001 até 2018.

Autores	Ano	Tema	Tecnologia	Tipo de células
Berdondini et al.	2001	Construção de MEA	MEA alta densidade	
Litke et al.	2004	Processamento da retina	512 microeletrodos	
Segev et al.	2004	Células ganglionares de retina	Número limitado de microeletrodos	
Einevoll et al.	2012	Nova geração de MEA	Centenas de microeletrodos	
Brown et al.	2001	Aplicação de ICA	MEAs, EEG, fMRI	
Hyvarinen	1999	FastICA	Diversas	
Hermle et al.	2004	Deteção de spikes e ICA e SOM	Tetrodo	
Snellings et al.	2006	Melhoria dos dados para FastICA	Diversas	
Takahashi et al.	2003	k-means e ICA	Tetrodo	
Takahashi et al.	2005	Sistema automático	Dodecaeletrodo	
Bakkum et al.	2013	Propagação do potencial de ação	11.011 microeletrodos	
Cogollo et al.	2011	Microscopia de força atômica	MEA	Cardiomiócitos
Downes et al.	2012	Funcional – redes complexas	MEA	
Jäckel et al.	2012	Aplicabilidade da ICA	MEA de alta densidade	
Frankeet al.	2012	Registro e deteção em tempo real	MEA de alta densidade	
Bareket-Keren et al.	2013	Nanotubos de carbono	Diversas	
Desai et al.	2014	Comparação de eletrodos	Macroeletrodos e microeletrodos	
Jimbo et al.	2015	Princípio de energia livre	Separação cega em neurônios	Corticais
Sardi et al.	2017	Princípio dos múltiplos limiares para o neurônio	<i>Patch-clamp</i>	Corticais
Pastore et al.	2018	Identificação da inibição excitatória dos neurônios	MEA60 padrão	Corticais
Spanu et al.	2018	Monitoramento do metabolismo neural através de ferramenta orgânica	Matriz OCMFET	Hipocampo

1.6 Sistemas de registros comerciais

Existem atualmente diversos sistemas de registro que são comercializados na forma de *kits* completos para cultivar os tecidos e células dissociadas em MEA e realizar as suas medidas eletrofisiológicas. Um dos principais fabricantes é a empresa *MultiChannel Systems* com sede na cidade de *Reutlingen* na Alemanha (SYSTEMS, 2015). Um dos sistemas comercializados por MCS é chamado de MEA60 Padrão, contendo 60 microeletrodos, sendo que 59 deles são utilizados para registrar os sinais elétricos e um deles é a referência (GND ou terra). A MEA60 Padrão é constituída de um substrato de vidro, semelhante a uma placa de Petri, contendo em seu centro uma região circular delimitada pelo próprio vidro capaz de conter a cultura, o meio de cultivo (líquido) e os microeletrodos que são impressos sobre o vidro, através do processo de litografia de raios X. O sistema MEA60 Padrão permite também a estimulação elétrica da cultura, evocando os sinais das células cultivadas. O estudo dos sinais evocados é muito interessante, pois permite estudar a função de transferência no domínio temporal e no domínio da frequência complexa, características de cada rede neural (POTTER, 2001, MORIN, TAKAMURA E TAMIYA, 2005, MARTINÓIA, 2015). O kit básico para experimentação em MEA inclui os seguintes itens:

- a) Interface MEA onde se realiza a cultura e as conexões;
- b) Dispositivos de manutenção das células cultivadas;
- c) Pré-amplificador com 59 canais;
- d) Multiplexadores capazes de restringir o número de amplificadores;
- e) Filtros passa-banda, para limitar a banda passante e o nível de ruído;
- f) Amplificadores capazes de ampliar ainda mais os sinais, além dos pré-amplificadores;
- g) Placa de aquisição de sinais, que contém o conversor A/D;
- h) Sistema gerador de sinais, para estimular eletricamente a cultura;
- i) Computador com *software* para registro e processamentos dos sinais.

- j) Adicionalmente, pode-se acrescentar um microscópio confocal ou microscópio óptico invertido acoplado a câmeras CCD ou fotomultiplicadores, com finalidade de se obter imagens prévias das culturas e da configuração das redes neurais formadas e suas conexões com os microeletrodos.

Um trabalho importante na pesquisa em MEA é estabelecer uma relação entre a topologia da rede neural e os sinais elétricos produzidos por esta mesma rede, e tem sido alvo de investigações através de diversos estudos, como por exemplo o trabalho de Rodriguez (RODRIGUEZ E SAITO, 2015).

Na Figura 1.1 é mostrada uma configuração mínima necessária para efetuar registros a partir da MEA60 padrão.

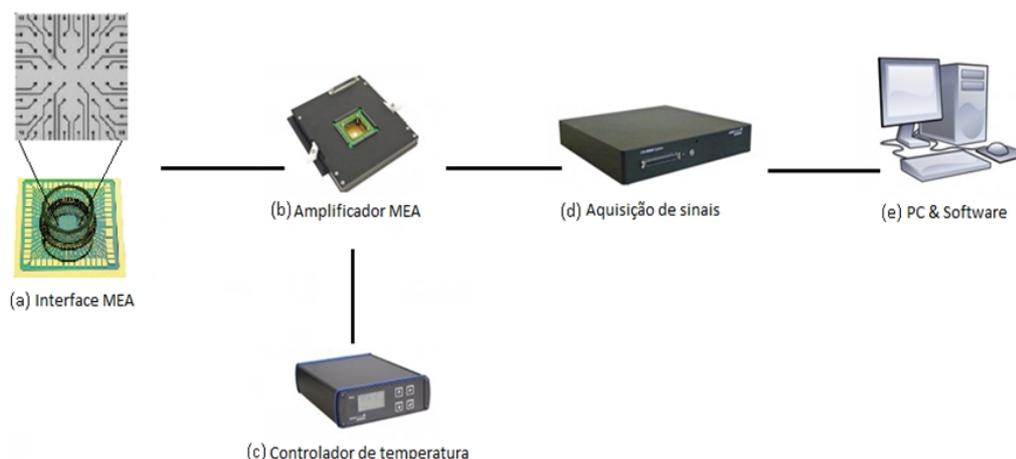


Figura 1.1: Componentes mínimos para um sistema de registro MEA em 60 canais.

A Figura 1.1 mostra os seguintes componentes: (a) Interface MEA, onde é inserida a cultura de tecidos neurais ou neurônios dissociados que exibem atividade elétrica; (b) Sistema de amplificação, frequentemente sendo montado dentro do próprio soquete elétrico; (c) Controlador de temperatura, utilizado para manter a cultura aquecida no soquete, na temperatura adequada para a vida das células, de 37°C; (d) Placa de Conversão de Sinais, que incorpora o conversor A/D e um *chip* de comunicação com algum protocolo, preferencialmente USB (mas pode-se também utilizar o barramento PCI dos computadores ou a porta Ethernet); e (e) Computador com o *software* que faz o registro e o processamento dos dados captados.

Na Figura 1.2 é mostrada uma MEA com seus 60 eletrodos em (a) (à esquerda) e em (b) (à direita) é mostrada uma ampliação referente à região central, com os

detalhes referentes aos microeletrodos no centro da MEA. Esta MEA, conhecida como MEA Padrão, tem uma área de registro que varia entre $700 \times 700 \mu\text{m}^2$ a $5 \times 5 \text{mm}^2$, sendo escolhida no momento da compra pelo usuário. A distância entre os microeletrodos pode variar dentre os seguintes valores: 100, 200 e $500 \mu\text{m}$ e o diâmetro dos microeletrodos varia entre 10, 20 e $30 \mu\text{m}$ (BARRETO, 2015).

Quando cultivados sobre a região central da MEA, os neurônios se interconectam entre si pela sua extremidade chamada *axônio*, em contato com a superfície de outros neurônios numa região onde se localizam os *dendritos* das demais células. A região de contato entre o axônio de um neurônio e os dendritos de outros é chamada *sinapse*. O impulso elétrico é gerado no interior do corpo celular e se propaga ao longo do axônio até atingir a sua extremidade onde se encontra uma sinapse. Sinapses são regiões que permitem a transmissão de sinais entre a extremidade do axônio do neurônio pré-sináptico com o dendrito do neurônio pós-sináptico. Quando alguns neurônios, como os provenientes da região do córtex cerebral são cultivados *in vitro* sobre a MEA, formam sinapses espontaneamente, e também estabelecem conexões elétricas com os microeletrodos. A medição dos sinais eletrofisiológicos na MEA permite estudar o comportamento de uma rede de neurônios interconectados (MOLINA-LUNA, 2009).

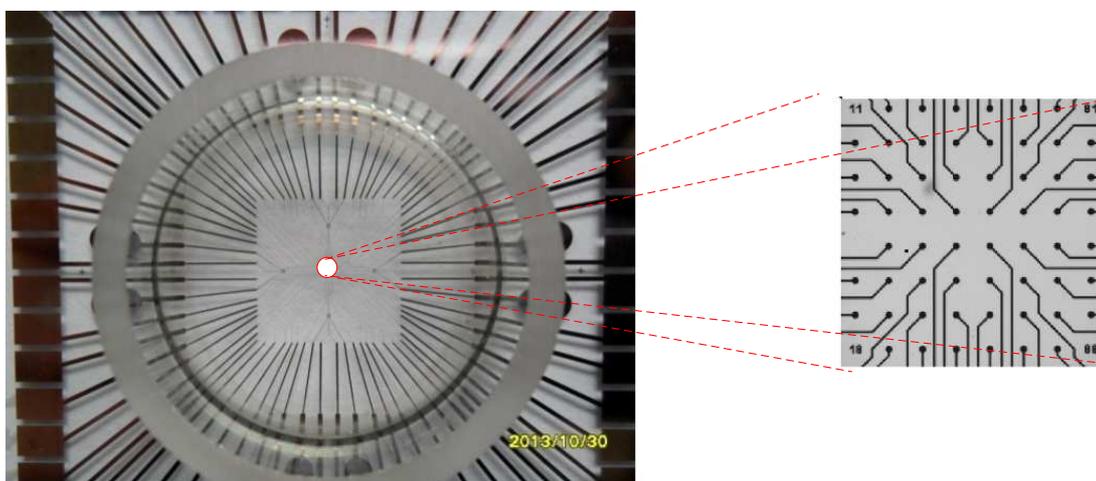


Figura 1.2: (a) MEA60, região central; (b) detalhe ampliado dos microeletrodos, ao centro da MEA60.

Um experimento muito interessante foi proposto por Potter e Wagenaar: uma cultura em MEA realiza o controle de um animal simulado na tela do computador PC (chamado pelos autores do trabalho de *Animat*) (POTTER, WAGENAAR e DEMARSE, 2006). O *Animat*, em ambiente virtual, passa a ser controlado pelos

impulsos elétricos provenientes da MEA e pode também enviar impulsos para esta, através de um eletroestimulador. Um esquema para o experimento proposto é mostrado na Figura 1.3.

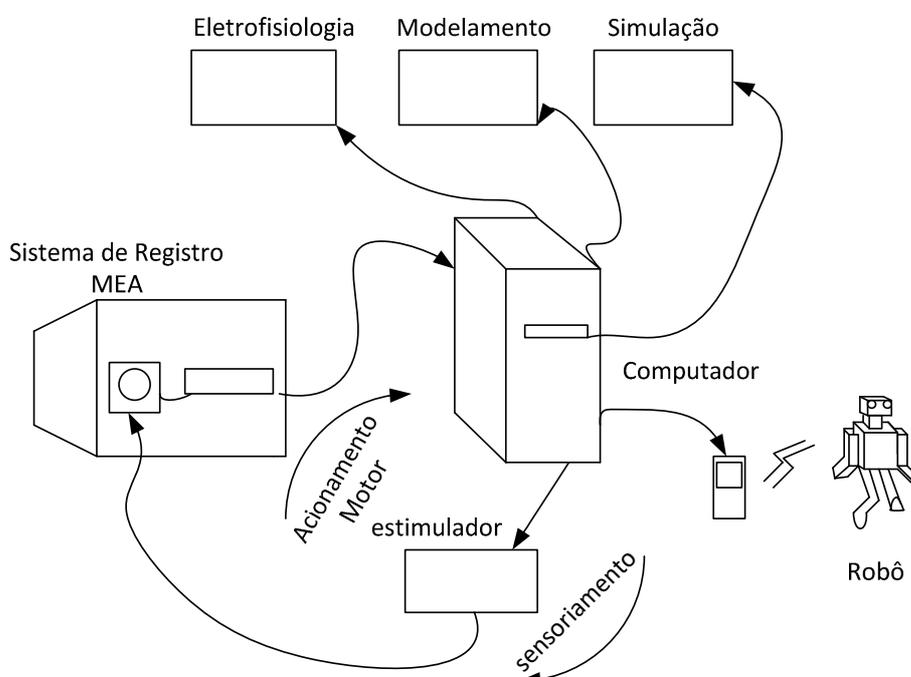


Figura 1.3: Experimento proposto por Potter et al. Fonte: Adaptado de (POTTER, WAGENAAR e DEMARSE, 2006).

Este experimento exemplifica o uso da MEA num sistema de controle em malha fechada (*closed loop*). Aparentemente, trata-se apenas de uma proposta teórica até o momento. Não existem relatos na literatura de que a equipe de Potter e Wagenaar tenham de fato implementado este experimento na prática, provavelmente devido às dificuldades de se obter uma cultura em MEA que seja capaz de formar redes neurais capazes de exibir respostas de aprendizado. A obtenção de um *biochip* em MEA, com cultura de tecidos provenientes de cérebro, que seja capaz de estabelecer sinapses e reproduzir comportamentos aprendidos é alvo de intensa pesquisa experimental (WAGENAAR, POTTER et al., 2005).

1.7 Considerações finais

Neste Capítulo foi apresentada uma introdução geral sobre esta tese, incluindo uma breve revisão bibliográfica sobre os estudos de eletrofisiologia utilizando MEA. O Capítulo 2, seguinte, refere-se aos fundamentos de neurônios, e formas de medição do seu comportamento, em termos de *spikes e bursts*.

Capítulo 2

CAPÍTULO 2: FUNDAMENTOS SOBRE NEURÔNIOS, SISTEMA NERVOSO, SPIKES E BURSTS

Este Capítulo está dividido em 5 seções. A primeira Seção aborda a morfologia e fisiologia dos neurônios e células gliais de modo resumido; A Seção 2 faz uma revisão bibliográfica sobre as características dos sinais elétricos em medidas intracelular e extracelular; a Seção 3 faz uma apresentação sobre spikes e bursts. A Seção 4 apresenta uma aplicação prática de MEA como biosensor utilizado na indústria farmacêutica e finalmente a Seção 5 apresenta as considerações finais sobre este Capítulo.

2.1 Neurônios

O neurônio é a célula responsável pela produção e condução do impulso nervoso, que é um impulso elétrico, cuja tensão e corrente elétrica são alvos das medidas em Neurofisiologia. Os neurônios são as unidades básicas anatomo-funcionais do cérebro e do sistema nervoso sendo que o ser humano possui cerca de 100 bilhões dessas células (GUYTON, 2006). É constituído pelas seguintes partes: corpo celular ou núcleo, axônio e dendritos. Na Figura 2.1 é representado esquematicamente um neurônio, com destaque para as suas partes: (1) dendritos, (2) corpo celular, (3) bainha de mielina, que recobre o axônio e (4) terminações dos axônios, que efetuam as conexões sinápticas.

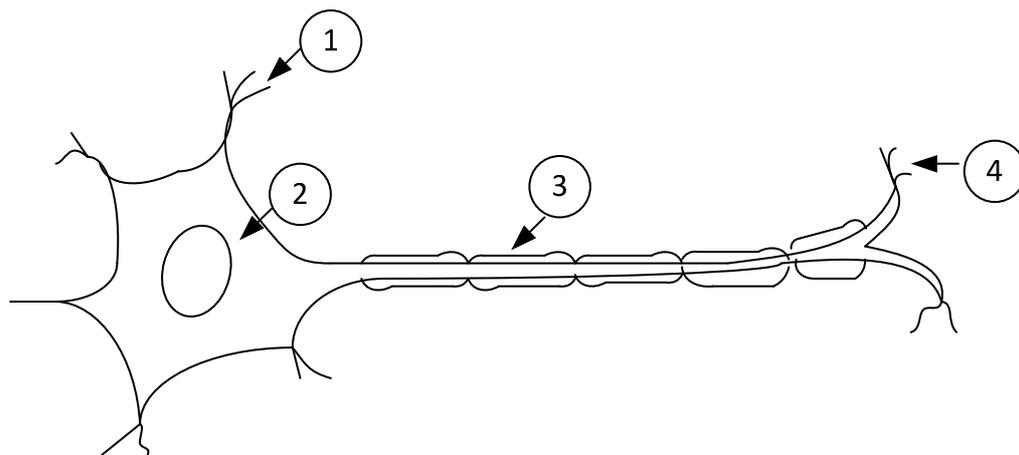


Figura 2.1: Diagrama ilustrativo de um neurônio. Em (1) são ilustrados os dendritos, em (2) o núcleo da célula, no interior do citoplasma, em (3) a bainha de mielina que recobre o axônio e em (4) a porção final do axônio, que realiza conexões elétricas com dendritos de outros neurônios. Fonte: Adaptado de (PURVES, 2010).

O axônio é um prolongamento do corpo celular e transmite o impulso nervoso vindo do corpo celular (ou núcleo) e os dendritos são prolongamentos numerosos e curtos do corpo celular, que recebem as mensagens vindas dos axônios de outros neurônios. Sinapses são pontos de encontro entre as extremidades (axônios e dendritos) de neurônios vizinhos. A sinapse é constituída pela membrana pré-sináptica, fenda sináptica e membrana pós-sináptica (GUYTON, 2006). Os sinais são transportados através das sinapses com a participação de substâncias químicas chamadas neurotransmissores, dentre os quais destacam-se a serotonina, a dopamina, a acetilcolina, o glutamato, o aspartato, a noradrenalina e as endorfinas. A falta ou o excesso da concentração dos neurotransmissores nas fendas sinápticas é causa de inúmeras patologias que são tratadas pela Psiquiatria, como por exemplo a depressão. Depressão é frequentemente causada pela falta de serotonina nas fendas sinápticas e as drogas que agem contra a depressão aumentam a recaptação de serotonina e dopamina dos neurotransmissores (GUYTON, 2006).

Um neurônio em repouso apresenta uma diferença de potencial entre o seu citoplasma e o líquido extracelular, criada devido ao acúmulo de íons potássio (K^+) e sódio (Na^+), que ocorre pela ação de mecanismos celulares denominados "bombas" os quais criam uma diferença de concentração. Esta diferença de concentração é controlada por canais de K^+ e de Na^+ , gerando uma tensão negativa (em torno -58mV no interior de neurônios humanos), que pode variar entre espécies. Esse

estado de polarização do neurônio permanece até que um potencial de ação abra os canais de K^+ e de Na^+ , alterando a concentração iônica. Esta mudança gera uma ddp (diferença de potencial) positiva no interior do neurônio, em torno de +40mV (dependendo da espécie). Este desequilíbrio gera um efeito cascata, que é o potencial de ação. Usualmente o potencial de ação inicia na extremidade próxima do axônio, durando cerca de 1ms e se propaga até as fendas sinápticas, gerando a descarga de neurotransmissores (GUYTON, 2006). Esses neurotransmissores atuam sobre as fendas sinápticas de modo a possibilitar a abertura ou fechamento dos canais iônicos. Após ocorrer o potencial de ação, imediatamente os canais de K^+ e de Na^+ começam a restabelecer o equilíbrio anterior, com uma tensão elétrica negativa no interior do neurônio e positiva no exterior da célula. O neurônio necessita de um intervalo de tempo em torno de 1ms para reconstituir seu estado de pré-descarga, e durante este tempo não consegue efetuar outro potencial de ação. Este período de latência chama-se período refratário. Logo em seguida, o neurônio restabelece sua capacidade para efetuar outro potencial de ação, reiniciando um novo ciclo (PURVES, 2010).

O tecido nervoso é composto também por outras células. Um outro tipo celular muito presente é a glia, também chamada de neuroglia, célula neuroglial ou gliócitos. Os gliócitos são células não-neurais que fornecem suporte mecânico, defesa e nutrição aos neurônios. Antigamente acreditava-se que, apesar das células da glia aparecerem em quantidade 9 vezes maior do que os neurônios, sua função era apenas alimentar os neurônios e fixá-los mecanicamente em suas posições. Entretanto, sabe-se atualmente que as células da glia são capazes de modificar os sinais nas fendas sinápticas entre os neurônios, fornecem oxigênio e nutrientes, isolam um neurônio do outro, destroem germes invasores e removem células mortas. As células neurogliais mantêm também a homeostase do tecido nervoso, formam mielina e participam na transmissão de sinais no sistema nervoso, podendo influenciar o local da formação das sinapses. Podem ser essenciais para o aprendizado e para a construção de lembranças, além de importantes na recuperação de lesões neurológicas (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004).

Ao contrário das demais células, os neurônios sob condições normais não tem a capacidade de se reproduzir, após a fase de formação e crescimento (em laboratório esta reprodução é possível). Um carcinoma no cérebro é frequentemente um tumor de células da glia, pois estas se reproduzem. As células da glia são

classificadas em micróglia e macróglia (MAHER, 1999). As micróglia são macrófagos especializados, capazes de fagocitose, protegendo os neurônios. São as menores de todas as células gliais e correspondem a 15% de todas as células do tecido nervoso. As células ependimárias e as células de Schwann constituem as microglia. As macróglia podem ser: astrócitos, oligodendrócitos e os glioblastos, cada uma com funções específicas (GUYTON e HALL, 2006). O neurônio cuja terminação do axônio se conecta ao corpo ou ao dendrito de outro neurônio é chamado neurônio pré-sináptico, e é responsável por enviar o impulso elétrico nervoso. Um único neurônio pode fazer algumas unidades de conexões, até centenas de milhares de conexões. Neurônio pós-sináptico é o nome dado ao neurônio que recebe a conexão de outro neurônio, o neurônio pré-sináptico (KANDEL, SCHWARTZ et al., 2000).

2.2 Características dos sinais elétricos dos neurônios

Para o projeto do sistema de registro devem ser consideradas primeiramente as características dos sinais elétricos a serem amplificados. Duas informações importantes sobre estes sinais são: (1) amplitude pico-a-pico e (2) período de tempo dos sinais. A amplitude serve para se determinar o ganho necessário dos amplificadores e o período de tempo destina-se ao cálculo correto da taxa de amostragem do Conversor A/D (Analógico-para-Digital) e da velocidade de resposta (*slew rate*) dos Amplificadores Operacionais (AO).

Neurônios de hipocampo, por exemplo, apresentam menores amplitudes de sinais elétricos em comparação com outros tipos de células. Um típico sinal elétrico gerado pelo disparo de um neurônio de hipocampo de rato da espécie Wistar é mostrado na Figura 2.2.

O potencial de repouso é da ordem de -70mV . Quando o neurônio dispara, após ultrapassar o limiar (*threshold*) de -50mV , o potencial elétrico pode atingir o valor de $+10\text{mV}$, retornando logo a seguir ao valor de repouso (-70mV). A Figura 2.2 corresponde ao registro do potencial elétrico **intracelular** do neurônio em função do tempo. Os níveis de tensão tem amplitude da ordem de 80mV p-p e ocorrem dentro das junções axônio/dendritos (sinapses).

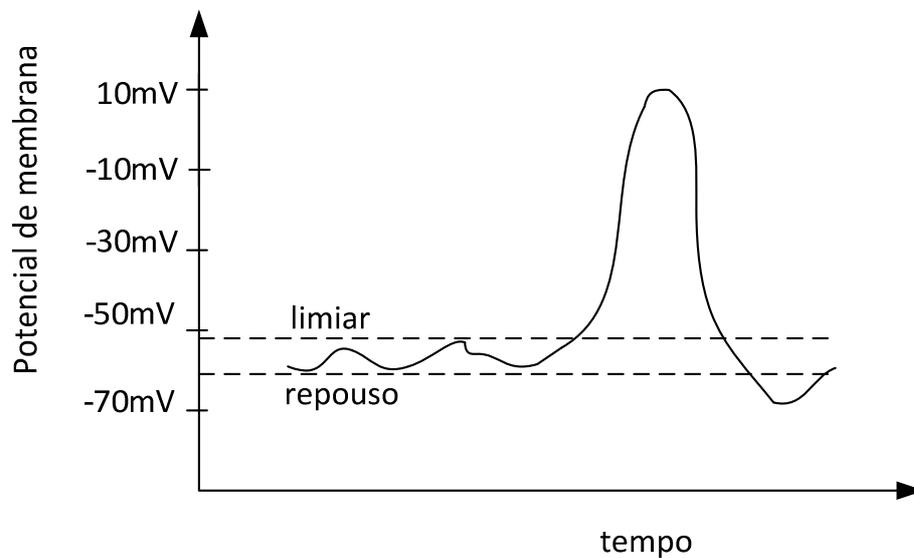


Figura 2.2: Impulso elétrico proveniente de um neurônio de hipocampo de rato Wistar. Quando em repouso o sinal elétrico situa-se entre -70 e -50mV; quando ocorre um disparo, este sinal aumenta de nível até cerca de +10mV, invertendo sua polaridade e à seguir, retorna ao nível basal de repouso. Fonte: adaptado de (LEWANDOWSKA, 2015).

O potencial extracelular, captado pelos eletrodos da MEA costuma ser de muito menor amplitude para neurônios de hipocampo e de gânglios dorsais (MARTINÓIA, 2015). Uma típica variação de potencial extracelular, captada por um microeletrodo da MEA, para uma cultura de neurônios de gânglios dorsais de ratos da espécie Wistar é mostrada na Figura 2.3. Observa-se no eixo das ordenadas do gráfico, a amplitude extremamente pequena dos sinais **extracelulares** captados através da MEA: os sinais registrados variam de $-30\mu\text{V}$ até $+30\mu\text{V}$ aproximadamente. Na Figura 2.3, mostra-se em vermelho a curva simulada e, na cor preta, os dados medidos pelo equipamento de registro. A conclusão é que os potenciais **extracelulares** possuem amplitudes muito menores, exigindo elevados ganhos nos circuitos amplificadores. Um ganho mínimo de amplificação da ordem de 1000 vezes é necessário para registrar sinais como os mostrados na Figura 2.3, que mostra na cor preta a curva real registrada e na curva vermelha, a curva prevista pelo modelo teórico (KLISCH et al., 2009, SAITO et al., 2013). Nota-se também que a curva em vermelho se assemelha à derivada segunda da função degrau. Isto se deve à maneira pela qual os equipamentos efetuam os registros destes sinais, pois

se relacionam com as curvas de carga dos capacitores utilizados nos circuitos eletrônicos de acoplamento dos amplificadores.

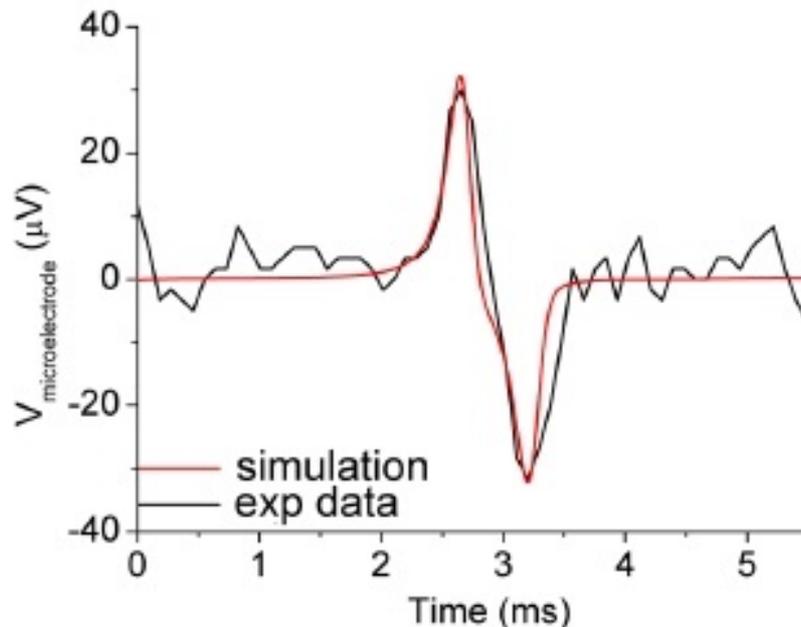


Figura 2.3: Registro do potencial extracelular de neurônios de gânglio dorsal de ratos Wistar. Em vermelho, a curva teórica e em preto, o sinal registrado. Nota-se que o sinal em vermelho se assemelha à curva obtida à partir da derivada segunda da função degrau. Isso ocorre em função da maneira com que os equipamentos efetuam os registros dos sinais, pois tais registros dependem da carga elétrica dos capacitores usados no acoplamento dos circuitos amplificadores.

Fonte: Adaptado de (MARTINOIA, 2015).

Um outro tipo de célula de interesse para se cultivar em MEA é o cardiomiócito, que é também chamado fibroblasto do tecido cardíaco. Estas são as células que formam o tecido do coração, e podem também ser extraídas de embriões de ratos. Na Figura 2.4 percebe-se que o potencial de repouso é praticamente igual ao potencial intracelular dos neurônios (-70mV) mas excursiona do repouso até +20mV e a seguir se estabiliza (durante o chamado "período refratário") em cerca de -80mV, retornando depois ao nível basal de -70mV. Este fato pode ser observado pela curva marcada com a letra C, transmitida para uma outra célula distante do primeiro fibroblasto, provocando também o seu disparo. O disparo deste segundo fibroblasto é mostrado pela curva F, cuja tensão excursiona entre -45mV e zero volts (CAMELLITI, 2005; ISRAEL et al., 1984).

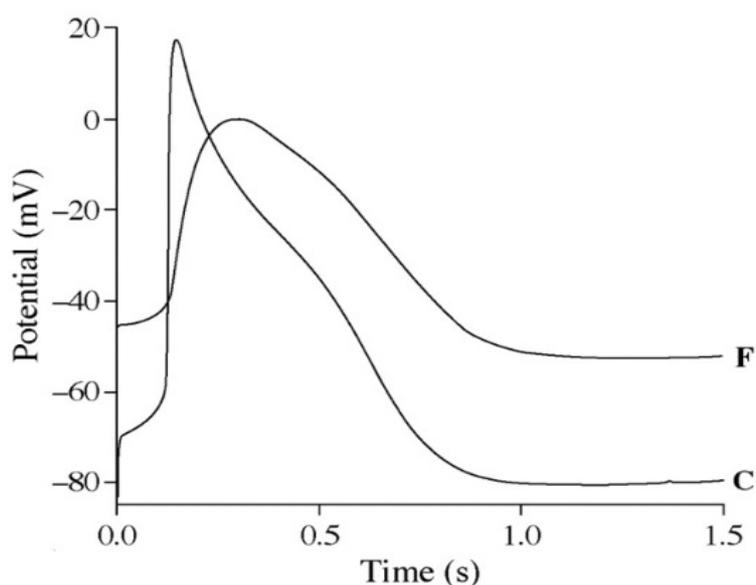


Figura 2.4: Sinais elétricos provenientes de dois cardiomiócitos (fibroblastos). A curva C mostra um cardiomiócito com nível basal em torno de -70mV, que dispara um pulso elétrico atingindo o nível de +20mV e à seguir retorna à condição de repouso. A curva F mostra outro cardiomiócito cujo nível de repouso situa-se em torno de -45mV e se eleva até cerca de 0 volts antes de retornar ao nível basal.

Fonte: Adaptado de (CAMELLITI, 2005).

Na Figura 2.4 pode-se perceber que o fenômeno completo ocorre em tempo da ordem de um segundo. Isso leva a pensar que uma frequência de amostragem da ordem de 1ksp/s (1000 amostras por segundo) é suficiente para um bom registro de sinais de cardiomiócitos, como os mostrados na Figura 2.4. Entretanto, existem *spikes* (como os mostrados na Figura 2.3) que ocorrem em intervalos de tempo menores (MARTINOIA, 2004; MASSOBRIO, 2004), portanto, os equipamentos comerciais fabricados e vendidos por (SYSTEMS, 2015) tem frequência de amostragem típica de 5 ksp/s por canal, com a finalidade de registrar de maneira precisa essas transições (DEMOTT, 1960).

Como o equipamento a ser desenvolvido deverá registrar sinais provenientes de 60 canais, então, a menor frequência de amostragem do ADC desejada neste projeto seria igual a $5 \times 60 = 300$ ksp/s. Entretanto, este valor ainda não é elevado o suficiente. O Conversor A/D precisa amostrar com frequências maiores porque é preciso levar em conta também o tempo de mudança entre um canal e outro (tempo de chaveamento do multiplexador), tempo este que deve ser multiplicado por 60 para uma varredura completa de todos os canais da MEA.

2.3 Spikes e bursts

Os sinais resultantes de potenciais de ação de neurônios e grupos de neurônios são chamados *spikes*. Os sinais elétricos registrados em MEA possuem picos e outras partes sem atividade elétrica, denominadas *ruído biológico*. Atualmente, acredita-se que o ruído biológico seja importante e contribua também para amplificar o sinal, pois o ruído biológico gerado se mistura com os potenciais de ação de neurônios de regiões mais distantes, amplificando-os através do fenômeno de ressonância estocástica (RE).

Um dos objetivos dos *softwares* que fazem análise de sinais neurofisiológicos é a detecção automática de *spikes*. Os *softwares* calculam o desvio padrão do ruído biológico da atividade basal da cultura, e para se detectar um *spike* é necessário definir um limiar (*threshold*) que é um múltiplo desse desvio padrão, conforme mostrado esquematicamente na Figura 2.5. Esta Figura mostra em (a) uma variação de amplitude pequena, que não é considerada um *spike*, pois não ultrapassa o valor médio da amplitude mais algumas vezes o desvio padrão deste valor médio. Na mesma Figura 2.5, em (b) é mostrada uma variação de amplitude que corresponde a um *spike*, pois ultrapassa o valor médio do sinal somado a algumas vezes seu desvio padrão. O número de desvios padrões que correspondem a uma detecção de *spike* é da ordem de 5 a 10, conforme a literatura. Uma sequência de 5 a 10 *spikes* cuja duração é calculada como sendo a soma de todos os intervalos de tempo entre *spikes* contidos neste conjunto é denominada *burst*. Os programas de computador permitem definir a quantidade mínima de *spikes* que caracterizam um *burst*. *Spikes* temporalmente muito próximos entre si pertencem a um mesmo *burst*. Os *softwares* permitem também definir qual o espaçamento temporal mínimo para considerar se o *spike* é pertencente a um determinado *burst* ou refutar esta hipótese. Intervalos entre *bursts* tem duração mínima de 100ms tipicamente, podendo variar segundo o tipo de cultura de neurônios (RODRIGUEZ, 2012). São parâmetros importantes para o estudo dos sinais, com relação aos *spikes* (MARTINOIA, 2004):

- a) número total de *spikes*;
- b) quantidade de *spikes* que formam *bursts*;
- c) porcentagem de *spikes* aleatórios;
- d) ISI, frequência média de *spikes* em um *burst* (*spikes*/segundo).

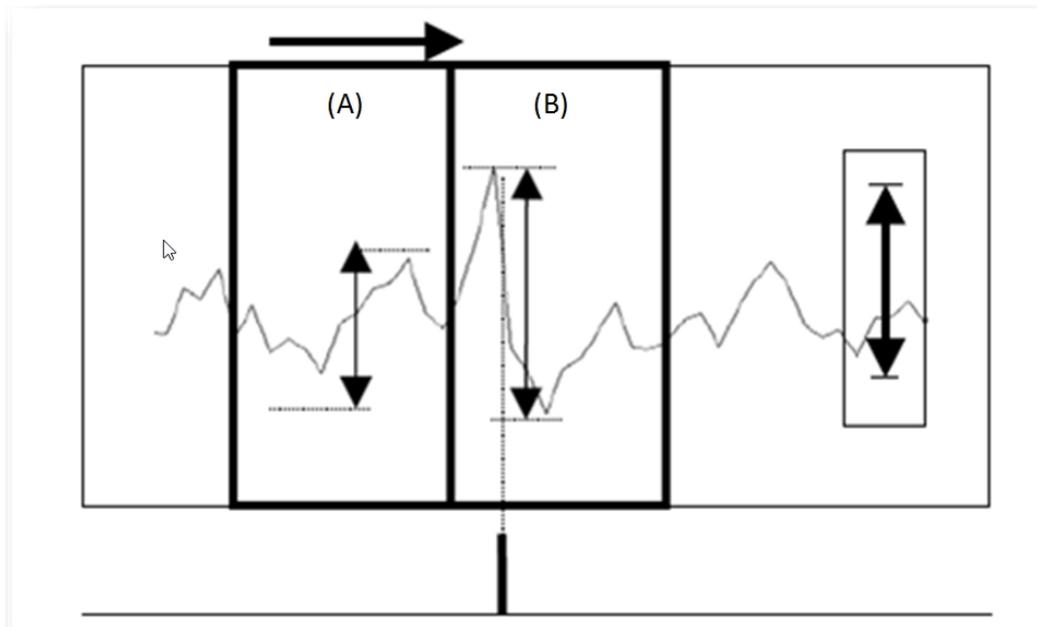


Figura 2.5: Um múltiplo inteiro da amplitude de tensão do desvio padrão da atividade basal é considerado um spike. Em (A) pode-se observar um spike aproximadamente igual ao dobro da média do ruído e em (B) outro spike, de maior amplitude, aproximadamente 4 vezes maior do que o nível de ruído médio. Fonte: (RODRIGUEZ, 2012).

Com relação aos *bursts*, os parâmetros relevantes são:

- a) taxa média de *bursts* (*bursts*/minuto);
- b) número total de *bursts*;
- c) média de *spikes* por *bursts*;
- d) duração dos *bursts* (ms);
- e) IBI, intervalo entre *bursts* (segundos).

Uma janela mostrando um único canal do sinal registrado em MEA padrão é ilustrada na Figura 2.6 (NEURORIGHTER, 2005). Nesta Figura 2.6, os *spikes* estão marcados com um sinal "+".

Os *softwares* devem reproduzir trechos da janela ampliados com a finalidade de melhorar o estudo das amplitudes dos *spikes* e dos intervalos entre eles, conforme mostrado na parte destacada à direita na Figura 2.6.

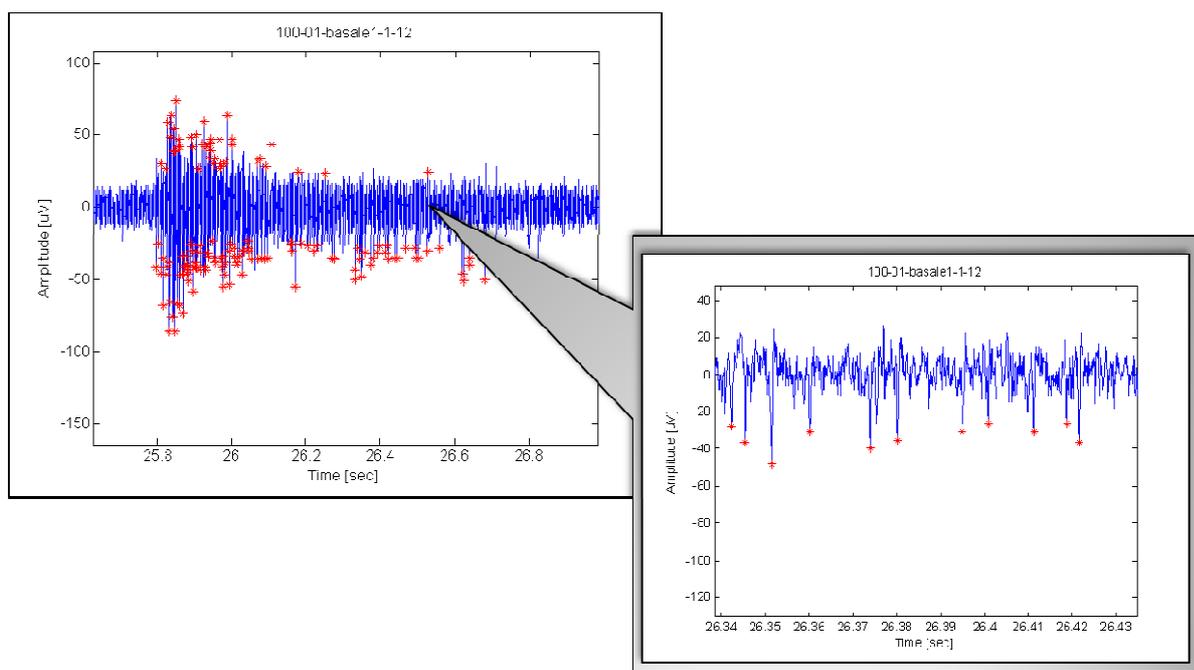


Figura 2.6: O registro de um único canal é mostrado no lado esquerdo, com ampliação do trecho apontado pela seta, à direita. Fonte: (WAGENAAR, 2005).

Os softwares que fazem o processamento de sinais adquiridos a partir da interface MEA precisam identificar automaticamente os *spikes* e medir os intervalos de tempo ISI (Intervalo entre *spikes*) e IBI (Intervalo entre *bursts*) nos sinais registrados. A janela ilustrada na Figura 2.6 pertence ao *software* Neurorightter (NEURORIGHTTER, 2005). Outros exemplos de *softwares* para processamento de sinais em MEA são o MeaBench (MEABENCH, 2013) e o McRack (MCRACK, 2013), estes dois últimos sendo *open-source* e gratuitamente disponibilizados na Internet, porém adaptados aos *hardwares* desenvolvidos por seus autores. A informação transmitida pelos neurônios está justamente no número de *spikes* e nos intervalos ISI e IBI (WAGENAAR, 2004). Neste sentido, os neurônios se assemelham a moduladores do tipo PWM (*Pulse Width Modulator*) utilizados em circuitos eletrônicos (FAMBRINI, 2014). Na Figura 2.7 é mostrado um esquema que ilustra este conceito. Esta mesma Figura 2.7 mostra esquematicamente *spikes*, *bursts* e os intervalos ISI e IBI (WAGENAAR, 2002).

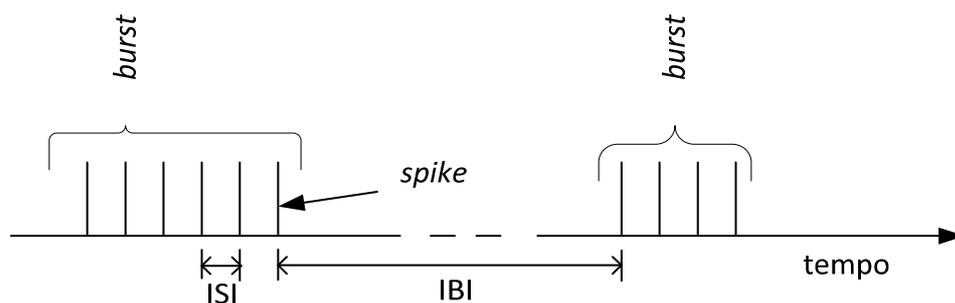


Figura 2.7: Esquema ilustrando IBI (intervalo entre *bursts*) e ISI (intervalo entre *spikes*). O primeiro *burst*, à esquerda, contém 6 *spikes* e apresenta um intervalo ISI entre os *spikes*. O segundo *burst* apresenta 4 *spikes*, com mesmo intervalo ISI entre os *spikes*. O intervalo de tempo entre o primeiro *burst* e o segundo é chamado IBI, como mostrado na figura.

O estudo dos padrões de emissão de *spikes* e *bursts* é muito importante também para o projeto e construção das Interfaces Cérebro-Máquina (BCI, *Brain-Computer Interfaces*, em inglês).

2.4 Exemplo de aplicação prática

Uma das importantes aplicações da MEA é na indústria farmacêutica. Experimentos ligados a testes de segurança de medicamentos são feitos em culturas de células nervosas usando-se MEA. Em neuroendocrinologia, a MEA pode ser utilizada para fazer estudos sobre a obesidade. Um estudo deste tipo é descrito resumidamente a seguir. Sabe-se que o hipotálamo é um dos principais centros do cérebro que regulam a fome (GUYTON E HALL, 2006). Na Figura 2.8 é mostrada uma fatia de hipotálamo de rato cultivada em uma MEA de 64 eletrodos em matriz 8x8. Vários registros de sinais elétricos foram feitos simultaneamente a partir de locais diferentes na fatia (isso explica a necessidade de se usar vários eletrodos ao invés de um único). Depois de gravar uma taxa estável de disparos para cada eletrodo, 0,1 micro-Mol de Ghrelin (um hormônio produzido pela parede do estômago e pelo hipotálamo, que estimula o apetite) foi adicionado à MEA. No intervalo entre 24 e 40 segundos alguns eletrodos registraram um aumento na taxa de disparo e outros diminuíram sua taxa de disparo em função da aplicação do hormônio. Após a fatia ser lavada (para remover o hormônio) a taxa de disparo

novamente se estabilizou. Na Figura 2.8 pode-se observar que os eletrodos que registraram aumento no número de *spikes* no intervalo de tempo compreendido entre 24 e 40 segundos são dos eletrodos que se encontram nas regiões B, C, E e F, região na qual foi aplicado o hormônio em teste.

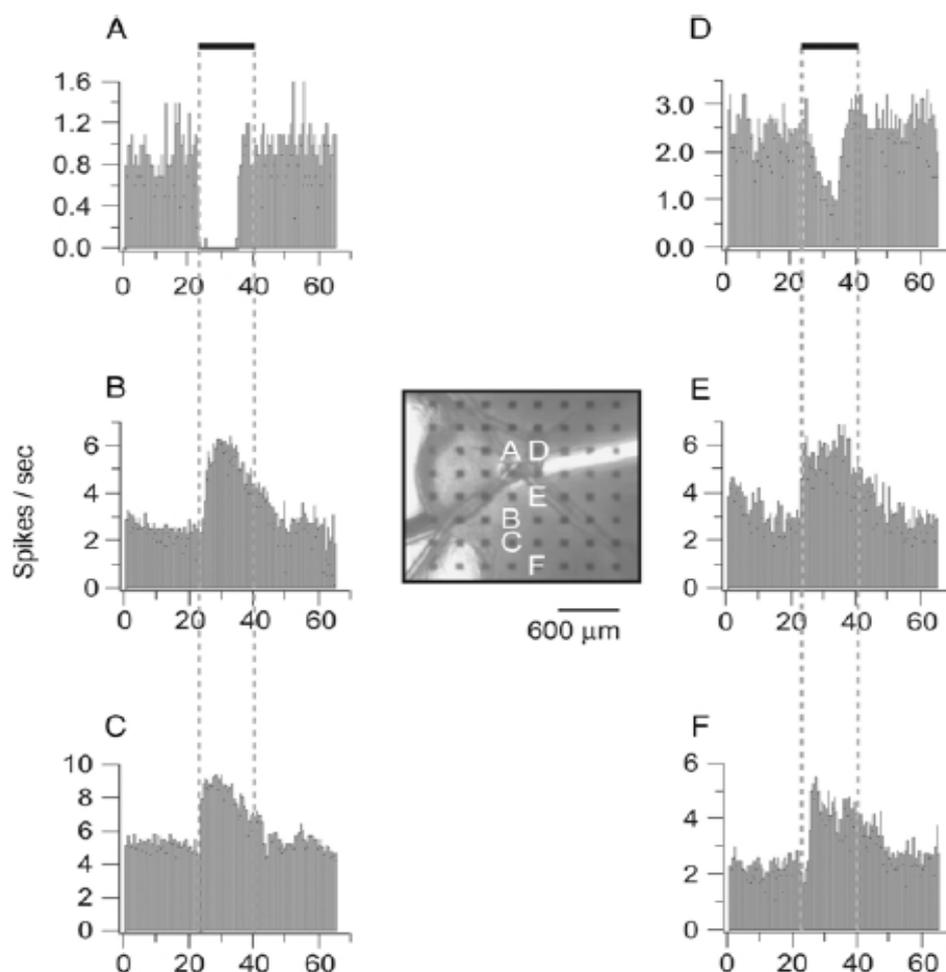


Figura 2.8: Registros elétricos feito em 6 eletrodos em fatia de hipotálamo de rato. Na Figura central cada ponto marcado com A, B, C, D, E e F é um microeletrodo.

Fonte:(WHITSON et al, 2006).

Os eletrodos localizados nas regiões A e D, mais distantes do ponto de aplicação do hormônio, tiveram significativa redução da taxa de *spikes/segundo*. Exemplifica-se assim o funcionamento da MEA como um biosensor para testes *in vitro* de drogas com ação sobre o sistema nervoso.

2.5 Considerações Finais

Neste Capítulo foi apresentada uma breve revisão sobre sistema nervoso, neurônios, *spikes*, *bursts* e os parâmetros importantes que devem ser medidos nos sinais registrados a partir da MEA. Uma aplicação da MEA como biosensor na indústria farmacêutica foi também descrita. No Capítulo seguinte será descrito o *hardware* desenvolvido pelo autor para registro dos sinais em MEA, apresentando detalhes a respeito de seu projeto eletrônico.

Capítulo 3

PROJETO DO SISTEMA DE REGISTRO CONVENCIONAL USADO EM MEA

Neste Capítulo é apresentada uma proposta de projeto e construção de um equipamento para registro de sinais eletrofisiológicos em MEA desenvolvido pelo autor, sem a parte de ressonância estocástica. A descrição refere-se aos módulos de pré-amplificação, amplificador, multiplexadores, conversores AD e Software de aquisição de dados.

3.1 Diagrama de blocos

O diagrama de blocos referente aos subsistemas abordados neste Capítulo é mostrado na Figura 3.1.

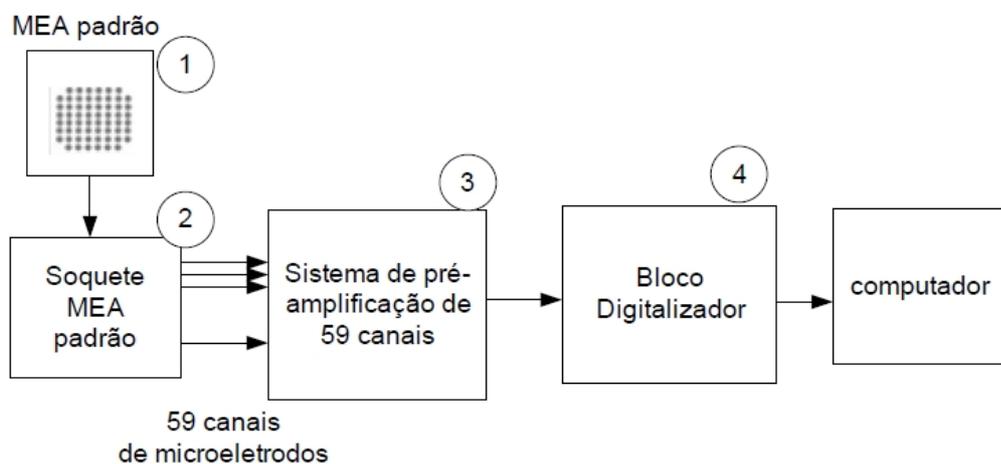


Figura 3.1: Diagrama de blocos ilustrando os subsistemas descritos neste Capítulo.

O bloco (1) ilustra a MEA e o bloco (2) o Soquete elétrico; O bloco (3) ilustra o Módulo amplificador, que faz o condicionamento dos sinais. O bloco (4) mostra o Módulo Digitalizador com 60 canais. Estes dois últimos blocos são montados externamente ao Soquete elétrico.

3.2 Módulo Pré-Amplificador

O Módulo Pré-Amplificador, contendo 59 canais de Pré-amplificadores foi simulado, desenvolvido e testado. Este módulo é montado no interior do soquete que recebe a MEA, minimizando a captação de ruídos. O diagrama esquemático, obtido com o uso do simulador do tipo *Spice* MultiSim, referente a um canal do amplificador é mostrado na Figura 3.2.

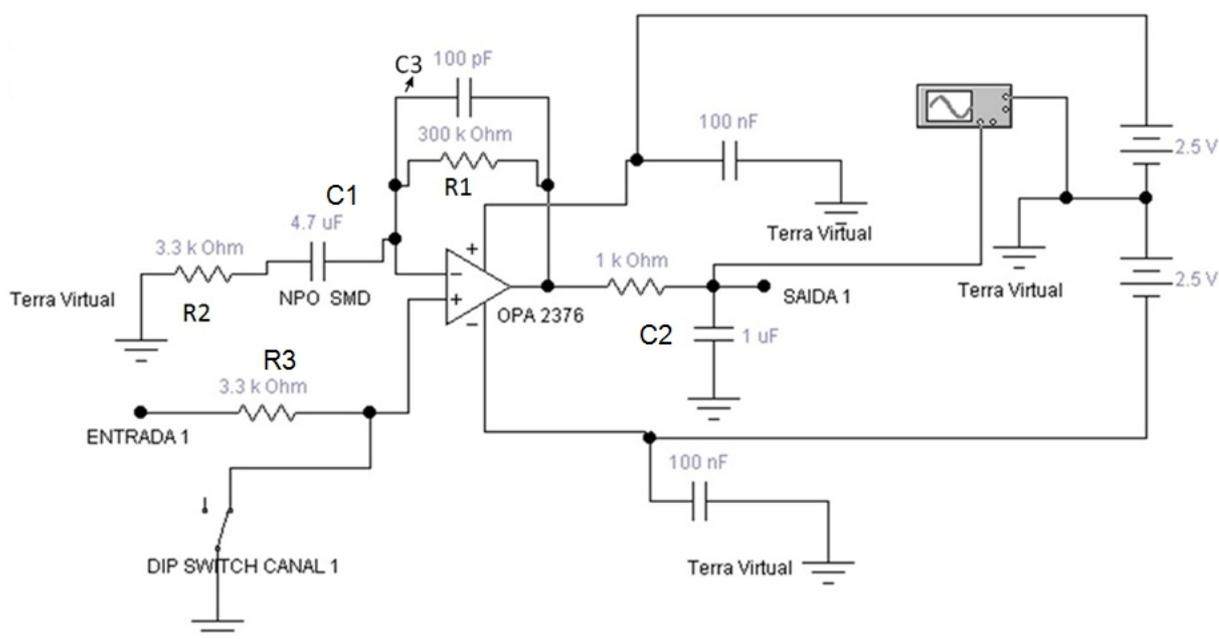


Figura 3.2: Diagrama esquemático de um único canal pré-amplificador, em simulação. Um circuito integrado do tipo OPA2376 é usado na configuração não inversor.

O circuito da Figura 3.2 foi reproduzido 59 vezes numa mesma placa de circuito impresso, montada no interior do soquete que recebe a MEA. O ganho DC é dado pelos resistores na malha de realimentação e calculado pela equação (3.1):

$$G = 1 + \frac{R1}{R2} = 1 + \frac{300K}{3,3K} = 92 \quad (3.1)$$

Além disso, o ganho AC deste módulo pré-amplificador é dado, no domínio da Transformada de Laplace, pela equação (3.2):

$$G_{\text{pre-amp}}(s) = \frac{1 + s(C_1R_3 + C_1R_2 + C_2R_3) + s^2(R_2R_3C_1C_2)}{(1 + sR_2C_1)(1 + sR_3C_2)} \quad (3.2)$$

onde: $C_1 = 4,7\mu\text{F}$, $C_2=100\text{pF}$, $R_1=R_2=3,3\text{K}$ e $R_3=300\text{K}$ e s é a frequência complexa. Um resultado de saída do circuito, quando um sinal senoidal é aplicado na entrada é mostrado na Figura 3.3. A senóide de amplitude de 70 mV é amplificada cerca de 90 vezes sem distorção.

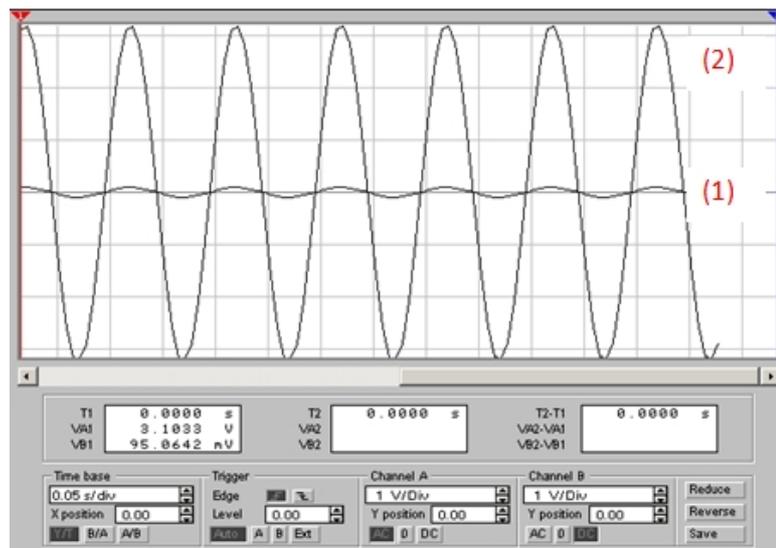


Figura 3.3: Sinal senoidal é aplicado na entrada (1) e o resultado é visto na saída (2).

Este ganho foi escolhido experimentalmente (a partir dos testes no protótipo físico) em função da melhor estabilidade possível para os módulos pré-amplificadores. Em princípio, deseja-se que o estágio pré-amplificador tenha o maior ganho possível, porém na prática isso acarreta problemas com realimentação e oscilações parasitas. O maior valor de ganho que possibilita um funcionamento estável para este amplificador é da ordem de 90 vezes (ou 19,5 decibéis). Para ganhos maiores, o protótipo mostra tendências de auto-oscilação, comprometendo o funcionamento do pré-amplificador. Tais fenômenos de auto-oscilação não são percebidos nos simuladores (LTSpice e MultiSim) pois decorrem de imperfeições na própria placa de circuito impresso onde o protótipo físico é montado. A capacitância parasitária das trilhas de circuito impresso, responsáveis pelas auto-oscilações em amplificadores de elevado ganho, não são fáceis de simular. Como circuito integrado pré-amplificador foi escolhido o modelo OPA2376, fabricado pela Texas Instruments (TEXAS, 2000). Trata-se de um amplificador operacional duplo (cada invólucro

contém internamente 2 amplificadores) de baixíssimo nível de ruído, baixo valor de *off-set*, entradas e saídas do tipo *rail-to-rail* e capaz de funcionar com tensões de alimentação tão baixas quanto 2,5V. Outro detalhe importante ao se projetar um amplificador para sinais AC de baixa intensidade é o uso de capacitores para **compensação de altas frequências**. Quando um sinal de alta frequência indesejado é captado na entrada do amplificador, pelo "efeito antena" proporcionado pelas trilhas de circuito impresso, ele será amplificado. Evidentemente, este sinal é indesejável, porque não provém da MEA e nem dos neurônios. Então, um capacitor C3 é acrescentado, para reduzir o ganho do amplificador todas as vezes que um sinal de frequências maiores do que as esperadas surgir na entrada do amplificador.

Pode-se observar, também, que o capacitor de compensação de altas frequências C3 se encontra ligado em paralelo com o resistor R1, de 300k, e o ganho do estágio amplificador passa a ser dado pela equação (3.3):

$$G = 1 + \frac{R1 // X_{C3}}{R2} \quad (3.3)$$

onde $R1 // X_{C3}$ representa o valor da associação em paralelo entre o resistor R1 e a reatância do capacitor C3. Como a reatância do capacitor, X_c , é dada pela equação (3.4), o ganho do amplificador diminui à medida que a frequência do sinal de entrada aumenta, pois a reatância é inversamente proporcional à frequência, conforme demonstrado na equação (3.4):

$$X_c = \frac{1}{2\pi f C} \quad (3.4)$$

onde: f representa a frequência (em hertz) do sinal aplicado e C é o valor da capacitância, em farads. Experimentalmente, um valor de C3 igual a 100pF possibilita uma ótima estabilidade para o amplificador, reduzindo a zero o risco de oscilações em altas frequências, sem prejudicar o ganho de amplificação do sinal na faixa de frequência dos sinais eletrofisiológicos. Este capacitor também ajuda a filtrar os sinais de frequências mais altas, formando um filtro passa-baixas de um pólo adicional (HOROWITZ, 1989), ajudando a evitar os efeitos de *aliasing* no conversor A/D, devido à sub-amostragem. Em cada uma das 59 entradas do estágio pré-amplificador foi acrescentada uma chave do tipo "*dip-switch*" cuja função é, quando acionada, conectar a entrada do canal ao terra e anular o canal propositalmente. Essas chaves são úteis porque nem sempre se deseja trabalhar com todos os 59 canais disponíveis, e conectando os canais que não são utilizados ao terra, minimiza ruídos.

3.3 Tensões negativas em relação ao Terra virtual

Ainda existe um outro problema a ser resolvido. Quando as tensões de entrada são negativas, como mostrado na Figura 3.3, as tensões na saída do amplificador são também negativas. Na simulação, quando se aplica -70mV na entrada do amplificador, pode-se medir na saída o valor -6,44 V. Isso é um problema para o próximo estágio, o conversor analógico-digital (AD), pois os ADs geralmente não funcionam com tensões negativas em suas entradas. Os valores analógicos aplicados nas entradas do AD (a serem convertidos em números binários) precisam ser necessariamente positivos. Valores negativos de tensão, quando aplicados às entradas dos conversores ADs, são automaticamente cancelados pelos diodos internos de proteção que existem nessas portas, como mostrado na Figura 3.4.

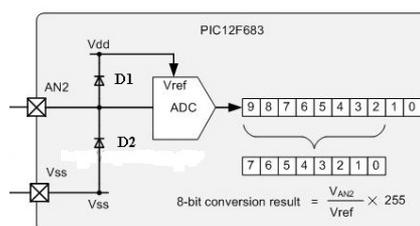


Figura 3.4: Circuito interno de proteção de entrada do ADC do microcontrolador PIC12F683. Este circuito de proteção com os diodos D1 e D2 existe nas entradas de todos os ADCs, e impede a leitura de sinais de tensões negativas. Fonte: (MICROCHIP, 2015).

Estes diodos, como mostrados na Figura 3.4, geralmente fazem parte de entradas de todos os ADCs (MICROCHIP, 2017; TIVA, 2012) e tem por função protegê-los de tensões erroneamente aplicadas em suas entradas. Para resolver esse problema, uma solução bastante simples foi estudada e implementada em cada estágio pré-amplificador (FAMBRINI, BARRETO e SAITO, 2015). O deslocamento da tensão de *off-set* do amplificador operacional da região negativa para região de valores somente positivos na saída foi implementado através da adição do capacitor C2 de 4,7µF como ilustrado na Figura 3.5. De fato, a colocação deste capacitor na malha de realimentação eleva a tensão de *off-set* para valores positivos e torna os pré-amplificadores compatíveis (em nível de tensão) com as entradas dos conversores AD, eliminando os valores negativos do sinal, sem acrescentar distorção significativa aos sinais provenientes da MEA.

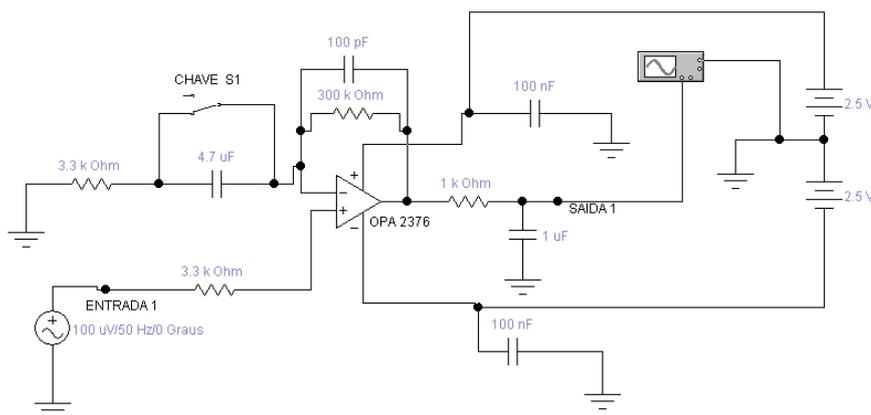


Figura 3.5: Simulação do circuito de um canal do pré-amplificador. Em paralelo com o capacitor C2 foi acrescentada uma chave, que quando acionada provoca um curto-circuito neste capacitor.

