

Universidade do Minho

Cláudio Duarte Campos da Silva

**Desenvolvimento de Circuito de Leitura
para Medição de Clorofila *in-situ***

Tese de Mestrado

Ciclo de Estudo Integrados Conducentes ao Grau de Mestre em
Engenharia Eletrónica Industrial e Computadores

Trabalho efetuado sob orientação do Professor Doutor Luís
Gonçalves

Outubro de 2017

DECLARAÇÃO

Claúdio Duarte Campos da Silva

Endereço eletrónico: claudiodcsilva93@gmail.com

Título da Dissertação:

Desenvolvimento de Circuito de Leitura para Medição de Clorofila *in-situ*

Orientador:

Doutor Luís Gonçalves

Dissertação submetida na Universidade do Minho para a obtenção do grau de
Mestre em Engenharia Eletrónica e de Computadores

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO,
MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE;

Universidade do Minho, ___/___/_____

Assinatura: _____

“Look, if you had one shot, or one opportunity. To seize everything you ever wanted in one moment.

Would you capture it or just let it slip?”

Eminem

Agradecimentos

As primeiras palavras de agradecimentos são direcionadas aos meus pais e irmão, por todo o apoio educacional, psicológico e financeiro, prestado durante todo o meu percurso académico, pois sem eles esta dissertação nunca seria uma realidade.

Ao meu orientador Professor Doutor Luís Gonçalves, bem como à Professora Doutora Graça Minas, por todo o apoio prestado e por toda a confiança transmitida para a realização desta dissertação.

Ao *Center for Microelectromechanical Systems* e ao projeto *Next-Sea*, por me ter proporcionado todas as condições para a elaboração deste trabalho.

Aos meus colegas de curso que me acompanharam ao longo destes anos, em especial ao Carlos Pereira (Cajó), que esteve envolvido no projeto onde se integra a dissertação, por todo o companheirismo e ajuda prestada, bem como à Denise Carvalho, que sempre se mostrou disponível para me ajudar e esclarecer.

Finalmente e não menos importante, à minha restante família e ao meu grupo de amigos (Cajó, Jeffren, Neves, Batista, João, Squirtle, Mota e César), por todos os momentos vividos e partilhados, e sobretudo por me terem alegrado, compreendido e apoiado nos piores momentos, são como família para mim.

A todos, um muito obrigado!



Este trabalho foi suportado pelo projeto “Next-Sea: Next generation monitoring of coastal ecosystems in a scenario of global change”, NORTE-01-0145-FEDER-000032, financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) e Programa Operacional Regional do Norte (NORTE2020).

This work was supported by the project “Next-Sea: Next generation monitoring of coastal ecosystems in a scenario of global change”, NORTE-01-0145-FEDER-000032, co-funded by Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), with Programa Operacional Regional do Norte (NORTE2020).



Resumo

Atualmente, a monitorização das variáveis marítimas, tais como, o pH, o fitoplâncton, a salinidade e a temperatura, assumiu um papel preponderante não só na compreensão de muitos processos físicos e biológicos do oceano, bem como na influência que estes têm nas alterações climáticas e em todas as modificações que ameaçam a biodiversidade marinha. Devido à importância do fitoplâncton na sustentabilidade marítima, a presente dissertação visa o desenvolvimento de um circuito de leitura para a deteção do fitoplâncton.

Visto que a clorofila se encontra presente em todos os organismos fotossintéticos, a quantificação de fitoplâncton na água do mar é efetuada através das propriedades fluorescentes da clorofila-a. O grande problema associado a este sinal de fluorescência, é a sua baixa amplitude, sendo por isso facilmente afetado por ruído, comprometendo a viabilidade das medições. É então de extrema importância, a implementação de um mecanismo de leitura de alta sensibilidade, imune a ruído e capaz de efetuar a medição dos dados pretendidos debaixo de água. Este mecanismo será implementado com um detetor síncrono (*lock-in*).

Os detetores síncronos extraem o sinal embebido em ruído, permitindo maior sensibilidade e maior relação sinal/ruído. Posto isto, afastando o sinal útil do ruído, é aumentada a relação sinal/ruído, permitindo a deteção de sinais de amplitude mais reduzida, como é o caso da medição da fluorescência da clorofila. O dispositivo que usa esta técnica é chamado de amplificador *lock-in*, propondo-se esta dissertação ao seu estudo e implementação para quantificação de fitoplâncton *in-situ*.

O dispositivo desenvolvido, demonstrou que a relação estabelecida entre as diluições da cultura de fitoplâncton e a tensão de saída, apresenta um decréscimo do valor de tensão à medida que a diluição aumenta. Comparando os resultados obtidos, com um equipamento laboratorial de medição de fluorescência, a razão entre os valores é praticamente constante, validando assim o funcionamento do sistema desenvolvido.

Palavras-chave:

Amplificador *lock-in*, Clorofila, Fluorescência, Ruído, Sensibilidade.

Abstract

Nowadays, the monitoring of maritime variables, such as pH, the phytoplankton, the salinity and temperature, assumed a leading role not only in understanding of many physical and biological processes of the ocean, as well as the influence their have on climate change and in all the changes that threaten the marine biodiversity. Due to the importance of phytoplankton on maritime sustainability, this thesis aims at the development of a reading circuit for the phytoplankton detection.

Once the chlorophyll is present in all photosynthetic organisms, the quantification of phytoplankton in sea water is made through the fluorescence properties of the chlorophyll-a. The major problem associated with this sign of fluorescence, is its low amplitude, and for this reason, it is easily affected by noise, compromising the viability of measurements. So, it is of paramount importance, the development of a reading mechanism with high sensitivity, immune to noise and able to make the measurement of required data under the water. This mechanism will be implemented with a synchronous detector (lock-in).

The synchronous detectors extract the signal embedded in noise, allowing greater sensitivity and higher signal-to-noise ratio. Therefore, removing the useful sign of the noise, is increased the signal/noise ratio, allowing the detection of signals with less amplitude, as is the case of the measurement of chlorophyll fluorescence. The device that uses this technique is called lock-in amplifier, being the aim of this dissertation its study and development for the quantification of phytoplankton in-situ.

The developed device demonstrated that the relationship established between dilutions of the phytoplankton culture and the output voltage shows a decrease in the voltage value as the dilution increases. Comparing the obtained results with the laboratory fluorescence measurement equipment, the ratio between the values is practically constant, validating the operation of the developed system

Keywords:

Lock-in Amplifier, Chlorophyll, Fluorescence, Noise, Sensitivity.

ÍNDICE

Agradecimentos	vii
Resumo	xi
Abstract	xiii
Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxi
Capítulo 1 Introdução	23
1.1 Contextualização	23
1.2 Objetivos	24
1.3 Organização da Tese	24
Capítulo 2 Estado da Arte	27
2.1 Sistemas de medição de clorofila	27
2.2 Metodologias	31
Capítulo 3 Fundamentos Teóricos.....	33
3.1 O Fitoplâncton.....	33
3.2 Ruído	34
3.2.1 White noise	36
3.2.2 Thermal Noise (Johnson Noise)	36
3.2.3 Shot noise.....	37
3.2.4 Flicker noise (1/f noise).....	38
3.2.5 Signal-to-Noise Ratio (SNR) e Noise Figure (NF).....	39
3.3 Amplificador Lock-In (LIA)	41
3.3.1 Arquitetura do Lock-In.....	43
Capítulo 4 Projeto e Simulação.....	49
4.1 Implementação e Simulação Computacional	49
4.1.1 Amplificador de transimpedância.....	50
4.1.2 Filtro Passa-Banda	51
4.1.3 Amplificador.....	52
4.1.4 Multiplicador.....	52
4.1.5 Filtro Passa-Baixo.....	54
4.1.6 Resultados da simulação computacional do amplificador lock-in.....	55
4.2 Redimensionamento dos circuitos eletrónicos do amplificador lock-in.....	64
4.2.1 Filtro Passa-Banda	64
4.2.2 Filtro Passa-Baixo.....	66
4.3 Circuito de Leitura Final	68
Capítulo 5 Fabrico, Teste e Resultados do Amplificador.....	73
5.1 Protótipo experimental.....	73
5.1.1 Escolha dos componentes	73
5.1.2 Desenho e Implementação	76
5.1.3 Teste de caracterização do funcionamento do circuito de leitura	79
5.1.4 Problemas encontrados Vs Possíveis alterações.....	89
Capítulo 6 Sistema de Medição de Clorofila.....	91

6.1	Arquitetura do sistema	91
6.2	Teste de detetabilidade da clorofila-a.....	92
6.3	Comparação de resultados entre o sistema de medição de clorofila desenvolvido e um fluorímetro laboratorial	97
Capítulo 7	Conclusões	99
7.1	Conclusão	99
7.2	Trabalho Futuro.....	100
	Lista de Referências.....	103

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Mapa de clorofila obtido por satélite, respetivo ao mês de Outubro de 2016 [4].	28
Figura 2.2 - Sonda multiparamétrica Aquadam [6].	28
Figura 2.3 - Sistema SIMPATICO [7].	29
Figura 2.4 - Fluorímetro Digital AlgaeCheck Ultra [9].	29
Figura 2.5 - Exemplo de arquitetura do equipamento a implementar, através do acoplamento do sistema de deteção, quantificação e classificação do fitoplâncton com o mecanismo de leitura proposto na presente dissertação [2].	31
Figura 3.1 - A interferência do ruído no sinal de interesse [12].	34
Figura 3.2 - Exemplo de fontes de ruído extrínseco [14].	35
Figura 3.3 - Distinuição do ruído nas variadas frequências [11].	35
Figura 3.4 - Densidade espectral característica do thermal noise ao longo da gama de frequências [14].	37
Figura 3.5 - Densidade espectral característica do shot noise ao longo da gama de frequências [14].	38
Figura 3.6 - Densidade espectral característica do flicker noise ao longo da gama de frequências [14].	39
Figura 3.7 - Signal to Noise Ratio (SNR) pretendida com a utilização do lock-in [21].	40
Figura 3.8 - Exemplo ilustrativo de um sinal embebido em ruído [11].	41
Figura 3.9 - Representação do efeito de modulação no sinal de ruído [11].	42
Figura 3.10 - Espectro do sinal e ruído após o multiplicador e filtro passa-baixo [11].	42
Figura 3.11 - Diagrama de blocos típico de um amplificador lock-in [23].	43
Figura 3.12 - Exemplo das formas de onda de tensão expectáveis nos vários blocos do amplificador lock-in [11].	44
Figura 3.13 - Configuração do amplificador de transimpedância acoplado ao fotodetector [11].	45
Figura 3.14 - Exemplo de configuração do filtro passa-banda [24].	46
Figura 3.15 - Equivalente elétrico do fotodetector [25].	46
Figura 3.16 - Exemplo da configuração do filtro passa-baixo [26].	47
Figura 4.1 - Diagrama de blocos do amplificador lock-in implementado [22].	49
Figura 4.2 - Configuração do amplificador de transimpedância com as características estipuladas.	50
Figura 4.3 - Configuração do filtro passa-banda com frequência central de 1 kHz e fator de qualidade $Q = 5$.	51
Figura 4.4 - Configuração do amplificador com as características estipuladas.	52
Figura 4.5 - Configuração do sinal de entrada e de referência do amplificador lock-in.	53
Figura 4.6 - Configuração do multiplicador analógico.	53
Figura 4.7 - Configuração do filtro passa-baixo Sallen-Key de 2ª ordem.	54
Figura 4.8 - Circuito para a simulação do amplificador lock-in.	55
Figura 4.9 - Sinal útil de entrada antes do circuito de comutação.	55
Figura 4.10 - Sinal útil de entrada após o circuito de comutação.	56
Figura 4.11 - Sinal pulsado no domínio das frequências.	56
Figura 4.12 - Sinal de referência antes do passa-banda.	57
Figura 4.13 - Sinal de referência após filtragem do passa-banda.	57
Figura 4.14 - Simulação do ruído (exemplo de 100 μ V, 1003 Hz) no amplificador de transimpedância.	58

Figura 4.15 – Simulação do sinal à saída do circuito de transimpedância, em que a entrada é 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz com ruído adicionado de 100 μ V, 1003 Hz.	58
Figura 4.16 – Espectro do sinal à saída do circuito de transimpedância, com um sinal de entrada de 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz com ruído adicionado de 100 μ V, 1003 Hz.	59
Figura 4.17 – Visualização do sinal à saída do bloco de filtragem.	59
Figura 4.18 – Espectro do sinal à saída do filtro passa-banda, com um sinal de entrada de 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz com ruído adicionado de 100 μ V, 1003 Hz.	60
Figura 4.19 – Sinal à saída do bloco de amplificação.	60
Figura 4.20 – Sinais de entrada do bloco de multiplicação. A vermelho o sinal proveniente do fotodetector, após a amplificação e filtragem e a azul o sinal de referência, através da filtragem do sinal de excitação do LED.	61
Figura 4.21 – Sinal de saída do bloco de multiplicação.	61
Figura 4.22 – Sinal de saída do bloco de multiplicação no domínio dos kHz.	62
Figura 4.23 – Visualização do sinal de saída do multiplicador no domínio das frequências. O sinal original de 1 Hz é visível, assim como o ruído de 1003 Hz introduzido.	62
Figura 4.24 – Sinal de saída do amplificador lock-in.	63
Figura 4.25 – Sinal de saída do amplificador lock-in no domínio das frequências, onde ainda é visível o ruído 3 Hz, proveniente do sinal de ruído original introduzido a 1003 Hz.	63
Figura 4.26 – Mecanismo de introdução de ruído no circuito de leitura.	64
Figura 4.27 – Influência do fator de qualidade do passa-banda na atenuação do ruído e comparação com a inexistência de filtro passa-banda.	65
Figura 4.28 – Influência da frequência passante do passa-banda na atenuação do ruído (as linhas de 950 Hz e 1050 estão sobrepostas).	66
Figura 4.29 – Implementação do filtro Passa-Banda com valores comerciais de resistências e condensadores.	66
Figura 4.30 – Influência da frequência de corte do passa-baixo na atenuação de ruído.	67
Figura 4.31 – Influência da ordem do filtro passa-baixo na atenuação de ruído.	67
Figura 4.32 – Filtro passa-baixo de ordem 4 implementado.	68
Figura 4.33 – Sinal de saída do amplificador lock-in.	68
Figura 4.34 – Novo sinal de saída do amplificador lock-in no domínio das frequências.	69
Figura 4.35 – Diagrama de atenuação de ruído do amplificador lock-in, relativamente ao sinal de ruído na entrada do amplificador de transimpedância.	69
Figura 4.36 – Curva característica de ruído do integrado ADA4522-2 [30].	70
Figura 4.37 – Diagrama de atenuação de ruído quando introduzido o integrado ADA4522-2.	71
Figura 5.1 – Configuração dos pinos do integrado ADA4522-2 [30].	74
Figura 5.2 – Configuração dos pinos do integrado TL084A [31].	74
Figura 5.3 – Configuração dos pinos do integrado OP07CSZ [32].	75
Figura 5.4 – Configuração dos pinos do integrado AD633ARZ [31].	76
Figura 5.5 – Esquema do amplificador lock-in na ferramenta de desenvolvimento Altium.	76
Figura 5.6 – Configuração do filtro passa-baixo de 4ª ordem do circuito de leitura com valor de ganho 16.	77
Figura 5.7 – Condensadores de desacoplamento na entrada da tensão de alimentação.	77
Figura 5.8 – Esquema do amplificador Lock-in com os amplificadores OP07CSZ a duas dimensões.	78
Figura 5.9 – Esquema do amplificador Lock-in com os amplificadores OP07CSZ a três dimensões.	78
Figura 5.10 – Esquema das ligações do protótipo do amplificador Lock-in.	79
Figura 5.11 – Configuração do sinal de entrada no channel 1 e do sinal de referência no channel 2.	79

Figura 5.12 – Configuração do sinal de entrada no channel 1 com a modulação a 1 kHz e do sinal de referência, 1kHz, 2 Vpp.	80
Figura 5.13 – Sinal de entrada antes da introdução da resistência.	80
Figura 5.14 – Sinal de entrada do amplificador de transimpedância visualizado a 1 kHz.	81
Figura 5.15 – Sinal de referência do amplificador lock-in.	82
Figura 5.16 – Sinal de referência do amplificador lock-in após filtragem do passa-banda, utilizando o circuito integrado OP07CSZ.	82
Figura 5.17 – Sinal de referência do amplificador lock-in após filtragem do passa-banda, utilizando o circuito integrado TL084.	83
Figura 5.18 – Sinal à saída do amplificador de transimpedância.	83
Figura 5.19 – Sinal obtido à saída do filtro passa-banda utilizando o circuito integrado OP07CSZ.	84
Figura 5.20 – Visualização do sinal obtido à saída do filtro passa-banda na banda passante, utilizando o integrado OP07CSZ.	84
Figura 5.21 – Visualização do sinal obtido à saída do filtro passa-banda passante, utilizando o integrado TL084.	85
Figura 5.22 – Sinal à saída do módulo de amplificação utilizando o amplificador OP07CSZ.	85
Figura 5.23 – Sinal de saída do bloco de multiplicação.	86
Figura 5.24 – Correção da fase sinal de referência no gerador de sinais.	87
Figura 5.25 – Sinal do amplificador (amarelo) e da referência (azul) à entrada do multiplicador após correção do desfasamento.	87
Figura 5.26 – Sinal obtido à saída do multiplicador após correção da fase.	88
Figura 5.27 – Sinal de saída do amplificador lock-in utilizando o circuito integrado OP07CSZ.	88
Figura 5.28 – Sinal de saída do amplificador lock-in utilizando o circuito integrado TL084.	89
Figura 5.29 – Circuito eletrónico para ajuste manual da tensão de offset.	90
Figura 6.1 – Arquitetura do sistema de deteção da clorofila.	92
Figura 6.2 – Valor de corrente à saída do fotodetector utilizando uma amostra de referência (água do mar filtrada).	92
Figura 6.3 – Setup do sistema de leitura de fluorescência da clorofila-a.	93
Figura 6.4 – Cuvettes com as amostras de teste de várias diluições da cultura de fitoplâncton e respectiva amostra de referência, apenas com água do mar filtrada.	94
Figura 6.5 – Relação das diluições com a tensão de saída do sistema de leitura.	95
Figura 6.6 – Relação da corrente de entrada com a tensão de saída do sistema de leitura.	95
Figura 6.7 – Amostras da água do mar filtrada e água do mar filtrada com meio de crescimento.	96
Figura 6.8 – Fluorímetro laboratorial Fluorolog Horiba Jobin Yvon [34].	97
Figura 6.9 – Relação dos valores de saída dos dois sistemas para as diferentes diluições da espécie de fitoplâncton.	98
Figura 7.1 – Protótipo do sistema de medição de fitoplâncton.	101
Figura 7.2 – Constituição do sistema de medição de fitoplâncton.	102

Lista de Tabelas

Tabela 5.1. Especificações elétricas do amplificador operacional ADA4522-2 [30].	74
Tabela 5.2. Especificações elétricas do amplificador operacional TL084A [31].	74
Tabela 5.3. Especificações elétricas do circuito integrado OP07CSZ [32].	75
Tabela 5.4. Especificações elétricas do circuito integrado AD633ARZ [32].	75
Tabela 6.1. Relação corrente de entrada/tensão de saída das diversas diluições.	94
Tabela 6.2. Relação corrente de entrada/tensão de saída das amostras.	96
Tabela 6.3. Valor da intensidade de fluorescência da clorofila-a das diversas diluições.	97

Capítulo 1

Introdução

Neste capítulo é contextualizado o âmbito desta dissertação, definindo os objetivos propostos. O capítulo finaliza com a organização temática de todo o documento.

1.1 Contextualização

A monitorização da distribuição de fitoplâncton, assume um papel preponderante na compreensão de muitos processos físicos e biológicos do oceano. Por exemplo, o excesso de algas pode causar a morte de peixes (por falta de oxigénio ou por intoxicação), de animais que deles se alimentem, e constitui um perigo para o homem, já que as toxinas produzidas por algumas algas são letais. Já a escassez de fitoplâncton é de igual modo preocupante, dado ser a base de alimentação de muitas espécies ou mesmo porque 98% do oxigénio presente na atmosfera é obtido com microalgas, dada a sua eficiência na produção do mesmo [1]. Esta dissertação enquadra-se no projeto *Next-Sea*, que se propõe a desenvolver soluções capazes de inovar na monitorização das variáveis marítimas, com o desenvolvimento de equipamentos de monitorização subaquática, e em particular nesta dissertação, através do desenvolvimento de um circuito de leitura para a medição de fitoplâncton. A monitorização de microalgas na água do mar é um dos métodos utilizados para a quantificação de fitoplâncton, uma vez que o interior das suas células contém clorofila-a, e esta é relativamente simples de quantificar devido às suas propriedades óticas de fluorescência [2].

Historicamente, a fluorescência emitida pela clorofila-a era medida *in vitro*, i.e., retirava-se uma amostra de água de lagos, rios ou mares, que posteriormente era analisada em laboratório [2]. Com os avanços tecnológicos das últimas décadas, começaram a ser desenvolvidos métodos de medição *in-situ*. Hoje em dia, já é possível monitorizar a quantidade de clorofila-a através de naves e satélites [2], contudo, esta monitorização só pode ser efetuada durante a luz do dia e na superfície. Por este motivo, os fluorímetros de medição *in-situ* assumiram um papel importante na quantificação de clorofila na água em geral e mais especificamente na oceanografia [2]. Um dos grandes entraves deste equipamento além do seu preço, é a incapacidade de monitorizar autonomamente debaixo de água, no entanto, com a constante evolução tecnológica, muitos dos componentes eletrónicos utilizados estão constantemente a ver reduzidos o seu tamanho, consumo e custo. Pelos motivos referidos, o desenvolvimento de um

circuito de leitura de baixo custo, elevada sensibilidade, imune a ruído e capaz de quantificar a clorofila em meio marítimo tornar-se-á uma mais valia para a área da oceanografia.

1.2 Objetivos

O tema desta dissertação tem como objetivo principal a conceção teórica e desenvolvimento prático de um circuito de leitura para a deteção da clorofila, capaz de efetuar uma leitura efetiva, viável e autónoma.

Deste modo, são apresentados os objetivos para a realização da presente proposta de dissertação:

- Estudo bibliográfico, com levantamento do estado da arte, relativo aos equipamentos já comercializados e aos mecanismos de leitura utilizados para a aquisição do sinal de fluorescência da clorofila;
- Estudo e validação do processo de medição da clorofila;
- Desenvolvimento do circuito eletrónico de leitura;
- Desenvolvimento do sistema de medição de fitoplâncton, através do acoplamento do circuito eletrónico de leitura com o sistema de deteção, quantificação e classificação de fitoplâncton.
- Testes em ambiente controlado, com a utilização de amostras de fitoplâncton cultivadas em laboratório;

1.3 Organização da Tese

O trabalho desenvolvido nesta tese está organizado em sete capítulos. No Capítulo 1 está apresentada uma breve introdução, onde é contextualizado o trabalho a desenvolver, apresentados os objetivos e descrita a estrutura da presente dissertação.

No Capítulo 2 está apresentado o estudo bibliográfico, através do levantamento do estado da arte relativo aos equipamentos já comercializados e aos mecanismos de leitura utilizados para a aquisição do sinal de fluorescência da clorofila. Além dos conceitos teóricos, é justificada a abordagem e escolha do método de leitura apresentado. Por fim, é apresentado um planeamento detalhado dos métodos utilizados para a realização da dissertação proposta.

No Capítulo 3 estão apresentados os fundamentos teóricos, relativamente ao princípio de medição da clorofila, com o objetivo de perceber o método de deteção, e fundamentalmente quais os fatores que poderão afetar a viabilidade da sua leitura. É também efetuado um estudo teórico do mecanismo de leitura que será utilizado, explicando detalhadamente o funcionamento dos vários blocos constituintes.

No Capítulo 4 está demonstrado o estudo e desenvolvimento do circuito eletrônico de leitura, através da realização de simulações computacionais, verificando a resposta do mecanismo implementado, a sinais com características semelhantes ao da fluorescência da clorofila. Também ao longo do capítulo, são apresentadas várias alterações aos blocos eletrônicos constituintes do circuito de leitura, de forma a perceber a sua influência na viabilidade do resultado final, permitindo com isto, um aperfeiçoamento do sistema.

No Capítulo 5 está apresentado o fabrico, teste e resultados do circuito de leitura nas várias versões implementadas. Neste capítulo, é também efetuado o estudo e aquisição dos componentes eletrônicos que melhor se adequam às características estipuladas (*offset*, sensibilidade e ruído), bem como, é apresentada uma comparação entre os circuitos de leitura desenvolvidos, com a apresentação dos resultados obtidos e as possíveis alterações para a atenuação dos erros encontrados.

No Capítulo 6 está demonstrado o desenvolvimento do protótipo, acoplando o mecanismo de leitura desenvolvido ao sistema de deteção, quantificação e classificação de fitoplâncton. Neste capítulo são também apresentados os resultados alcançados.

O documento termina com o Capítulo 7, onde são exibidas as principais conclusões do trabalho realizado, assim como algumas sugestões para o trabalho futuro, que visam a melhoria e expansão do trabalho desenvolvido.

Capítulo 2

Estado da Arte

Este capítulo apresenta uma visão geral dos principais conceitos abordados nesta dissertação. Sendo o principal objeto de estudo o desenvolvimento de um circuito de leitura para a detecção da clorofila, revela-se de extrema importância a clarificação e explicação dos conceitos fundamentais das principais temáticas que serão abordadas. Posto isto, numa primeira fase serão apresentados os principais equipamentos comercializados, bem como os mecanismos de leitura utilizados para a aquisição do sinal de fluorescência da clorofila. Numa segunda fase, será demonstrada e fundamentada a abordagem escolhida para a realização da presente dissertação.

2.1 Sistemas de medição de clorofila

A monitorização da flora nos mares e oceanos é um dos temas mais em voga na atualidade, devido à sua importância para o equilíbrio dos ecossistemas. A quantificação da clorofila, pigmento constituinte do fitoplâncton, efetua-se até duzentos metros de profundidade, devido à necessidade da luz solar para a realização da fotossíntese [3]. Além da capacidade fotossintética, o fitoplâncton é a base da cadeia alimentar, uma vez que é o alimento dos organismos de origem animal. Devido à importância da quantificação de clorofila, desenvolveram-se vários mecanismos para a sua monitorização. Alguns dos mecanismos comercializados serão apresentados, descrevendo as suas vantagens e desvantagens, quando comparados com a implementação de um sistema de baixo custo para monitorização *in-situ* da clorofila no mar [2].

Análise em laboratório através de extração de amostras – apresenta como principal vantagem, o uso dos equipamentos já existentes nos laboratórios para as análises das amostras. Contudo, para cada análise é necessário a recolha da amostra, o transporte para o local de recolha e o posterior envio para o laboratório para análise. Este tempo despendido na recolha e transporte, afetará a viabilidade da leitura, dado que o fitoplâncton poderá reproduzir-se ou morrer, não sendo possível com isto, obter a concentração exata de clorofila do local de recolha.

Medição remota – este tipo de monitorização realiza-se através de naves ou satélites, e tem como vantagem abranger uma maior área de análise. As principais desvantagens são que a análise está limitada às horas de luz solar, à baixa resolução espacial e à análise superficial [2]. Na Figura 2.1 está representado um exemplo de medição remota da concentração da clorofila-a.

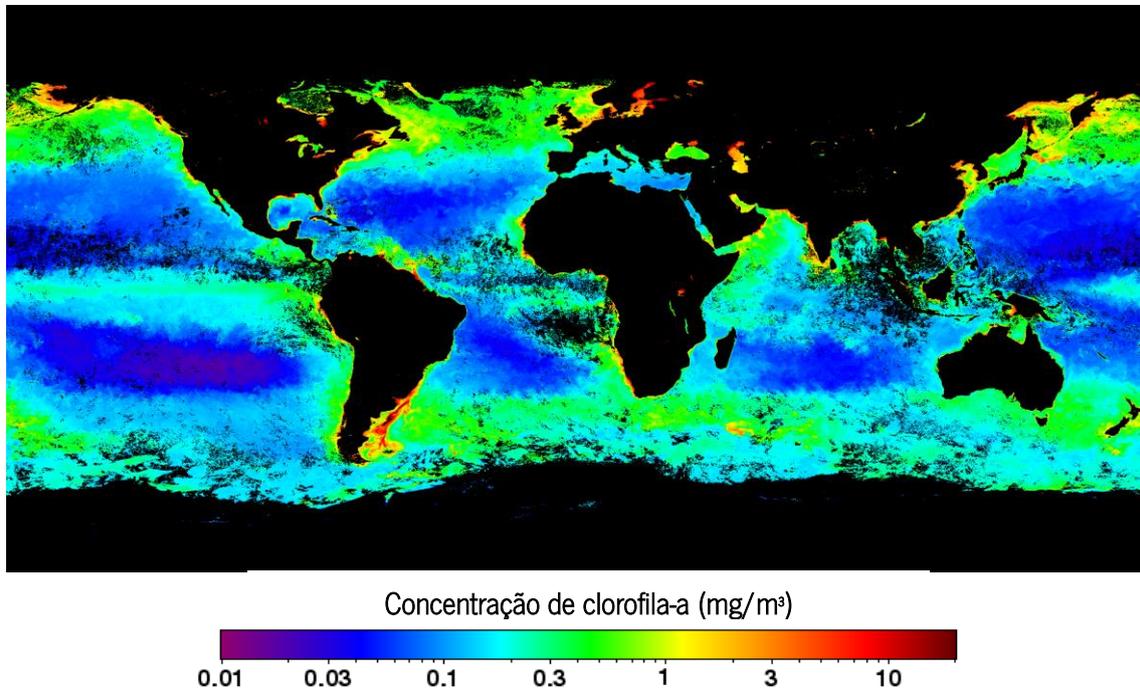


Figura 2.1 - Mapa de clorofila obtido por satélite, respetivo ao mês de Outubro de 2016 [4].

Sondas multiparamétricas – apresentam como principal característica a diversidade de parâmetros de análise. Contudo, a relação custo-benefício, a manutenção, a elevada dimensão e o consumo, apresentam-se como os grandes entraves deste equipamento. Na Figura 2.2 está ilustrado um exemplo de uma sonda multiparamétrica. Ex: Aquadam [5].



Figura 2.2 – Sonda multiparamétrica Aquadam [6].

Sistema SIMPATICO - consiste num sistema automático para medição de caudais e propriedades da água, através de uma boia, ancorada ao fundo do mar, e equipada com uma sonda multi-parâmetros e um correntómetro (ADCP - *Acoustic Doppler Current Profiler*), que comunicam com um computador central (Figura 2.3). Apresenta como principais vantagens a aquisição de dados de diversos parâmetros e o facto da alimentação de todo o sistema ser realizado por painéis solares. Contudo, é uma tecnologia bastante dispendiosa, devido ao equipamento necessário para aquisição e tratamento de dados e de elevada dimensão para os locais de análise [7].