Na Figura 3.5 é mostrado novamente o circuito de um dos 59 canais do pré-amplificador, mas uma chave (S1) foi acrescentada em paralelo com o capacitor C2. Esta chave S1 foi acrescentada somente na simulação, não existindo no protótipo implementado. O capacitor C2 é eliminado quando a chave S1 é ligada e recolocado quando a chave S1 é desligada. Na Figura 3.6 é mostrada a forma de onda da Saída 1, com a chave S1 ligada (sem o capacitor C2), quando é aplicada na Entrada 1 uma senóide simétrica à terra, com amplitude igual a $100\mu V$ e frequência igual a 50Hz. Observa-se que o nível de tensão de *off-set* da saída do amplificador é o mesmo nível do terra, que corresponde a zero volts (linha central do gráfico).

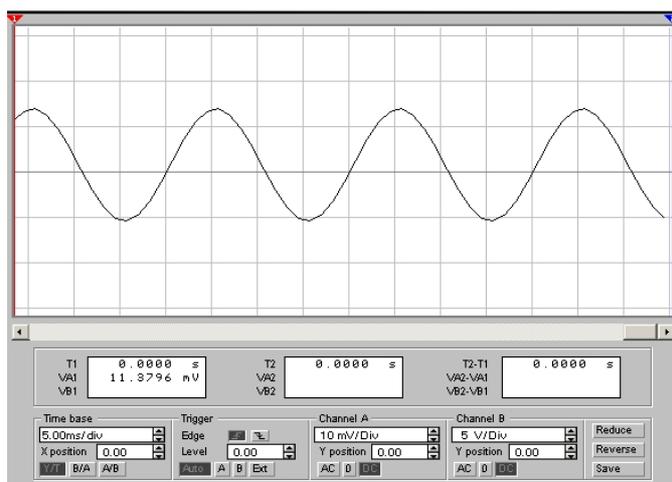


Figura 3.6: Forma de onda na saída do circuito pré-amplificador mostrado na Figura 3.5, com a chave S1 ligada (sem o capacitor C2). Observa-se a simetria da onda senoidal em relação à linha de terra, central. O sinal de saída apresenta semi-ciclos positivos e negativos. Cada divisão no eixo vertical representa 10 mV.

Quando a chave S1 é desligada, o capacitor C2 passa a compor a malha de realimentação do amplificador operacional, deslocando o nível de tensão de *off-set* da saída do amplificador operacional para aproximadamente +20mV. O resultado da mesma simulação, mas com o capacitor C2 no circuito (chave S1 desligada) é mostrado na Figura 3.7. Pode-se observar nessa Figura o efeito do capacitor C2 no circuito mostrado na Figura 3.5, com todo o sinal amplificado na região positiva, como se uma constante de +20mV tivesse sido somada aos pontos do gráfico da Figura 3.6. Este deslocamento de valores é fundamental para que o sinal proveniente da saída de todos os 59 estágios possa ser corretamente quantizado e digitalizado pelo ADC, que pertence a um estágio mais a frente do mesmo equipamento. A solução implementada é simples e eficiente, com o custo de apenas um capacitor por canal no módulo pré-amplificador. A Figura 3.7 está na escala de 20 mV por divisão no eixo vertical e a Figura 3.6 apresenta escala de 10 mV por divisão no mesmo eixo.

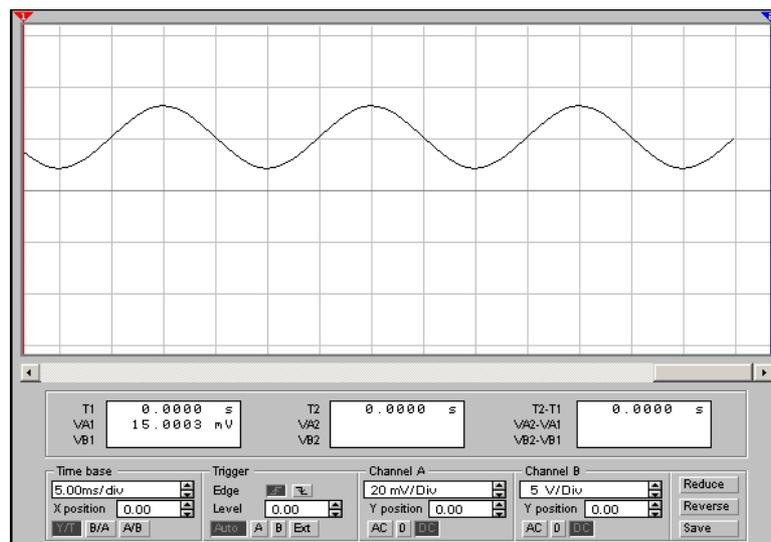


Figura 3.7: Resultado da simulação do circuito mostrado na Figura 3.5, porém com a chave S1 desligada (com capacitor C2). Observa-se o deslocamento do nível de tensão de *off-set*. Cada divisão no eixo vertical representa 20 mV.

3.4 Fonte de Alimentação Simétrica a partir de uma fonte simples

A tensão de alimentação dos pré-amplificadores é efetuada através de uma fonte de alimentação simétrica de saídas +2,5V / zero / -2,5V. Entretanto, tal fonte não é fácil de se obter através de uma única bateria. A solução foi criar mais um

circuito adicional, capaz de prover um "Terra Virtual", em relação ao qual é possível obter +2,5V e a tensão negativa de -2,5V. O circuito que produz o "Terra Virtual" para alimentação dos 59 canais de pré-amplificadores também foi implementado na mesma placa de circuito impresso no qual o módulo pré-Amplificador ficou alojado. Na Figura 3.8 é mostrado o circuito que produz o "Terra Virtual" para alimentar os 59 módulos. As simulações foram efetuadas com o *software* TINA (TINA, 2013) e também através do *software* Multisim (MULTISIM, 2015). A vantagem do uso deste circuito é permitir obter tensões simétricas de +2,5V e -2,5V a partir de uma única fonte de 5V. A tensão (única) de 5V que pode ser obtida a partir de uma bateria de 12V e de um circuito integrado regulador de tensão do tipo 7805. O uso de bateria, ao invés de rede elétrica, para minimizar o ruído neste tipo de equipamento é impositivo. Fontes de alimentação a partir da rede elétrica nunca são perfeitamente filtradas, existindo sempre ruído residual de 60Hz.

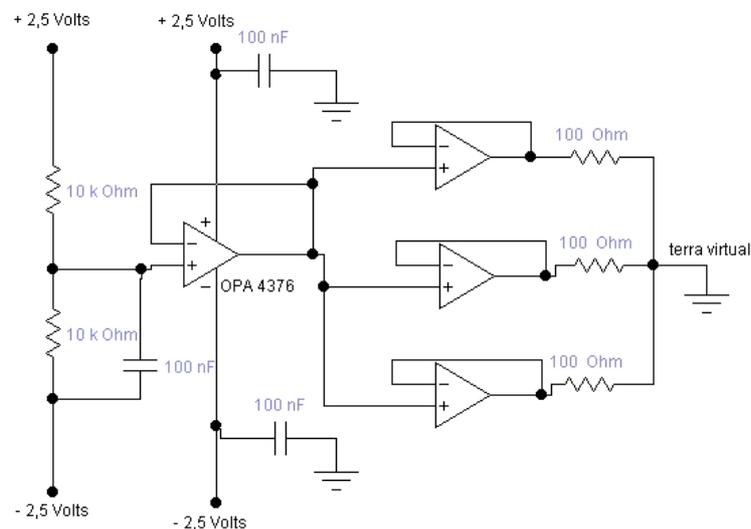


Figura 3.8: Fonte de Terra Virtual, construída a partir de um CI do tipo OPA4376.

A Figura 3.9 mostra uma das visões do *lay-out* da placa de circuito impresso que foi desenvolvida em tecnologia *multi-layer*, para alojar os circuitos dos 59 pré-amplificadores e da fonte de Terra Virtual (FAMBRINI BARRETO e SAITO, 2015). O *lay-out* mostra algumas faces da placa de circuito impresso do módulo pré-amplificador. Ao centro do *lay-out*, pode-se observar o espaço onde se soldam os terminais do tipo "agulha" que fazem o contato elétrico com os *PADs* da MEA, bem

como o quadrado escuro onde a MEA é encaixada. Embora o autor tenha tentado evitar o uso de placas *multi-layer* (com muitas faces) com a finalidade de reduzir o custo do equipamento, tal uso foi inevitável: em função da grande quantidade de conexões elétricas entre os componentes (esta placa reproduz 59 vezes o circuito da Figura 3.5), o uso de uma placa de circuito impresso do tipo multi-camadas tornou-se imprescindível no pequeno espaço disponível no interior do soquete elétrico. Na Figura 3.10 é mostrada mais uma visão do *lay-out* desta mesma placa, mostrando outras camadas com suas conexões em circuito impresso. Em verde, ao centro, na parte superior, destaca-se o espaço destinado às chaves do tipo *dip-switch* que, conforme já explicado, tem por finalidade desativar canais não utilizados, individualmente. Apesar desse destaque apenas na parte superior, essas chaves estão presentes nos quatro lados do quadrado.

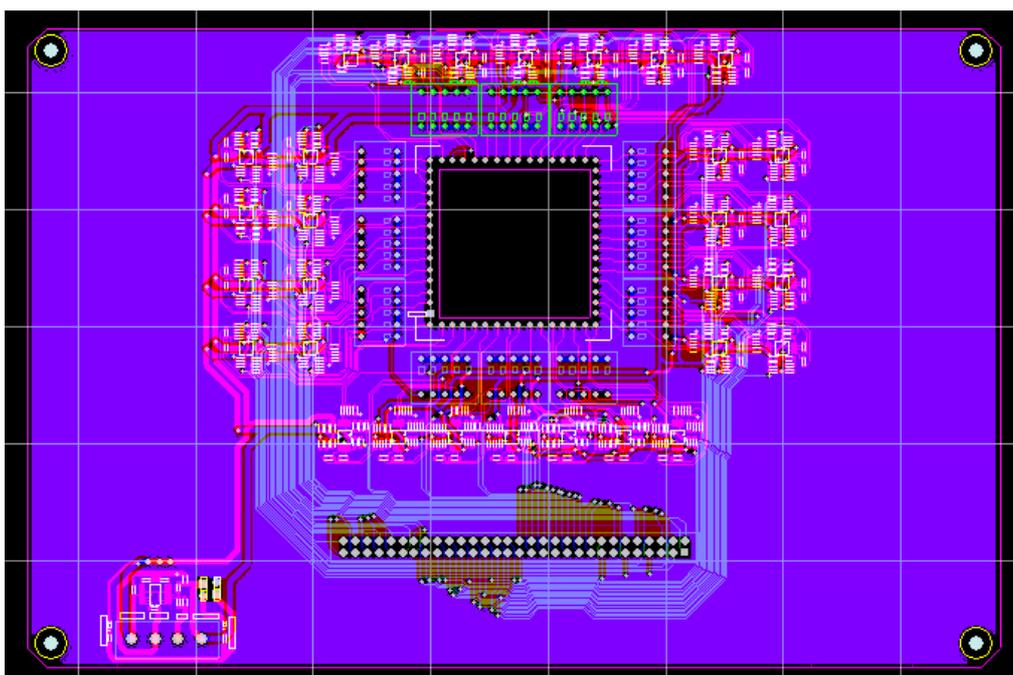


Figura 3.9: Vista do *lay-out* da placa de circuito impresso que aloja os 59 canais de pré-amplificadores.

A Figura 3.11 mostra uma fotografia da placa de circuito impresso do módulo pré-amplificador, vista através da face dos componentes, ou face inferior, após a soldagem dos componentes com encapsulamento SMD. A Figura 3.12 mostra a placa alojada dentro do gabinete que foi desenvolvido como soquete. A finalidade do

soquete mecânico é de propiciar o suporte mecânico da MEA e também funcionar como blindagem contra campos eletromagnéticos provindos do meio-ambiente. Por questões de espaço, todos os componentes utilizados são de tecnologia SMD. É importante observar que as dimensões mecânicas desta placa foram cuidadosamente planejadas para encaixar no soquete, conforme mostrado na Figura 3.12. A confecção do conjunto foi resultado de um minucioso trabalho, que exigiu precisão e exatidão no encaixe de todos os componentes.

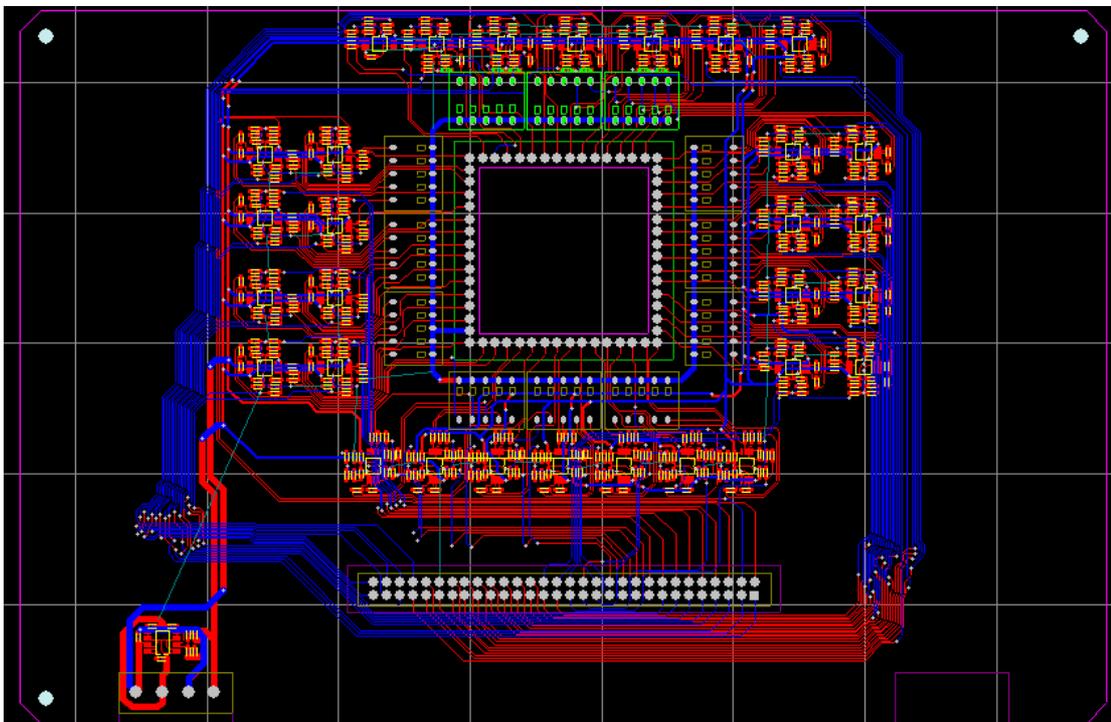


Figura 3.10: Outra visão do *lay-out* da placa de circuito impresso *multi-layer* do Módulo Pré-Amplificador.

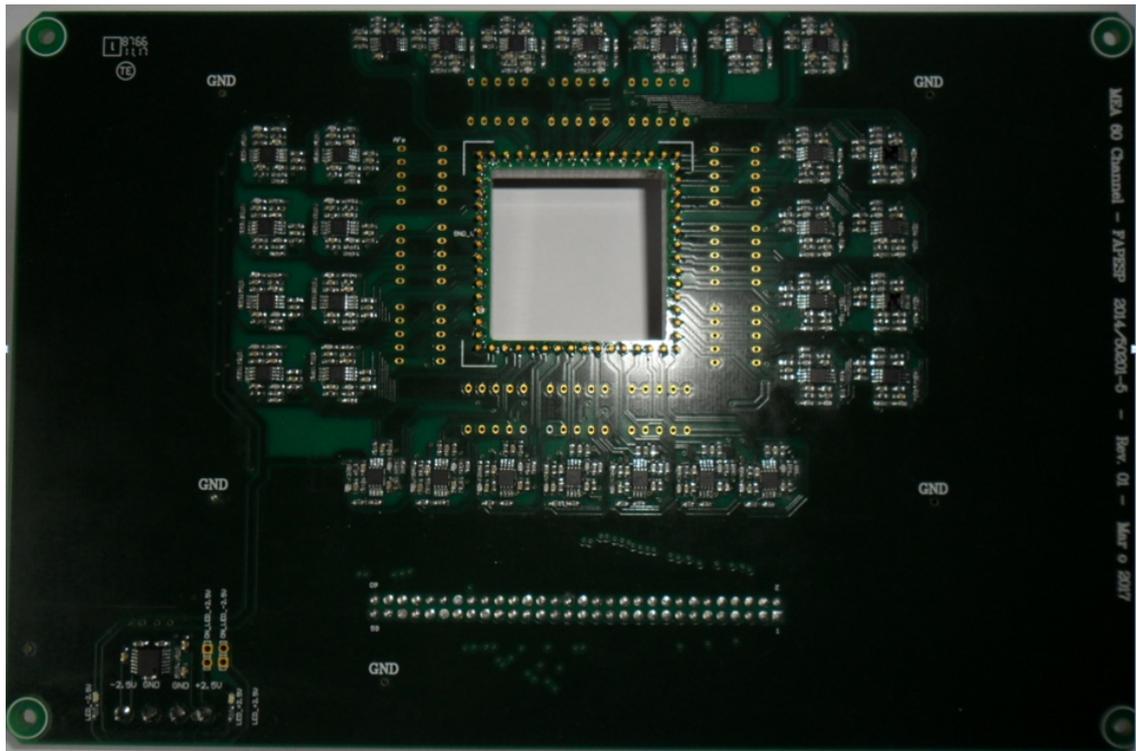


Figura 3.11: Placa de circuito impresso multi-camadas do módulo Pré-amplificador, vista pelo lado dos componentes, ou lado inferior.



Figura 3.12: Placa do Pré-Amplificador alojada no interior do soquete mecânico.

3.5 Descrição dos blocos que integram o Digitalizador

O Conversor AD foi baseado nos CIs MCP3028.

Os 8 circuitos integrados modelo MCP3208 são dispostos na entrada do sistema Digitalizador, como mostrado na Figura 3.13 e no diagrama de blocos da Figura 3.14(A), e são precedidos por amplificadores PGA (Programmable Gain Amplifier) que no caso deste projeto foram ajustados para ganho de tensão DC de 11 vezes, o que equivale a 10,4 decibéis. Cada um destes 8 CIs conversores AD são configurados de acordo com a Tabela 3.1 e tem seus sinais lidos por meio de um circuito integrado FPGA do fabricante ALTERA, modelo EP2C5 Cyclone II, ilustrado na Figura 3.14(B) no diagrama de blocos do subsistema Digitalizador. Um código em linguagem VHDL (mostrado no Apêndice I) foi também desenvolvido e gravado na memória de configuração deste FPGA. A seguir, o sinal lido pelo FPGA é aplicado também através de uma porta SPI para um mini-computador embarcado do tipo *Orange Pi*, mostrado na Figura 3.14(C) através de um bloco. Os oito circuitos integrados do tipo MCP 3208 foram montados em uma placa de circuito impresso de dupla-face, especialmente confeccionada para esta finalidade, através de um processo manual. Na Figura 3.13 é mostrada a placa do Conversor AD, contendo os 8 CIs modelo MCP3208.



Figura 3.13: Placa do Conversor Analógico/Digital, com 64 entradas, construídos a partir de 8 circuitos integrados MCP3208. Cada CI apresenta 8 entradas multiplexadas e controlados através de entradas do tipo SPI, conforme descrito no texto.

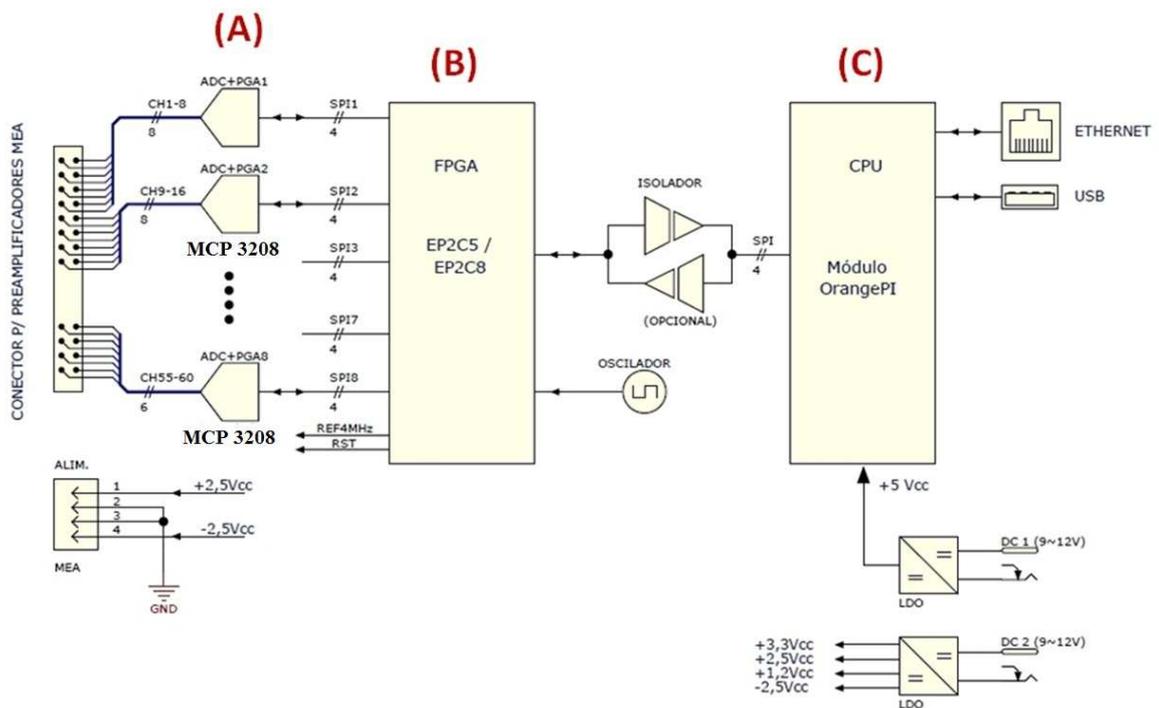


Figura 3.14: Diagrama de blocos do Conversor AD e condicionador de sinais, descritos neste Capítulo. Em conjunto, estes blocos formam o Digitalizador.

3.6 Circuito integrado Conversor AD

O circuito integrado escolhido para exercer a função de Conversor AD neste projeto é fabricado por Microchip e seu código é MCP3208, cujo aspecto é mostrado na Figura 3.15. Trata-se de um conversor analógico-digital de 12 bits do tipo aproximações sucessivas (SAR) com interface SPI. Possui 8 entradas que podem ser configuradas como 8 canais *single-ended* ou 4 canais pseudo-diferenciais (o potencial da entrada IN- não deve ser maior do que aproximadamente 100mV em relação ao potencial de GND). A referência de tensão deve ser externa. Este chip funciona com tensão de alimentação de 3 ou 5V e sua velocidade de conversão é de cerca de 100ksps com tensão de alimentação de 5V (a cada 12 pulsos de clock o CI efetua uma conversão analógica para digital).

Sendo um conversor de 12 bits, sua equação de operação é dada por (3.5) :

$$D = 2^{12} \frac{V_i}{V_{ref}} \quad (3.5)$$

onde V_i é a tensão presente na entrada do canal CHn, V_{ref} é a tensão de referência aplicada ao pino 15 do CI e D é o valor já quantizado e digitalizado na saída do conversor A/D. Define-se como tensão de entrada o valor da diferença de potencial no pino CHn no modo *single-end* ou a diferença (IN+ e IN-) no modo diferencial. A Figura 3.16 mostra o diagrama interno de cada um dos 8 circuitos integrados MCP3208 utilizado neste projeto.

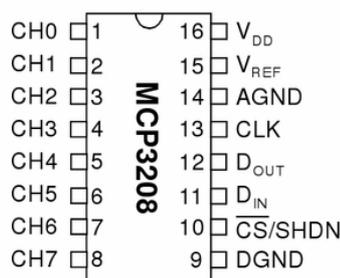


Figura 3.15: Disposição dos pinos do circuito integrado MCP3208. No desenvolvimento deste conversor A/D foram utilizadas 8 unidades deste chip. Fonte: (MICROCHIP, 2010).

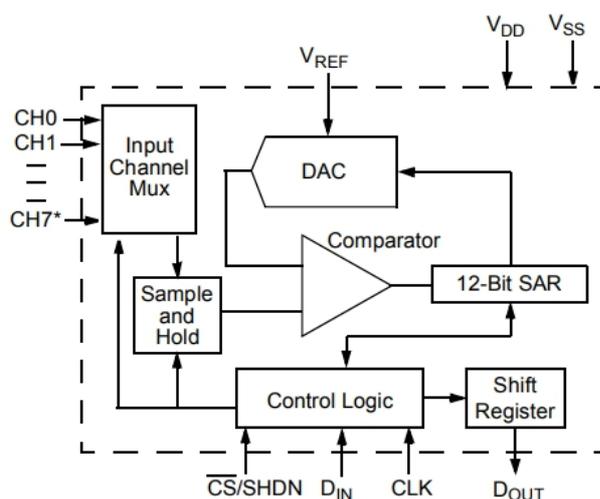


Figura 3.16: Diagrama de blocos funcionais mostrando os blocos internos do circuito integrado conversor AD modelo MCP3208 do fabricante Microchip. Fonte: (MICROCHIP, 2010).

Observando-se o diagrama da Figura 3.16, pode-se notar a presença do multiplexador de 8 canais na entrada de cada chip, de um módulo DAC (que é o conversor AD propriamente), com uma entrada externa para aplicação da tensão de

referência, uma entrada de controle lógico (que é a interface digital SPI, através do qual o controle e a leitura de cada chip é feita), um módulo de retenção da última leitura efetuada (*“Sample and Hold”*) e um módulo de 12 bits do tipo SAR (Aproximações Sucessivas), o qual garante a resolução de 12 bits deste sistema.

3.7 Barramento SPI

O barramento de interface periférica serial (SPI) criado pela Motorola (atualmente o nome desta empresa é Freescale) nos anos 80 é usado principalmente para comunicação serial síncrona entre um processador hospedeiro (*host*, em inglês) e outros circuitos integrados periféricos, isto é, montados ao lado do CI principal. Quatro linhas de sinais são utilizadas: Seleção de Chip (CS), Entrada de Dados Seriais (SDI), Saída de Dados Seriais (SDO) e linha de Clock Serial (SCLK). Em alguns textos da Motorola podem ser usados nomes diferentes para os sinais SPI em relação aos nomes citados neste trabalho. Por exemplo: CS pode aparecer como SS, SDI pode aparecer nos textos como MOSI e SDO como MISO. Nos produtos do fabricante National Semiconductor, a porta SPI também é conhecida como *Microwire*. As linhas CS e SCLK são saídas fornecidas pelo dispositivo mestre. Os dispositivos escravos recebem suas entradas de clock e seleção de chip a partir do mestre. Se um dispositivo SPI não for selecionado, sua linha de saída SDO entrará em um estado de alta impedância (tri-state). O número de bits seriais transferidos para o dispositivo escravo varia de dispositivo para dispositivo. Cada dispositivo escravo contém um registrador de deslocamento interno que é usado para transferir dados. Dois tipos de conexões entre dispositivos mestre e escravo são possíveis, como visto na Figura 3.17. Em uma conexão em cascata, todos os escravos na cadeia compartilham de uma única linha de seleção de chip conduzida pelo mestre. O dispositivo mestre envia dados pela linha SDO e se conecta como uma entrada à entrada da linha SDI de um dispositivo escravo. A saída SDO de um escravo se conecta à entrada SDI de outro escravo. Os dados seriais passam através de todos os escravos e o escravo final da cadeia conecta sua linha SDO à entrada SDI do mestre para completar a cadeia. Nesta configuração, os dispositivos escravos aparecem como um dispositivo escravo maior, a saída de dados de um dispositivo

alimenta a entrada de outro dispositivo, formando assim um grande registrador de deslocamento. A segunda opção de configuração SPI suporta dispositivos escravos independentes, sendo que cada dispositivo tem sua própria linha de entrada de seleção de chip exclusiva vinda do mestre. A saída SDO do mestre se conecta a cada entrada SDI de escravos. As saídas *tri-state* SDO do escravo são conectadas juntas e conectadas também à entrada SDI do mestre. Somente a saída SDO do escravo selecionado é acionada e as outras são levadas em nível de alta impedância.

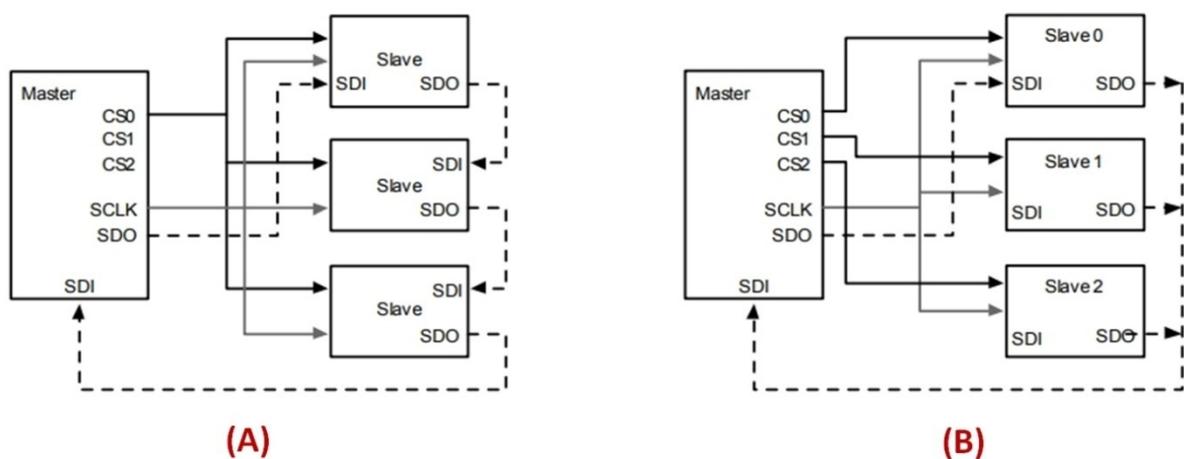


Figura 3.17: As duas opções de configuração para dispositivos escravo em portas SPI: Em (A) conexão em cascata, todos os escravos na cadeia compartilham de uma única linha de seleção; (B) cada dispositivo tem sua própria linha de entrada de seleção de chip exclusiva vinda do mestre.

O modo SPI também pode suportar vários mestres. Vários modos SPI são suportados com dados seriais sendo válidos na borda de subida ou na borda de descida do clock. As taxas de clock serial podem variar de 30 kHz a 3 MHz, dependendo dos dispositivos utilizados. Normalmente, os dispositivos colocam novos dados no barramento durante a borda de descida do clock e os dados são desconectados do barramento na borda de subida depois que o sinal de clock se estabiliza, mas é necessário verificar os *datasheets* para dispositivos mestre e escravo específicos para confirmar isso, pois alguns dispositivos usam as bordas de *clock* opostas as que foram descritas.

Dispositivos SPI também estão disponíveis em diferentes níveis de alimentação de tensão variando de 2,3 a 5 volts. Como o SPI usa um *clock* comum

a todos os dispositivos, a interface de *hardware* é mais simples do que a interface serial RS-232C. Neste projeto foi escolhida a configuração de ligação mostrada na Figura 3.17-(B). A comunicação entre mestre e escravo só ira começar quando o nível lógico do pino CS/SHDN for para zero. Neste instante, o mestre envia os bits de configuração. Os bits de configuração são mostrados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Bits de configuração a serem enviados para o chip MCP3208.

	<i>Config Bits</i>		<i>ChannelSelection</i>		GND
	<i>Sgl/Diff</i>	<i>Odd/Sign</i>	0	1	
Single Ended Mode	1	0	+	-	-
	1	1	-	+	-
Pseudo-Differential Mode	0	0	IN+	IN-	
	0	1	IN-	IN+	

Os bits de configuração definem os seguintes parâmetros: modo de operação (modo de entrada em canal isolado=*Single-Ended*, ou modo de diferencial entre dois canais= *Pseudo-Differential Mode*), o canal selecionado e a forma que os dados serão enviados (bit menos significativo ou o bit mais significativo primeiro). Após o envio do bit *start* e dos três bits de configuração, o CI conversor AD selecionado envia os 12 bits de leitura para o mestre. Esse processo está ilustrado na Figura 3.18 através de um diagrama de sinais e tempos.

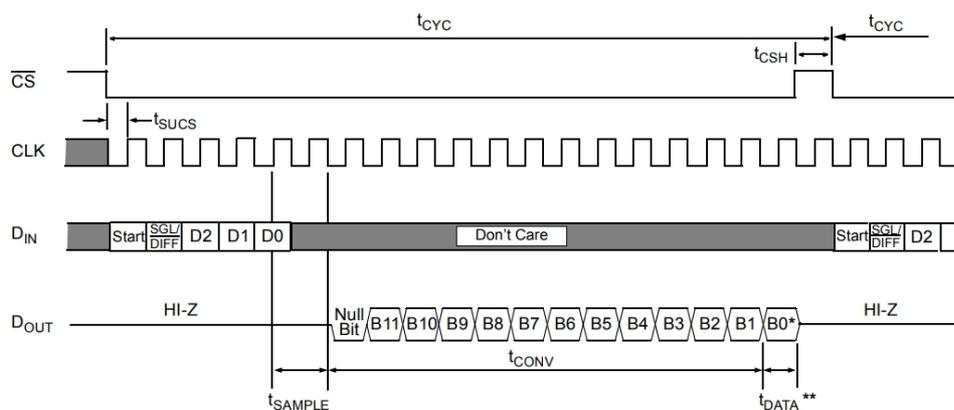


Figura 3.18: Sinais nos pinos de comunicação do chip conversor A/D MCP3208. Fonte: (MICROCHIP, 2010).

3.8 Amplificadores para condicionamento de sinais

Verificou-se experimentalmente que seria necessária a construção de um estágio amplificador de ganho programável na entrada de cada conversor A/D (FAMBRINI, BARRETO e SAITO, 2014). A solução escolhida foi acrescentar um módulo amplificador de ganho programável (PGA) construído a partir de circuitos integrados modelo TL074, de Texas Inst. (TEXAS, 2000). Cada circuito integrado contém internamente 4 amplificadores operacionais de baixo ruído. No total, foram utilizados 15 circuitos integrados, cuja montagem foi disposta em 3 placas de circuito impresso em separado, para facilitar a construção do conjunto. Na Figura 3.19 é mostrado o diagrama elétrico de um amplificador baseado no CI TL074 e a Figura 3.20 mostra o desenho de cada uma das três placas de circuito impresso que compõe o módulo amplificador PGA conectado na entrada do conversor A/D (FAMBRINI, SAITO e CURA, 2016). No total, foram construídos 60 amplificadores, embora apenas 59 sejam utilizados, pois a Matriz de Microeletrodos possui 59 eletrodos de leitura (o eletrodo de número 15 da MEA é o eletrodo de referência, ou seja, o GND ou “terra”, então restam 59 eletrodos de leitura).

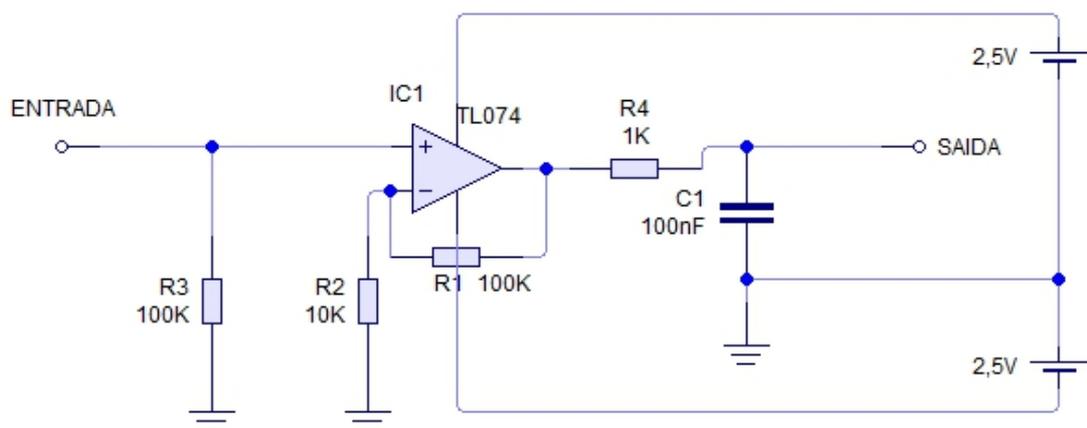


Figura 3.19: Diagrama elétrico de um amplificador PGA montado a partir dos circuitos integrados TL074. No total, foram construídos 60 amplificadores iguais e divididos em 3 placas de circuito impresso onde cada placa comporta 15 circuitos amplificadores.

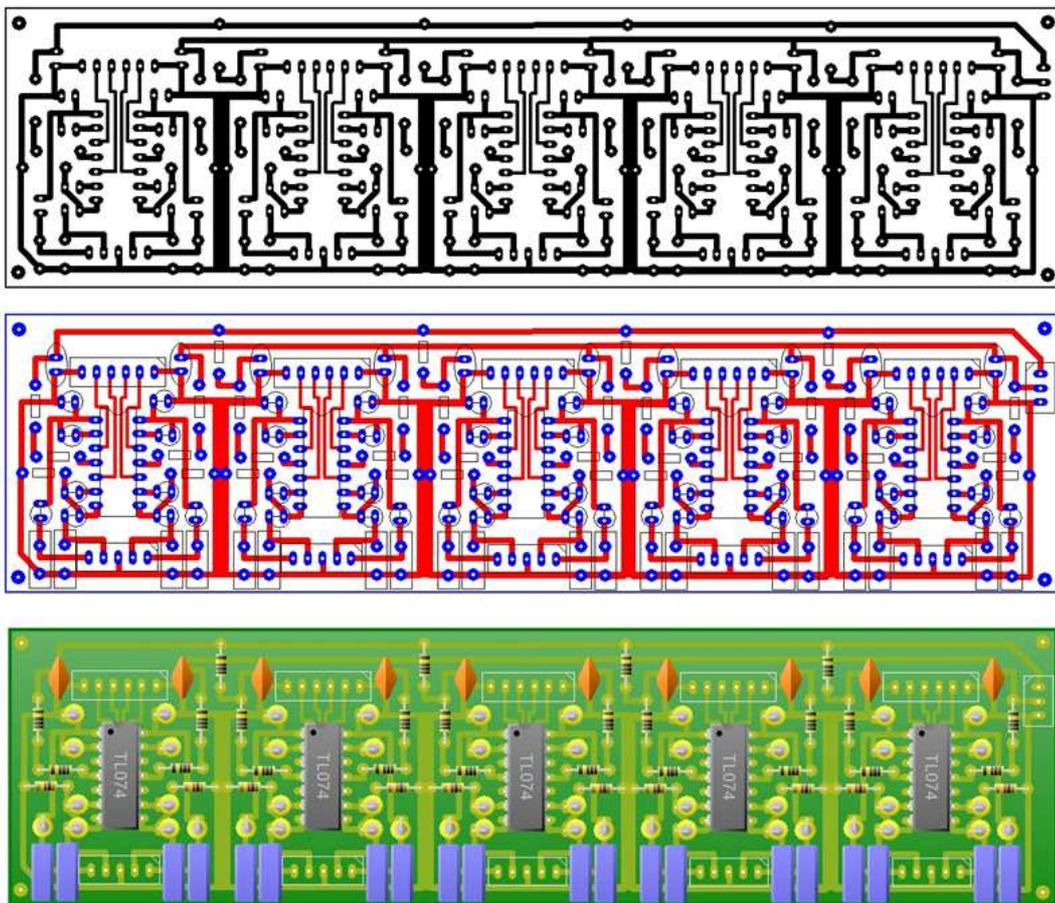


Figura 3.20: Desenho das placas de circuito impresso mostrando 20 amplificadores PGA. Cada um dos circuitos integrados TL074 montados nas placas mostradas nesta Figura contém internamente 4 amplificadores operacionais. Um total de 3 placas iguais foram construídas e interligadas à entrada do conversor A/D.

O circuito amplificador de entrada mostrado na Figura 3.19 é conhecido na literatura como “amplificador não-inversor” e seu funcionamento já foi explicado neste Capítulo. O ganho foi fixado em 11 através da escolha dos valores dos resistores R1 e R2 mostrados nesta Figura 3.19 . A impedância de entrada também foi fixada por meio do resistor R3 e o valor escolhido foi de 100k Ω . Isto é importante para reduzir a adição de ruídos que ocorreriam caso a impedância fosse mais elevada. Cada saída de cada circuito amplificador foi ligado em uma das 59 entradas (de um total de 64) dos Conversores A/D.

3.9 Implementação prática do Digitalizador

O diagrama de blocos mostrado na Figura 3.14 foi implementado na prática e a foto desta implementação é mostrada na Figura 3.21.

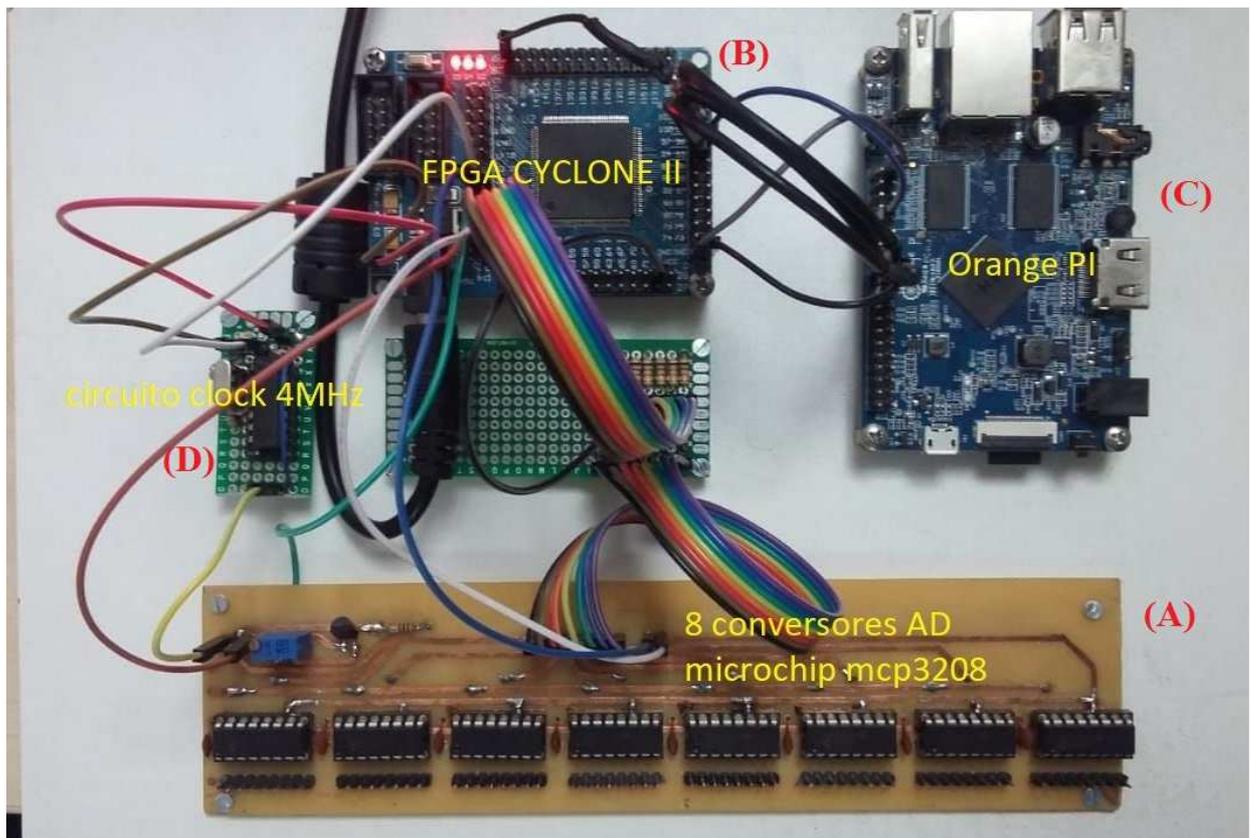


Figura 3.21: Implementação prática dos blocos mostrados no diagrama da Figura 3.14.

Na Figura 3.21(A) é mostrada a placa de circuito impresso contendo os 8 circuitos integrados conversores A/D Microchip MCP 3208; em (B) é mostrada placa de circuito impresso contendo o FPGA ALTERA *Cyclone II* EP2C5, em (C) a placa de circuito impresso do computador embarcado *Orange Pi* e em (D) foi construído um módulo oscilador de onda quadrada de frequência igual a 4 MHz, cuja finalidade é produzir os sinais de clock de modo a sincronizar as operações do FPGA. Tais sinais de clock poderiam eventualmente ser construídos internamente aproveitando a própria arquitetura do FPGA; entretanto, tal escolha consumiria muitos flip-flops internos da *Cyclone II*, reduzindo a quantidade de recursos internos disponíveis no

FPGA. Por este motivo, optou-se pela construção de um circuito externo e discreto de clock, mostrado em (D) na Figura 3.21. A placa de circuito impresso contendo o FPGA foi adquirida pronta no comércio brasileiro, e é produzida na China. A Figura 3.22 mostra uma foto desta placa, a qual pode ser comprada através dos correios, utilizando o site “MercadoLivre”.

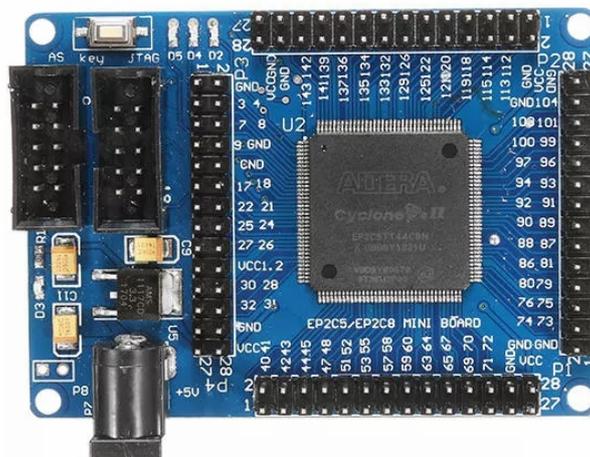


Figura 3.22: Foto da placa de circuito impresso contendo o FPGA modelo EP2C5 ALTERA Cyclone II, que foi adquirida pronta no comércio e é de procedência chinesa.

Esta placa tem as seguintes características: possui um circuito integrado do tipo FPGA modelo EP2C5T144, contém uma interface JTAG de 10 pinos para gravação do FPGA, cristal de quartzo de frequência igual 50 MHz interno na placa, três LEDs programáveis, uma memória EEPROM modelo EPCS4 com capacidade de 4 Mbit para configurar o FPGA e tensão de alimentação de 5 volts DC, contendo na própria placa um circuito integrado regulador de tensão. As dimensões físicas da placa são de 60mm x 80mm. Tal placa se mostrou extremamente prática e útil para este projeto, porque permitiu implementar de modo rápido um circuito de leitura com 8 interfaces SPI e uma saída também no formato SPI para realizar a comunicação com o módulo seguinte, que é o computador embarcado *Orange PI*. Este FPGA possui também um módulo PLL (*Phase Locked Loop*) que poderia ter sido utilizado em conjunto com o cristal de 50MHz e possibilitaria um divisor eficiente para a frequência de clock.

Com a finalidade de realizar a leitura dos sinais dos 8 circuitos integrados MCP3208 através de suas respectivas interfaces SPI, um código em linguagem VHDL foi escrito no ambiente QuartusII© (ALTERA), simulado, testado e

implementado nesta placa da Figura 3.22. Este código é mostrado na íntegra no Apêndice I, como já mencionado.

3.10 Código em linguagem VHDL

A primeira parte do código implementado descreve as portas e pinos do FPGA, como entradas e saídas para controle das interfaces SPI, e este trecho de código é mostrado na Figura 3.23.

```
library ieee;
use ieee.std_logic_1164.all;
use ieee.std_logic_arith.all;

entity spi is
port(
    cristalE: in std_logic;
    clockMCP: inout std_logic;
    datainMCP: out std_logic;
    csMCP: inout std_logic;
    dataoutMCP1: in std_logic;
    dataoutMCP2: in std_logic;
    dataoutMCP3: in std_logic;
```

Figura 3.23: Descrição das entradas e saídas em linguagem VHDL. Parte do código implementado na placa mostrada na Figura 3.22.

A seguir é mostrado o código que descreve a arquitetura comportamental de cada uma das 9 interfaces SPI implementadas no FPGA. A Figura 3.24 detalha parte do código contendo a descrição comportamental das entidades SPI.

O clock do processo chamado “cristalE” é gerado externamente e produzido por um cristal oscilador a quartzo de frequência igual 4MHz montado na placa externa mostrada na Figura 3.21(D). O vetor mais importante utilizado neste código é chamado de SAMPLE e é um vetor do tipo “std_logic_vector” contendo 99 posições. É este vetor que armazena os 12 bits provenientes de cada um dos 8 canais de cada CI MCP3208 que integram a placa do conversor A/D.

```

architecture comportamento of spi is
type SAMPLE is array(0 to 3) of std_logic_vector(0 to 99);
shared variable DOUT: std_logic_vector(1 to 400);
shared variable amostra: SAMPLE;
begin
    process(cristalE)
        variable pulse: integer := 0;
        variable achannel: std_logic_vector(0 to 2);
        variable channel: integer := 0;
        variable snum: integer := 0;
        variable clock: integer := 0;
        variable ad0: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad1: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad2: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad3: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad4: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad5: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad6: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad7: std_logic_vector(0 to 11);
    begin
        if rising_edge(cristalE) then
            clock := clock + 1;

            if clock = 2 then
                clockMCP <= not clockMCP;
                clock := 0;
            end if;
            pulse := pulse + 1;

            achannel := conv_std_logic_vector(channel, 3);

            if pulse = 4 then
                csMCP <= '0';
                datainMCP <= '1'; --start bit

            elsif pulse = 8 then

                datainMCP <= '1'; -- single/diff

            elsif pulse = 12 then

                datainMCP <= achannel(0); --address D2

            elsif pulse = 16 then

                datainMCP <= achannel(1); --address D1

            elsif pulse = 20 then

                datainMCP <= achannel(2); --address D0

            elsif pulse = 24 then

                datainMCP <= '0'; --dont care start
        end if;
    end process;
end arquitetura;

```

Figura 3.24: Descrição comportamental em código VHDL mostrando parte do código que descreve as interfaces SPI.

Cada resultado da conversão de cada um dos canais do conversor A/D é armazenado em uma posição do vetor *SAMPLE* da seguinte maneira:

Bit 1 do vetor *SAMPLE*: start bit para iniciar o conversor A/D;

Bit 2 do vetor *SAMPLE*: envia a informação do modo de aquisição (*single/diff*) e configura o conversor A/D para o modo *SINGLE* conforme a Tabela 3.1;

Bit 3, 4 e 5 do vetor *SAMPLE*: configuram qual é o canal do conversor AD que será lido, da seguinte maneira: bit 3 corresponde a D0, bit 4 corresponde a D1 e bit 5 corresponde à D2; este conjunto de 3 bits D0, D1 e D2 fazem o endereçamento que seleciona qual é o canal do chip MCP3208 que será lido. Por exemplo, ao selecionar D0.D1.D2 = 110 seleciona-se o canal 6 de todos os chips MCP3208

simultaneamente. Neste caso, todos os circuitos integrados conversores A/D irão ler seus canais número 6, e enviar a informação digitalizada referente ao canal 6 do chip 1, canal 6 do chip 2, canal 6 do chip 3.... até o canal 6 do chip 8 para compor o vetor de 99 posições *SAMPLE*. Isso tudo ocorre sempre na borda de subida de cada pulso de clock. Assim, o vetor *SAMPLE* traz sempre uma informação que corresponde a $12 \times 8 = 96$ bits (uma conversão AD vem de cada chip) e os 3 bits iniciais configuram qual é o canal que vai ser lido naquele instante. Isso totaliza os 99 bits deste vetor. A Figura 3.25 mostra mais um trecho do código VHDL, responsável por montar o vetor de saída de dados, que serão enviados, já digitalizados, para a placa *Orange PI*.

Na Figura 3.25 pode-se observar parte do código que carrega o vetor de saída de dados (chamado “amostra”). A cada 3 pulsos de clock, o sistema realiza a multiplexação dos canais lidos em sua entrada, mudando o canal solicitado aos conversores A/D; então, a cada 3 pulsos de clock, $ad0(n)$, $ad1(n)$, $ad2(n)$, $ad3(n)$, $ad4(n)$... $ad7(n)$ recebem um novo valor digital de 12 bits, sendo cada sinal proveniente de um dos oito chips conversores A/D. Observar que $ad0$ sempre provém do chip MCP1 (ou seja, do primeiro chip da placa), $ad1$ sempre provém do chip MCP2 e assim por diante, até o oitavo chip.

Finalmente, após coletar os dados dos 8 canais de cada um dos 8 chips conversores A/D, o código em VHDL precisa concatenar os diversos valores de $ad0(n)$, $ad1(n)$, $ad2(n)$, $ad3(n)$, $ad4(n)$... $ad7(n)$ num único vetor de saída de dados. Esta implementação é mostrada no código da Figura 3.26.

```

elsif pulse = 32 then
    ad0(11) := dataoutMCP1;
    ad1(11) := dataoutMCP2;
    ad2(11) := dataoutMCP3;
    ad3(11) := dataoutMCP4;
    ad4(11) := dataoutMCP5;
    ad5(11) := dataoutMCP6;
    ad6(11) := dataoutMCP7;
    ad7(11) := dataoutMCP8;

elsif pulse = 36 then
    ad0(10) := dataoutMCP1;
    ad1(10) := dataoutMCP2;
    ad2(10) := dataoutMCP3;
    ad3(10) := dataoutMCP4;
    ad4(10) := dataoutMCP5;
    ad5(10) := dataoutMCP6;
    ad6(10) := dataoutMCP7;
    ad7(10) := dataoutMCP8;

    .....
    .....
    .....

elsif pulse = 76 then
    ad0(0) := dataoutMCP1;
    ad1(0) := dataoutMCP2;
    ad2(0) := dataoutMCP3;
    ad3(0) := dataoutMCP4;
    ad4(0) := dataoutMCP5;
    ad5(0) := dataoutMCP6;
    ad6(0) := dataoutMCP7;
    ad7(0) := dataoutMCP8;

```

Figura 3.25: Trecho do código VHDL que carrega o vetor de saída, que será enviado para a placa *Orange PI*.

```

amostra(snum) := ad0 & ad1 & ad2 & ad3 & ad4 & ad5 & ad6 & ad7 & '0' &
conv_std_logic_vector(channel, 3);
    elsif pulse = 80 then
        pulse := 0;
        channel := channel + 1;
        snum := snum + 1;

        if channel = 8 then
            channel := 0;
        end if;

        if snum = 4 then
            snum := 0;
            DOUT := amostra(0) & amostra(1) & amostra(2) & amostra(3);
            dataoutSPI <= not dataoutSPI;
        end if;

        csMCP <= '1';
    end if;
end if;
end process;

```

Figura 3.26: Trecho do código VHDL que concatena os dados de todas as entradas de todos os conversores A/D e monta o vetor de saída de dados, chamado de “amostra”.

O vetor “amostra” possui então as informações de todos os canais, da seguinte maneira: amostra(0) tem todas as informações de todos os canais 1 de todos os chips conversores A/D; amostra(1) possui todas as informações de todos os canais 2 de todos os chips e assim sucessivamente. Finalmente, o vetor de saída de dados é montado através da seguinte instrução:

DOUT := amostra(0) & amostra(1) & amostra(2) & amostra(3).

O vetor DOUT é enviado para a interface SPI de saída de dados (para a placa *Orange Pi*). DOUT é na verdade um buffer que contém 4 amostras de todos os canais, ou seja, DOUT é um vetor de $12 \times 8 \times 4 = 384$ bits. O FPGA envia “pacotes” contendo 4 amostras de todos os canais de cada vez, para garantir uma velocidade de comunicação serial SPI compatível com as necessidades deste *hardware*. Uma das principais dificuldades desta implementação foi atingir a velocidade necessária de transferência de dados entre o conversor A/D e o computador PC. O pacote de dados é bastante grande: são 59 canais que enviam 10000 amostras de 12 bits por segundo (frequência de amostragem de 10 ksps em cada *chip*). O problema só foi resolvido com o uso de um FPGA, que permite processamento paralelo e implementação por meio de *hardware* das funções de leitura dos conversores A/D. O código VHDL completo que foi implementado neste FPGA é mostrado no Apêndice I, conforme já mencionado.

3.11 Módulo Orange PI

Orange Pi é um computador embarcado de procedência chinesa construído em uma única pequena placa de circuito impresso. Esta placa pode executar diversos sistemas operacionais baseados no sistema *Linux*, tais como *Android 4.4*, *Ubuntu*, *Debian*, ou até mesmo a Imagem *Raspbian* (que foi originalmente desenvolvida para a placa *Raspberry Pi*). O módulo *Orange PI* utiliza o microprocessador fabricado pela empresa chinesa *AllWinner*, modelo H3 SoC, e possui memória interna na placa do tipo SDRAM DDR3 com capacidade de 1GB. A Figura 3.27 mostra o aspecto do módulo *Orange PI* utilizado neste projeto.



Figura 3.27: Aspecto da placa *Orange Pi*, mostrando os detalhes do barramento para acesso da interface SPI. Fonte: (ORANGE, 2018).

O microprocessador utilizado na placa mostrada na Figura 3.27 é um Quad-Core de arquitetura ARM-Cortex A7 com frequência de clock interna de 1,8GHz. Esta placa foi escolhida em virtude de seu custo mais baixo e maior velocidade quando comparada com suas concorrentes diretas: a *Raspberry Pi* (do fabricante *Raspberry Pi Foundation* situado em *Cambridge-UK*) e a *BeagleBone Black*, do fabricante Texas Instruments. De fato, *Orange Pi* possui melhor *performance* dentre as três testadas neste projeto.

O sinal digital proveniente da placa FPGA mostrada na Figura 3.22 é aplicado na entrada SPI da placa *Orange Pi*, através do conector de acesso ao barramento, mostrado na Figura 3.27 (A). Na mesma Figura 3.27 (B) é mostrado o conector RJ15 que serve para conectar a porta *Ethernet* do computador PC. A velocidade da comunicação entre a placa *Orange Pi* e o computador PC pode atingir taxas da ordem de 100 Mbits/segundo. Este foi um dos fatores que levou o autor a escolher a porta *Ethernet* como meio de conexão entre o Sistema de Registro MEA desenvolvido aqui e o computador PC: a alta taxa de transferência de dados.

Uma outra possibilidade seria utilizar a conexão USB 3.0. Entretanto, tal implementação poderia trazer uma elevada dificuldade adicional em termos de *software* (é muito mais simples escrever uma conexão do tipo SSH entre a *Orange Pi* e o computador PC do que escrever um driver capaz de implementar comunicação USB 3.0 em altas velocidades).

A placa *Orange Pi* teve seu cartão de memória (SDCard) carregado com o Sistema Operacional ARMBIAN (ARMBIAN, 2019) e um código em linguagem C foi

escrito especificamente para receber o vetor DOUT enviado pela FPGA e transmitir este vetor para o computador PC através da porta (B) do tipo *Ethernet*.

3.12 Código-fonte em linguagem C

O código-fonte a seguir foi escrito em C, compilado e executado na placa *Orange Pi*, com a finalidade de receber o vetor de dados pela porta SPI e enviar este mesmo vetor, em pacotes formados por arquivos de tamanho 21.287 Kb (cerca de 22 Megabytes) para o computador PC, através de uma conexão do tipo SSH (*Secure SHell*) pela porta Ethernet. A Figura 3.28 mostra o primeiro trecho deste código.

```
int main(int argc, char** argv) {
    wiringPiSetup ();
    pinMode (BUFFER_READY, INPUT);
    pinMode (TEST, OUTPUT);
    fd = open(device, O_RDWR); //read write
    if (fd < 0) {
        printf("can't open device");
        return -1;
    }
    ret = ioctl(fd, SPI_IOC_WR_MAX_SPEED_HZ, &speed);
    if (ret == -1) {
        printf("can't open device");
        return -1;
    }
    FILE *f = fopen("record/rec(0).txt", "w");
    if (f == NULL)
    {
        printf("Error opening file!\n");
        return -1;
    }
    printf("spi mode: %d\n", mode);
    printf("bits per word: %d\n", bits);
    printf("max speed: %d Hz (%d MHz)\n", speed, speed / 1000000);

    if (ioctl(fd, SPI_IOC_WR_MODE, &mode) == -1) pabort("Can't set SPI mode");
}
```

Figura 3.28: Trecho inicial do código em C que inicializa a interface SPI da placa *Orange Pi*.

Este primeiro trecho mostrado na Figura 3.28 mostra a abertura e configuração da porta SPI. Existe também uma rotina que imprime a velocidade de operação desta porta, que neste caso situa-se em torno de 32MHz. O segundo trecho deste código é mostrado na Figura 3.29. Pode-se ver neste trecho um laço de repetição infinito do tipo **for(;;)** que envia o vetor recebido pela porta SPI diretamente para o computador PC, utilizando-se para isso da função “*printf*” da linguagem C. O envio é feito na forma de conjunto de 8 bits (byte a byte). Posteriormente, existe outro *software*, no computador PC, que transforma os valores de 8 bits enviados em valores de 12 bits, pois os resultados das leituras dos conversores A/D são feitos em 12 bits (e não em 8 bits). O envio de dados diretamente no formato de 12 bits torna-se complicado: a linguagem C não possui nenhum tipo de dado de 12 bits e a função que envia dados pela porta *Ethernet* (função “*fprintf*”) não funcionaria com um tipo de dado definido pelo usuário. É fato que existem outras técnicas que poderiam resolver este problema (por exemplo: utilizar um ponteiro para ler os bits em conjunto de 12 bits e usar o mesmo ponteiro para enviar os dados pela porta serial *Ethernet*, ao invés de usar a função *fprintf*). Todas estas possíveis soluções foram testadas pelo autor, ao longo de vários meses. A solução que trouxe a melhor velocidade e a melhor *performance* é esta que foi adotada e explicada.

```

for(;;){
    lv = digitalRead(BUFFER_READY);
    digitalWrite(TEST,lv);
    if(lv != br){
        br = lv;
        if (read(fd, buf, ARRAY_SIZE(buf)) != ARRAY_SIZE(buf)){
            perror("SPI read Error");
            close(fd);
        }
        fprintf(f,"%02X %02X %02X
%02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X
%02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X
%02X
\r\n",buf[0],buf[1],buf[2],buf[3],buf[4],buf[5],buf[6],buf[7],buf[8],buf[9],buf[10],buf[11],buf[12],buf[13],bu
f[14],buf[15],buf[16],buf[17],buf[18],buf[19],buf[20],buf[21],buf[22],buf[23],buf[24],buf[25],buf[26],buf[27
],buf[28],buf[29],buf[30],buf[31],buf[32],buf[33],buf[34],buf[35],buf[36],buf[37],buf[38],buf[39],buf[40],bu
f[41],buf[42],buf[43],buf[44],buf[45],buf[46],buf[47],buf[48],buf[49]);
        i++;
        if(i == 144000){
            i = 0;
            fclose(f);
            breakfile++;
            sprintf(filename,"record/rec%d.txt",breakfile);
            FILE *f = fopen(filename, "w"); } }
    close(fd);
    return ret;
}

```

Figura 3.29: Laço de execução infinita que envia o vetor de dados para o computador PC.

O código-fonte completo em linguagem C utilizado na placa *Orange PI* é mostrado no Apêndice J ao final deste texto .