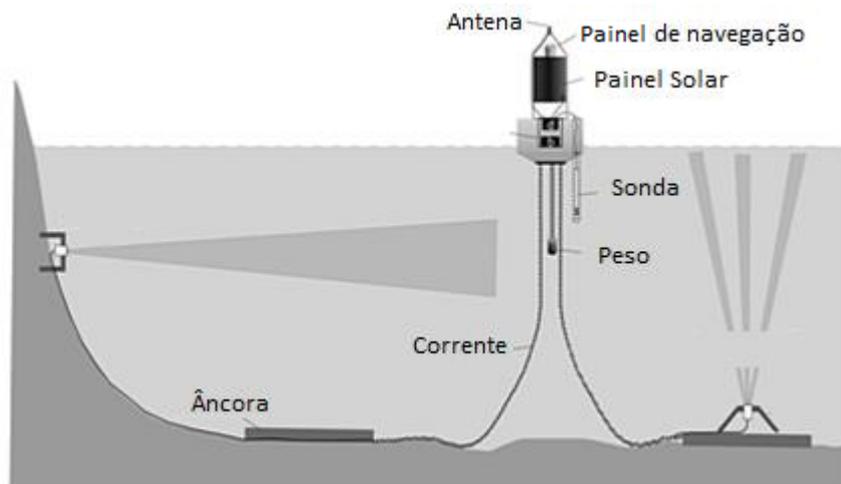


Figura 2.3 – Sistema SIMPATICO [7].

Fluorímetro digital – Dos equipamentos mencionados anteriormente, ao nível da aquisição de dados, este é o que mais se aproxima do projeto que se pretende desenvolver. Tem como principais diferenças e desvantagens o facto de as medições serem realizadas com o equipamento fora de água e da monitorização não ser autónoma, necessitando da deslocação e intervenção do utilizador ao local de medição [8]. Na Figura 2.4 está representado um exemplo de um equipamento com as características mencionadas.



Figura 2.4 – Fluorímetro Digital AlgaeCheck Ultra [9].

Todos os equipamentos mencionados anteriormente, efetuam medições viáveis da presença de clorofila, apresentando um mecanismo de leitura com uma relação sinal/ruído elevada, devido à(s) elevada(s) potência(s) da(s) fonte(s) de excitação. Estas características, permitem que os mecanismos utilizados sejam bastante simplistas, visto que a fluorescência detetada pelo fotodetector possuirá uma elevada relação sinal/ruído, evitando com isto, o uso de circuitos eletrónicos que isolem o sinal das interferências que o afetam. Contudo, nenhum apresenta as características pretendidas para o equipamento a desenvolver, tais como, as pequenas dimensões, o baixo custo, o baixo consumo e a monitorização autónoma. Estas características, acarretam alguns problemas de aquisição de sinal, nomeadamente, a suscetibilidade do sinal ao ruído, devido à baixa amplitude da fluorescência, diminuindo com isto a relação sinal/ruído, comprometendo a viabilidade das leituras.

Dado que a clorofila se encontra presente em todos os organismos fotossintéticos, a quantificação de fitoplâncton na água do mar será efetuada através das propriedades fluorescentes da clorofila-a [2]. A clorofila-a naturalmente absorve luz na gama espectral visível e fluoresce na gama espectral vermelha. Para a sua deteção e quantificação, excita-se a amostra, que contém clorofila-a, com uma luz monocromática com o comprimento de onda de 440 nm (azul) e deteta-se a luz emitida pela amostra na gama espectral dos 685 nm (vermelha). A luz emitida é proporcional à concentração da clorofila-a, sendo esse o método usado para a sua quantificação [2].

Tal como mencionado anteriormente, o grande problema associado a este sinal de fluorescência, é a sua baixa amplitude, sendo por isso facilmente afetado por ruído. Dado que, numa fase futura, a monitorização será efetuada debaixo de água do oceano, com boa condutividade, grande parte do ruído externo será atenuado. Posto isto, a principal fonte de ruído advém dos componentes utilizados. É então de extrema importância, a implementação de um mecanismo de leitura de elevada sensibilidade, imune a ruído e capaz de efetuar leituras extremamente viáveis da presença de clorofila. Este mecanismo será implementado com um detetor síncrono.

Os detetores síncronos extraem o sinal embebido em ruído, permitindo maior sensibilidade. Na maioria dos componentes, o ruído aumenta à medida que a frequência se aproxima de zero [10]. Afastando o sinal útil do ruído de baixa frequência, é aumentada a relação sinal/ruído, permitindo a deteção de sinais de amplitude mais reduzida, como é o caso da medição da fluorescência da clorofila. Isto é conseguido com a modulação da luz de excitação. Vários são os métodos para modulação da fonte de excitação, sendo a abordagem mais simples, pulsa-la na ordem dos kHz, deslocando o sinal de interesse para frequências de menor ruído intrínseco [10]. A implementação de um filtro passa-banda, permitirá isolar o sinal pulsado, removendo as frequências indesejadas de ruído e potenciando que o sinal original seja recuperado. Este sinal original de baixa frequência é recuperado através de um desmodulador síncrono que deslocará o sinal de alguns kHz para o DC (domínio contínuo), rejeitando

todos os sinais que não estejam sincronizados com a referência de excitação. Isto permitirá a leitura da fluorescência da clorofila-a com maior sensibilidade [11].

O dispositivo que usa esta técnica de modulação é designado na literatura por amplificador *Lock-in*, propondo-se esta dissertação ao seu estudo e implementação para quantificação de fitoplâncton *in-situ*. Na Figura 2.5 está ilustrada uma possível arquitetura do equipamento de medição a implementar.

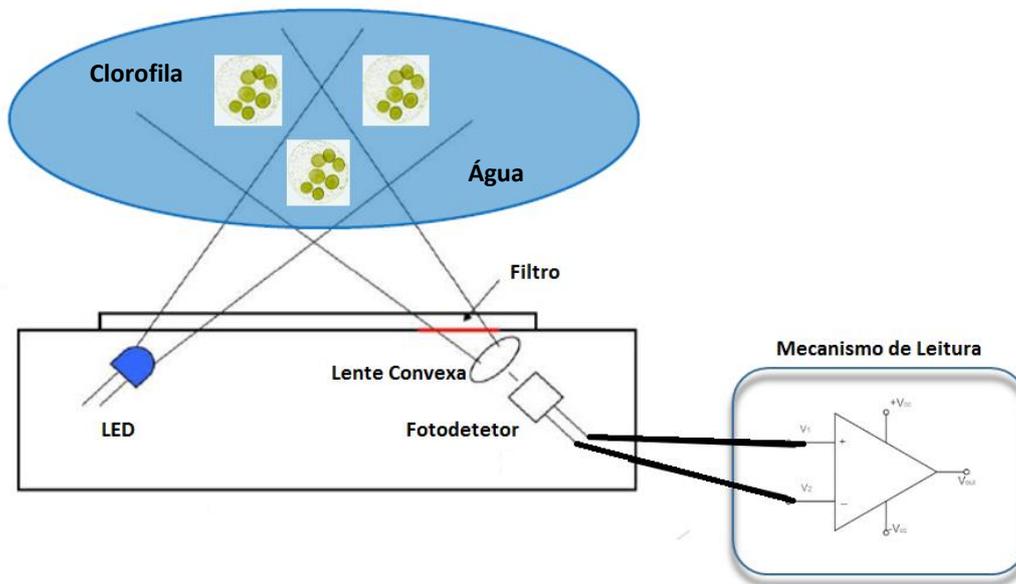


Figura 2.5 – Exemplo de arquitetura do equipamento a implementar, através do acoplamento do sistema de deteção, quantificação e classificação do fitoplâncton com o mecanismo de leitura proposto na presente dissertação [2].

2.2 Metodologias

De forma a perceber qual a melhor abordagem a optar para a elaboração do projeto, é imprescindível identificar todas as tarefas para uma realização concisa e eficaz de todo o processo de desenvolvimento.

Posto isto, numa primeira fase, será realizado o estudo bibliográfico, com o levantamento do estado da arte, dos equipamentos já comercializados, tendo como objetivo a identificação das características únicas de cada um, bem como, os mecanismos de leitura utilizados para a deteção e quantificação da clorofila. Numa segunda fase, será efetuado o estudo do princípio de medição de clorofila, com o objetivo de compreender o funcionamento do processo de deteção e quantificação da clorofila. Nesta etapa, é crucial a identificação das características óticas da clorofila, através da determinação dos comprimentos de onda de excitação e emissão. Dado que o sinal de fluorescência é de baixa amplitude, e por isso, facilmente suscetível a interferências, é preponderante a identificação da ordem de grandeza do sinal, bem como os fatores que poderão afetar a viabilidade das leituras. Estas interferências podem ser inerentes ao circuito de leitura, através do ruído característico dos circuitos

integrados e dos componentes eletrônicos, ou ao ruído externo provocado pelo meio envolvente, sendo por isso extremamente importante a sua identificação e resolução. A terceira fase da dissertação, corresponderá ao estudo e desenvolvimento do circuito eletrônico de leitura, através da realização de simulações computacionais com recurso aos *softwares* PSIM e MULTISIM, verificando a resposta do mecanismo implementado a sinais com as características identificadas nas tarefas anteriores. Ainda nesta fase, será efetuado o estudo e aquisição dos componentes eletrônicos que melhor se adequam às características estipuladas (sensibilidade, ruído e *offset*), bem como a implementação e validação do circuito eletrônico de leitura implementado, através da realização de testes com os equipamentos disponibilizados em laboratório. Por fim, será desenvolvido o protótipo, acoplado o mecanismo de leitura desenvolvido ao sistema de deteção, quantificação e classificação de fitoplâncton. Ainda nesta última fase, serão efetuados testes em ambiente controlado, de forma a verificar a resposta do sistema a amostras previamente quantificadas de clorofila.

Capítulo 3

Fundamentos Teóricos

O capítulo anterior permitiu expor os conceitos básicos ao enquadramento da presente dissertação, através da apresentação dos equipamentos comercializados, bem como da abordagem e metodologia a adotar para o desenvolvimento do mecanismo de leitura. Neste capítulo, por sua vez, serão detalhados os conceitos essenciais para a melhor perceção da temática da dissertação. Numa primeira fase, será apresentado um estudo bibliográfico sobre o fitoplâncton e a sua deteção, e dos principais fatores que poderão inviabilizar as medições. Por último, será demonstrada a constituição detalhada da abordagem adotada para o desenvolvimento do circuito de leitura, através da exposição e elucidação dos vários blocos eletrónicos constituintes.

3.1 O Fitoplâncton

Em biologia marinha designa-se por fitoplâncton, o conjunto de organismos aquáticos de escala microscópica, que possuem capacidade fotossintética, e que flutuam dispersamente na coluna de água [3]. Tal como os vegetais, as microalgas possuem clorofila, pigmento de coloração esverdeada, que lhes permite realizar fotossíntese. Este processo, é responsável pela produção de matéria orgânica a partir de sais inorgânicos, água e dióxido de carbono, utilizando como fonte de energia a luz solar [3]. A clorofila-a é um dos pigmentos que está presente em todos os seres que executam fotossíntese, e visto que, o fitoplâncton é a única matéria em suspensão nos oceanos que a contém, este pigmento será utilizado como marcador de biomassa fitoplanctônica [2].

Como foi mencionado no Capítulo 2, o método utilizado para a quantificação da clorofila é através da espectrofotometria por fluorescência. Este método consiste na incidência monocromática de um feixe de luz num espectro previamente determinado (440 nm), e na consequente deteção da luz emitida num outro comprimento de onda (685 nm). Contudo, a baixa amplitude resultante do sinal de fluorescência, acarreta vários fatores que inviabilizam a leitura correta do sinal, nomeadamente o ruído embebido nas variadíssimas frequências. Devido às características condutoras da água do mar, o ruído elétrico externo é fortemente atenuado. Assim, grande parte do ruído responsável pela interferência será inerente aos circuitos eletrónicos utilizados para a sua deteção, sendo por isso extremamente importante o desenvolvimento do circuito de leitura proposto na presente dissertação.

3.2 Ruído

É designado por ruído, qualquer distúrbio indesejado no sinal pretendido [11], como representado na Figura 3.1. Boas práticas na implementação dos circuitos, podem reduzir estas fontes de ruído, melhorando a estabilidade e precisão das medições. No entanto, existem variadíssimas formas destas fontes de ruído interferirem no sinal eletrónico, inviabilizando-o.

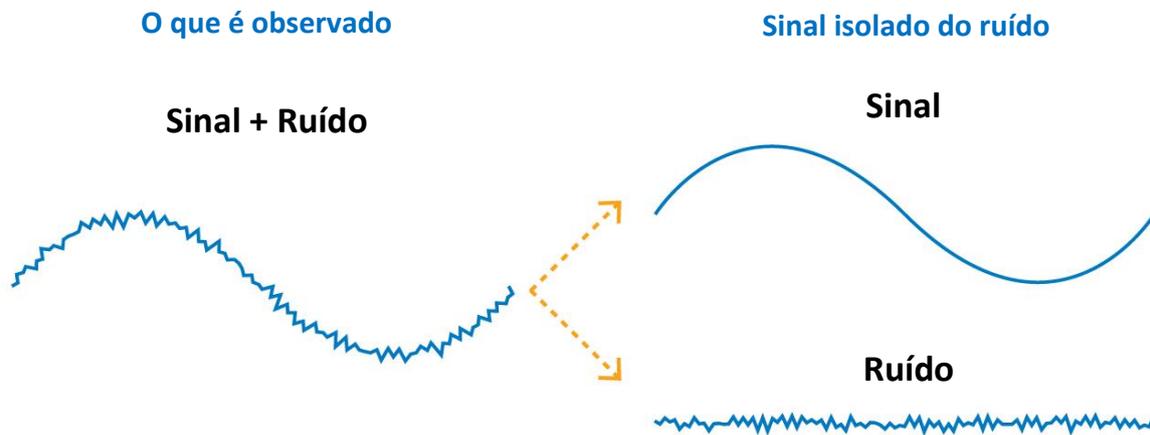


Figura 3.1 – A interferência do ruído no sinal de interesse [12].

Ao ruído que é adquirido do exterior do circuito eletrónico designa-se por extrínseco. O ruído extrínseco é induzido por uma fonte externa, causando o mau funcionamento do equipamento. Esta fonte de ruído, pode manifestar-se num outro circuito eletrónico acoplado ao equipamento ou até mesmo através da interação com um circuito externo (Figura 3.2). Esta interação poderá ser elétrica, magnética ou eletromagnética, manifestando-se periodicamente ou aleatoriamente na leitura de dados efetuada [13]. No entanto, esta interferência pode ser suprimida através das boas práticas de desenvolvimento de circuitos eletrónicos, como por exemplo, a utilização de *shields* nos circuitos eletrónicos mais sensíveis ao ruído, filtragem das fontes de alimentação ou caso seja possível, através do uso de componentes menos suscetíveis ao ruído [13].

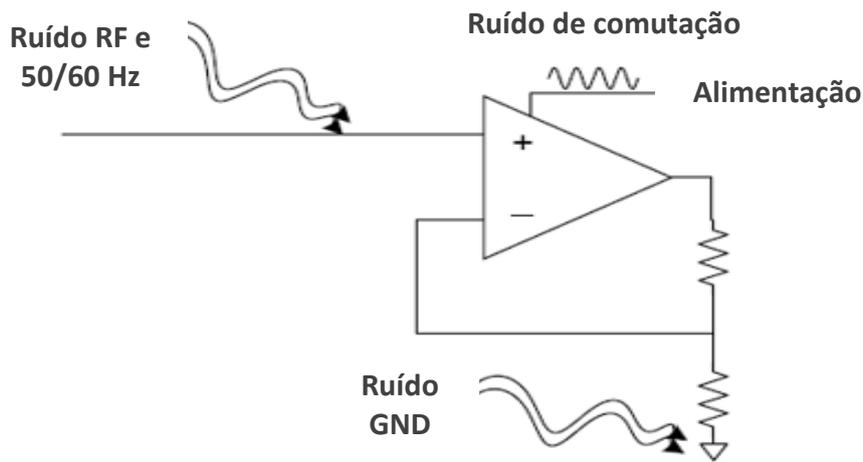


Figura 3.2 – Exemplo de fontes de ruído extrínseco [14].

É designado por ruído intrínseco, toda a interferência causada no sinal de interesse pelos componentes eletrónicos constituintes do circuito de leitura [13]. Este ruído é maioritariamente gerado nos equipamentos constituídos por amplificadores e resistências. Existem inúmeros tipos de ruído intrínseco, tais como o *thermal noise*, *shot noise* e o *flicker noise*, no entanto, cada tipo tem uma gama de frequências predominante. Na Figura 3.3, é possível verificar que o *flicker noise* se manifesta numa gama de frequências mais baixas, enquanto que o *thermal noise* ou o *shot noise*, se apresenta distribuído pelas várias frequências.

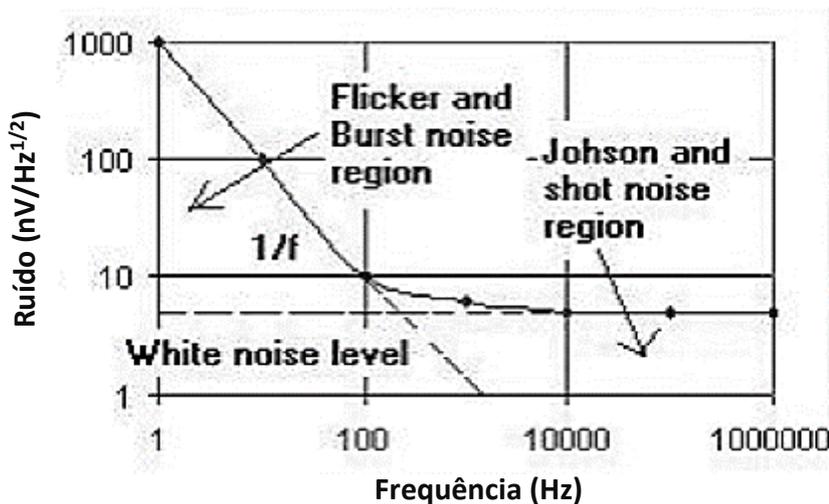


Figura 3.3 – Distribuição do ruído nas variadas frequências [11].

3.2.1 *White noise*

A uma densidade espectral uniforme ao longo das frequências designa-se por *white noise* [15]. O nome provém da luz branca (*white light*), pois tal como esta, é formada por um aglomerado de frequências com a mesma intensidade. Portanto, o nível de ruído será independente da frequência. Esta interferência está presente em todas as resistências e semicondutores, sendo por isso designada de *thermal noise* quando se manifesta numa resistência e de *shot noise* num semiconductor [11].

Dado que, o *flicker noise* é insignificante em elevadas frequências comparativamente ao *white noise*, é possível eliminar este ruído utilizando um amplificador *lock-in* nessa mesma gama [11].

3.2.2 *Thermal Noise (Johnson Noise)*

O *Thermal noise* é conhecido por variadíssimos nomes, tais como, *Johnson-Nyquist noise*, *Johnson noise* ou *Nyquist noise*. Esta miscelânea, deriva do facto da sua deteção e medição ter sido realizada em 1926 pelo engenheiro *John B. Johnson*, mas apenas ter sido fundamentado o seu aparecimento posteriormente por *Harry Nyquist* [16]. Este ruído é gerado pela interação térmica entre os pares de eletrões livres em consequência da tensão aplicada aos terminais da resistência [11]. Com o aumento da tensão aplicada, aumenta a temperatura e consequente agitação dos eletrões, elevando o nível do ruído.

Este nível depende unicamente da temperatura e do valor da resistência, por isso, de forma a reduzi-lo, é necessário alterar o tipo de resistência ou diminuir a temperatura através da tensão aplicada nos terminais [16]. O nível de ruído em tensão pode ser calculado através da seguinte expressão:

$$V_{noise}(rms) = (4kTR\Delta f)^{1/2}, \quad (3.1)$$

Onde k é a constante de *Boltzmann* ($1,38 \times 10^{-23}$ J/K), T a temperatura em *Kelvin*, R a resistência que gera ruído em ohms e Δf a gama de frequências da medição em Hz [11]. A potência do ruído é constante ao longo das frequências, conforme apresentado na Figura 3.4.

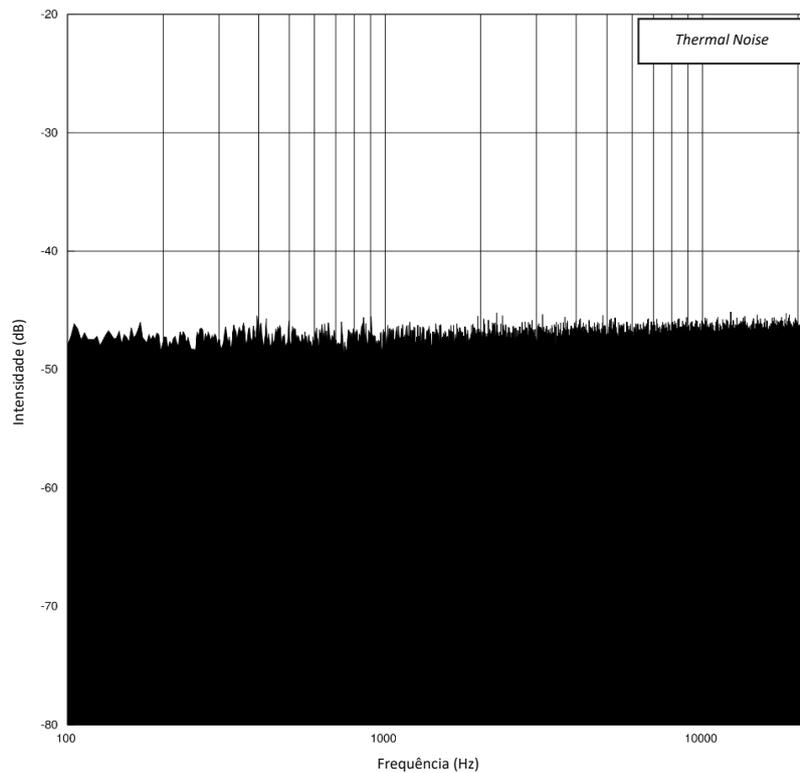


Figura 3.4 – Densidade espectral característica do *thermal noise* ao longo da gama de frequências [14].

3.2.3 Shot noise

Este tipo de ruído é introduzido pela corrente elétrica, devido à não uniformidade das cargas elétricas nos semicondutores [11]. A sua densidade espectral é proporcional à corrente média e é caracterizada por um espectro constante até determinada frequência de corte (Figura 3.5) [17]. Em oposição ao *thermal noise*, o *shot noise* não pode ser eliminado pela diminuição da temperatura. Um circuito fotoelétrico, onde a corrente gerada resulta da excitação dos eletrões que fluem através do ânodo, é um exemplo de circuito que contribui para a distorção do sinal de interesse [18]. O nível de ruído é dado em corrente por:

$$I_{noise}(rms) = (2Iq\Delta f)^{1/2}, \quad (3.2)$$

Onde q é a carga do eletrão ($1,6 \times 10^{-19}$ Coulomb), I é o valor eficaz da corrente em contínuo ou alternado dependendo do circuito e Δf é a largura de banda em Hz [11].

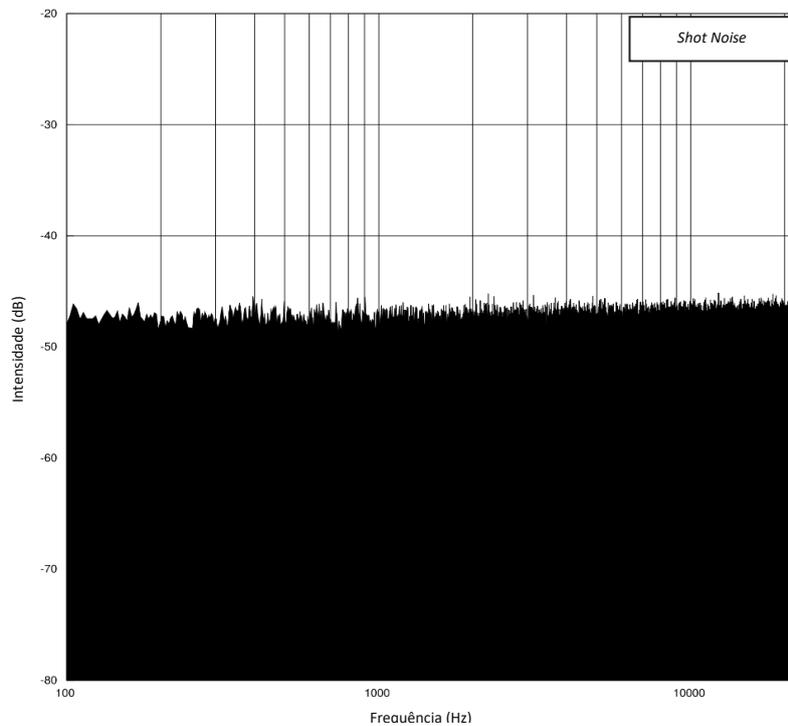


Figura 3.5 – Densidade espectral característica do *shot noise* ao longo da gama de frequências [14].

3.2.4 Flicker noise (1/f noise)

O efeito deste ruído é presenciado a baixa frequência, com uma distribuição espectral conforme apresentado na Figura 3.6. É inversamente proporcional à frequência e diretamente proporcional à temperatura [11]. Ocorre em todos os dispositivos eletrônicos, sendo causado essencialmente pelo fluxo contínuo de corrente. A sua densidade espectral diminui com o aumento da frequência, sendo que em intervalos proporcionais tem o mesmo valor de potência. Isto significa, que o nível de ruído no intervalo de frequência de 50 a 70 Hz e na gama de 5000 Hz a 7000 Hz terá o mesmo valor [19]. O nível de ruído é dado por:

$$I_{noise}(rms) = \left(K \frac{I^a}{f^b} \Delta f \right)^{1/2}, \quad (3.3)$$

Onde K é uma constante, a é uma constante no intervalo de 0,5 a 2, b é uma constante unitária e Δf é a gama de frequência em Hz [11].

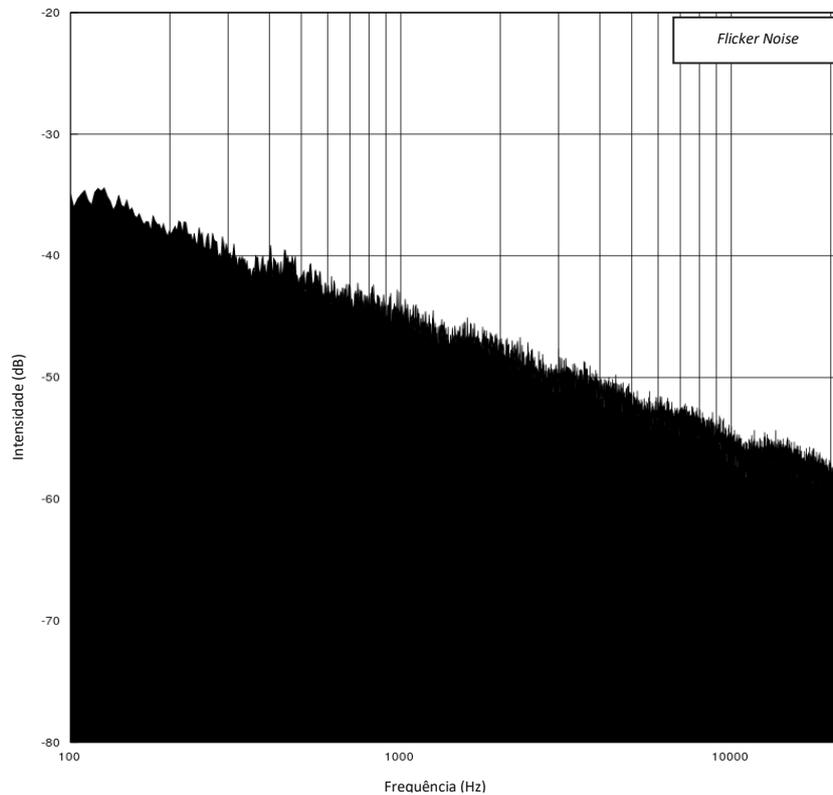


Figura 3.6 – Densidade espectral característica da *flicker noise* ao longo da gama de frequências [14].

3.2.5 *Signal-to-Noise Ratio* (SNR) e *Noise Figure* (NF)

A deteção e medição da qualidade do sinal é limitada pela presença de ruído, sendo designada essa relação por *signal-to-noise ratio* (relação sinal / ruído) [20]. Assim, quanto maior a relação do sinal com a interferência indesejada, maior a qualidade do sinal.

O ruído introduzido no primeiro bloco eletrónico, será adicionado ao sinal de interesse, e conseqüentemente amplificado nos blocos seguintes, distorcendo-o, e com isso diminuindo o SNR. De forma a reduzir este ruído introduzido na primeira fase, é aconselhável a utilização de componentes *low noise* [20]. Posto isto, o SNR não é mais que a relação entre as potências do sinal pretendido e do ruído, podendo ser matematicamente calculado por:

$$SNR = \frac{\text{Potência do Sinal}}{\text{Potência do Ruído}} = \frac{P_s}{P_n}, \quad (3.4)$$

Sendo expresso em dB através de:

$$SNR = 10 \log\left(\frac{P_s}{P_n}\right), \quad (3.5)$$

Onde P_s , é o valor eficaz potência do sinal e P_n o valor eficaz de potência de ruído [20].

Quanto menor for o SNR, maior será a dificuldade de isolar o sinal de interesse do ruído. Assim, de forma a calcular o quão ruidoso é um componente em decibéis é usado o *Noise Figure*, sendo este expresso através de:

$$NF = 10 \log \left[\frac{S_i/N_i}{S_o/N_o} \right] = 10 \log(NR) \quad (3.6)$$

Onde (S_i/N_i) é a relação sinal ruído à entrada do equipamento e (S_o/N_o) é a relação à saída. À divisão entre estas duas relações mencionadas anteriormente, é dado o nome de *noise ratio* (NR) [11].

A relação sinal/ruído pode ser melhorada através da utilização de um amplificador *lock-in*. Deslocando o sinal para frequências não tão suscetíveis a ruído, é possível filtrar as interferências existentes, amplificar o sinal e posteriormente recupera-lo para o valor de frequência original. Na Figura 3.7, está demonstrada a relação sinal/ruído pretendida, através da utilização do amplificador *lock-in*. O sinal que inicialmente se encontrava embebido em ruído, foi recuperado e amplificado, aumentando a qualidade do sinal (maior relação sinal/ruído).

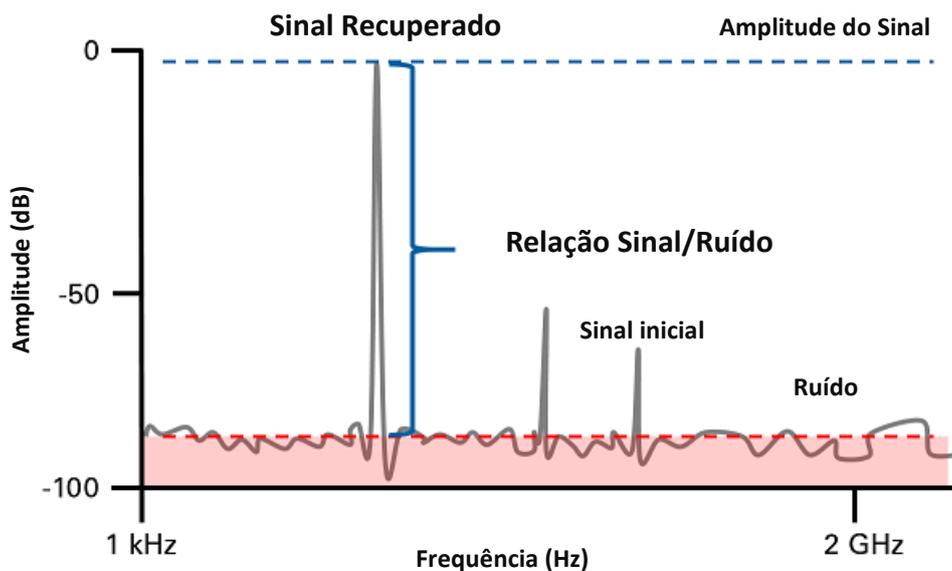


Figura 3.7 – *Signal to Noise Ratio* (SNR) pretendida com a utilização do *lock-in* [21]

3.3 Amplificador *Lock-In* (LIA)

O amplificador *lock-in* (ou amplificador síncrono) é usado para detetar e medir sinais de amplitude bastante reduzida, mesmo quando estes estão embebidos em ruído de valor superior ao sinal pretendido [22], como apresentado em exemplo na Figura 3.8.

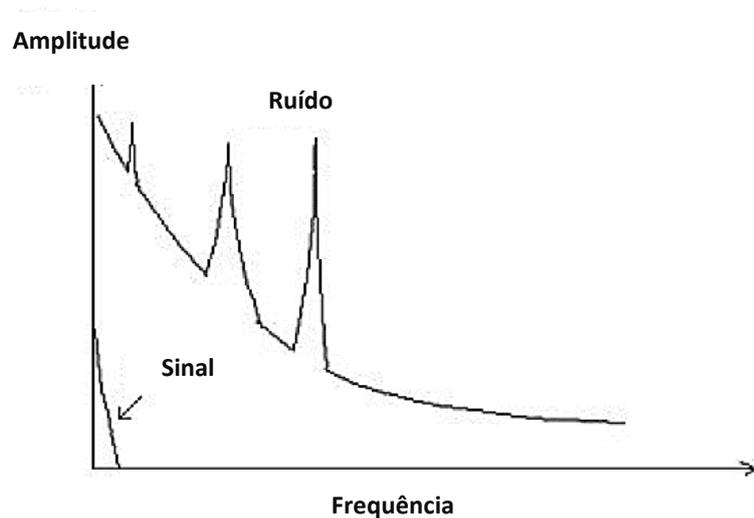


Figura 3.8 – Exemplo ilustrativo de um sinal embebido em ruído [11].

No amplificador *lock-in*, o sinal de entrada é originalmente modulado a uma frequência fixa (designada F_{REF} na Figura 3.9). Isto consegue-se, por exemplo, alimentando uma ponte de wheatstone com um sinal alternado, ou no presente caso de fluorescência, alimentando a fonte de luz de excitação com um sinal alternado. O sinal a medir estará portanto, presente em frequências em torno da frequência de modulação. Este amplificador usa uma técnica designada por *phase-sensitive detetion* de forma a isolar o sinal através de uma referência com determinada frequência e fase. Assim, todo o ruído presente em frequências diferentes do sinal de referência será rejeitado, não afetando as medições [22].

O primeiro passo para a recuperação do sinal, consiste na eliminação do ruído indesejado. No entanto, este processo não consegue ser efetuado convenientemente apenas com filtragem, possuindo o amplificador *lock-in* um bloco adicional designado de multiplicador [11].

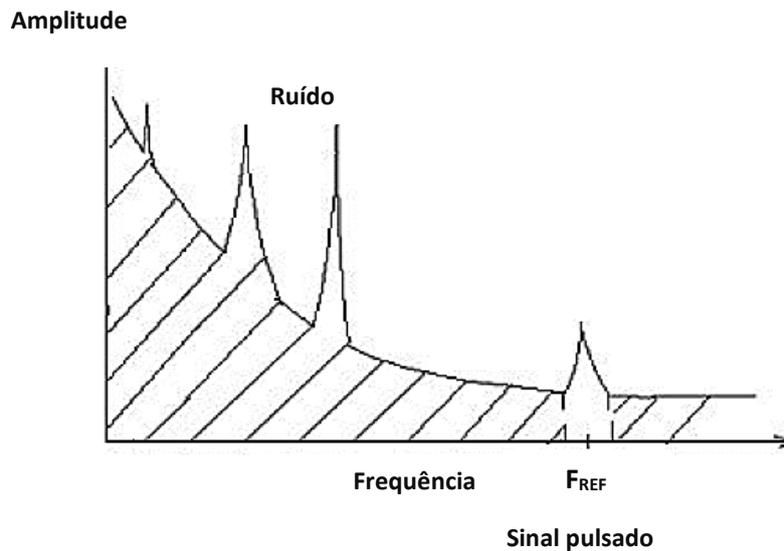


Figura 3.9 – Representação do efeito de modulação no sinal de ruído [11].

O bloco multiplicador tem a função de deslocar o sinal modulado novamente para frequências mais baixas, e deslocar ruído para frequências mais elevadas. Isto acontece, devido à multiplicação no domínio dos tempos corresponder a uma convolução em frequências. Para sinais contínuos, o multiplicador pode ser visto como um retificador de onda completa, retificando o sinal modulado de entrada. A saída deste bloco possui uma componente contínua proporcional ao sinal contínuo de entrada.

Após esta fase de recuperação e deslocação do sinal para a gama de frequência original, é necessária a eliminação do ruído que se encontra nas elevadas frequências, sendo utilizado para esse efeito um filtro passa-baixo sintonizado a F_0 . A Figura 3.10, demonstra o funcionamento do amplificador *lock-in*, onde o sinal inicialmente modulado à frequência F_{REF} (Figura 3.9) é recuperado para a frequência original, e todo o ruído deslocado para as altas frequências, é eliminado pelo filtro passa-baixo sintonizado à frequência F_0 .

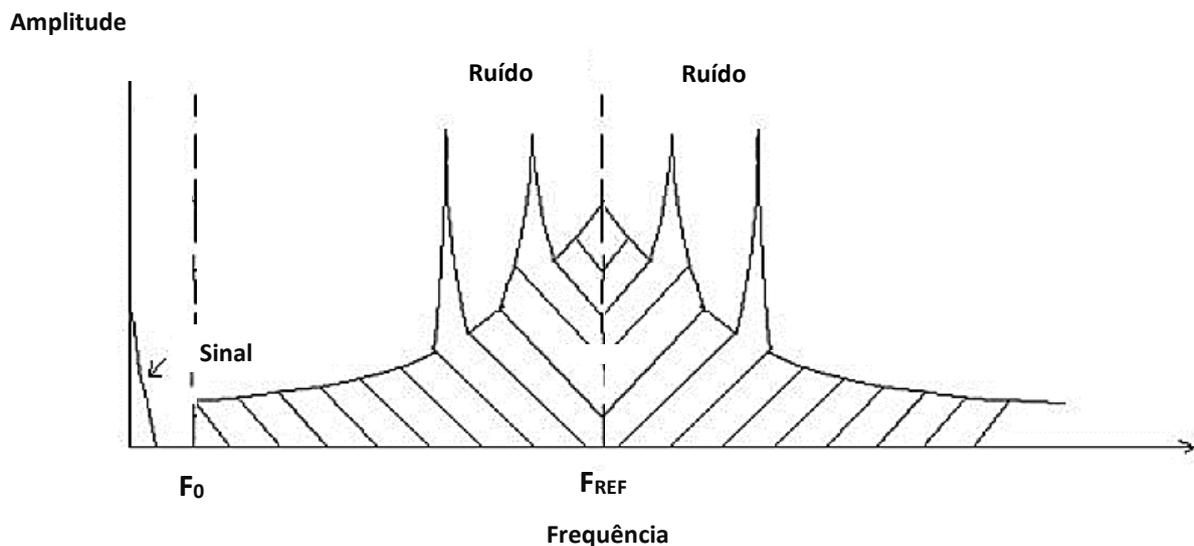


Figura 3.10 – Espectro do sinal e ruído após o multiplicador e filtro passa-baixo [11].

Posto isto, o amplificador *lock-in* apresenta duas características únicas que o distingue dos restantes amplificadores:

- Apesar de a grandeza física a medir ser de baixa frequência o sinal de entrada é modulado em frequências mais elevadas, o que tira proveito da redução do ruído *flicker*.
- De forma global, este amplificador pode ser visto como um filtro passa banda de elevado fator de qualidade, com frequência central sincronizada com o sinal de entrada, cuja implementação de outra forma seria impraticável, como é demonstrado mais à frente.

3.3.1 Arquitetura do *Lock-In*

Tal como mencionado anteriormente, a presente dissertação encontra-se inserida no projeto *Next-Sea*. O módulo de medição, é constituído por uma parceria com a proposta de dissertação do sistema de deteção, quantificação e classificação do fitoplâncton. Esta proposta, além do estudo do fitoplâncton, é responsável pela escolha da fonte de excitação e do dispositivo de deteção do sinal de fluorescência. O produto final consistirá no acoplamento do circuito de leitura (Figura 3.11) com o sistema acima referido.

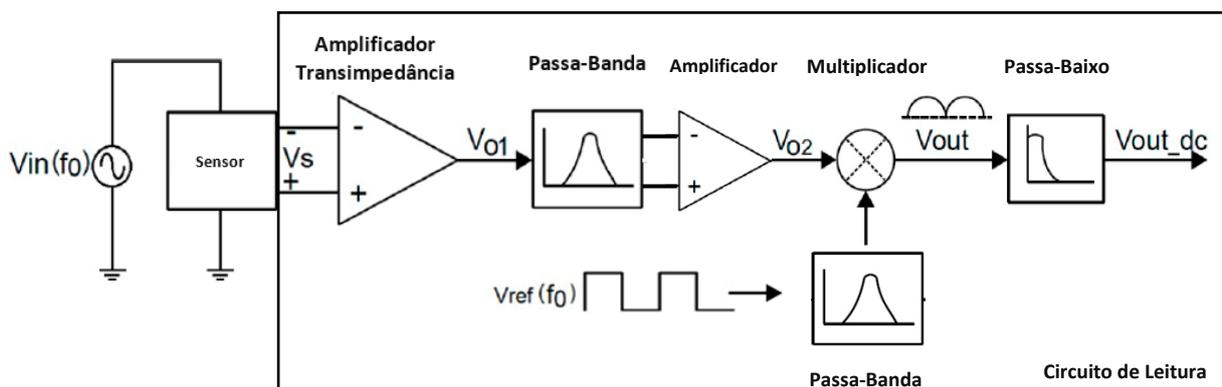


Figura 3.11 – Diagrama de blocos típico de um amplificador *lock-in* [23].

O sinal usado para a referência, será o mesmo que pulsa a fonte de excitação, de forma a que ambos se encontrem em fase no multiplicador [23]. Sendo assim, o sistema de deteção de fitoplâncton será constituído por cinco principais blocos, estando detalhada a sua contribuição neste capítulo. Os principais sinais expectáveis no circuito são apresentados na Figura 3.12.

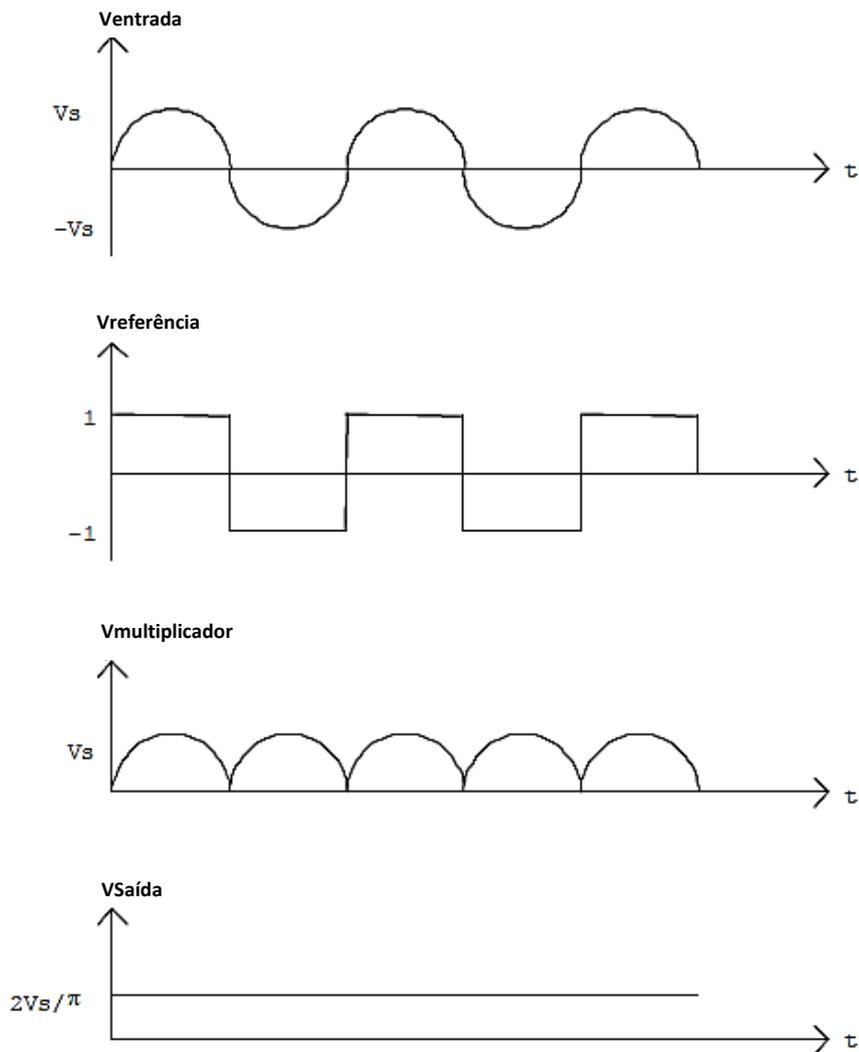


Figura 3.12 – Exemplo das formas de onda de tensão expectáveis nos vários blocos do amplificador *lock-in* [11].

3.3.1.1 Amplificador de Transimpedância

A corrente obtida no sensor (fotodetector) é convertida em tensão através de um amplificador de transimpedância, conforme apresentado na Figura 3.13. O sinal embebido em ruído, além de convertido, será também amplificado para um nível adequado à entrada do multiplicador. O “ganho” aplicado pode ser calculado através da divisão da tensão de saída pela corrente de entrada.

$$A = \frac{V_o}{I_s} = R_f \quad (3.7)$$

Onde A é o ganho, V_o a tensão de saída, I_s a corrente de entrada e R_f a resistência de amplificação [11].

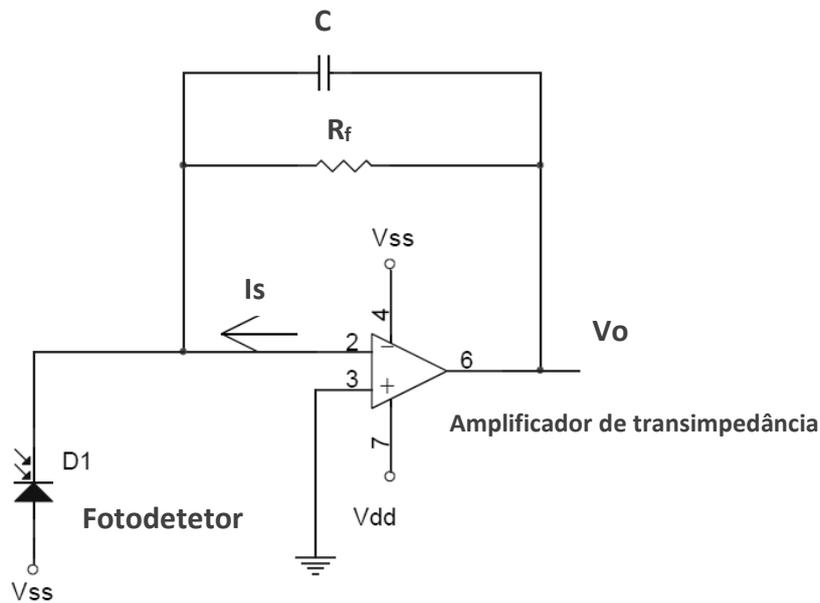


Figura 3.13 – Configuração do amplificador de transimpedância acoplado ao fotodetector [11].

O uso do condensador C , previne o aparecimento de oscilações ou de picos de tensão à saída do amplificador [11]. Em conjunto com R_f , é implementado um filtro passa-baixo, dimensionado para atenuar sinais acima da frequência de excitação dos LEDs (*Light Emitting Diode*) de iluminação da amostra.

De forma a reduzir a introdução de ruído intrínseco nesta fase, é aconselhável a utilização de componentes de baixo ruído [23].

3.3.1.2 Filtro Passa-Banda

Na maioria dos componentes eletrónicos baseados em semicondutores, o ruído intrínseco aumenta à medida que a frequência se aproxima de zero [10]. Afastar o sinal útil destas baixas frequências, possibilita a deteção de sinais de amplitude reduzida, como é o caso da fluorescência da clorofila. Isto é conseguido através da modulação da fonte de excitação, pulsando-a na ordem dos kHz, deslocando o sinal de interesse para frequências de menor ruído intrínseco [10].

A implementação do filtro passa-banda, através do circuito da Figura 3.14, permitirá isolar o sinal pulsado, removendo as frequências indesejadas e potenciando a recuperação do sinal.

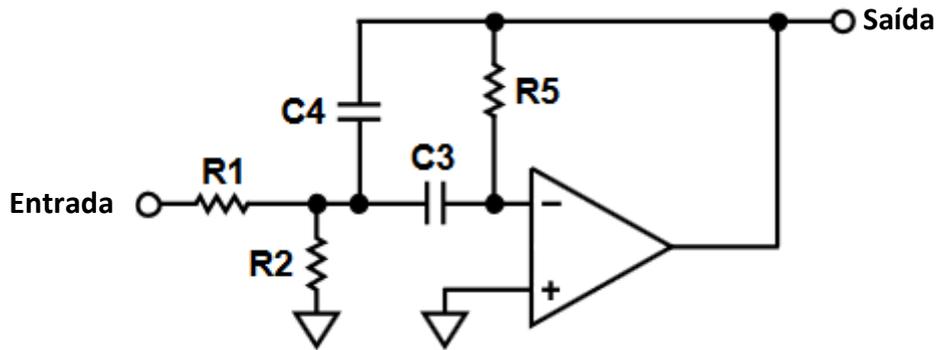


Figura 3.14 – Exemplo de configuração do filtro passa-banda [24].

3.3.1.3 Amplificador

O bloco de amplificação tem como principal propósito a diminuição do ganho aplicado no amplificador de transimpedância. A necessidade da sua utilização, está relacionada com o nível de ruído introduzido, mais especificamente *thermal noise*, pela resistência R_i no primeiro bloco do *lock-in*.

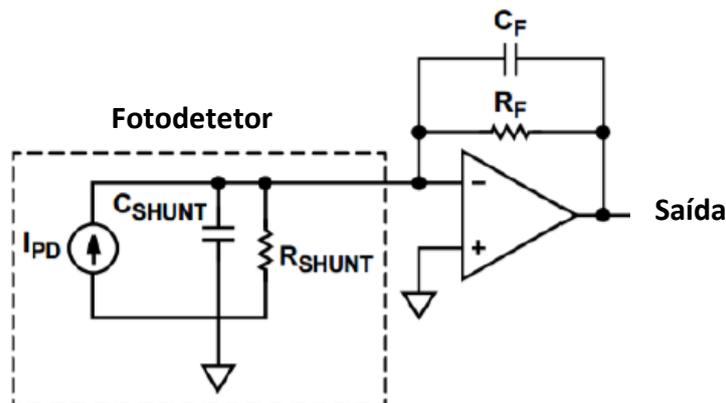


Figura 3.15 – Equivalente elétrico do fotodetector [25].

O aumento da temperatura provoca uma diminuição do valor de R_{shunt} . De forma a colmatar este problema, é necessária que a tensão aplicada à resistência R_i diminua. Diminuir este parâmetro, possibilita não só a redução do valor da resistência, como do nível de ruído introduzido no circuito. A expressão matemática seguinte, permite compreender a relação entre os valores de R_{shunt} e R_f com o ruído adicionado ao sinal [25].

$$\text{Noise Gain @ DC} = 1 + \frac{R_f}{R_{Shunt}} \quad (3.8)$$

3.3.1.4 Multiplicador

O “cérebro” de todo o amplificador *lock-in* está presente neste bloco. Os detetores síncronos, extraem o sinal embebido em ruído, permitindo maior sensibilidade e relação sinal/ruído. O sinal original de baixa frequência será recuperado através do multiplicador. Este, deslocará o sinal que se encontrava pulsado a alguns kHz, para o domínio contínuo (DC), rejeitando todos os sinais que não estejam sincronizados com a referência de excitação. Isto permitirá a leitura da fluorescência da clorofila-a com maior sensibilidade [11].

3.3.1.5 Filtro Passa-Baixo

O filtro passa-baixo é eficaz na supressão do ruído em frequências superiores à frequência de corte. Assim, após a deslocação do sinal útil para o domínio contínuo (DC), é necessária a remoção dos harmónicos de ruído. Implementando o filtro passa-baixo, tal como apresentado na Figura 3.16, e sintonizando a frequência de corte para o mais baixo possível, permitirá que os restantes sinais (ruído e harmónicos) sejam atenuados [23].

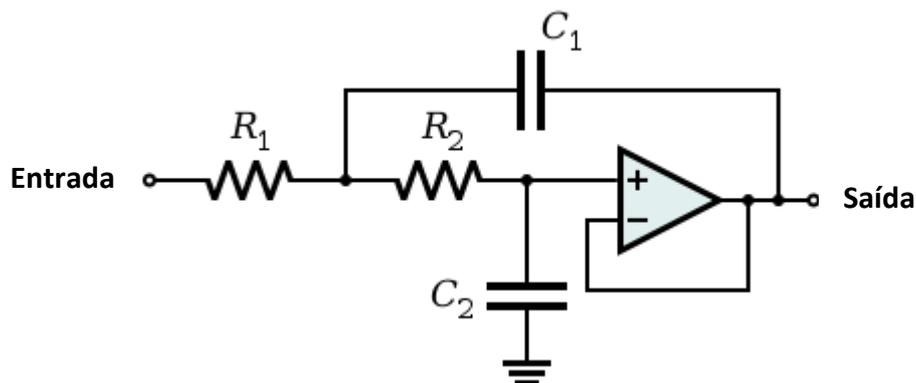


Figura 3.16 – Exemplo da configuração do filtro passa-baixo [26].

Capítulo 4

Projeto e Simulação

Este capítulo descreve o desenvolvimento do circuito de leitura especificado no capítulo anterior. Na primeira fase, serão demonstradas as abordagens adotadas, o dimensionamento dos componentes e os resultados obtidos computacionalmente com a ferramenta de simulação PSIM. Posteriormente, serão efetuadas alterações em determinados blocos eletrônicos, de forma a compreender a sua influência na leitura do sinal. Estas alterações permitirão aperfeiçoar o *lock-in*, com as especificações pretendidas, estando todos os resultados detalhadamente especificados neste capítulo.

4.1 Implementação e Simulação Computacional

No estudo bibliográfico efetuado sobre o circuito de leitura a adotar, foram definidos cinco principais blocos constituintes do amplificador *lock-in*, conforme Figura 4.1. Para cada bloco eletrônico, é necessário o dimensionamento dos componentes constituintes com base nas características identificadas no capítulo anterior. Os cálculos matemáticos efetuados, estão demonstrados no presente capítulo.

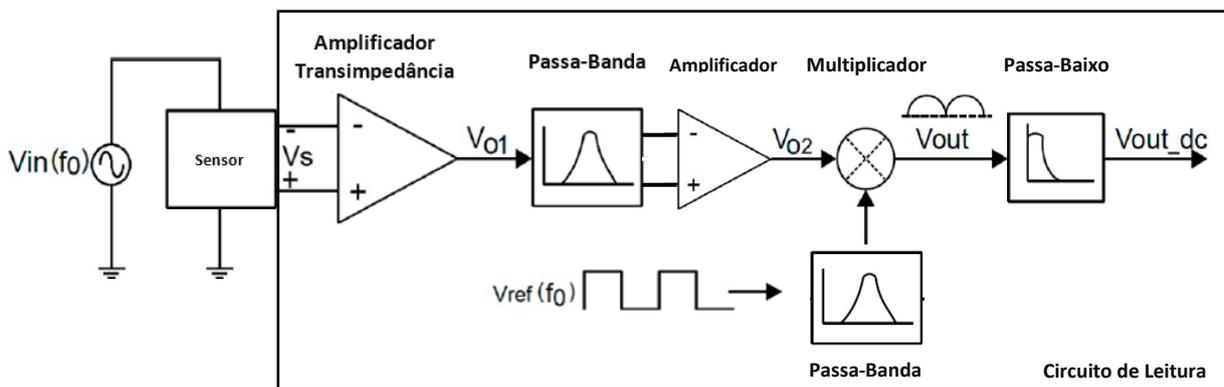


Figura 4.1 – Diagrama de blocos do amplificador *lock-in* implementado [22].

4.1.1 Amplificador de transimpedância

O sinal de corrente proveniente do fotodetector, é convertido em tensão, através da configuração de transimpedância deste amplificador (Figura 4.2). Sendo expectável um sinal de fluorescência de baixa amplitude, este será dimensionado para uma entrada na ordem dos nano-amperes. Devido à relação existente entre o ruído intrínseco e o valor da resistência, o ganho (A) aplicado neste bloco, será parcialmente dividido, com o ganho do amplificador seguinte, para evitar resistências de elevado valor, que originam um aumento do ruído intrínseco. O sinal de tensão pretendido será em milivolts, sendo calculado o valor da resistência necessária através de:

$$A = \frac{V_{saída}}{I_{entrada}} = R_f \Leftrightarrow R_f = \frac{1 \text{ mV}}{1 \text{ nA}} = 1 \text{ M}\Omega \quad (4.1)$$

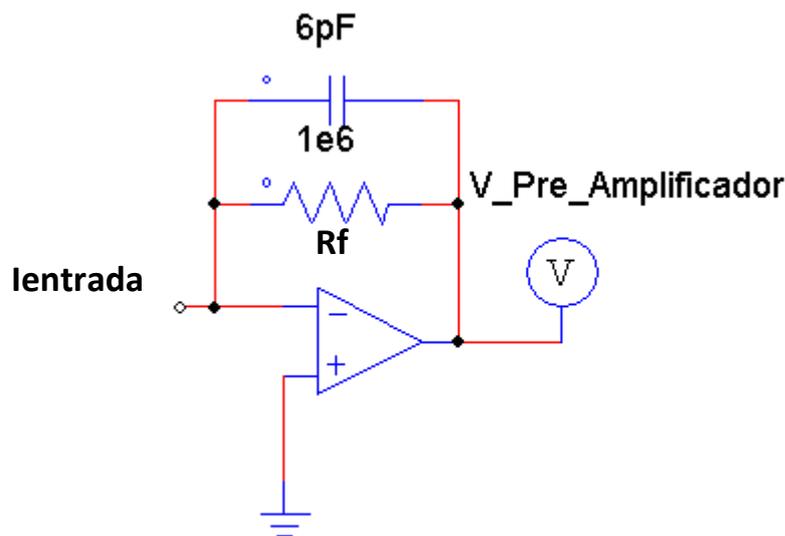


Figura 4.2 – Configuração do amplificador de transimpedância com as características estipuladas.

O uso do condensador de 6pF, sugerido pela ferramenta de simulação da *Analog Devices* “*Photodiode Circuit Design*”, previne o aparecimento de oscilações ou picos de tensão à saída do amplificador, através da diminuição do ganho a partir da frequência 26 kHz, determinada pela malha RC. A resistência de 1 MΩ introduz um ruído intrínseco (*thermal noise*) de 20,7 μV, calculado através de:

$$V_{noise}(rms) = (4kTR\Delta f)^{1/2} = (4 * k * (273,15 + 25) * 1\text{M}\Omega * 26\text{k})^{1/2} = 20,7 \mu\text{V} \quad (4.2)$$

Onde *k* é a constante de *Boltzmann* ($1,38 \times 10^{-23}$ J/K), *T* a temperatura em *Kelvin*, *R* a resistência que gera ruído em ohms e Δf a gama de frequências da medição em Hz [11].

4.1.2 Filtro Passa-Banda

A topologia de múltiplo *feedback*, apresentada na Figura 4.3, é amplamente utilizada nos filtros passa-banda, pois oferece uma implementação de fácil configuração e viável para fatores de qualidade inferiores a 20 [24]. Para o dimensionamento dos componentes, foi selecionada uma frequência passante (f_c) sintonizada nos 1000 Hz, permitindo o isolamento do sinal pulsado, removendo as frequências indesejadas e potenciando a recuperação do sinal. Quanto ao fator de qualidade (Q), foi escolhido o $Q = 5$, devido à dificuldade de implementação real dos filtros, para valores de Q superiores, tendo em conta a tolerância dos componentes. As expressões matemáticas para o cálculo do valor dos componentes estão apresentadas abaixo.

$$C = C1 = 0,15\mu F \text{ e } H (\text{Ganho}) = 1 \quad (4.3)$$

$$R1 = \frac{Q}{H * K} \quad (4.4)$$

Onde $K = 2\pi f_c C$ [27].

$$R2 = \frac{Q}{(2Q^2 - H) * K} \quad (4.5)$$

$$R3 = \frac{2Q}{K} \quad (4.6)$$

Usando os valores comerciais de resistências e condensadores existentes no mercado e analisando as tolerâncias dos componentes, a configuração utilizada para o filtro passa-banda está ilustrada na figura seguinte.