3.13 Execução final do protótipo do Digitalizador

A Figura 3.30 mostra o módulo digitalizador em construção, no momento da interligação de todos os subsistemas descritos neste Capítulo.

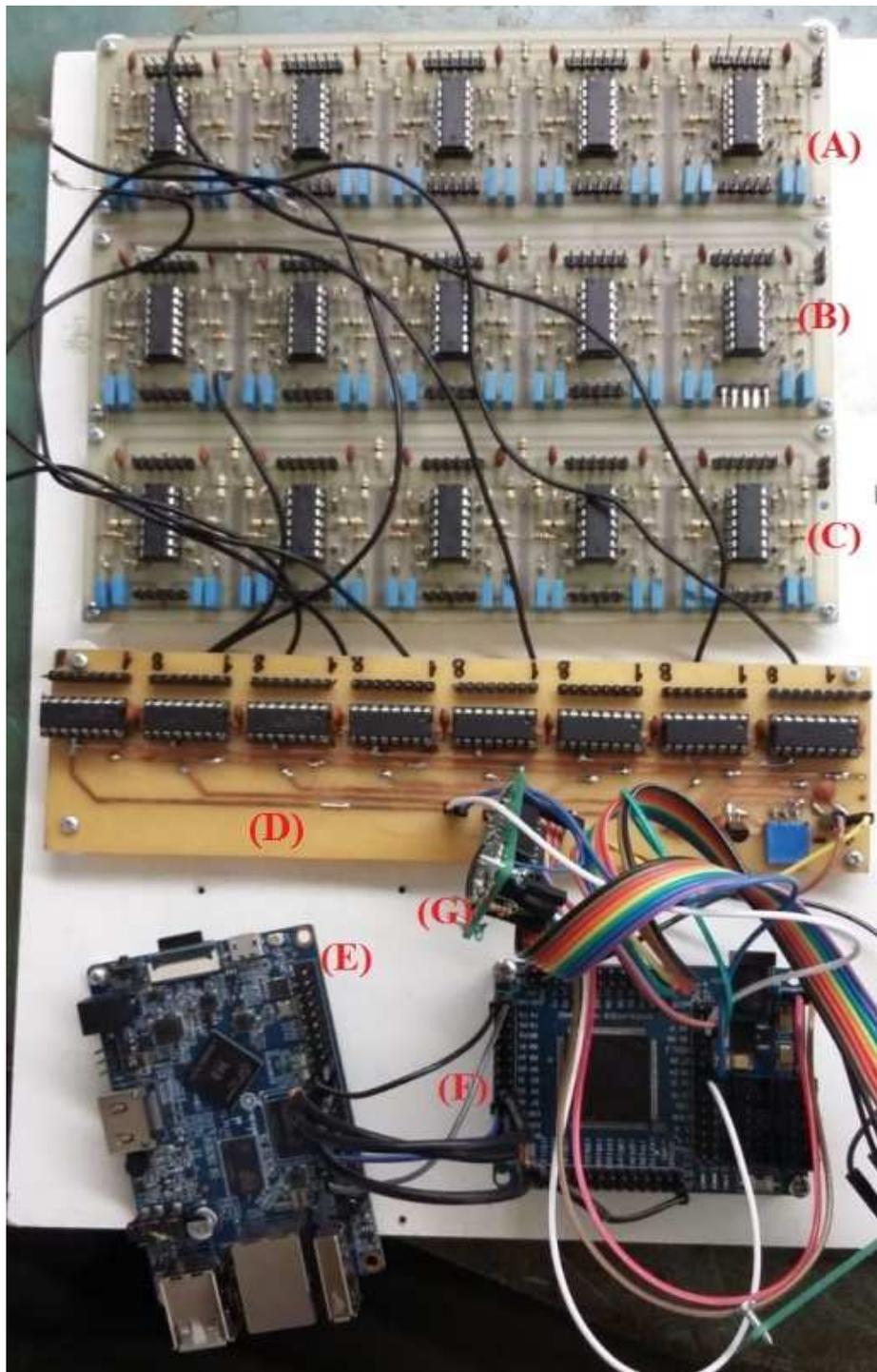


Figura 3.30: Módulo Digitalizador em fase de montagem; Em (A), (B) e (C) são mostradas as placas dos amplificadores ilustrados na Figura 3.20; Em (D) é vista a placa do conversor AD; em (E) mostra-se a placa Orange PI, em (F) a placa do FPGA e em (G) finalmente, o módulo gerador de clock de 4MHz. Este módulo de 4MHz poderia ter sido suprimido caso se utilizasse o PLL interno presente no FPGA.

Finalmente, a Figura 3.31 mostra o aspecto do módulo Digitalizador do Sistema de Aquisição de Dados em Matriz de Microeletrodos proposto e implementado neste trabalho. Na Figura 3.31 os fios já foram soldados, interligando todos os subsistemas para compor o protótipo. Neste ponto, o protótipo já se encontra funcional para os testes descritos no Capítulo 7. A Figura 3.31(A) mostra o Sistema preparado para os testes, e a Figura 3.31(B) mostra o Digitalizador interligado ao Soquete para MEA com o pré-amplificador.

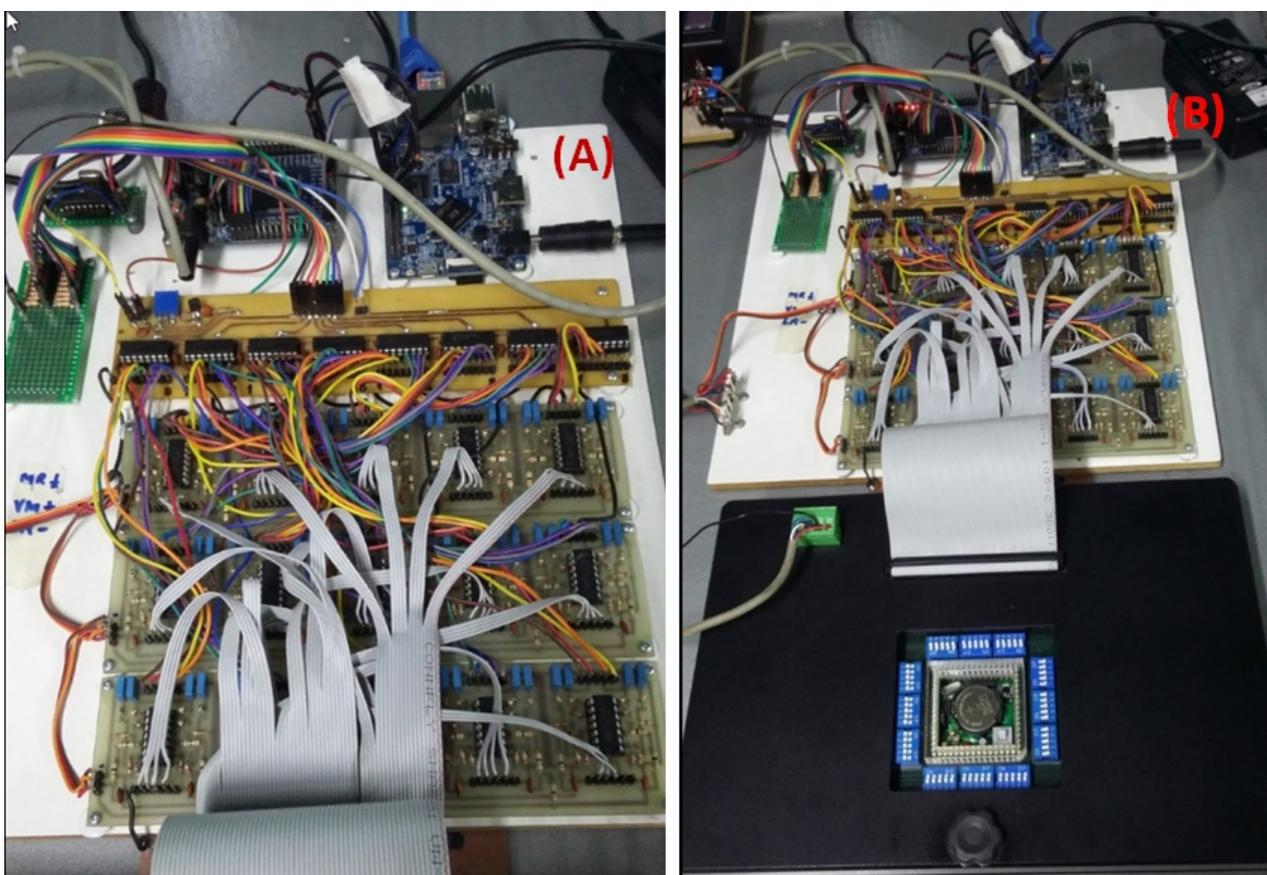


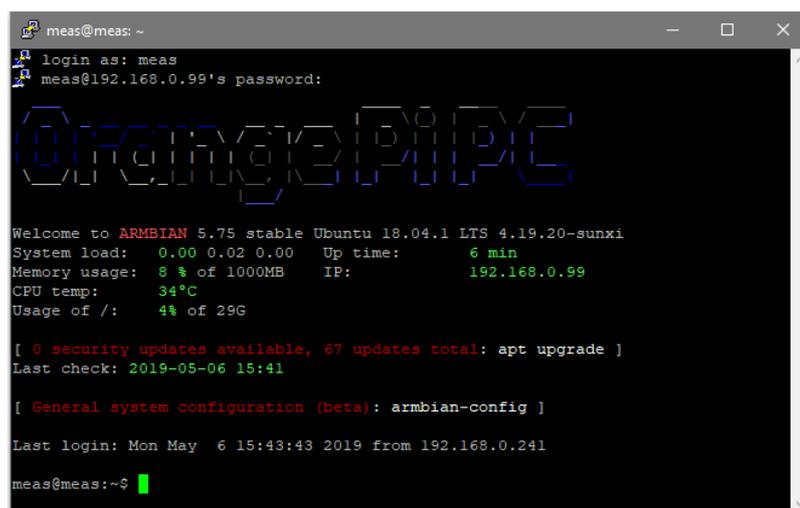
Figura 3.31: Aspecto final do protótipo do Digitalizador para Matriz de Microeletrodos: em (A) é mostrado o Digitalizador, com os fios interligando todos os módulos e em (B) o Digitalizador é ligado ao soquete que faz a conexão com a MEA.

A seguir é descrito o procedimento, passo-a-passo, para utilizar o equipamento, da maneira como este foi desenvolvido.

1. Conectar o Cabo de Rede no computador e na *OrangePi*.
2. Configurar o IP do adaptador de rede cabeada para:
 - IP: 192.168.66.1

- Máscara de Rede: 255.255.255.0
 - Gateway: 192.168.66.99
3. Instalar um *software* de controle SSH, como por exemplo o *Putty* ou *Bitvise* (PUTTY, 2019).
 4. Iniciar o *Putty* ou outro *software* SSH e usar as seguintes credenciais:
 - IP: 192.168.66.99
 - Porta: 22
 - User: meas
 - Password: meas2019

Uma tela similar à mostrada na Figura 3.32 deverá aparecer no computador PC:



```
meas@meas: ~  
login as: meas  
meas@192.168.0.99's password:  
Orange Pi PC  
Welcome to ARMBIAN 5.75 stable Ubuntu 18.04.1 LTS 4.19.20-sunxi  
System load:  0.00 0.02 0.00  Up time:    6 min  
Memory usage: 8 % of 1000MB  IP:        192.168.0.99  
CPU temp:    34°C  
Usage of /:  4% of 29G  
  
[ 0 security updates available, 67 updates total: apt upgrade ]  
Last check: 2019-05-06 15:41  
  
[ General system configuration (beta): armbian-config ]  
Last login: Mon May  6 15:43:43 2019 from 192.168.0.241  
meas@meas:~$
```

Figura 3.32: Tela resultado da conexão SSH entre a *Orange Pi* e o computador PC.

5. Configurar uma pasta compartilhada no computador com o nome “meas” com visibilidade para todos e com permissão de escrita. Esta pasta deverá ser acessível no menu Iniciar-> Executar (Win + R) através do seguinte código IP: <\\192.168.66.1\meas>
6. Anotar as Credenciais de Login do Windows, usuário e senha, do computador para acesso à pasta compartilhada. Por exemplo, Usuário: fabio e Senha: capace.
7. Através da conexão SSH configurar as credenciais da rede que foram anotadas, conforme mostrado na Figura 3.33:

```
sudo nano /home/meas/.smbcredentials  
senha: meas2019
```

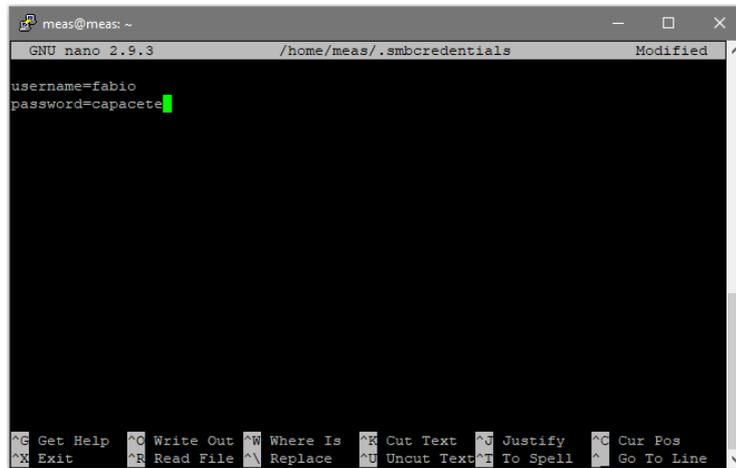


Figura 3.33: Tela de apresentação do Login e da Senha do usuário.

- Fechar o editor usando as teclas Ctrl+X e em seguida tecla Y e depois ENTER;
- Testar as alterações com o comando:

```
sudo mount -a
```

Se tudo estiver correto nenhuma mensagem aparecerá, assim, testar a montagem da pasta de rede com o comando:

```
df -H
```

Uma tela aparecerá com o espaço disponível do disco do computador na *OrangePi*, como mostrado na Figura 3.34:

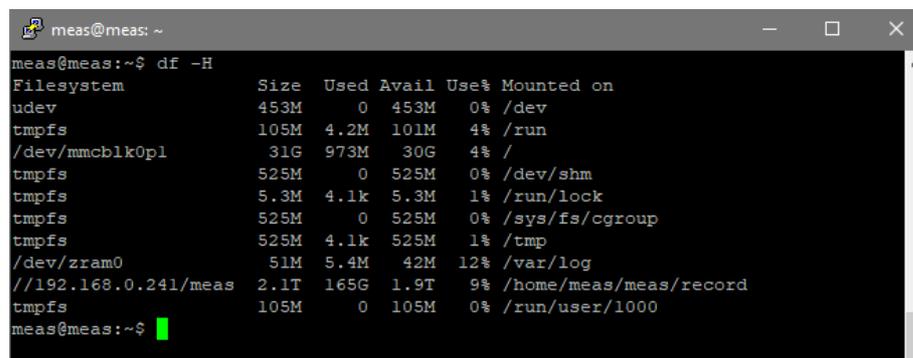


Figura 3.34: Tela que mostra o espaço disponível no computador.

Caso haja falhas no processo descrito acima, revisar as credenciais e certificar-se de que o computador está com o ip 192.168.0.1 e que ele está compartilhando a pasta “meas”. Observações importantes:

1. Neste ponto a *OrangePI* já consegue enviar os arquivos para o computador via pasta de rede compartilhada.
2. Os passos anteriores não precisam ser repetidos novamente; Isto só será necessário se o computador for reconfigurado com novo usuário e ou senha.
3. Apagar os arquivos existentes na pasta “meas” do computador.
4. Para iniciar a gravação, encontrar o diretório: /home/meas/meas, para isso, utilizar o comando:

```
cd /home/meas/meas
```

Confirmar com o comando “ls” e a tela irá apresentar a imagem mostrada na Figura 3.35 :



```
meas@meas: ~/meas
meas@meas:~/meas$ ls
meas record
meas@meas:~/meas$
```

Figura 3.35: Tela inicial para gravação dos dados.

Iniciar a gravação com o comando:

```
sudo ./meas
```

A tela deverá ficar como mostrada na Figura 3.36:



```
meas@meas: ~/meas
meas@meas:~/meas$ sudo ./meas
spi mode: 2
bits per word: 8
max speed: 32000000 Hz (32 MHz)
```

Figura 3.36: Tela confirmando que a gravação está ocorrendo e que a interface SPI da *Orange PI* está conectada com taxa máxima igual a 32MHz.

Ao terminar a gravação pressionar Ctrl+C e aguardar alguns segundos, até que o computador apresente a tela mostrada na Figura 3.37.



```
meas@meas: ~/meas
meas@meas:~/meas$ sudo ./meas
spi mode: 2
bits per word: 8
max speed: 32000000 Hz (32 MHz)
^C
meas@meas:~/meas$
meas@meas:~/meas$
```

Figura 3.37: Tela confirmando que a gravação cessou pela ação do usuário, através das teclas Control + C.

5. Verificar os arquivos de gravação no computador na pasta meas como mostrado na Figura 3.38:

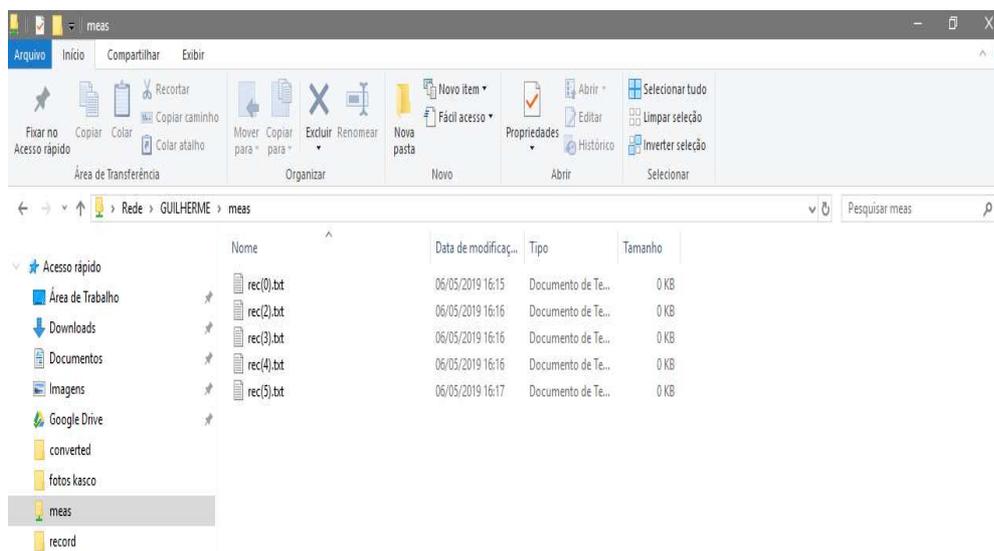


Figura 3.38: Arquivos gravados na pasta “C:meas” do computador PC.

6. Abrir o *software* “.RAW to .CSV” (Project1.exe) na pasta DELPHI.
7. Seleccionar a pasta “meas” como entrada pelo botão “Abrir Pasta” e conferir os arquivos gravados na lista conforme a Figura 3.39:

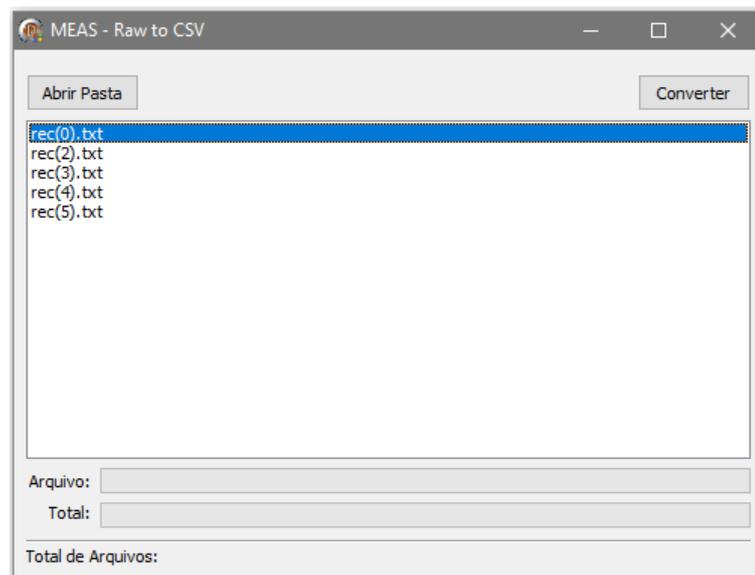


Figura 3.39: Programa “RAW to CSV”, que abre os arquivos .txt gravados na pasta meas e os transforma em números de 12 bits, no formato .CSV, adequado à leitura do software que foi desenvolvido por outro pesquisador para este mesmo projeto.

8. Pressionar o botão “Converter” e definir uma pasta de saída para os arquivos CSV, como mostrado na Figura 3.40.

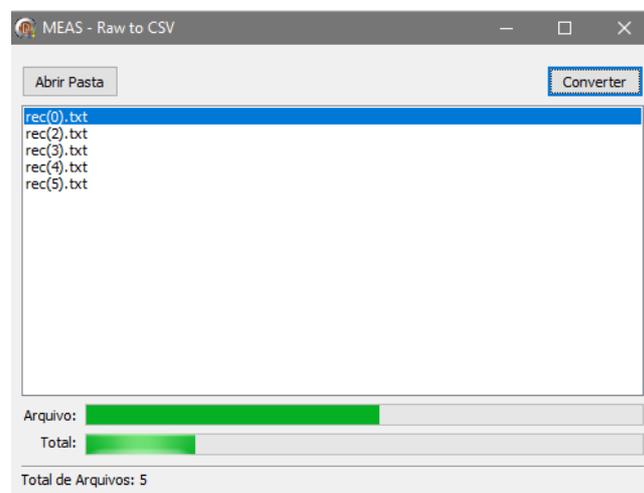


Figura 3.40: Interface gráfica do Software “RAW to CSV” mostrando a conversão dos arquivos do formato .txt para o formato .CSV.

9. Aguardar o término da conversão e abrir a pasta de destino. Os dados gravados com a extensão .CSV estarão nesta pasta e podem ser visualizados com o software Excel (pois o formato agora é de extensão .CSV, *Comma Separated Values*). Na primeira linha de cada coluna está escrito de qual chip

e de qual canal aqueles dados de determinada coluna são provenientes. A Figura 3.41 mostra os arquivos abertos pelo programa Excel.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 2, Chip: 1	Canal: 2, Chip: 1	Canal: 2, Chip: 1
2	4094	512	2560	3584	3072	3584	1536	3584	1056	32	160
3	2034	512	2560	3584	3072	256	1536	3584	204	32	160
4	3584	3072	2560	1536	3072	3584	1536	3584	0	32	160
5	256	512	2560	3584	3072	256	1536	3584	0	32	160
6	3584	512	2560	3584	3072	256	1536	3584	0	32	160
7	256	512	2560	3584	3072	3584	1536	3584	234	160	96
8	3038	512	1536	3584	512	256	1536	3584	60	32	160
9	3038	512	1536	3584	3072	256	1536	3584	204	32	160
10	3038	512	1536	3584	3072	256	1536	3584	12	32	160
11	3584	3072	2560	3584	3072	3584	1536	3584	0	32	160
12	2034	512	2560	3584	3072	3584	1536	3584	0	32	160
13	2560	512	2560	3584	3072	256	1536	3584	0	32	160
14	1758	2560	1038	3584	512	256	1536	3584	236	118	96
15	3550	512	2560	3584	3072	3584	1536	3584	76	32	160
16	384	3072	2560	1536	3072	1644	2640	1534	0	160	160
17	3328	512	2560	1536	3072	3584	1536	3584	0	32	160
18	1024	3072	2560	1536	3072	3584	1536	3584	0	32	160
19	2022	512	2560	3584	3072	3584	1536	3584	106	32	160
20	2110	3072	2560	1536	3072	3584	2000	3584	60	32	160
21	1502	3072	2560	1536	3072	3584	1536	3584	44	192	160
22	1024	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	0	192	160
23	3328	3072	2560	1536	3072	3584	1536	3584	0	192	160
24	1536	3072	2560	1536	3072	3584	1536	3584	0	192	160
25	1758	512	2560	3584	3072	3584	1536	3584	186	32	160
26	2782	3072	2560	1536	3072	3584	1536	3584	220	32	160
27	3784	3072	2560	1536	3072	3584	2000	1536	204	32	160
28	3072	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	0	192	32
29	3072	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	0	192	32
30	1024	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	0	192	32
31	1536	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	106	32	160
32	3000	3072	2560	1536	1024	3584	2000	1536	230	192	32
33	990	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	44	192	32
34	3038	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	12	192	32
35	256	1024	3072	2560	2048	2560	512	2560	0	64	32
36	256	1024	512	2560	1024	1536	2560	2560	0	192	32
37	3584	1024	512	2560	1024	1536	512	2560	0	192	32
38	3038	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	118	192	32
39	3584	3072	512	1536	1024	1536	2560	1536	60	192	32

Figura 3.41: Dados já convertidos, enviados para o computador e abertos no programa Excel.

- Para desligar o sistema, enviar um comando “**sudo halt**” para a *OrangePi*; Se o sistema operacional pedir a senha, colocar “meas2019”. Aguardar de 30 a 60 segundos e desligar a fonte de alimentação. Alternativamente, pode-se usar o comando “**sudo poweroff**” para desconectar o módulo *Orange PI*.
Atenção: Não desligar o equipamento sem antes fazer este procedimento de desconexão, caso contrário o cartão de memória da *Orange PI* pode ser corrompido, obrigando a recarga do Sistema Operacional.

3.14 Considerações Finais

Neste Capítulo foram descritos os detalhes do projeto eletrônico do *hardware* proposto pelo autor. Foi descrito também o desenvolvimento e implementação do módulo Digitalizador, com todos os seus subsistemas e o procedimento de utilização deste módulo, com seus *softwares* e sua aplicação no computador PC, na forma de um breve manual de utilização.

No Capítulo 4 será feita uma revisão sobre a importância do ruído na detecção de sinais de baixa amplitude e o conceito de Ressonância Estocástica (abreviada por RE) será introduzido. Diversas aplicações do fenômeno RE são também descritas, com ênfase no seu uso prático na detecção e ampliação de sinais de pequena amplitude, sob ambiente ruidoso.

Capítulo 4

RUÍDO E RESSONÂNCIA ESTOCÁSTICA

A característica de melhoria na relação sinal-ruído para certos amplificadores eletrônicos quando ocorre a adição controlada de ruído e em particular o fenômeno de ressonância estocástica (RE) é o objeto de estudo deste Capítulo. São discutidas as condições necessárias e suficientes para a obtenção deste interessante fenômeno, bem como algumas aplicações práticas.

4.1 Introdução

O ruído interfere de diferentes formas na vida cotidiana e nos experimentos de laboratório. Alguns exemplos de diferentes tipos de ruídos são: acústico, térmico e elétrico. O tráfego urbano é considerado uma causa de ruído, porque o mesmo produz sinais acústicos que interferem com a qualidade de vida. Um sinal de rádio interferente é ruído (eletromagnético) quando o mesmo encobre notícias de alguma emissora de rádio. Os transistores são afetados por um ruído que limita a capacidade de amplificação destes dispositivos com relação aos sinais elétricos. O ruído é em geral desapropriado para os sistemas, porque ele limita o desempenho, e grandes esforços são empreendidos pelos físicos e engenheiros com a finalidade de reduzir ruídos, como por exemplo filtragem, compensação de *feedback*, blindagens eletromagnéticas, entradas em oposição de fase, etc., mesmo diante do aumento de custo e complexidade dos equipamentos (ANDÒ, 1999; OTT, 1988).

Por outro lado, nas últimas três décadas, diversos estudos científicos tem mostrado, de maneira surpreendente, os efeitos benéficos do ruído. Diversos fenômenos naturais podem ser explicados levando-se em conta a presença do ruído (por exemplo: a periodicidade nas eras glaciais). Além disso, diversos sistemas físicos e biológicos funcionam melhor em presença de ruído, como por exemplo neurônios biológicos e sistemas eletrônicos. Alguns trabalhos demonstraram a

melhoria da capacidade cognitiva de crianças e adolescentes ao serem submetidos ao ruído branco durante horas de estudos (SÖDERLUND et al., 2007, 2010).

4.2 Classificação dos Ruídos

Uma área onde o ruído exerce um papel importante é na eletrônica: até mesmo o mais simples componente elétrico, que é o resistor, produz ruído quando percorrido por uma corrente elétrica. O ruído que pode ser observado em resistores é devido em grande parte às flutuações térmicas dos elétrons no corpo do dispositivo e este é o tipo de ruído mais comum que pode ser observado. Este tipo de ruído é chamado *ruído térmico ou ruído Johnson* e é uma forma de ruído branco, pois consiste em uma distribuição de igual energia em todas as frequências do espectro. Outro tipo é o ruído Gaussiano, que possui média zero e desvio padrão constante. Um grande conjunto de fenômenos, muito diferentes em sua natureza, tais como as flutuações de resistência elétrica nas junções dos semicondutores, a atividade elétrica do coração, atividade sísmica, o nível sanguíneo de insulina nos diabéticos, etc, produz um tipo bastante diferente de ruído, chamado *flicker, ruído rosa ou ruído 1/f*. A última definição sugere que o ruído rosa é predominantemente um fenômeno de baixas frequências. Outros tipos de ruídos como o *popcorn noise (ruído de pipoca)* e o *ruído Schottky* afetam circuitos integrados lineares. Geralmente o ruído é considerado um sinal aleatório, isto é, um sinal que não pode ser descrito por uma função matemática específica. Nas últimas décadas, entretanto, diversos trabalhos tem mostrado que o ruído pode também ser o resultado da ação de um sistema caótico, isto é, pode ser produzido por um sistema determinístico (ANDÒ, 1999). A Figura 4.1 mostra uma representação esquemática do circuito *Chua*, sua equação característica e o sinal produzido em sua saída. É interessante observar que a saída do sistema pode ser vista como sendo um sinal do tipo ruído determinístico (é um ruído gerado por um processo caótico, pois deriva de um circuito cujas equações são determinísticas). É muito difícil estabelecer a classe de cada tipo de ruído sem fazer algum tipo de análise dos sinais. Um critério mais rigoroso é analisar sua Função Densidade de Probabilidade (PDF) (MCDONNELL, 2008). O ruído de natureza aleatória (sem considerar o ruído caótico) sugere que a

análise estatística é a abordagem apropriada: esta análise permite prever algumas características estatísticas do ruído.

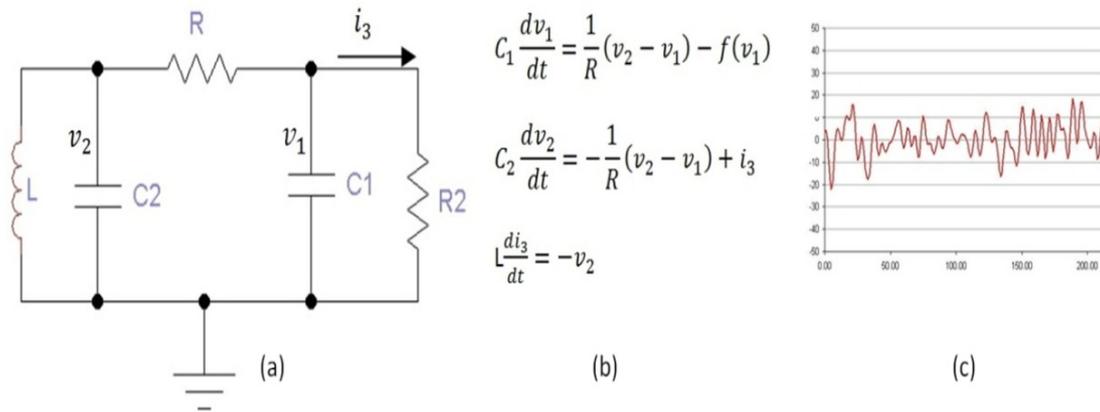


Figura 4.1: Uma representação esquemática do ruído caótico: (a) o circuito Chua; (b) a Equação característica do sistema; (c) O sinal de saída do sistema.

Fonte: (ANDÔ, 2000).

A Tabela 4.1 lista os 4 tipos principais de ruído aleatório (não caótico) que podem ser produzidos através de circuitos eletrônicos (BARRETO, 2015).

Tabela 4.1: Relação dos ruídos aleatórios mais comuns que ocorrem em circuitos eletrônicos.

Nome dos ruídos	Forma da Densidade Espectral de Potência	Componentes ruidosos
Térmico	Constante	Resistores, dispositivos de estado sólido
<i>Shot noise</i>	Constante	Dispositivos de estado sólido
<i>Flicker</i>	Aproximadamente $1/f$	Dispositivos de estado sólido
<i>Popcorn (Burst)</i>	Aproximadamente $1/f^2$	Dispositivos de estado sólido
<i>Poisson</i>	$P(x, \mu) = \mu^x \frac{e^{-\mu}}{x!}$	Diodos tunel, lasers e dispositivos conversores de imagem CCD.

O ruído Chua não está relacionado nesta Tabela 4.1 pois é um ruído determinístico, que pode ser representado através de um modelo fractal (GINGL, 2005). O ruído térmico, também conhecido como ruído branco, é causado pelo movimento aleatório dos elétrons livres num condutor. Mesmo sem o efeito de campos elétricos, cada elétron dentro de um condutor encontra-se em movimento por causa da energia térmica. O efeito desse movimento num condutor é a geração de uma corrente, com média zero. A equação (4.1) define a medida da tensão eficaz RMS (*Root Mean Square*) do ruído térmico:

$$V_{RMS} = \sqrt{4kTR\Delta f} \quad (4.1).$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, R é a resistência e f é a frequência do sinal periódico que atravessa o condutor.

O ruído de corrente (*shot*) é o ruído associado à corrente que flui pela barreira de potencial de um semiconductor, devido a flutuações estatísticas na emissão de elétrons. Este tipo de ruído surge em dispositivos semicondutores, principalmente em diodos e transistores bipolares. O ruído *shot* pode ser definido pela equação (4.2):

$$I_{sh} = \sqrt{2qI_{dc}B} \quad (4.2).$$

onde q é a carga do elétron em coulombs, I_{dc} é a corrente média em ampères e B é a largura de banda do ruído em hertz.

O ruído de contato (*flicker*), também chamado ruído rosa (*pink noise*), ocorre em razão da diferença na condutividade elétrica em contatos imperfeitos entre dois materiais que são unidos, como ocorre nas junções de diodos e transistores (OTT, 1976). Em baixas frequências, este ruído é chamado de ruído $1/f$ devido à presença dessa frequência f como fundamental no espectro deste tipo de ruído. Quantitativamente, o ruído de contato é diretamente proporcional ao valor da corrente I_{dc} , e a uma constante que depende da geometria do material representado por K e também da raiz quadrada da largura de banda B do ruído, e inversamente proporcional à raiz quadrada de f , conforme equação 4.3:

$$I_f = \left(\frac{KI_{dc}\sqrt{B}}{\sqrt{f}} \right) \quad (4.3).$$

O ruído pipoca (*popcorn noise*), também conhecido como ruído marrom ou vermelho, está presente em diodos e circuitos integrados e possuiu o som de

estouro de pipoca quando amplificado, em função de defeito de fabricação. Este ruído tem como causa defeitos nas junções entre metais impuros ou junções entre semicondutores. Sua taxa de repetição não é constante e a amplitude varia de duas a cem vezes a amplitude do ruído térmico (BARRETO, 2015).

O ruído de Poisson aparece nos dispositivos que convertem imagens em sinais elétricos, tais como os dispositivos CCD (*charge-coupled device*). Trata-se de um ruído randômico, devido a natureza discreta da luz e da carga elétrica. Apresenta uma medida da incerteza causada por erros introduzidos na estimativa do fundo (*background*) (BHOSALENARAYAN et al., 2014).

4.2.1 Função Densidade de Probabilidade

Fontes de ruído geralmente são caracterizadas por sua Função Densidade de Probabilidade (em inglês, Probabilistic Density Function, PDF). A PDF descreve a distribuição da probabilidade em termos de integrais. A equação (4.4) mostra uma definição matemática de PDF para uma variável aleatória contínua X :

$$P[a < X < b] = \int_a^b f(x)dx \quad (4.4).$$

A equação (4.4) deve ser interpretada da seguinte forma: A probabilidade de que o valor da variável aleatória contínua X se encontre dentro do intervalo $[a,b]$ é dada pela integral do lado direito de (4.4). A função $f(x)$ no integrando é a densidade da variável aleatória X em cada ponto, ou seja, mede a probabilidade em cada ponto de ocorrência do evento X . A equação (4.4) é válida para variáveis reais contínuas. Pode-se utilizar a PDF para responder à pergunta "Qual é a probabilidade de uma variável aleatória ter um intervalo específico de valores?". A resposta a essa pergunta é igual à área (integração) sob a curva do gráfico da PDF do começo até o final do intervalo. A função PDF é não-negativa em todos os pontos (podendo ser nula), e sua integral do infinito negativo até o infinito positivo é 1, o que significa que a probabilidade do evento ocorrer entre esse intervalo é certa. No caso de variáveis discretas, que é o caso dos circuitos digitais que transformam os sinais analógicos em sinais quantizados e digitalizados em valores discretos, a eq. (4.4) para a função PDF assume a forma mostrada na equação (4.5) que é chamada Função Massa de Probabilidade:

$$P[a < Z_j < b] = \sum_{i=a}^b f(Z_i)\Delta z \quad (4.5).$$

Nesta equação (4.5), Z_i são valores quantizados e digitalizados para a variável aleatória Z que representa o processo. A equação é análoga à anterior, com a diferença de que integral se transforma em somatório e Z_i assume valores discretos e não contínuos.

4.2.2 Ruído branco uniforme e ruído branco Gaussiano

Embora muitas vezes utilizados como sinônimos, o ruído branco uniforme (simplesmente chamado “ruído branco”) não é o mesmo que ruído branco Gaussiano. Ruído branco uniforme é bastante diferente do ruído branco Gaussiano quando se analisa a Função Densidade de Probabilidade de cada um deles. A Figura 4.2 mostra em (a) a PDF para o ruído branco uniforme e em (b) é mostrada a PDF para o ruído branco Gaussiano. Apesar do ruído branco uniforme ter uma função PDF totalmente diferente do ruído Gaussiano, esse tipo de análise não traz nenhuma indicação da rapidez de mudança dos sinais: dois sinais muito diferentes podem ter a mesma PDF (ANDÒ, 1999). A rapidez de mudança nos valores de variáveis aleatórias pode ser levada em conta introduzindo-se o conceito de Função de Auto-Correlação (em inglês, *Auto-Correlation Function*, ACF) e de Densidade Espectral de Potência (em inglês, *Power Spectral Density*, PSD).

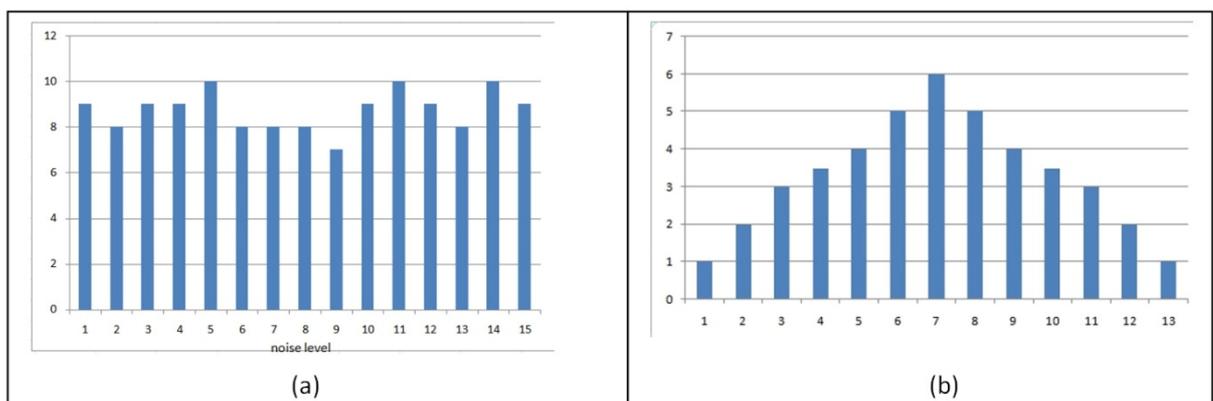


Figura 4.2: Histograma para o ruído branco uniforme; (b) Histograma para ruído branco Gaussiano. O eixo das abscissas representa o nível de ruído e o eixo das

ordenadas representa a frequência de cada componente do mesmo sinal.
Fonte:(ANDÒ, 1999).

A ACF para uma variável aleatória $x(t)$ é dada pela equação (4.6):

$$R(\tau) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T x(t)x(t + \tau)dt \quad (4.6)$$

Por outro lado, PSD dá a mesma informação que a ACF, porém em outro domínio: no domínio da frequência.

A PSD de uma variável aleatória $x(t)$ é dada pela Transformada de Fourier da sua respectiva ACF e é definida pela equação (4.7):

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} R(\tau)e^{-j\omega\tau} d\tau \quad (4.7)$$

Pode-se demonstrar que a função (4.7) é uma função real da frequência complexa ω e se $x(t)$ é uma variável real como são todos os sinais elétricos analisados neste trabalho, a PSD é real e pode ser calculada pela equação (4.8):

$$S(\omega) = 2 \int_0^{+\infty} R(\tau)\cos\omega\tau d\tau \quad (4.8)$$

4.3 Ressonância Estocástica

Ressonância estocástica (RE) é um termo usado para descrever qualquer fenômeno em que a presença de ruído ou o ruído aplicado à entrada externa em um sistema não linear melhora a resposta a um determinado sinal de entrada do que na ausência de ruído. Trata-se de um assunto pouco conhecido até mesmo pelos pesquisadores da área de Processamento de Sinais. O termo chave neste conceito é “não-linear”. **A ressonância estocástica não pode ocorrer em um sistema linear** (ANDÒ, 1999; GAMMAITONI et al., 1998).

O conceito de ressonância estocástica foi usado pela primeira vez no trabalho de Benzi e colaboradores, estudando o problema da recorrência das eras

glaciais (BENZI,1982). Fazendo uma análise estatística das variações do gelo nos continentes no último milhão de anos, Benzi e colaboradores perceberam que a sequência das eras glaciais possuía um período médio em torno de cem mil anos. Esta periodicidade é comparável à escala temporal de dinâmica do movimento da Terra, ou seja, do período de modulação da excentricidade orbital do planeta Terra. Benzi criou então um modelo matemático onde o clima na Terra é representado como um potencial biestável, onde um dos mínimos representa a temperatura que identifica a era glacial. A modulação da excentricidade da órbita da Terra é representada por um sinal periódico fraco e as flutuações anuais da radiação solar são modeladas como um ruído branco Gaussiano. Este estudo de Benzi e colaboradores inaugurou o conceito de RE. A primeira verificação experimental do fenômeno RE foi efetuada por Fauve e Heslot (FAUVE, 1983) que estudaram uma fonte de alimentação do tipo *Schmitt trigger* e a dependência com o ruído de suas linhas espectrais. O funcionamento deste circuito envolve a conversão de um sinal senoidal em um sinal de onda quadrada. Outros trabalhos demonstraram a ocorrência do fenômeno de RE em física óptica, como por exemplo a observação de RE em um laser de cavidade do tipo anel, que consiste de um interferômetro formado por três ou mais espelhos e a biestabilidade consiste no fato de que a luz pode propagar-se nos sentidos horário e anti-horário (MACNAMARA, 1988). Em 1998, Gammaitoni, Marchesoni e colaboradores (GAMMAITONI et al., 1998) descreveram o mecanismo que regula as transições de um sistema estocástico forçado por um componente de sinal periódico de intensidade sub-limiar. Mais especificamente, eles descreveram o efeito de oscilações de um potencial de quarta potência forçado por um componente periódico. Esse problema é importante em Mecânica Quântica: um sistema de dois poços de potencial pode descrever o nível de energia de algumas partículas. A palavra “ressonância” foi originalmente usada porque a característica de assinatura da RE é que um gráfico da relação sinal-ruído de saída (em inglês, Signal-Noise Ratio, SNR) tem um máximo único para alguma intensidade de ruído de entrada diferente de zero, conforme mostra a Figura 4.3. Semelhante a um sistema ressonante, que tem um valor máximo para uma determinada frequência de ressonância, neste caso, a ressonância é induzida pelo ruído e não por uma frequência específica (MCNAMARA, 1989).

A Figura 4.4, extraída de Fabiny (FABINY et al., 1989) mostra o diagrama de blocos de um sistema biestável baseado em um circuito *Schmitt trigger* utilizado para

verificar o fenômeno de ressonância estocástica em circuitos eletrônicos. Na Figura 4.4, o estágio responsável por acrescentar a não linearidade é o *Schmitt trigger*. Os fenômenos estocásticos são descritos por equações diferenciais estocásticas, que são equações que possuem termo de ruído.

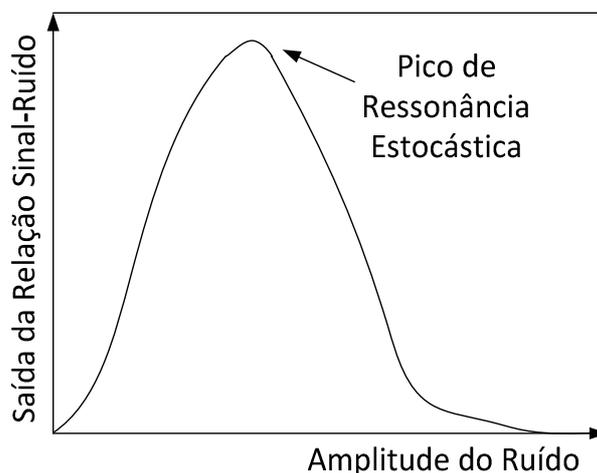


Figura 4.3: Gráfico mostrando a relação Sinal-Ruído em função da magnitude do ruído de entrada em um sistema não-linear. O ponto de máximo mostra o nível ótimo de ruído e ilustra o fenômeno de ressonância estocástica, conforme descreve a literatura. Fonte: adaptado de (ANDÒ, 1999).

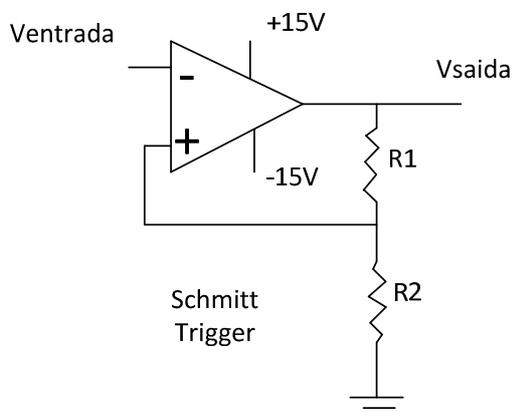
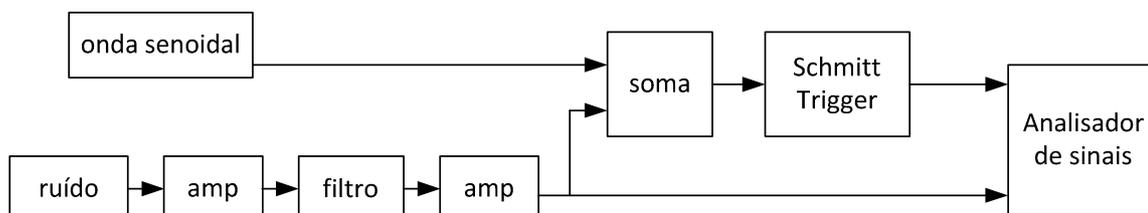


Figura 4.4: Esquema para medições de ressonância estocástica em um circuito biestável do tipo *Schmitt trigger*.

Estas equações se classificam em equações de ruído aditivo ou multiplicativo. Tais equações são também conhecidas como equações de Langevin. O cálculo diferencial usado para resolver tais equações é diferente do cálculo usual (que se baseia nas Integrais de *Riemann*) e por isso é denominado Cálculo Estocástico (MCDONNELL et al., 2008). A palavra Dinâmica Estocástica se refere à evolução temporal de variáveis aleatórias sujeitas a ruído.

4.4 Movimento Browniano e a Equação de Langevin

O movimento aleatório de uma partícula (com diâmetro em torno de $10^{-3}mm$) imersa em fluido com densidade aproximadamente igual a da partícula é chamado movimento Browniano (MCDONNELL et al., 2008). Investigações iniciais deste fenômeno foram feitas pelo biólogo Robert Brown em grãos de pólen e também partículas de poeira ou outros objetos de tamanho coloidal. Quem primeiro forneceu uma explicação para o movimento Browniano foi Albert Einstein na sua tese de Doutorado, em 1905 (EINSTEIN, 1905). Ele obteve uma relação entre a constante de difusão macroscópica D e as propriedades atômicas de matéria. A teoria do movimento Browniano foi estendida a situações em que o objeto em flutuação não é uma partícula real, mas sim alguma propriedade coletiva de um sistema macroscópico, por exemplo, a concentração instantânea de qualquer componente de um sistema quimicamente reativo próximo ao equilíbrio térmico. Aqui a flutuação irregular no tempo dessa concentração corresponde ao movimento irregular da partícula de poeira. Os sistemas estocásticos são encontrados em diferentes áreas da física, desde o nível microscópico, como verificado na difusão de partículas num solvente, até escalas de ordem astronômica, tal como observado em sistemas estelares (CHANDRASEKHAR, 1943). Um exemplo interessante desse último tipo é representado por um buraco negro (BN) no centro de um sistema estelar denso. Teoricamente, quando a massa do buraco negro é muito grande, o BN pode adquirir um movimento que é semelhante ao de uma partícula em suspensão em um líquido ou num gás (CHANDRASEKHAR, 1943). Em cosmologia, movimentos brownianos

são também úteis para estudar os processos galácticos aglomerados de galáxias e vazios.

Um sistema biestável não-linear é um dos modelos típicos de ressonância estocástica. Sua essência é uma partícula Browniana sobrecarregada em um poço potencial biestável, acompanhado de força motriz periódica e ruído (MCDONNELL et al., 2008). O sistema pode ser modelado usando-se a equação de Langevin de movimento na forma:

$$\frac{dx(t)}{dt} = a x(t) - bx^3(t) + A \cos(\omega \cdot t) + \eta(t) \quad (4.9)$$

onde: a e b são parâmetros do sistema, $a > 0$, $b > 0$, $x(t)$ é a saída do sistema (no caso da partícula, é a posição da partícula- lembrando que $x(t)$ pode ser um vetor com grau 3 de liberdade e assim indicar a posição de uma partícula no espaço tridimensional, porém aqui trataremos apenas do caso unidimensional) e $A \cos(\omega \cdot t)$ é o sinal de entrada, onde A e ω são a amplitude e a frequência do sinal de entrada respectivamente. Além disso, há um ruído aditivo com intensidade $\eta(t)$. Para o caso particular e simplificado onde $A = 0$ e $\eta(t) = 0$, o sistema bi-estável não linear assume a forma da equação resumida (4.10):

$$\frac{dx(t)}{dt} = a x(t) - bx^3(t) \quad (4.10)$$

Para este caso mais simples, pode-se obter através de integração a equação da energia potencial $U(x)$ que age sobre a partícula cuja posição é $x(t)$. Esta equação é dada por (4.11), e é a clássica equação do poço de potencial biestável simétrico simples, uma equação biquadrada de quarta ordem na variável x :

$$U(x) = -\frac{a}{2}x^2 + \frac{b}{4}x^4 \quad (4.11)$$

O gráfico da energia potencial da partícula sob movimento Browniano, na ausência de ruído aditivo e na ausência de forças externas é então mostrado na Figura 4.5.

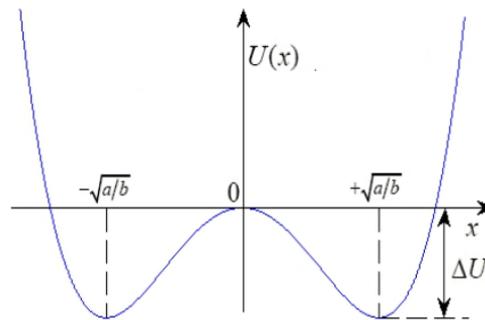


Figura 4.5: Gráfico que ilustra a energia potencial de uma partícula em movimento Browniano, na ausência de ruído aditivo e de forças externas.

Pelo gráfico ilustrado na Figura 4.5, pode-se perceber que existem duas posições $x(t)$ onde a partícula se encontra no nível mínimo de energia potencial: $x(t) = -\sqrt{a/b}$ e $x(t) = +\sqrt{a/b}$. Nestas duas posições, embora exista energia potencial e ambas possuem o mesmo nível de energia, a partícula não pode, teoricamente, permutar sua posição entre elas. A barreira de potencial que separa esses dois pontos é $\Delta U = a^2/4b$. Num líquido onde ocorre movimento Browniano, por exemplo, é o ruído aditivo proveniente da agitação térmica das moléculas do líquido, o responsável por movimentar a partícula entre essas duas posições. Se uma força periódica fraca for aplicada à partícula, a barreira de duplo potencial é assimetricamente movimentada para cima e para baixo, periodicamente aumentando e diminuindo o potencial. Quando ocorre uma sinergia entre o sinal e o ruído, a energia da partícula torna-se maior, acima da barreira de potencial, e então ocorre a ressonância estocástica e a partícula pode se movimentar entre esses pontos de equilíbrio.

Por conta da cooperação entre sinal e ruído, existe a intensidade ideal de ruído que pode maximizar a resposta de saída com a frequência f . Ao aumentar a intensidade do ruído, muitas transições são ativadas pelo ruído durante um ciclo da entrada periódica, e a cooperação entre sinal e ruído é perdida novamente. Esse é o efeito RE: a resposta do sistema é mais regular em um nível de ruído finito e não-invasivo. Não existe aqui nenhuma violação das Leis da Termodinâmica: a energia potencial da partícula antes e depois é absolutamente a mesma. Este modelo ilustra o funcionamento da Ressonância Estocástica para uma única partícula imersa em um líquido (GAO Y., 2010).

4.5 Análise numérica da Equação de Langevin

A equação de Langevin é um tipo especial de equação diferencial, não linear. No Capítulo 5 será utilizado o algoritmo de Runge-Kutta no software MATLAB para fazer simulações numéricas que resolvem graficamente a Equação de Langevin. Aqui será apresentado um resumo sobre o algoritmo Runge-Kutta de quarta ordem (STERZA e BRANDI, 2016) como se segue. Partindo da Eq. de Langevin (4.12):

$$\frac{dx(t)}{dt} = a x(t) - b x^3(t) + u(t) \quad (4.12)$$

$$\text{onde: } u(t) = s(t) + \eta(t) = A \cos(2\pi f_0 \cdot t) + \eta(t) \quad (4.13)$$

$$\text{então } x_{n+1} = x_n + \frac{1}{6} (k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4) \quad (4.14)$$

existem k_1, k_2, k_3, k_4 dados por:

$$k_1 = h(ax_n - bx_n^3 + u_n) \quad (4.15)$$

$$k_2 = h \left[a \left(x_n + \frac{k_1}{2} \right) - b \left(x_n + \frac{k_1}{2} \right)^3 + u_{n+1} \right] \quad (4.16)$$

$$k_3 = h \left[a \left(x_n + \frac{k_2}{2} \right) - b \left(x_n + \frac{k_2}{2} \right)^3 + u_{n+1} \right] \quad (4.17)$$

$$k_4 = h \left[a(x_n + k_3) - b(x_n + k_3)^3 + u_{n+1} \right] \quad (4.18)$$

Nas equações (4.15) a (4.18), x_n e u_n são amostras de $x(t)$ e $u(t)$, h é o comprimento do passo da iteração computacional. Normalmente, os *softwares* de computador fazem $h=1/f_n$. Mostra-se experimentalmente que modificando-se o parâmetro “ a ” pode-se reduzir a altura da barreira de potencial e alcançar mais facilmente a ressonância e uma escolha razoável do parâmetro h pode otimizar os resultados da simulação. Para simplificar o trabalho de simulação computacional,

inicialmente faz-se $a=b=1$. Com a finalidade de alcançar a ressonância estocástica, ajusta-se a amplitude do sinal A e a intensidade do ruído $\eta(t)$ mantendo-se a e b constantes. O fraco sinal periódico de amplitude $A=0,4V$ e frequência $f_o=0,01Hz$ foram os parâmetros simulados. Para a simulação utilizando o MATLAB, a frequência de amostragem adotada foi igual a $f_s=5Hz$ no momento de se processar a transformada rápida de Fourier (FFT). A intensidade do ruído foi variada, de modo a se observar o fenômeno de RE. As simulações encontram-se no Capítulo 5 seguinte.

4.6 Sistema de Ressonância Estocástica Baseado em Limiar (SL)

Na Figura 4.6, adaptada de (BARRETO, 2015), é mostrado o diagrama de blocos de um Sistema de Ressonância Estocástica baseada em limiar (SL). O sinal de entrada a ser medido é representado pela função $s(t)$, e $\eta(t)$ é o ruído adicionado ao sinal de entrada, resultando na variável $x(t)$. A saída do sistema é representada por $y(t)$ que é uma função $T[x(t)]$ onde $T[.]$ é uma transformação não-linear. Uma possível forma para $T[x(t)]$ é dada pela equação (4.19):

$$\begin{aligned} y(t) &\neq 0 \quad \text{se } x(t) \geq T \\ y(t) &= 0 \quad \text{se } x(t) < T \end{aligned} \quad (4.19)$$

onde T é um Limiar determinado experimentalmente em cada caso.

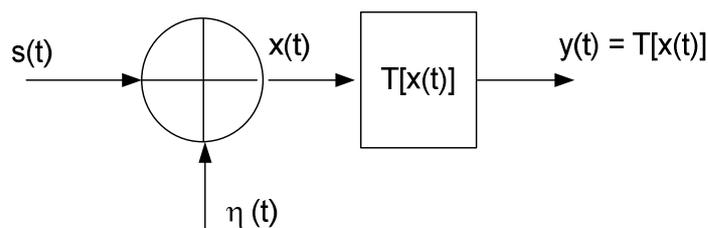


Figura 4.6: Modelo de um sistema RE baseado em Limiar, SL (BARRETO, 2015).

O mecanismo através do qual age o fenômeno RE baseado em Limiar pode ser representado esquematicamente através da Figura 4.7. Nesta Figura 4.7(a), um sinal periódico senoidal no tempo é aplicado à entrada de um sistema SL, mas sua amplitude não ultrapassa o limiar T , resultando numa saída nula. A Figura 4.7(b) ilustra a aplicação de um ruído aditivo que em alguns momentos no tempo atinge o valor limiar; neste caso, a saída do sistema apresenta tensão ou corrente diferentes de zero em alguns momentos. Por fim, a Figura 4.8 mostra o caso em que o sinal periódico mostrado em 4.7(a) é somado ao ruído: a saída apresentará valores diferentes de zero acompanhando a periodicidade do sinal de entrada, que de outro modo permaneceria indetectável (BARRETO, 2015).

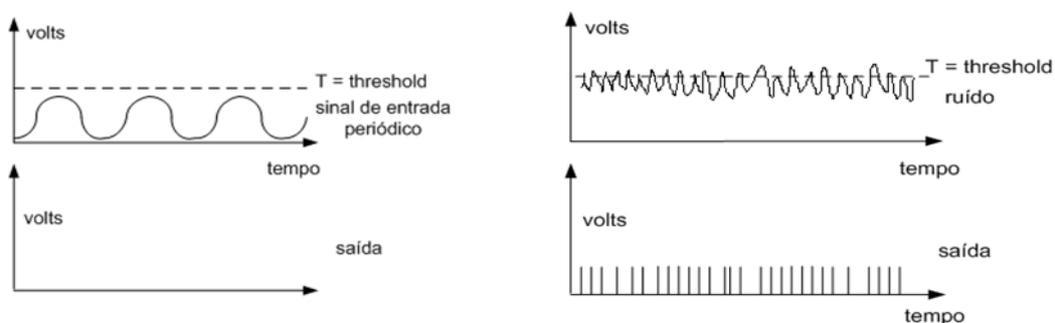


Figura 4.7: (a) Sinal de entrada periódico, com nível de intensidade abaixo do limiar T , resultando em saída zero; (b) Entrada de ruído, resultando em saída proporcional à quantidade de vezes que o ruído atinge o limiar T (MCDONNEL, 2009).

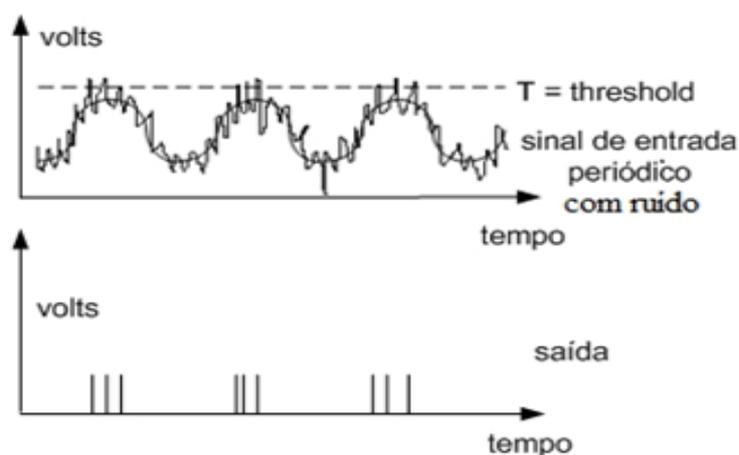


Figura 4.8: Sinal de entrada periódico com ruído, resultando em uma saída discriminando a frequência do sinal de entrada (MCDONNEL, 2009).

O sistema de arranjo de sistemas limiares foi pioneiramente proposto por Stocks em 2000 (STOCKS, 2000). Esse trabalho inicial considerou um sinal de entrada aperiódico, mostrando que com o dispositivo assim construído, obtinha um

desempenho maximizado com a introdução de ruído. A condição para o sistema de arranjos de SL é que o mesmo tenha mais que um dispositivo SL, e o nível de limiar T seja igual para todos eles. O fenômeno RE ocorre independentemente de o nível do sinal de entrada estar inteiramente abaixo do limiar (sub-limiar) ou não, e de fato, o pico do desempenho é máximo quando o nível de limiar é estabelecido e igual à média do sinal. A denominação de ressonância estocástica supra-limiar é também utilizada para distinguir o efeito da ocorrência de ressonância estocástica em sistema SL, em que os sinais acima do limiar não geram o efeito de ressonância estocástica (BARRETO, 2015).

Na Figura 4.8, existem N dispositivos SL idênticos. O sinal de entrada $s(t)$ consiste de uma sequência de amostras não-correlacionadas em tempo discreto obtida de uma distribuição de probabilidade com valores contínuos. Cada dispositivo recebe o mesmo sinal de entrada $s(t)$, e é sujeito a um ruído aditivo independente, $\eta_i(t)$. O ruído é um sinal aleatório, independente do sinal de entrada, $s(t)$. A saída do n -ésimo dispositivo, $y_i(t)$ é unitária se a soma do sinal e ruído é maior que o limiar T , e zero caso contrário. A saída geral, $y(t)$, é a soma das saídas individuais, $y_i(t)$ (MCDONNEL, 2009).