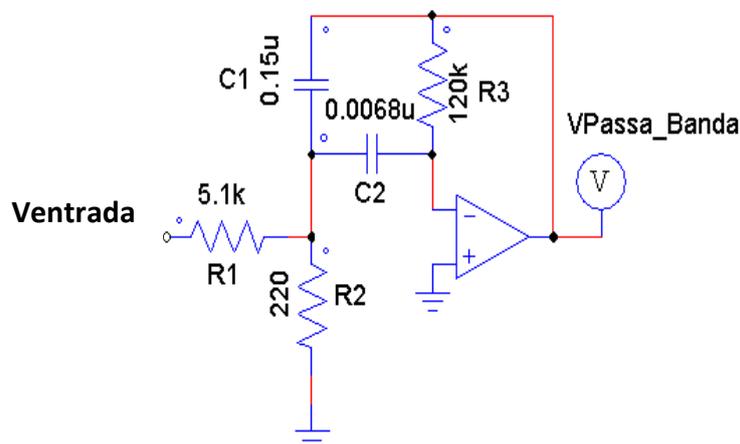


Figura 4.3 – Configuração do filtro passa-banda com frequência central de 1 kHz e fator de qualidade $Q = 5$.

4.1.3 Amplificador

O bloco de amplificação tem como principal propósito a diminuição do ganho aplicado no amplificador de transimpedância, devido à necessidade de redução do ruído introduzido. Para tal, foi implementado um amplificador inversor (Figura 4.4). Dado que à saída do primeiro amplificador existirá um sinal de unidades de milivolts, será aplicado um ganho (x1000), ampliando o sinal para valores que possam ser adquiridos por um ADC, caso seja pretendido. O dimensionamento das resistências necessárias para a amplificação, pode ser expressa através de:

$$A = -\frac{V_o}{V_i} \quad (4.7)$$

$$V_o = -\frac{R_2}{R_1} * V_i \quad (4.8)$$

Onde A, corresponde ao valor de ganho [11].

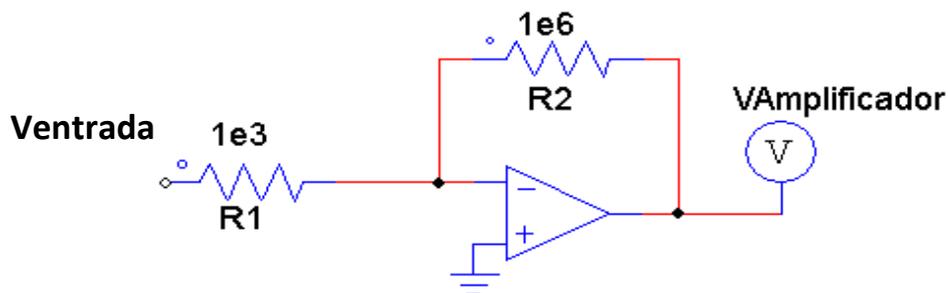


Figura 4.4 - Configuração do amplificador com as características estipuladas.

4.1.4 Multiplicador

O sinal original de baixa frequência será recuperado através do multiplicador. O multiplicador, multiplica o sinal de fluorescência modulado a 1 kHz, pela portadora de 1 kHz que serviu para a excitação do LED que iluminou a clorofila. Este, deslocará o sinal pulsado a alguns kHz, para o DC, rejeitando todos os sinais que não estejam sincronizados com a referência de excitação. Para garantir o correto funcionamento deste bloco, é necessário que o sinal de referência esteja sincronizado com o sinal que pulsa a fonte de excitação. Assim, será implementado um circuito de comutação comum aos dois sinais, tal como ilustrado na Figura 4.5.

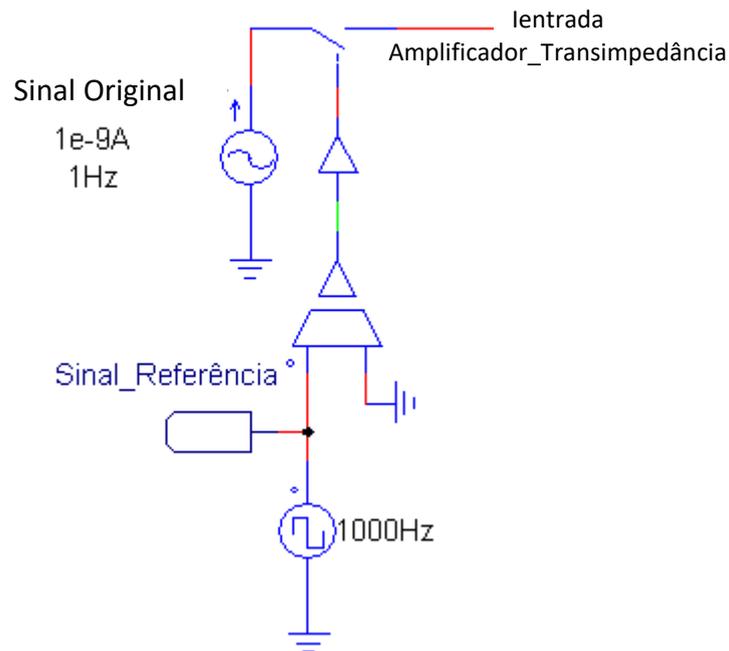


Figura 4.5 – Configuração do sinal de entrada e de referência do amplificador *lock-in*.

O sinal de corrente de baixa frequência e amplitude, será pulsado por uma onda quadrada de 1kHz, simulando o sinal de entrada do amplificador de transimpedância, proveniente do fotodetector. O sinal de referência utilizado, é o mesmo que pulsa a fonte de excitação, garantindo assim o sincronismo de ambos os sinais à entrada do multiplicador.

O multiplicador implementado, será simulado através de um bloco de multiplicação analógico, estando ilustrada a sua configuração na Figura 4.6.

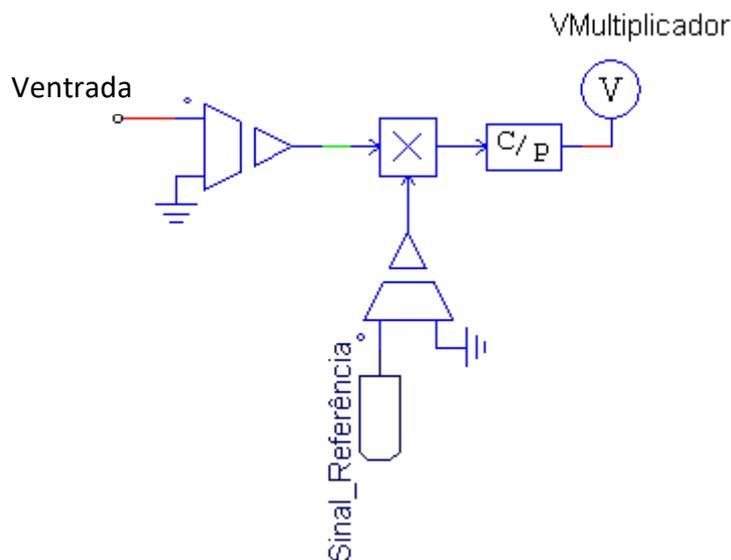


Figura 4.6 – Configuração do multiplicador analógico.

4.1.5 Filtro Passa-Baixo

A topologia *Sallen-Key* é implementada por um circuito não-inversor, sendo geralmente utilizada quando é pretendido um fator de qualidade baixo ($Q < 3$), um ganho unitário e uma elevada precisão [28]. Estas características permitirão isolar o sinal útil, das frequências superiores à frequência de corte configurada. Dado que, o sinal proveniente do bloco de multiplicação tem uma componente contínua, proporcional ao sinal de entrada, o filtro será sintonizado com uma frequência de corte de 1 Hz, visto que não se preveem alterações rápidas do valor de clorofila ao longo do tempo. O fator de qualidade, terá o valor de 0,707, para evitar *ripple* no ganho. As expressões matemáticas para o dimensionamento dos componentes estão apresentadas abaixo.

Definindo os valores das constantes m e n , temos que:

$$\mathbf{R1 = mR, R2 = R, C1 = C, C2 = nC, e K = 1} \quad (4.9)$$

Onde K , é o ganho aplicado [29]. A frequência de corte e o fator de qualidade podem ser calculados através de:

$$f_c = \frac{1}{2\pi RC\sqrt{mn}} \quad (4.10)$$

$$Q = \frac{\sqrt{mn}}{m + 1} \quad (4.11)$$

Onde f_c , é a frequência de corte em Hz e Q , o fator de qualidade [29].

A configuração do filtro passa-baixo pode ser visualizada na Figura 4.7.

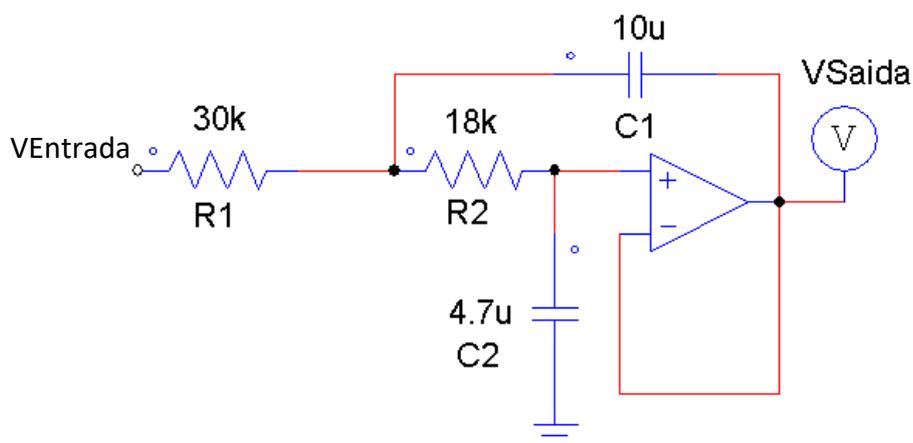


Figura 4.7 – Configuração do filtro passa-baixo *Sallen-Key* de 2ª ordem.

4.1.6 Resultados da simulação computacional do amplificador *lock-in*

Dimensionados os blocos eletrônicos, estabelecem-se as ligações entre eles, e verifica-se o funcionamento do amplificador implementado. Na Figura 4.8, está apresentado o circuito de leitura implementado na ferramenta de desenvolvimento PSIM, utilizando os circuitos acima detalhados.

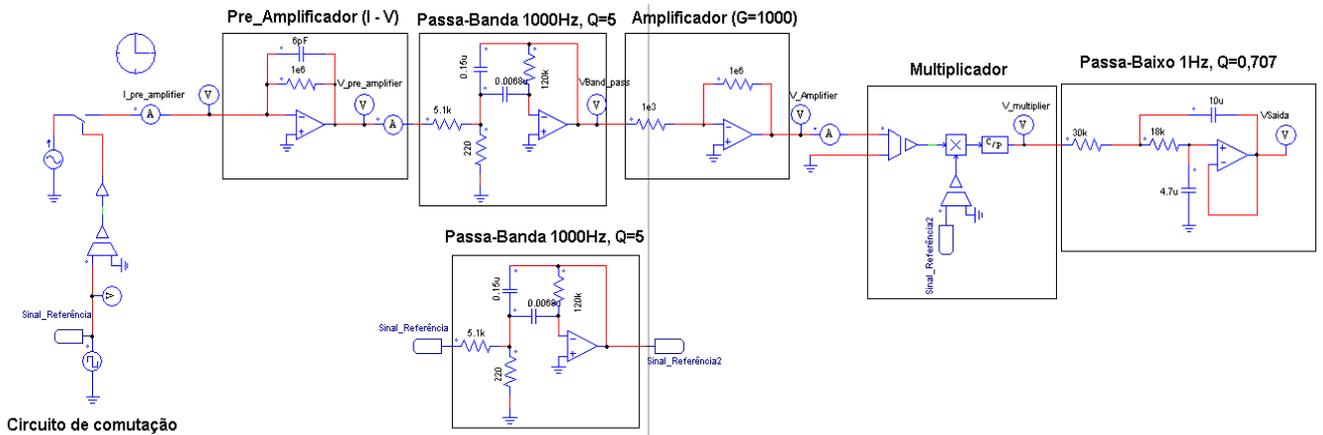


Figura 4.8 – Circuito para a simulação do amplificador *lock-in*.

O princípio de funcionamento do amplificador proposto na presente dissertação, consiste em recuperar um sinal útil embebido em ruído. De forma a simular o circuito de leitura com variáveis de valor próximo ao real, as condições de teste seleccionadas, basearam-se nos sinais reais expectáveis.

Como sinal útil, foi configurada uma corrente sinusoidal, de frequência 1 Hz e amplitude de 1 nA. A forma de onda resultante está apresentada na figura seguinte.

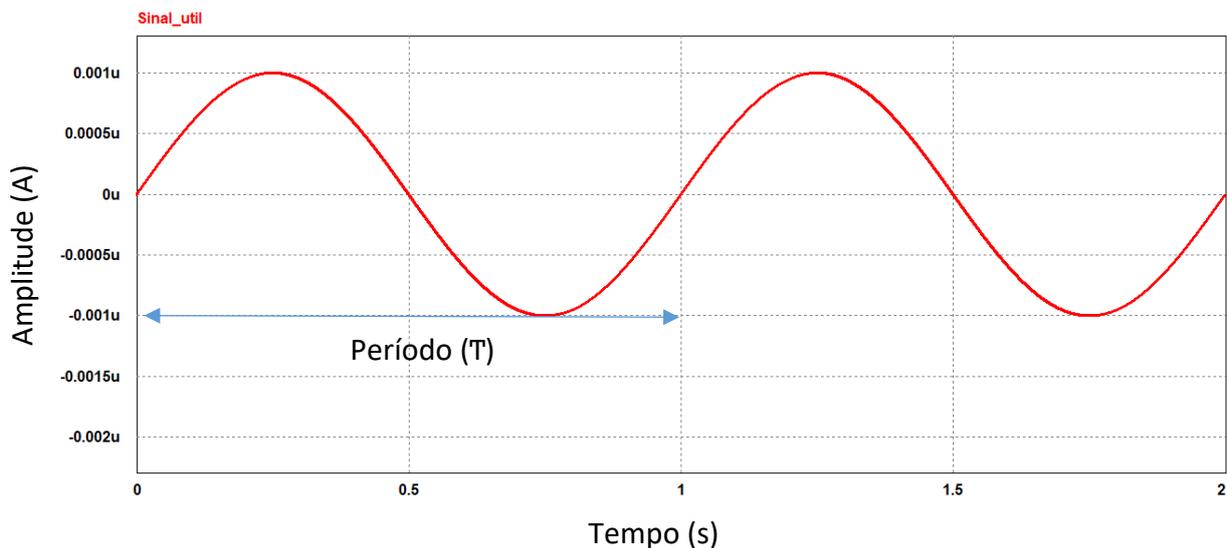


Figura 4.9 – Sinal útil de entrada antes do circuito de comutação.

$$f = \frac{1}{T} = \frac{1}{1} = 1 \text{ Hz} \tag{4.12}$$

O sinal útil será modulado a 1 kHz, pelo circuito eletrônico apresentado na Figura 4.5, simulando o sinal proveniente do fotodetetor, quando utilizada uma fonte de excitação pulsada. A Figura 4.10 ilustra o sinal resultante.

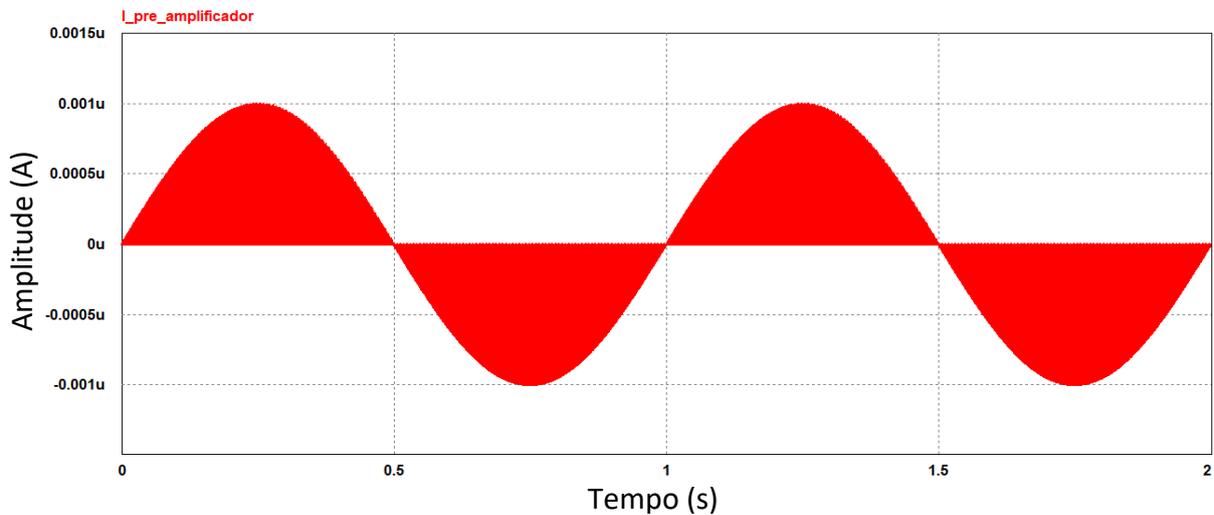


Figura 4.10 – Sinal útil de entrada após o circuito de comutação.

Uma visualização no domínio das frequências, permite identificar o sinal de interesse de 1 Hz, pulsado à frequência 1 kHz, através da Figura 4.11.

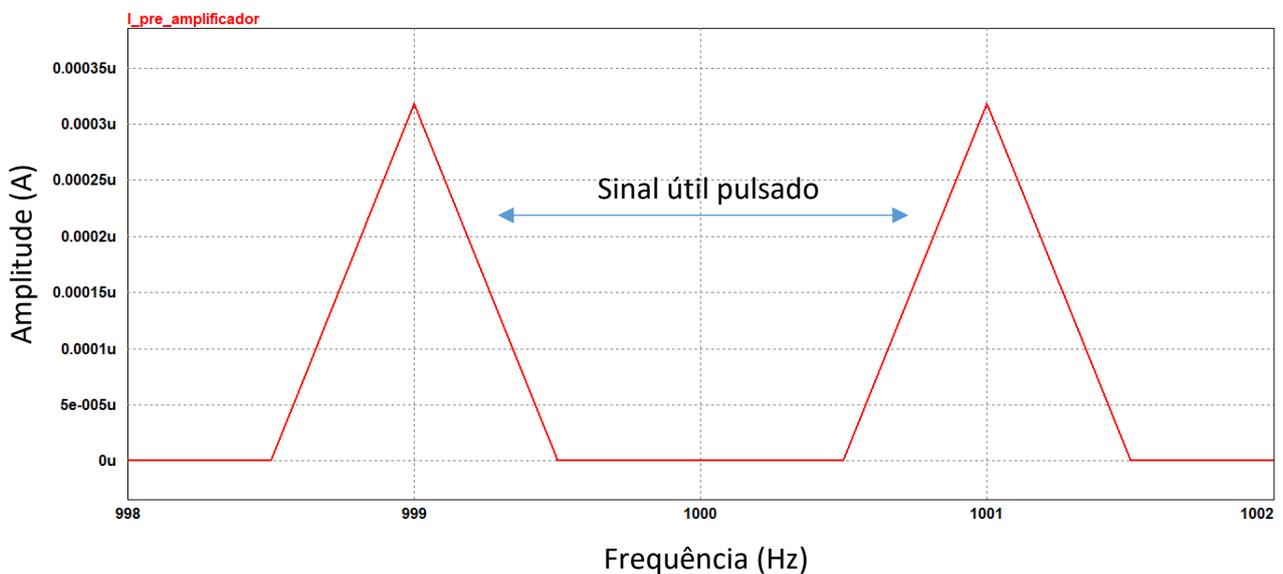


Figura 4.11 – Sinal pulsado no domínio das frequências.

Para o correto funcionamento do *lock-in*, as entradas do multiplicador devem estar sintonizadas. Para isso, o circuito de comutação da fonte de excitação, será o mesmo que gera o sinal de referência, ilustrado na Figura 4.12. Um bloco adicional, mais especificamente um filtro passa-banda com as mesmas características do dimensionado anteriormente, filtrará ambos os sinais do multiplicador (sinal de entrada e a referência), garantindo que as deslocções de fase provocadas pela adição do bloco de

filtragem sejam iguais em ambos os sinais, reforçando o sincronismo das duas formas de onda à entrada do módulo de multiplicação.

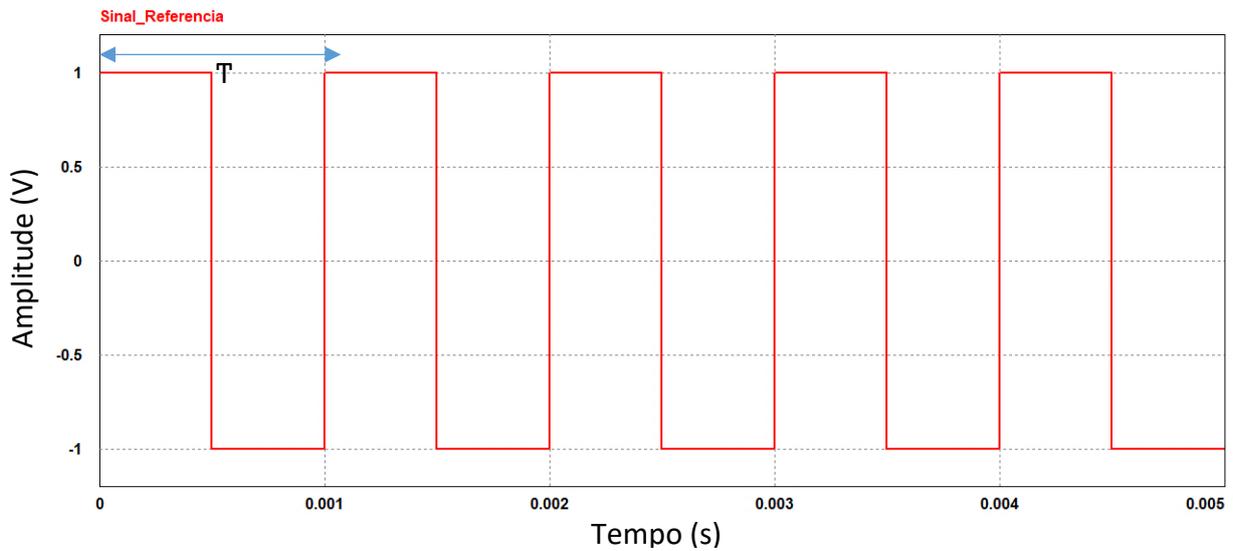


Figura 4.12 – Sinal de referência antes do passa-banda.

$$f = \frac{1}{T} = \frac{1}{0.001} = 1000 \text{ Hz} \quad (4.13)$$

A Figura 4.13 apresenta a forma de onda resultante do sinal de referência após filtragem do passa-banda.

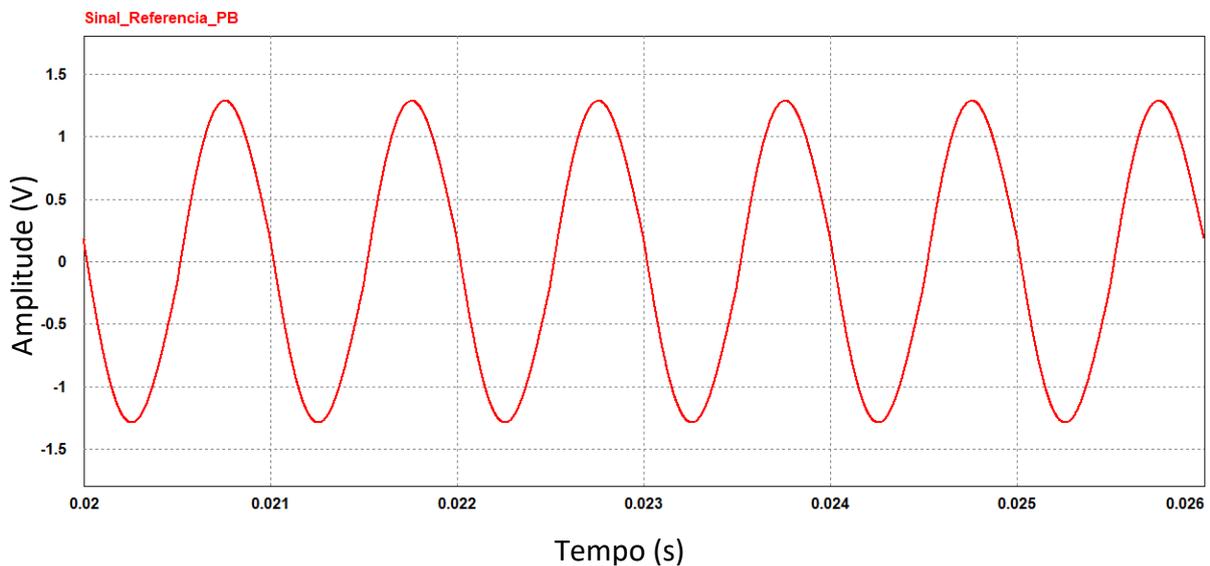


Figura 4.13 – Sinal de referência após filtragem do passa-banda.

Este sinal filtrado corresponderá a uma das entradas do módulo de multiplicação.

A forma de onda ilustrada na Figura 4.10, será amplificada e convertida pelo circuito de transimpedância, e o sinal de nano-amperes proveniente do fotodetector convertido em milivolts na saída. Sendo o ruído o fator determinante para a utilização e dimensionamento do amplificador *lock-in*, para simular a presença de ruído intrínseco, a uma das entradas do amplificador de transimpedância foi

adicionada uma fonte sinusoidal de frequência e amplitude diferentes do sinal. A implementação deste mecanismo, está apresentada na figura seguinte.

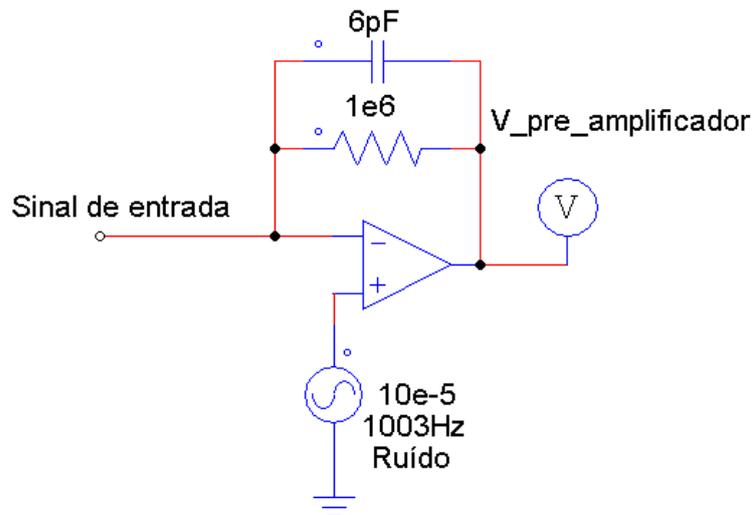


Figura 4.14 – Simulação do ruído (exemplo de 100 μV , 1003 Hz) no amplificador de transimpedância.

A interferência inserida distorcerá o sinal, dificultando a leitura. A Figura 4.15, demonstra o aspeto da onda de saída do amplificador, em que ao sinal de entrada de 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz (correspondente a 1 mV, 1 Hz na saída do amplificador) foi adicionado um sinal de 100 μV , 1003 Hz.

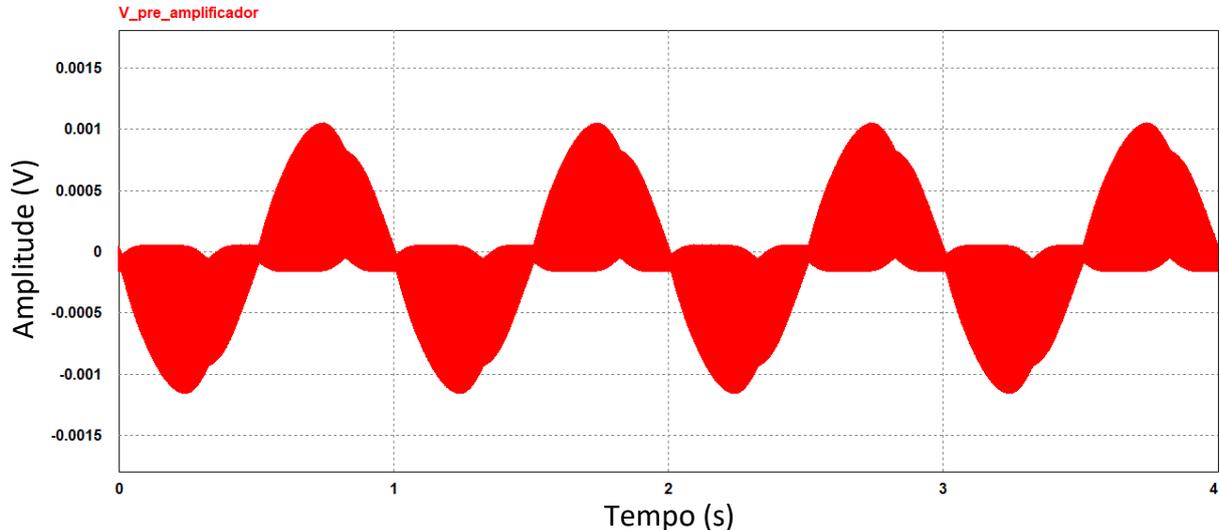


Figura 4.15 – Simulação do sinal à saída do circuito de transimpedância, em que a entrada é 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz com ruído adicionado de 100 μV , 1003 Hz.

$$\text{Ganho} = \frac{1 \text{ mV}}{1 \text{ nA}} = 1000 \quad (4.14)$$

Uma visualização aproximada do sinal no domínio das frequências (Figura 4.16), permite verificar que a fonte de ruído se encontra próxima do sinal de interesse, mais especificamente nos 1003 Hz. Este valor

da frequência de ruído (1003 Hz), é um exemplo dos vários testados. Neste caso, por se situar próxima da frequência de sinal (1000 Hz) a atenuação do ruído é reduzida.

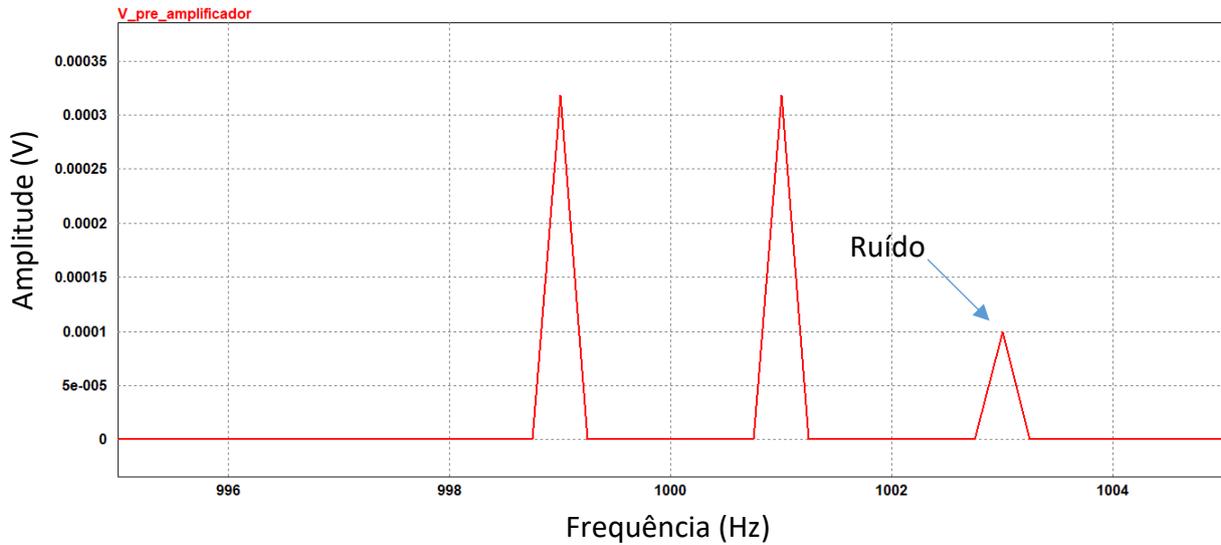


Figura 4.16 – Espectro do sinal à saída do circuito de transimpedância, com um sinal de entrada de 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz com ruído adicionado de 100 μ V, 1003 Hz.