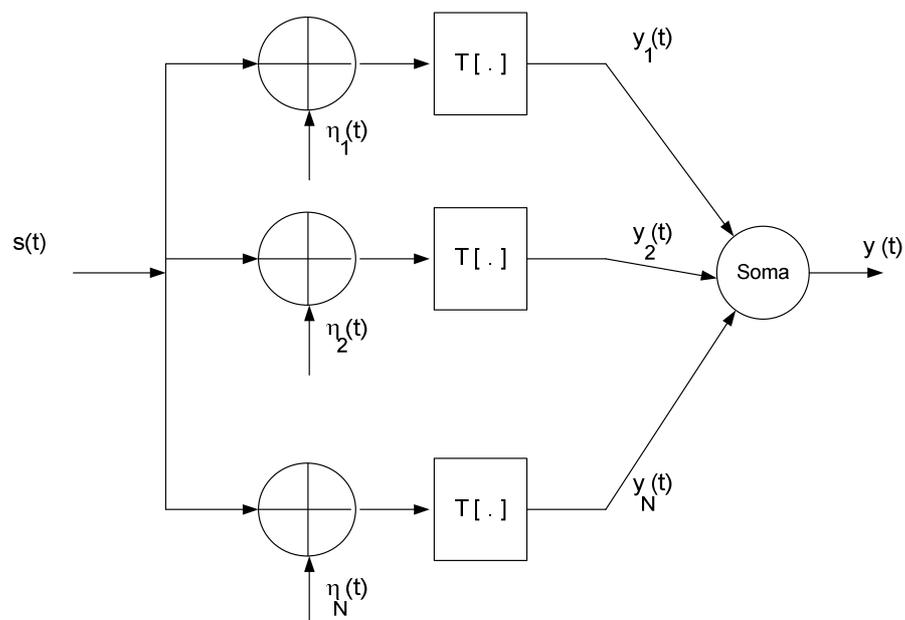


Figura 4.9: Diagrama de um arranjo de SLs em paralelo (MCDONNEL, 2009).

4.7 Dithering

O efeito chamado *dithering* (ou *dither*, em alguns textos) ocorre quando se adiciona deliberadamente um ruído aleatório (ou pseudo-aleatório) sobre um sinal que contém a informação desejada, antes da sua digitalização ou quantização com a finalidade de randomizar o erro de quantização (SCHUCHMAN, 1964). Uma aplicação prática importante deste efeito é em gravação de música por métodos digitais: trata-se de um ruído de banda larga adicionado ao sinal de áudio (por exemplo) perto do bit menos significativo. O bit menos significativo, também conhecido como LSB (*Least Significant Bit*), é a menor amplitude de sinal que pode ser gravada por um sistema digital. Ou seja, o *dither* cria um ruído de fundo no menor nível que pode ser gravado pelo sistema. Pelo fato de o *dither* ser um tipo de ruído, ele essencialmente adiciona alguma aleatoriedade em sinais de áudio digital de níveis baixos, o que por sua vez ajuda a mascarar os erros de quantização digital do sinal de áudio. O resultado é que o sinal baixo é percebido como um ruído de fundo, conhecido como *noise floor*, que é bem mais agradável ao ouvido humano do que as distorções da quantização digital do sinal de áudio sem o *dither* (MCDONNEL, 2008). Devido ao fato de o *dither* permitir que sinais baixos possam ser gravados e ouvidos, ele deve ser usado quando converte-se sinais de uma resolução mais alta para uma mais baixa (por exemplo, de 24 bits para 16 bits). Isso irá permitir uma maior integridade dos sinais baixos no novo arquivo com a resolução mais baixa. Quando o *dither* é aplicado, ele cria o ruído de fundo no nível mais baixo que a nova profundidade de bits suporta. Uma vez que a conversão é completada, o novo arquivo de áudio terá um ruído de fundo ligeiramente aumentado, mas as partes mais baixas da gravação ainda poderão ser ouvidas sem que os erros de quantização sejam perceptíveis. Usa-se o *dither* em passagens com um sinal de muito baixa amplitude. Elas terão uma menor distorção causada pela quantização digital. Esta randomização, embora aumente a potência total do ruído na saída, reduz os efeitos de distorção harmônica indesejáveis introduzidos pela quantização. Dado que o *dithering* é uma maneira de melhorar um sistema usando a presença de ruído, a questão é como distinguí-lo do fenômeno de RE? Isto é, se o sistema que está sendo estudado assemelha-se ao *dithering*, se o comportamento

do sinal melhorado a partir da adição do ruído, o fenômeno em questão deve ser chamado de *dithering* ou de RE ?

Gammaitoni e colaboradores propuseram uma fórmula para calcular o efeito *dithering* (GAMMAITONI, 1998) mostrada na equação (4.20):

$$D = \sqrt{\int (E[y(x)] - x)^2 dx} \quad (4.20)$$

onde x é o sinal de entrada para um sistema com limiar (*threshold system*), $y(\cdot)$ é o sinal de saída e $E[\cdot]$ indica a expectância. Esta equação mostra que D é o valor RMS do erro entre o sinal de entrada e a média do sinal de saída. Após a publicação do artigo que definiu a equação (4.20) alguns autores questionaram o fato de que esta equação atribui um peso uniforme para cada possível valor do sinal de entrada x . Foi proposta então outra definição, levando-se em conta que o sinal de entrada é proveniente de uma distribuição aleatória (ou caótica) com PDF dada por $f(x)$. Esta definição é dada pela equação (4.21), que leva em conta a probabilidade de variação de cada valor de x :

$$D = \sqrt{\int (E[y(x)] - x)^2 f(x) dx} \quad (4.21)$$

A fórmula (4.21) se mostra mais eficiente para sistemas com ruído, devido a natureza aleatória da entrada x (MCDONNEL et al., 2008).

Alguns anos após esta definição ter sido apresentada, Andò e Graziani sugeriram que RE e *dither* são fenômenos distintos porque RE é um fenômeno que é observado no mundo natural e *dither* é uma técnica artificial (ANDÒ E GRAZIANI, 2001). Alguns autores que estudaram RE (GAMMAITONI, 1998) preferem classificar o *dithering* como uma forma diferente de processamento de sinais aprimorado por ruído. No entanto, isso requer uma definição bastante restritiva de RE, onde o sistema deve ser dinâmico, e a presença de ruído permite uma correspondência de duas escalas de tempo. Tal definição foi substituída na literatura atual. A definição contemporânea de RE é tal que o *dithering* pode ser descrito como uma técnica que explora a RE, e os dois termos não são mutuamente exclusivos (MCDONNEL et al., 2008).

4.8 Medidas de performance para RE

A *performance* da Ressonância Estocástica para ampliar o sinal e a informação tem sido medida de diversas maneiras diferentes, conforme descreve a literatura. Como técnicas de medição para a melhoria obtida para o sinal, cita-se:

- a) Medidas da relação sinal-ruído - SNR (BENZI et al. 1982);
- b) Amplificação de potência espectral (MCDONNEL et al., 2008);
- c) Coeficiente de correlação (COLLINS et al., 1995);
- d) Informação mútua (LEVIN e MILLER, 1996);
- e) Entropia de Kullback (NEIMAN et al. 1996);
- f) Capacidade do canal (CHAPEAU-BLONDEAU, 1997; GREENWOOD et al. 1999);
- h) Divergências - ϕ (INCHIOSA et al. 2000);
- i) Distorção quadrada média (MCDONNELL et al. 2008).

A ressonância estocástica foi analisada também em termos de distribuições de tempo (GAMMAITONI et al., 1998), bem como pelo método denominado "*Receiver Operating Characteristic*" (ROC) (ROBINSON et al. 1998, GALDI et al. 1998, ZOZOR e AMBLARD, 2002), que são baseados em probabilidades de detectar um sinal para estar presente, ou falsamente detectando um sinal inexistente (URICK, 1967).

Neste trabalho optou-se por analisar a *performance* do equipamento de ressonância estocástica utilizando-se o método de medição da SNR, em virtude de ser o mais adequado levando-se em conta a instrumentação de que o autor dispõe, e também por ser um método bastante descrito na literatura e que pode fazer uso da Transformada Rápida de Fourier (FFT), ferramenta largamente disponível nos osciloscópios digitais e nos *softwares* matemáticos, tais como MATLAB.

4.9 Relação Sinal/Ruído

A Relação Sinal/Ruído (do inglês, SNR, Signal Noise Ratio) é a relação entre a potência do sinal que transmite a informação e a potência do ruído:

$$SNR = \frac{P_{sinal}}{P_{ruído}} \quad (4.22)$$

Na equação (4.22), P_i representa as potências médias do sinal e do ruído, que precisam ser medidas no mesmo ponto do circuito e sob a mesma largura de banda. Se o sinal e o ruído forem medidos sobre a mesma impedância, então a SNR é dada pela relação entre a amplitude (valor RMS de tensão) de cada uma delas, de acordo com a equação (4.23) (LENG et al., 2007)

$$SNR = \left(\frac{A_{sinal}}{A_{ruído}} \right)^2 = \frac{\frac{1}{n} \sum_{k=1}^n s_k^2}{\frac{1}{n} \sum_{k=1}^n r_k^2} \quad (4.23)$$

onde:

A é o valor quadrático médio (RMS) da amplitude;

s é o vetor que representa o sinal original;

r representa o vetor de ruído;

n o comprimento do vetor do sinal.

A SNR também pode ser medida em decibéis através da relação dada pela equação (4.24):

$$SNR_{dB} = 10 \cdot \log_{10} \left(\frac{P_{sinal}}{P_{ruído}} \right) = 20 \cdot \log_{10} \left(\frac{A_{sinal}}{A_{ruído}} \right) \quad (4.24).$$

Do ponto de vista estatístico, SNR é definida como a relação entre a expectância do sinal e seu desvio padrão como mostra a equação (4.25) :

$$SNR = \frac{\mu}{\sigma} \quad (4.25)$$

onde: μ é a média, ou o valor esperado, esperança do sinal ou expectância;
 σ é o desvio-padrão do sinal em relação ao valor μ .

Observa-se também que, para o caso bidimensional, a Variância (desvio-padrão elevado ao quadrado) é dada pela equação:

$$\sigma^2 = E[(x - y)^2] = \int_{-\infty}^{+\infty} (x - y)^2 f(x) dx \quad (4.26)$$

onde x e y representam variáveis bidimensionais (como os pontos de uma imagem por exemplo), E é a expectância do sinal e $f(x)$ é a função que representa a intensidade do ruído em cada ponto x de uma imagem.

No caso discreto, onde o sinal é representado por uma variável aleatória Z discretizada, o parâmetro μ na equação (4.18) pode ser representado pela média aritmética simples dos valores de Z_i . Mas no caso de um sinal representado por uma variável contínua X , então μ representa a expectância e pode ser calculada através da equação (4.27):

$$\mu = E(x) = \int_{-\infty}^{\infty} xf(x)dx \quad (4.27).$$

4.10 Aplicações práticas da Ressonância Estocástica

Um exemplo muito interessante de aplicação do fenômeno RE em um dispositivo eletrônico foi descrito no artigo de Chiga e colaboradores (CHIGA, 2015). Neste artigo, que descreve um trabalho desenvolvido na Universidade de Nagoya (Japão), os autores construíram um receptor para sinais muito fracos de RF (Rádio-Frequência) baseado em um circuito *Schmitt trigger*, exemplificando o uso de Ressonância Estocástica em sistemas receptores sem fio. O *Schmitt trigger* é um circuito eletrônico capaz de produzir o fenômeno RE e é muito simples de implementar na prática a partir de um comparador de tensão. Na Figura 4.9(a) é

mostrada graficamente a curva de transferência entre a tensão V_i de entrada e a tensão V_o que caracteriza um circuito *Schmitt trigger*. Na Figura 4.9(b) é mostrado o esquema de um amplificador operacional na configuração comparador de tensão. Nesta configuração, a tensão V_i aplicada em sua entrada, a tensão V_o presente na saída e os dois níveis de limiares $+\eta_{SR}$ e $-\eta_{SR}$ expressam a histerese que caracteriza a relação de transferência mostrada no gráfico da Figura 4.9(a). O modelo do sistema de comunicação digital sem fios aplicando o fenômeno RE proposto por (CHIGA et. al., 2015) é representado através do diagrama de blocos da Figura 4.10. Um receptor de RF convencional é utilizado e não precisa ser modificado. Este receptor é representado pelo bloco RX na Figura 4.10.

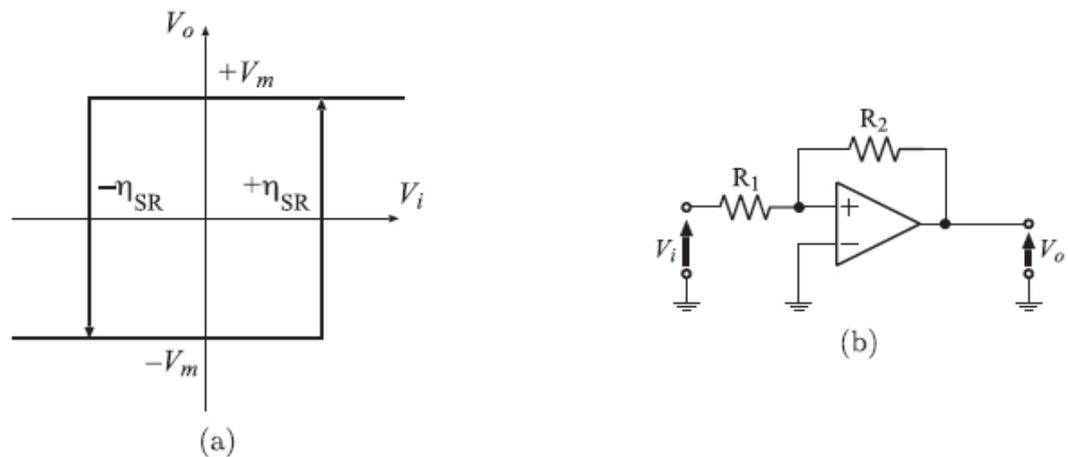


Figura 4.10: (a) Curva de Transferência de um comparador com histerese (*Schmitt trigger*); (b) Diagrama elétrico de um amplificador operacional ligado como comparador, que exibe a curva mostrada em (a). Fonte:(CHIGA et. al., 2015).

O sinal $s(t)$ é transmitido pelo transmissor TX e este sinal se propaga até o receptor pelo canal de comunicação. Através deste canal (que pode ser o ar) o sinal transmitido é atenuado por um fator α e o canal de ruído $\eta_c(t)$ é adicionado para atenuar o sinal. Em geral o canal de ruído $\eta_c(t)$ é do tipo Gaussiano de média zero. Assim, o sinal $r(t)$ é definido pela equação (4.28):

$$r(t) = \alpha s(t) + \eta_c(t) \quad (4.28)$$

Neste receptor proposto por Chiga e colaboradores, o sinal recebido $r(t)$ é a entrada do dispositivo RE. O circuito RE é composto pelo gerador de ruído intencional e pelo circuito *Schmitt trigger* (mostrado na Figura 4.9(b)) e o ruído

$\eta_{RE}(t)$ é somado ao sinal $r(t)$ com a finalidade de otimizar a resposta do *Schmitt trigger*. A amplitude do ruído $\eta_{RE}(t)$ é ajustável. O circuito não-linear formado pelo *Schmitt trigger* detecta o sinal $s(t)$ a partir de $r(t) + \eta_{RE}(t)$ e a saída do sistema “dispositivo RE” $r'(t)$ é a entrada para o receptor convencional RX. O receptor convencional RX demodula e obtém os bits de dados do sinal digital que foi transmitido por TX. Os pesquisadores assumiram que o sinal atenuado $\alpha s(t)$ é inferior à sensibilidade do receptor convencional RX sozinho. Deste modo, se o receptor não contém o bloco de Ressonância Estocástica representado por “dispositivo RE adicionado” na Figura 4.11, então o receptor RX não pode detectar o sinal.

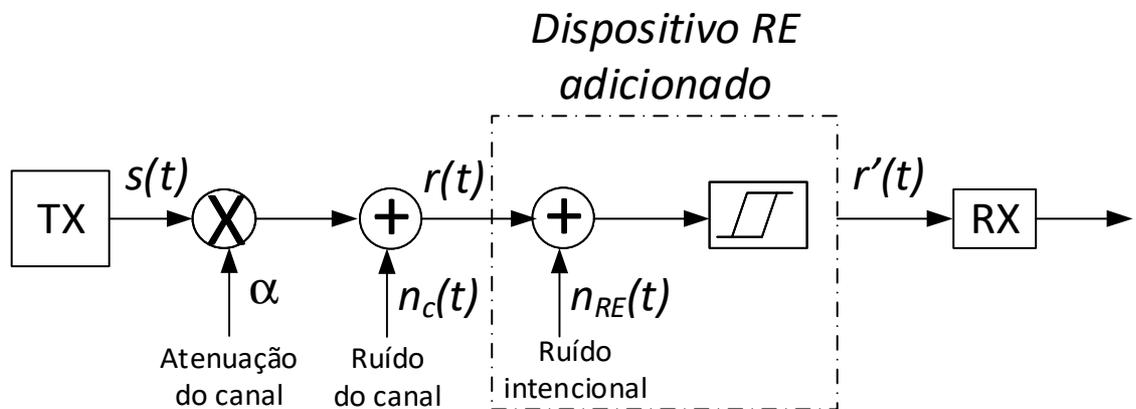
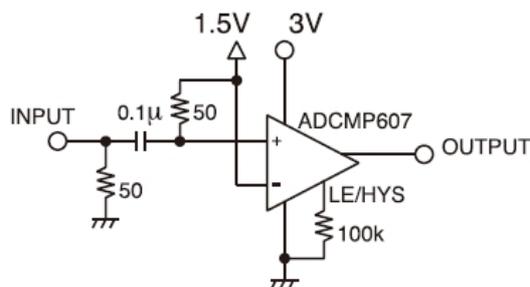


Figura 4.11: Diagrama de blocos mostrando o experimento de Ressonância Estocástica descrito por Chiga: Receptor RX de RF digital sem modificações, usando o dispositivo de Ressonância Estocástica RE. Fonte: adaptado de (CHIGA et. al, 2015).

A Figura 4.12 mostra em (a) o diagrama elétrico do “dispositivo RE” e em (b) o aspecto do protótipo construído pelos autores (CHIGA, 2015).



(a)

(b)

Figura 4.12: (a) Esquema elétrico do comparador com histerese; (b) aspecto do protótipo construído por (CHIGA et. al, 2015).

Os resultados obtidos pelos autores são mostrados através do gráfico ilustrado na Figura 4.13. O eixo das abscissas mostra o nível de ruído aplicado e o eixo das ordenadas mostra a relação Sinal/Ruído para o sinal presente na saída, em decibéis. A curva em verde (“*Convencional*”) mostra os resultados quando se utiliza um *Schmitt trigger* implementado a partir de um circuito integrado do tipo LM7171 *Texas Instruments*, cuja largura de banda é de 140MHz; A curva “*Proposta*” em vermelho mostra os resultados dos experimentos utilizando-se o comparador de alta velocidade modelo ADCMP607 *Analog Devices*, cuja largura de banda é de 750MHz. Pelos resultados mostrados na Figura 4.13 fica evidente que a largura de banda do comparador utilizado é fundamental para se obter bons resultados nos sistemas que funcionam com base no fenômeno RE, pelo menos para a faixa de frequências usada nos testes de Chiga et. al. A escolha correta dos componentes é decisiva na obtenção do fenômeno de Ressonância Estocástica.

Na Figura 4.13, sempre que a relação SNR (eixo das ordenadas) se encontra abaixo de 0 decibéis não existe nenhum ganho no sinal devido à RE. Acima de 0 decibéis o ganho é mensurável. A melhor relação SNR obtida foi igual a 25 decibéis, o que equivale a amplificar o sinal cerca de 316 vezes, que mostra o elevado ganho que se pode obter usando RE. Note-se que o receptor original não podia detectar este sinal antes que o dispositivo RE fosse adicionado ao sistema.

Outra área onde as aplicações práticas do fenômeno RE são importantes é na detecção de sinais ópticos de nível muito baixo. Por exemplo, na espectroscopia convencional uma fonte de luz que contém diversos comprimentos de onda atravessa um prisma, onde seu espectro eletromagnético é decomposto. A seguir, feixes de diversos comprimentos de onda atravessam uma cubeta que pode conter uma amostra de um líquido ou gás que se deseja analisar. Este esquema é mostrado na Figura 4.14. A amostra na cubeta pode conter uma mistura de moléculas em solução, mas cada molécula apresenta um padrão de absorção diferente para cada comprimento de onda da luz aplicada. Um sensor eletrônico (chamado na Figura 4.14 de “Detector”) que pode ser um tipo especial de CCD, captura a imagem resultante e deve ser capaz de medir as intensidades de cada comprimento de onda incidente. De acordo com as taxas de absorção para cada comprimento de onda, o Detector, que é ligado a um computador que executa um

software especial, é capaz de detectar e identificar quais são as moléculas presentes na solução em análise que se encontra na cubeta.

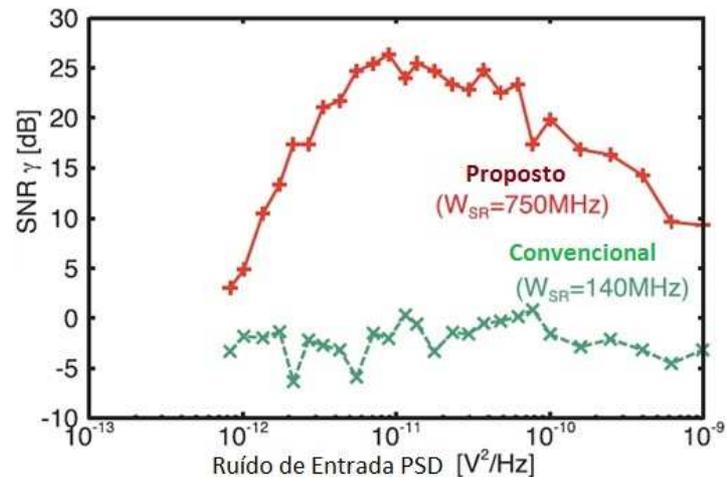


Figura 4.13: Medições utilizando-se o circuito mostrado na Figura 4.11. Dois CIs *Schmitt trigger* foram testados. A Curva "Proposed" foi obtida com o uso do ADCMP607 e a curva "Conventional" foi obtida com o LM7171. Fonte: (CHIGA et. al, 2015).

Por exemplo: é possível medir a glicemia (taxa de açúcar no sangue) conhecendo-se previamente o padrão de absorção luminosa da molécula de glicose. O mesmo ocorre para outras moléculas que tem importância clínica, como por exemplo, colesterol, triglicerídeos, ácido úrico e outras proteínas. A Espectroscopia (em todas as suas variantes) é uma técnica muito importante para os laboratórios químicos. Ocorre que muitas vezes os sinais luminosos recebidos pelo Detector podem ser muito fracos. O uso de um disco difusor de luz rotativo (*Rotary diffuser*) como o mostrado na Figura 4.14 e mais uma fonte de luz interferente pode melhorar bastante o desempenho dos equipamentos de espectroscopia, conforme proposto por Qbing et al. (QIBING, 2015). Na mesma linha, outro trabalho bastante original e criativo aplicando RE foi publicado por Huiyu e colaboradores (HUIYU et al., 2001). Neste trabalho, os autores propõem o uso de RE na construção de um Espectroscópio Fotoacústico. O dispositivo é descrito como se segue. Um tubo contém alguma amostra desconhecida de algum gás que se deseja identificar. Um feixe de luz do tipo Laser excita a amostra, fazendo com que os átomos do gás emitam luz e calor em uma taxa que depende do tipo do gás que se encontra confinado. Um microfone capta as variações de pressão sofridas pelo gás ao ser

excitado pelo Laser. Os sinais produzidos pelo microfone são amplificados através de amplificadores eletrônicos convencionais (PERRIN, 2012).

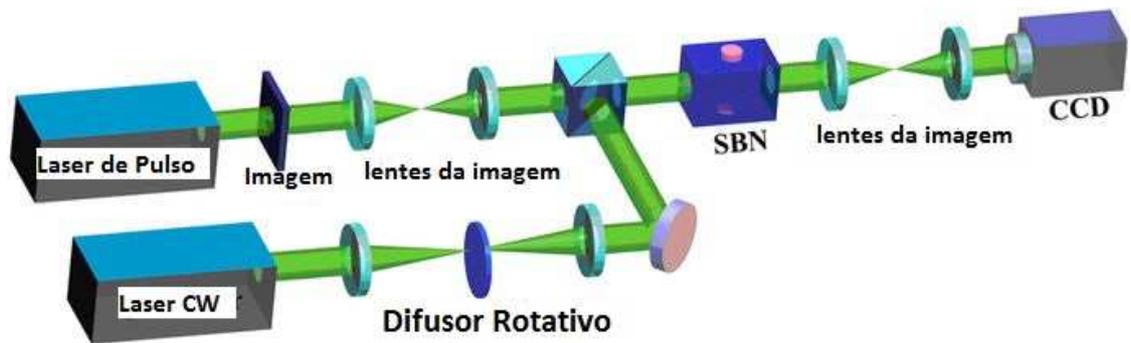


Figura 4.14: Proposta de um Espectrômetro melhorado, muito mais sensível. O efeito RE é introduzido a partir de uma segunda fonte luminosa (*CW Laser*) que apresenta ruído acrescentado por um disco rotativo difusor (*Rotary diffuser*). Fonte: Adaptado de (UFJF, 2016).

O espectro de frequências sonoras emitido pelos átomos do gás excitado e captado pelo microfone permite identificá-lo. Um esquema de Espectroscópio Fotoacústico convencional é mostrado na Figura 4.15 (HUIYU et. al., 2001). Entretanto, muitas vezes os sinais produzidos são muito fracos. Para melhorar estes sinais, uma perturbação (ruído) é acrescentada ao feixe de Laser que excita a amostra, através de um disco rotativo que produz perturbações no feixe de Laser incidente. O Laser mais o ruído produzem, através do fenômeno de ressonância estocástica, um sinal mais forte que é captado pelo microfone, facilitando a identificação da amostra. Esta ideia é ilustrada na Figura 4.16.

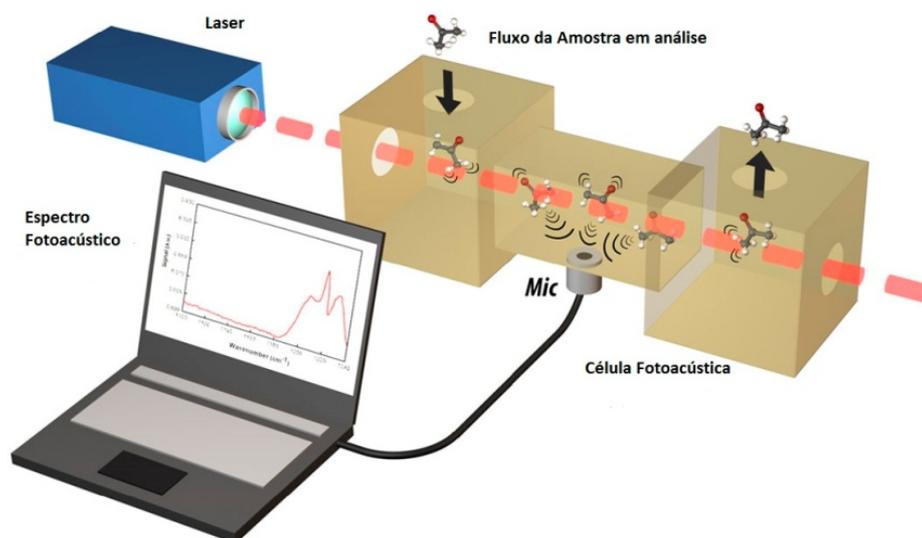


Figura 4.15: Esquema de um espectroscópio fotoacústico convencional. Adaptado de (HUIYU et. al., 2001).

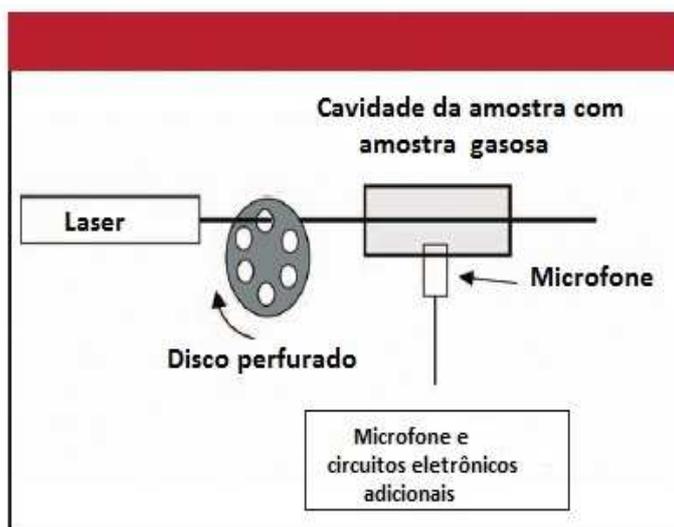


Figura 4.16: Esquema de um Espectroscópio fotoacústico melhorado através da implementação de RE, conforme proposto por Huiyu. O disco rotativo “Chopper” acrescenta ruído no feixe de luz incidente, melhorando a relação SNR através do fenômeno RE. Adaptado de (HUIYU et. al., 2001).

4.11 Aplicações de RE em Biomedicina

Um outro exemplo de aplicação de RE é na ventilação mecânica de suporte à respiração: introduzindo-se ruído aleatório no controle de velocidade do ventilador artificial, foi verificado melhoria no desempenho de respiração no paciente (LEFEVRE, 1996). Um tutorial sobre os efeitos de Ressonância Estocástica verificados em processamento de informação de sistemas sensoriais pode ser encontrado no artigo de Frank Moss e colaboradores (MOSS, 2003). Ainda outro exemplo importante de aplicação prática de ressonância estocástica em equipamentos biomédicos foi proposta por Morse e Evans, em implante coclear para restaurar a audição de indivíduos com surdez profunda. Nesse caso, uma estimulação eletrônica direta do nervo auditivo usando um implante cirúrgico de arranjo de eletrodos produz um ruído no nível subliminar (MORSE, 1996), amplificando os sinais e melhorando a audição do paciente.

4.12 Considerações Finais

Neste Capítulo 4 foi apresentado o conceito de Ressonância Estocástica, a ser explorado do ponto de vista experimental nesta tese de Doutorado. Diversas aplicações do fenômeno RE foram também descritas. O próximo Capítulo, de número 5, apresenta os resultados de diversas simulações, tanto matemáticas (através do software MATLAB) quanto de circuitos eletrônicos, onde se utilizou o simulador MULTSIM fornecido por National Instruments.

Capítulo 5

CAPÍTULO 5 - SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS

Neste Capítulo são relatadas algumas simulações computacionais visando obter o efeito de amplificação através do fenômeno de ressonância estocástica (RE). Parte deste Capítulo se refere às simulações das equações matemáticas envolvidas no efeito RE e outra parte se refere às simulações dos circuitos eletrônicos que serão implementados na prática, visando construir o equipamento denominado REAC (Ressonador Estocástico Assistido por Computador), em particular dos circuitos que introduzem a não-linearidade necessária para RE (juntamente com o ruído Gaussiano), ou seja, dos circuitos Schmitt trigger e amplificadores não-lineares baseados em Amplificadores Operacionais.

5.1 Simulações matemáticas

Algumas simulações matemáticas foram feitas com o objetivo de se verificar o fenômeno RE através das equações que o representam, em particular a equação de Langevin, mostrada no Capítulo 4.

5.1.1 Geração do ruído branco aditivo

Seja $\eta(t)$ o ruído branco gerado pelo MATLAB através do comando (5.1):

$$\text{senal_com_ruído} = \text{awgn}(\text{senal}, \text{snr}); \quad (5.1)$$

onde: *senal* é o sinal puro sem ruído (neste caso, são senóides);

snr é a razão por amostra de sinal/ ruído em decibéis.

O resultado desta operação é uma vetor “senal_com_ruído” que aparenta o sinal trigonométrico original, com a adição do ruído branco.

O software MATLAB também pode gerar apenas o ruído branco, através do seguinte comando (5.2):

$$\text{ruído} = \text{awgn}(m, n, \text{energia}, \text{imp}); \quad (5.2)$$

onde: m é o número de elementos da matriz-coluna de ruído branco;

n é o número de canais do ruído produzido;

energia especifica a potência do ruído, em dBW

imp especifica a impedância (em Ω) do canal onde o ruído é aplicado.

Isso é interessante para simulação de circuitos eletrônicos.

Para a primeira simulação, foram produzidos sinais senoidais de amplitude variando entre 0,1V até 0,4V e frequência constante e igual 0,01Hz. Ao lado de cada sinal de diferentes amplitudes, foi plotado o gráfico do espectro de amplitude de cada sinal na frequência dada. Para este segundo gráfico, foi usado o recurso de FFT (*Fast Fourier Transform*) com frequência de amostragem igual a 5Hz. O resultado destas simulações é mostrado na Figura 5.1.

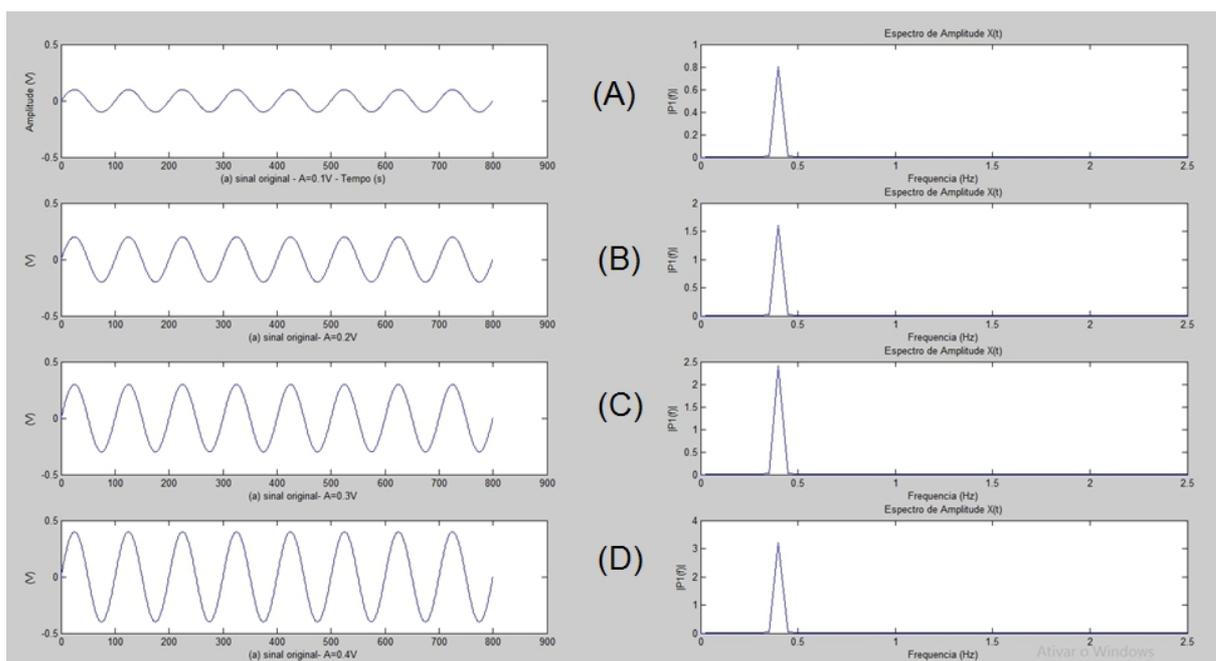


Figura 5.1: Resultado das simulações para produção de sinais senoidais de amplitude (a) A=0,1V, (b) A=0,2V, (c) A=0,3V e (d) A=0,4V feitas com o software MATLAB. Na coluna da direita pode-se observar o espectro de amplitude para cada sinal, obtido a partir da Transformada Rápida de Fourier.

Para produzir os gráficos mostrados na Figura 5.1, o seguinte código MATLAB mostrado na Figura 5.2 foi usado e repetido 4 vezes, uma vez para cada sinal.

```

freq=0.01;      % define a frequencia do sinal em Hz
n = [0: 800 ];
a = 0.1* sin( 2*pi*freq*n);
b= 0.2* sin( 2*pi*freq*n);
c= 0.3* sin( 2*pi*freq*n);
d= 0.4* sin( 2*pi*freq*n );
subplot(4, 2, 1);
plot(n, a);
axis([0 900 -0.5 0.5]);
xlabel('(a) sinal original - A=0.1V - Tempo (s)');
ylabel ('Amplitude (V)');

Fs = 5;          % Frequencia de amostragem
T = 1/Fs;       % periodo
L = 100;        % comprimento do sinal
t = (0:L-1)*T;  % vetor de tempo
%Calcula a transformada de Fourier de cada sinal, para mostrar
o espectro do sinal, grafico (d)
Y = fft(a);
P2 = abs(Y/L);
P1 = P2(1:L/2+1);
P1(2:end-1) = 2*P1(2:end-1);
f = Fs*(0:(L/2))/L;
subplot (4,2,2);
plot(f,P1) ;
title('Espectro de Amplitude X(t)')
xlabel('Frequencia (Hz)')
ylabel('|P1(f)|')

```

Figura 5.2: Código MATLAB utilizado para simular os sinais puros e os gráficos de FFT.

A seguir, os mesmos sinais simulados e mostrados na Figura 5.1 foram adicionados ao ruído Gaussiano aditivo com relações sinais/ruído (SNR) respectivamente iguais a 30, 25, 20 e 15. Na Figura 5.3 pode-se observar que os mesmos sinais gerados e simulados na Figura 5.1 aparecem corrompidos pelo ruído Gaussiano. Nos exemplos simulados na Figura 5.3, o sinal ainda é distinguível do ruído, pois os valores de SNR ainda são relativamente elevados. Entretanto, pode-

se, para efeito de simulação, diminuir ainda mais a relação sinal/ruído, provocando forte corrompimento do sinal senoidal original. Uma outra maneira de adicionar ruído ao sinal, utilizando-se o software MATLAB, é usar a função `rand()` do MATLAB. A Figura 5.4 mostra o código-fonte da simulação usando-se a função `rand()` para produzir ruído aleatório e adicionar ao sinal. É importante notar que existe uma diferença entre a função `awgn()` (*add_white_gaussian_noise*) e a função `rand()`. A primeira produz realmente o ruído branco gaussiano enquanto que a segunda produz ruído aleatório com distribuição uniforme, mas não necessariamente gaussiano.

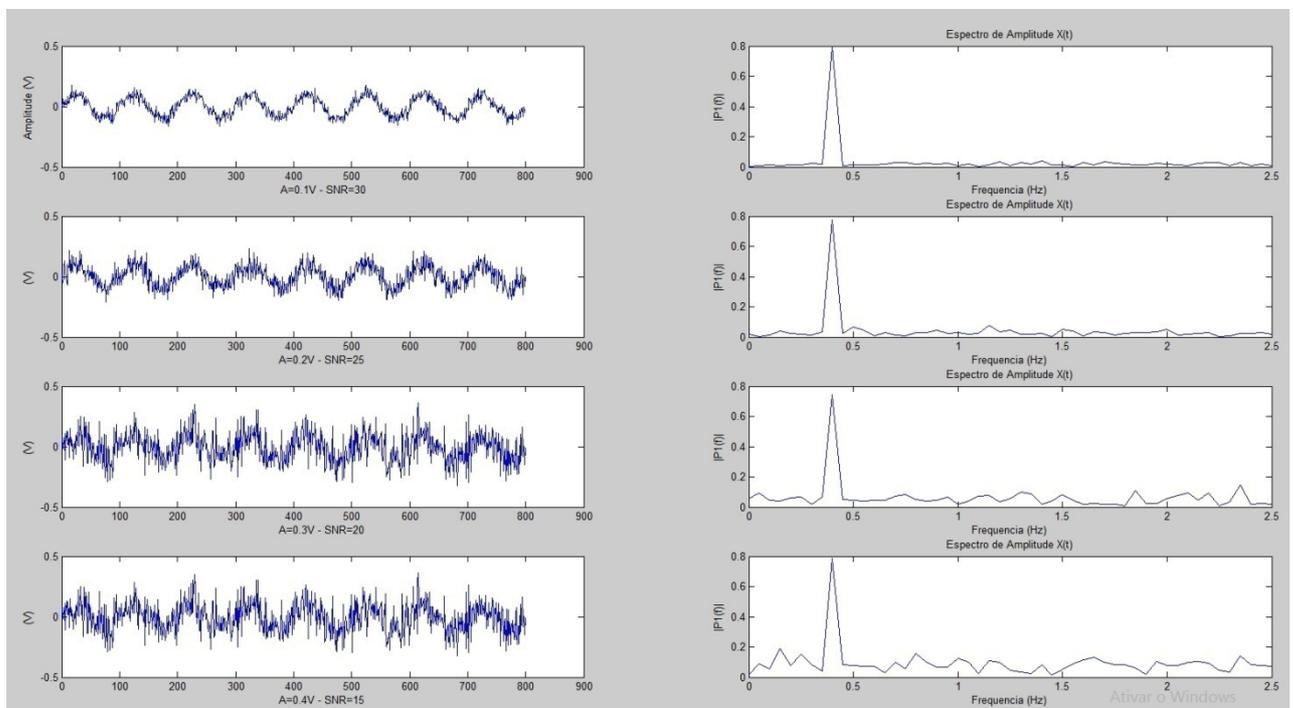


Figura 5.3: Os mesmos sinais senoidais puros mostrados na Figura 5.1, agora aparecem corrompidos pela adição do ruído aleatório. À direita, o resultado da aplicação da FFT unilateral a cada sinal. Pode-se observar pelo gráfico no domínio da frequência a presença do ruído. Nestes casos, o sinal ainda é identificável, porque o nível de ruído não é muito elevado.

```
freq=0.01; % define a frequencia do sinal em Hz  
  
n = [0: 800 ];  
  
a= 0.4* sin( 2*pi*freq*n ); % sinal senoidal com amplitude igual a 0,4V  
  
b = 2*(-1.5 + 2.4 * rand(size(a))); % ruído com amplitude igual a 2V  
  
c = a + b; % sinal + ruído
```

Figura 5.4: Código-fonte utilizando MATLAB para simular sinal+ruído gerado através da função `rand()`.

O código mostrado na Figura 5.4 produz como resultado um sinal fortemente corrompido pelo ruído. A Figura 5.5 mostra o resultado da simulação do código mostrado na Figura 5.4, onde pode-se observar em (A) o sinal senoidal puro de amplitude igual a 0,4V e frequência 0,01Hz; em (B) o ruído que foi gerado através do uso da função `rand()` com amplitude igual a 2,0V; em (C) o resultado da adição sinal+ruído e finalmente, em (D), é mostrado o gráfico do espectro de amplitude no domínio da frequência, através da aplicação do recurso de FFT ao sinal+ruído do item (C).

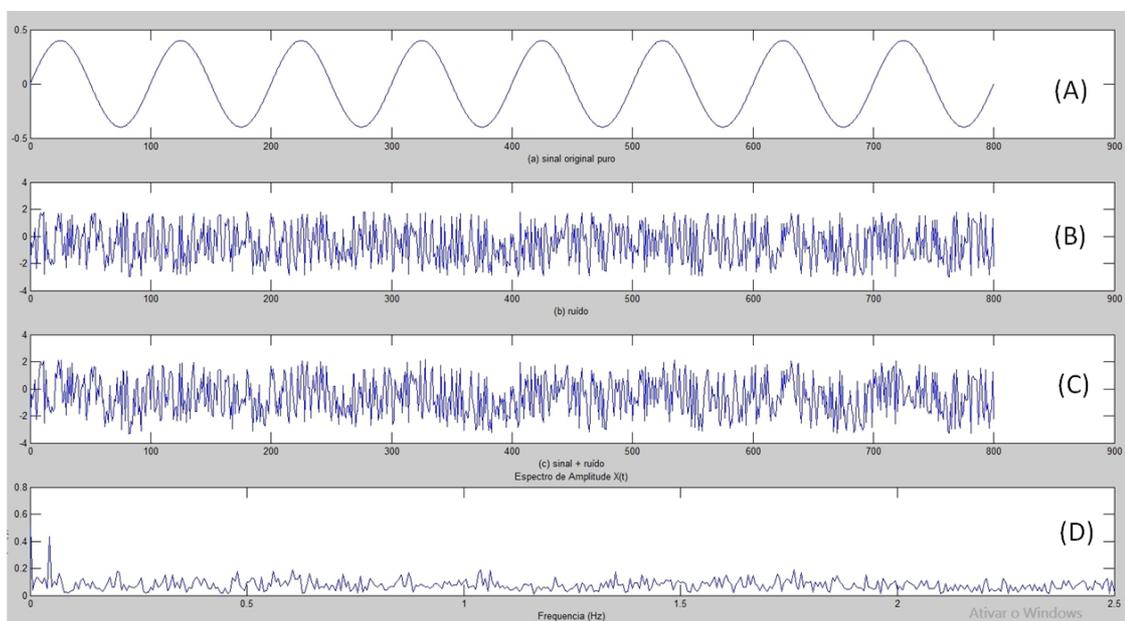


Figura 5.5: Gráficos mostrando em (a) o sinal senoidal de amplitude 0,4V; (b) ruído produzido através da função `rand()` com amplitude igual a 2,0V; (c) resultado da adição sinal+ruído e (d) gráfico do espectro de amplitude no domínio da frequência.

A desvantagem do uso da função **rand()** para se gerar o ruído é que não é possível determinar previamente qual será o valor de SNR do sinal resultante. O SNR precisa ser calculado *a posteriori*. A vantagem é que utilizando-se a função **rand()** ao invés da função **awgn()** pode-se variar o nível de ruído de modo a procurar o nível que possibilita o maior valor para SNR, o que caracteriza o fenômeno de RE pesquisado, embora **rand()** não produza ruído branco gaussiano, conforme já foi mencionado. Para a simulação mostrada na Figura 5.5, foi calculado o valor de SNR(dB) para diversos níveis de ruído, mostrados na Tabela 5.1. Com a finalidade de obter o valor da SNR em decibéis para construir a Tabela 5.1, foi utilizado o comando (5.3) do software MATLAB:

$$r = \text{snr}(x, y) \quad (5.3)$$

onde: **r** retorna a relação sinal-ruído (SNR) em decibéis de um sinal, **x**, calculando a razão entre a soma de sua magnitude quadrada e a do ruído, **y**.

Tabela 5.1: Valores de SNR variando o nível do ruído para a simulação da Figura 5.5.

Nível ruído σ	SNR (dB)
0,25	6
0,5	18
0,75	22,5
1	21
1,5	19
2	16
3	12,7
4	10

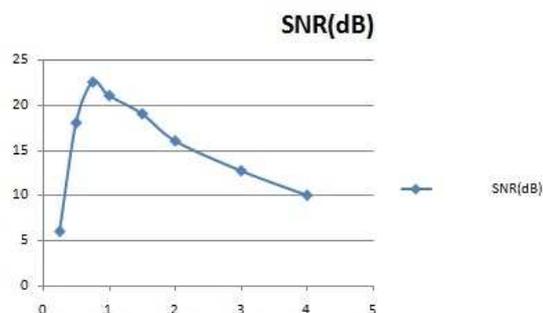


Figura 5.6: Gráfico mostrando o ponto de RE: o eixo horizontal representa valores do desvio padrão do ruído (amplitude do ruído) e o eixo vertical mostra os valores de SNR(db) calculados através do MATLAB para a simulação mostrada na Figura 5.5.

Observando-se o gráfico mostrado na Figura 5.6 e a Tabela 5.1, verifica-se que o valor do ruído que maximiza a SNR é de 0,75 volts. O gráfico mostrado na Figura 5.6 mostra o ponto onde ocorre RE, de acordo com a literatura sobre RE pesquisada.

5.1.2 Equação de Langevin

Para resolver a equação de Langevin e simular matematicamente o fenômeno de RE, foi utilizado o algoritmo de Runge-Kutta, conforme descrito no Capítulo 4. Um código foi escrito no MATLAB para obter a solução da equação diferencial de Langevin, (5.4):

$$x' = \alpha x - bx^3 + Fe(t) + \eta(t) \quad (5.4)$$

onde $\eta(t)$ é o ruído branco que foi acrescentado utilizando-se a função **awgn()** do MATLAB. A equação de Langevin é mostrada novamente em (5.4) e representa a coordenada de posição $x(t)$ de uma partícula que executa movimento Browniano em função do tempo t . Vamos considerar que tal partícula se encontra em um poço de potencial na presença de ruído aditivo, com dois mínimos, em presença de uma fraca força que varia com o tempo de modo a obedecer a função cosseno, com frequência angular $\omega = 2\pi f$. A expressão para a força $Fe(t)$ é, por hipótese, dada pela equação (5.5):

$$Fe(t) = A \cos(2\pi ft) \quad (5.5)$$

A energia potencial da partícula em cada posição de abscissa x é descrita pelo poço duplo de potencial, cuja equação é dada pela expressão (5.6):

$$U(x) = ax^4 - b \quad (5.6)$$

O gráfico da energia potencial em função da posição é mostrado na Figura 5.7, para $a=1$ e $b=3$.

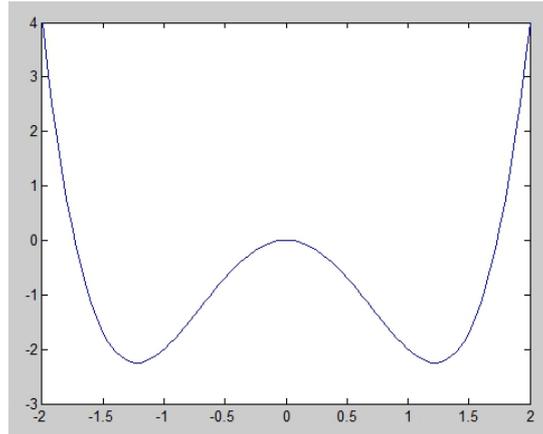


Figura 5.7: Poço de duplo potencial, ilustrando a energia potencial de uma partícula que executa movimento Browniano em processos estocásticos.

Força é a derivada primeira de um potencial em relação à posição x com sinal negativo (NUSSENSVEIG, 2013); A força devida ao potencial $U(x)$ (que é também a força resultante sobre a partícula, por hipótese) é dada pela equação (5.7)

$$F = - \frac{dU}{dx} = (-4ax^3 + 2bx) + Fe(t) = m \frac{d^2x}{dt^2} \quad (5.7)$$

A última igualdade na equação (5.7) é garantida pela segunda lei de Newton do movimento. O modelo parte da suposição de que a força derivada do potencial é a resultante sobre a partícula, portanto tal hipótese está de acordo com este modelo. Considerando ainda uma força dissipativa $-c \frac{dx}{dt}$ e uma força de ruído $\eta(t) + Fe(t)$ (neste modelo, o ruído e o sinal estão acoplados sob o mesmo termo na equação), a equação de movimento fica como a (5.8):

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = -c \frac{dx}{dt} - 4ax^3 + 2bx + \eta(t) + Fe(t) \quad (5.8)$$

No limite, em que o termo de inércia é desprezível, isto é, o valor da massa m é pequeno em relação a outras grandezas envolvidas ($m \cong 0$) e escolhendo $c=1$, $4a=1$ e $2b=\alpha$, obtemos a equação (5.4), que é a equação de Langevin. Esta equação pode ser resolvida numericamente usando-se o MATLAB. O código foi baseado no algoritmo de Runge-Kutta e é mostrado parcialmente na Figura 5.8. A solução da equação de Langevin depende dos valores escolhidos para as constantes a , b e também da forma e da amplitude de $Fe(t)$ e da amplitude do ruído. Como a solução

realizada pelo MATLAB é numérica, é necessário discretizar a equação de Langevin para valores discretos do tempo Δt .

No caso discreto, a equação (5.4) se torna a equação (5.9):

$$\Delta X = (\alpha X - X^3)\Delta t + \beta \Delta \eta(t) \quad (5.9)$$

onde β representa a amplitude do ruído somado com a amplitude momentânea da força excitatória $Fe(t)$ e Δt representa intervalos de tempo discretizados necessários para simulação numérica por computador.

```

% Resolve a Equação de Langevin através do metodo de Runge-Kutta
function a = runge_kutta(df)
% pede as condições iniciais

x0 = input('Digite o valor inicial de x : ');
y0 = input ('Digite o valor inicial de y : ');
x1 = input( 'Digite o valor de x para o qual y sera calculado : ');
tol = input( 'Digite o nivel de precisao desejado para o resultado final : ');

%Escolhe a ordem do metodo Runge-Kutta a ser utilizado

r = menu ( ' Qual ordem de Runge Kutta voce quer usar?', ...
' 2 ordem ', ' 3 ordem ', ' 4 ordem ');

switch r
case 1
% Calcula os valores do parametro h
n =ceil( (x1-x0)/sqrt(tol));
h = ( x1 - x0)/n;
for i = 1 : n
X(1,1) = x0; Y (1,1) = y0;
k1 = h*feval( df , X(1,i), Y(1,i));
k2 = h*feval( df , X(1,i) + h , Y(1,i) + k1);
k = 1/2* ( k1+ k2);
X( 1, i+1) = X(1,i) + h;
Y( 1 ,i+1) = Y(1,i) + k;
end

```

Figura 5.8: Trecho do código MATALAB usado para resolver a equação de Langevin, baseado no método de Runge-Kutta.

Um exemplo de solução para a equação (5.9) utilizando o código mostrado parcialmente na Figura 5.8 é ilustrado na Figura 5.9. Nesta Figura os parâmetros usados foram: $t_{m\acute{a}x}=100$, $\Delta t=0.01$, $x_0=0$, $\alpha=2$ e $\beta=1$.

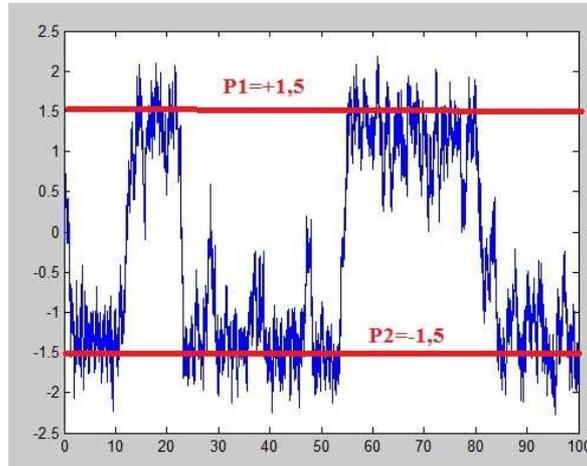


Figura 5.9: Solução da equação (5.8) de trajetória para uma partícula em movimento Browniano realizando ressonância estocástica com o ruído aditivo. Nesta simulação os valores dos parâmetros escolhidos foram: $\alpha=2$, $\beta=1$, $t_{m\acute{a}x}=100$, $\Delta t=0.01$ e $x_0=0$.

Observa-se que na Figura 5.9 os pontos de energia mínima correspondem às abscissas $P1=-1,5$ e $P2=+1,5$. A partícula fica oscilando entre estes dois pontos de equilíbrio e a energia para a oscilação provém da soma da força excitatória $Fe(t)$ e do ruído é responsável pelo processo de ressonância estocástica.

A Figura 5.10 mostra o Espectro de Amplitude obtido a partir da Transformada de Fourier para o mesmo gráfico obtido na Figura 5.9. Pode-se observar um pico na frequência de oscilação da força excitatória $Fe(t)$, ou seja 0.1Hz.

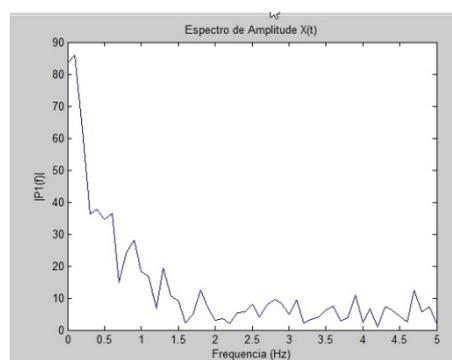


Figura 5.10: Espectro de amplitude para o gráfico mostrado na Figura 5.9, mostrando o valor da frequência de excitação, $f=0.1\text{Hz}$, que corresponde ao sinal fraco que se deseja detectar.

Na Figura 5.11 foram plotados vários gráficos das soluções para diferentes valores de α e β de maneira que, para alguns valores, a partícula oscila durante algum tempo em torno de um dos mínimos valores da energia potencial $U(x)$ e eventualmente transita para o outro mínimo. Para outros valores dos parâmetros, a partícula não transita entre os mínimos. A ressonância estocástica ocorre quando o período da transição entre os mínimos se iguala ao período da Força $Fe(t)$ excitatória e por esta razão, permite detectar mais facilmente esta força. Para as simulações a seguir foram escolhidos $\Delta t = 0.01$, $t_{m\acute{a}x} = 100$ e a posição inicial da partícula é $x(0) = 1$ em todos os casos.

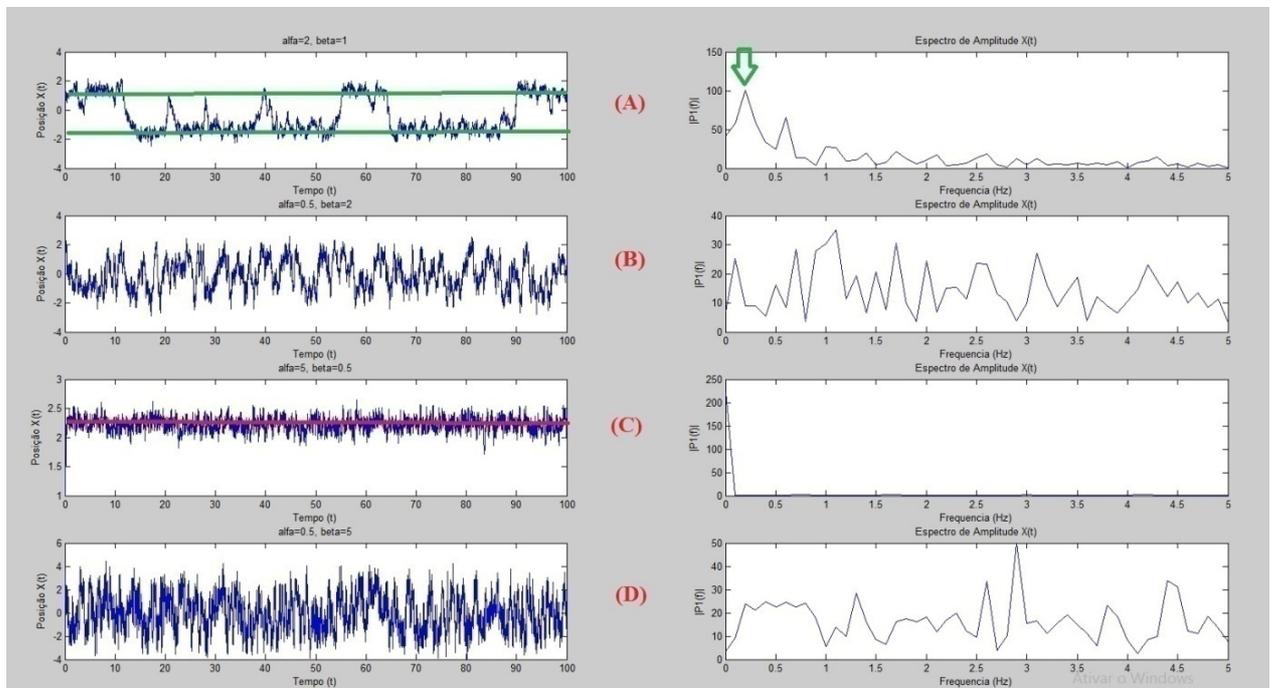


Figura 5.11: Resultado da solução da equação (5.9) de Langevin discreta para diferentes valores dos parâmetros α e β . (a) $\alpha = 2$ e $\beta = 1$; (b) $\alpha = 0.5$ e $\beta = 2$; (c) $\alpha = 5$ e $\beta = 0.5$; (d) $\alpha = 0.5$ e $\beta = 5$; À direita são mostrados os espectros de frequência de cada sinal usando-se FFT.

Da análise da Figura 5.11 pode-se notar que em (A), para $\alpha = 2$ e $\beta = 1$, a partícula oscila entre dois pontos de equilíbrio, que correspondem aos pontos de mínima energia do poço de duplo potencial. Estes pontos estão marcados pelos segmentos na cor verde; neste caso, pode-se visualizar também, à direita, a frequência da força excitatória (que corresponde ao sinal fraco que se deseja detectar através do fenômeno de RE) através de um pico no gráfico do espectro de potência. Na Figura 5.11(B) para $\alpha = 0.5$ e $\beta = 2$ não é possível identificar dois

pontos em torno dos quais a partícula oscila e isso pode ser confirmado pela ausência de picos significativos do gráfico à direita, que mostra o domínio da frequência; Em (C) a partícula parece oscilar em torno de um único ponto de abscissa $x = 2,25$ com a frequência de 0.1Hz que é a frequência da força excitatória (o que pode ser confirmado pelo gráfico à direita); finalmente, em (D) para $\alpha = 0.5$ e $\beta = 5$ a partícula não parece oscilar entre dois pontos distintos, o que pode ser notado pela ausência de picos muito maiores no gráfico à direita. O gráfico à direita em (D) parece mostrar uma distribuição muito mais uniforme da amplitude do ruído, evidenciando diversas frequências, o que caracteriza o predomínio do ruído branco. Comportamento similar ocorre com o gráfico à direita na Figura 5.11 (B).

Dentre os gráficos mostrados na Figura 5.11 somente o gráfico em (A) evidencia a presença da ressonância estocástica como fator de detecção de um sinal modulador mais fraco, que neste caso é a força excitatória $Fe(t)$ cuja frequência é de 0.1Hz. Tal sinal fraco pode ser detectado no domínio da frequência (gráfico 5.11(A) do lado direito da Figura), cujo ponto foi marcado por uma seta em verde.

5.2 Simulação de Circuitos não-lineares

Para implementar o circuito não-linear biestável necessário para obter o fenômeno de RE ao misturar um sinal muito fraco com o ruído, três circuitos foram simulados e analisados do ponto de vista da introdução de não-linearidade no sinal aplicado em sua entrada. O primeiro circuito é um Schmitt trigger clássico descrito na literatura, baseado em um único amplificador operacional. O segundo circuito é um amplificador não-linear com curva de formato “N” e o terceiro circuito é um amplificador não-linear com curva de formato “S”. Os circuitos mostrados em (b) e (c) são descritos por Harmer e colaboradores (HARMER et al., 2002) e Adeel (ADEEL et al., 2009). Na Figura 5.12 são mostradas as configurações básicas dos três circuitos simulados.

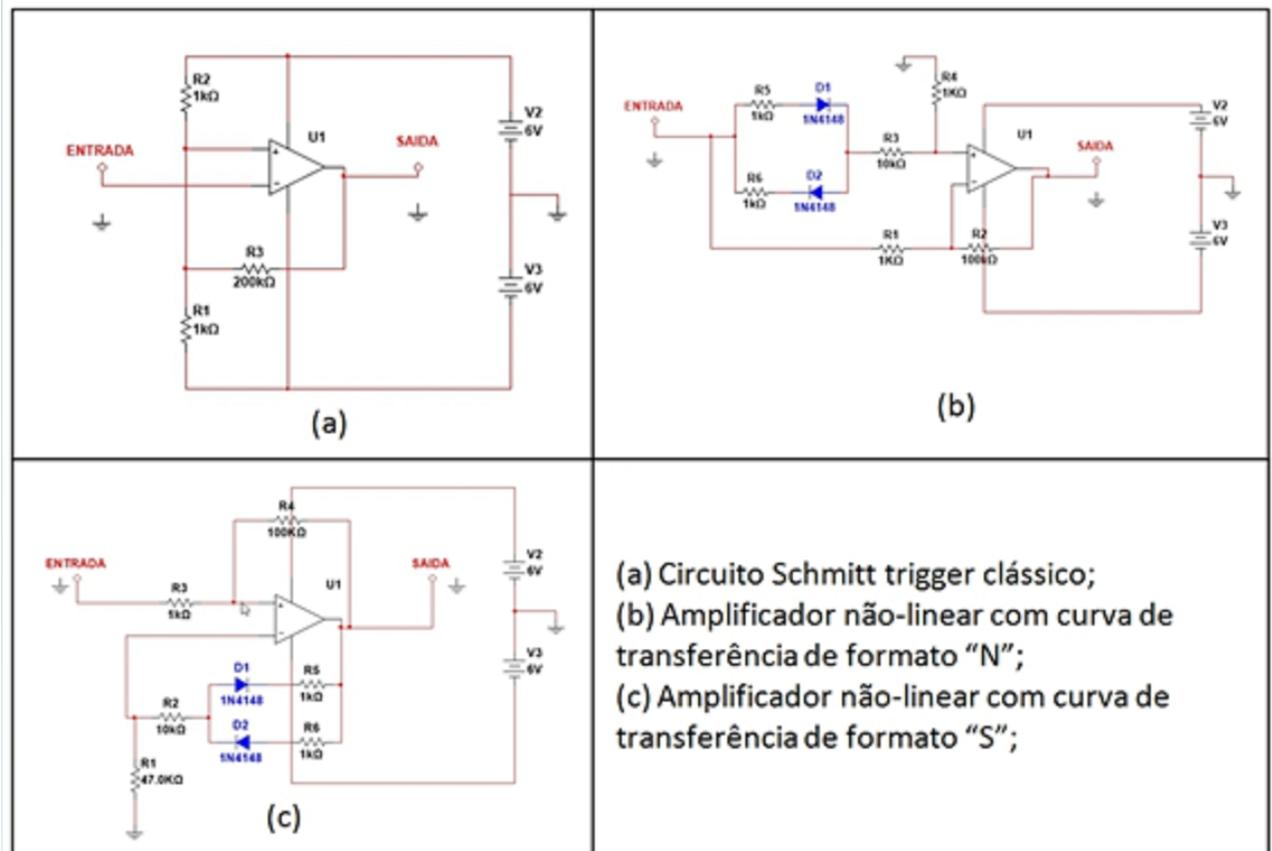


Figura 5.12: Três circuitos que foram simulados em computador.