Após esta amplificação o sinal é filtrado pelo passa-banda. Devido à proximidade do sinal de ruído com o sinal útil, este não conseguirá ser eliminado com esta filtragem. Os restantes sinais presentes em frequências superiores ou inferiores ao raio de ação do filtro serão atenuados significativamente. A Figura 4.17 apresenta a forma de onda à saída do filtro passa-banda.

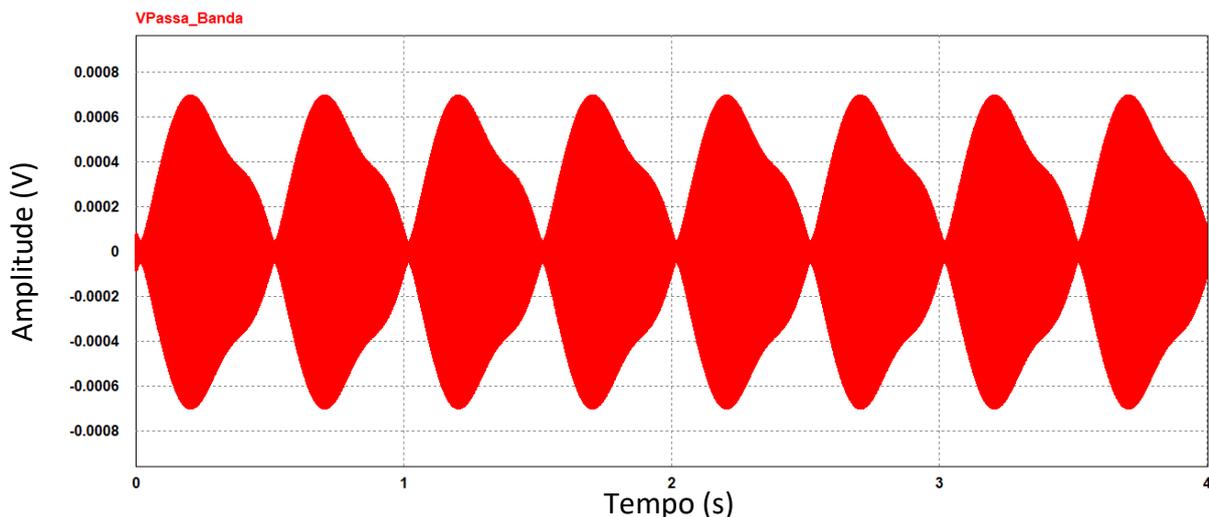


Figura 4.17 – Visualização do sinal à saída do bloco de filtragem.

Verificando as componentes de frequência existentes, permite confirmar a existência da componente de 1003 Hz ainda presente no sinal (Figura 4.18).

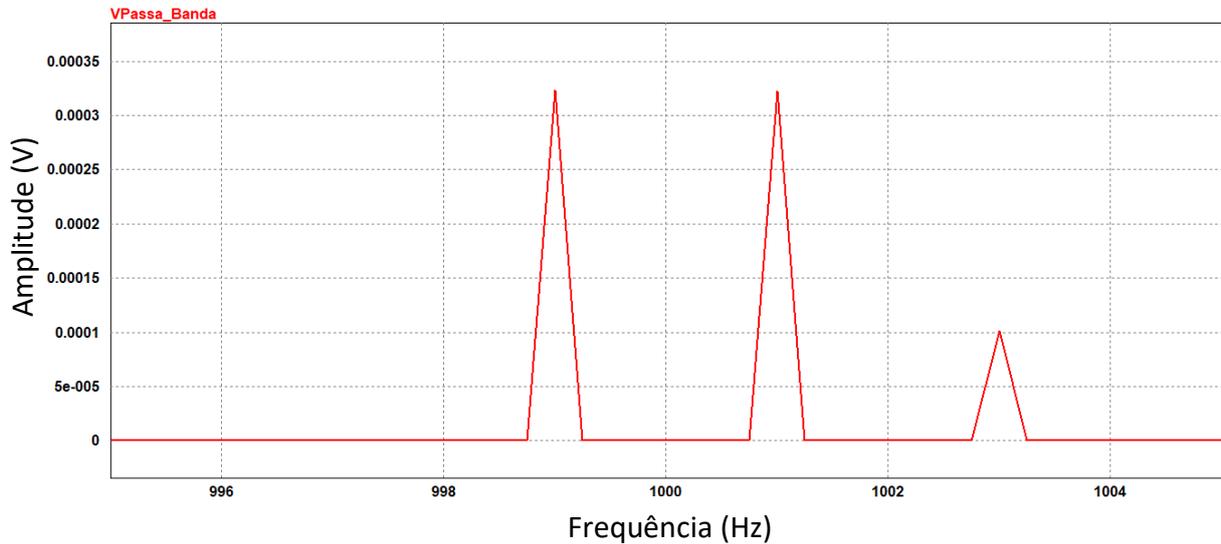


Figura 4.18 – Espectro do sinal à saída do filtro passa-banda, com um sinal de entrada de 1 nA, 1 Hz, modulado a 1 kHz com ruído adicionado de 100 μ V, 1003 Hz.

Posteriormente a esta filtragem, o sinal entra no amplificador, deslocando o sinal dos milivolts para volts (Figura 4.19).

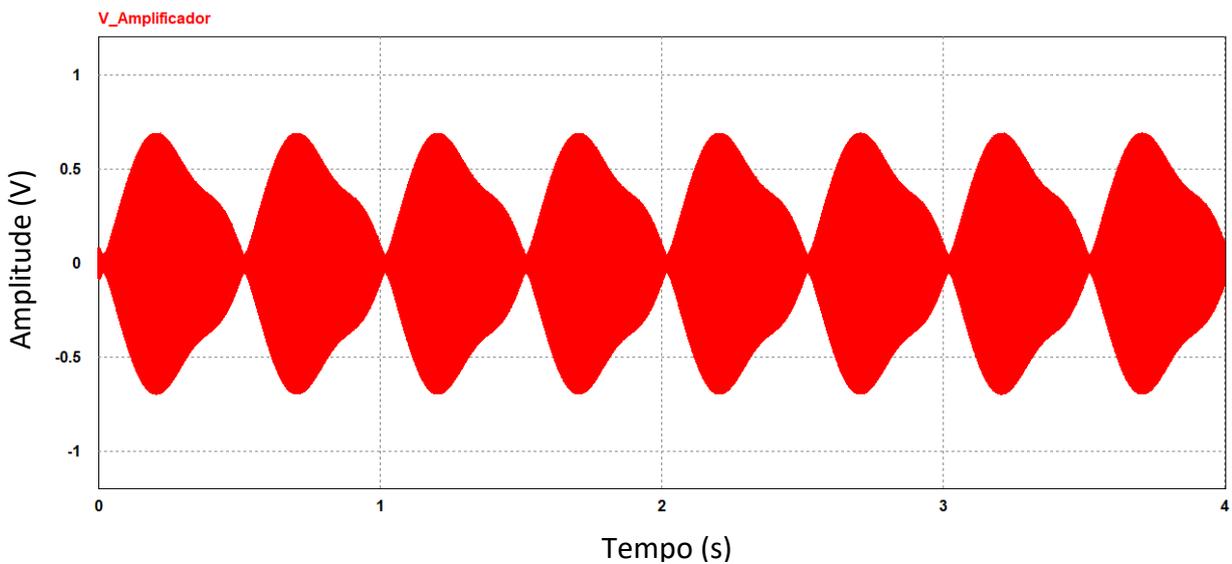


Figura 4.19 – Sinal à saída do bloco de amplificação.

O sinal de baixa frequência (1 Hz) inserido à entrada, será recuperado através do multiplicador, que deslocará o espectro do sinal pulsado a 1 kHz para DC. O sinal apresentado na Figura 4.13 será uma das entradas deste módulo, correspondendo ao sinal de referência, enquanto que a outra entrada corresponderá ao sinal amplificado, ilustrado na Figura 4.19. Para garantir o correto funcionamento do *lock-in* é necessário garantir que os dois sinais de entrada estão em fase. A figura seguinte demonstra o pretendido.

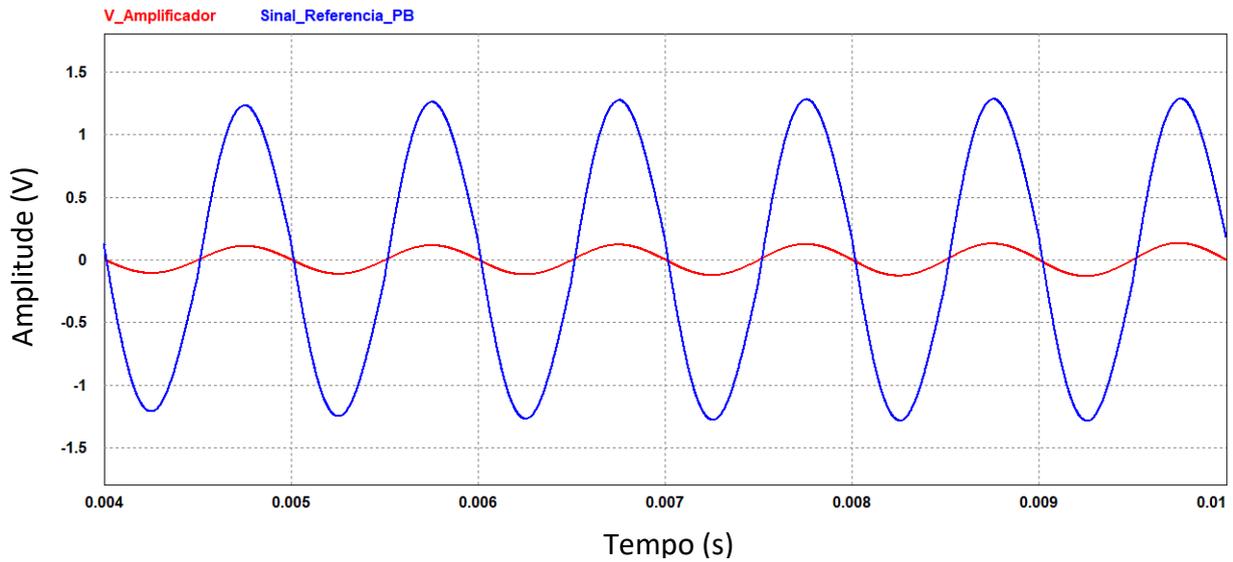


Figura 4.20 – Sinais de entrada do bloco de multiplicação. A vermelho o sinal proveniente do fotodetector, após a amplificação e filtragem e a azul o sinal de referência, através da filtragem do sinal de excitação do LED.

Constatado o sincronismo dos sinais de entrada, a Figura 4.21 apresenta a saída do multiplicador.

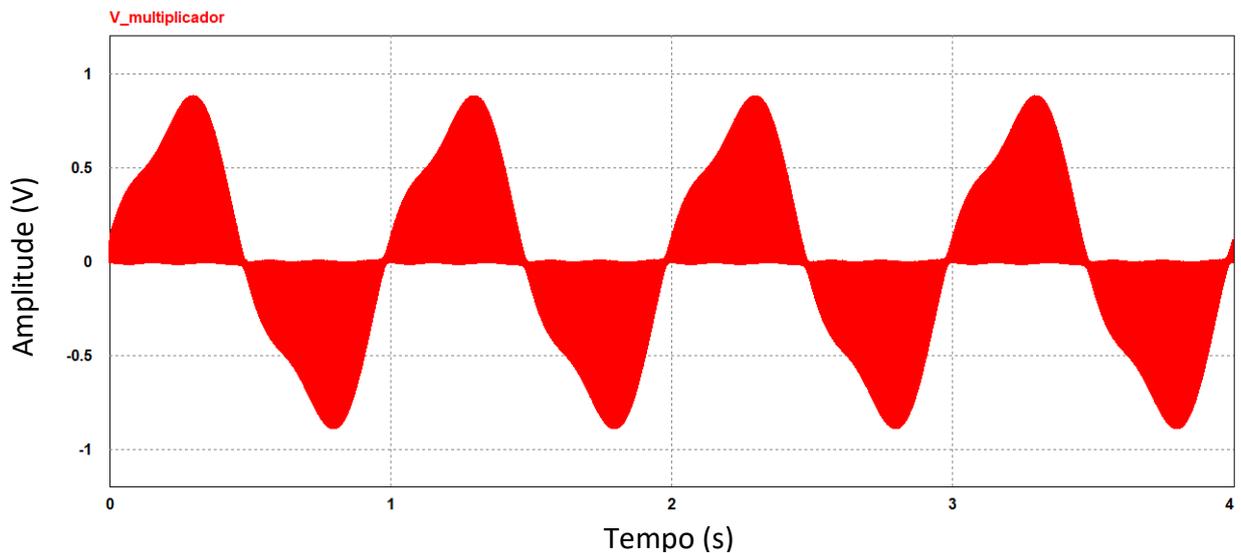


Figura 4.21 – Sinal de saída do bloco de multiplicação.

Na Figura 4.22 é apresentado em detalhe o mesmo sinal, entre os 100 ms e os 110 ms. Verifica-se que o multiplicador funciona como um retificador de onda completa, duplicando a frequência do sinal de 1 kHz. A saída deste bloco possui uma componente contínua proporcional ao sinal de entrada (1 Hz).

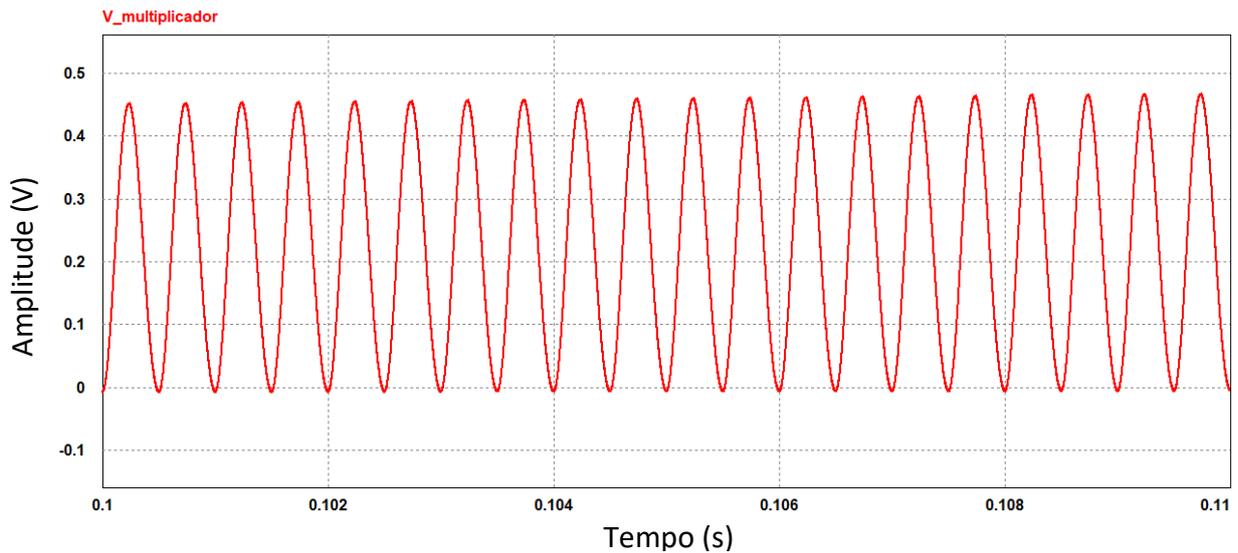


Figura 4.22 – Sinal de saída do bloco de multiplicação no domínio dos kHz.

Além desta retificação, o multiplicador possui outra vantagem mencionada no presente capítulo, que consiste no deslocamento do sinal útil das altas frequências (1 kHz), para DC. Na visualização do sinal, no domínio dos tempos, tal como ilustrado nas figuras anteriores, este deslocamento não é óbvio. No entanto, quando apresentado o domínio das frequências, é possível constatar este deslocamento (Figura 4.23).

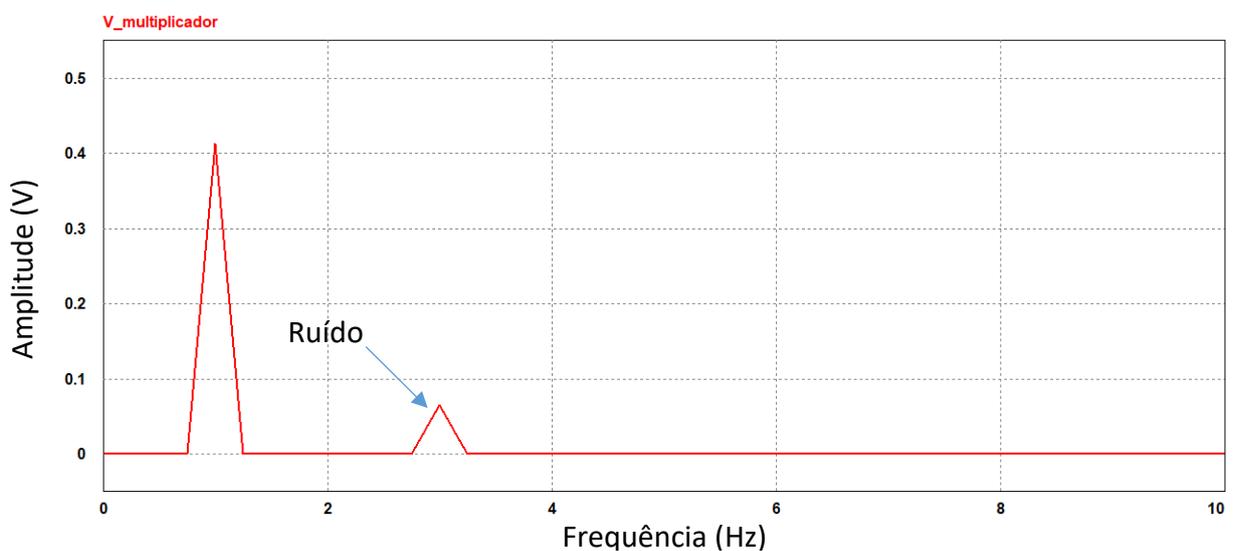


Figura 4.23 – Visualização do sinal de saída do multiplicador no domínio das frequências. O sinal original de 1 Hz é visível, assim como o ruído de 1003 Hz introduzido.

Apesar de o sinal ter sido deslocado tal como pretendido, a componente de ruído de 1003 Hz inserida no circuito de transimpedância, foi deslocada para DC aparecendo no sinal com o valor de 3 Hz. Por fim, a utilização do filtro passa-baixo sintonizado com uma frequência de corte de 1 Hz, $Q = 0,707$, irá atenuar o ruído acima desta frequência. A Figura 4.24 apresenta o sinal de saída.

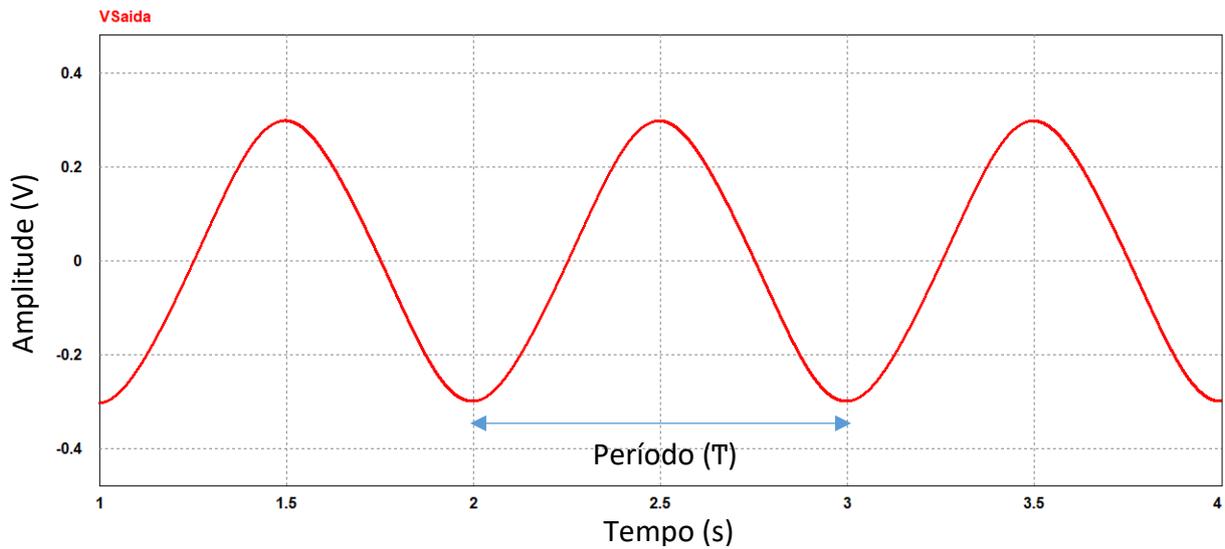


Figura 4.24 – Sinal de saída do amplificador *lock-in*.

$$\text{Frequência} = \frac{1}{(3 - 2)} = 1 \text{ Hz} \quad (4.15)$$

Embora no sinal acima apresentado não seja perceptível a existência da componente de 3 Hz, uma visualização no domínio das frequências permite verificar que o ruído não foi totalmente atenuado.

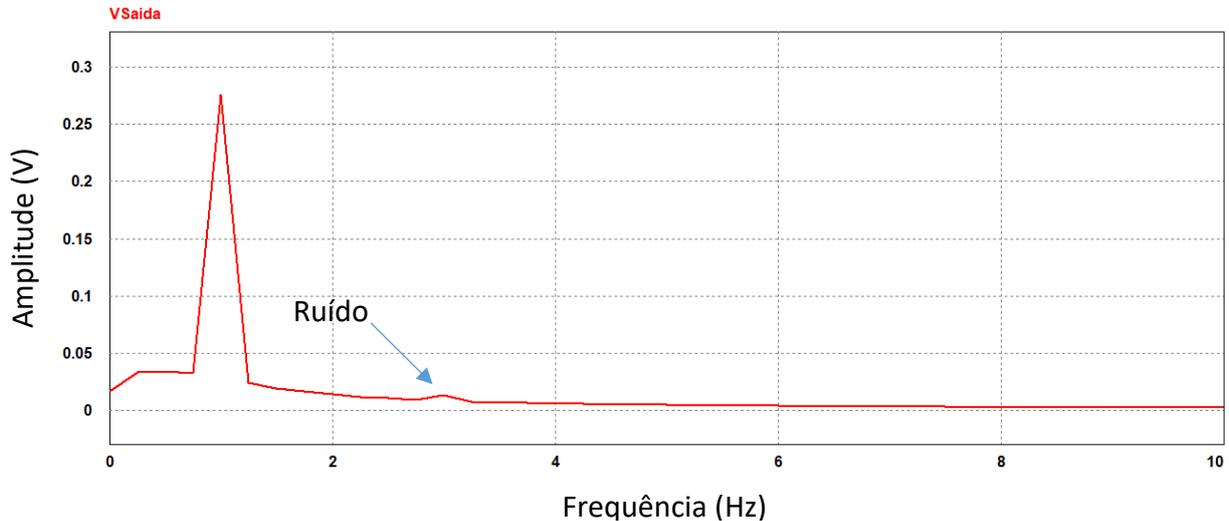


Figura 4.25 – Sinal de saída do amplificador *lock-in* no domínio das frequências, onde ainda é visível o ruído 3 Hz, proveniente do sinal de ruído original introduzido a 1003 Hz.

De forma a aperfeiçoar o circuito e perceber a influência dos blocos eletrônicos no sinal final, serão redimensionados alguns circuitos, estando os resultados apresentados na seguinte secção.

4.2 Redimensionamento dos circuitos eletrônicos do amplificador *lock-in*

O amplificador implementado na presente dissertação, para além do bloco de multiplicação, possui dois blocos amplificadores e dois de filtragem. Dado que, tanto o multiplicador como os circuitos de amplificação, não alteram significativamente o sinal final, as alterações efetuadas serão nos filtros. Estes, são os principais responsáveis pelo isolamento do sinal útil e eliminação das interferências. Para testar a sua influência no circuito de leitura, serão introduzidos ruídos em várias frequências no amplificador de transimpedância tal como ilustrado na figura seguinte.

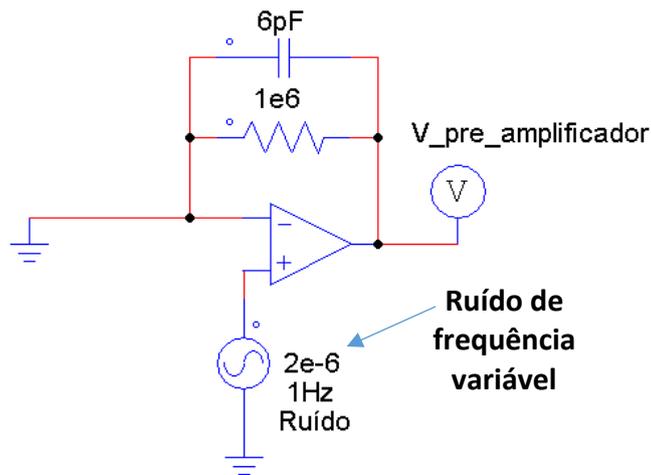


Figura 4.26 – Mecanismo de introdução de ruído no circuito de leitura.

Assim, variando a frequência do sinal de ruído num intervalo de 1 a 1000 Hz será obtida por simulação a tensão de saída do amplificador *lock-in*. Dividindo a amplitude de saída pela amplitude do ruído de entrada, é calculado e apresentando graficamente um “pseudo” diagrama de bode. É designado “pseudo”, pois a frequência do sinal de saída não corresponde à frequência do sinal de entrada. Nos exemplos anteriores, um sinal de ruído de 1003 Hz na entrada proporcionava um sinal de ruído 3 Hz na saída. Como o amplificador de transimpedância é o bloco onde o ruído intrínseco é mais relevante para o ruído total, apenas foi analisado o ruído neste bloco.

Em função desta análise, serão reequacionadas as especificações dos circuitos de filtragem, tais como, a frequência de corte, o fator de qualidade ou a ordem de grandeza do filtro, tornando possível a seleção da melhor configuração para a atenuação de ruído no circuito.

4.2.1 Filtro Passa-Banda

O primeiro teste efetuado no circuito de leitura, consiste na alteração do fator de qualidade dos filtros passa-banda. Alterando a frequência do sinal de ruído (de 1 Hz a 1 kHz), foram registados os

valores dos sinais de saída do *lock-in*, para filtros com fator de qualidade (Q) entre 1 e 5, estando ilustrada a atenuação do ruído do circuito em decibéis na Figura 4.27.

$$\text{Ganho(dB)} = 20 \log \left(\frac{V_{\text{saída}}}{V_{\text{entrada}}} \right) \quad (4.16)$$

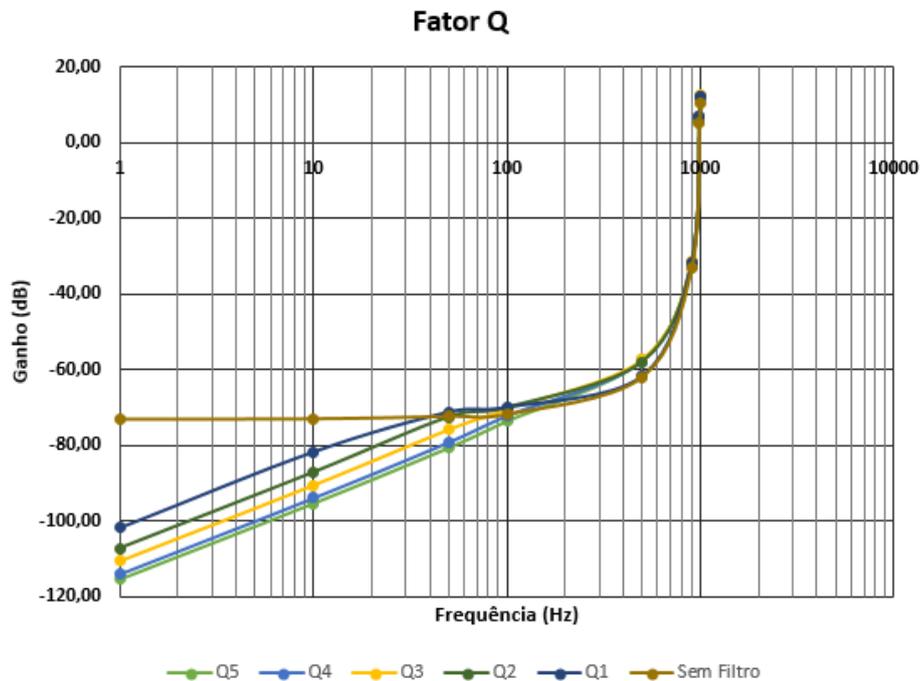


Figura 4.27 – Influência do fator de qualidade do passa-banda na atenuação do ruído e comparação com a inexistência de filtro passa-banda.

Através dos resultados obtidos, é possível constatar que a melhor opção consiste na utilização de um filtro passa-banda com fator de qualidade 5, devido à maior atenuação de ruído para frequências inferiores a 1000 Hz.

De modo compreender a influência da frequência central do filtro no resultado final, sintonizou-se este valor para $\pm 5\%$ do valor original (1 kHz). Esta simulação destina-se a prever o efeito da tolerância dos componentes do filtro (e do gerador do sinal de 1 kHz) no resultado final do amplificador *lock-in*. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 4.28.