Neste trabalho foi utilizado o simulador de circuitos NI MULTISIM Component Evaluator 14.0 – MuSIMBLUE, em versão de avaliação gratuita, fornecida por Mouser Electronics Co. Na Figura 5.13 é mostrado um *printscreen* da tela que descreve as especificações do simulador de circuitos utilizado nesta tese.



Figura 5.13: Printscreen da tela mostrando as especificações do simulador de circuitos em versão gratuita utilizado nas simulações neste trabalho.

5.3 Schmitt trigger

Um disparador de *Schmitt* (em inglês, *Schmitt trigger*, ST) ou ainda “Comparador com Histerese ideal” é o sistema de dois estados mais simples disponível para a realização da ressonância estocástica. Uma solução exata é encontrada na literatura para o ST conduzido por ruído Gaussiano exponencialmente correlacionado adicionado a um sinal periódico fraco. A relação sinal-ruído alcança um ponto máximo em um valor específico da intensidade do ruído (HARMER et al., 2002). O disparador de *Schmitt* é uma aplicação do comparador de tensão que comuta a saída negativa quando a tensão de entrada ultrapassa uma tensão de referência positiva. Seu funcionamento se dá pela seguinte maneira: dado um nível de tensão na saída, $+V_{sat}$ ou $-V_{sat}$ (os valores das tensões de saturação máxima positiva e negativa do AO, respectivamente), este somente se altera quando a entrada assume valores superiores a V_2 ou inferiores a V_2' , respectivamente, sendo $+V_{cc}$ e $-V_{cc}$ as tensões de limiar superior e inferior na entrada não inversora do amplificador operacional. A equação (5.9) ilustra o comportamento da saída $Y(t)$ do *Schmitt trigger* em função da entrada $x(t) = V_{in}$:

$$Y(t) = \begin{cases} -V_{sat} & \text{se } x(t) > V_2' \\ +V_{sat} & \text{se } x(t) < V_2 \end{cases} \quad (5.9).$$

Se o AO utilizado for do tipo *rail-to-rail*, então $V_{sat} = V_{cc}$ e $-V_{sat} = -V_{cc}$, ou seja, a tensão presente na saída do amplificador operacional é igual à sua tensão de fonte de alimentação. Pelo fato de ser uma característica de transferência com análogos no eletromagnetismo, esta característica é chamada *histerese*, e pode ser entendida melhor pela observação da Figura 5.14.

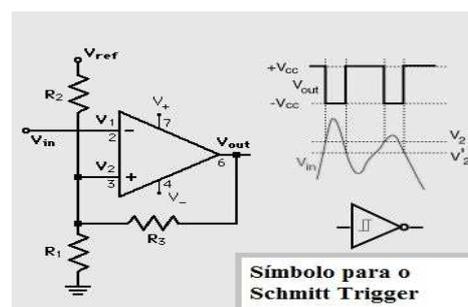


Figura 5.14: Esquema elétrico de um circuito Schmitt trigger genérico, construído a partir de um amplificador operacional.

As equações (5.10), (5.11) e (5.12) modelam o circuito mostrado na Figura 5.14:

$$\frac{V_{ref}-V_2}{R_2} + \frac{V_{out}-V_2}{R_3} = \frac{V_2}{R_1} \quad (5.10)$$

$$V_2 = \frac{R_{123}}{R_2} \cdot V_{ref} + \frac{R_{123}}{R_3} \cdot V_{cc} \quad (5.11)$$

onde:

R_{123} é o resultado da associação em paralelo dos resistores R_1 , R_2 e R_3 .

A dependência da tensão de saída dá ao circuito da Figura 5.14 dois limiares. O limiar V'_2 inferior é dado pela equação (5.12):

$$V'_2 = \frac{R_{123}}{R_2} \cdot V_{ref} - \frac{R_{123}}{R_3} \cdot V_{cc} \quad (5.12)$$

Para o resistor R_3 foi escolhido um potenciômetro de valor máximo igual a 470KΩ. No protótipo foram escolhidos $V_{ref} = V_{cc} = 5V$, $R_1 = 1K$, $R_2 = 1K$ e R_3 variando entre 1K(min) e 470K (máx), que permite calcular os seguintes valores de limiares para o *Schmitt trigger*.

Para $R_3 = 470K$:

$$V_2 = 2,50 \quad \text{e} \quad V'_2 = 2,49 \text{ volts,}$$

que resulta em uma janela de histerese em torno de 10mV, quando o potenciômetro de ajuste da janela de histerese é ajustado para seu valor máximo.

Com o potenciômetro R_3 no seu valor mínimo, tem-se os seguintes valores de limiar:

$$V_2 = 3,33 \quad \text{e} \quad V'_2 = 0 \quad \text{volts,}$$

resultando em uma janela de histerese em torno de 3,33V.

A amplitude do ruído Gaussiano aplicado a esta mesma entrada (que será misturado com o sinal a ser lido) pode ser ajustada digitalmente em 32 níveis distintos, através do uso de um potenciômetro digital controlado por computador, modelo X9313WP (XICOR, 2019) fornecido pelos fabricantes Xicor e Renesas, numa faixa que vai de 0 até $1V_{pp}$ pois deseja-se que este gerador de ruído possa ser útil também para excitar diretamente a Matriz de Microeletrodos (MEA), onde se pretende estudar efeitos de ressonância estocástica baseados no fato de que os neurônios são células que exibem naturalmente a não-linearidade necessária para

RE se manifestar. Na Figura 5.15 é mostrado o diagrama final do *Schmitt trigger* que foi implementado no protótipo, juntamente com o potenciômetro digital representado pelo circuito integrado modelo X9313. Este circuito integrado será empregado para permitir o controle do nível de ruído através do uso de um computador PC, que se conecta ao módulo REAC através da porta serial. Uma descrição resumida do funcionamento deste potenciômetro digital é feita a seguir

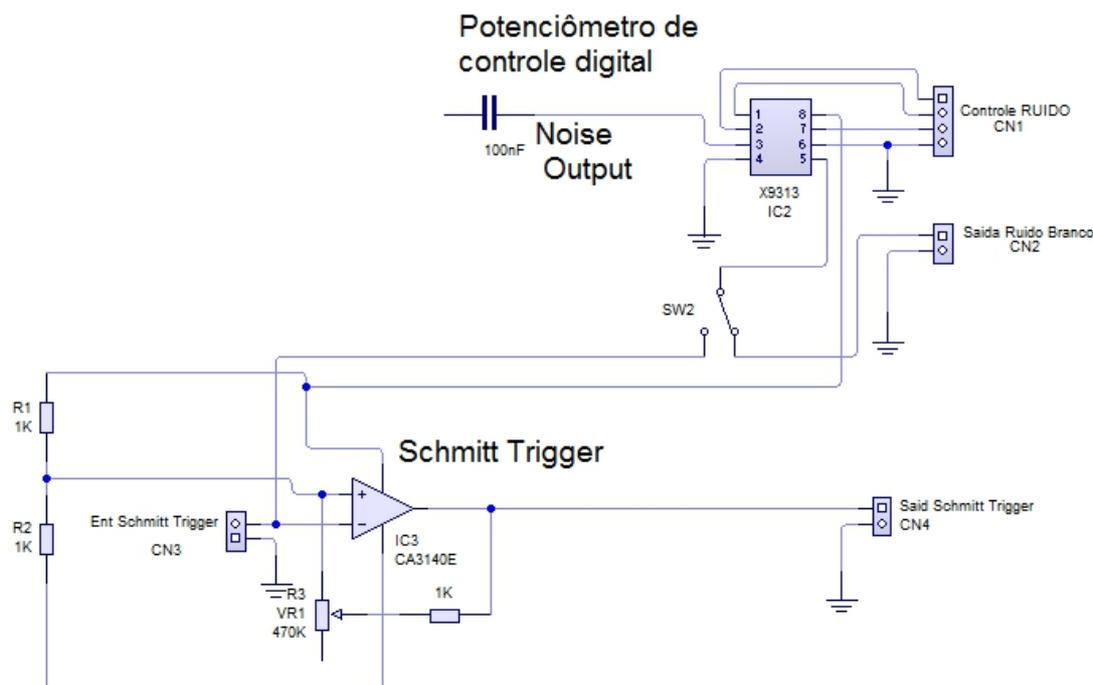


Figura 5.15: Esquema elétrico adotado no protótipo. Observar o uso de um potenciômetro digital modelo X9313 do fabricante Xicor, o qual permite atenuar ou ampliar a amplitude do ruído branco Gaussiano aplicado à entrada do *Schmitt trigger*, para fins de controle do efeito de RE através de um computador PC.

O circuito integrado Xicor X9313 (IC2 na Figura 5.15), como já foi mencionado, é um potenciômetro digital que possui uma interface de controle de 3 fios. A Figura 5.16 mostra o diagrama interno deste circuito integrado, já antigo no mercado de componentes eletrônicos, porém bastante robusto e confiável para efetuar controles de baixos níveis de tensão como os requeridos neste protótipo.

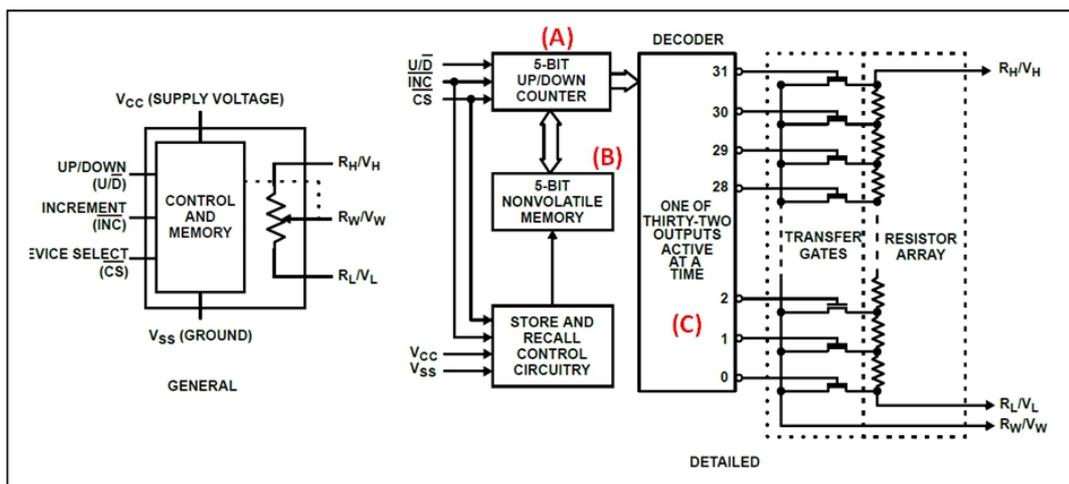


Figura 5.16: Diagrama interno do circuito integrado X9313.

Fonte: (XICOR, 2016).

Na Figura 5.16 pode-se ver em (A) um contador digital de 5 bits do tipo *UP/DOWN* (crescente ou decrescente), em (B) uma memória não-volátil capaz de armazenar os últimos 5 bits registrados e também um estágio decodificador de endereços (C), que tem por função endereçar uma matriz que escolhe um dentre os 32 transistores de efeito de campo (FET) que se encontram nas saídas de 0 até 31. Cada um destes transistores FET tem ligado ao seu terminal dreno um resistor de igual valor. Quando um destes FETs é selecionado, o respectivo resistor é colocado na saída do potenciômetro digital, simulando o exato funcionamento de um potenciômetro mecânico, com 32 níveis diferentes de resistência elétrica, que aparecem entre os terminais do potenciômetro, que são marcados com R_H , R_W e R_L na Figura 5.16. O terminal R_W corresponde ao terminal central (cursor) de um potenciômetro mecânico de 10kΩ. A interface de controle do potenciômetro digital, Figura 5.16 (A) é ligada a um microcontrolador, que enviará os sinais para aumentar ou diminuir a resistência deste potenciômetro. Por sua vez, este microcontrolador é ligado ao computador PC através da porta USB. Assim, o equipamento REAC será capaz de controlar via *software* o nível de ruído e o nível de sinal misturados, com a finalidade de pesquisar o ponto onde ocorre amplificação por RE. Quando o pino CS (*chip select*) se encontra em nível lógico baixo, é possível alterar o valor da resistência elétrica de saída do potenciômetro, por meio do valor dos 5 bits armazenados na interface de controle (A); no momento em que o pino CS é colocado em nível lógico alto, o *chip* é desativado mas o ultimo valor aplicado à interface (A) permanece na memória representada pelo estágio (B). Isso significa

que o último valor de resistência escolhido para o potenciômetro permanecerá memorizado mesmo quando a tensão de alimentação do sistema for desligada: ao religar a fonte, o potenciômetro retorna para o último valor de resistência selecionado. Observa-se que o modelo *SPICE* do componente X9313 não existe na biblioteca de componentes de simulação do MULTISIM, desta forma não foi possível simular o circuito com o controle digital de nível de sinal e de ruído. Entretanto, um protótipo físico foi montado e será descrito no Capítulo 6.

5.3.1 Circuito 1: Simulação para Schmitt trigger clássico

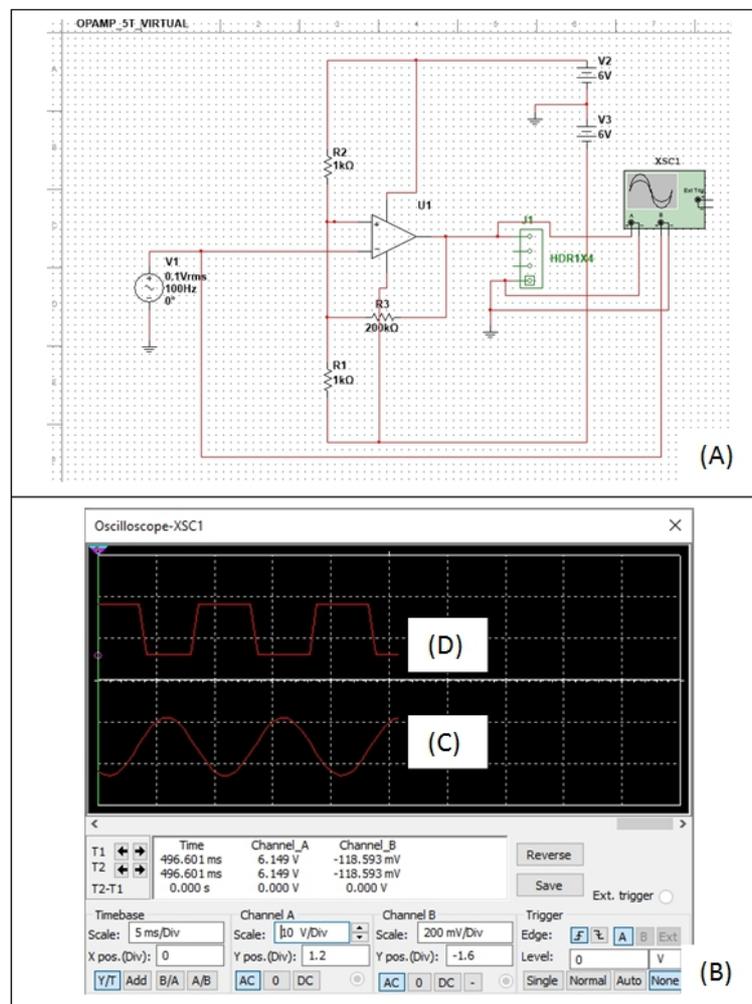


Figura 5.17: Simulação para o circuito Schmitt trigger clássico. Em (A) é mostrado o circuito simulado e em (B) o resultado das simulações. O sinal mostrado em (C) é o sinal senoidal aplicado à entrada do circuito e o sinal mostrado em (D) é o resultado do sinal não-linear produzido na saída do ST.

Como neste caso o sinal senoidal (C) é aplicado na entrada inversora do AO, o sinal (D) presente na saída do mesmo AO tem fase invertida em 180 graus em relação ao sinal na sua entrada, como esperado.

5.3.2 Circuito 2: Simulação para amplificador não-linear com curva de transferência no formato “N”.

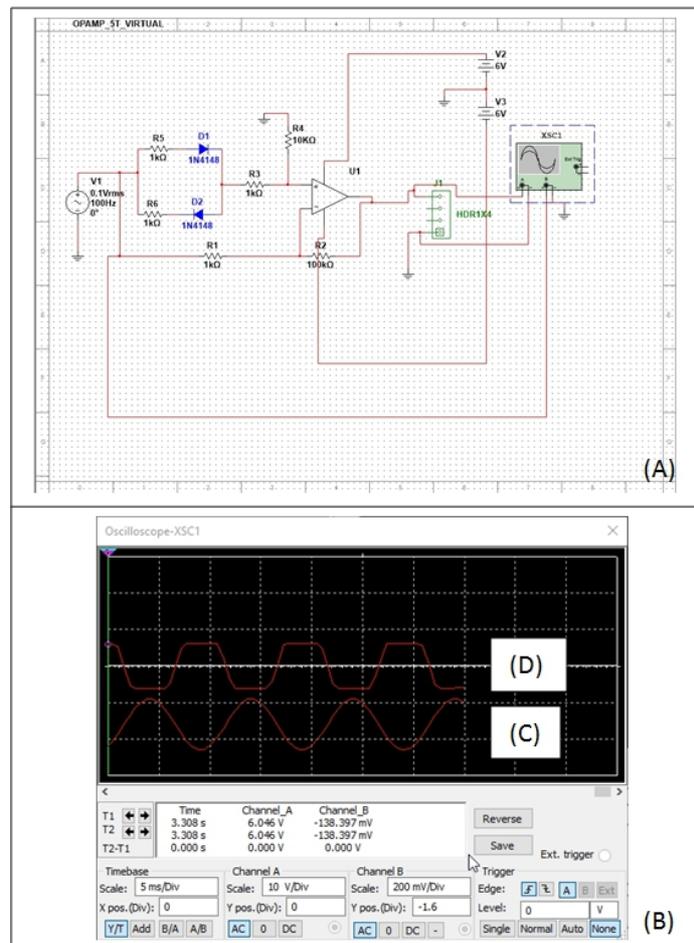


Figura 5.18: Simulação para o AO não-linear com curva “N”. Em (A) é mostrado o circuito simulado e em (B) o resultado das simulações. O sinal mostrado em (C) é o sinal senoidal aplicado à entrada do circuito e o sinal mostrado em (D) é o resultado do sinal não-linear produzido na saída do circuito N.

Observar que neste caso, o sinal mostrado na Figura 5.18(D) presente na saída é relativamente arredondado, quando comparado com os resultados da simulação mostradas na Figura 5.17(D). Aqui também existe inversão de fase: o sinal presente na saída (D) do circuito se encontra defasado de 180 graus em

relação ao sinal (C) aplicado na entrada. Neste caso, a não-linearidade é menos pronunciada do que no caso de se utilizar o *Schmitt trigger* clássico, característica desejável para o ressonador estocástico.

5.3.3 Circuito 3: Simulação para o amplificador não-linear com curva de transferência no formato “S”

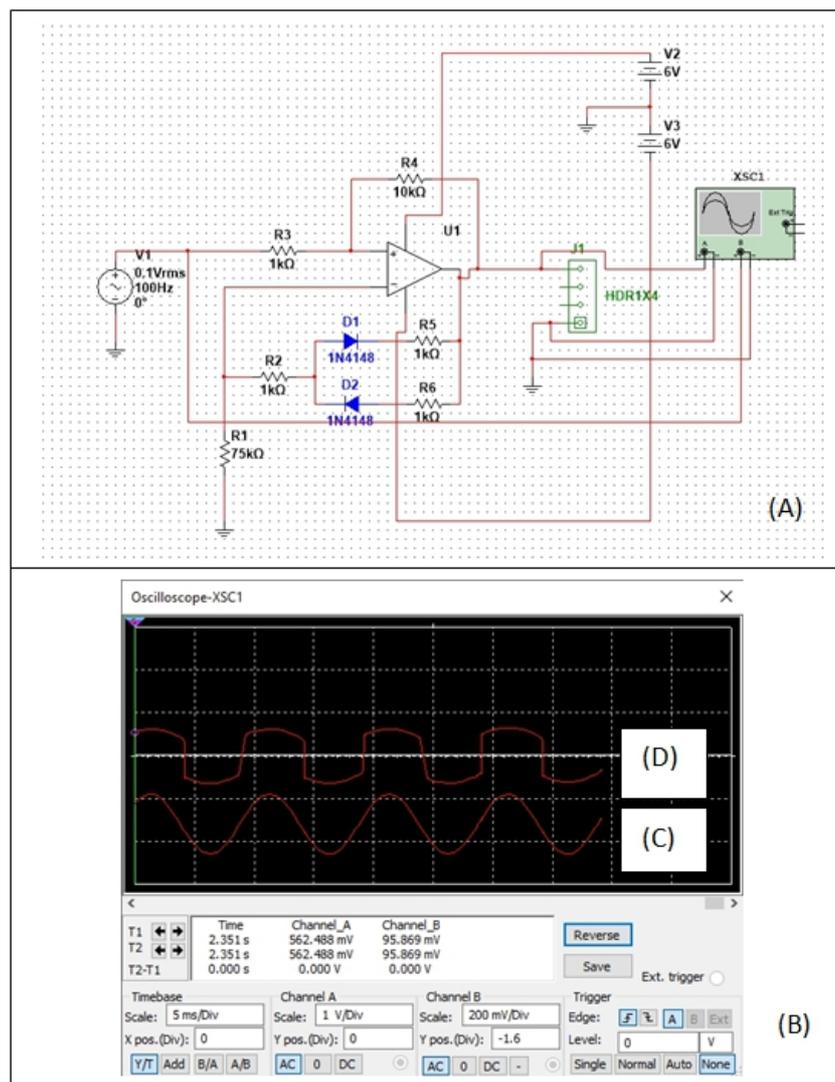


Figura 5.19: Simulação para o AO não-linear com curva de formato “S”. Em (A) é mostrado o circuito simulado e em (B) o resultado das simulações. O sinal mostrado em (C) é o sinal senoidal aplicado à entrada do circuito e o sinal mostrado em (D) é o resultado do sinal não-linear produzido na saída do circuito S.

Observar na Figura 5.19 que o sinal presente na saída (D) do circuito apresenta também um comportamento não-linear em relação à senóide aplicada na entrada (C), mas neste caso não existe inversão de fase: o sinal presente em (D) se

encontra em fase com a senóide aplicada na entrada (C). Estas duas características juntas (não inversão de fase e não-linearidade) são desejáveis para o ressonador estocástico. A não-linearidade não é tão pronunciada quanto no ST clássico, o que se traduz por níveis de tensão distintos na saída (D), (GAO Y., 2013).

Como sinal de entrada para todas estas simulações, foi utilizado um sinal senoidal de amplitude 0,1 Vrms e frequência igual a 100Hz. Este sinal foi também variado em amplitude, no intervalo entre 0,01V até 1 Vrms e em frequência, no intervalo entre 10Hz até 1kHz, mas nenhuma mudança significativa foi observada no formato da onda produzida na saída dos circuitos. Desta forma, optou-se por mostrar aqui apenas uma amostra para cada simulação, pois os resultados permaneceram estáveis na faixa de frequências e amplitudes estudadas.

5.4 Circuito Gerador de Ruído Branco

Na entrada dos circuitos não-lineares mostrados nas Figuras 5.17, 5.18 e 5.19, é necessário aplicar um certo nível (controlado) de ruído branco Gaussiano para que ocorra ressonância estocástica, que pode ser obtido a partir da agitação térmica dos elétrons na junção semicondutora de um diodo ou transistor polarizado de modo reverso. Na Figura 5.20 é mostrado o circuito do gerador de ruído branco que foi primeiramente simulado e depois implementado na prática.

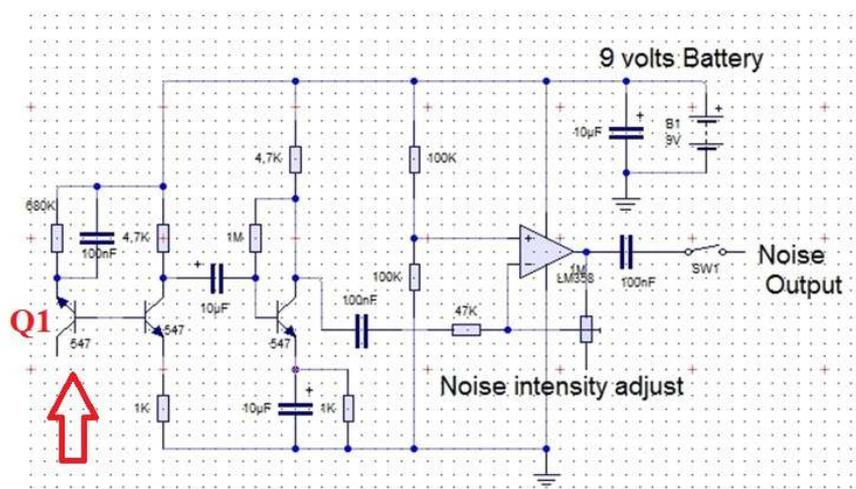


Figura 5.20: Diagrama esquemático referente à simulação do circuito que produz o ruído branco. Observar o transistor Q1 à esquerda na Figura, que é ligado como um diodo, tendo seu terminal coletor desligado.

A idéia deste circuito é aproveitar o efeito “avalanche” da junção semi-condutora base-emissor do transistor Q1 mostrado na Figura 5.20 para produzir ruído branco Gaussiano (o efeito Gaussiano é dado pelos filtros RC, que filtram em torno de uma frequência central). O transistor Q1 está polarizado de modo reverso: seu terminal emissor, ligado ao positivo de uma fonte de tensão de 9V através do resistor de 680K Ω , provoca a movimentação de elétrons no interior da barreira NP do semiconductor, que se chocam com as moléculas do silício de maneira caótica, gerando um sinal que tem todas as características descritas através da equação de Langevin do movimento Browniano.

O resultado da simulação do circuito mostrado na Figura 5.20 é mostrado na Figura 5.21. A amplitude do ruído branco produzido pode ser ajustada através de um potenciômetro durante a simulação.

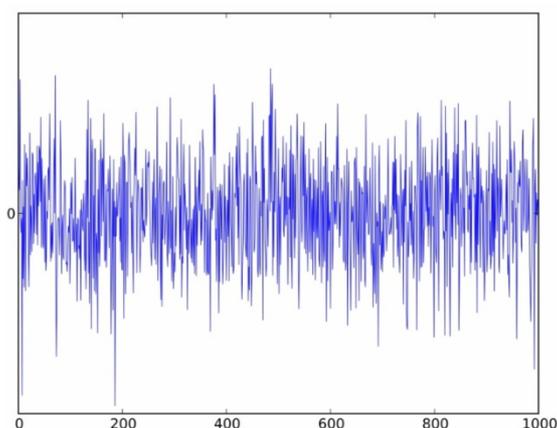


Figura 5.21: Resultado da simulação computacional do circuito mostrado na Figura 5.18. A saída produz ruído branco Gaussiano, cuja frequência central é determinada pelos valores dos resistores e capacitores escolhidos para os filtros RC no circuito.

5.5 Circuito Detector de Envoltória

Na Figura 5.22 é mostrado o subsistema *Detector de Envoltória*, que é na verdade um demodulador de amplitude e frequência (AM e FM). Este circuito analógico é baseado também no uso de dois transistores NPN de silício que funcionam como amplificadores de sinal. O demodulador AM (amplitude) mais simples é conhecido como *detector de envoltória*. A detecção de envoltória consiste em passar o sinal modulado $x_c(t)$ por um dispositivo não-linear, seguido de uma filtragem passa-baixa para eliminar as altas frequências. A não-linearidade pode ser

produzida por diodo, enquanto que o filtro pode ser construído utilizando um resistor e um capacitor, como ilustrado na Figura 5.23.

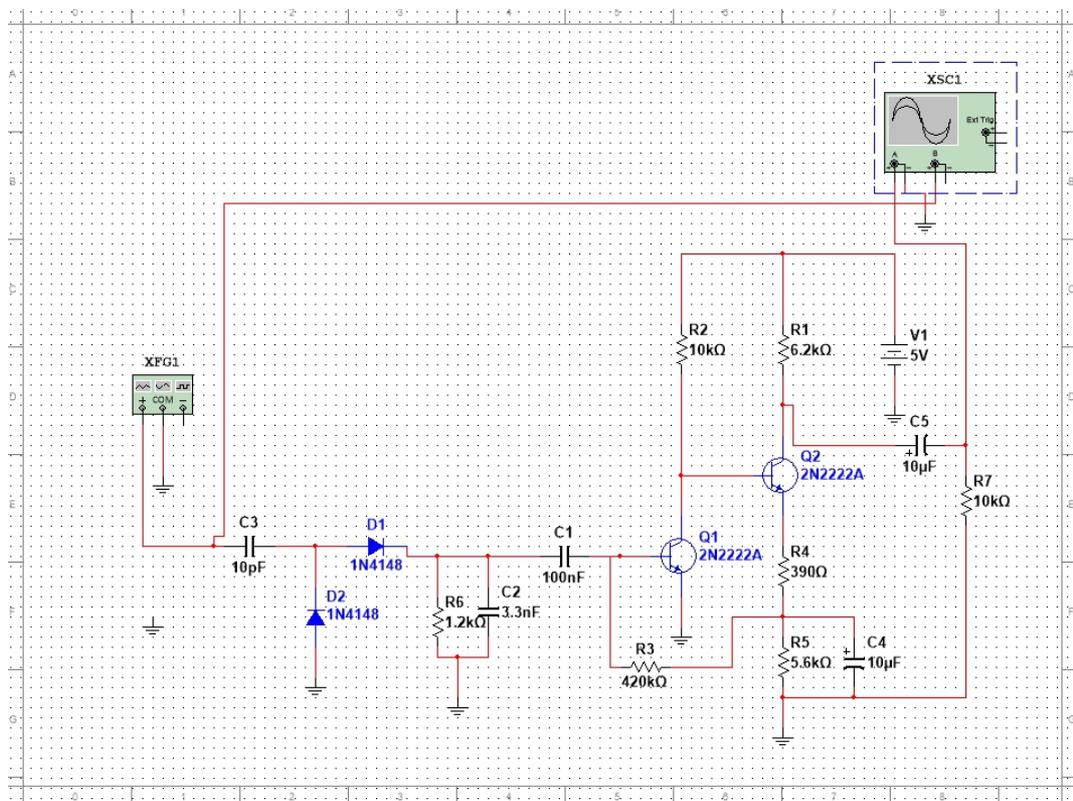


Figura 5.22: Circuito detector de envoltória.

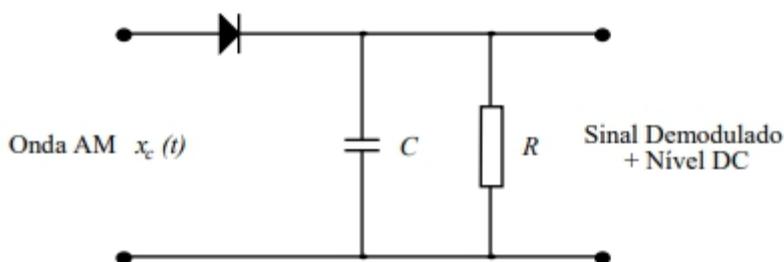


Figura 5.23: Circuito demodulador de amplitude.

Supor inicialmente que o circuito da Figura 5.23 não contenha o capacitor C e a resistência do diodo seja desprezível quando comparada com R. Desta forma, o circuito se comporta como um retificador de meia onda. Colocando-se o capacitor C em paralelo com o resistor R, ele irá se carregar durante o semiciclo positivo da portadora e se descarregar no intervalo entre os picos positivos, segundo uma constante de tempo RC, conforme mostrado na Figura 5.24.

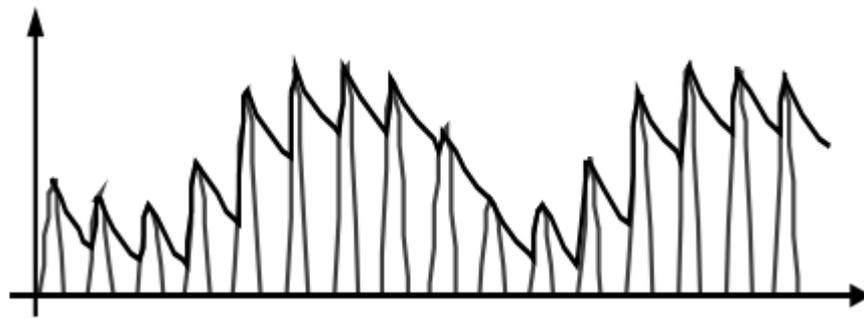


Figura 5.24: Saída do demodulador de amplitude.

A escolha do valor de RC é de fundamental importância no demodulador de amplitude. Seja W a maior variação em amplitude do sinal modulador.

Caso o valor de RC seja muito menor que o período da portadora ($\frac{1}{f_c}$), o capacitor se descarregará muito rapidamente quando a amplitude da portadora cai abaixo do seu valor de pico, o que fará com que a saída do detector não siga a envoltória desta onda (Figura 5.25-a). Se, por outro lado, o valor de RC for muito maior que a máxima variação W do sinal modulador, então o capacitor se descarregará muito lentamente e a saída do demodulador não seguirá a envoltória da onda AM (Figura 5.25-b).

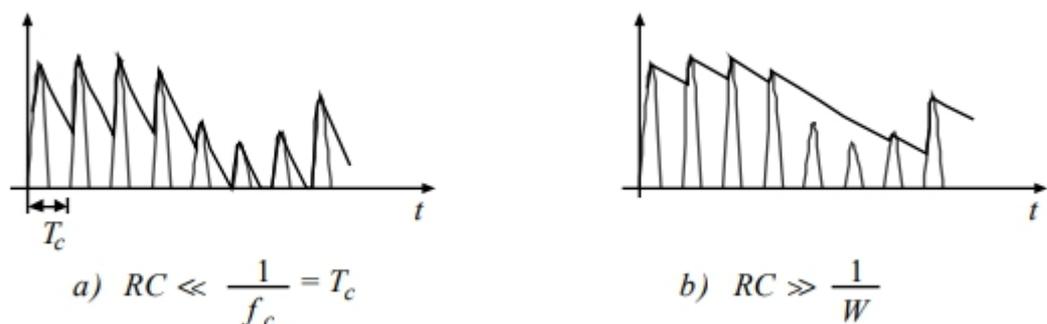


Figura 5.25: a) Descarga do capacitor C quando $RC \ll 1/f$;

b) Descarga de C quando $RC \ll 1/W$.

O circuito demodulador simulado e mostrado na Figura 5.22 serve também como elemento de não-linearidade para o ressonador estocástico REAC, além do usual *Schmitt trigger*. Para verificar o comportamento deste circuito da Figura 5.22 quando excitado por diferentes formas de ondas e diferentes frequências em sua entrada, foram feitas várias simulações computacionais, de modo a entender o comportamento deste circuito, com diferentes sinais em sua entrada.

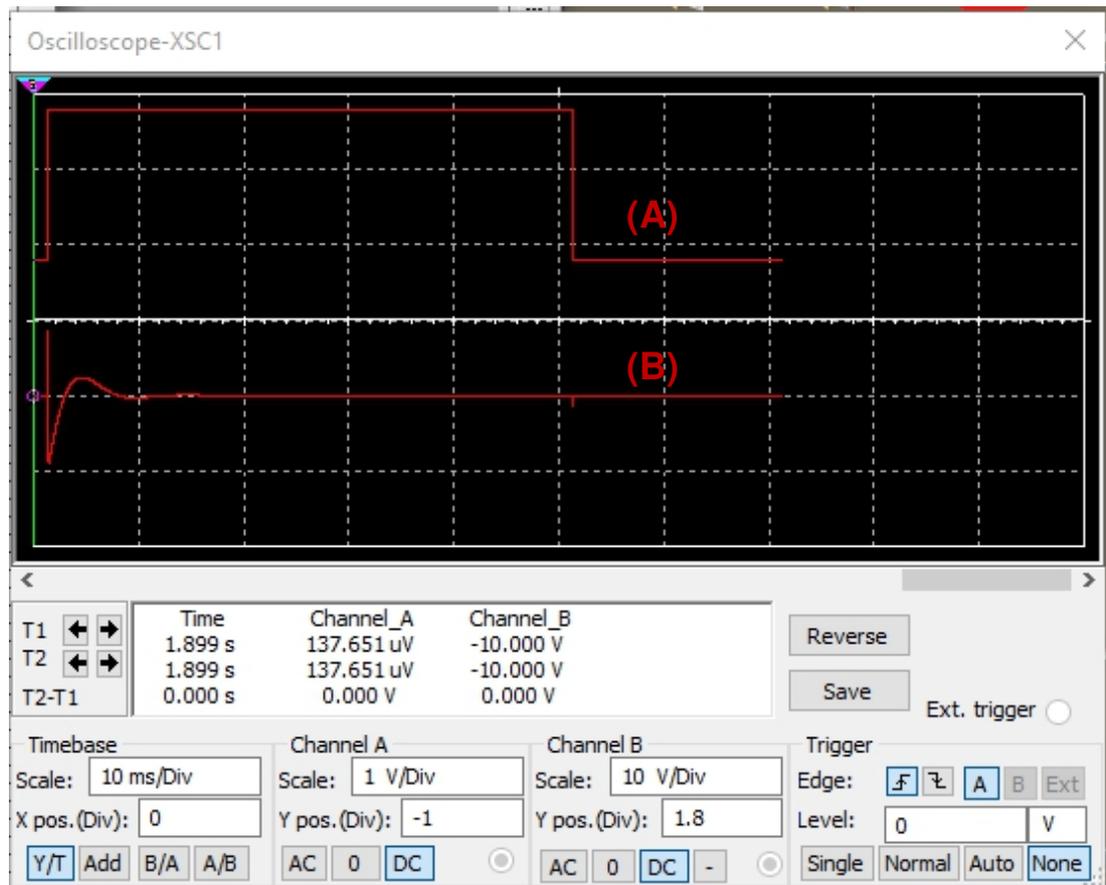


Figura 5.26: Resposta ao degrau para o circuito simulado mostrado na Figura 5.22. Em (A) é representado o pulso degrau e em (B) a resposta do circuito a este pulso. Esta resposta é característica de um circuito de primeira ordem.

Na Figura 5.26 é mostrada a resposta ao degrau para o circuito da Figura 5.22. Em 5.26-(A) é mostrada a onda quadrada (que simula um degrau unitário) aplicada à entrada do circuito da Figura 5.22 e na Figura 5.26(B) é mostrado o sinal que surge na saída deste circuito. O gráfico da Figura 5.26 mostra uma resposta ao degrau típica de um sistema de primeira ordem, contendo um único elemento armazenador de energia, que neste caso é um capacitor.

Na Figura 5.27 é mostrada a resposta do circuito da Figura 5.22 quando é aplicado um sinal senoidal em sua entrada, de frequência igual a 1000Hz.

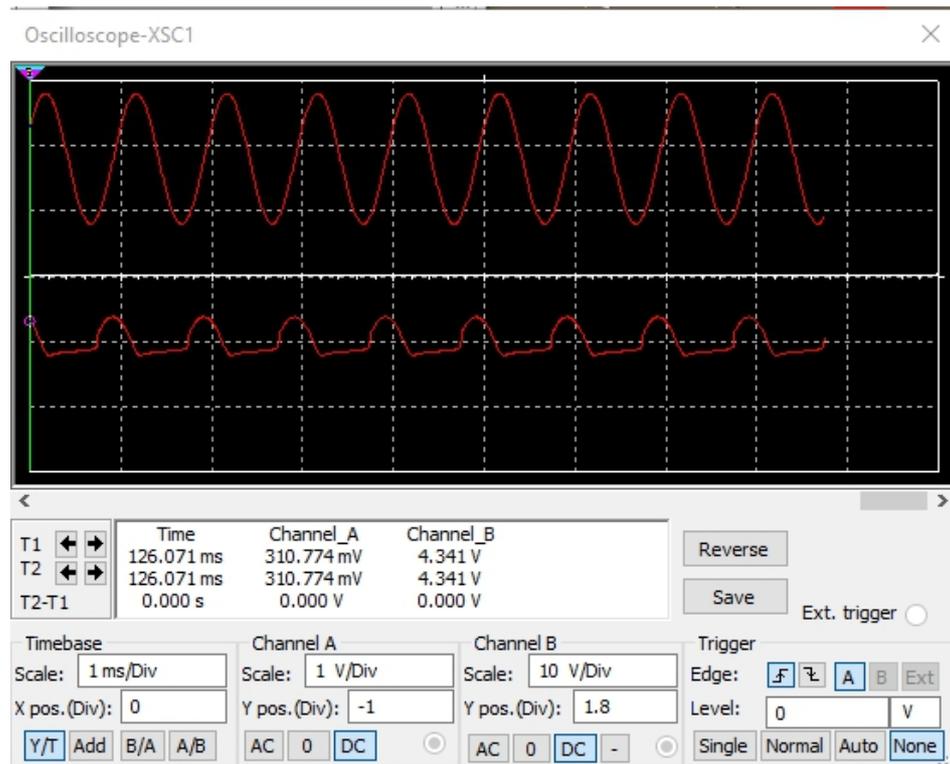


Figura 5.27: Resposta à um sinal dente-de-serra de frequência 1kHz para o circuito simulado mostrado na Figura 5.22.

A finalidade do *detector de envoltória* é ajudar a extrair informações emitidas pelos neurônios, pois o mesmo é sensível aos *spikes* e *bursts*, podendo realçar estes dois fenômenos importantes em meio ao sinal ruidoso biológico. Sua utilização no subsistema REAC é opcional, sendo acionado ou desativado pelo usuário através de uma chave, dependendo do sinal pesquisado.

5.6 Considerações Finais

Neste Capítulo foram apresentados alguns resultados das simulações computacionais utilizando o software MATLAB e também os resultados de algumas simulações dos circuitos eletrônicos que serão implementados e descritos no Capítulo 6, para compor o subsistema denominado REAC. Estas simulações demonstram a validade matemática do fenômeno RE também do ponto de vista das equações, partindo de um modelo simples para o fenômeno, descrito através da equação de Langevin para o movimento Browniano.

Capítulo 6

DESENVOLVIMENTO DO SUBSISTEMA RESSONADOR ESTOCÁSTICO - REAC

Neste Capítulo são descritas as simulações, desenvolvimento e testes de um equipamento digital para amplificar sinais através do fenômeno RE, controlado por uma interface executada em computador PC. O módulo REAC (Ressonador Estocástico Auxiliado por Computador) integra um sistema maior destinado a captar e registrar sinais em MEA, chamado de Sistema de Aquisição de Sinais em MEA Assistido por Ressonância Estocástica (SASMARE). Embora desenvolvido para uso em conjunto com o restante do sistema SASMARE, o subsistema REAC pode ser utilizado também individualmente, para estudo do fenômeno RE. O desenvolvimento utilizou componentes eletrônicos comuns no mercado brasileiro. Várias considerações teóricas são feitas também neste Capítulo, com a finalidade de justificar o emprego das fórmulas utilizadas pelo Software que foi desenvolvido para controle do subsistema REAC.

6.1 Valor RMS de um sinal

A primeira exigência do dispositivo REAC é poder medir a amplitude e calcular o valor RMS (*Root Mean Square*, Valor Quadrático Médio em português) do ruído Gaussiano e também do sinal que se apresenta em sua entrada. A equação (6.1) refere-se ao valor RMS para um sinal periódico qualquer de período T:

$$V_{RMS} = \sqrt{\int_0^T \frac{1}{T} V(t)^2 dt} \quad (6.1)$$

onde: V(t) representa a amplitude instantânea do sinal, em volts;

T representa o período para um sinal periódico.

Caso o sinal a ser analisado seja do tipo aperiódico (como por exemplo o ruído Gaussiano, ou então, os sinais produzidos por neurônios cultivados em MEA) então será preciso calcular continuamente o valor da integral mostrada na equação (6.1), em iguais intervalos de tempo T . No caso de amostras discretas de tensão, como ocorre em sistemas digitais como este em desenvolvimento, a integral deve ser vista como a soma de pequenas n parcelas, e a equação (6.1) se torna a (6.2):

$$V_{RMS} = \sqrt{\sum_{i=1}^{T/n} V_i^2 \Delta t_i} \quad (6.2)$$

Embora não exista neste caso um período propriamente definido, T passa a ser chamado de “janela de amostragem”. A todo instante, um microcontrolador ou um DSP dever medir através de sua entrada analógica os valores do sinal e do ruído e somar “ n ” amplitudes V_i^2 ao quadrado dentro de um conjunto de amostras contidos em um tempo T , convenientemente escolhido de acordo com a faixa de frequências esperada para o sinal de amplitude V_i que ocorre em um intervalo de tempo Δt_i considerado. A equação (6.2) representa o modo de se calcular o valor RMS de um sinal digitalizado discreto dentro de um intervalo T e foi utilizada no *Software* REAC.

6.2 Cálculo da Relação Sinal-Ruído

Uma vez que tanto o ruído (sozinho) e o sinal+ruído (somados) tenham sido digitalizados pelo conversor A/D, eles terão continuamente seu valor RMS medido e calculado através da equação (6.2). O valor da relação Sinal-Ruído então será calculado continuamente pelo microprocessador através da equação (6.3):

$$SNR = \left(\frac{V_{sinal}^2}{V_{ruído}^2} \right) \quad (6.3).$$

Na equação (6.3), o termo V_{sinal} na verdade representa o valor RMS de amplitude (em milivolts) da soma “sinal+ruído”. Nesta mesma equação, o termo no denominador $V_{ruído}$ representa o valor RMS do ruído gerado pelo aparelho, de

modo controlado, sozinho. Na equação (6.3) os termos no numerador e no denominador aparecem elevados ao quadrado porque na realidade, conforme explicado no Capítulo 4, a relação sinal/ruído é um quociente entre as potências do sinal e do ruído. Como ambas as potências estão aplicadas sobre o mesmo circuito, elas estão sujeitas à mesma impedância e tais potências são proporcionais ao quadrado de sua amplitude (tensão). As impedâncias se cancelam (pois são iguais) e a equação (4.1) se torna a equação (6.3).

O quociente destas tensões ao quadrado permite calcular o valor de SNR, que é um parâmetro importante para se detectar a ocorrência do fenômeno RE e avaliar a *performance* do sistema de amplificação. O resultado fornecido pela equação (6.3) é adimensional.

A mesma relação SNR, mas em decibéis, pode ser calculada pela equação (6.4):

$$SNR(db) = 20 \log_{10} \left(\frac{V_{sinal}}{V_{ruído}} \right) \quad (6.4).$$

Calculando constantemente o valor de SNR, o equipamento pode ajustar automaticamente a amplitude de ruído produzido pelo gerador de ruído branco, de modo a obter sempre o maior valor de SNR, mantendo sempre o ponto de ressonância estocástica. É a primeira vez que se propõe na literatura um equipamento capaz de encontrar automaticamente o ponto de sintonia estocástica baseado em medidas digitais de valores RMS e de SNR do sinal e do ruído em tempo real, através de microcontrolador.

A seguir serão discutidas brevemente outras medidas de performance para avaliar o desempenho da RE para a detecção de sinais muito fracos.

6.3 Informação mútua

Informação Mútua e Entropia da Informação são conceitos pertinentes a uma ramo da Ciência da Computação denominado Teoria da Informação.

O primeiro artigo a discutir a RE no contexto de teoria da informação foi DeWeese e Bialck (DEWEESE et al., 1995, 1996). Nestes artigos, os autores

consideraram que o objetivo do processamento do sinal de um neurônio é transmitir tanta informação quanto possível dentre aquela presente na sua entrada. A medida de performance utilizada para isso é a Informação Mútua (COVER e THOMAS, 1991). Seja $I(s,x)$ a medida da Informação Mútua entre dois sinais $s(t)$ e $x(t)$ como os mostrados na Figura 6.1.

Um caso especial de Informação Mútua é chamado de Capacidade do Canal (COVER e THOMAS, 1991). Capacidade do Canal é definida como sendo a máxima possibilidade de Informação Mútua através de um canal ou sistema. Esta grandeza é em geral definida em termos da distribuição de probabilidade da entrada que proporciona o máximo de Informação Mútua, sujeita a certas restrições (MCDONNELL et al., 2008). Por exemplo: um sinal de entrada pode ser restrito a dois estados (sinal binário) como ocorre na saída dos circuitos *Schmitt triggers* empregados na parte prática deste trabalho. Ou então o sinal pode ser continuamente medido através de uma variável aleatória, mas com uma densidade espectral específica. A fórmula mais conhecida para descrever a Capacidade do Canal é a equação de *Shannon-Hartley* (6.5), (MCDONNELL et al., 2008):

$$C = 0,5 \cdot \log_2(1 + SNR) \quad \text{bits por amostra} \quad (6.5)$$

onde:

C é a capacidade do canal em bits por segundo;

$0,5$ é a largura de banda do canal, em hertz (largura da banda passante no caso de um filtro de banda passante do sinal);

SNR é o valor da relação sinal/ruído expresso de modo adimensional (não em decibéis).

O valor $0,5$ Hz é frequentemente utilizado para a largura de banda do canal na literatura sobre ressonância estocástica (McDONNELL, 2018). A equação de *Shannon-Hartley* (6.5) nos dá a Capacidade do Canal para a transmissão de um sinal limitado em potência e limitado em banda através de um canal com ruído branco Gaussiano. Como menciona Berger e Gibson (BERGER e GIBSON, 1998), esta fórmula é frequentemente empregada em situações onde ela não se aplica, na literatura sobre RE. A Capacidade do Canal como uma medida da performance da ressonância estocástica é discutida em (CHAPEAU-BLONDEAU, 1997; GODIVIER e CHAPEAU-BLONDEAU, 1998; GOYCHUK e HANGGI, 1999; KISH et al., 2001; GOYCHUK, 2001; BOWEN e MANCINI 2004). Todos estes artigos mostram que o

nível correto de ruído pode proporcionar a máxima Capacidade do Canal, isto é, leva ao fenômeno de ressonância estocástica. Esta fórmula (6.5) se aplica somente para canais com a presença de ruído branco Gaussiano aditivo, onde o sinal é independente do ruído (BERGER E GIBSON, 1998). A equação (6.5) é interessante porque relaciona o SNR com a Capacidade do Canal. Considerar a Figura 6.1, que mostra o diagrama em blocos de um sistema não linear sujeito a ruído Gaussiano aditivo de amplitude $\eta(t)$. A soma do sinal+ruído, $s(t) + \eta(t)$, é posteriormente aplicada a um sistema não-linear cuja função de transferência é $T[\cdot]$, dada por $y(t) = T[x(t)]$.

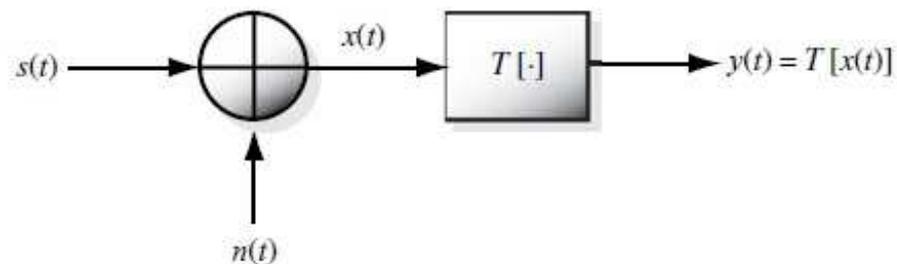


Figura 6.1: Diagrama em blocos de um sistema não-linear sujeito a ruído Gaussiano aditivo. Fonte: (MCDONELL, 2018).

Esta equação nos mostra que a máxima Informação Mútua entre um sinal $s(t)$ e outro sinal $x(t)$ é $I(s,x) = 0,5 \cdot \log_2(1 + SNR)$ bits por amostra. Na Figura 6.1 o bloco que representa a função $T[\cdot]$ correspondente aos circuitos eletrônicos *Schmitt trigger*, que são os elementos de circuito responsáveis por adicionar a não-linearidade ao dispositivo REAC.

6.4 Entropia da Informação

Outra medida útil utilizada em Teoria da Informação é a Entropia da Informação. Ela é útil quando se considera o uso da RE para quantização dos sinais nos conversores AD. Em outras palavras, uma aplicação possível dos sistemas biestáveis (tais como os *Schmitt triggers*) baseados em limiares (*threshold*, em inglês) é na quantização e digitalização de sinais analógicos, transformando-os em sinais digitais. São os chamados conversores AD estocásticos (MCDONNELL et al.,

2008). É possível construir conversores AD muito rápidos baseados em diversos *Schmitt triggers* com diversos limiares de disparo diferentes em suas saídas. Entretanto, esta é uma técnica pouco utilizada em função da complexidade dos circuitos envolvidos (um *Schmitt trigger* dispara para qualquer valor de tensão acima do seu limiar). Um quantizador de 8 bits baseado em *Schmitt triggers* deveria envolver 2^8 *Schmitt triggers* (ST). Mas além dos 256 *Schmitt triggers* com limiares diferentes, este quantizador também precisa de um circuito adicional denominado em inglês “*encoding*” (codificador) que tem por função transformar a saída dos *Schmitt triggers* em um sinal digital correspondente ao sinal analógico aplicado em sua entrada. Apesar de possuir uma implementação complexa, a quantização baseada em ST também pode se beneficiar do fenômeno RE.

Uma importante medida para um quantizador é a sua taxa. A taxa é uma medida de quantos bits (ou seja, quantos símbolos binários) são necessários para representar a informação. Isso significa que a taxa de um quantizador é geralmente o número médio de bits por amostra que o quantizador apresenta em sua saída, ou que recebe em sua entrada. Para codificação determinística do sinal, a taxa é igual a Entropia média da saída codificada. Esta Entropia pode ser calculada pela equação (6.6):

$$H(Y) = -\sum_{i=0}^N P(i) \log_2 P(i) \quad (6.6)$$

onde: $P(i)$ é a probabilidade do estado de saída “ i ” ocorrer.

A máxima Entropia ocorre quando todos os estados de saída são igualmente prováveis e é dada por $H(i) = \log_2(N + 1)$ onde N é o número de bits de saída do quantizador.

Como o equipamento REAC não faz uso de quantizador baseado em ST, o conceito de Entropia descrito pela equação (6.6) não será empregado neste projeto, sendo aqui citado somente para conhecimento.

6.5 Diagrama de blocos do Sistema de Aquisição e Registro de Sinais em MEA com Ressonância Estocástica (SASMARE)

A Figura 6.2 mostra o diagrama de blocos do sistema de aquisição e registro de sinais em MEA desenvolvido e descrito neste trabalho, acrescentando-se o subsistema REAC. O sistema completo foi denominado *Sistema de Aquisição de Sinais em MEA Assistido por Ressonância Estocástica (SASMARE)*. Basicamente, o circuito convencional de amplificação descrito no Capítulo 3 desta tese foi utilizado, acrescido do circuito de detecção com Ressonância Estocástica denominado REAC. Os blocos (1)-“MEA”, (2)-“Soquete MEA60 Padrão” e (3) “Sistema de multiplexação analógica de 60 canais” já foram descritos detalhadamente no Capítulo 3 deste trabalho.

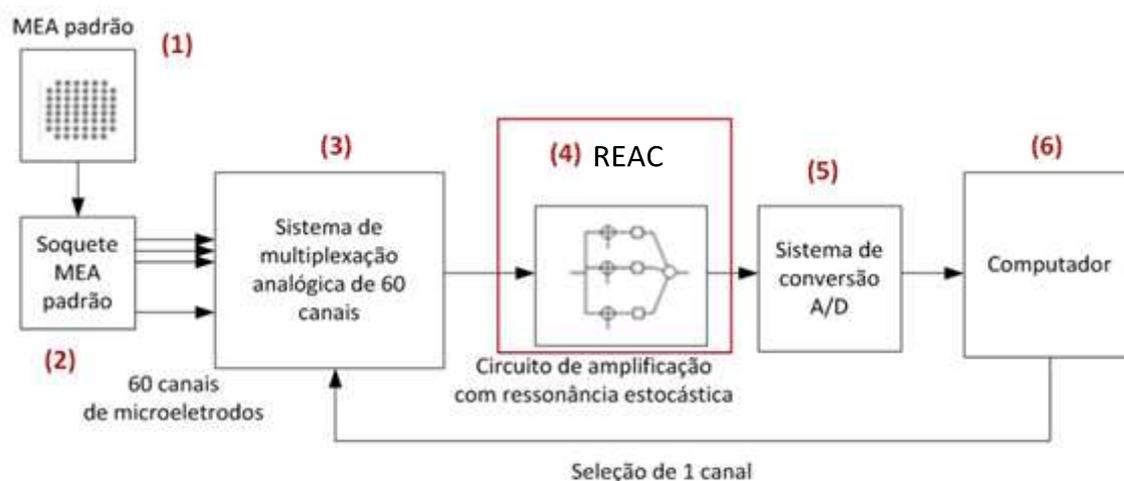


Figura 6.2: Diagrama de blocos do SASMARE, Sistema de Aquisição de Sinais em MEA Assistido por Ressonância Estocástica, com ênfase no subsistema REAC, descrito neste Capítulo.

O bloco (4), Circuito de amplificação com ressonância estocástica, é o assunto do presente Capítulo, que descreve a construção do REAC. O bloco (5), Sistema de Conversão Analógico/Digital (AD) foi detalhado também no Capítulo 3 juntamente com o *Software* de aquisição de dados que é executado no computador.

6.6 Diagrama de blocos do REAC

Os diversos estágios de circuitos eletrônicos que compõe o equipamento denominado REAC são mostrados na Figura 6.3. O sinal proveniente da MEA é aplicado à “Entrada do Sinal” em um circuito isolador denominado *Buffer1*, com a finalidade de evitar a interação e a incompatibilidade elétrica com o bloco anterior. A seguir, o sinal pode ser dosado através do ajuste do potenciômetro digital 2 (CH1 no painel da interface gráfica do Software REAC) que é do tipo X9313 cujo funcionamento já foi explicado no Capítulo 5. Um circuito eletrônico gerador de ruído branco Gaussiano produz ruído branco cuja amplitude (valor RMS) pode ser ajustado através do potenciômetro digital 1 (marcado como “*White Noise*” no painel da interface gráfica) entre 0 e 3000 mV (rms). Ambos os sinais, o sinal elétrico dos neurônios e também o ruído branco são aplicados a um estágio misturador de sinais, que tem por função somá-los, sem alteração de fase. À seguir, este sinal que corresponde à soma sinal+ruído branco é aplicado à entrada de um circuito *Schmitt trigger*, que foi descrito e simulado no Capítulo 5 deste trabalho. A saída do sinal do *Schmitt trigger* é aplicada ao potenciômetro digital 3, que permite dosar a amplitude do sinal que já incorpora o fenômeno de RE. À seguir, este sinal de saída do ST é novamente misturado ao ruído branco Gaussiano, com uma nova amplitude, ajustada pelo potenciômetro digital 4 (que corresponde ao *slider* (potenciômetro) marcado como CH3 no painel da interface gráfica do Software REAC). Eventualmente, este potenciômetro *slider* pode ter seu nível ajustado para zero, caso não seja conveniente adicionar mais ruído à saída. Novamente, ambos os sinais, são aplicados a outro estágio misturador, denominado “Misturador de Saída”. Na saída deste segundo misturador, foi projetado um filtro detector de envoltória cuja finalidade é extrair componentes de modulação em amplitude ou em frequência do sinal (AM ou FM), conforme foi também descrito no Capítulo 5. Não se sabe *a priori* se existe tal modulação em amplitude ou frequência (este fato é que caracteriza a pesquisa científica) mas tal demodulador foi acrescentado ao circuito, e pode ser desligado ou ligado quando o usuário desejar, através de uma chave mecânica no painel do equipamento REAC. Todo o sinal+ruído resultante na saída é aplicado ao conversor AD interno ao microcontrolador do módulo REAC. O sinal é então quantizado e digitalizado dentro deste microcontrolador, que o entrega através da

porta USB para o computador PC. O *Software* de controle REAC recebe então este sinal e imprime na tela na forma de um gráfico na sua janela. Ao mesmo tempo, ao receber o sinal digitalizado, o computador PC calcula a relação Sinal/Ruído (SNR) utilizando a equação (6.3) e também a mesma relação SNR em decibéis. Ambos os valores de SNR e SNR(dB) são mostrados na tela do computador PC em tempo real, levando-se em conta sempre a média aritmética simples das últimas 128 amostras digitalizadas pelo conversor AD.

A Figura 6.4 mostra o aspecto da interface gráfica do *Software* de controle REAC que efetua o controle dos quatro potenciômetros digitais, recebe o sinal e o ruído misturados e digitalizados pelo conversor A/D interno ao microcontrolador e imprime seu gráfico na área (A) e também calcula e mostra em tempo real os valores de SNR na janela (B) e de SNR(dB) na janela (C).

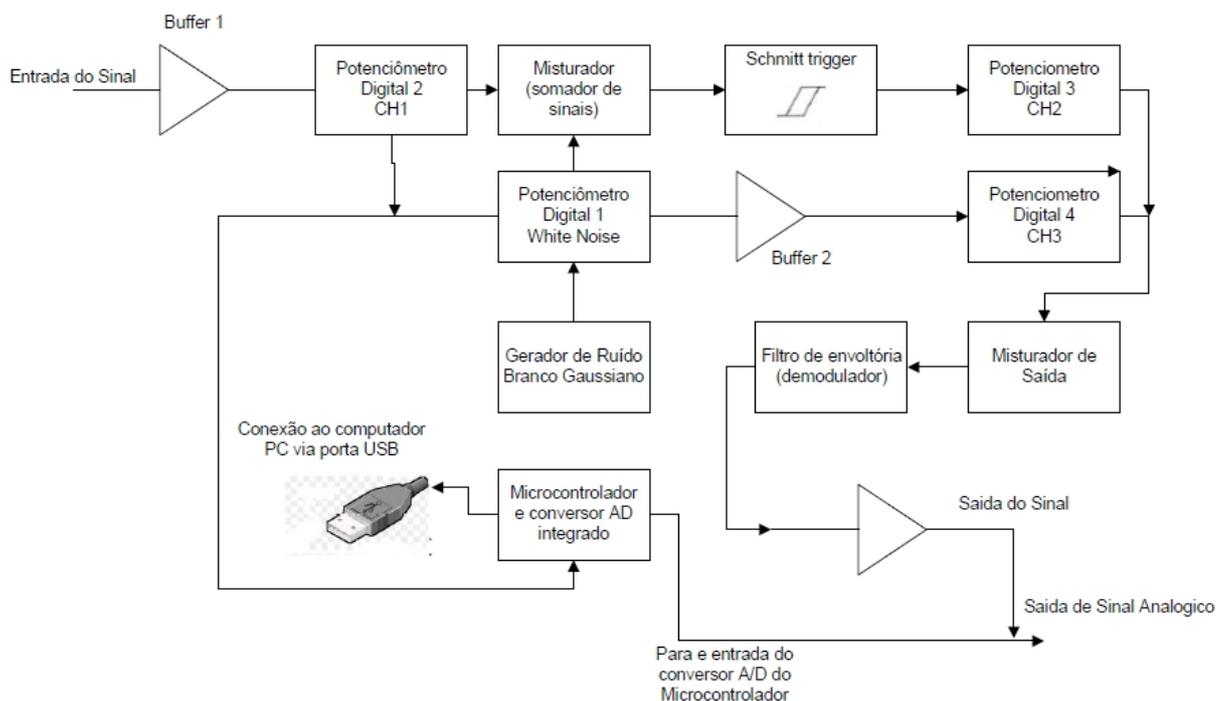


Figura 6.3: Diagrama de blocos representando os circuitos eletrônicos que compõem o subsistema REAC.