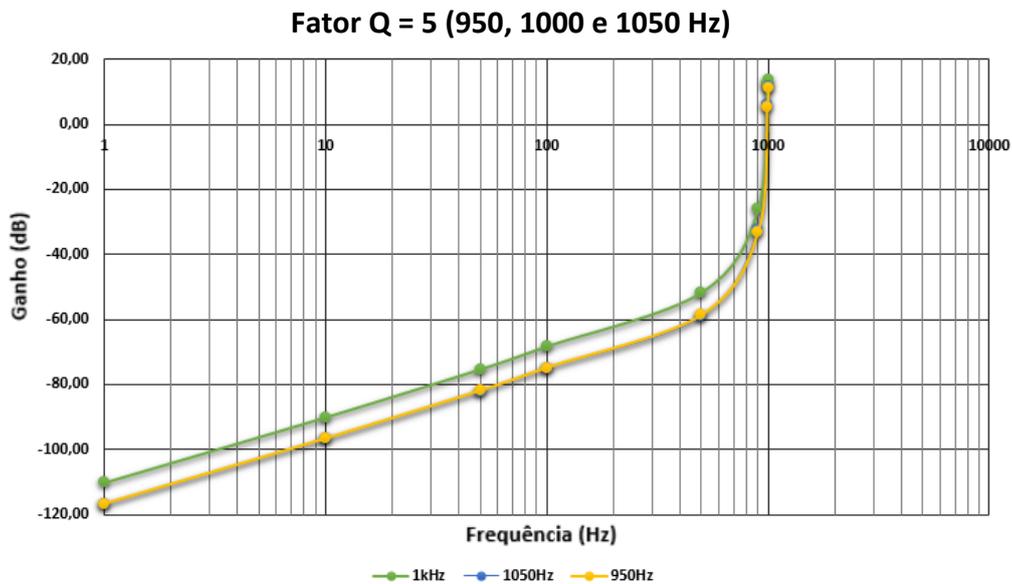


Figura 4.28 – Influência da frequência passante do passa-banda na atenuação do ruído (as linhas de 950 Hz e 1050 Hz estão sobrepostas).

Dado que, tanto para a frequência passante de 950 Hz como 1050 Hz a resposta do circuito de leitura no resultado final é idêntica, a sintonização manual do filtro será opcional. No entanto, o valor adotado será de 1010 Hz, tendo em conta os valores comerciais e tolerâncias dos componentes. A nova configuração do filtro passa-banda está apresentada na Figura 4.29.

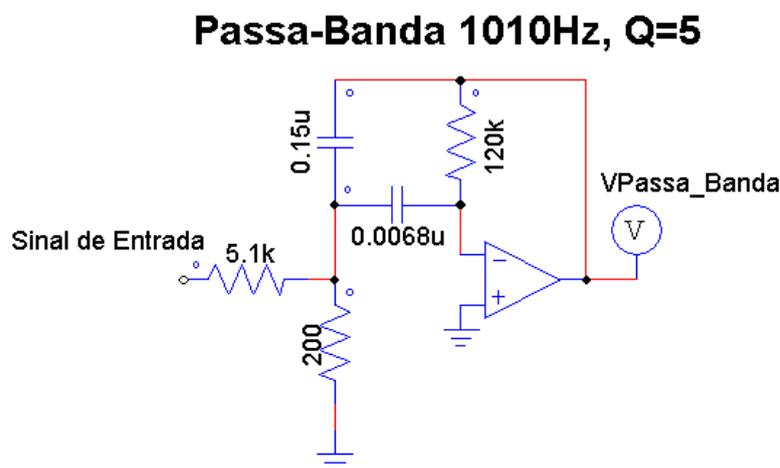


Figura 4.29 – Implementação do filtro Passa-Banda com valores comerciais de resistências e condensadores.

4.2.2 Filtro Passa-Baixo

O filtro passa-baixo é o principal responsável na supressão de ruído no amplificador *lock-in*. Posto isto, o primeiro teste efetuado, será o de verificação da influência da frequência de corte no sinal de saída. Dimensionando o filtro para as frequências de 1, 5 e 10 Hz verificou-se o comportamento do

circuito de leitura relativamente à frequência do ruído introduzido no amplificador de transimpedância (Figura 4.30).

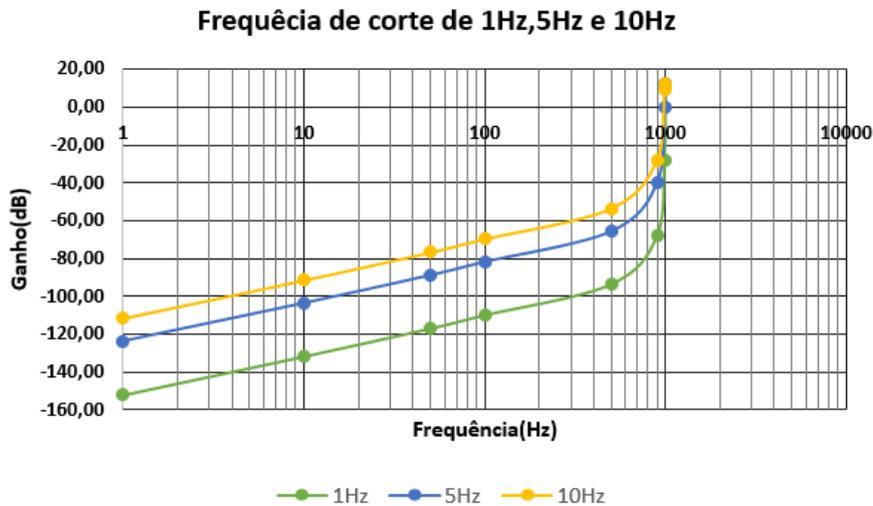


Figura 4.30 – Influência da frequência de corte do passa-baixo na atenuação de ruído.

Constata-se desta análise, que o amplificador *lock-in* pode ser considerado como um filtro passa-banda com um fator de qualidade muito elevado ($Q > 500$) (na Figura 4.27, apresenta um ganho de cerca de 10 dB à frequência central de 1 kHz e uma atenuação superior a 30 dB à frequência de 900 Hz). Isto é um reflexo da utilização do filtro passa-baixo final (1-10 Hz), mas deslocado para 1 Hz através do multiplicador. Uma vez que é pretendida uma elevada atenuação do ruído para frequências superiores a DC, a configuração que melhor corresponde a este requisito é a de 1 Hz.

Selecionada a frequência de corte, e sendo este o filtro responsável pela eliminação do restante ruído presente no sinal, realizaram-se simulações para determinar como a ordem deste influencia a filtragem do ruído. Assim, foram dimensionados três filtros passa-baixo de 2ª, 3ª e 4ª ordem, todos com frequência de corte de 1 Hz e $Q = 0,707$, estando apresentados os resultados obtidos na figura seguinte.

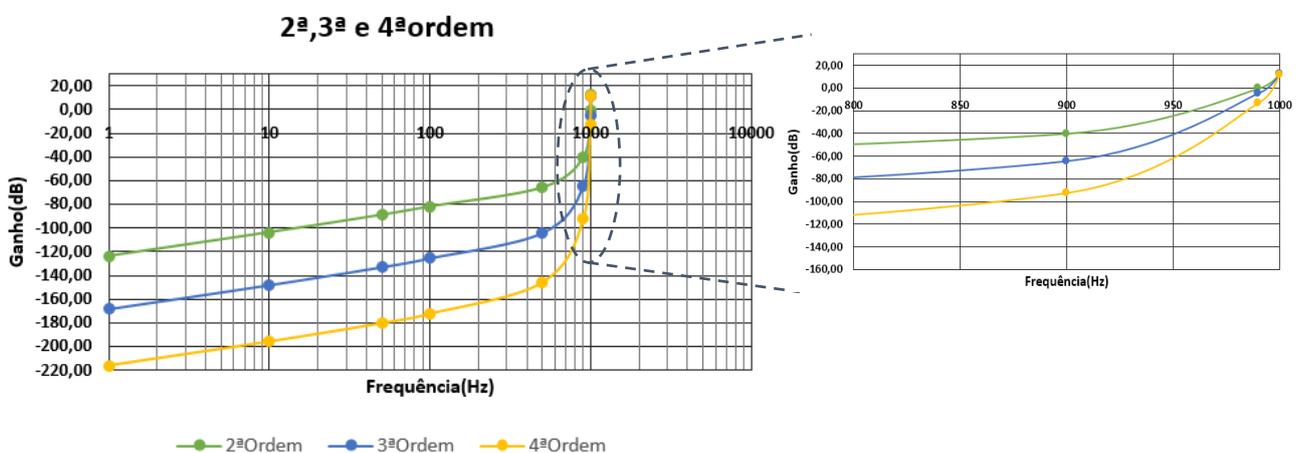


Figura 4.31 – Influência da ordem do filtro passa-baixo na atenuação de ruído.

Os resultados demonstram uma maior atenuação quando utilizado o filtro de 4ª ordem, relativamente ao inicialmente proposto (2ª ordem). Verificada a influência dos principais parâmetros do filtro no *lock-in*, a nova configuração adotada está ilustrada na Figura 4.32.

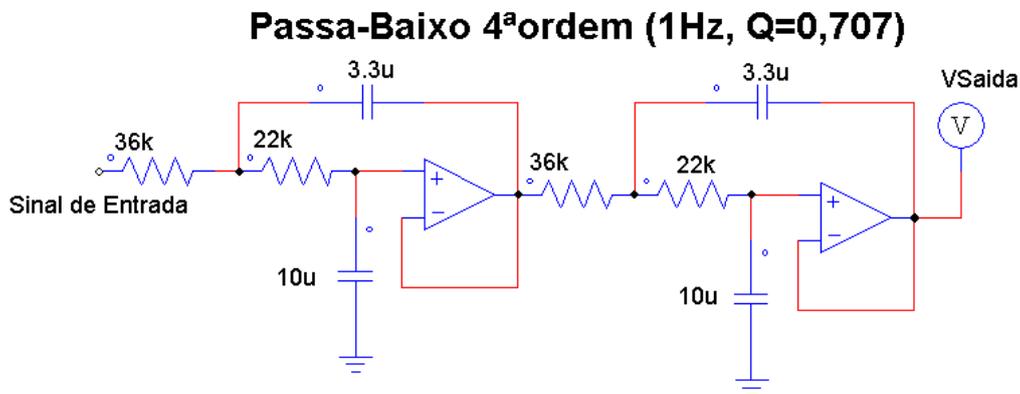


Figura 4.32 – Filtro passa-baixo de ordem 4 implementado.

4.3 Circuito de Leitura Final

O circuito otimizado foi simulado na sua totalidade, com o objetivo de avaliar o nível de ruído intrínseco, estando os resultados apresentados nesta secção. Um dos problemas encontrados na abordagem anterior, foi a baixa atenuação da componente de ruído de 3 Hz, sendo esta ainda visível no espectro de frequências da Figura 4.25. Assim, utilizando novamente o sinal de entrada de 1 Hz e amplitude 1 nA, e colocando a fonte de ruído no bloco de transimpedância sintonizado a 1003 Hz (Figura 4.14), será visualizada à saída o resultado da atenuação.

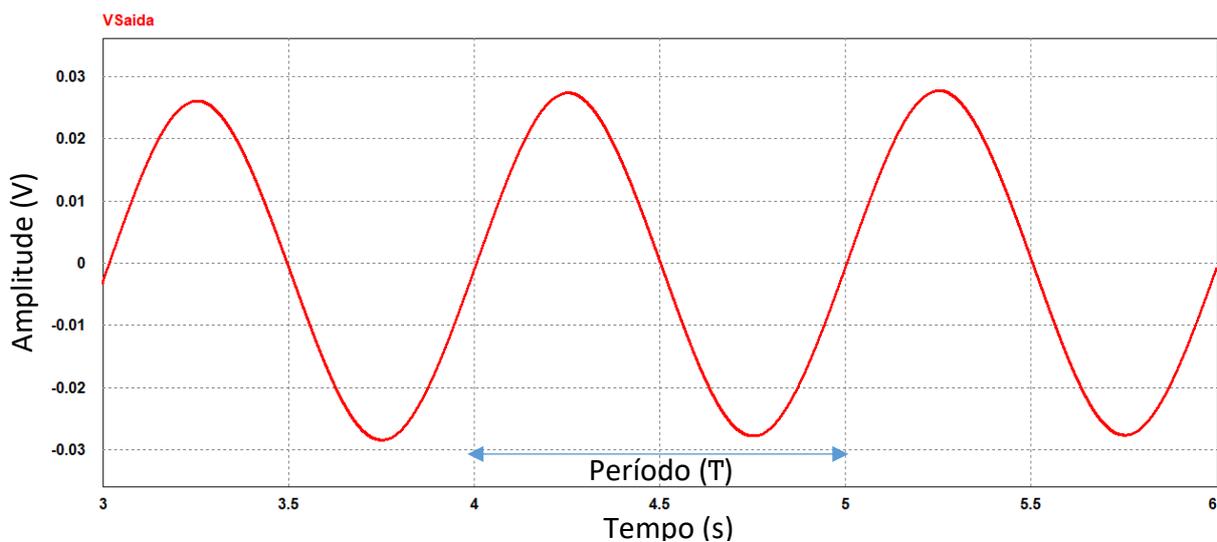


Figura 4.33 – Sinal de saída do amplificador *lock-in*.

Tal como no primeiro teste realizado, a componente de 1 Hz inserida à entrada do circuito é isolada e recuperada. No entanto, contrariamente ao resultado anterior, quando verificadas as componentes de frequência presentes, a interferência de 3 Hz é eliminada, como demonstrado na figura seguinte.

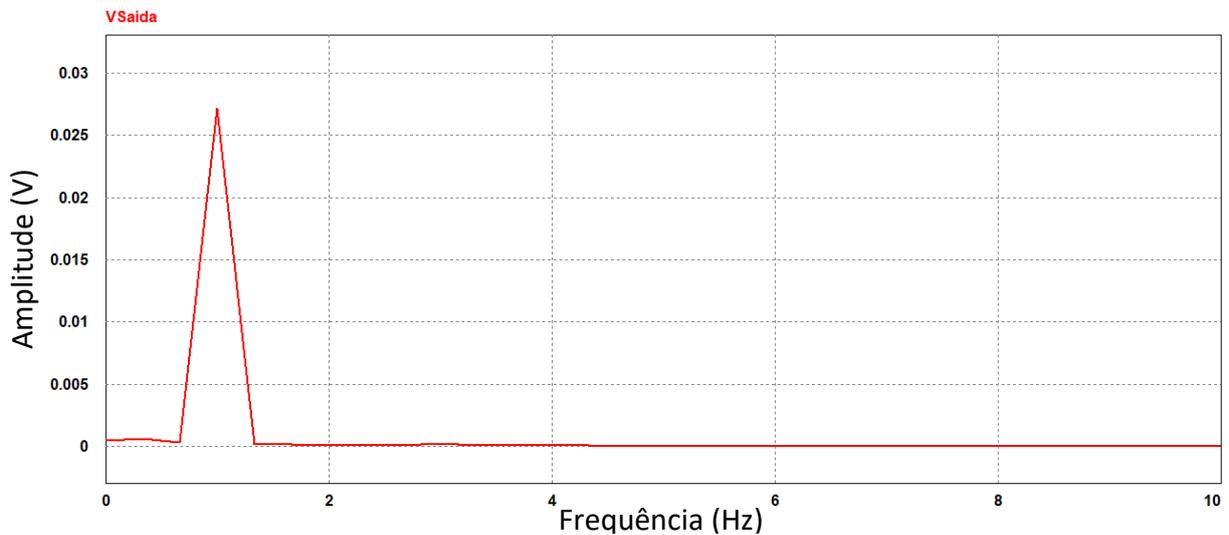


Figura 4.34 – Novo sinal de saída do amplificador *lock-in* no domínio das frequências.

Testado o circuito de leitura para este sinal, nesta segunda fase, serão introduzidas distorções em várias frequências, de modo a ser possível caracterizar a atenuação de ruído do *lock-in*. Assim, configurando novamente o bloco de transimpedância, como apresentado na Figura 4.26, e registrando os valores à saída do circuito, foi possível traçar o diagrama apresentado na figura abaixo, que representa o nível de ruído presente na saída, em função do ruído introduzido no amplificador de transimpedância.

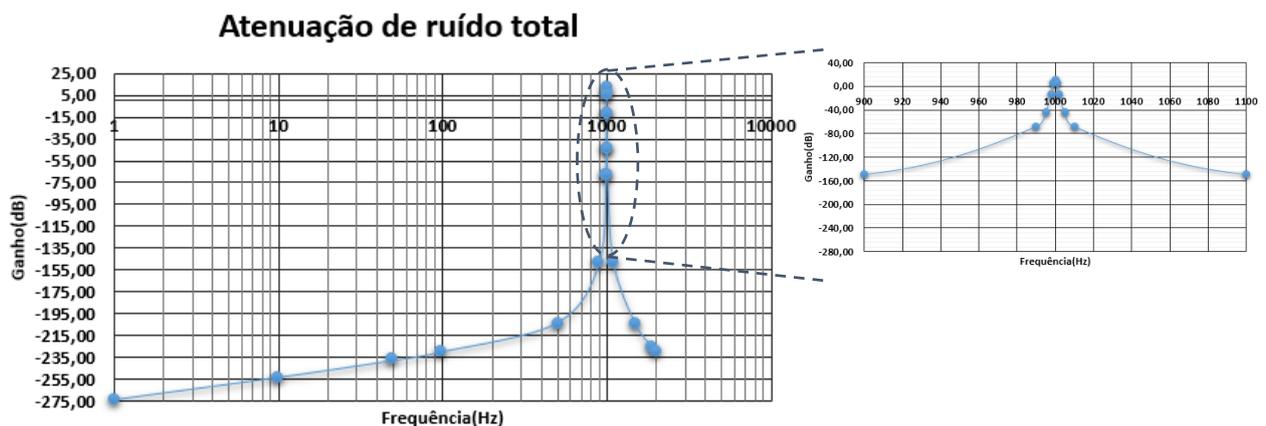


Figura 4.35 – Diagrama de atenuação de ruído do amplificador *lock-in*, relativamente ao sinal de ruído na entrada do amplificador de transimpedância.

Toda a interferência causada no sinal de interesse pelos componentes eletrônicos constituintes do circuito de leitura, é designado de ruído intrínseco. Dado que, o ruído introduzido no primeiro bloco eletrônico se apresenta como uma das principais fontes de distorção, é aconselhável a utilização de um amplificador de baixo ruído. Efetuado o teste para a fonte de ruído de frequência variável e traçada a curva de atenuação de ruído total, o último teste consistirá na introdução de ruído real de um circuito integrado amplificador. Para isso, foi selecionado um amplificador com as características pretendidas (*low offset, low noise e low input bias current*), e retirada da sua ficha técnica, a relação do nível de ruído com a frequência. O integrado selecionado para o circuito de transimpedância é o *ADA4522-2* estando a sua curva de ruído característico apresentado na figura seguinte.

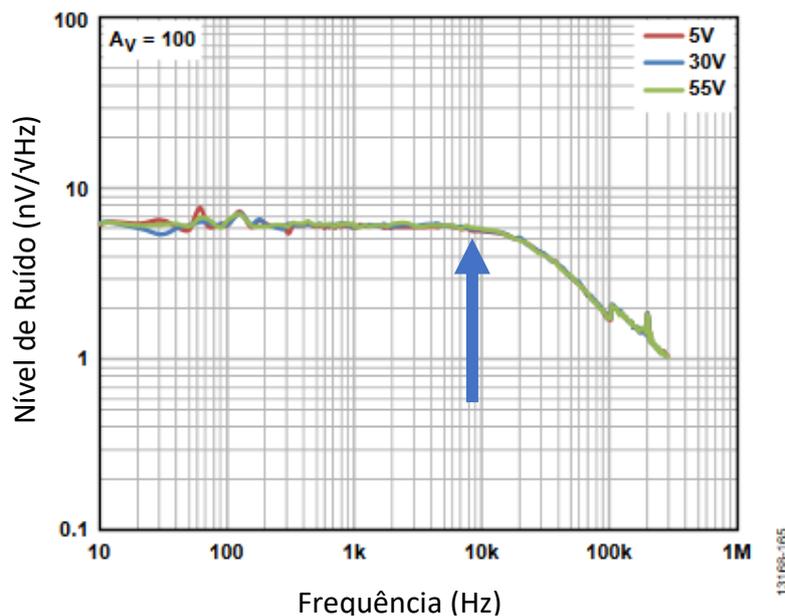


Figura 4.36 – Curva característica de ruído do integrado *ADA4522-2* [30].

O gráfico apresenta um nível de ruído constante, para frequências inferiores a 10 kHz. Estando o funcionamento do circuito de leitura sintonizado em alguns kHz, a introdução de interferência deste componente será de aproximadamente $6 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$. Com a curva de atenuação de ruído do amplificador traçada, é possível simular a introdução do nível deste ruído no circuito. Através das equações abaixo indicadas foi calculado o valor de saída de ruído para as várias frequências de teste.

$$\text{Ganho(dB)} = 20 \log \left(\frac{V_{\text{saída}}}{V_{\text{entrada}}} \right) \quad (4.17)$$

$$\text{Ganho(V)} = 10^{\left(\frac{\text{Ganho(dB)}}{20} \right)} \quad (4.18)$$

$$\text{Output noise}(V/\sqrt{\text{Hz}}) = \text{VND} * 10^{\left(\frac{\text{Ganho(dB)}}{20} \right)} \quad (4.19)$$

Onde VND, é o valor de nível de ruído característico do componente acima mencionado em $nV/\sqrt{\text{Hz}}$ [25]. O resultado obtido está apresentado na Figura 4.37.

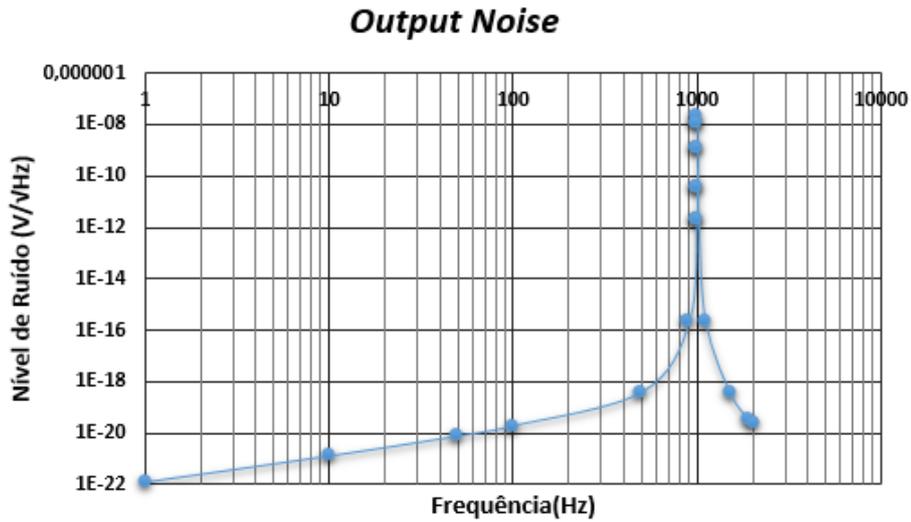


Figura 4.37 – Diagrama de atenuação de ruído quando introduzido o integrado ADA4522-2.

De modo a calcular matematicamente o valor total de ruído RMS introduzido pelo circuito integrado foram utilizadas as seguintes expressões:

$$\mathbf{Ruído (rms)} = \sqrt{\int_{f_1}^{f_2} (SDf)^2 df} \quad (4.20)$$

Onde f_2 e f_1 , são o intervalo de frequências em Hz e SDf o valor médio do nível de ruído entre esse intervalo em $V/\sqrt{\text{Hz}}$ [25]. Assim, o valor total de ruído inserido para este componente eletrónico, no intervalo de frequências entre $f_1 = 1 \text{ Hz}$ e $f_2 = 2000 \text{ Hz}$ é de:

$$\mathbf{Ruído total (rms)} = \sum \sqrt{\int_{f_1}^{f_2} (SDf)^2 df} = \mathbf{26,06 \text{ nV}} \quad (4.21)$$

Capítulo 5

Fabrico, Teste e Resultados do Amplificador

No capítulo anterior foi apresentado o desenvolvimento do circuito de leitura, com o dimensionamento dos componentes necessários e a realização de testes comprovativos do funcionamento do mecanismo implementado.

Neste capítulo será demonstrada a implementação do *lock-in*. Serão implementados dois protótipos do circuito de leitura, alterando os componentes constituintes e testados com as mesmas condições. Os resultados obtidos, serão usados como termo comparativo entre os circuitos desenvolvidos, permitindo a seleção do melhor protótipo.

5.1 Protótipo experimental

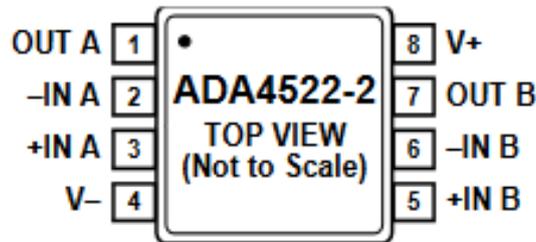
Foram implementados dois protótipos, baseados no projeto e simulação apresentada. Selecionados os componentes, foi desenhado o circuito impresso (PCB), fabricado e caracterizado, conforme apresentado nas próximas secções.

5.1.1 Escolha dos componentes

Sendo expectável um sinal de fluorescência de baixa amplitude e devido à relação existente entre o ruído inserido e o valor da resistência de amplificação, o amplificador operacional utilizado neste primeiro bloco será um dos mais importantes de todo o amplificador. Quanto menor a intensidade do sinal, maior será a sua suscetibilidade ao ruído, diminuindo o SNR e dificultando a recuperação do sinal útil. Para melhorar os resultados obtidos, é fundamental que os circuitos usados não interfiram na qualidade do sinal. Para isso, é necessário selecionar um amplificador operacional com baixo ruído, baixa tensão de *offset* e uma corrente de polarização (*bias*) menor que a intensidade do sinal expectável. O *ADA4522-2* apresenta as características pretendidas, estando os valores detalhados na tabela seguinte.

Tabela 5.1. Especificações elétricas do amplificador operacional *ADA4522-2* [30].

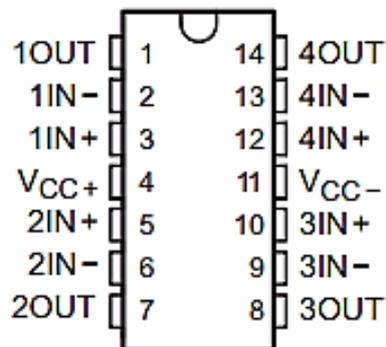
Parâmetro		Valor (Típico)	Unidade
Tensão de <i>offset</i>	V_{OS}	0,7	μV
Corrente <i>Ibias</i>	I_B	50	pA
Nível de ruído	e_N	5,8	$\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$
Corrente <i>offset</i> de entrada	I_{OS}	80	pA

Figura 5.1 – Configuração dos pinos do integrado *ADA4522-2* [30].

Selecionado o amplificador operacional do bloco de transimpedância, também é necessário selecionar componentes para a amplificação e filtragem do sinal. Para a implementação do circuito de leitura, serão testados dois amplificadores, de forma a averiguar o que possui melhores características para o circuito pretendido. Dada a vasta utilização do integrado *TL084* nas aplicações mencionadas, este será um dos amplificadores usados para implementar os filtros passa-banda, passa-baixo e o circuito de amplificação.

Tabela 5.2. Especificações elétricas do amplificador operacional *TL084A* [31].

Parâmetro		Valor (Típico)	Unidade
Tensão de <i>offset</i>	V_{IO}	3	mV
Corrente <i>Ibias</i>	I_B	20	pA
Nível de ruído	e_N	15	$\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$
Corrente <i>offset</i> de entrada	I_{IO}	5	pA

Figura 5.2 – Configuração dos pinos do integrado *TL084A* [31].

Para comparação de resultados, o outro circuito integrado selecionado foi o *OP07CSZ*, estando as principais características ilustradas na tabela abaixo. A principal diferença, relativamente ao anterior *TL084*, encontra-se numa tensão de *offset* típica de $30\mu\text{V}$, comparativamente a 3mV no *TL084*.

Tabela 5.3. Especificações elétricas do circuito integrado *OP07CSZ* [32].

Parâmetro		Valor (Típico)	Unidade
Tensão de <i>offset</i>	V_{OS}	30	μV
Corrente <i>bias</i>	I_B	1,2	nA
Nível de ruído	e_N	10,3	$\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$
Corrente <i>offset</i> de entrada	I_{OS}	0,5	nA

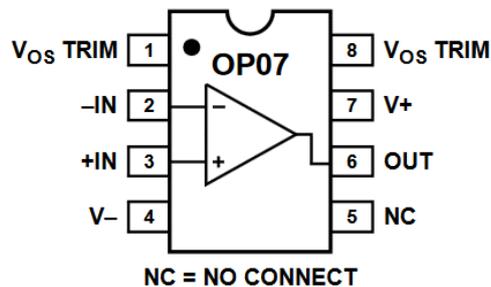


Figura 5.3 – Configuração dos pinos do integrado *OP07CSZ* [32].

Os pinos representados por “*TRIM*” permitem a introdução de uma resistência variável, possibilitando ainda o ajuste manual da tensão de *offset*.

Quanto ao bloco de multiplicação, os parâmetros de interesse consistem na frequência máxima da resposta do circuito, tensão de *offset* e o ruído introduzido. Dado que gama de frequências de operação do circuito de leitura é nos kHz, é importante que o multiplicador analógico selecionado mantenha a resposta a esta frequência. Um circuito integrado que cumpre estas exigências é o *AD633* (Figura 5.4) estando detalhadas as suas principais características na tabela seguinte.

Tabela 5.4. Especificações elétricas do circuito integrado *AD633ARZ* [32].

Parâmetro		Valor (Típico)	Unidade
Tensão de <i>offset</i>	-	± 5	mV
Largura de Banda	-	1	MHz
Nível de ruído	-	0,8	$\mu\text{V}/\sqrt{\text{Hz}}$

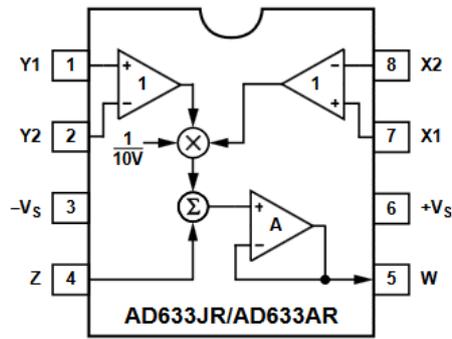


Figura 5.4 – Configuração dos pinos do integrado *AD633ARZ* [31].

O valor de saída do multiplicador é calculado matematicamente através dos valores nas entradas:

$$W = \frac{(X1 - X2)(Y1 - Y2)}{10} + Z \tag{5.1}$$

Onde *W*, é valor da tensão de saída em Volts e *X* e *Y* os valores de entrada do multiplicador e *Z* um valor de tensão a somar ao resultado [31]. Selecionados os componentes, a próxima etapa é o desenho do circuito impresso com auxílio da ferramenta de desenvolvimento *Altium*.