Cada um dos circuitos ilustrados em bloco no diagrama da Figura 6.3 foi simulado separadamente, prototipado em protoboard e montado individualmente em placa de circuito impresso específica pelo autor. O microcontrolador utilizado efetua

leituras com um sample rate igual a 10ksps (10000 amostras por segundo), podendo teoricamente, de acordo com o Limite de *Nyquist*, amostrar sinais de frequência de até 5 kHz.

Cada potenciômetro digital permite ser ajustado em 32 níveis diferentes de resistência, com valores digitais que vão de 0 até 31. Do lado direito da interface, marcado com (D) na Figura 6.4, existem 4 janelas que permitem ajustar os valores das seguintes constantes: KWN (constante do *White Noise*), KCH1, KCH2 e KCH3. Estas constantes ajustam o fator de escala de cada potenciômetro, de modo a fazer com que o valor mostrado na tela da interface gráfica coincida com o valor RMS de tensão gerado na saída de cada estágio. Estas 4 constantes têm seus valores ajustados através do uso do osciloscópio usando-se o seguinte procedimento: 1- mede-se o valor RMS do ruído branco gerado quando o potenciômetro é colocado no nível 16 (meio da escala); este valor (dado em milivolts) é dividido por 16 para produzir o valor correto da constante KWN; a constante KWN é ajustada então com este valor. 2- À seguir, o potenciômetro é variado e o valor mostrado na janela (E) é conferido com o valor da amplitude de tensão RMS mostrada pelo osciloscópio digital Tektronik modelo TBS1102B, fazendo assim uma aferição dos valores mostrados na janela (E) da Figura 6.4. O mesmo procedimento é repetido também para os outros três potenciômetros CH1, CH2 e CH3, aferindo-se seus valores RMS com o osciloscópio no circuito eletrônico.

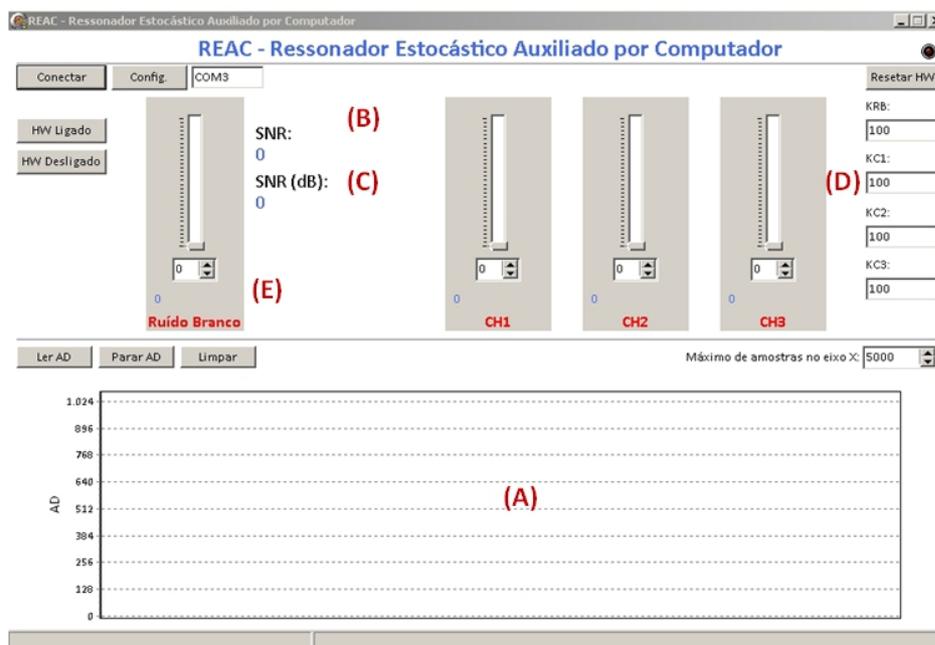


Figura 6.4: Aspecto da interface gráfica do Software de controle do equipamento REAC.

A Figura 6.5 mostra o diagrama eletrônico do circuito buffer, estágio de entrada do REAC, marcado como “*Buffer1*” no diagrama da Figura 6.3.

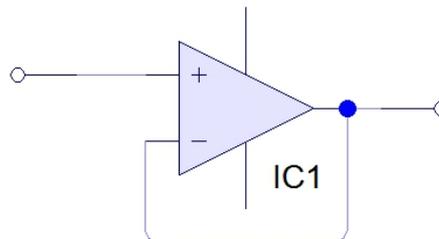


Figura 6.5: Circuito *buffer*, com amplificador operacional.

Na Figura 6.6 é mostrado o diagrama eletrônico do circuito misturador de sinais, que utiliza potenciômetros digitais em suas entradas, comandados pelo microcontrolador. E este, por sua vez, é comandado pelo software da interface gráfica do REAC. Este circuito corresponde ao bloco “Misturador” na Figura 6.3.

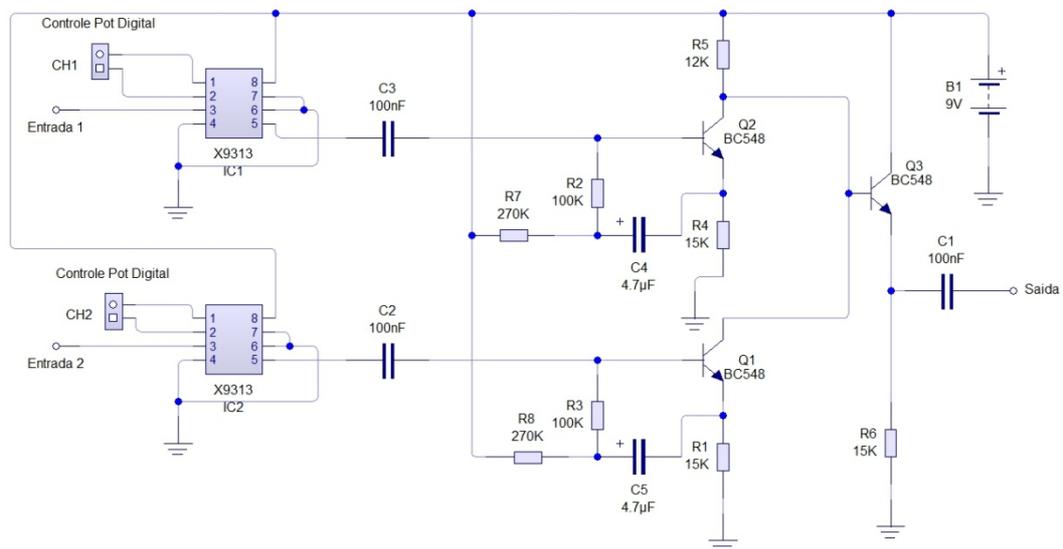


Figura 6.6: Circuito misturador, baseado em três transistores NPN de uso geral. Observar o uso de potenciômetros digitais IC1 e IC2 em suas entradas.

Na Figura 6.7 é mostrado o diagrama esquemático do módulo Gerador de Ruído branco Gaussiano.

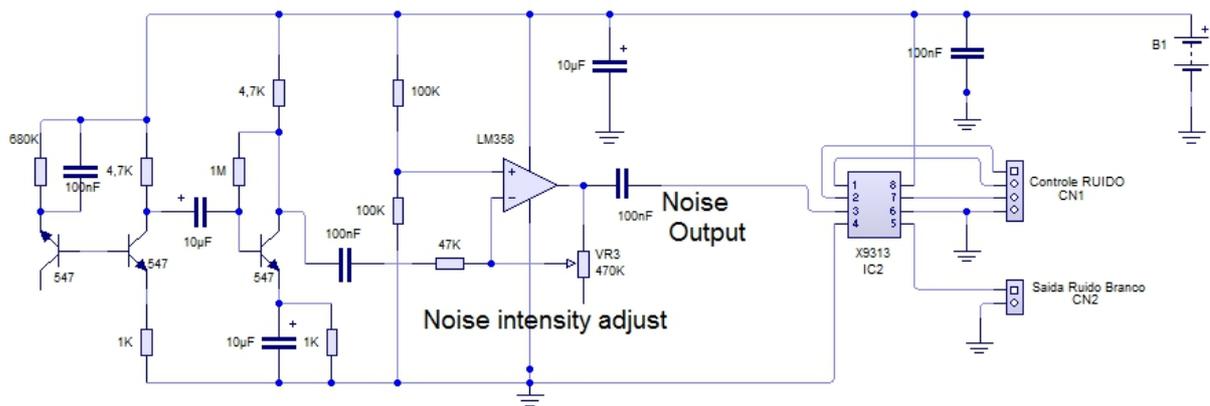


Figura 6.7: Diagrama esquemático do circuito Gerador de Ruído Branco.

Na Figura 6.8 é mostrado o diagrama do detector de envoltória escolhido para compor o módulo REAC.

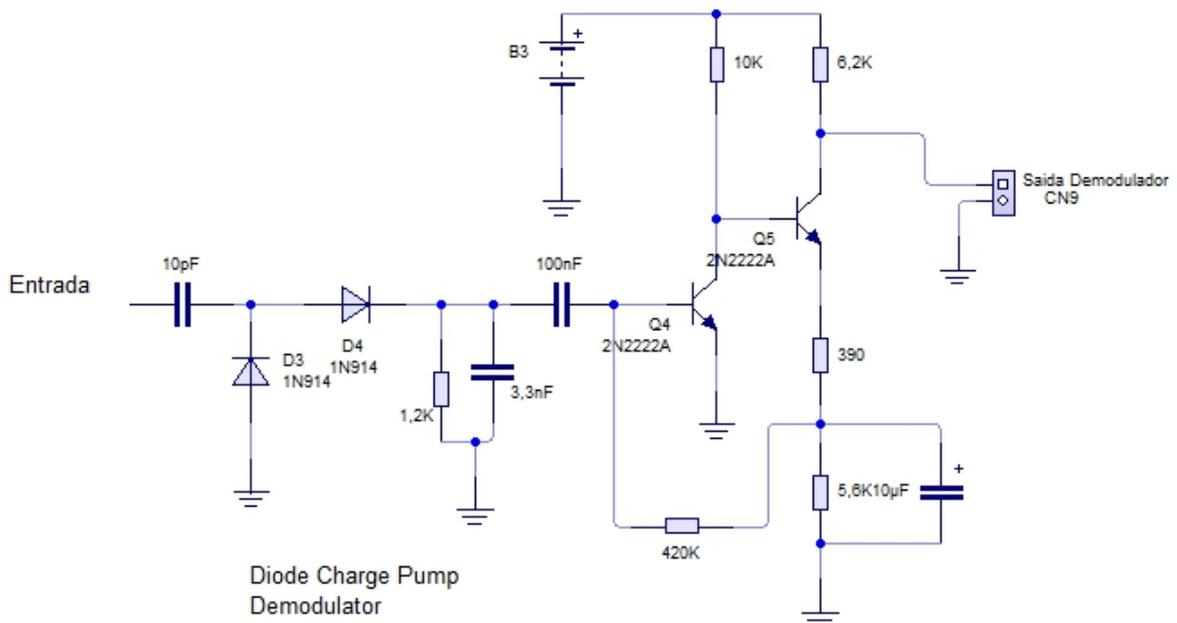


Figura 6.8: Diagrama esquemático do circuito demodulador de amplitude e frequência. A finalidade deste circuito, que é acionado opcionalmente através do botão “Hw On” e “Hw Off” na interface gráfica do REAC, é extrair de modo analógico informações codificadas em amplitude (AM) ou em frequência (FM) que eventualmente estejam contidas nos sinais dos neurônios.

Como microcontrolador para controlar os sinais enviados aos potenciômetros digitais e também para digitalizar uma amostra dos sinais de saída e enviar para a interface gráfica, foi escolhido o módulo *Launchpad* TIVA fabricado e fornecido por Texas Instruments, cuja foto é mostrada na Figura 6.9. Esta placa é baseada no microcontrolador modelo TM4C123G fabricado por Texas Instruments. Trata-se de um microcontrolador de arquitetura ARM *Cortex* M4, de barramento de 32 bits, com um ótimo conversor AD interno, com frequência de amostragem de até 1 Msps (até 1 milhão de amostras por segundo). Este conversor A/D é muito importante neste módulo, pois ele deve digitalizar o sinal final obtido na saída do REAC e calcular o valor RMS de suas amostras, bem como digitalizar o ruído branco e também calcular, em tempo real, seu valor RMS. Ambos os valores RMS são enviados a cada 1 segundo para o *Software* REAC que é executado no computador PC, para poder calcular e mostrar na tela o valor de SNR e de SNR(db) do sinal adquirido em tempo real.

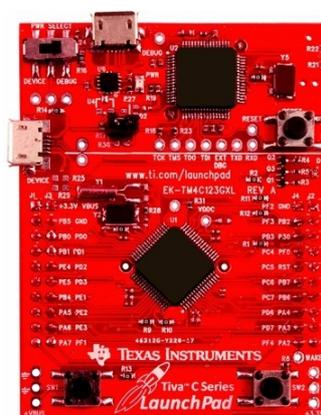


Figura 6.9: Foto placa de circuito impresso *Tiva Launchpad* contendo o microcontrolador TM4C123G fabricada por *Texas Instruments*, utilizada para controlar os potenciômetros digitais do módulo REAC e também para transformar os sinais analógicos em sinais digitais, somente para a interface gráfica poder calcular os valores de SNR.

Para programar o microcontrolador TM4C123G da placa *Tiva Launchpad* foi utilizado o compilador integrado à IDE chamada ENERGIA (ENERGIA, 2019), que permite escrever código-fonte na linguagem *C-Wiring*, semelhante à programação dos módulos Arduino. A Figura 6.10 mostra uma imagem da tela inicial do Editor de código da IDE Energia.

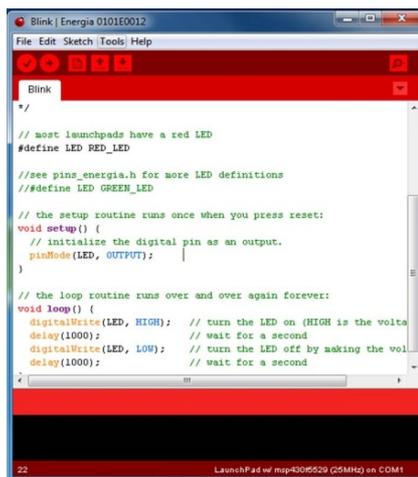


Figura 6.10: Aspecto da IDE do software Energia, utilizado para programar o microcontrolador TM4C123G contido na placa Tiva *Launchpad*, fornecida por *Texas Instruments*.

A Figura 6.11 mostra um exemplo da Interface gráfica do REAC em operação: um sinal gerado pelo módulo MEASim é aplicado à entrada de sinais do REAC, misturado ao ruído branco de intensidade 700mV (ajustável através do primeiro potenciômetro digital, mostrado na Figura 6.4(E)). Pode-se observar pela Figura 6.11 que no momento em que esta tela foi capturada, o valor de SNR era igual a 1371,7 (Figura 6.11-B) e o seu respectivo valor SNR(dB) era igual a 62,7 decibéis (Figura 6.11-C). Na janela inferior da Figura 6.11(A) pode-se ver o componente gráfico *Tchart* da linguagem visual Delphi, imprimindo o gráfico do sinal resultante na saída do módulo REAC, com uma taxa de amostragem (ajustável) igual a 1kHz neste caso (mas pode ser aumentada até o limite de 1 MHz, caso haja necessidade, através do *Software*). Tal interface gráfica, conforme já foi mencionado, foi desenvolvida em linguagem Delphi versão 10.3.1. O potenciômetro “*White Noise*” ajustou a amplitude RMS do ruído branco Gaussiano para 700mV e o potenciômetro CH1 ajustou a amplitude RMS do sinal resultante na saída do sistema para o valor de 1300 mV (RMS). No caso dos testes que geraram a tela mostrada na Figura 6.11, os potenciômetros CH2 e CH3 não estão sendo usados. No uso normal deste subsistema, os potenciômetros devem ser ajustados para o ponto que permite o maior valor de SNR, que também corresponde ao ponto onde ocorre RE.

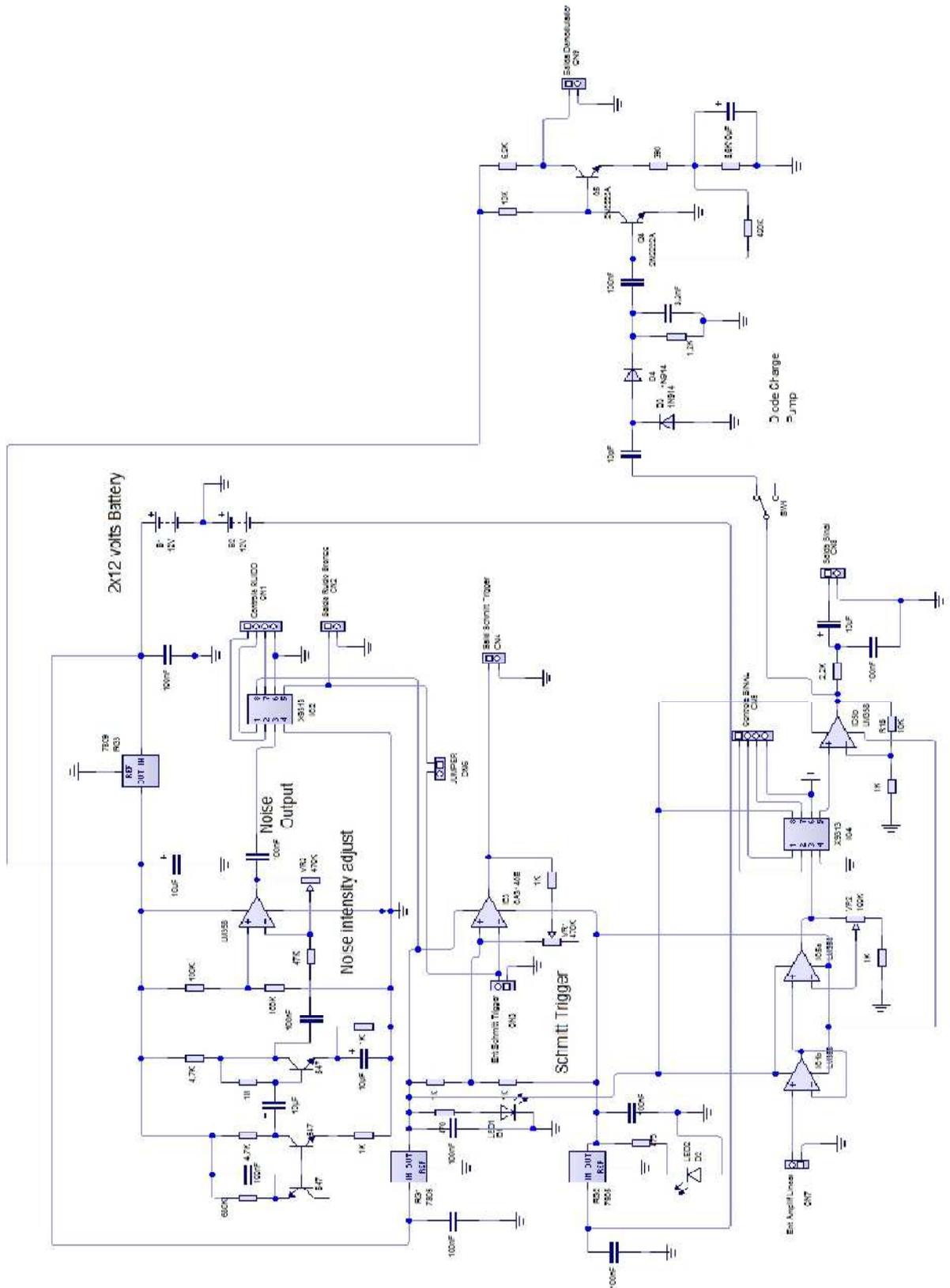
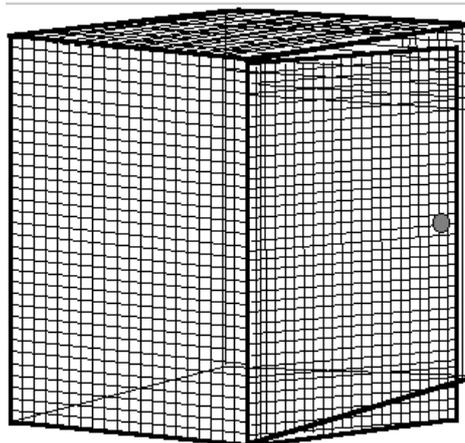


Figura 6.14: Diagrama elétrico completo do subsistema REAC.

6.7 Sistema de Blindagem Eletromagnética

Para reduzir a captação de ruídos induzidos por campos eletromagnéticos externos, uma blindagem especial, denominada "Gaiola de Faraday", foi projetada e construída juntamente com este trabalho. Esta Gaiola de Faraday envolve o soquete e a cultura com a MEA para evitar a captação de ruídos eletromagnéticos. A Figura 6.15 ilustra um esboço para esta blindagem. Na Figura 6.15, a estrutura esboçada é construída em material metálico (alumínio) e toda esta estrutura é ligada a um bom ponto de aterramento elétrico no solo. Uma haste de aterramento, semelhante a aquelas utilizadas em equipamentos de pára-raios, deverá ser instalada nos laboratórios que fizerem uso desta Gaiola.



Faraday cage

Figura 6.15: Esboço de uma blindagem do tipo "Gaiola de Faraday". O equipamento deverá ser colocado no interior desta blindagem durante os experimentos com MEA.

Pela experiência do autor com o uso dos equipamentos fabricados por Multichannel (MCS, 2015), durante visita à Universidade de Gênova (Itália) em Novembro de 2016, o uso desta blindagem não pode ser desprezado. Sem ela, o nível de ruído captado do ambiente externo torna-se muito alto, impossibilitando as medidas das culturas em MEA. Pelas mesmas razões, o equipamento precisa ser alimentado por baterias (e não pela rede elétrica). A rede elétrica no Brasil é do tipo corrente alternada, com frequência igual a 60Hz (em alguns países, esta frequência é de 50Hz) e o ruído de 60Hz induzido eletromagneticamente se propaga através do ar, e seria captado pelos sensíveis circuitos amplificadores, impossibilitando os experimentos.

6.8 Considerações Finais

O Capítulo 6 descreveu em detalhes o desenvolvimento e a construção do módulo de ressonância estocástica, chamado de REAC. Mostrou também sua integração ao sistema como um todo, o qual passa a se chamar SASMARE quando incorpora o recurso de RE. Um *Software* que é executado no computador PC também foi desenvolvido em linguagem Visual Delphi, e a interface gráfica de controle é mostrada e explicada neste Capítulo. Este *Software* tem por função controlar o módulo REAC e calcular o valor da SNR em tempo real.

O próximo Capítulo descreve os resultados experimentais dos testes efetuados em ambos os sistemas que foram implementados: o sistema convencional de registro de sinais em MEA e o sistema REAC, o qual incorpora ressonância estocástica.

Capítulo 7

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Neste Capítulo são relatados os resultados dos experimentos efetuados no laboratório de fisiologia da Universidade Federal de Uberlândia em Julho de 2019 e também alguns resultados experimentais obtidos em laboratório de eletrônica do autor. Os resultados mostraram que os equipamentos desenvolvidos são funcionais e atendem aos objetivos propostos, com vantagens para o sistema que utiliza ressonância estocástica, quando aplicado em sinais de pequena intensidade provenientes de MEA.

7.1 Setup experimental

Para validar o equipamento completo que foi desenvolvido, vários experimentos foram planejados na UFU (Universidade Federal de Uberlândia), sob a coordenação da bióloga profa. Dra. Celina Lotufo, do Departamento de Fisiologia no Instituto de Ciências Biológicas, no dia 6 de Julho de 2019. Os experimentos constaram do cultivo de 3 culturas in vitro de neurônios provenientes de gânglios de raiz de espinha dorsal de ratos da espécie Wistar. A Figura 7.1 mostra o aspecto das culturas de neurônios efetuadas em matrizes de microeletrodos (MEA60) fabricadas pela MultiChannel.

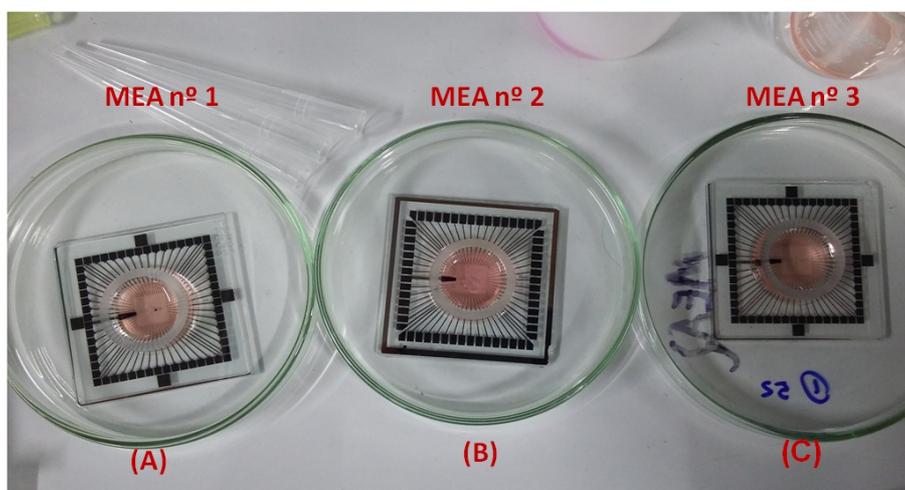


Figura 7.1: Aspecto macroscópico das 3 culturas de neurônios de gânglio dorsal de ratos Wistar, efetuadas em três matrizes de microeletrodos, com 60 eletrodos (MEA60), fornecidas pelo fabricante MultiChannel.

As 3 culturas têm as mesmas características e foram utilizadas em 8 experimentos distintos, assim distribuídos (exceto o experimento 9 que utilizou o simulador MEASim):

a) Experimento nº 1: Neurônios de gânglios de raiz dorsal de ratos Wistar cultivados em MEA. Este experimento foi efetuado com a finalidade de registrar os sinais elétricos emitidos espontaneamente pelos neurônios, sem nenhum tipo de estímulo, em atividade basal. É importante notar que a MEA utilizada neste experimento, mostrada na Figura 7.1 (A) não era nova, e já havia sido utilizada anteriormente em outros experimentos. Este fato pode ocasionar alterações nos resultados, porque MEAs possuem desgaste e devem ser descartadas após algumas utilizações.

b) Experimento nº 2: Neurônios de gânglios de raiz dorsal de ratos Wistar cultivados em MEA, estimulados quimicamente com a adição de uma solução salina de KCl (cloreto de potássio) com concentração igual a 20 mM (miliMol). Também foi efetuado utilizando-se a MEA mostrada na Figura 7.1 (B). O cloreto de potássio é um estimulante químico da atividade neural (VAN DEN POL et al., 1992).

c) Experimento nº 3: Neurônios cultivados na MEA número 2, mostrada na Figura 7.1(B). Trata-se de uma MEA nova, sem uso prévio. Este experimento visou medir a atividade basal dos neurônios, e portanto foi feito sem nenhum tipo de estímulo. Somente o meio de cultura foi adicionado. Uma observação importante é que foi verificado através de exame por microscopia óptica um acúmulo maior de neurônios em torno do eletrodo de número 76 (coluna 7, linha 6) nesta MEA.

d) Experimento nº 4: Neurônios cultivados na MEA número 2, mostrada na Figura 7.1(B). Neste experimento, os neurônios cultivados *in vitro* na MEA número 2 foram estimulados com uma solução de KCl com concentração molar de 30 mM.

e) Experimento nº 5: Neurônios cultivados na MEA número 3, mostrada na Figura 7.1(C). Trata-se também de uma MEA nova. Este experimento visou medir a atividade basal dos neurônios, sem nenhum estímulo.

f) Experimento nº 6: Neurônios cultivados na MEA número 3, mostrada na Figura 7.1(C) são estimulados quimicamente pela adição de uma solução de KCl com concentração igual a 40 mM.

g) Experimento nº 7: A MEA número 2 foi lavada em água corrente, a cultura foi totalmente retirada e foi preenchida com uma solução-tampão de NaCl (cloreto de sódio) com concentração molar igual a 50 mM. Este teste é denominado “Branco 1” e tem por finalidade medir o padrão elétrico registrado na MEA na ausência de qualquer cultura de neurônios. Neste teste não havia nenhuma célula capaz de produzir estímulos elétricos na solução.

h) Experimento nº 8: A MEA número 3 foi lavada com água, e foi preenchida com uma solução-tampão de NaCl (cloreto de sódio) com concentração molar igual a 50 mM de modo idêntico ao efetuado no experimento nº7. Este teste é denominado “Branco 2” e tem a mesma finalidade do teste nº 7, isto é, avaliar o nível de ruído elétrico gerado pelo próprio equipamento, na ausência de culturas de células na matriz.

i) Experimento nº9: Registro da atividade elétrica colocando-se no equipamento o Simulador MEASim (*Mea Simulator*). O Simulador MEASim é mostrado na Figura 7.2(A) ao lado de uma MEA60 padrão, em (B).

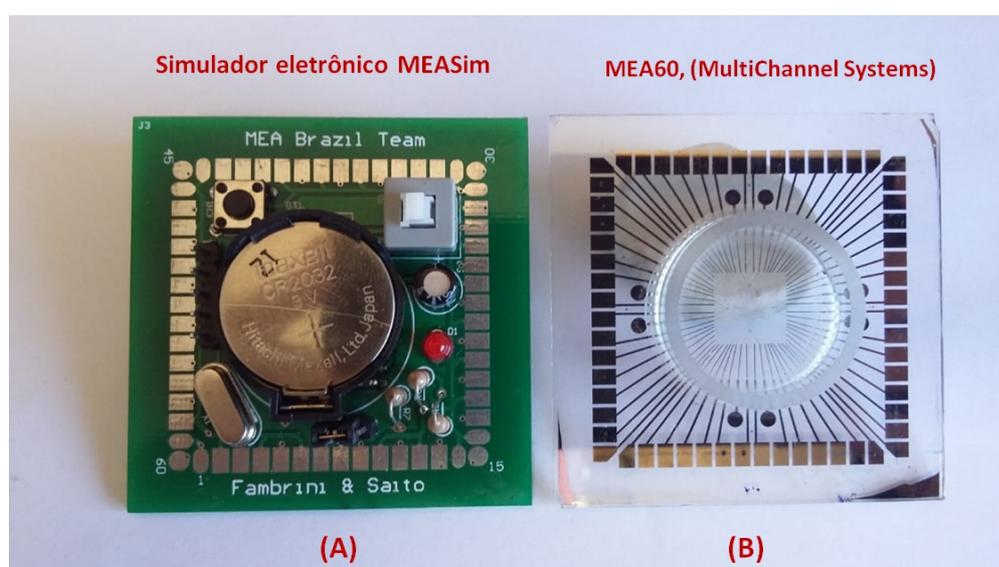


Figura 7.2: Aspecto do simulador eletrônico MEASim (A), desenvolvido pelo autor durante seu trabalho de Mestrado; ao lado, em (B), é mostrada uma MEA60 padrão, fornecida por MultiChannel.

Durante os experimentos, o equipamento foi montado no interior de uma Gaiola de Faraday conforme é mostrado na Figura 7.3. Nesta Figura é mostrado o sistema convencional descrito no Capítulo 3 pronto para efetuar os registros da atividade eletrofisiológica das culturas em MEA, nos 9 experimentos acima descritos.



Figura 7.3: Equipamento de registro dos sinais em MEA, montado no interior da Gaiola de Faraday, desenvolvida pelo autor neste projeto.

Todos os registros foram efetuados com o equipamento desenvolvido.

A Figura 7.4 mostra em detalhes este equipamento, no momento do experimento nº 9.

Todos os experimentos com animais foram feitos com a autorização do Conselho de Bioética da Universidade Federal de Uberlândia, seguindo protocolos deste Conselho, de modo a evitar o sofrimento dos animais. Os biólogos da UFU ficaram responsáveis por tais experimentos e pelas necessárias autorizações para efetuá-los.

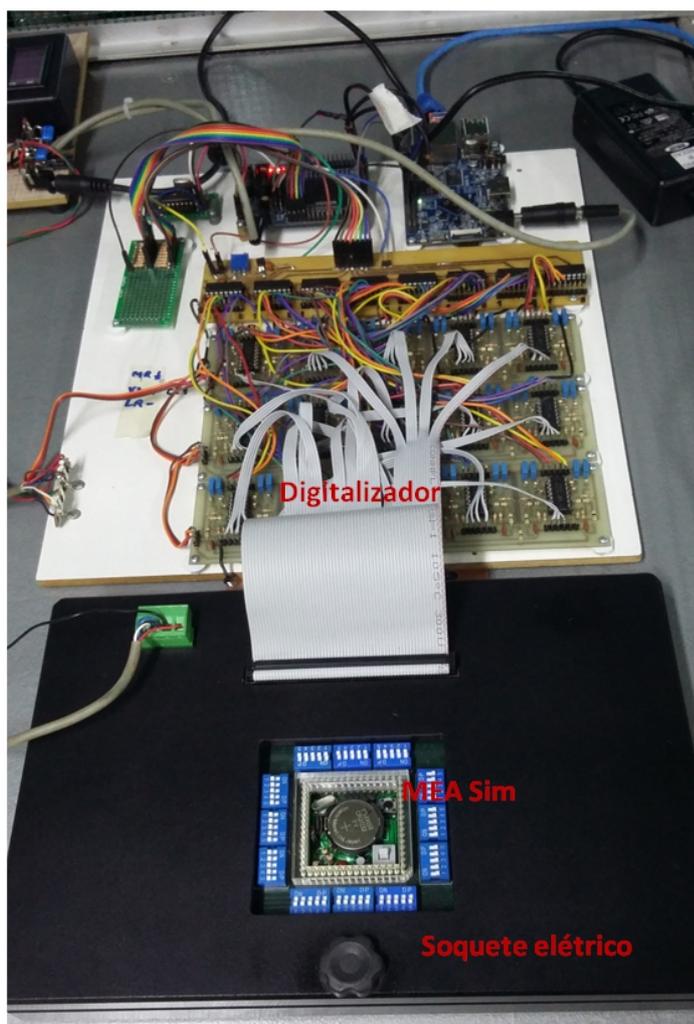


Figura 7.4: Foto mostrando o protótipo do equipamento de registro durante o experimento nº 9. Observar o Soquete elétrico cuja descrição foi feita no Capítulo 3 deste trabalho.

7.1.1 Preparação das culturas em MEA

O preparo das culturas de neurônios em MEA foi efetuado pela equipe da profa. Dra. Celina Lotufo (UFU) como já mencionado, e seguiu o protocolo descrito no documento “MEA -Application Note: Neuronal Cell Culture – Cultivation, Recording and Data Analysis”, fornecido no website de MultiChannel Systems (MCS, 2015). Um resumo dos passos utilizados nesta preparação é descrito a seguir:

a) Limpeza das MEAs:

- Deixar a MEA em 1% de solução *Terg-A-Zyme* durante a noite
- Lavar bem as MEAs com água destilada deixar na água por algumas horas durante a noite;

Deixar secar. Em seguida, colocar a MEA em um limpador de plasma por um tempo entre 1 e 2 minutos.

b) Revestimento da MEA:

- Preparar uma solução de *Poli-D-Lisina* (PDL):
- Diluir 100 µl de PDL (1 mg/ml) em 10 ml de água destilada estéril (1:100);
- Adicionar ~1 ml desta solução por MEA, no centro da MEA, à temperatura ambiente, e manter durante aproximadamente uma hora;
- Remover a solução PDL, lavando-se a MEA com o seguinte procedimento:
 - Adicionar água destilada estéril e remover; repetir duas vezes;
 - Preparar uma solução de *Laminina* (Lm): 20 µl Lm (1 mg/ml) em 250 µl de DPBS +
 - Colocar 25 µl sobre a área coberta pelos microeletrodos.
 - Deixar à temperatura de 37°C até ao final da preparação (aproximadamente 4 horas);
 - Remover Lm;
 - Adicionar 30 µl de meio Neurobasal e remover; repetir duas vezes;
 - Adicionar 30 µl de meio Neurobasal e manter à temperatura de 37°C até que as células estejam prontas para o plaqueamento.

c) Isolamento dos neurônios DRG:

- Preparar 4 pequenas placas de Petri (35 mm) e 2 placas grandes (100 mm) com DPBS; após isso, colocá-las à temperatura de 4°C;
- Realizar a eutanásia do rato, usando dióxido de carbono;
- Decapitar o animal com uma tesoura grande e afiada ou com uma guilhotina;
- Remover toda a coluna vertebral e colocá-la em DPBS-;
- Colocar a coluna com a parte ventral para cima. Aparar bem e remover os tecidos, de acordo com as técnicas cirúrgicas veterinárias;
- Cortar cuidadosamente a coluna vertebral na linha medial;
- Colocar metade desta coluna em DPBS-, à temperatura de 4 °C;
- Colocar a outra metade em DPBS+ e começar a colher os gânglios (até 30 DRG para cada rato) removendo cuidadosamente com a ajuda de um estereomicroscópio;
- Recolher em DPBS- e manter a 4°C (no total, tem-se placas de 4 x 35 mm com 7-8 gânglios cada).

- Aparar bem, removendo os nervos dos gânglios nas Culturas Celulares Neurais.

d) Digestão Enzimática e Dissociação Celular:

- Colocar 5 ml de solução de digestão 1 filtrada (0,2 μm) em uma pequena placa de Petri;

- Adicionar todos os gânglios;

- Incubar a 37°C por 40 min;

- Remover a solução de digestão 1;

- Adicionar 5 ml de solução de digestão 2 filtrada (0,2 μm);

- Incubar a 37°C por 40 min. Mexer delicadamente a cada 15 min;

- Adicionar 60 μl de DNase I (80 unidades *Kunitz/ml*) a 6 ml de meio DMEM;

- Remover a solução de digestão 2;

- Adicionar solução DNase usando uma pipeta Gilson de 1 ml bem esmagada (x5), mas com cuidado até que os gânglios estejam bem dissociados;

- Filtrar através de um filtro de células (40 μm)

- Adicionar meio DMEM até 10 ml

- Centrifugar a 126 g (1000 tr/min) durante 5 minutos a RT;

- Cuidadosamente, aspirar o sobrenadante;

- Suspende novamente o pellet em 200 μl de meio Neurobasal-A (com NGF e

N2)

e) Semeando neurônios DRG na MEA:

- Usar um hemocitômetro para contar o número de células por μL . Rendimento esperado: 100-300 células/ μl ;

- Diluir as células para 100 células/ μl ;

- Retirar a MEA da incubadora;

- Aspirar o meio (uma MEA de cada vez) e adicionar suspensão celular suficiente para restar cerca de 100.000 células/ cm^2 dentro do prato central da MEA;

- Manter a 37°C na incubadora e, após 1-2 horas, adicionar cuidadosamente 800 μl de meio Neurobasal;

- No dia seguinte, trocar 50% do meio com meio Neurobasal fresco.

7.1.2 Leitura dos dados registrados

Os dados registrados pelo equipamento são primeiramente salvos em arquivos de formato .TXT e depois convertidos para arquivos de formato .CSV (*Comma Separated Values*) através de um programa conversor. Uma vez que arquivos do tipo .CSV podem ser abertos e lidos pelo programa *Microsoft Excel*, inicialmente tais arquivos foram abertos para verificação por meio deste *software*. A Figura 7.5 mostra o aspecto de parte da tela do *software* Excel, mostrando parte dos dados que foram registrados no experimento nº 3. Observar a primeira linha de cada coluna, que descreve de qual chip do Conversor AD vieram os sinais da coluna e também de qual canal deste chip.

	A	B	C	D	E	F	G
1	Canal: 1, Chip: 1	Canal: 1, Chip: 2	Canal: 1, Chip: 3	Canal: 1, Chip: 4	Canal: 1, Chip: 5	Canal: 1, Chip: 6	Canal: 1, Chip: 7
2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
3	2466	1186	162	0	1698	930	98
4	418	2210	0	418	418	98	2978
5	418	2210	0	2466	1698	1954	2978
6	418	1186	0	1442	1442	977	1954
7	1442	674	0	1442	930	1954	1954
8	418	1186	0	1442	930	465	1954
9	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
10	2466	1186	0	1442	1442	1489	1954
11	1442	418	0	1442	930	1954	1954
12	418	418	0	2466	1442	1954	2978
13	2466	418	0	1442	1442	465	1954
14	418	418	0	2466	1442	1489	1954
15	418	418	0	418	1442	2978	930
16	418	418	0	1442	1442	465	1954

Figura 7.5: Arquivos de formato .CSV de registro dos sinais elétricos provenientes da MEA do experimento número 3, que foram visualizados por meio do programa Microsoft Excel. Observar na primeira linha de cada coluna a marcação do chip e do canal do chip do qual provém cada sinal presente em cada coluna.

Arquivos de formato .CSV também podem ser manipulados utilizando-se o programa MATLAB e neste Capítulo, os gráficos foram impressos com este *software*. Os arquivos .CSV são registrados no computador PC em lotes de tamanho em torno 22 megabytes cada, para facilitar sua visualização. Caso não se procedesse desta forma, poderiam ser produzidos arquivos muito grandes em termos de ocupação de memória, o que tornaria difícil seu manuseio pelo computador. Cada número em cada coluna representa uma amostra de tensão elétrica registrada em um dos canais: os números possuem valores entre 0 e 4095

(resolução de 12bits) e correspondem aos seguintes níveis de tensão verdadeiros em cada entrada do conversor AD:

- 0 (zero) corresponde a -2.5 volts;
- 2048 corresponde a 0 volts (valor de *off-set*).
- 4095 corresponde a + 2,5 volts.
- O valor de *off-set* (2048) é garantido pela presença dos capacitores nos circuitos dos pré-amplificadores, conforme explicado no Capítulo 3.

A conversão é linear entre estes dois extremos, e qualquer outro valor pode ser obtido através de uma regra de proporção direta. A equação de conversão para um valor X encontrado nas Tabelas da Figura 7.5 é então mostrada em (7.1):

$$Y = \frac{5.0}{4095} (x-2048) \quad (7.1)$$

onde Y é o valor da tensão de saída real presente em uma determinada entrada do conversor AD. Para saber qual é o valor de tensão verdadeira lida no eletrodo da MEA é necessário dividir Y pelo produto dos ganhos do amplificador ($G=11$) e do pré-amplificador ($G=102$) o que equivale a dividir a variável Y por 1127. Então, a tensão presente no eletrodo da MEA relaciona-se com o valor X mostrado na Figura 7.5 pela seguinte equação final, (7.2):

$$U = \frac{\left\{ \frac{5.0}{4095} (x-2048) \right\}}{1127} \quad (7.2)$$

onde U é o valor verdadeiro da tensão (em volts) registrada em cada eletrodo da MEA, pois já foi descontado os ganhos dos circuitos amplificadores.

É importante notar que o tempo entre uma leitura de tensão e outra é sempre igual a $T = 1/10^4$ segundos, pois a frequência de amostragem foi fixada pelo firmware do FPGA em 10KHz. Então, entre uma amostra e outra temos sempre um tempo igual a 0,0001 s. Mas é importante frisar também que a todo momento são lidas 8 amostras (pois são 8 conversores AD) e não existe nenhum tempo entre estas 8 amostras (pois são simultâneas). Desta maneira o canal 1 do chip1, canal 1 do chip 2, canal 1 do chip 3 canal 1 do chip 8 são lidos simultaneamente. A mudança para a leitura do canal 2 de todos os chips é que demora 0,0001 s. O *software* que fará a análise

dos dados (e que está neste momento sendo desenvolvido por outro pesquisador) deverá levar este fato em conta no momento de imprimir os gráficos em tela.

7.2 Software para leitura e análise de dados

O *software* para leitura dos dados registrados no equipamento desenvolvido neste trabalho está sendo escrito no momento da elaboração desta tese por outro pesquisador do mesmo grupo, o prof. Dr. João Fernando Mari, que trabalha na Universidade Federal de Viçosa, no *Câmpus* da cidade de Rio Paranaíba. Este *software*, cujo trabalho ainda se encontra em desenvolvimento, foi denominado “*mea-sig*” e sua interface gráfica é mostrada na Figura 7.6.

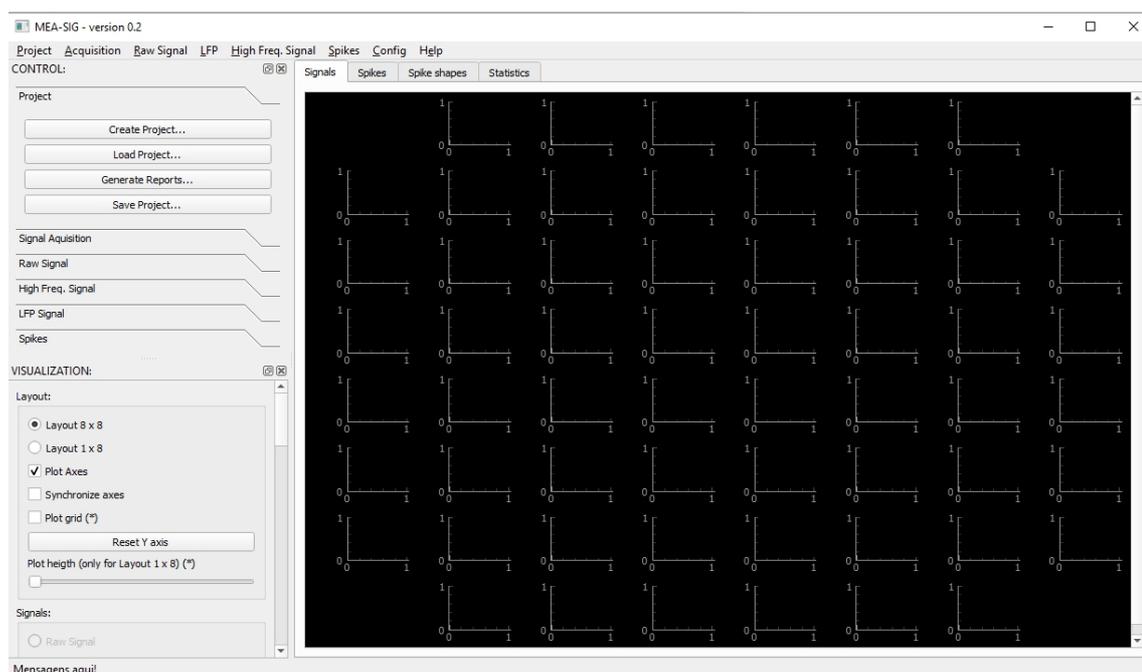


Figura 7.6: Interface gráfica do software *mea-sig*, em desenvolvimento. Esta interface permite visualizar o sinal elétrico presente em cada um dos 59 canais da MEA, bem como proceder análise de *spikes*, *bursts* e outras análises estatísticas nos sinais.
Agradecimentos ao prof. Dr. João Fernando Mari (UFV).

O *software mea-sig* permite escolher visualizar individualmente cada canal, através de uma matriz que representa a posição real de cada eletrodo na MEA. A Figura 7.7 mostra esta matriz, que se encontra na interface gráfica do *software*.

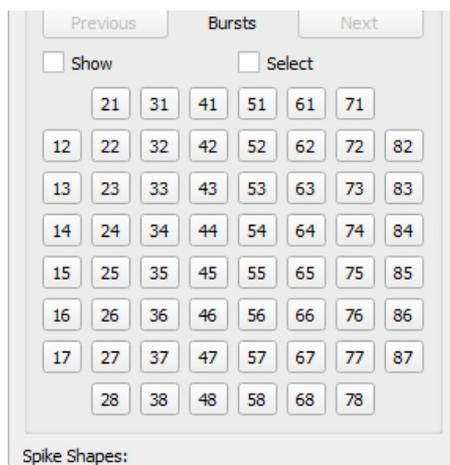


Figura 7.7: Grade que representa as posições verdadeiras de cada eletrodo na MEA: na interface gráfica do software mea-sig é possível escolher visualizar um canal em particular, clicando em cima da sua posição nesta grade.

7.3 Gráficos dos registros

7.3.1 Experimento nº 1

Com a finalidade de apresentar alguns resultados dos experimentos 1 a 9 mencionados, o *software* MATLAB versão R2014 foi utilizado para imprimir os gráficos à partir dos arquivos **.CSV** gerados pelo sistema. Um script capaz de converter os dados do formato **.CSV** para o formato **.mat**, próprio do MATLAB, também foi desenvolvido. Os gráficos são apresentados a seguir e correspondem a trechos significativos que representam o funcionamento do equipamento que está sendo validado. A Figura 7.8 mostra alguns gráficos obtidos a partir dos registros do experimento 1, MEA 1 em atividade basal.

Oito canais são mostrados simultaneamente na mesma Figura. Na Figura 7.8 que corresponde aos sinais elétricos registrados no experimento nº 1, canais 1 até 8 respectivamente (eletrodos 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72 e 82 da MEA, cuja posição é representada na Figura 7.7) pode-se observar apenas o ruído resultante da atividade elétrica do próprio equipamento. Nenhum sinal típico de neurônio pode ser distinguido na Figura 7.8 (por exemplo: *spikes* ou *bursts*). Isso está de acordo com o esperado, porque este primeiro experimento foi efetuado em

atividade basal, sem nenhuma excitação na matriz. Assim, é esperado que em condições de repouso, nenhuma atividade elétrica seja observada. Com a finalidade de melhor avaliar os níveis de ruído elétrico produzido pelo próprio equipamento durante um teste real, a Figura 7.9 mostra um registro de apenas um canal (canal 13, correspondente ao eletrodo na posição 53 na MEA) onde pode-se observar e medir os níveis de ruído.

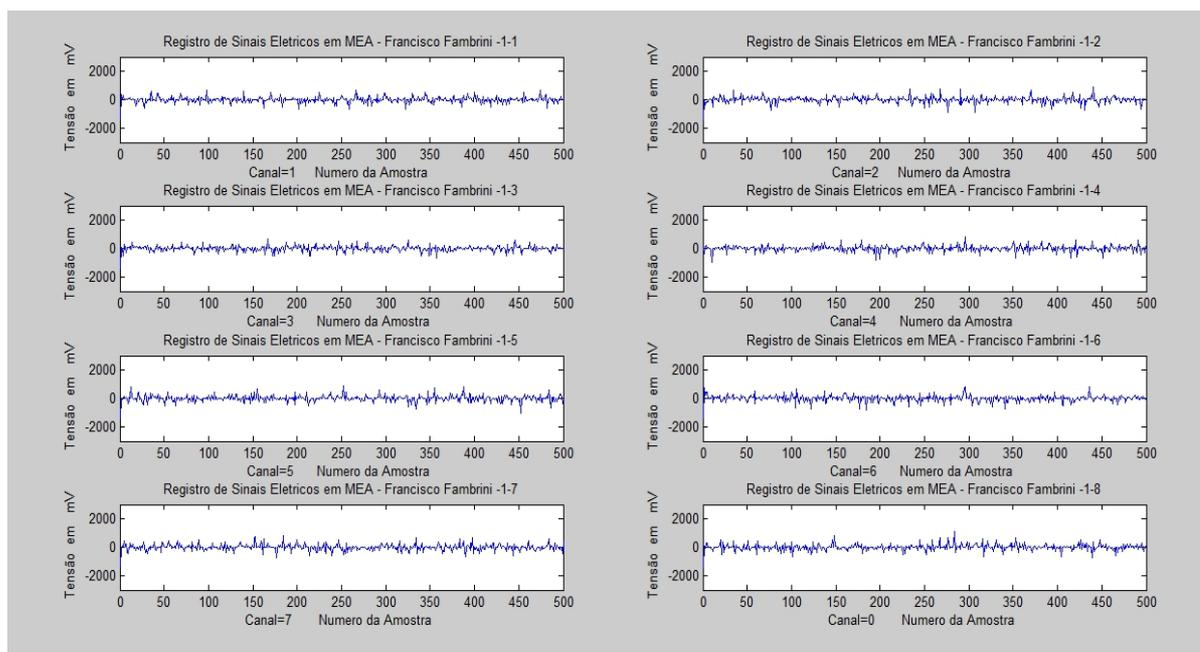


Figura 7.8: Gráficos correspondendo aos registros dos 8 primeiros canais do experimento nº 1. Observar o sinal correspondente ao ruído elétrico gerado pelo aparelho.

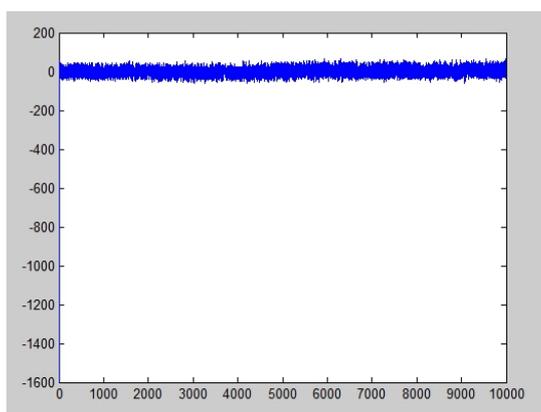


Figura 7.9: Registro do canal 13 (eletrodo na posição 53 da MEA) durante o experimento nº1. Neurônios em atividade basal não produziram sinais elétricos.

Os valores do arquivo de formato .CSV cujo gráfico é mostrado na Figura 7.9 foram submetidos à equação que permite calcular o nível RMS do ruído, que é a equação (7.3):

$$U = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2} \quad (7.3)$$

O valor calculado foi igual a 37 mV (RMS) na entrada do conversor AD. Este valor de ruído é bastante elevado e ainda precisa ser melhorado, pois implica que um sinal de amplitude RMS igual ou menor que $(37 / 1127 = 32,8 \mu\text{V})$ presente nos eletrodos da MEA não poderia ser lido, pois seu nível seria menor do que o nível do ruído gerado pelo próprio equipamento convencional de registro em teste.

7.3.2 Experimento nº 2

A Figura 7.10 mostra os registros de parte do sinal elétrico presente no canal 13 do eletrodo na posição 53 da MEA 1, durante o experimento 2, com excitação química através da adição da solução de cloreto de potássio na matriz. Nenhuma diferença significativa foi observada (nem neste, e nem em nenhum outro canal desta MEA) neste experimento, comparando a Figura 7.10 com a Figura 7.9. Esta aparente inatividade elétrica pós-excitação poderia ser explicada pelo fato da MEA 1 (na qual este experimento foi efetuado) ser já bastante usada e desta forma seus eletrodos não estariam aptos a captar os sinais elétricos, devendo esta MEA ser descartada.

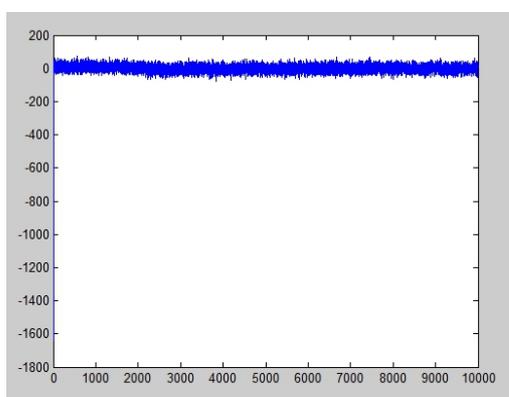


Figura 7.10: Registro do canal 13 da MEA 1, durante o Experimento nº 2. Nenhuma atividade elétrica foi registrada neste experimento, nem neste, e nem em nenhum outro canal, comparando a Figura 7.10 com a Figura 7.9 – ambas representam o mesmo canal, antes e após o estímulo.

A análise matemática do sinal por meio da aplicação da equação (7.3) (através do *software* MATLAB) resultou num nível RMS de sinal igual a 35mV, muito similar ao Experimento nº1, o que evidencia a ausência de estímulos neurais neste experimento.

7.3.3 Experimento nº 3

Este experimento, ao contrário dos dois que o precederam, foi efetuado utilizando-se a MEA nº 2, com pouco uso (quase nova) portanto seus eletrodos estavam em bom estado. Neste caso, o registro da atividade elétrica dos 59 canais também foi feita sem estimulação, em atividade basal (neurônios em repouso) conforme já mencionado. A Figura 7.11 mostra o resultado do registro efetuado no canal 39 do equipamento (na verdade, para ser fiel à notação adotada no arquivo .CSV, corresponde ao canal 7 do chip 5) o qual equivale ao eletrodo na posição 76 da MEA (posição esta mostrada na Figura 7.7). Esta posição foi escolhida porque foi observado pelos biólogos uma forte presença de neurônios em torno deste eletrodo.

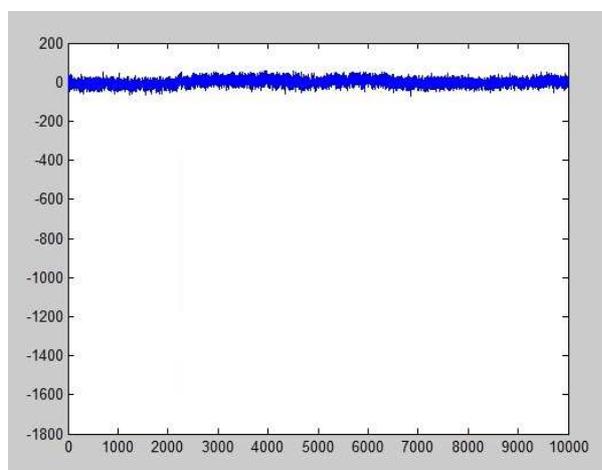


Figura 7.11: Registro da atividade elétrica em torno do eletrodo na posição 76 da MEA nº 2 no Experimento nº 3. Este registro é feito sem estímulos.

Nesta Figura 7.11 não se verifica atividade elétrica proveniente dos neurônios. A observação dos demais canais para este mesmo experimento também não mostrou nenhuma atividade elétrica significativa. Entretanto, ao calcular o valor RMS médio do ruído neste caso, foi obtido um valor ligeiramente maior em relação aos experimentos anteriores: 44mV RMS, o que pode ser atribuído ao ruído biológico.

7.3.4 Experimento nº 4

Neste experimento, a mesma MEA nº 2 usada no experimento anterior, foi estimulada com a adição da solução de KCl. Analisando-se vários trechos do sinal elétrico em torno do eletrodo na posição 76 da MEA, foi escolhido o trecho exatamente onde ocorre a adição da solução de KCl na MEA nº 2, resultando no gráfico mostrado na Figura 7.12.

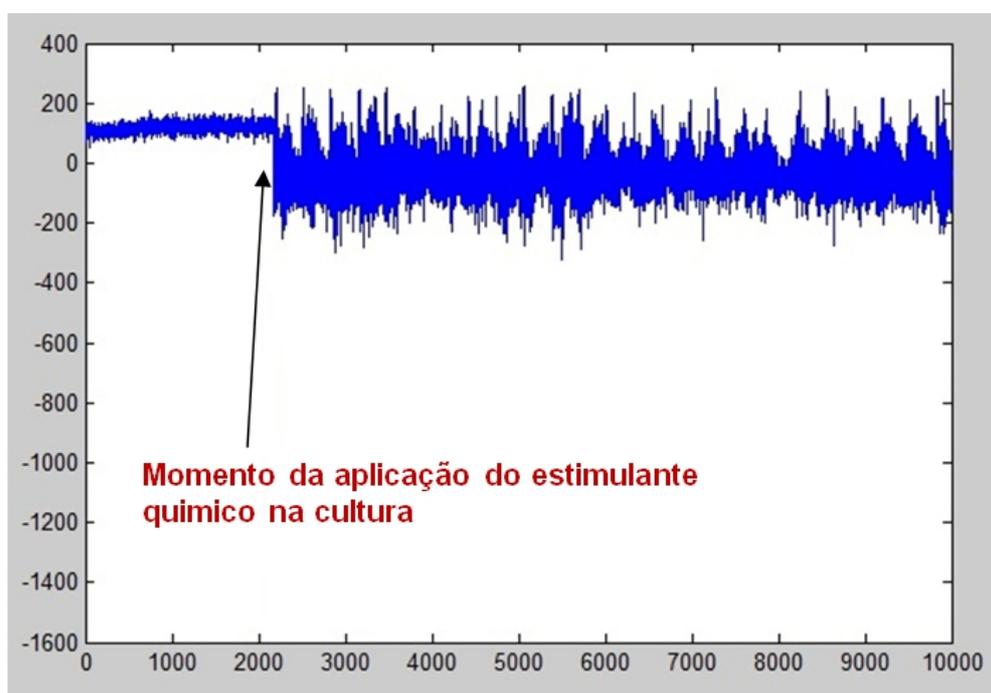


Figura 7.12: Registro do sinal elétrico do eletrodo 76 da MEA nº 2 no momento da aplicação do estímulo químico com solução de KCl na cultura do Experimento nº 4.

A alteração no padrão elétrico produzido é notável a olho nu. A amplitude das oscilações aumentaram de um valor inicial (antes da amostra de número 2000) igual a 44mV (RMS) para cerca de 370mV (RMS) após a aplicação da solução de KCl. Inegavelmente o sinal elétrico resultante da estimulação dos neurônios DRG foi registrado neste experimento nº 4, reagindo ao estímulo da substância química. Para comprovar esta hipótese, continuou-se analisando os sinais deste mesmo eletrodo, na sequência temporal. Após cerca de 2 minutos, foi encontrado o seguinte registro no mesmo canal (eletrodo posição 76), mostrado na Figura 7.13.

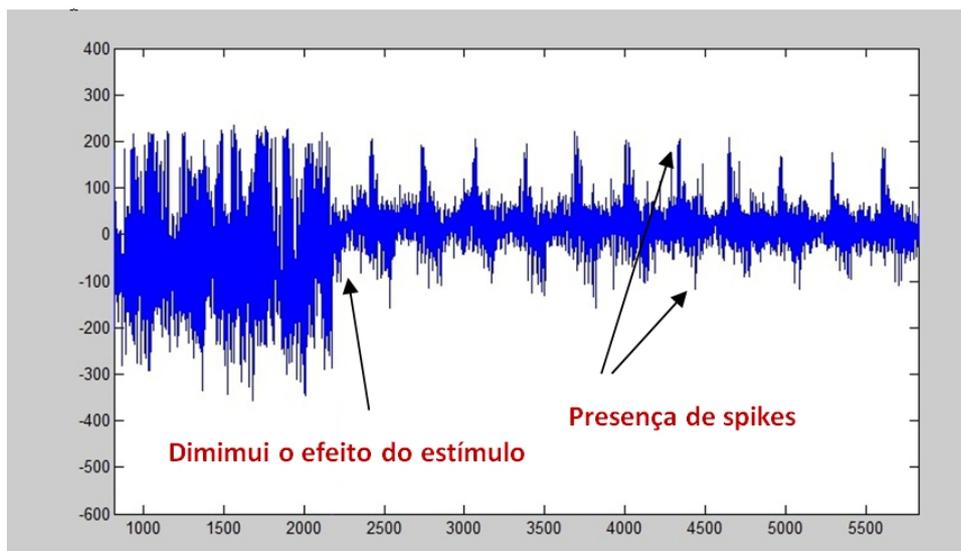


Figura 7.13: Registro da atividade elétrica em torno do eletrodo na posição 76 da MEA nº 2, Experimento nº 4, cerca de 2 minutos após a aplicação do estímulo químico de KCl.