5.1.2 Desenho e Implementação

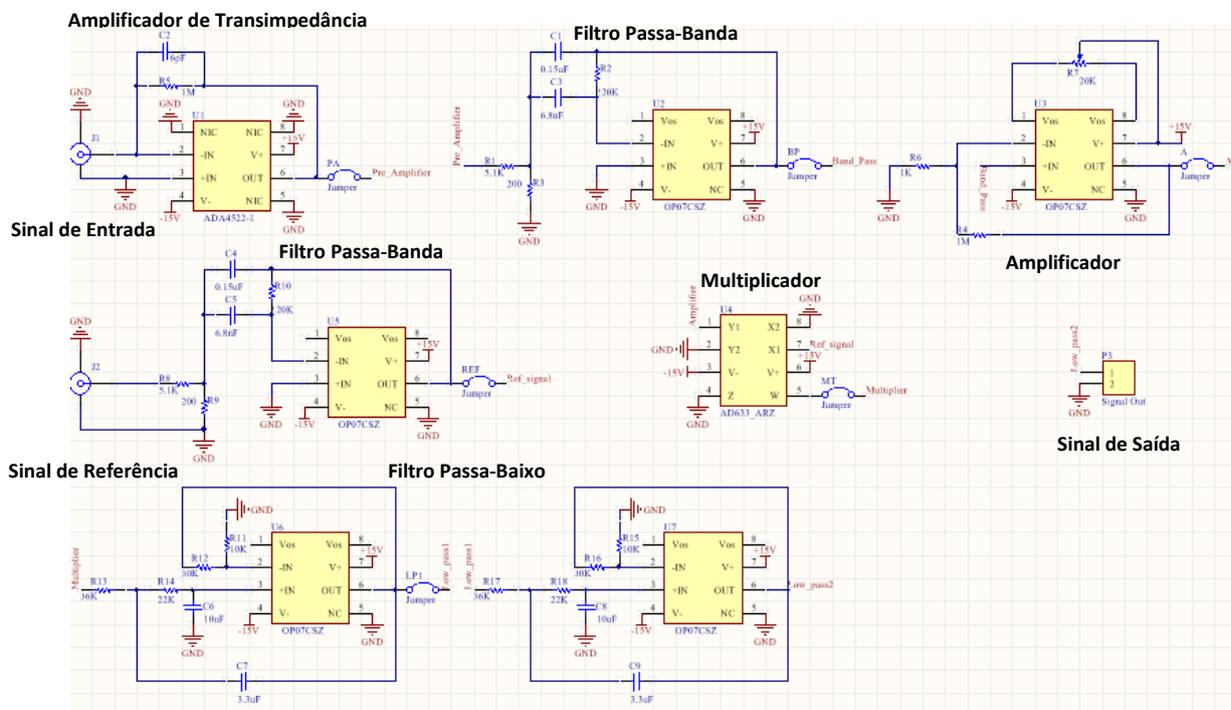


Figura 5.5 – Esquema do amplificador *lock-in* na ferramenta de desenvolvimento *Altium*.

Relativamente ao circuito de leitura implementado, a versão do esquema acima ilustrada, utiliza os amplificadores *OP07CSZ*, tendo sido também implementado o mesmo circuito com o amplificador operacional *TL084*, apresentado ao longo deste capítulo. Outra característica diferenciativa relativa à versão do circuito impresso com os amplificadores *TL084*, é a configuração do filtro passa-baixo de ordem 4 (Figura 5.6) com um ganho de 16, de forma a compensar a atenuação (divisão por 10) do sinal à saída do multiplicador.

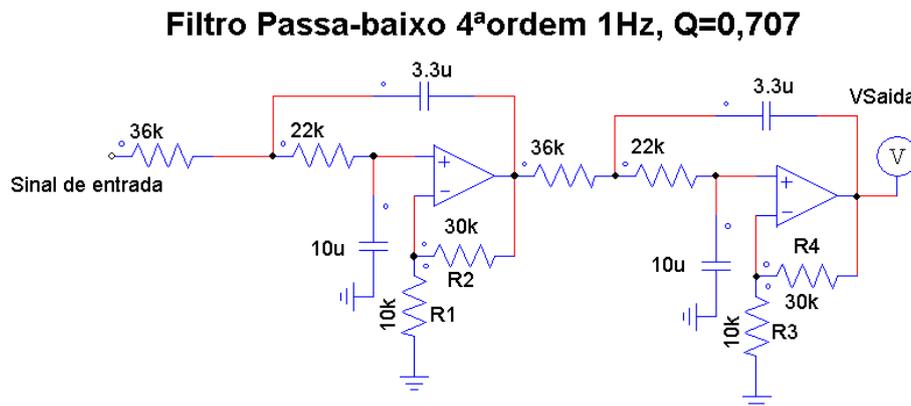


Figura 5.6 – Configuração do filtro passa-baixo de 4ª ordem do circuito de leitura com valor de ganho 16.

Projetaram-se entradas para cabo coaxial, para reduzir as interferências de sinais externos. Para alimentar estes componentes, foi utilizada uma entrada comum, com a tensão de alimentação positiva, negativa e o *ground*. Nesta entrada, há dois condensadores de igual valor, de forma a reduzir os ruídos inseridos pela fonte de alimentação e fornecer eventuais picos de corrente ao circuito. O esquema está apresentado na Figura 5.7.

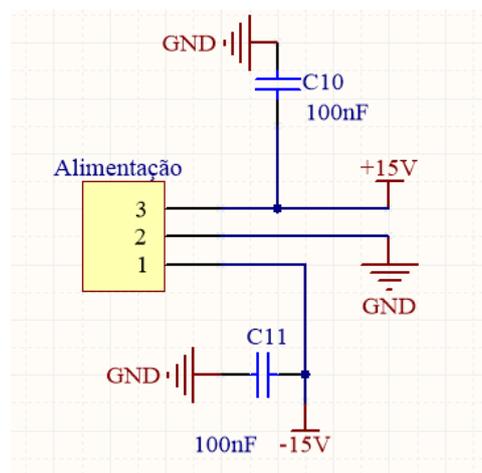


Figura 5.7 – Condensadores de desacoplamento na entrada da tensão de alimentação.

Estabelecidas as ligações, a próxima fase é a colocação dos componentes e desenho das pistas no circuito impresso. As imagens seguintes demonstram o circuito resultante a *2D* e *3D*, Figura 5.8 e Figura 5.9 respectivamente. Uma das faces da PCB contém um plano de massa em quase toda a superfície.

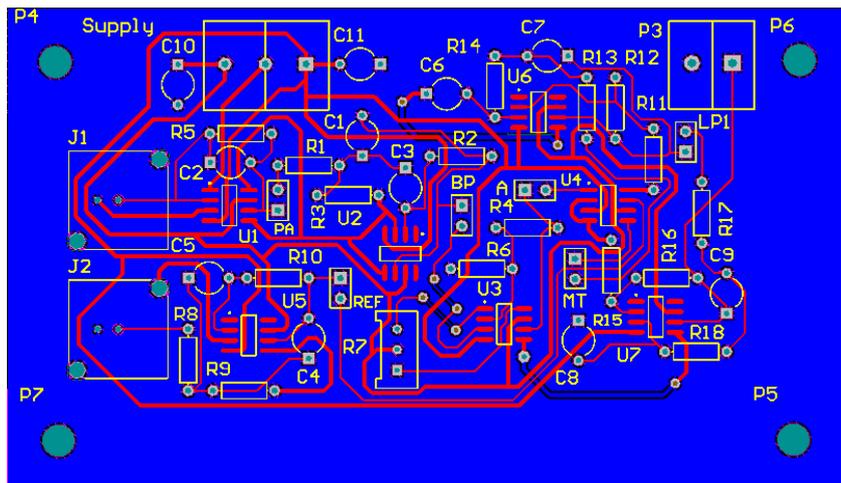


Figura 5.8 – Esquema do amplificador *Lock-in* com os amplificadores *OP07CSZ* a duas dimensões.

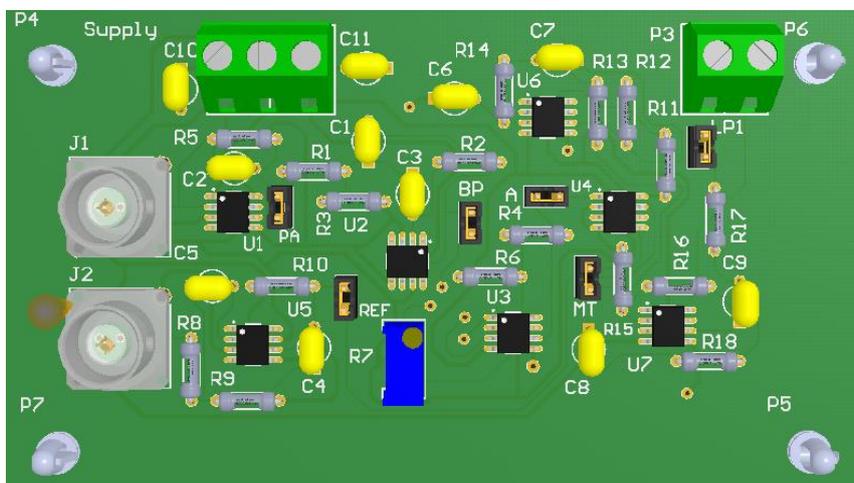


Figura 5.9 – Esquema do amplificador *Lock-in* com os amplificadores *OP07CSZ* a três dimensões.

Desenhado o circuito impresso e soldados os componentes, serão realizados testes com os equipamentos presentes no laboratório, de forma a caracterizar o funcionamento do circuito de leitura e comparar a influência dos dois circuitos integrados apresentados, na qualidade do sinal.

5.1.3 Teste de caracterização do funcionamento do circuito de leitura

O teste realizado com o amplificador consistirá na recuperação de um sinal de baixa amplitude embebido em ruído, comprovando assim o princípio de funcionamento deste mecanismo. Para diminuir a introdução de ruído, não foi usada uma fonte de alimentação ligada à corrente elétrica, mas sim um circuito composto por duas pilhas de 9V (situação equivalente à utilização real). O protótipo do circuito de leitura durante a realização dos testes está apresentado na Figura 5.10.

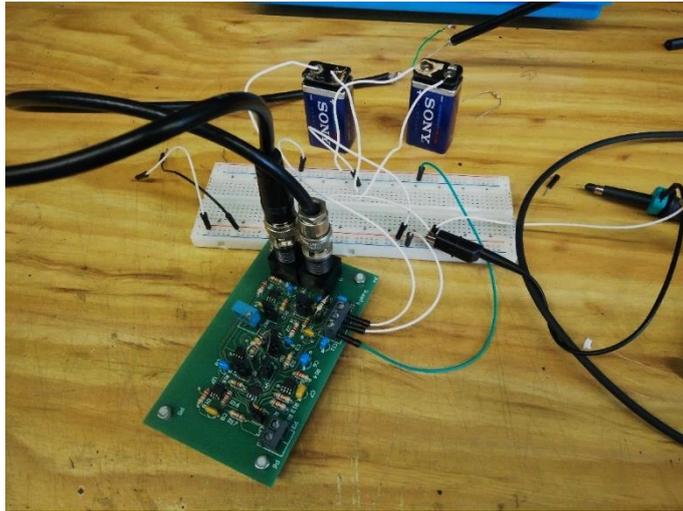


Figura 5.10 – Esquema das ligações do protótipo do amplificador *Lock-in*.

Recorrendo ao gerador de sinais, foi gerado um sinal “*ramp up*” de frequência 200 mHz, com uma amplitude de 7 mVpp, modulado por uma onda sinusoidal de 1 kHz. Como sinal de referência, foi utilizada uma tensão sinusoidal de frequência 1 kHz e amplitude 2 Vpp. Nas figuras seguintes é demonstrada a configuração do equipamento (Figura 5.11 e Figura 5.12)



Figura 5.11 – Configuração do sinal de entrada no *channel 1* e do sinal de referência no *channel 2*.



Figura 5.12 – Configuração do sinal de entrada no *channel 1* com a modulação a 1 kHz e do sinal de referência, 1kHz, 2 Vpp.

Para que o sinal de entrada do amplificador de transimpedância seja em corrente, ao sinal de tensão gerado no *channel 1* é acrescentada uma resistência de 470 kΩ, gerando idealmente como sinal de entrada uma corrente de:

$$I_{entrada} = \frac{7mV}{470k\Omega} = 14,89 nA \quad (5.2)$$

Na Figura 5.13, é apresentada a forma de onda do sinal do *channel 1* antes da introdução desta resistência. Idealmente seria expectável uma amplitude do sinal de 7 mVpp, mas devido à introdução de ruído no circuito, mas principalmente no osciloscópio, o sinal visualizado apresenta diferenças em amplitude e *offset* de 2.96 mV. No entanto, é possível verificar que a frequência de interesse, 200 mHz, está presente no sinal.



Figura 5.13 – Sinal de entrada antes da introdução da resistência.

Estando a escala temporal definida para 2 segundos/divisão, e constatando que o sinal se repete periodicamente a cada 2,5 divisões, é possível afirmar que:

$$T = 2 \text{ segundos} * 2,5 \text{ divisões} = 5 \text{ segundos} \quad (5.3)$$

$$f = \frac{1}{T} = 200 \text{ mHz} \quad (5.4)$$

Na figura seguinte, é apresentada uma visualização com menor base de tempo do sinal “*ramp up*”, modulado. Utilizando a amplitude do sinal, é possível calcular a corrente de entrada no amplificador de transimpedância.

$$I_{\text{entrada}} = \frac{18,4\text{mV}}{470\text{k}\Omega} \approx 39,15 \text{ nA} \quad (5.5)$$

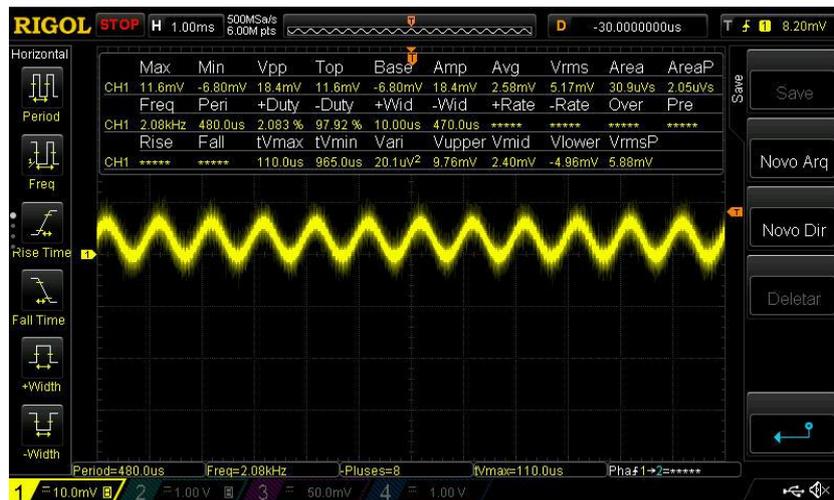


Figura 5.14 – Sinal de entrada do amplificador de transimpedância visualizado a 1 kHz.

Como sinal de referência, foi gerado através do *channel/2* um sinal sinusoidal de 1 kHz com uma amplitude de 2 Vpp. Visualizando no osciloscópio, verifica-se que o sinal de referência é caracterizado por uma amplitude de 2,08 Vpp, com um *offset* de introduzido de 14,4 mV (Figura 5.15).

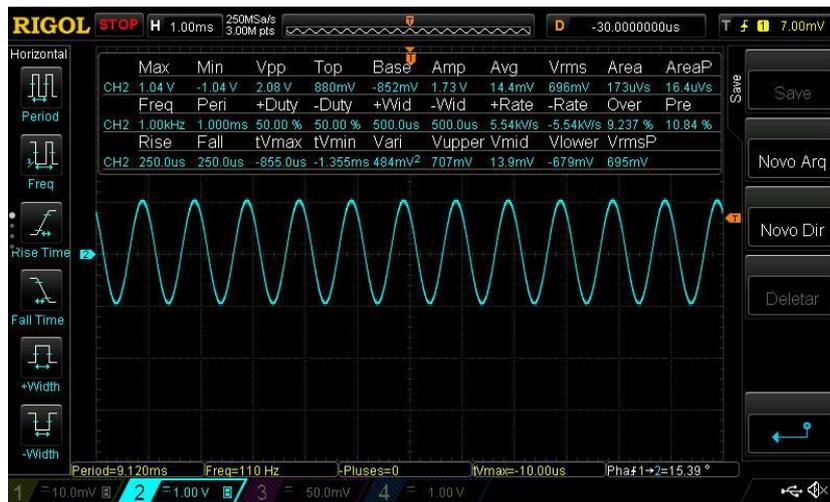


Figura 5.15 – Sinal de referência do amplificador *lock-in*.

Antes da entrada do sinal no módulo do multiplicador, este percorre um filtro passa-banda de segunda ordem, com frequência passante localizada nos 1010 Hz, garantindo que as deslocções de fase provocadas pela adiçção do bloco de filtragem sejam iguais em ambos os sinais, dado que o modulado proveniente do amplificador de transimpedância atravessa também um filtro equivalente. O sinal de referência resultante está apresentado na Figura 5.16. O sinal obteve uma ligeira atenuaçção em amplitude para os 1,92 Vpp, sendo que o *offset* introduzido aumentou para os 30,6 mV. Comparativamente ao protótipo constituído pelo o amplificador *TLO84*, a utilizaçção do amplificador operacional *OP07CSZ* permitiu uma reduçção de *offset* neste módulo, que era de 32 mV, como apresentado nas figuras seguintes.

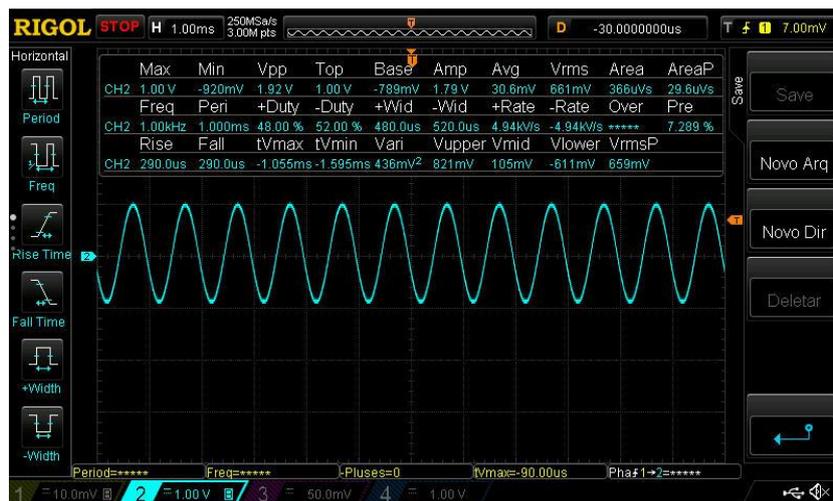


Figura 5.16 – Sinal de referência do amplificador *lock-in* após filtragem do passa-banda, utilizando o circuito integrado *OP07CSZ*.

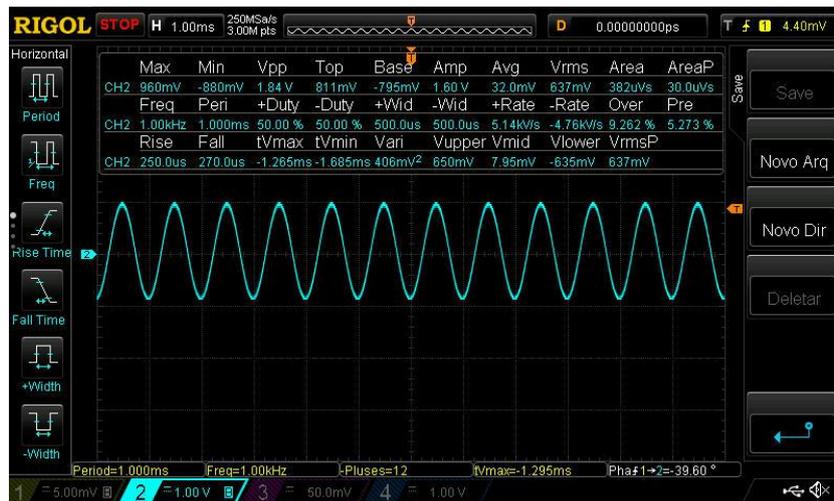


Figura 5.17 – Sinal de referência do amplificador *lock-in* após filtragem do passa-banda, utilizando o circuito integrado TL084.

Estando definidas as entradas, chegou o sinal do *channel 1* acoplado à resistência mencionada anteriormente ao bloco de transimpedância, e utilizando uma resistência de 1 MΩ de forma a obter um ganho de 1000000 V/A, será expectável obter uma tensão de saída do amplificador de:

$$VA_{Transimpedância} = 39,15nA * 1M\Omega \simeq 39,15 mVpp \tag{5.6}$$

No entanto, experimentalmente o verificado foi um sinal com uma amplitude de 27,6 mVpp e um *offset* de 141 μV (Figura 5.18).

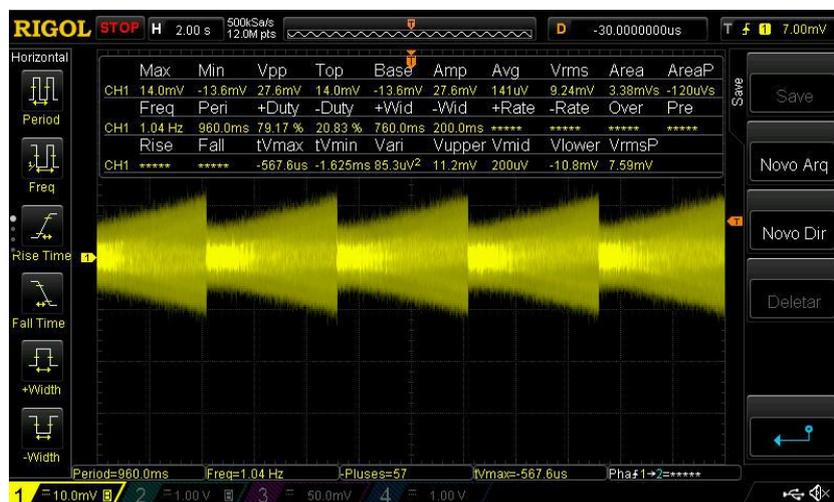


Figura 5.18 – Sinal à saída do amplificador de transimpedância.

Dado que a frequência passante do filtro passa-banda está sintonizada nos 1010 Hz, é esperado que apenas ocorra a passagem do sinal em frequências próximas da frequência central. Como o sinal de 200 mHz gerado no *channel 1* é pulsado a 1 kHz, não é eliminado pelo filtro. Nas figuras seguintes estão demonstradas as formas de onda do sinal resultante, após o filtro passa-banda.

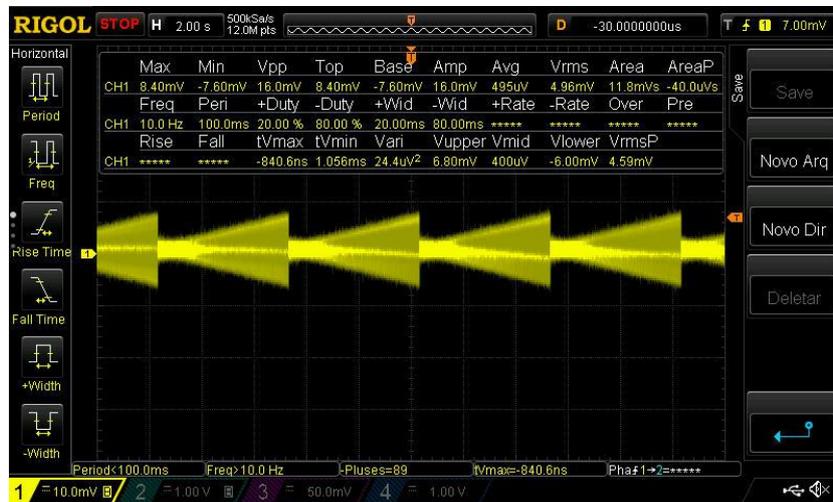


Figura 5.19 – Sinal obtido à saída do filtro passa-banda utilizando o circuito integrado *OP07CSZ*.

Na Figura 5.19, é visualizada uma perspetiva geral da forma de onda à saída do passa-banda. Devido a uma ligeira atenuação do sinal, provocada pela filtragem, resulta um sinal de 16 mVpp na saída. Na figura seguinte está ilustrada uma visualização mais pormenorizada do sinal, na banda passante. Tal como no sinal de referência, a vantagem do uso do *OP07* é uma redução substancial da tensão de *offset* introduzida, que é agora de apenas 450 μ V (Figura 5.20) quando comparado com os 742 μ V obtidos com a utilização do *TL084* (Figura 5.21).

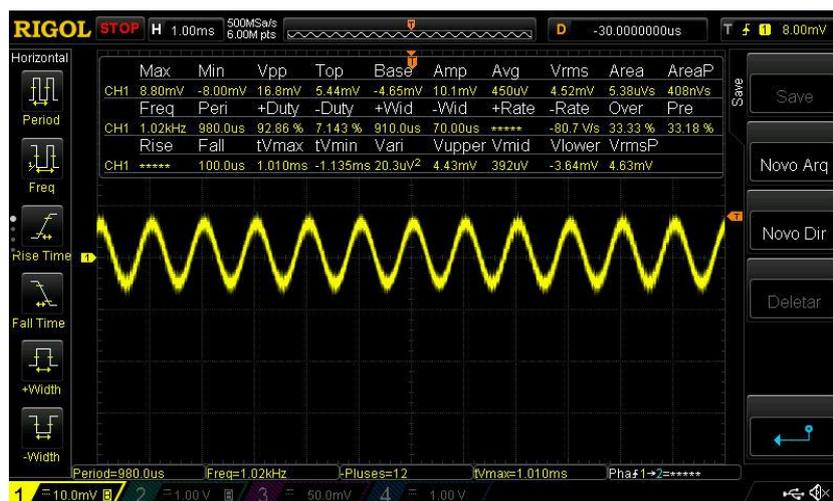


Figura 5.20 – Visualização do sinal obtido à saída do filtro passa-banda na banda passante, utilizando o integrado *OP07CSZ*.

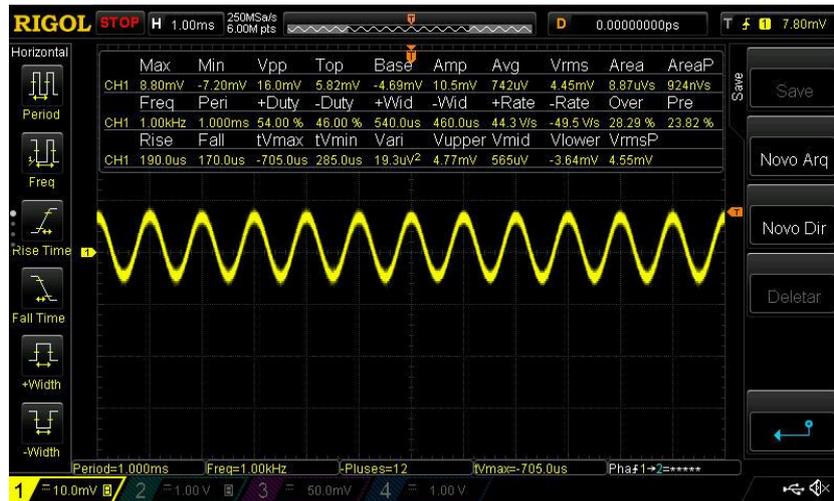


Figura 5.21 – Visualização do sinal obtido à saída do filtro passa-banda passante, utilizando o integrado *TL084*.

Quanto ao módulo de amplificação, o *OP07* apenas contempla um ganho de 50 dB a 1 MHz, não sendo possível implementar o ganho previsto de 1000 (60 dB). Assim, o ganho implementado neste bloco, foi reduzido para 100, sendo esperada com esta alteração uma tensão de saída do amplificador de:

$$V_{\text{Amplificador}} = 16\text{mV} * 100 \approx 1,6 \text{ Vpp} \tag{5.7}$$

Contudo, através da visualização do sinal (Figura 5.22), é possível constatar que o ganho medido é apenas de:

$$\text{Ganho} = \frac{1,24\text{V}}{16\text{mV}} \approx 77,5 \tag{5.8}$$



Figura 5.22 – Sinal à saída do módulo de amplificação utilizando o amplificador *OP07CSZ*.

Verificada a amplificação do sinal, o próximo passo é visualização do funcionamento do multiplicador. Como ilustrado anteriormente, a tensão resultante deste bloco, consiste na multiplicação do sinal da amplificação com a referência. No entanto, a esta multiplicação é aplicada uma divisão por 10, sendo a amplitude esperada de:

$$VMultiplicador = \frac{VAmplificador * VReferência}{10} = \frac{1,24V * 1,92V}{10} \quad (5.9)$$

$$VMultiplicador = 238,08 \text{ mV} \quad (5.10)$$

Para o correto funcionamento do multiplicador, os sinais provenientes do amplificador e da referência terão de estar em fase. A Figura 5.23 demonstra que amplitude pico-a-pico resultante tem o valor de 72 mV, valor mais baixo que o esperado. No entanto, através do aspeto do sinal, é visível que a retificação de onda completa proporcionada por este bloco, está invertida. Se os sinais mencionados anteriormente, estivessem em fase, o sinal seria positivo.



Figura 5.23 – Sinal de saída do bloco de multiplicação.

Uma alteração da fase da onda de referência no *channel 2*, possibilita o sincronismo dos sinais à entrada do módulo de multiplicação. Na figura abaixo, está demonstrada a configuração do gerador de sinais, em que um desfaseamento de 20° foi introduzido ao sinal de referência.



Figura 5.24 – Correção da fase sinal de referência no gerador de sinais.

Numa menor base de tempo (Figura 5.25), verifica-se que efetivamente os dois sinais à entrada do multiplicador, provenientes do amplificador (sinal de cor amarela) e da referência (sinal de cor azul) estão agora em fase.

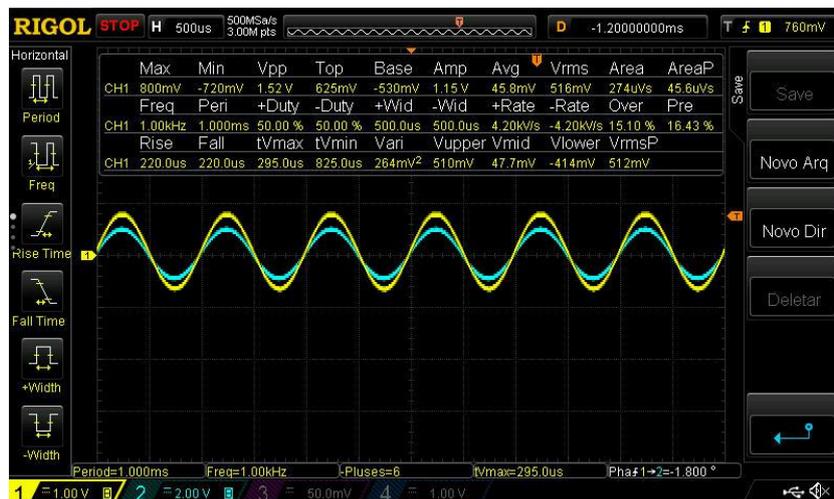


Figura 5.25 – Sinal do amplificador (amarelo) e da referência (azul) à entrada do multiplicador após correção do desfasamento.