Na Figura 7.13 é possível observar o momento em que o efeito da estimulação química diminui pela própria atividade de absorção do tecido biológico, porém não cessa por completo: os neurônios em torno do eletrodo 76 passam a disparar num padrão típico de *spikes* e *bursts*. Este foi sem dúvida um dos resultados mais importantes na validação do equipamento.

7.3.5 Experimento nº 5

Registros feitos na MEA nº3 em atividade basal, sem estímulos. A Figura 7.14 mostra o registro dos canais 1 até 8, correspondentes aos eletrodos nas posições 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72 e 82, posições estas que são mostradas na Figura 7.7. Por razões ainda não esclarecidas os eletrodos nas posições 32, 72 e 82 não registraram nenhuma atividade, nem mesmo o ruído. Pela Figura 7.14 pode-se ver que o sinal elétrico nestes canais é nulo. Provavelmente isto foi devido à falha do equipamento no momento de registrar tais canais, ou então falha na MEA. Isto ocorreu somente com a MEA nº 3 e ocorreu durante todo o experimento nº 5, em diversos canais da MEA nº 3, apesar de ser um dispositivo com pouco uso, quase novo, segundo informações do laboratório. O autor acredita que a falha possa ser

desta MEA, porque nas outras duas, este fenômeno não ocorreu. Porém, alguma falha no Soquete ou no amplificador não pode ser descartada.

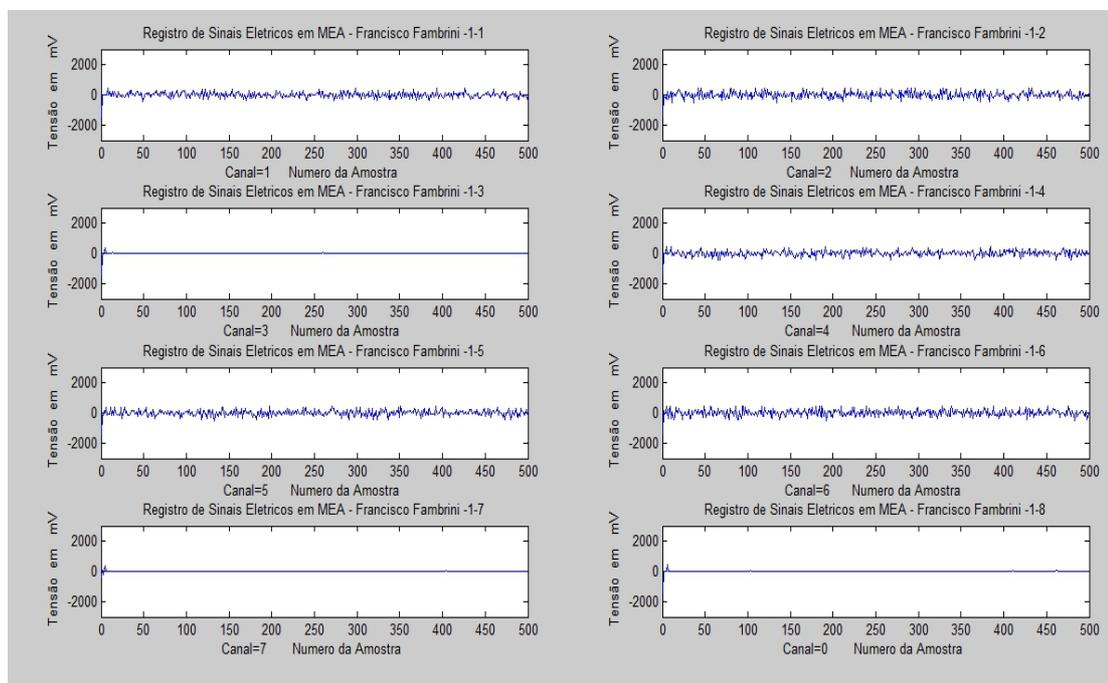


Figura 7.14: Registro da atividade elétrica dos neurônios nas posições 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72 e 82 da MEA nº 3, Experimento 5.

Os canais 1, 2, 4, 5, 6 mostrados na Figura 7.14 registraram sinais de ruído normalmente, em nível basal. Nenhuma atividade de *spikes* e *bursts* foi verificada neste experimento. O nível RMS de ruído calculado pela equação (7.3) ficou em torno de 40mV, variando um pouco entre os canais.

7.3.6 Experimento nº 6

Neste experimento a MEA nº 3 foi submetida ao estímulo químico com a solução de KCl. A Figura 7.15 mostra os resultados dos registros em 4 canais neste Experimento.

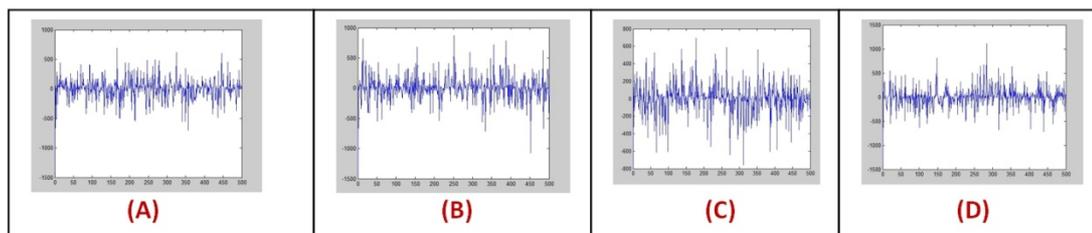


Figura 7.15: Registro de atividade elétrica nos canais 1, 2, 4 e 5 (posições 12, 22, 42 e 53 na MEA) para a MEA nº 3, Experimento nº 6, após o estímulo químico.

Na Figura 7.15-(A) é mostrado o registro dos sinais elétricos no canal 1, correspondente à posição 12 da MEA; em 7.15-(B) é mostrada a atividade elétrica no canal 2 (eletrodo 22), em 7.15-(C) o registro do canal 4 (eletrodo 42) e finalmente, em 7.15-(D) é registrado o canal 5 (posição 52 na MEA). Em todos estes 4 registros pode-se perceber, comparando-se com os mesmos registros mostrados na Figura 7.14, um aumento na atividade elétrica dos respectivos canais pós estímulo químico. As amplitudes RMS dos sinais nestes canais, calculadas pelo MATLAB aplicando-se a equação (7.3) foram 376mV, 394mV, 422mV e 376 mV respectivamente. Todos os valores são da ordem de 10 vezes maiores do que os valores registrados em níveis basais mostrados na Figura 7.14 anterior.

7.3.7 Experimento nº 7

A MEA nº 2 foi limpa e lavada com água destilada. Após a limpeza, foi novamente colocada no soquete do equipamento de registros, para registrar o sinal denominado “branco 1”, ou seja, sem nenhuma cultura biológica. Este experimento é importante para avaliar os níveis de ruído intrínsecos do equipamento. A Figura 7.16 mostra os registros para os 8 primeiros canais da MEA nº 2 neste experimento.

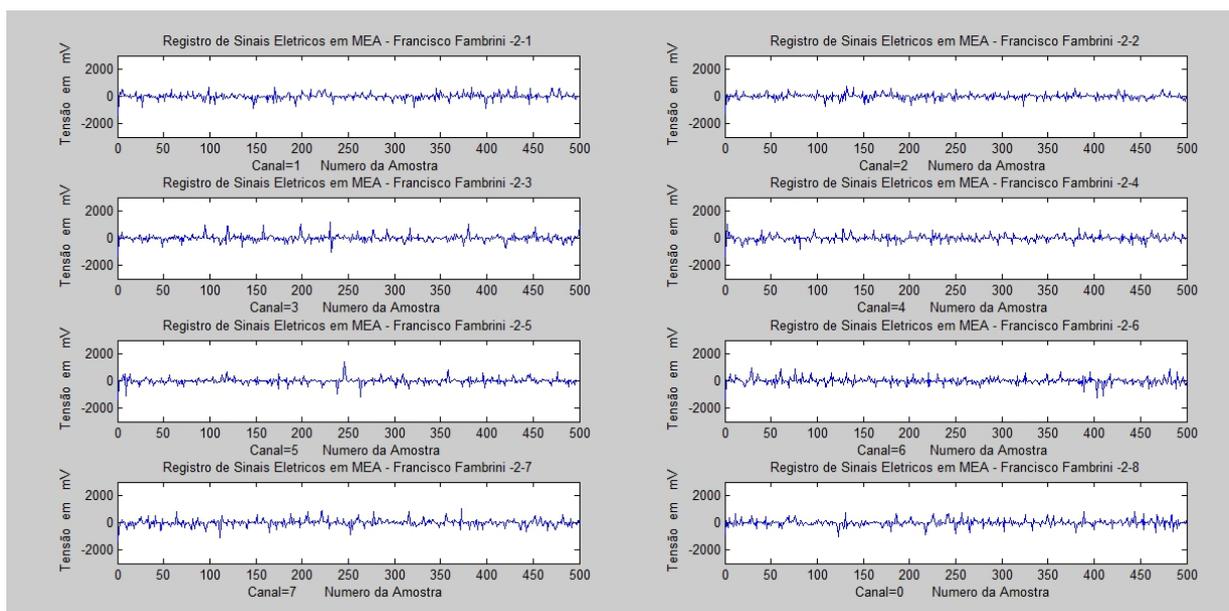


Figura 7.16: Registro do sinal elétrico sem a presença da cultura na MEA nº 2.

Todos os sinais presentes neste experimento são apenas ruídos gerados pelo aparelho, porque neste caso não existe nenhuma cultura na MEA. A MEA foi preenchida com uma solução de cloreto de sódio, com a finalidade de abaixar um pouco a impedância e simular uma situação semelhante a que ocorre (em termos de impedância elétrica) na presença do meio de cultura, uma vez que o pH da solução salina é semelhante ao pH do meio basal utilizado para cultivar as células na MEA, de acordo com *MultiChannel Systems*. A Figura 7.16 registra os níveis de ruído gerados pelos pré-amplificadores, amplificadores, conversores AD, placa FPGA e placa *Orange PI*, somados. Os níveis de ruído obtidos através da aplicação da equação (7.3) são mostrados na Tabela 7.1 a seguir, para cada um dos 8 canais mostrados na Figura 7.16 para os sinal “branco 1”.

Tabela 7.1: Níveis de ruído em cada um dos 8 primeiros canais.

Canal	Posição na MEA	Nível de ruído (V_{RMS})
1	12	37
2	22	35
3	32	41
4	42	48
5	52	31
6	62	32
7	72	50
8	82	38

Conforme já foi mencionado, estes níveis de ruído são elevados para este tipo de equipamento e exigem a construção de um outro protótipo em placa de circuito impresso com tecnologia SMD e uso de *multilayers*, com *layers* de terra entre uma face e outra da placa para solucionar este problema e reduzir tais níveis.

7.3.8 Experimento nº 8

A MEA nº3 foi lavada e procedimento idêntico ao adotado no experimento 7 foi feito para registrar os sinais denominados “branco 2”. MEA sem nenhum tipo de cultura e preenchida com solução aquosa de cloreto de sódio. A Figura 7.17 mostra os sinais registrados nesta MEA agora sem cultura biológica.

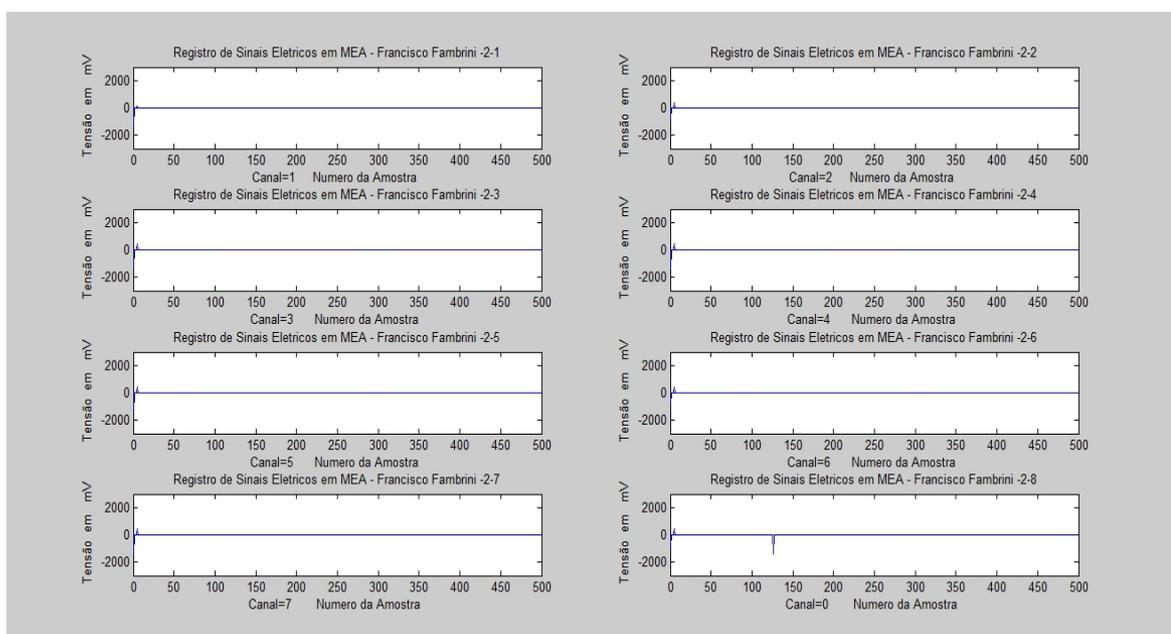


Figura 7.17: Resultado do registro dos sinais “branco 2” para MEA nº 3, correspondendo aos canais de 1 até 8 (posições 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72 e 82 dos eletrodos da MEA).

Curiosamente, neste caso, nem o ruído de instrumentação foi registrado para a MEA nº 3 nestes primeiros 8 canais. Novamente, uma hipótese pode indicar problemas com a MEA. Pode ser que os técnicos que preparam as culturas tenham se confundido com relação ao estado de uso das MEAs nº1 e nº3 e que na verdade, a MEA que está gasta e precisa ser descartada seja a de número 3. Mas de acordo com o relato deles, a MEA usada é mesmo a de número 1. Outra hipótese que poderia explicar a ausência do ruído neste experimento seria a utilização de uma solução salina de cloreto de sódio muito mais concentrada do que a utilizada no

experimento nº 7: de fato, uma solução muito concentrada, por ser iônica, tornaria a água fortemente condutiva e rebaixaria muito a impedância entre os eletrodos da MEA. Quanto menor for a impedância entre os eletrodos e entre estes e o eletrodo de referência (“terra”) menor é o nível de ruído registrado pelo sistema. Infelizmente, o autor só analisou estes dados posteriormente e ficou impossível verificar a hipótese da concentração salina elevada nesta MEA, pois o sistema já havia sido desmontado. Para visualizar simultaneamente todos os canais da MEA nº3 no experimento nº 8, o autor fez uso do *software* mea-sig, gerando a Figura 7.18 a qual mostra o sinal “branco 2” em todos os canais.

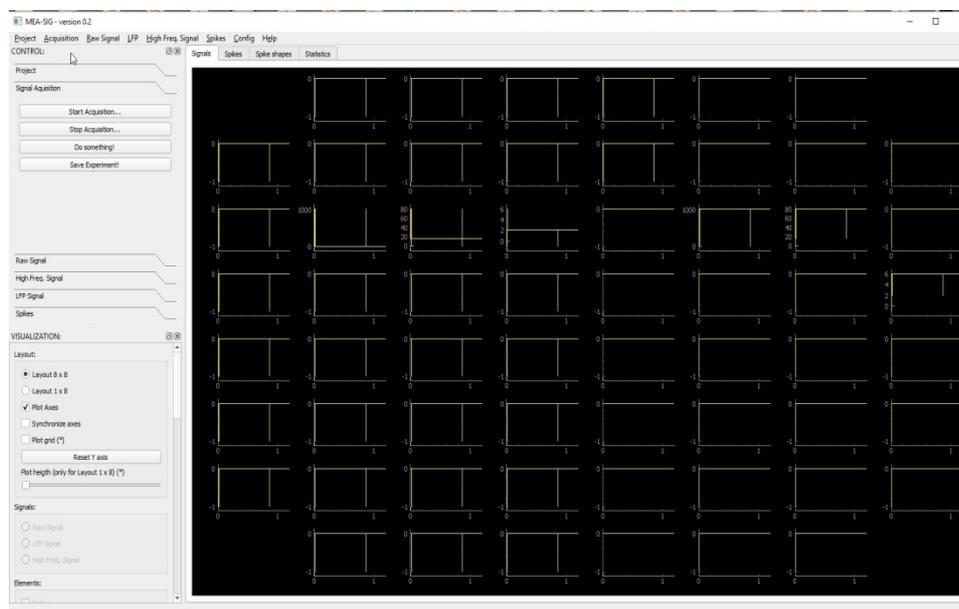


Figura 7.18: Sinais referentes aos 60 canais visualizados com o *software* mea-sig.

Observando-se a Figura 7.18 pode-se perceber que quase todos os sinais estão no nível de referência de *off-set* (zero volts) com a presença esporádica de alguns artefatos (ruídos).

7.3.9 Experimento nº 9

Neste experimento, todo o sistema de registro foi testado colocando-se no soquete o simulador eletrônico MEASim mostrado na Figura 7.2. O simulador MEASim produz em sua saída sinais senoidais de período 18ms. A Figura 7.19 mostra um dos canais do equipamento de registro quando captura os sinais do simulador. O canal representado no gráfico da Figura 7.19 é o canal 3 do chip 6 do

conversor AD, que corresponde ao eletrodo na posição 37 da MEA (ver Figura 7.7). O sinal senoidal amostrado tem amplitude igual a 440 mV pico-a-pico. O sinal original produzido pelo MEASim tem amplitude igual 400 μV em um pad e 200 μV no pad adjacente, conforme já mencionado.

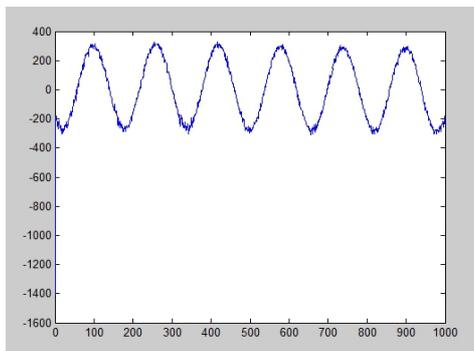


Figura 7.19: Resultado do registro dos sinais do simulador MEASim no canal 3 do chip 6 (posição 37 da MEA).

Multiplicando a amplitude do sinal originalmente produzido por MEASim pelo ganho do amplificador obtém-se o resultado mostrado na equação (7.4):

$$400 \mu\text{V} = 0,4 \text{ mV} \Leftrightarrow 0,4 \times 1127 = 450,8 \text{ mV (pico-a-pico)} \quad (7.4)$$

o qual está muito próximo do resultado visualizado na Figura 7.19.

Com relação à frequência da onda senoidal produzida, pode-se observar que em 1000 amostras tem-se 6 períodos: desta forma, temos 1 período a cada 166,67 amostras. Como o tempo entre uma amostra e outra é igual a 0,0001s, então o período da senóide mostrada na Figura 7.19 é de 16,67 ms, bem próximo do valor esperado (18ms). O erro se deve à dificuldade de interpretação visual do gráfico, observando-se que a senóide também aparece corrompida com ruído.

7.4 Ensaios com o subsistema REAC (Ressonador Estocástico Assistido por Computador)

A Figura 7.20 mostra o aspecto do *setup* experimental preparado para os experimentos de validação do subsistema REAC. O sistema REAC não pôde ser avaliado com neurônios reais cultivados em MEA, até o momento em que este trabalho foi escrito. Porém, o autor pretende fazer estas avaliações e publicar os resultados assim que possível.

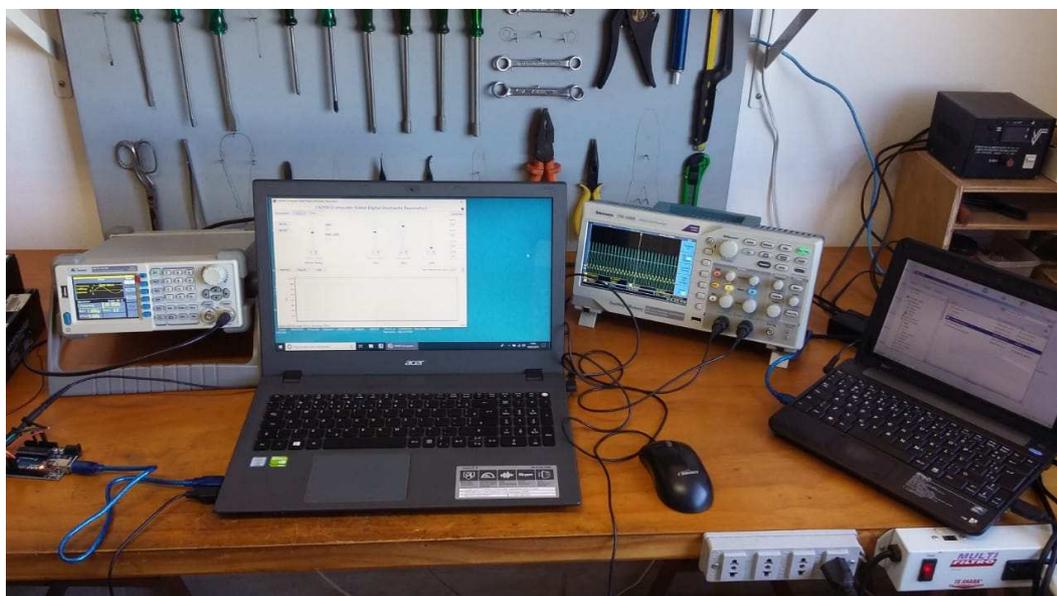


Figura 7.20: Setup experimental para validação do subsistema REAC.

As avaliações do REAC foram feitas utilizando-se o simulador MEASim, modificado de modo a produzir em suas saídas um sinal de amplitude igual a $50\mu\text{V}$ p-p. Para que o simulador MEASim produzisse tal sinal, dois resistores foram substituídos, conforme ilustrado esquematicamente na Figura 7.21(A) e no lay-out da placa, na Figura 7.21(B).

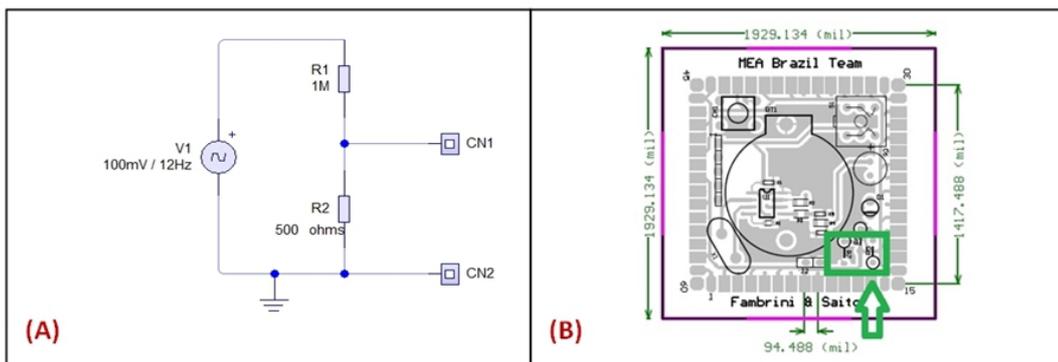


Figura 7.21: (A) Diagrama esquemático mostrando os resistores que compõe o divisor de tensão que foram alterados no projeto do simulador MEASim, de modo a produzir senóides de amplitude indetectáveis sem o uso de amplificadores. Em (B) é mostrada a posição dos resistores substituídos na placa de circuito impresso do MEASim.

O sinal original do MEASim (sem atenuador) tem amplitude igual a 100 mVp-p, frequência de 12Hz e formato de onda senoidal. Com a finalidade de atenuar o sinal, novo divisor de tensão foi calculado usando-se a equação (7.5):

$$V_{saida} = \frac{R_2}{R_1 + R_2} V_{entrada} \Rightarrow 50 \cdot 10^{-6} = \frac{500}{10^6 + 500} 100 \cdot 10^{-3} \quad (7.5)$$

A Figura 7.22 (A) mostra em azul o sinal original produzido pelo MEASim antes da modificação que atenuou o sinal. Já na Figura 7.22 (B) o sinal é mostrado atenuado também em azul. Este sinal, com esta atenuação, não pode ser lido pelo osciloscópio Tektronix modelo TBS1102B porque seu nível se confunde com o nível de ruído do instrumento, conforme mostrado na Figura 7.22(B).

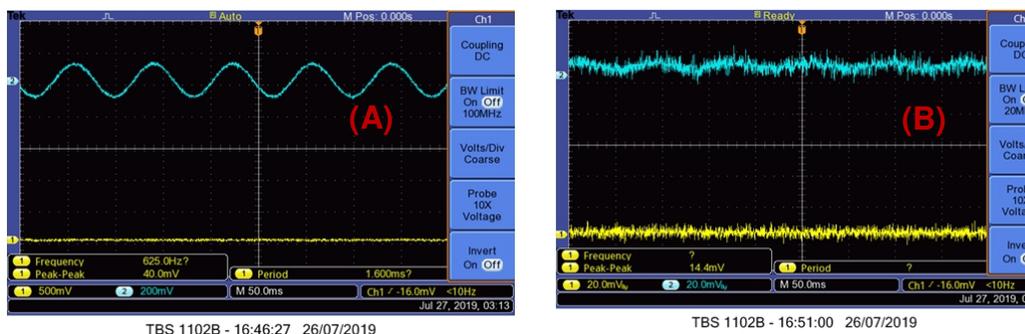


Figura 7.22: (A) Sinal gerado pelo simulador MEASim antes da substituição dos resistores divisores de tensão; (B) Sinal gerado após a substituição dos resistores: observar que o sinal se torna indetectável, pois o ruído de instrumentação é de maior amplitude do que o sinal senoidal gerado.

A Figura 7.23 mostra os resultados dos experimentos feitos com o sinal gerado pelo módulo MEASim, aplicados à entrada do ressonador estocástico REAC. Foi variado apenas o nível de ruído, sendo que o nível de sinal senoidal ficou constante, com amplitude $50\mu\text{V rms}$. Na Figura 7.23(A) o nível de ruído tem amplitude $2,5\text{mVp-p}$ (traço em amarelo). Pode-se observar o sinal senoidal produzido pelo MEASim pelo traço em azul; Pela Figura 7.23(B) pode-se observar que a amplitude do ruído Gaussiano foi aumentada para um valor igual a 5mVp-p . Isso possibilitou a detecção do sinal senoidal somado ao ruído com amplitude igual a 315mVp-p . Aumentando-se a amplitude do ruído para $7,5\text{mVp-p}$ como mostrado na Figura 7.23(C) o sinal senoidal foi detectado com amplitude igual a $1,33\text{Vp-p}$ atingindo-se o ponto de RE; Na Figura 7.23(D) a amplitude do ruído foi aumentada ainda mais, até atingir o valor de 10mVp-p , com o a qual o sinal foi detectado com amplitude de $1,26\text{Vp-p}$. A Tabela 7.2 mostra os respectivos valores de intensidade de ruído, de nível de sinal detectado, de relação sinal/ruído e o ganho em decibéis para cada caso, em todos os testes efetuados.

Tabela 7.2: Resultados para os testes mostrados na Figura 7.23.

Testes Figura 8.23	Ruído (mV p-p)	Sinal+Ruído (mV p-p)	SNR (dB)	Ganho total de amplificação (dB)
(A)	2,5	99,5	6	23
(B)	5	315	18	38
(C)	7,5	1334	22,5 (*)	44,3
(D)	10	1259	21	44
(E)	15	1191	19	43,7
(F)	20	796	16	42
(G)	30	559	12,7	40,5
(H)	40	400	10	39

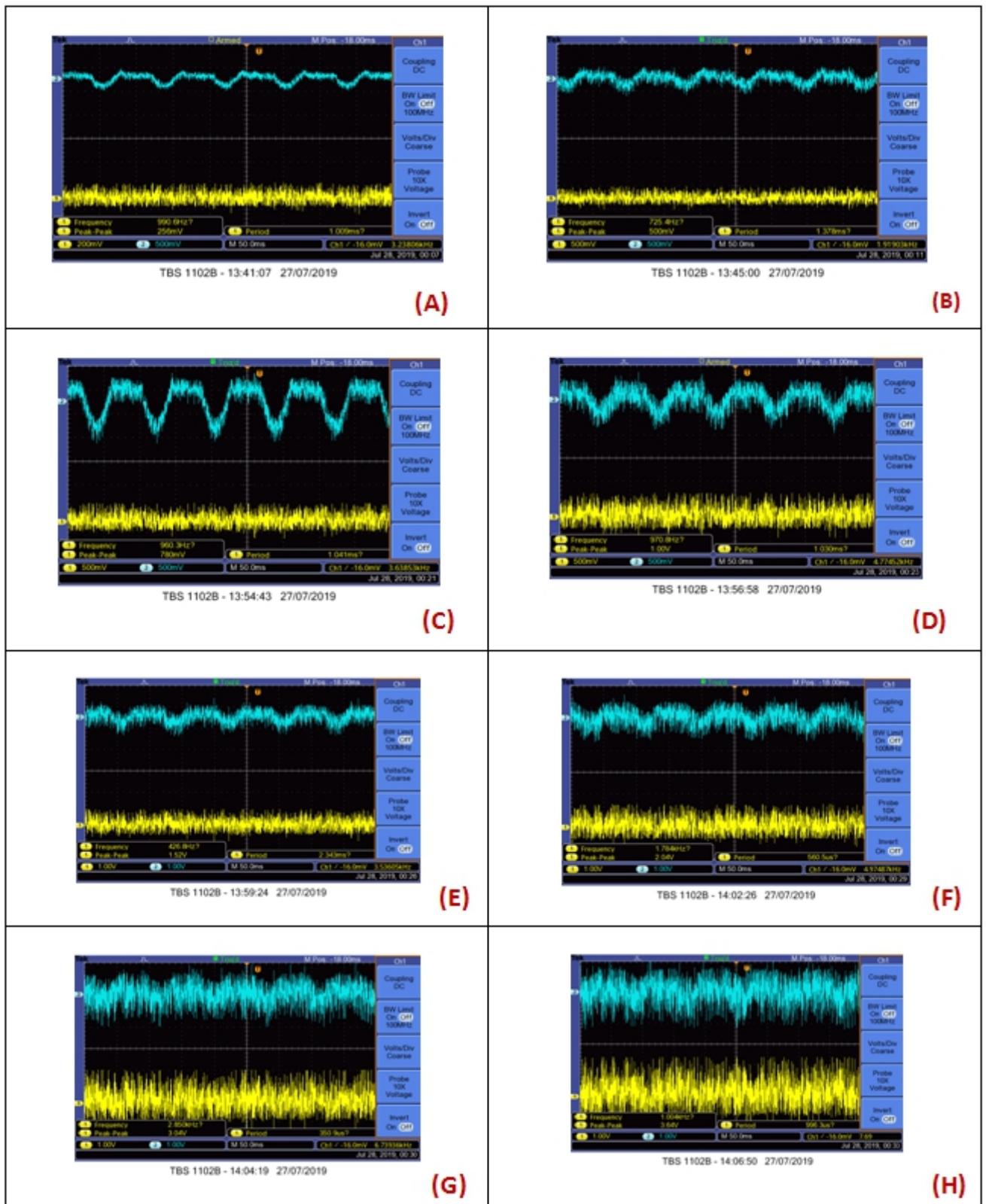


Figura 7.23: Testes efetuados com o módulo REAC. Pode-se observar que o ponto de ressonância estocástica foi obtido no gráfico em (C).

É importante frisar que os níveis de ruído (traços em amarelo) mostrados nos gráficos da Figura 7.23 aparecem amplificados por um fator igual a 100 vezes (ou 20 decibéis). Isso foi necessário porque para medir os níveis de ruído utilizando-se o osciloscópio da marca Tektronix modelo TBS 1102B, foi necessário amplificar o ruído para que o mesmo pudesse ser mensurado adequadamente. Níveis de ruído da ordem de 2,5 mVp-p misturam-se com os níveis de ruído do próprio instrumento, portanto não puderam ser medidos diretamente. Para os testes mostrados na Figura 7.23 foi necessário portanto construir um amplificador capaz de amplificar 100 vezes o ruído Gaussiano, antes de aplicá-lo à ponta de prova do osciloscópio para as medições da Tabela 7.2. O gráfico mostrado na Figura 7.24 ilustra os dados da Tabela 7.2 de modo mais visível, onde pode-se ver a clássica curva que caracteriza o fenômeno RE.

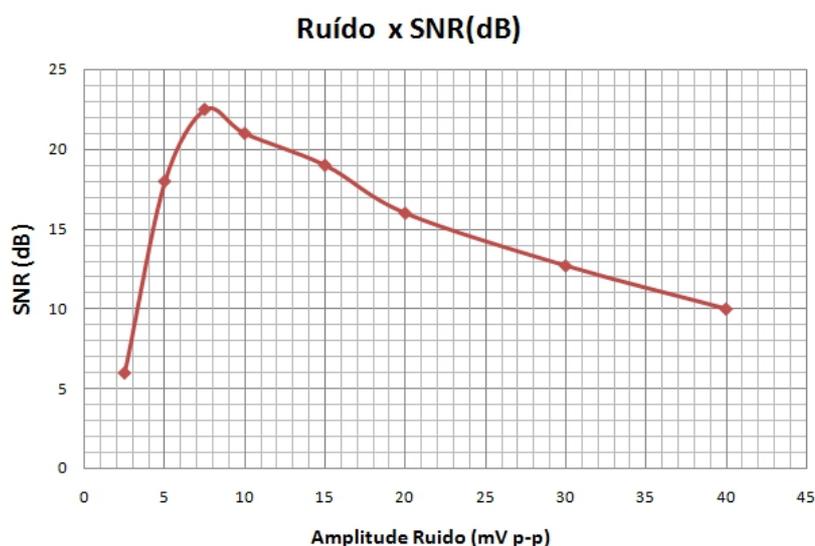


Figura 7.24: Gráfico mostrando a relação Sinal/Ruído (SNR) em decibéis em função do nível de ruído ajustado no módulo REAC, em mVp-p.

A Figura 7.25 ilustra graficamente o ganho do total do sistema (em decibéis) em função do nível de ruído aplicado: de modo geral, pode-se observar que, para um sistema com ressonância estocástica, o ganho de amplificação é máximo no ponto onde ocorre RE. Entretanto, uma vez que aumenta-se a intensidade do ruído, o sinal aparece mais degradado em virtude da diminuição do valor de SNR.

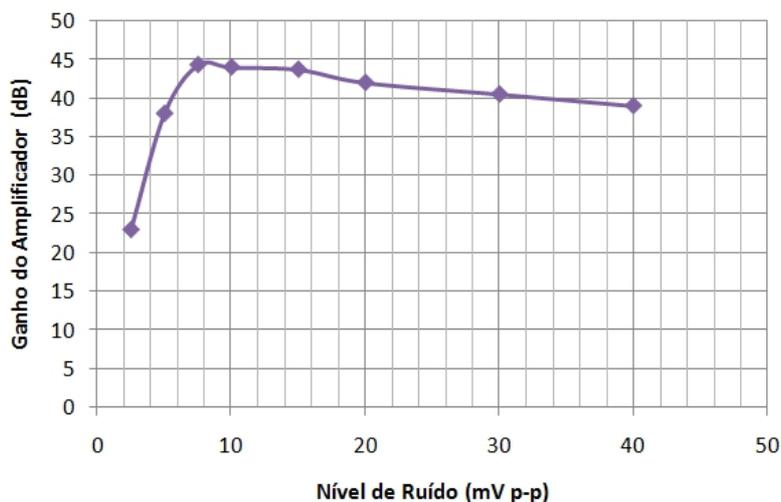


Figura 7.25: Gráfico ilustrando o ganho total de amplificação obtido em função da amplitude do ruído aplicado à entrada do sistema.

Da análise dos gráficos das Figuras 7.24 e 7.25 pode-se concluir que encontrar o nível correto de ruído que leva um sistema amplificador não-linear ao ponto de ressonância estocástica (ponto ótimo) é muito importante para maximizar o desempenho do sistema, porque para este nível de ruído tem-se simultaneamente a melhor relação SNR e o maior ganho de amplificação.

7.5 Comparações entre o Sistema de Amplificação Convencional e o Sistema por Ressonância Estocástica

Com a finalidade de avaliar de modo comparativo a eficiência do amplificador REAC em relação ao sistema convencional de amplificação (usando os amplificadores lineares descritos no Capítulo 3 deste trabalho) um sinal de frequência igual a 12 Hz, período 0,0833 s, contendo 6 pulsos de largura igual a 600 μ s em cada período, seguido de um período “refratário”, onde a onda permanece em nível lógico baixo durante outros 0,0833s foi programado em um Gerador de Funções da marca MINIPA, modelo MFG4210-B. O pulso foi assim escolhido por se assemelhar aos impulsos elétricos emitidos por um neurônio quando dispara um *burst* de pulsos (conjunto de *spikes*). A Figura 7.26 mostra o aspecto do pulso

escolhido para os testes comparativos entre o sistema de amplificação convencional e o sistema REAC.

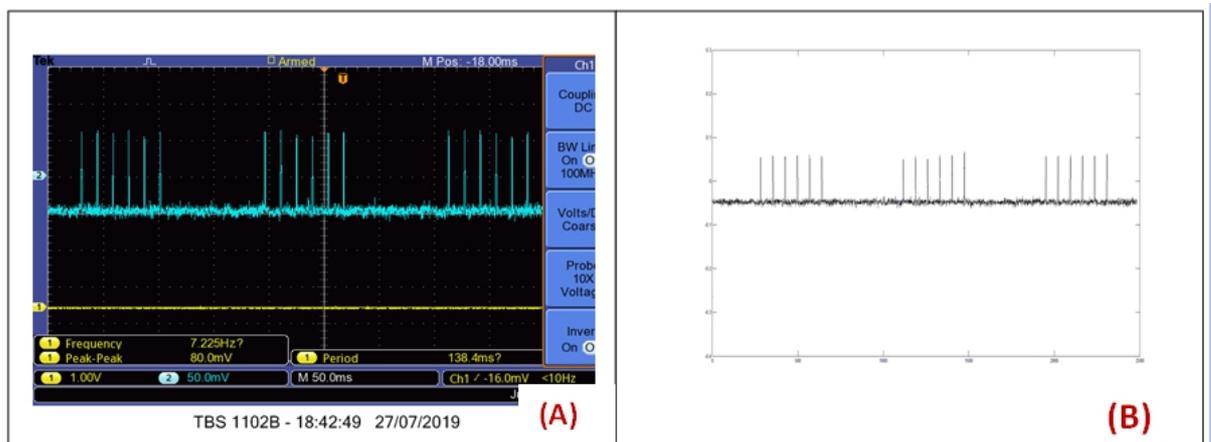


Figura 7.26: Gráfico mostrando a forma de onda escolhida para os testes comparativos entre o sistema convencional de amplificação e o sistema por ressonância estocástica. Esta forma de onda foi escolhida por ser semelhante a um *burst* proveniente do disparo de neurônios naturais.

Na Figura 7.26, em (A) é mostrada imagem obtida diretamente a partir da tela do osciloscópio e em (B) imagem plotada pelo programa MATLAB a partir do arquivo .CSV gerado também pelo osciloscópio. A Figura 7.27 mostra este mesmo sinal em maiores detalhes, com a marcação dos respectivos intervalos de tempo.

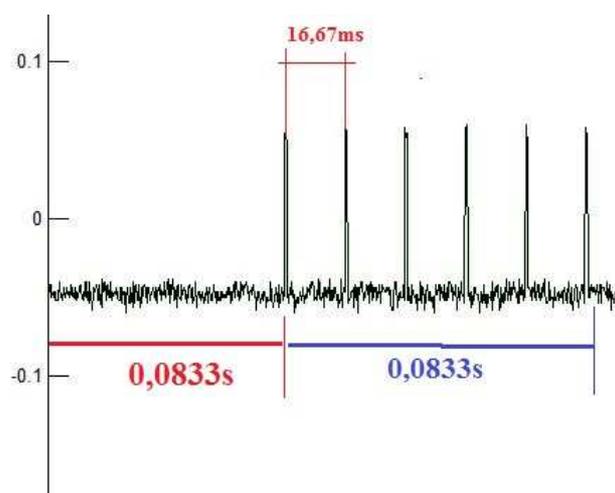


Figura 7.27: Sinal utilizado para os testes de comparação, detalhando os intervalos de tempo envolvidos.

Para obter este formato de onda, o gerador de sinais foi colocado no modo Pulse \Rightarrow Burst \Rightarrow Gated. A amplitude do pulso mostrado na Figura 7.27 foi reduzida até se tornar indetectável ao osciloscópio sem o uso de amplificadores.

Uma amplitude inicial igual a $100\mu\text{Vp-p}$ foi ajustada através de outro divisor de tensão, constituído por um potenciômetro de valor igual a $1\text{ M}\Omega$, de modo similar ao ilustrado na Figura 7.21. Este outro divisor foi adaptado à saída do gerador de sinais MINIPA modelo MFG4210-B. Foi possível variar o nível de sinal aplicado a ambos os sistemas, simultaneamente. Os resultados destes testes comparativos são mostrados na Figura 7.28. Nesta Figura pode-se observar à esquerda os gráficos obtidos na tela do osciloscópio de duplo traço: o traço em amarelo corresponde ao canal que mediu a saída do subsistema de ressonância estocástica (REAC) e o traço em azul corresponde à saída de um canal do amplificador convencional descrito no Capítulo 3, acrescido do módulo amplificador que foi adicionado ao conversor AD. Ambos os sistemas de amplificação mediram simultaneamente o mesmo sinal aplicado em suas entradas (sinal mostrado na Figura 7.27), sinal este que foi atenuado para os seguintes valores de amplitude: $100\mu\text{V}$, $75\mu\text{V}$, $50\mu\text{V}$, $25\mu\text{V}$ e $10\mu\text{V}$ pico a pico. Os níveis de ruído captados tanto pelo amplificador convencional quanto pelo sistema REAC foram cuidadosamente anotados, bem como o valor do ruído que foi ajustado para permitir o ponto ótimo e possibilitar a ressonância estocástica. Estes dados estão representados à direita das imagens das telas do osciloscópio, na Figura 7.28. Os dois canais do osciloscópio foram ajustados para a mesma escala de tensão, igual a 100mV por unidade. O nível de ruído que possibilitou o ponto ótimo de ressonância estocástica foi igual a $7,5\text{mV p-p}$ em todos os casos. Tal nível parece não depender da amplitude do sinal a ser amplificado, pelo menos na faixa que foi testada nestes experimentos (de $100\mu\text{V}$ até $10\mu\text{V p-p}$). Este é um resultado inesperado e interessante, digno de nota. O amplificador convencional (composto pelo pré-amplificador interno ao soquete da MEA acrescido de um canal do amplificador descrito no Capítulo 3 e incorporado ao conversor AD) tem ganho total em torno de 1127 vezes, conforme já foi mencionado. O nível de ruído do sistema convencional pode ser melhorado com um novo *lay-out* de placa de circuito impresso para o conversor AD.

	<p>(A)</p> <p>Amplitude do sinal de Entrada: 100 μV p-p Sinal Amplificado por RE (amarelo): 276 mV p-p Sinal Amplificado Convencional (azul): 158 mV p-p Amplitude do ruído no sinal convencional: 38 mV Amplitude do ruído de RE: 7,5 mV p-p</p>
	<p>(B)</p> <p>Amplitude do sinal de Entrada: 75 μV p-p Sinal Amplificado por RE (amarelo): 268 mV p-p Sinal Amplificado Convencional (azul): 82 mV p-p Amplitude do ruído no sinal convencional: 43 mV p-p Amplitude do ruído de RE: 7,5 mV p-p</p>
	<p>(C)</p> <p>Amplitude do sinal de Entrada: 50 μV p-p Sinal Amplificado por RE (amarelo): 268 mV p-p Sinal Amplificado Convencional (azul): 62 mV p-p Amplitude do ruído no sinal convencional: 42 mV p-p Amplitude do ruído de RE: 7,5 mV p-p</p>
	<p>(D)</p> <p>Amplitude do sinal de Entrada: 25 μV p-p Sinal Amplificado por RE (amarelo): 264 mV p-p Sinal Amplificado Convencional (azul): indetectável Amplitude do ruído no sinal convencional: 43 mV p-p Amplitude do ruído de RE: 7,5 mV p-p</p>
	<p>(E)</p> <p>Amplitude do sinal de Entrada: 10 μV p-p Sinal Amplificado por RE (amarelo): 264 mV p-p Sinal Amplificado Convencional (azul): indetectável Amplitude do ruído no sinal convencional: 54 mV p-p Amplitude do ruído de RE: 7,5 mV p-p</p>

Figura 7.28: Resultados dos testes comparativos entre o sistema de amplificação por ressonância estocástica (REAC) e o sistema amplificador linear convencional.

Na Tabela 7.3 é mostrado o ganho dos dois sistemas em função dos diferentes níveis de sinal aplicado na entrada.

Tabela 7.3: Resultados dos testes comparativos entre os sistemas.

Sinal na entrada ($\mu\text{V p-p}$)	Sinal na Saída REAC (mV p-p)	Sinal saída amplificador conv. (mV p-p)	Ganho através de RE (REAC) (dB)	Ganho através amplificação conv. (dB)
100	276	158	34,4	31,9
75	268	82	35,5	30,4
50	268	62	37,3	30,9
25	264	indetectável	40,2	---
10	264	indetectável	44,2	---

A Figura 7.29 ilustra graficamente o ganho em decibéis dos dois sistemas de amplificação, num mesmo sistema de eixos.

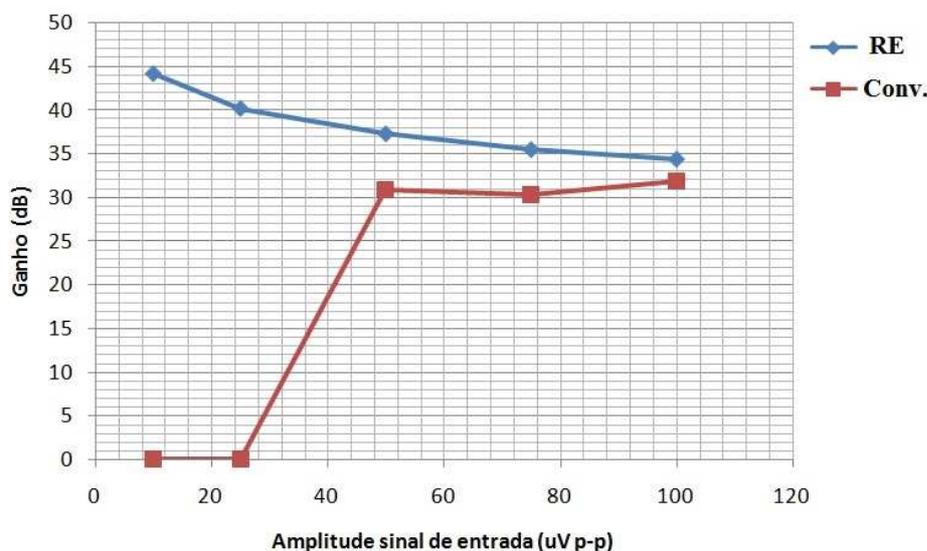


Figura 7.29: Comparação entre os ganhos (dB) do sistema de amplificação por ressonância estocástica (REAC) e o sistema amplificador linear convencional.

7.6 Considerações Finais

Neste Capítulo foram apresentados os resultados dos experimentos com neurônios em MEA efetuados na Universidade Federal de Uberlândia, que serviram para validar o sistema desenvolvido no Capítulo 3. Foram também descritos os testes feitos em laboratório de eletrônica com o sistema REAC, comparando ambos os sistemas em termos de desempenho para sinais de baixa amplitude.

Capítulo 8

CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

Neste Capítulo, que encerra a tese, são apresentadas as principais conclusões obtidas ao longo da pesquisa, que demonstram que o fenômeno RE é útil e aplicável para registro de sinais em MEA, com vantagens em relação ao sistema de amplificação convencional, quando se analisam sinais de amplitude inferior a 100 μV . Outras questões que permanecem em aberto, são apontadas para a continuidade deste trabalho, em especial a obtenção de uma expressão matemática analítica para se obter o nível de sinal que possibilita RE.

8.1 Conclusões

Observando-se comparativamente ambos os sistemas ao amplificar o mesmo sinal de entrada bastante atenuado, pode-se observar que:

a) Para o sistema de amplificação convencional, o ganho é sempre da ordem de 31 decibéis (1127 vezes, conforme Capítulo 3), mas quando o sinal tem amplitude inferior a 25 μV p-p, este torna-se indetectável, pois o nível de ruído do próprio sistema amplificador é maior do que o nível do sinal presente na sua entrada;

b) Para o sistema de amplificação baseado no fenômeno RE, o ganho varia na faixa entre 34,4 decibéis e 44,2 decibéis. O ganho aumenta à medida que a intensidade do sinal de entrada é atenuado, em função da ação benéfica aditiva do ruído que, somado ao sinal na entrada do sistema não-linear, produz o fenômeno de ressonância estocástica e permite detectar o sinal de muito baixa amplitude;

c) Para sinais de amplitude maior do que $100\mu V$ p-p, os ganhos de ambos os sistemas praticamente se tornam iguais e não existem vantagens em empregar amplificação através de RE. Este fato pode ser demonstrado pela observação do gráfico da Figura 7.29.

d) O Sistema de amplificação não-linear baseado em ressonância estocástica é bastante adequado para detectar *spikes* e *bursts* em sinais produzidos por neurônios naturais, como nesta aplicação baseada em MEAs. Mesmo sinais de muito baixa intensidade podem ser detectados.

No sistema convencional, tais sinais, por terem amplitude muito pequena, se confundem com o próprio nível de ruído da instrumentação, e desta forma se tornam indetectáveis;

e) O nível de ruído ótimo que possibilitou a melhor detecção através do fenômeno de RE verificado nos testes permaneceu constante para sinais de entrada na faixa de $10\mu V$ a $100\mu V$ p-p. O nível de ruído foi o mesmo que já havia sido medido no teste efetuado com o simulador MEASim ($7,5$ mV p-p) em onda senoidal. Faz-se necessários maiores investigações sobre este fato, pois este é um resultado inesperado;

f) Ao aplicar uma onda de formato senoidal na entrada de ambos os sistemas (teste ilustrado pela Figura 7.22), o amplificador convencional reproduz a onda de modo fiel, preservando seu formato; o método de amplificação através de RE deforma a senóide, porém suas componentes espectrais continuam presentes e são detectáveis através de Transformada de Fourier (FFT) aplicada ao sinal resultante na saída do REAC;

f) A própria Natureza utiliza o fenômeno de RE para propagar os impulsos elétricos entre os neurônios, no interior do cérebro e também na transmissão dos impulsos nervosos dos órgãos dos sentidos, tais como na transmissão dos sinais elétricos provenientes da retina e dos nervos auditivos para o cérebro. Parece natural ao autor usar o mesmo fenômeno para amplificar eletronicamente os sinais dos neurônios cultivados *in vitro* em MEA; De fato, os testes desenvolvidos durante a elaboração deste trabalho mostraram-se muito promissores para a adoção deste

sistema quando o objetivo principal for registrar *spikes* e *bursts* provenientes da atividade neural *in vitro*;

g) Finalmente, os resultados dos testes do sistema de detecção através de ressonância estocástica se mostraram muito promissores para os sinais elétricos presentes em MEA, porque as características importantes a serem registradas são os *spikes* e os *bursts* (conforme explicado no Capítulo 2).

É fato que se o desejado for analisar o formato exato do sinal elétrico, a opção de utilizar RE não pode ser empregada. Entretanto, para a finalidade proposta nesta tese (isto é, registrar sinais de neurônios em matrizes de microeletrodos) o sistema em estudo baseado em RE se mostrou superior ao sistema usual, que é baseado em amplificadores lineares convencionais. Sistemas de Interface Cérebro-Máquina (BCI) e equipamentos de eletroencefalograma (EEG) também podem se beneficiar do método RE, uma vez que o mais importante não é conhecer a forma exata da onda produzida, mas sim registrar os impulsos elétricos disparados pela atividade dos neurônios, os quais muitas vezes tem intensidade inferior à intensidade do ruído de instrumentação;

h) Ambientes ruidosos de Unidades de Terapia Intensiva (UTI) de hospitais podem fazer uso do fenômeno de RE na aplicação de exames de EEG em seus pacientes. De fato, uma das dificuldades na utilização do método de EEG nas UTIs, até mesmo para se detectar morte cerebral dos pacientes, consiste justamente no nível elevado de ruído eletromagnético de tais salas (PUZZI e BARJA, 2016). O próprio ruído pode ser aplicado em sistemas RE para melhorar a captação dos sinais, o que inspira o desenvolvimento de equipamentos de EEG baseados em RE.

8.2 Trabalhos Futuros

O autor espera continuar o desenvolvimento dos equipamentos de registro convencionais e utilizando RE, e levar adiante as pesquisas com sinais elétricos em matrizes de microeletrodos no Brasil, culminando com a construção de um

laboratório específico para pesquisas em MEA em alguma Universidade brasileira. Boas candidatas são a Universidade Federal de Uberlândia, a Unicamp e a UFSCar. Espera também poder contar com o apoio de pesquisadores internacionais, em especial do prof. Sergio Martinóia (Universidade de Gênova, Itália) que tem colaborado bastante na realização deste trabalho, e do professor João Batista Destro (UFU) grande incentivador da pesquisa em MEA no Brasil.

Sobre o fenômeno RE, este merece especial atenção dos pesquisadores e ainda há várias perguntas a serem respondidas, entre as quais:

- a) Como determinar analiticamente o nível de sinal ótimo para RE ?
- b) Este nível de sinal é constante, ou varia conforme a amplitude do sinal presente na entrada do sistema ?
- c) O sinal ótimo que possibilita RE depende da frequência do sinal a ser detectado ?
- d) É possível melhorar o desempenho de redes neurais computacionais (tais como as redes de convolução) com a adição controlada de ruído ?
- e) O fenômeno de RE pode ser utilizado para a construção de equipamentos de registro de eletroencefalograma mais robustos para serem utilizados em UTIs ?

São perguntas que ensejam maior investigação e são alvo da continuidade deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ADEEL, MUHAMMAD SAFIAN e UMAR RASHID. "Optimization of Stochastic-Resonance based Schmitt Trigger through parametric analysis." Third International Conference on Electrical Engineering: 1-6, 2009.

ANALOG DEVICES. Disponível on-line no site:
<http://pdf1.alldatasheet.com/datasheet-pdf/view/48684/AD/ADG732.html>.
Acessado em 15 de Fevereiro de 2017.

ANDÒ B., SALVATORE G. "Stochastic Resonance, Theory and Applications", Kluwer Academics Publishers, London, 1999.

ARDUINO, "Installing an Arduino bootloader". Disponível online em:
<https://learn.sparkfun.com/tutorials/installing-an-arduino-bootloader>, acessado em setembro de 2017.

ARMBIAN. Sistema Operacional. Acessado on-line em: <https://www.armbian.com/>, 2019.

BARRETO, M. A.; FAMBRINI, F. ; SAITO J. H. "Microelectrode Array Signal Amplification Using Stochastic Resonance". In: IECON2015 - 41st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, 2015, Yokohama. Proceedings of IECON2015 - 41st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society., p. 1-6, 2015.

BENZI R., PARISI G., SUTERA A., VULPIANI A., "Stochastic resonance in climatic change," Tellus 34:10, 1982.

BERGER, T. and GIBSON, J. D. "Lossy source coding, IEEE Transactions on Information Theory", 44, 2693–2723, 1998.

BERGLUND N. AND GENTZ B. "A Sample-Paths Approach to Noise-Induced Synchronization: Stochastic Resonance In A Double-Well Potential" The Annals of Applied Probability 2002, Vol. 12, No. 4, 1419–1470.

BEZRUKOV S.M., KOSKO B. "Stochastic Resonance: From Suprathreshold Stochastic Resonance to Stochastic Signal Quantization", Cambridge University Press, 2009.

BHOSALENARAYAN N.; MANZARAMESH B.; KALEKARBHARI M.; MEHROTRA K.M. "Performance Analysis of Filters to Wavelet for Noisy Remote Sensing Images". Proceedings of the 49th Annual Convention of the Computer Society of India (CSI) Volume 1. DOI: 10.1007/978-3-319-13728-5_30, 2014.

BIOL44215. "Multidisciplinary Design of Systems and Devices for Physiology Measurements", Course Syllabus. Acessado em 17 de Abril de 2017. Disponível em: wiki.bio.purdue.edu/biol13100/images/4/4b/EPSP.jpg, 2016.

BLUM, R. "An Electronic System for extracellular neural stimulation and recording", Tese de Doutorado. Georgia Institute of Technology, 2007.

BOIDO, D.; FARISELLO, P.; CESCO, F.; " Cortico-hippocampal hyperexcitability in synapsin I/II/III knockout mice: age-dependency and response to the antiepileptic drug levetiracetam". Neuroscience, v. 171, n. 1, p. 268–83. Elsevier Inc, 2010.

BOWEN, G. and MANCINI, S. "Noise enhancing the classical information capacity of a quantum channel", Physics Letters A, 321, 1–5, 2004.

BOYLESTAD R. e NASHELSKY, L. "Dispositivos Eletrônicos e Teoria de Circuitos", 8º Ed. Prentice Hall – Brasil, 2004.

CAMELLITI P.; BORG, T. K.; KOHL P. "Structural and functional characterization of cardiac fibroblasts", Cardiovascular Research Journal, Disponível em: <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/content/65/1/40>. Acessado em 13/01/2017. Oxford University Press, 2005.

CHANDRASEKHAR S., Rev. Mod. Phys. 15, 1, 1943.

CHAPEAU-BLONDEAU, F. "Input–output gains for signal in noise in stochastic resonance". Physics Letters A, 232, 41–48, 1997.

CHATTERJEE P., HERNQUIST L. E., LOEB A., Phys. Rev. Lett. 88, 121103, 2002.

CHIAPPALONE, M.; BOVE, M.; VATO, A.; TEDESCO, M.; MARTINOIA, S. Dissociated cortical networks show spontaneously correlated activity patterns during in vitro development. Brain research, v. 1093, n. 1, p. 41–53, 2006.

CHIAPPALONE, M.; VATO, A.; TEDESCO, M. (B. .; et al. Networks of neurons coupled to microelectrode arrays: a neuronal sensory system for pharmacological applications. Biosensors and Bioelectronics, v. 18, n. 5-6, p. 627–634, 2003.

CHIGA, KEITA; TANAKA, HIROYA, YAMAZOTO, TAKAYA; TADOKORO, YUKIHIRO AND SHINTARO A. "Development of add-on stochastic resonance device for the detection of subthreshold RF signals", Nagoya University, Nolta, IEICE, 2015.

COLLINS, J.J., CHOW, C. C., e IMHOFF, T.T." Aperiodic stochastic resonance in excitable systems", Physical Review E, 52, R3321–R3324, 1995.

COVER, T.M. and THOMAS, J.A. "Elements of Information Theory", New York: John Wiley and Sons, 1991.

DAYAN, P. E. L. F. ABBOTT." Theoretical Neuroscience: Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems". The MIT Press, 2001.

DEMOTT, DONALD W. "An Inexpensive, Multi-Channel, Electrophysiological Recording System", University of Rochester, Rochester, N.V., U.S.A, 1960.

DESAI S. A, ROLSTON J. D., GUO L., e POTTER S. M. "Improving Impedance of Implantable Microwire Multi-Electrode Arrays by Ultrasonic Electroplating of Durable Platinum Black", Front Neuroengineering. Front Neuroengineering Journal, vol.3, pp. 3-5, 2014.

DEWEESE, M. "Optimization principles for the neural code, Network: Computation in Neural Systems", 7, 325–331, 1996.

DEWEESE, M. and BIALEK, W. "Information flow in sensory neurons", Il Nuovo Cimento, 17, 733–741, 1995.

DRONGELEN W.V. "Signal Processing for Neuroscientists - An Introduction to the Analysis of Physiological Signals", Academic Press, USA, 2006.

DUARTE, JOSÉ RICARDO RODRIGUES. "Ressonância Estocástica Induzida por Ruído Não Gaussiano em Modelo para a Dinâmica do Neurônio", Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas, Int.Física, 2007.

ENERGIA, IDE para programação de Microcontroladores Texas. Acessado on-line: <https://energia.nu/> em 20/07/2019, 2019.

EGERT, U.; HÄMMERLE, H. Application of the microelectrode-array (MEA) technology in pharmaceutical drug research. (J. P. Baselt & G. Gerlach, Eds.). Sensoren im Fokus neuer Anwendungen. w.e.b. Universitätsverlag, p. 51–54, 2002. Dresden.

EINSTEIN A., Ann. Phys. (Leipzig) 17, 549, 1905.

FABINY L., VEMURI G., ROY R. "Stochastic Resonance in Bistable Systems. In: Eberly J.H., Mandel L., Wolf E. (eds) Coherence and Quantum Optics VI. Springer, Boston, MA, 1989.

FAMBRINI, F., BARRETO, M. A.; SAITO, J. H. "Data Recording, Amplification, and Acquisition System for Microelectrode Array". IEEE 27th International Symposium on Computer-Based Medical Systems, (CBMS 2014), pp: 411 - 416, New York, USA, 2014.

FAMBRINI F., BARRETO, M. A.; SAITO, J.H. "Low noise microelectrode array signal headstage pre-amplifier for in vitro neuron culture". Computational Intelligence in Bioinformatics and Computational Biology, 2014 IEEE (CIBCB 2014), Conference on pp: 1 - 6, Honolulu, Hawaii, USA, 2014.

FAMBRINI F., BARRETO, M.A.; SAITO, J.H. "Low Noise Microelectrode Array Signal Headstage Pre-amplifier for In vitro Neuron Culture". 2014 IEEE 27th International Symposium on Computer-Based Medical Systems (CBMS 2014), pp. 447 - 450, New York, USA, 2014.

FAMBRINI F., BARRETO, M.A.; SAITO, J.H. "Microelectrode array signal amplification using stochastic resonance". Industrial Electronics Society, IECON 2015 - 41st Annual Conference of the IEEE, pp: 2030 –2035, Yokohama, Japan, 2015.

FAMBRINI F.; SAITO, J. H.; CURA, L. M.D.V. "Channel Multiplexing Recording System for Microelectrode Array". 42nd Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society (IECON2016), Firenze, Italy, 2016.

FAUVE S. E HESLOT F. "Stochastic resonance in bistable system". Phys. Lett. 97A:5, 1983.

FRISTON K. "The free-energy principle: a unified brain theory?", Nat Rev Neurosci. Feb;11(2):127-38. doi: 10.1038/nrn2787. Epub 2010 Jan 13, 2010.

FROMHERZ, P. "Neuroelectronic interfacing: semiconductor chips with ion channels, nerve cells, and brain". Nanoelectronics and information technology, p. 781–810, 2003.

GALDI, V., PIERRO, V., AND PINTO, I. M. "Evaluation of stochastic-resonance-based detectors of weak harmonic signals in additive white Gaussian noise". Physical Review E, 57, 6470–6479, 1998.

GAMMAITONI L., HÄNGGI P., JUNG P., AND MARCHESONI F. "Stochastic resonance". Rev. Mod. Phys. 70, 223 – 1 January, 1998.

GAMMAITONI L., HÄNGGI P., MARCHESONI F. "Stochastic Resonance in Extended Systems: An Overview of Recent Results for Systems with and without Nonequilibrium Potential". Proc. Stochastic Resonance, Europ.Phys.J.B 69, 71, 2009.

GAO, YUXIN; WANG, FUZHONG. "Adaptive Cascaded-Bistable Stochastic Resonance System Research and Design". Journal of Computational and Theoretical Nanoscience, Volume 10, Number 2, February 2013.

GINGL Z., KISS L.B., MOSS F. "Non-Dynamical Stochastic Resonance: Theory and Experiments with White and Arbitrarily Coloured Noise", EPL (Europhysics Letters), Volume 29, Number 3, 2005.

GODIVIER, X. and CHAPEAU-BLONDEAU, F. "Stochastic resonance in the information capacity of a nonlinear dynamic system", International Journal of Bifurcation and Chaos, 8, 581–589, 1998.

GOLLISCH, T., MEISTER, M. "Eye Smarter than Scientists Believed: Neural Computations in Circuits of the retina". *Neuron*, 65, pp. 150-164, 2010.

GOMES, L. Experimental study of high frequency stochastic resonance in Chua circuits. v.237, n.1-2, p.115-119, 2003.

GOYCHUK, I. "Information transfer with rate-modulated Poisson processes: a simple model for nonstationary stochastic resonance", *Physical Review E*, 64, Art. No. 021909, 2001.

GOYCHUK, I. and HÄNGGI, P. "Quantum stochastic resonance in parallel", *New Journal of Physics*, 1, 14.1–14.14, 1999.

GROSS, G. W. "Multielectrode arrays", *Scholarpedia*, 6, pp. 5749-5742, 2011.

GROSS, G. W., REISKE, E., KREUTZBERG, G.W., MAYER, A.: "A new fixed-array multimicroelectrode system designed for long-term recording of extracellular single unit activity in vitro ", *NeuroscienceLetter*, vol. 6, pp. 101-105, 1977.

GROSS, G. The use of neuronal networks on multielectrode arrays as biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 10, n. 6-7, p. 553–567, 1991.

GUYTON, A. C. e HALL J. E. "Tratado de Fisiologia Médica". Elsevier/Medicina Nacionais, 2006.

HARMER G.P, DAVIS B.R. " A Review of Stochastic Resonance: Circuits and Measurement. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*", vol. 51, no. 2, April 2002.

HOROWITZ, PAUL AND HILL, WINFIELD."The Art of Electronics", Cambridge University Press, Inglaterra, 1989.

HUIYU SONG, XUEGUANG SHAO, QINGDE SU. "A study on the detection of weak photoacoustic signals by stochastic resonance", *Fresenius J. Anal Chem*, 370:1087-1090, 2001.

INCHIOSA, M. E., ROBINSON, J. W. C., AND BULSARA, A.R. "Information-theoretic stochastic resonance in noise-floor limited systems: the case for adding noise". *Physical Review Letters*, 85, 3369–3372, 2000.

ISRAEL, D. A., BARRY, W. H., EDELL, D. J., E R. M. "An array of microeletrodes to stimulate and record from cardiac cells in culture". *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 247, pp. 669-674, 1984.

JAYNES E.T. "Information Theory and Statistical Mechanics" . Department of Physics, Stanford University, Stanford, 1957. *Phys. Rev.* 106, 620 – Published 15 May 1957.

JIMBO, N. K., KEIICHI T., TAKASHI T., e HUGH ROBINSON. P.C."A System for MEA-Based Multisite Stimulation", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, pp. 50, 2000.

JIMBO Y. , SAKAI K., SHIMBA K., KOTANI K. e., "Microfabricated multi-electrode device for detecting oligodendrocyte-regulated changes in axonal conduction velocity," *37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Milan, pp. 7127-7130, 2015.

JOBLING, T.J. "An Active Microelectrode Array to Detect Extracellular Nervous Activity". Editora University of Southampton, Estados Unidos, 1980.

JONES, IAN L. et al. "A Method for Electrophysiological Characterization of Hamster Retinal Ganglion Cells Using a High-Density CMOS Microelectrode Array." *Frontiers in Neuroscience* 9 (2015): 360. PMC. Web. 3 Sept. 2017.

JUNQUEIRA L.C.; CARNEIRO, J. "Histologia Básica", 10ª ed., Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004.

KANDEL E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. "Fundamentos da neurociência e do comportamento". Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000.

KISH, L.B., HARMER, G.P. and ABBOTT, D. "Information transfer rate of neurons: stochastic resonance of Shannon's information channel capacity, Fluctuation and Noise". *Letters*, 1, L13–L19, 2001.

KLISCH, C., INYUSHKIN, A., MORDEL, J., KARNAS, D., PÉVET, P., MEISSEL, H.: OREXIN A. "A Modulates neuronal activity of the rodent suprachiasmatic nucleus in vitro", *European Journal of Neuroscience*, 30, pp. 65-75, 2009.

LABCENTER [Online]. Disponível: <http://www.labcenter.com/index.cfm>. Acessado em 15 de Fevereiro de 2013.

LANGEVIN, "Chapter 6 - Brownian Motion: Langevin Equation".
<http://physics.gu.se/~frtbm/joomla/media/mydocs/LennartSjogren/kap6.pdf>
Consultado on-line em 05/03/2019.

LENG Y.G., WANG T.Y., GUO Y., e WU Z.Y., "Study of the property of the parameters of bistable stochastic resonance," *Acta Physica Sinica*, vol. 56, no. 1, pp. 30–35, 2007.

LEFEVRE G.R., KOWALSKI S.E., GIRLING L.G., THIESSEN D.B., MUTCH W.A. "Improved arterial oxygenation after oleic acid lung injury in the pig using a computer-controlled mechanical ventilator". *Am J Respir Crit Care Med*;154(5):1567–1572, 1996.

LEVIN, J. E. and MILLER, J. P. "Broadband neural encoding in the cricket cercal sensory system enhanced by stochastic resonance". *Nature*, 380, 165–168, 1996.

LEWANDOWSKA M.K., BAKKUM D.J., ROMPANI SB, HIERLEMANN A. "Recording Large Extracellular spikes in Microchannels along Many Axonal Sites from Individual Neurons". *PLoS ONE* 10(3): e0118514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118514>, 2015.

MACNAMARA B., WIENSEFELD K. e ROY R. "Phys. Rev Lett." 60,2626, 1988.

MAHER M. P., J. PINE, J. WRIGHT, Y.C. TAI. "The neurochip: a new multielectrode device for stimulating and recording from cultured neurons" ,J. Neurosci. Methods vol. 87,pp. 45–56, 1999.

MAKRA P., GINGL Z., e FULEI T. "Signal-to-noise ratio gain in stochastic resonators driven by colored noises", Proc. SPIE 5471, Noise in Complex Systems and Stochastic Dynamics II; doi: 10.1117/12.547102; <https://doi.org/10.1117/12.547102>, 2004.

MAROM, S.; SHAHAF, G. "Development, learning and memory in large random networks of cortical neurons: lessons beyond anatomy". Quarterly reviews of biophysics, v. 35, n. 1, p. 63–87, 2002.

MARTINOIA S., MASSOBRIO P., BOVE M., MASSOBRIO G. "Cultured neurons coupled to microelectrode arrays: circuit models, simulations and experimental data" ,IEEE Trans. Biomed. Eng. 51, 2004.

MARTINOIA S., MASSOBRIO P. "Interfacing Cultured Neurons to Microtransducers Arrays: A Review of the Neuro-Electronic Junction Models", Frontiers in Neuroscience · June, 2015.

MASSOBRIO P., GIUSEPPE AND MARTINOIA S. "Multi-program approach for simulating recorded extracellular signals generated by neurons coupled to microelectrode arrays". Department of Biophysical and Electronic Engineering (DIBE), University of Genova, Neurocomputing vol.70, 2004.

MEABENCH .

<http://www.its.caltech.edu/~pinelab/wagenaar/meabench.html>. Acessado em 15 de Fevereiro de 2019. Disponível desde 2013.

MCDONNELL M.D., D. ABBOTT, C.E.M.PEARCE, "A characterization of suprathreshold stochastic resonance in an array of comparators by correlation coefficient", Fluctuation and Noise Letters, vol.2, N.3, pp.213-228,2002.

MCDONNELL M. D., N.G.STOCKS, C.E.M.PEARCE, D.Abbott, Stochastic Resonance: From Suprathreshold Stochastic Resonance to Stochastic Signal Quantization. New York, Cambridge Un. Press, 2008.

MCDONNELL M.D., D.ABBOTT, "What is stochastic resonance? Definitions, Misconceptions, Debates, and its Relevance to Biology", PLOS Computational Biology, vol.5, N.5, pp.1-9, 2009.

MCRACK[Online]. Disponível: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2570177/>. Acessado em 15 de Fevereiro de 2019. Disponível desde 2013.

MCS [Online]. Innovations in Electrophysiology, *Multi Channel Systems*. Disponível: www.multichannelsystems.com. Acessado em 15 de Fevereiro de 2015.

MCNAMARA B., WIESENFELD W., "Theory of stochastic resonance," Phys. Rev. A. 39:4854,1989.

MED64 [Online]. Alpha MED. Disponível:www.med64.com.Acessado em 15 de Fevereiro de 2013.

MEISTER, M., PINE, J., BAYLOR, D.A. "Multielectrode recording from the vertebrate retina" , *Invest.Ophthalmol.Vis.*, 30, 1989, (suppl.), pp. 68.

MEISTER, M., PINE, J., BAYLOR, D. A. 1994: Multi-neural signals from the retina acquisition and analysis,*Neurosci. Meth.*, 51, pp. 95-106.

MEISTER, M., WONG, R. O., BAYLOR, D. A., Schatz, C. J."Synchronous bursts of action potentials in ganglioncells of the developing mammalian retina", *Science*, 252, pp. 939-943, 1991.

MICROCHIP, datasheet - Disponível em<http://www.mouser.com/ds/2/268/70286C38953.pdf>. Acessado em 13/01/2019.Disponível desde 2010.

MOLINA-LUNA K, PEKANOVIC A, RÖHRICH S, HERTLER B, SCHUBRING-GIESE M, et al., Dopamine in MotorCortex Is Necessary for Skill Learning and Synaptic Plasticity. *PLoS ONE* 4(9): e7082. doi:10.1371/journal.pone.0007082, 2009.

MORIN, F. O.; TAKAMURA, Y.; TAMIYA, E. "Investigating neuronal activity with planar microelectrode arrays: achievements and new perspectives". *Journal of bioscience and bioengineering*, v. 100, n. 2, p. 131–43, 2005.

MORSE, R. P. and EVANS, E. F. "Enhancement of vowel coding for cochlear implants by addition of noise". *Nature Medicine*, 2, 928–932, 1996.

MOSS, F. and MILTON, J. G. "Balancing the unbalanced", *Nature*, 425, 911–912, 2003.

MOYES C., MENGXIANG J [Online]:
http://people.ece.cornell.edu/land/courses/ece4760/FinalProjects/s2012/cwm55/cwm55_mj294/index.html. Acessado em Fevereiro de 2019.

MULTISIM, Software para simulação de circuitos eletrônicos. Disponível através do site: <http://www.ni.com/multisim/pt/>. Disponível on-line e acessado em 15/03/2015.

NEIMAN A. and SCHIMANSKY-GEIER L. "Stochastic resonance in bistable systemsdriven by harmonic noise". *Physical Review Letters*, 72, 2988–2991, 1996.

NEURORIGHTER.Software disponível em <https://sites.google.com/site/neurorighther/>. Acessado em 15 de Fevereiro de 2019. Data do artigo original: 2005.

NICOLELIS M.; CHAPIN J.K.; MOXON K.A.; MARKOWITZ R.A. "Real-time control of a robot arm using simultaneously recorded neurons in the motor cortex", *Nature Neuroscience* 2, 664 – 670, 1999.

NUSSENSVEIG M. "Curso de Física Básica", Vol. 1, Mecânica, Ed. Blucher, 2013.

OTT, H. W. "Noise Reduction Techniques in Electronic Systems", Wiley Editions, Inglaterra, 1988.

PASTORE V.P.; MASSOBRIO P.; GODJOSKI A.; MARTINOIA S. "Identification of excitatory-inhibitory links and network topology in large-scale neuronal assemblies from multi-electrode recordings". Journal.pcbi.1006381, PLoS Computational Biology 14(8):e1006381, DOI: 10.1371/ August 2018.

PERRIN, J. "Les Atomes". França, Nouveau Monde, 2012.

PGA. "Microchip Programmable Gain Amplifiers". Disponível online: <http://www.microchip.com/wwwproducts/en/MCP6S28>, Acessado em 17/04/2019.

PINE, J."Recording action potentials from cultured neurons with extracellular microcircuit electrodes", Journal of Neuroscience Methodology, n.2, pp. 19-31, 1980.

POTTER, S. M. E DEMARSE, T. B. "A new approach to neural cell culture for long-term studies".Journal of Neuroscience Methods, 110(1-2): pp. 17-24, 2001.

POTTER M.,WAGENAAR D, DEMARSE T.B., BLAUSTEVE A., "The Neurally Controlled Animat: Biological Brains Acting with Simulated Bodies".November 2006, Volume 11, Issue 3, pp 305–310, 2006.

PURVES, D. et al . "Neurociências".Editora Artmed, 4 ed., Porto Alegre, 2010.

PUTTY, Acessado on-line em: <https://www.chiark.greenend.org.uk/~sgtatham/putty/latest.html>, 2019.

PUZZI A.T. e BARJA P.R. "Níveis de ruído em unidades de terapia intensiva". Revista SODEBRAS, Volume 11, Nº 124, Abril, 2016

QIBING SUN, HONGJUN LIU, NAN HUANG, ZHAOLU WANG, JING HAN e SHAOPENG LI."Nonlinear restoration of pulse and high noisy images via stochastic resonance", Scientific Reports 5, Article number: 16183, 2015.

REGALIA, G.; BIFFI, E.; FERRIGNO, G.; PEDROCCHI, A. "A Low-Noise, Modular, and Versatile Analog FrontEnd Intended for Processing In vitro Neuronal Signals Detected by Microelectrode Arrays". ComputationalIntelligence and Neuroscience, Volume 2, Article ID 172396, 2015.

ROBINSON, J. W. C., ASRAF, D. E., BULSARA, A. R., AND INCHIOSA, M. E."Information-theoretic distance measures and a generalization of stochastic resonance". Physical Review Letters, 81, 2850–2853, 1998.

RODRIGUEZ, M.. Z. e SAITO J.H. "Análise evolutivo e modelado da dinâmica de interação de cultura de neurônios de tecido cortical *in vitro* numa matriz de microeletrodos". Dissertação de Mestrado, UFSCar, 2012.

RODRIGUEZ, E. R. L. e SAITO J.H. "Mapeamento topológico virtual de neurônios proporcional às atividades eletrofisiológicas em matrizes de microeletrodos", Tese de Doutorado, UFSCar, São Carlos, 2015.

ROLSTON, J.D, GROSS R. E. e POTTER S. M. "A low-cost multielectrode system for data acquisition enabling real-time closed-loop processing with rapid recovery from stimulation artifacts". IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 53(4), pp. 194-199, 2003.

RUTTEN W., MOUVEROUX J.M., BUITENWEG J., H., RUARDIJ, MARANI J., LAKKE, E. "Neuro-electronic interfacing with cultured multi electrode arrays toward a cultured probe". IEEE Transactions of Biomedical Engineering, vol.51, n.5, pp. 1013-1029, 2001.

SAITO J.H., MARI, J.F., PEDRINO E., DESTRO F. J.B., NICOLETTI M.C. "Simulated Activation Patterns of Biological Neurons Cultured onto a Multi-Electrode Array Based on a Modified Izhikevich's Model". Fundamenta Informaticae XXI (1), vol. 124, pp. 111-132, IOS Impress, 2013.

SEABRA, C. A. "Estudo de Resistes Amplificados Quimicamente e Sililação em Litografia por Feixe de Elétrons". Dissertação de Mestrado, Escola Politécnica, USP, São Paulo, 1997.

SCHNITZER M.J., MEISTER M. "Multineuronal Firing Patterns in the Signal from Eye to Brain". Neuron Volume 37, Issue 3, 6 February 2003, pp. 499-511.

SCHUCHMAN L. "Dither Signals and Their Effect on Quantization Noise". IEEE Trans. Commun. 12 (4): 162–165. doi:10.1109/TCOM.1964.1088973. December, 1964.

SARDI S.; VARDI R.; SHEININ A.; GOLDENTAL A. E KANTER I. "New Types of Experiments Reveal that a Neuron Functions as Multiple Independent Threshold Units". Scientific Reports, volume 7, Article number: 18036, 2017.

STERZA R.L.; BRANDI A.C. "Comparação entre métodos numéricos: Runge-Kutta de quarta ordem e previsor-corretor". ISSN 2316-9664, Volume 7, Edição ERMAC, dez. 2016.

SÖDERLUND, G.; SVERKER S.; ANDREW S. "Listen to the noise: Noise is beneficial for cognitive performance in ADHD". Journal of Child Psychology and Psychiatry. 48 (8): 840–847, 2007.

SÖDERLUND, G.; SVERKER S.; LOFTESNES J.; EDMUND S. B. "The effects of background white noise on memory performance in inattentive school children". Behavioral and Brain Functions, 2010.

SOUSSOU W., HOLMIEH G., HAN M., AHUJA, A., SONG D., HSIAO M. C., WANG, Z, TANGUAY, A.R. E BERGER, T. W. "Mapping Spatio-Temporal Electrophysiological Activity in Hippocampal Slices with Conformal Planar Multi-

Electrode Arrays". In Taketani, M. and Baudry, M. editors, Springer US, Advances in Network Electrophysiology, pp. 127-152, 2006.

SPANU A.; TEDESCO M.T.; MARTINES L., BONFIGLIO A.; MARTINOIA S. "An organic neurophysiological tool for neuronal metabolic activity monitoring". APL Bioengineering 2, 046105 (2018); <https://doi.org/10.1063/1.5050170>, November 2018.

STETT, A., EGERT, U., GUENTER, E., HOFMANN, F. MEYER, T., NISCH, W. AND MAEMMERLE, H. "Biological application of microelectrode arrays in drug discovery and basic research. Analytical and Bioanalytical Chemistry", 377, pp. 486-495, 2003.

STEGENGA, J.; FEBER, J. LE; MARANI, E.; RUTTEN, W. L. C. Analysis of cultured neuronal networks using intraburst firing characteristics. IEEE transactions on biomedical engineering, v. 55, n. 4, p. 1382-90, 2008.

STOCKS, N. G., "Suprathreshold stochastic resonance in multilevel threshold systems," Physical Review Letters, vol., 84, pp. 2310-2313, 2000.

SYSTEMS. Website: <https://www.multichannelsystems.com/>, Consultado on-line em 4 de Agosto de 2015.

TAKETANI M., BAUDRY M. "Advances in Network Electrophysiology", Editora Springer, US, 2003.

TEXAS INSTRUMENTS, "A single-Supply Op-Amp Circuit Collection," 2000 - Disponível em: <http://www.ti.com/lit/an/sloa064/sloa064.pdf>. Acessado em 13/01/2017.

THOMAS, C. A., SPRINGER, P. A., LOEB, G. W., BERWALD-NETTER, Y., OKUN, L. M. "A miniature microelectrode array to monitor the bioelectric activity of cultured cells", Experimental Cell Research, vol. 74, pp. 61-66, 1972.

TINA [Online]. Disponível: <http://www.ti.com/tool/tina-ti>. Acessado em 15 de Fevereiro de 2013.

TIVA, Launchpad. Disponível em: <http://www.ti.com/tool/EK-TM4C123GXL>, 2012.

UFJF. "Princípios de Espectrofotometria", Disponível em: <http://www.ufjf.br/quimica/files/2016/08/Espectrometria-UV-vis.pdf>, 2016.

VAN DEN POL, A. N., FINKBEINER, S. M., AND CORNELI-BELL, A. H. "Calcium excitability and oscillations in suprachiasmatic nucleus neurons and glia in vitro". J. Neurosci. 12, 2648-2664, 1992.

VALADARES, A.A. et al. "Receiver operating characteristic (ROC) curve for classification of ¹⁸F-NaF uptake on PET/CT ". Radiol Bras, São Paulo , v. 49, n. 1, p. 12-16, Feb. 2016 .

WAGENAAR D. A. e S. M. “Real-time multi-channel stimulus artifact suppression by local curve fitting”. *J. Neurosci. Methods*, n.120, pp. 113-120, 2002.

WAGENAAR D. A., PINE J., and POTTER S. M. “Effective parameters for stimulation of dissociated cultures using multi-electrode arrays”, *J. Neurosci. Methods*, n.120, pp. 122-128, 2004.

WAGENAAR, D. A. A e POTTER S. M. “A versatile all-channel stimulator for electrode arrays, with real-time control”, *J. Neural Eng.* 1, pp. 39-44, 2005.

WAGENAAR, D.; DEMARSE, T.B.; POTTER, STEVE M. “MeaBench: A toolset for multi-electrode data acquisition and on-line analysis”, Caltech, Dept. of Physics, Pasadena, USA, 2002.

WAGENAAR D.; MADHAVAN R.; PINE J.; POTTER S.M. “Controlling Bursting in Cortical Cultures with Closed-Loop Multi-Electrode Stimulation”. *J Neurosci.* Jan 19; 25(3): 680–688. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4209-04.2005 PMID: PMC2663856, 2005.

WELSH D.K., DIOMEDES L., MEISTER M.A. e REPPERT S.M. "Individual Neurons Dissociated from Rat Suprachiasmatic Nucleus Express Independently Phased Circadian Firing Rhythms". *Neuron*, Vol. 14, 697-706, April, 1995.

WHEELER, B. C., NOVAK, J. L. “Current source density estimation using microelectrode array data from the hippocampal slice preparation”, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 33, 1986.

WHITSON, J., KUBOTA, D., SHIMONO, K., JIA, Y. E TAKETANI, M. “Multi-electrode arrays: Enhancing traditional methods and enabling network physiology”, *J. Neurosci. Methods* 7, pp. 52-58, 2006.

XICOR, “Datasheet do potenciômetro digital X9313. <https://www.renesas.com/eu/en/products/data-converters/digital-potentiometers/dcp/device/X9313.html>. Consultado on-line em 05/05/2019.

YAN G.; XIAO L. “Simulation of weak signal detection based on stochastic resonance”. ISBN 978-952-5726-11-4. Proceedings of the Third International Symposium on Electronic Commerce and Security Workshops (ISECS '10) Guangzhou, P. R. China, 29-31, pp. 329-331, 2010 .

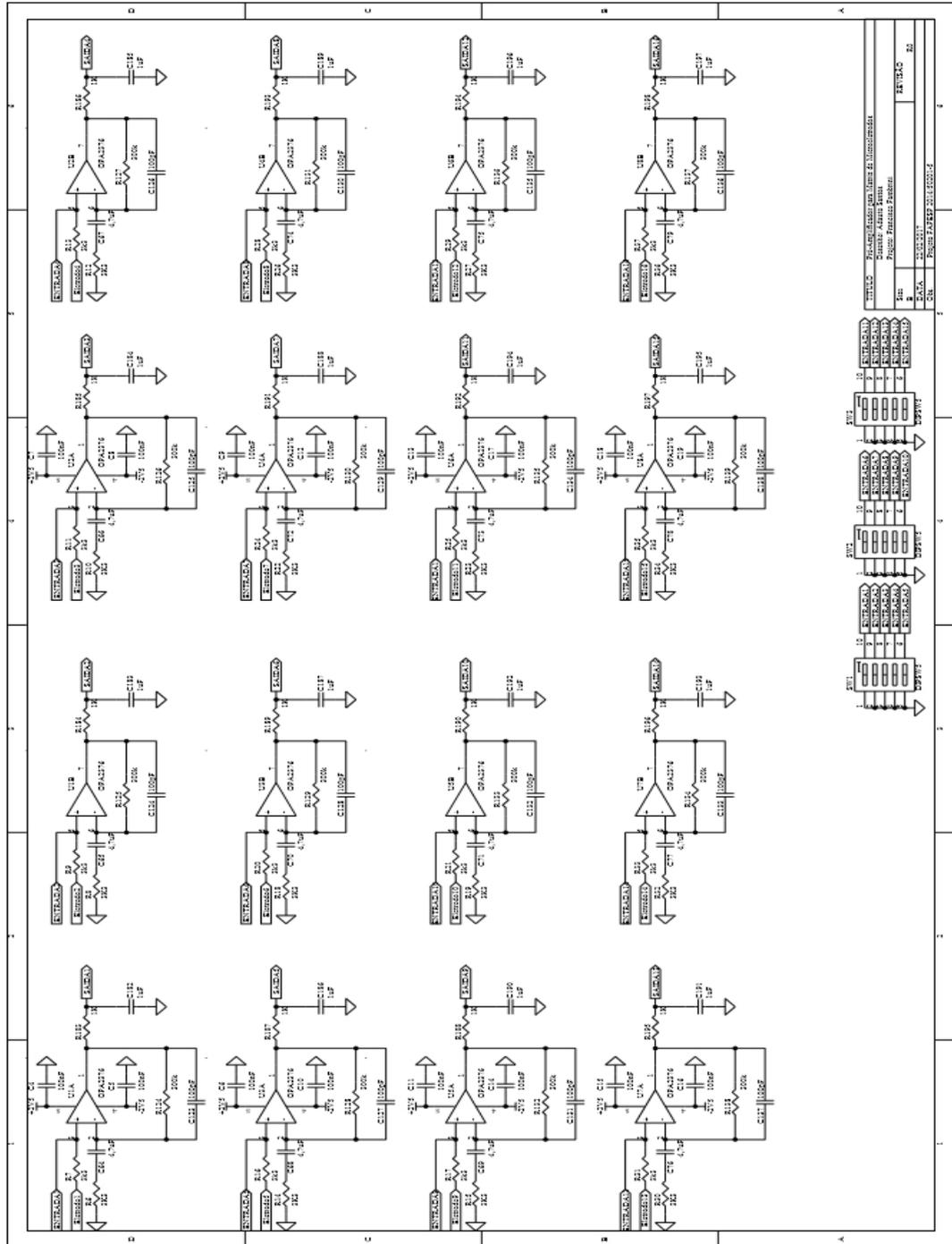
ZANGEROLAME, F. M. “Monitoramento analógico e digital de sinais elétricos cerebrais”. Dissertação de Mestrado, Cefet-RJ, Rio de Janeiro, 2009.

ZIEGLER, C. “Cell-based biosensors”. *Fresenius J. Anal. Chem.*, n. 366, pp. 552-559, 2000.

ZOZOR S. e AMBLARD P. O. “On the use of stochastic resonance in sine detection, Signal Processing”, *Phys. Review* 82, 353–367, 2002.

Apêndice A

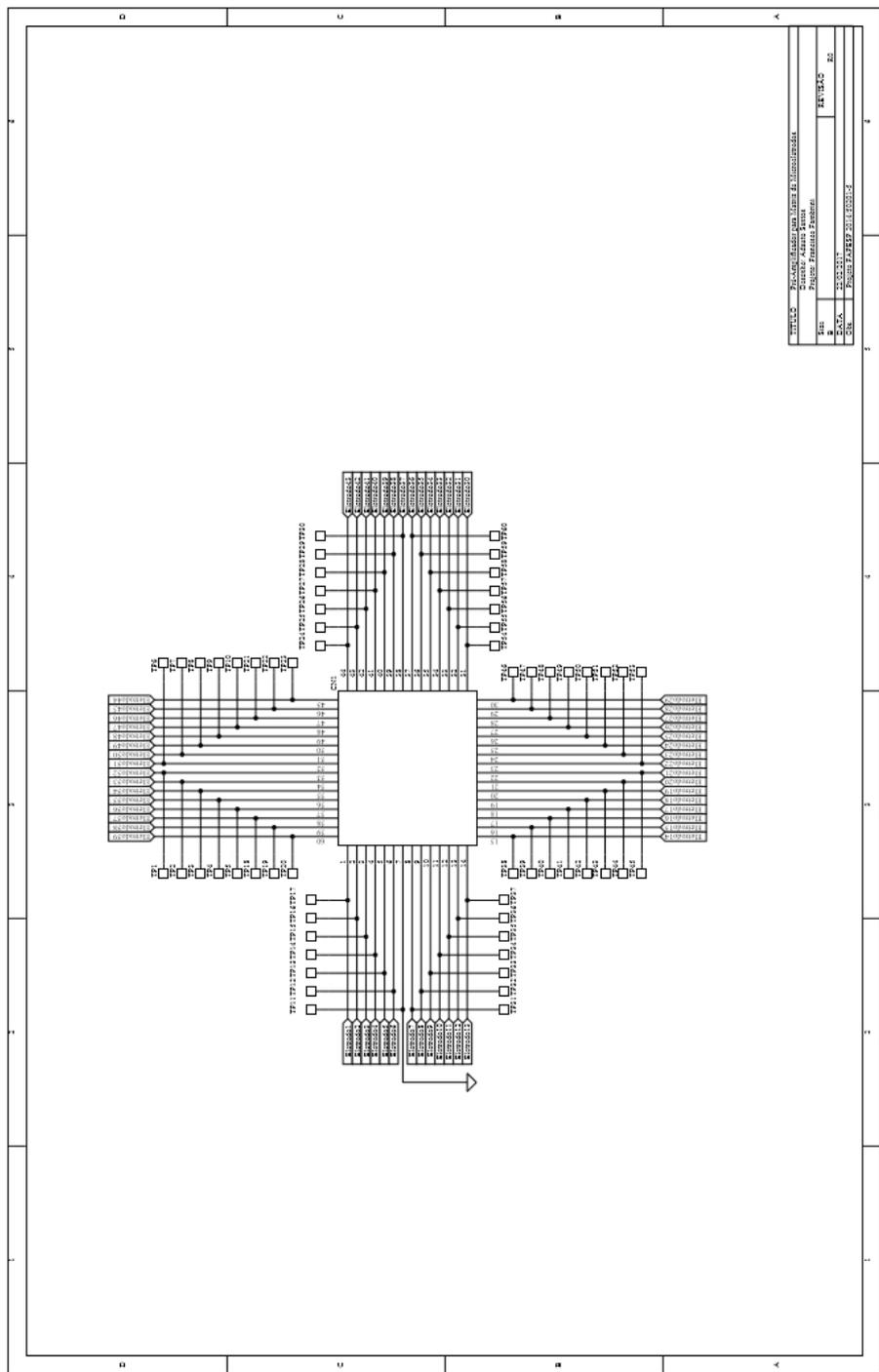
DIAGRAMA PRÉ-AMPLIFICADOR



Apêndice B

DIAGRAMA ELÉTRICO SOQUETE

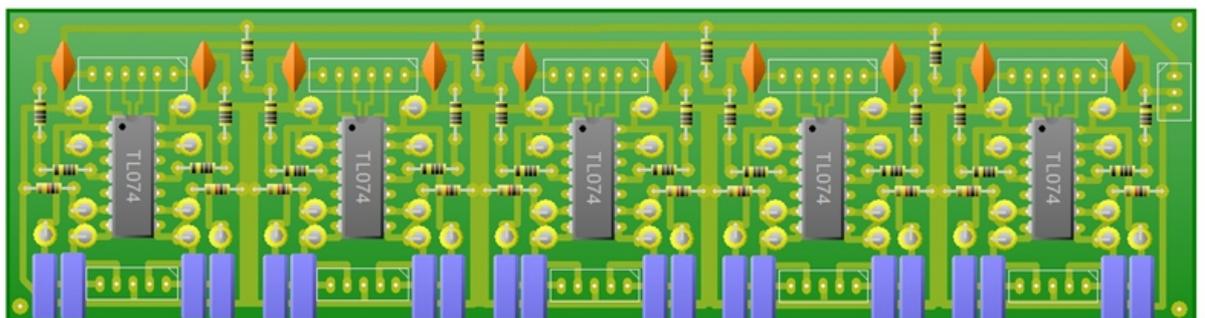
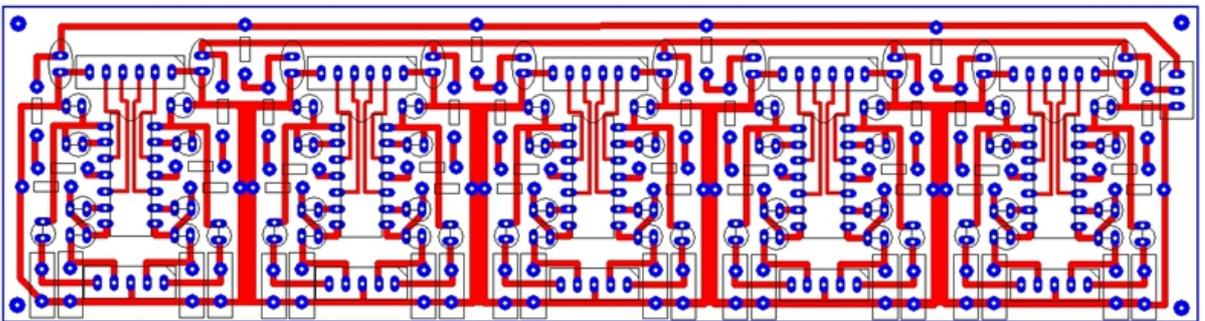
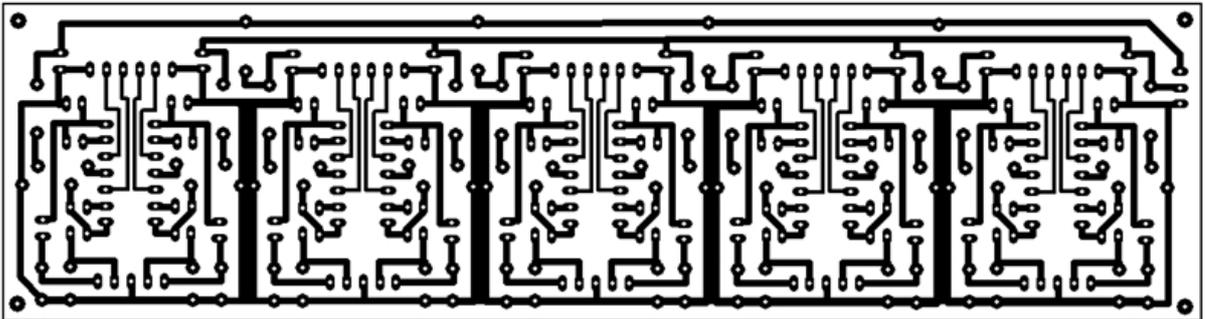
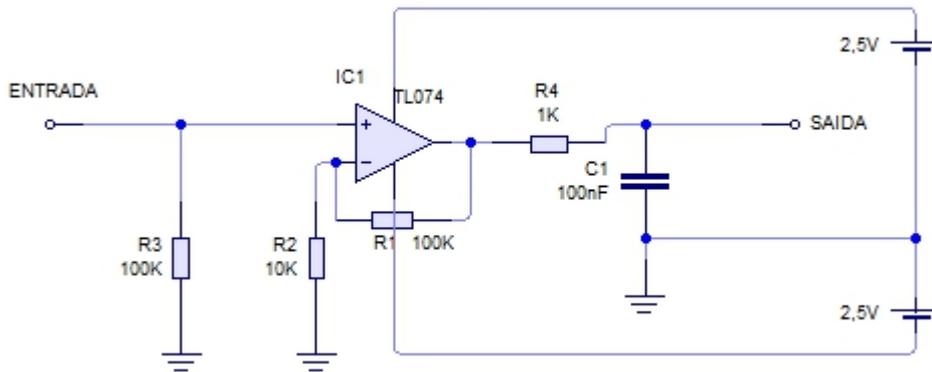
CAPÍTULO 9 -



Apêndice H

DIAGRAMAS E PLACA AMPLIFICADOR

CAPÍTULO 15 -



Apêndice I

CÓDIGO-FONTE EM VHDL

```
library ieee;
use ieee.std_logic_1164.all;
use ieee.std_logic_arith.all;

entity spi is
port(
    cristalE: in std_logic;
    clockMCP: inout std_logic;
    datainMCP: out std_logic;
    csMCP: inout std_logic;
    dataoutMCP1: in std_logic;
    dataoutMCP2: in std_logic;
    dataoutMCP3: in std_logic;
    dataoutMCP4: in std_logic;
    dataoutMCP5: in std_logic;
    dataoutMCP6: in std_logic;
    dataoutMCP7: in std_logic;
    dataoutMCP8: in std_logic;
    clockSPI: inout std_logic;
    datainSPI: out std_logic;
    dataoutSPI: inout std_logic;
    csSPI: in std_logic);
end entity;

architecture comportamento of spi is
type SAMPLE is array(0 to 3) of std_logic_vector(0 to 99);

shared variable DOUT: std_logic_vector(1 to 400);
shared variable amostra: SAMPLE;

begin
    process(cristalE)
        variable pulse: integer := 0;
        variable achannel: std_logic_vector(0 to 2);
        variable channel: integer := 0;
        variable snum: integer := 0;
        variable clock: integer := 0;

        variable ad0: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad1: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad2: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad3: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad4: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad5: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad6: std_logic_vector(0 to 11);
        variable ad7: std_logic_vector(0 to 11);
        begin
            if rising_edge(cristalE) then
                clock := clock + 1;
```

```

if clock = 2 then
    clockMCP <= not clockMCP;
    clock := 0;
end if;
pulse := pulse + 1;

achannel := conv_std_logic_vector(channel, 3);

if pulse = 4 then
    csMCP <= '0';
    datainMCP <= '1'; --start bit
elsif pulse = 8 then
    datainMCP <= '1'; -- single/diff
elsif pulse = 12 then
    datainMCP <= achannel(0); --address D2
elsif pulse = 16 then
    datainMCP <= achannel(1); --address D1
elsif pulse = 20 then
    datainMCP <= achannel(2); --address D0
elsif pulse = 24 then
    datainMCP <= '0'; --dont care start
elsif pulse = 32 then
    ad0(11) := dataoutMCP1;
    ad1(11) := dataoutMCP2;
    ad2(11) := dataoutMCP3;
    ad3(11) := dataoutMCP4;
    ad4(11) := dataoutMCP5;
    ad5(11) := dataoutMCP6;
    ad6(11) := dataoutMCP7;
    ad7(11) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 36 then
    ad0(10) := dataoutMCP1;
    ad1(10) := dataoutMCP2;
    ad2(10) := dataoutMCP3;
    ad3(10) := dataoutMCP4;
    ad4(10) := dataoutMCP5;
    ad5(10) := dataoutMCP6;
    ad6(10) := dataoutMCP7;
    ad7(10) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 40 then
    ad0(9) := dataoutMCP1;
    ad1(9) := dataoutMCP2;
    ad2(9) := dataoutMCP3;
    ad3(9) := dataoutMCP4;
    ad4(9) := dataoutMCP5;
    ad5(9) := dataoutMCP6;
    ad6(9) := dataoutMCP7;
    ad7(9) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 44 then
    ad0(8) := dataoutMCP1;
    ad1(8) := dataoutMCP2;
    ad2(8) := dataoutMCP3;
    ad3(8) := dataoutMCP4;
    ad4(8) := dataoutMCP5;
    ad5(8) := dataoutMCP6;
    ad6(8) := dataoutMCP7;
    ad7(8) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 48 then
    ad0(7) := dataoutMCP1;
    ad1(7) := dataoutMCP2;

```

```
ad2(7) := dataoutMCP3;
ad3(7) := dataoutMCP4;
ad4(7) := dataoutMCP5;
ad5(7) := dataoutMCP6;
ad6(7) := dataoutMCP7;
ad7(7) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 52 then
ad0(6) := dataoutMCP1;
ad1(6) := dataoutMCP2;
ad2(6) := dataoutMCP3;
ad3(6) := dataoutMCP4;
ad4(6) := dataoutMCP5;
ad5(6) := dataoutMCP6;
ad6(6) := dataoutMCP7;
ad7(6) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 56 then
ad0(5) := dataoutMCP1;
ad1(5) := dataoutMCP2;
ad2(5) := dataoutMCP3;
ad3(5) := dataoutMCP4;
ad4(5) := dataoutMCP5;
ad5(5) := dataoutMCP6;
ad6(5) := dataoutMCP7;
ad7(5) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 60 then
ad0(4) := dataoutMCP1;
ad1(4) := dataoutMCP2;
ad2(4) := dataoutMCP3;
ad3(4) := dataoutMCP4;
ad4(4) := dataoutMCP5;
ad5(4) := dataoutMCP6;
ad6(4) := dataoutMCP7;
ad7(4) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 64 then
ad0(3) := dataoutMCP1;
ad1(3) := dataoutMCP2;
ad2(3) := dataoutMCP3;
ad3(3) := dataoutMCP4;
ad4(3) := dataoutMCP5;
ad5(3) := dataoutMCP6;
ad6(3) := dataoutMCP7;
ad7(3) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 68 then
ad0(2) := dataoutMCP1;
ad1(2) := dataoutMCP2;
ad2(2) := dataoutMCP3;
ad3(2) := dataoutMCP4;
ad4(2) := dataoutMCP5;
ad5(2) := dataoutMCP6;
ad6(2) := dataoutMCP7;
ad7(2) := dataoutMCP8;
elsif pulse = 72 then
ad0(1) := dataoutMCP1;
ad1(1) := dataoutMCP2;
ad2(1) := dataoutMCP3;
ad3(1) := dataoutMCP4;
ad4(1) := dataoutMCP5;
ad5(1) := dataoutMCP6;
ad6(1) := dataoutMCP7;
ad7(1) := dataoutMCP8;
```

```

        elsif pulse = 76 then
            ad0(0) := dataoutMCP1;
            ad1(0) := dataoutMCP2;
            ad2(0) := dataoutMCP3;
            ad3(0) := dataoutMCP4;
            ad4(0) := dataoutMCP5;
            ad5(0) := dataoutMCP6;
            ad6(0) := dataoutMCP7;
            ad7(0) := dataoutMCP8;

            amostra(snum) := ad0 & ad1 & ad2 & ad3 & ad4 & ad5
& ad6 & ad7 & '0' & conv_std_logic_vector(channel, 3);
            elsif pulse = 80 then
                pulse := 0;
                channel := channel + 1;
                snum := snum + 1;

                if channel = 8 then
                    channel := 0;
                end if;

                if snum = 4 then
                    snum := 0;
                    DOUT := amostra(0) & amostra(1) & amostra(2)
& amostra(3);

                    dataoutSPI <= not dataoutSPI;
                end if;

                csMCP <= '1';
            end if;
        end if;
    end process;

    process(clockSPI, csSPI)
        variable tick:integer := 0;
        begin
            if (csSPI = '1') then
                tick := 0;
            elsif falling_edge(clockSPI) then
                tick := tick + 1;

                for l in 1 to 400 loop
                    if (tick = l) then
                        datainSPI <= DOUT(l);
                    end if;
                end loop;
            end if;
        end process;

    end process;

end architecture;

```

Apêndice J

CÓDIGO-FONTE ORANGE PI

CAPÍTULO 17 -

```
#include <stdint.h>
#include <unistd.h>
#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <getopt.h>
#include <fcntl.h>
#include <sys/ioctl.h>
#include <sys/times.h>
#include <linux/types.h>
#include <linux/spi/spidev.h>
#include <wiringPi.h>

#define ARRAY_SIZE(a) (sizeof(a) / sizeof((a)[0]))

static const char *device = "/dev/spidev0.0";
static uint8_t mode = 2;
static uint8_t bits = 8;
static uint32_t speed = 32000000;

static void pabort(const char *s) {
    perror(s);
    abort();
}

#define BUFFER_READY 26
#define TEST 4

int ret = 0;
int fd;
char buff[50];
int br = -1;
static uint8_t lv;
static uint32_t breakfile, i;
static char filename[256];

int main(int argc, char** argv) {

    wiringPiSetup ();

    pinMode (BUFFER_READY, INPUT) ;
    pinMode (TEST, OUTPUT) ;

    fd = open(device, O_RDWR); //read write
    if (fd < 0) {
        printf("can't open device");
        return -1;
    }
    ret = ioctl(fd, SPI_IOC_WR_MAX_SPEED_HZ, &speed);
```

```

if (ret == -1) {
    printf("can't open device");
    return -1;
}

FILE *f = fopen("record/rec(0).txt", "w");
if (f == NULL)
{
    printf("Error opening file!\n");
    return -1;
}

printf("spi mode: %d\n", mode);
printf("bits per word: %d\n", bits);
printf("max speed: %d Hz (%d MHz)\n", speed, speed / 1000000);

if (ioctl(fd, SPI_IOC_WR_MODE, &mode) == -1) pabort("Can't set SPI mode");

for(;;){

    lv = digitalRead(BUFFER_READY);
    digitalWrite(TEST,lv);
    if(lv != br){
        br = lv;
        if (read(fd, buf, ARRAY_SIZE(buf)) != ARRAY_SIZE(buf)){
            perror("SPI read Error");
            close(fd);
        }
        fprintf(f,"%02X %02X %02X
%02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X
%02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X %02X
\r\n",buf[0],buf[1],buf[2],buf[3],buf[4],buf[5],buf[6],buf[7],buf[8],buf[9],buf[10],buf[11],buf[12]
,buf[13],buf[14],buf[15],buf[16],buf[17],buf[18],buf[19],buf[20],buf[21],buf[22],buf[23],buf[2
4],buf[25],buf[26],buf[27],buf[28],buf[29],buf[30],buf[31],buf[32],buf[33],buf[34],buf[35],buf[
36],buf[37],buf[38],buf[39],buf[40],buf[41],buf[42],buf[43],buf[44],buf[45],buf[46],buf[47],bu
f[48],buf[49]);
        i++;

        if(i == 144000){
            i = 0;
            fclose(f);
            breakfile++;
            sprintf(filename,"record/rec(%d).txt",breakfile);
            FILE *f = fopen(filename, "w");
        }
    }
}

close(fd);
return ret;
}

```

Apêndice K

CÓDIGO-FONTE PLACA TIVA (REAC)

```
int inc[4] = {4,6,8,10};
int ctl[4] = {5,7,9,11};
int mem[4] = {0,0,0,0};

String str = "";

bool usead = 0;

void pulse(int chip, bool cmd){
  int a = inc[chip];
  int b = ctl[chip];

  digitalWrite(b,cmd);

  digitalWrite(a,HIGH);
  delayMicroseconds(10);
  digitalWrite(a,LOW);
  delayMicroseconds(10);
}

void set_mem(int chip, bool cmd){
  if(cmd){
    mem[chip] += 1;
  }
  else{
    mem[chip] -= 1;
  }

  if (mem[chip] < 0) mem[chip] = 0;
  if (mem[chip] > 31) mem[chip] = 31;
}

void setup(){
  int i, j;

  Serial.begin(115200);
  pinMode(4,OUTPUT); // INC
  pinMode(5,OUTPUT); // UP/DOWN
  pinMode(6,OUTPUT); // INC
  pinMode(7,OUTPUT); // UP/DOWN
  pinMode(8,OUTPUT); // INC
  pinMode(9,OUTPUT); // UP/DOWN
  pinMode(10,OUTPUT); // INC
  pinMode(11,OUTPUT); // UP/DOWN
  pinMode(12,OUTPUT); // RELE
  pinMode(13,OUTPUT); // ONBOARD LED
```

```

digitalWrite(4,HIGH);
digitalWrite(6,HIGH);
digitalWrite(8,HIGH);
digitalWrite(10,HIGH);
digitalWrite(5,HIGH);
digitalWrite(7,HIGH);
digitalWrite(9,HIGH);
digitalWrite(11,HIGH);
digitalWrite(12,LOW);
digitalWrite(13,LOW);
for(i=0;i<4;i++){
  for(j=0;j<32;j++){
    pulse(i,LOW);
  }
}

delay(2000);
Serial.print("#Start$");

} // void setup()

void(* resetFunc)(void) = 0;

void loop(){
  char a;
  int i, j;
  int ch, val, diff, k, adval;

  while (Serial.available() > 0) {

    a = Serial.read();

    if(a == '\n'){
      //Serial.print("Texto = ");
      //Serial.println(str);

      ch = str.substring(0,1).toInt();
      val = str.substring(2,4).toInt();

      if (str.length() > 2){
        //Serial.print("#");

        //Serial.print("Ch = ");
        //Serial.println(ch, DEC);
        //Serial.print("Val = ");
        //Serial.println(val, DEC);

        if ((val < 0) || (val > 31)){
          //Serial.println("Invalid Value");
        }
        else if((ch < 0) || (ch > 3)){
          //Serial.println("Invalid Channel");
        }
        else{
          diff = val - mem[ch];

          //Serial.print("Diff = ");
          //Serial.println(diff, DEC);
          if (diff > 0){

```

```

    for(k = 0; k < diff; k++){
        pulse(ch,HIGH);
        set_mem(ch,HIGH);

        //Serial.print("H");
    }
}
else if(diff < 0){
    for(k = diff; k < 0; k++){
        pulse(ch,LOW);
        set_mem(ch,LOW);

        //Serial.print("L");
    }
}
//Serial.println("");
//Serial.print("MEM = ");
//Serial.println(mem[ch], DEC);
}
//Serial.print("$");
}
str = "";
}
else if(a == 'A'){
    usead = 1;
}
else if(a == 'S'){
    usead = 0;
}
else if(a == 'R'){
    for(i=0;i<4;i++){
        for(j=0;j<32;j++){
            pulse(i,LOW);
        }
    }
}
else if(a == 'L'){
    digitalWrite(12,HIGH);
    digitalWrite(13,HIGH);
}
else if(a == 'D'){
    digitalWrite(12,LOW);
    digitalWrite(13,LOW);
}
else if(a == '\r'){
    //nada
}
else{
    str.concat(a);
}
}
if(usead){
    adval = analogRead(A0);
    Serial.print("#");
    Serial.print(adval, DEC);
Serial.print("$");
}
} // void loop()

```


Apêndice N

CÓDIGO-FONTE DELPHI (REAC)

CAPÍTULO 21

```
unit Unit1;
interface
uses
  Windows, Messages, SysUtils, Variants, Classes, Graphics, Controls, Forms,
  Dialogs, CPortCtl, StdCtrls, CPort, ExtCtrls, TeEngine, Series, TeeProcs,
  Chart, Spin, XPMan, ComCtrls, Math;
type
  TForm1 = class(TForm)
    ComPort1: TComPort;
    ComDataPacket1: TComDataPacket;
    Button2: TButton;
    ComLed1: TComLed;
    Timer1: TTimer;
    Chart1: TChart;
    Series1: TFastLineSeries;
    Timer2: TTimer;
    SpinEdit1: TSpinEdit;
    XPManifest1: TXPManifest;
    Button3: TButton;
    Bevel1: TBevel;
    StatusBar1: TStatusBar;
    Label1: TLabel;
    Button4: TButton;
    Button5: TButton;
    Panel1: TPanel;
    TrackBar1: TTrackBar;
    SpinEdit2: TSpinEdit;
    Panel2: TPanel;
    TrackBar2: TTrackBar;
    SpinEdit3: TSpinEdit;
    Panel3: TPanel;
    Panel4: TPanel;
    Label2: TLabel;
    Label3: TLabel;
    Label4: TLabel;
    Label5: TLabel;
    Button1: TButton;
    Edit1: TEdit;
    Bevel2: TBevel;
    Label6: TLabel;
    Button6: TButton;
    Button7: TButton;
    Button8: TButton;
    ck1: TEdit;
    l0: TLabel;
    l1: TLabel;
    Label7: TLabel;
    Label8: TLabel;
    Label9: TLabel;
    Label10: TLabel;
```

```

Label11: TLabel;
Label12: TLabel;
ck2: TEdit;
Label13: TLabel;
ck4: TEdit;
ck3: TEdit;
Label14: TLabel;
TrackBar3: TTrackBar;
SpinEdit4: TSpinEdit;
TrackBar4: TTrackBar;
SpinEdit5: TSpinEdit;
l2: TLabel;
l3: TLabel;
procedure Button2Click(Sender: TObject);
procedure ComDataPacket1Packet(Sender: TObject; const Str: string);
procedure Timer1Timer(Sender: TObject);
procedure Timer2Timer(Sender: TObject);
procedure SpinEdit1Change(Sender: TObject);
procedure Button3Click(Sender: TObject);
procedure Button4Click(Sender: TObject);
procedure Button5Click(Sender: TObject);
procedure TrackBar1Change(Sender: TObject);
procedure TrackBar2Change(Sender: TObject);
procedure TrackBar3Change(Sender: TObject);
procedure TrackBar4Change(Sender: TObject);
procedure SpinEdit2Change(Sender: TObject);
procedure SpinEdit3Change(Sender: TObject);
procedure SpinEdit4Change(Sender: TObject);
procedure SpinEdit5Change(Sender: TObject);
procedure FormShow(Sender: TObject);
procedure Button1Click(Sender: TObject);
procedure Button6Click(Sender: TObject);
procedure Button7Click(Sender: TObject);
procedure Button8Click(Sender: TObject);
procedure ck1Change(Sender: TObject);
procedure ck2Change(Sender: TObject);
procedure ck3Change(Sender: TObject);
procedure ck4Change(Sender: TObject);
private
  { Private declarations }
public
  { Public declarations }
end;

var
  Form1: TForm1;
sample : integer = 0;
sample2 : integer = 0;
valor : integer = 0;
x : integer = 0;
y : integer = 0;
sum : real = 0;
snravg : real = 0;

implementation

{$R *.dfm}

procedure TForm1.Button1Click(Sender: TObject);
begin

```

```

comport1.ShowSetupDialog;
edit1.Text := ComPort1.Port;
end;

procedure TForm1.Button2Click(Sender: TObject);
begin

if not Comport1.Connected then
begin
try
Comport1.Open;
Button2.Caption := 'Desconectar';
timer1.Enabled := true;
Button1.Enabled := false;
except
showmessage('Falha ao abrir a porta COM');
end;
end
else
begin
try
button4.Click;
button5.Click;
SpinEdit2.Text := '0';
SpinEdit3.Text := '0';
SpinEdit4.Text := '0';
SpinEdit5.Text := '0';
Comport1.Close;
Button2.Caption := 'Conectar';
timer1.Enabled := false;
Button1.Enabled := true;
StatusBar1.Panels[0].Text := "";
finally

end;
end;

end;

procedure TForm1.Button3Click(Sender: TObject);
begin
if ComPort1.Connected then
begin
Chart1.Series[0].Clear;
x:=0;
Comport1.WriteStr('A' + #10);
end;
end;

procedure TForm1.Button4Click(Sender: TObject);
begin
if ComPort1.Connected then
begin
Comport1.WriteStr('S' + #10);
timer2.Enabled := false;
end;
end;

procedure TForm1.Button5Click(Sender: TObject);
begin

```

```

Chart1.Series[0].Clear;
x:=0;
end;

procedure TForm1.Button6Click(Sender: TObject);
begin
if ComPort1.Connected then
begin
Comport1.WriteStr('R' + #10);
SpinEdit2.Text := '0';
SpinEdit3.Text := '0';
SpinEdit4.Text := '0';
SpinEdit5.Text := '0';
timer2.Enabled := false;
button5.Click;
end;
end;

procedure TForm1.Button7Click(Sender: TObject);
begin
if ComPort1.Connected then
begin
Comport1.WriteStr('L' + #10);
end;
end;

procedure TForm1.Button8Click(Sender: TObject);
begin
if ComPort1.Connected then
begin
Comport1.WriteStr('D' + #10);
end;
end;

procedure TForm1.ck1Change(Sender: TObject);
begin
spinedit2.OnChange(Sender);
end;

procedure TForm1.ck2Change(Sender: TObject);
begin
spinedit3.OnChange(Sender);
end;

procedure TForm1.ck3Change(Sender: TObject);
begin
spinedit4.OnChange(Sender);
end;

procedure TForm1.ck4Change(Sender: TObject);
begin
spinedit5.OnChange(Sender);
end;

function TryStrToInt(const S: string; out Value: Integer): Boolean;
var
E: Integer;
begin
Val(S, Value, E);
Result := E = 0;
end;

```

end;

```
procedure TForm1.ComDataPacket1Packet(Sender: TObject; const Str: string);
begin
  if TryStrToInt(Str, Valor) then
  begin
    sample := sample + 1;
    x := x + 1;
    timer2.Enabled := true;

    if y < 127 then
    begin
      y := y + 1;
      sum := sum + Valor;
    end
    else
    begin
      snavg := sum / y;
      sum := 0;
      y := 0;
    end;
  end
end;
```

```
procedure TForm1.FormShow(Sender: TObject);
begin
  edit1.Text := ComPort1.Port;
end;
```

```
procedure TForm1.SpinEdit1Change(Sender: TObject);
begin
  Chart1.Series[0].Clear;
  x := 0;
end;
```

```
procedure TForm1.SpinEdit2Change(Sender: TObject);
var
  i:integer;
  r:double;
begin
  TryStrToInt(SpinEdit2.Text,i);
  TryStrToFloat(ck1.Text, r);
  trackbar1.Position := i * -1;
  I0.Caption := floattostr(trackbar1.Position * -1 * r) + ' mV (RMS)';
  ck4.Text := floattostr(r);
  if ComPort1.Connected then Comport1.WriteString('0,'+SpinEdit2.Text+ #10);
end;
```

```
procedure TForm1.SpinEdit3Change(Sender: TObject);
var
  i:integer;
  r:double;
begin
  TryStrToInt(SpinEdit3.Text,i);
  TryStrToFloat(ck2.Text, r);
  trackbar2.Position := i * -1;
  I1.Caption := floattostr(trackbar2.Position * -1 * r) + ' mV (RMS)';
  if ComPort1.Connected then Comport1.WriteString('1,'+SpinEdit3.Text+ #10);
```

```

end;

procedure TForm1.SpinEdit4Change(Sender: TObject);
var
i:integer;
r:double;
begin
TryStrToInt(SpinEdit4.Text,i);
TryStrToFloat(ck3.Text, r);
trackbar3.Position := i * -1;
I2.Caption := floattostr(trackbar3.Position * -1 * r) + ' mV (RMS)';
if ComPort1.Connected then Comport1.WriteStr('2,'+SpinEdit4.Text+ #10);
end;

procedure TForm1.SpinEdit5Change(Sender: TObject);
var
i:integer;
r:double;
begin
TryStrToInt(SpinEdit5.Text,i);
TryStrToFloat(ck4.Text, r);
trackbar4.Position := i * -1;
I3.Caption := floattostr(trackbar4.Position * -1 * r) + ' mV (RMS)';
if ComPort1.Connected then Comport1.WriteStr('3,'+SpinEdit5.Text+ #10);
end;

procedure TForm1.Timer1Timer(Sender: TObject);
begin
StatusBar1.Panels[0].Text := 'Signal: ' + inttostr(sample) + ' Hz, Graph:
'+inttostr(sample2)+' Hz, Sampling: 1000Hz';
sample := 0;
sample2 := 0;
end;

procedure TForm1.Timer2Timer(Sender: TObject);
var
i, j : integer;
v: real;
begin
sample2 := sample2 + 1;

Chart1.Series[0].AddXY(x, valor, ", clTeeColor);

if TryStrToInt(SpinEdit1.Text,i) then
if x > i then Chart1.Series[0].Delete(0);

StatusBar1.Panels[1].Text := inttostr(sample) + ':' + inttostr(valor);

TryStrToInt(SpinEdit2.Text,j);
if j = 0 then
begin
label7.caption := '-';
label11.caption := '-';
end
else
begin
v:= Power((snravg * strtfloat(ck2.Text)),2) / Power((j * strtfloat(ck1.Text)) ,2);
label7.caption := Format('%.1f', [v]);

if v = 0 then v:= 1;

```

```
    label11.caption := Format('% .1f', [(20*log10(v))]);  
end;  
end;
```

```
procedure TForm1.TrackBar1Change(Sender: TObject);  
begin  
spinedit2.Text := inttostr(trackbar1.Position * -1);  
end;
```

```
procedure TForm1.TrackBar2Change(Sender: TObject);  
begin  
spinedit3.Text := inttostr(trackbar2.Position * -1);  
end;
```

```
procedure TForm1.TrackBar3Change(Sender: TObject);  
begin  
spinedit4.Text := inttostr(trackbar3.Position * -1);  
end;
```

```
procedure TForm1.TrackBar4Change(Sender: TObject);  
begin  
spinedit5.Text := inttostr(trackbar4.Position * -1);  
end;
```

```
end.
```

APÊNDICE O

LISTA DE PUBLICAÇÕES

FAMBRINI, F.; BARRETO, M.A.; SAITO, J.H.; *Low noise microelectrode array signal headstage pre-amplifier for in-vitro neuron culture*

[Artigo submetido e publicado na Conferência CIBCB 2014, realizada em Honolulu, Hawaii, EUA, em Novembro de 2014. Descreve a construção do sistema Pré-Amplificador convencional para sinais captados em MEA. Site da Conferência: <http://cibcb.org/2014/>].

FAMBRINI, F.; BARRETO, M.A.; SAITO, J.H.; *Low Noise Microelectrode Array Signal Headstage Pre-amplifier for In-Vitro Neuron Culture*

[Artigo submetido e publicado na Conferência CBMS 2014, IEEE 27th International Symposium on Computer, em New York, EUA. Descreve a construção do sistema amplificador completo para matriz de microeletrodos. Site da Conferência: <http://sites.ieee.org/cbms/callpapers/>]

FAMBRINI, F.; BARRETO, M.A.; SAITO, J.H.; *Data Recording, Amplification, and Acquisition System for Microelectrode Array*

[Artigo submetido e publicado na Conferência CBMS 2014, IEEE 27th International Symposium on Computer, em New York, EUA. Descreve os resultados experimentais dos testes efetuados com o sistema Pré-amplificador e Amplificador para sinais em MEA. Site da Conferência: <http://sites.ieee.org/cbms/callpapers/>]

FAMBRINI, F.; SAITO, J.H.; DEL VAL CURA, L.M. *Mea recording system circuit implementation.*

[Artigo submetido e publicado na Conferência IECON 2017 - 43rd Annual Conference of the IEEE, 2017. Descreve os resultados dos experimentos com o sistema completo de registro de sinais em MEA, incluindo o sistema de

multiplexação e o conversor analógico/digital. Site da Conferência: <http://pe-ip.com/ieee-iecon-2017-call-papers/>].

FAMBRINI F.; SAITO J.H. *An Innovative Digital Amplification Device for Neuronal Signal Based in Stochastic Resonance*.

[Artigo submetido à revista “Journal of Experimental Biology” em Agosto de 2019 e aguarda parecer. Descreve o método de amplificação de sinais captados em MEA através do sistema de ressonância estocástica e descreve também a construção do equipamento CADSR (Computer Aided Digital Stochastic Resonator) bem como o desenvolvimento de seu *Software* de controle. Website deste Journal: <https://jeb.biologists.org/>] .

Número do comprovante de Submissão do Artigo:

MSID#:JEXBIO/2019/213215

MS TITLE: An Innovative Digital Amplification Device for Neuronal Signal Based in Stochastic Resonance

AUTHORS: Francisco Fambrini, José Hiroki Saito, and Joao-Batista Batista Destro-Filho

Artigos nos quais o autor participou indiretamente, como colaborador, e possuem algum tipo de relação com esse trabalho:

BARRETO, M.A.; FAMBRINI, F.; SAITO, J.H.; *Microelectrode array signal amplification using stochastic resonance*

[Artigo submetido e publicado na Conferência IECON 2015 - 41st Annual Conference of the IEEE, 2015. Descreve um sistema de amplificação de sinais em MEA utilizando o fenômeno de ressonância estocástica].

CAMPOS, J.R.; SAITO, J.H.; MARI, J.F., FAMBRINI, F.; LAPPA R del Val Cura L.M.; *Topological Mapping of Neurons using Activities Detected in MEA Recording Signals*.

[Artigo submetido e publicado na Conferência KES 2018, realizada em Belgrado, Sérvia. Descreve o mapeamento topológico dos neurônios em MEA baseado nos sinais elétricos captados pelos microeletrodos. Site da Conferência: <http://kes2018.kesinternational.org/>].