A figura seguinte apresenta a saída do multiplicador. Em resultado desta correção de fase, verifica-se a inversão da forma de onda (Figura 5.26) relativamente à anterior (Figura 5.23).

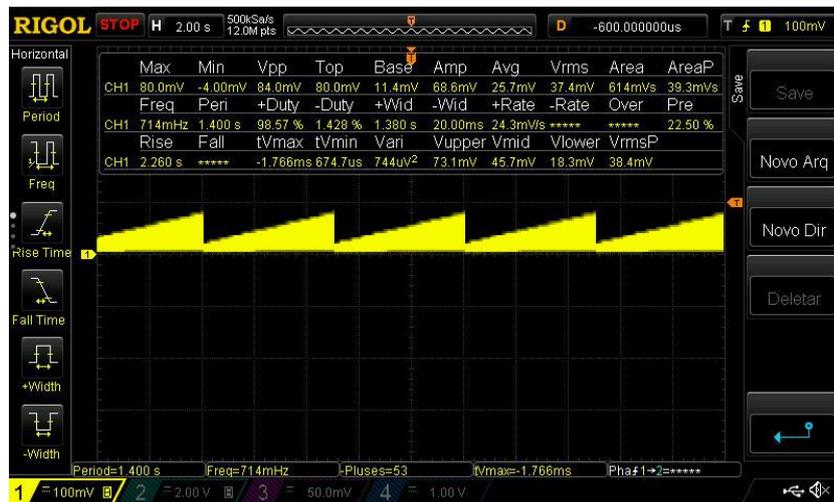


Figura 5.26 – Sinal obtido à saída do multiplicador após correção da fase.

Com a correção da fase, o sinal é visualizado com um formato “*ramp up*” à saída do amplificador *lock-in*, tal como esperado (Figura 5.27). No entanto, a amplificação pretendida, através do uso de ganho nos filtros passa-baixo, não é totalmente verificada, embora exista um aumento de amplitude relativamente ao sinal resultante do multiplicador. Posto isto, para uma corrente de entrada de 39,15 nA, é obtido um sinal com uma amplitude de 560 mVpp. O valor de tensão de saída expectável seria de:

$$V_{Saída} = 4 * (V_{Saída}_{Multiplicador} * 4) \tag{5.11}$$

$$V_{Saída} = 4 * (84mV * 4) = 1,344 V \tag{5.12}$$



Figura 5.27 – Sinal de saída do amplificador *lock-in* utilizando o circuito integrado *OP07CSZ*.

$$T = 2 \text{ segundos} * 2,5 \text{ divisões} = 5 \text{ segundos} \tag{5.13}$$

$$f = \frac{1}{T} = 200 \text{ mHz} \tag{5.14}$$

Ao passar pelo multiplicador o sinal fará uma “troca” de frequências, ou seja, o sinal de interesse que anteriormente estaria na gama dos kHz devido à modulação efetuada, deslocar-se-á para frequências perto de DC, de forma a recuperar o sinal de 200 mHz. Já o ruído presente nas frequências perto de DC, será deslocado para a gama dos kHz. Posteriormente e após a filtragem efetuada pelo passa-baixo de quarta ordem, com frequência de corte de 1 Hz, seria previsível um sinal de saída “*ramp up*” com frequência configurada.

Os amplificadores operacionais *OP07CSZ*, não eliminaram a introdução de uma tensão de *offset* elevada, de cerca de 80 mV (Figura 5.27). No protótipo com os circuitos integrados *TL084*, o *offset* introduzido foi menor, devido à configuração de ganho unitário do filtro passa-baixo de ordem 4. O sinal de saída do amplificador *lock-in* com os circuitos integrados *TL084*, está apresentado na Figura 5.28.

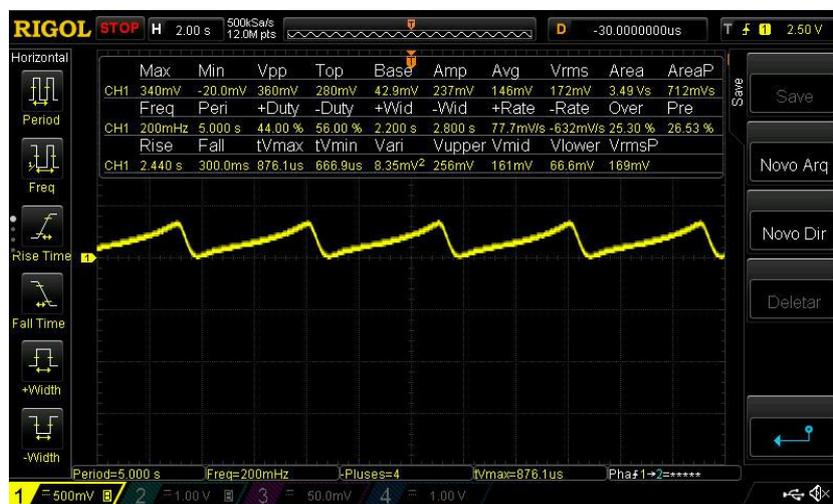


Figura 5.28 – Sinal de saída do amplificador *lock-in* utilizando o circuito integrado *TL084*.

5.1.4 Problemas encontrados Vs Possíveis alterações

Verificou-se que o amplificador operacional *OP07* introduz uma tensão de *offset* inferior ao *TL084*, conforme demonstrado nos sinais da secção anterior. No entanto, devido à reduzida largura de banda do *OP07*, o ganho implementado com este amplificador foi apenas 100, contrariamente ao ganho de 1000 conseguido com o *TL084*. Para compensar, foi implementado ganho de 4 em cada um dos dois filtros passa-baixo à saída do circuito. Este ganho de 16 amplificou a tensão de *offset* introduzida pelo multiplicador, resultando numa tensão de *offset* total na saída do circuito que utiliza o *OP07* de cerca de 80 mV.

Posto isto, para a mitigação destas limitações, foram estudadas possíveis alterações para uma próxima versão do circuito impresso. O bloco de multiplicação é o principal responsável pela tensão de *offset* na saída, visto que, em todos os outros módulos foram utilizados componentes de baixo *offset*. Um estudo mais detalhado da ficha técnica, permite constatar que o *AD633* introduz cerca de 5 mV,

valor muito abaixo 80 mV visualizados à saída. No entanto, a seguir ao módulo de multiplicação foi aplicado um ganho de 4 em cada filtro passa-baixo de 2ª ordem para colmatar a divisão por 10 efetuada pelo multiplicador. A amplificação da tensão de *offset* (5 mV) por este ganho (16), confirma o valor final do *offset* obtido.

$$V_{offset} = 4 * (5m * 4) = 80 mV \quad (5.11)$$

Uma possível solução passa por um ajuste manual da tensão de *offset*. O circuito da Figura 5.29, permite obter uma tensão de ajuste (no ponto Z) entre -130mV e +130mV, usando a queda em condução dos diodos como tensão de referência. Através da expressão matemática 5.1 da tensão de saída do multiplicador, é verificável que é somada uma variável Z à restante equação. Se através de um circuito eletrónico for gerada uma tensão entre -80 mV e +80 mV, acoplado ao pino mencionado, o problema do deslocamento visualizado será atenuado.

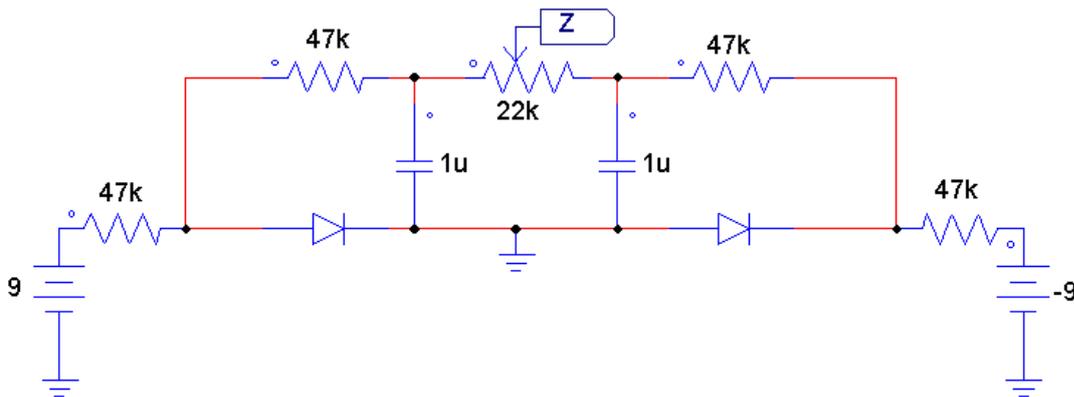


Figura 5.29 – Circuito eletrónico para ajuste manual da tensão de *offset*.

Quanto ao problema do ganho, a solução passará pela substituição do circuito integrado utilizado (*OPA07*) por um de características de ruído e *offset* semelhantes, mas de maior largura de banda, ou pelo uso do mesmo componente, mas com dois andares de amplificação, perfazendo o ganho de 1000 pretendido.

De forma a melhorar a qualidade do sinal, a substituição das resistências e condensadores cerâmicos, por filme fino de precisão, aumentará a precisão e diminuirá o ruído introduzido.

Capítulo 6

Sistema de Medição de Clorofila

No capítulo anterior foi demonstrada a implementação do *lock-in* e testadas as diferentes versões do circuito impresso. Os resultados obtidos nas várias fases, permitiram não só identificar os problemas, bem como corrigir alguns dos erros encontrados. Assim, neste capítulo será utilizada a última versão do circuito de leitura apresentado, acoplado a um sistema ótico para, quantificação e classificação do fitoplâncton, conforme descrito neste capítulo.

6.1 Arquitetura do sistema

Uma amostra de água com fitoplâncton é excitada com luz, através de um LED de comprimento de onda de 450 nm, à frequência do amplificador *lock-in*. Um fotodetector, converte a fluorescência da amostra em corrente, a ser medida pelo amplificador. Para reduzir a interferência da fonte de luz no fotodetector, este é posicionado perpendicularmente à fonte de luz, de forma a diminuir a quantidade da luz proveniente da fonte de excitação que atinge o detector. O uso de um filtro ótico na lente do fotodetector, sintonizado para o comprimento de onda correspondente à fluorescência (685 nm), permitirá atenuar os sinais de comprimentos de onda diferentes do expectável na fluorescência, isolando o sinal de interesse. O amplificador *lock-in*, será responsável pela aquisição do sinal de baixa amplitude oriundo do fotodetector, isolando-o do ruído e amplificando-o para valores de fácil leitura por um eventual ADC (*Analogue-to-Digital Converter*). A Figura 6.1 demonstra a arquitetura do sistema pretendido.

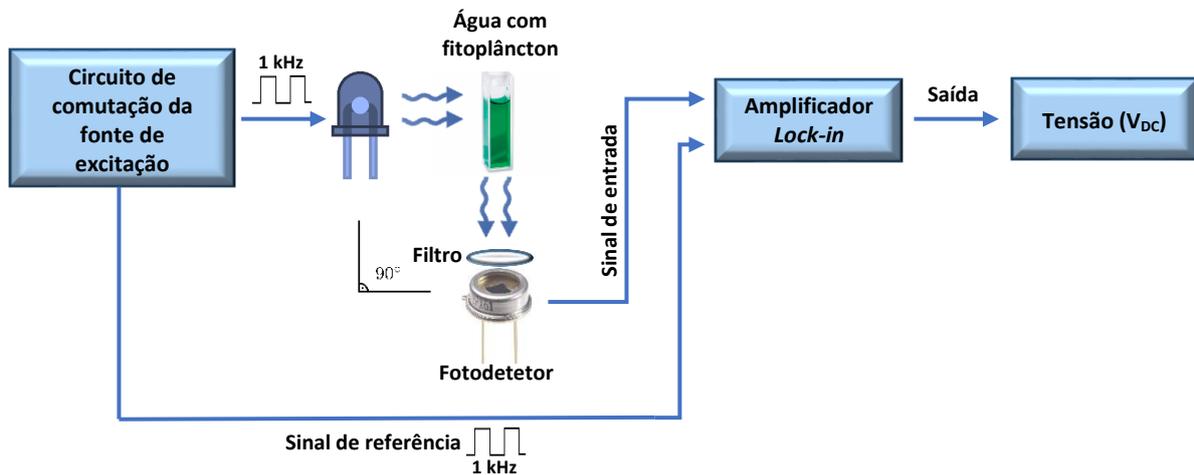


Figura 6.1 – Arquitetura do sistema de detecção da clorofila.

6.2 Teste de detetabilidade da clorofila-a

A detetabilidade do sistema de medição da clorofila, ou seja, o valor mínimo que o circuito consegue medir, representa um dos parâmetros fundamentais no desenvolvimento de um dispositivo capaz de monitorizar o fitoplâncton no ambiente marítimo, dada a reduzida concentração de fitoplâncton esperada (Secção 2.1, Figura 2.1). Com o intuito de perceber o nível de detecção do circuito de leitura, foram realizadas várias diluições de uma cultura de fitoplâncton, registando os valores de corrente de fluorescência à entrada do *lock-in* e visualizando o respetivo valor de tensão à saída.

Como referência de medição, foi utilizada água do mar filtrada, garantindo assim a eliminação de todo o fitoplâncton presente na água. Utilizando esta referência, o valor obtido à saída do circuito de leitura representa o valor base de medição, em que fatores como a luz ambiente, a interferência da luz de excitação com o fotodetetor, ou outros elementos na água que provoquem fluorescência (ex. materiais orgânicos) possam ser contabilizados. Valores de tensão acima desta referência, demonstram a existência de clorofila. Para tal, foi colocada numa *cuvette* uma amostra da água do mar filtrada, incidida a luz de excitação (LED 450 nm) perpendicularmente ao fotodetetor e medido valor de corrente à saída deste através de um pico-amperímetro laboratorial. A corrente obtida está apresentada na figura abaixo.

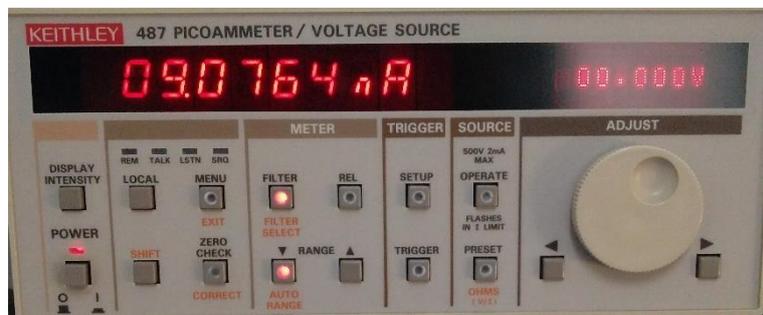


Figura 6.2 – Valor de corrente à saída do fotodetetor utilizando uma amostra de referência (água do mar filtrada).

Após a medição da corrente, acoplou-se o fotodetector ao amplificador *lock-in* com o objetivo de determinar o valor de tensão representativo da fluorescência da amostra de referência, utilizando agora a luz pulsada a 1 kHz. Como mencionado no capítulo anterior, o circuito de leitura possui duas entradas. Uma corresponde ao valor de corrente proveniente do mecanismo de detecção da clorofila-a, e a outra ao circuito de comutação da fonte de excitação (sinal de referência). O sinal de comutação, é um sinal quadrado de frequência de 1 kHz e de amplitude 2 Vpp, gerado pelo *Arduino* apresentado na Figura 6.3, sendo este utilizado para a comutação da fonte de excitação (constituída por LEDs). Este sinal serve também de sinal de referência (sincronismo) do *lock-in*. A disposição do sistema de leitura completo está apresentado na Figura 6.3.

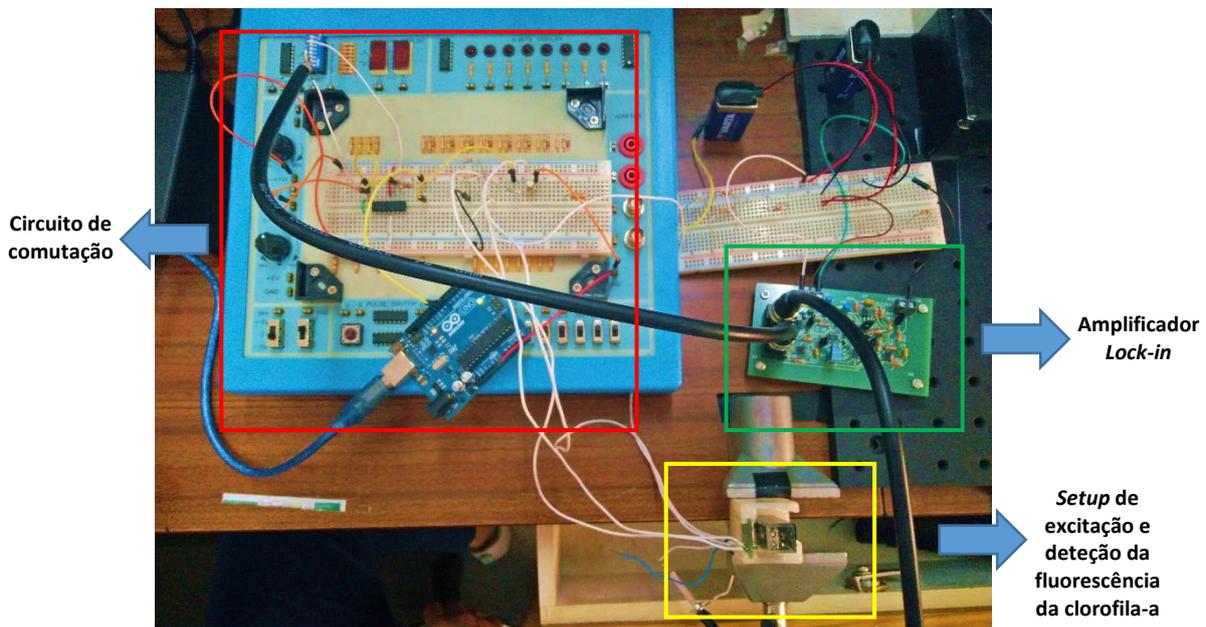


Figura 6.3 – Setup do sistema de leitura de fluorescência da clorofila-a.

Assim, foi obtida uma tensão de saída de 98,4 mV_{dc}, sendo este valor a referência utilizada.

Obtida a tensão de referência (ou tensão de *offset*), todo o processo de aquisição da corrente de fluorescência e conseqüente tensão correspondente à saída do amplificador *lock-in*, foi repetido para várias diluições de uma cultura de fitoplâncton. A aquisição do sinal proveniente destas várias amostras, permitirá estudar a capacidade de detecção do circuito de leitura (detetabilidade).

Para tal, foram recolhidas amostras da cultura de fitoplâncton e diluídas em várias quantidades de água do mar filtrada. Assim, 1 mL de fitoplâncton (em água do mar) foi diluído em 9, 99, 999, 9999 e 99999 mL de água do mar filtrada, perfazendo as proporções de 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 e 1/100000. As várias amostras preparadas estão apresentadas na Figura 6.4.

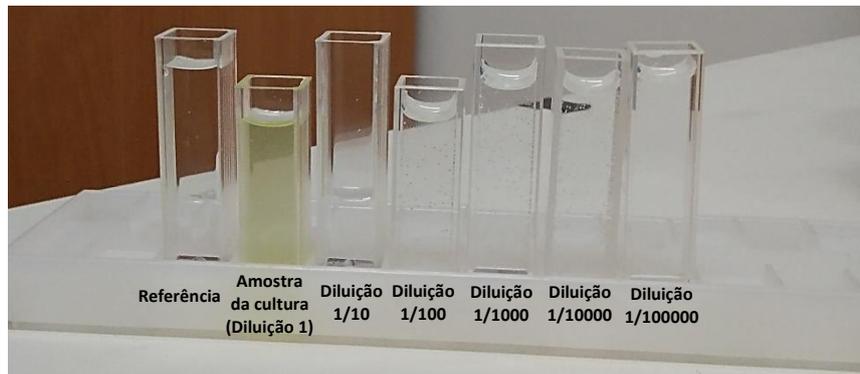


Figura 6.4 – Cuvettes com as amostras de teste de várias diluições da cultura de fitoplâncton e respectiva amostra de referência, apenas com água do mar filtrada.

Em cada *cuvette* foi medido o valor da corrente de fluorescência utilizando o pico-amperímetro (com excitação contínua) e posteriormente adquirido o valor de tensão correspondente, utilizando excitação a 1 kHz e o amplificador *lock-in*. É expectável que com o aumento das diluições, a concentração da cultura de fitoplâncton diminua, provocando uma redução da intensidade de fluorescência. Os resultados obtidos, estão ilustrados na tabela seguinte.

Tabela 6.1. Relação corrente de entrada/tensão de saída das diversas diluições.

Diluições	Corrente de entrada (nA)	Tensão de saída (V_{cc})
Amostra original (Diluição 1)	599,98	1,50
Diluição 1/10	128,20	0,33
Diluição 1/100	33,42	0,14
Diluição 1/1000	18,79	0,11
Diluição 1/10000	15,57	0,109
Diluição 1/100000	14,43	0,109

A relação estabelecida entre as diluições e a tensão de saída, permite verificar o decréscimo do valor de tensão à medida que a diluição aumenta. Seria expectável uma redução proporcional à medida que a concentração de clorofila diminui nas amostras. No entanto, o facto de serem organismos vivos e de se encontrarem dispersos na amostra recolhida e posteriormente diluída, não garante que as diluições contenham uma razão proporcional entre o número de células constituintes do pigmento de clorofila-a e a diluição. Por outro lado, apesar do aumento de número de células em diluições inferiores e aumento da respetiva fluorescência, a luz tem também maior dificuldade em atravessar a amostra e chegar ao detetor, dada a maior concentração de células. A Figura 6.5 relaciona a tensão de saída com a diluição.

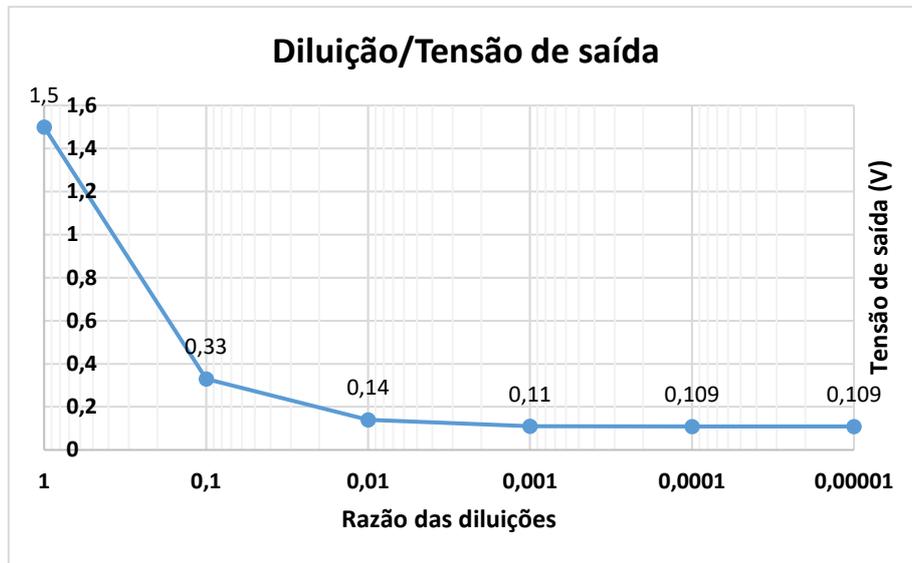


Figura 6.5 – Relação das diluições com a tensão de saída do sistema de leitura.

De modo a verificar o funcionamento do sistema de medição da clorofila, foi traçado o gráfico da corrente de entrada em relação à tensão de saída, garantindo assim que a amplificação aplicada nas várias diluições é constante. A Figura 6.6 comprova a proporcionalidade esperada.

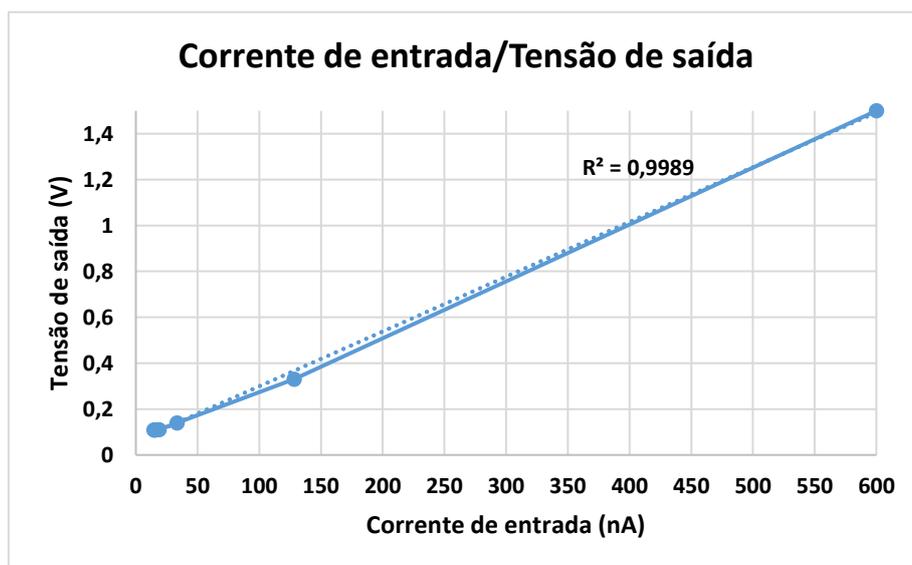


Figura 6.6 – Relação da corrente de entrada com a tensão de saída do sistema de leitura.

Com base nos resultados obtidos, verificou-se que entre as diluições 1/10000 e 1/100000 os valores de tensão correspondentes à fluorescência da clorofila-a são idênticos. Esta estabilidade permite concluir que o circuito de leitura, já não consegue detetar pigmentos de clorofila-a na amostra utilizada. No entanto, seria expectável que o valor de tensão de saída das diluições mencionadas, estivesse próxima do valor da referência, o que não se verificou.

Um estudo mais pormenorizado da cultura de fitoplâncton, mostrou que o meio utilizado para o crescimento da espécie, poderia conter alguma substância que influenciaria a medição da clorofila-a, apresentando fluorescência no mesmo comprimento de onda do pigmento em análise. De modo a

comprovar este efeito, foi realizado um teste adicional a duas amostras. Uma amostra continha a água do mar filtrada e a outra, meio de crescimento composto por água do mar filtrada e nutrientes (Figura 6.7).

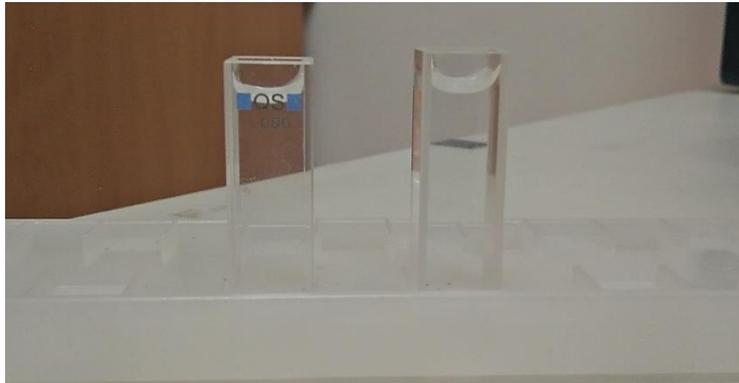


Figura 6.7 – Amostras da água do mar filtrada e água do mar filtrada com meio de crescimento.

Utilizando o mesmo procedimento de medição da clorofila-a, foram medidos os valores de corrente à saída do fotodetector com o pico-amperímetro e posteriormente os valores de tensão à saída do circuito de leitura. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 6.2.

Tabela 6.2. Relação corrente de entrada/tensão de saída das amostras.

Amostras	Corrente de entrada (nA)	Tensão de saída (V _{cc})
Água do mar filtrada	10,06	0,102
Água do mar filtrada com meio de crescimento	17,84	0,129

Como é constatado através dos valores apresentados na tabela acima, a água do mar filtrada com meio de crescimento, apresenta um valor de fluorescência superior ao que seria expectável, para o comprimento de onda característico de fluorescência da clorofila. Isto comprova que efetivamente o meio de crescimento fluoresce a 685 nm afetando a medição de clorofila. No entanto, este problema associado à medição, pode ser atenuado ao utilizar como amostra de referência uma água de mar filtrada com meio de crescimento, tal como é utilizado nas restantes amostras. Este fenómeno não deverá ocorrer em ambiente real, uma vez que será filtrada uma amostra de água onde o sensor será colocado, servindo de referência.

6.3 Comparação de resultados entre o sistema de medição de clorofila desenvolvido e um fluorímetro laboratorial

De modo a comparar o funcionamento do sistema de medição desenvolvido, foram realizados os testes de detetabilidade descritos na secção 6.2, com o equipamento laboratorial *Fluorolog Horiba Jobin Yvon* (Figura 6.8). O princípio de funcionamento é semelhante ao desenvolvido, no entanto tem a capacidade de realizar o varrimento de um intervalo de comprimentos de onda de excitação e medir o espectro de emissão da amostra. Dado que o objeto de estudo é a clorofila-a, e que os comprimentos de onda de emissão e excitação já foram respetivamente fixados em 450 nm e 685 nm, de forma a que configuração do equipamento seja semelhante ao sistema de medição desenvolvido.

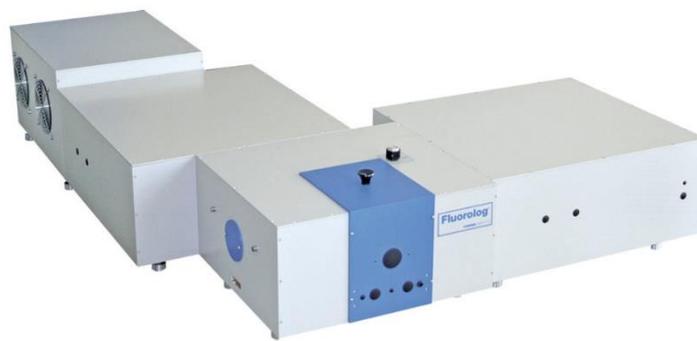


Figura 6.8 – Fluorímetro laboratorial *Fluorolog Horiba Jobin Yvon* [34].

Assim, foram realizadas as diluições até à proporção de 1/10000 (esta diluição atinge a detetabilidade do dispositivo desenvolvido) e medida a intensidade do pico de fluorescência. Os valores obtidos estão apresentados na tabela seguinte.

Tabela 6.3. Valor da intensidade de fluorescência da clorofila-a das diversas diluições.

Diluições	Pico de fluorescência (u.a.)
Amostra original (Diluição 1)	5,28E+06
Diluição 1/10	1,29E+06
Diluição 1/100	1,65E+05
Diluição 1/1000	3,14E+04
Diluição 1/10000	1,92E+04

A Figura 6.9, apresenta a comparação do valor de saída dos dois sistemas para as mesmas diluições da espécie de fitoplâncton.

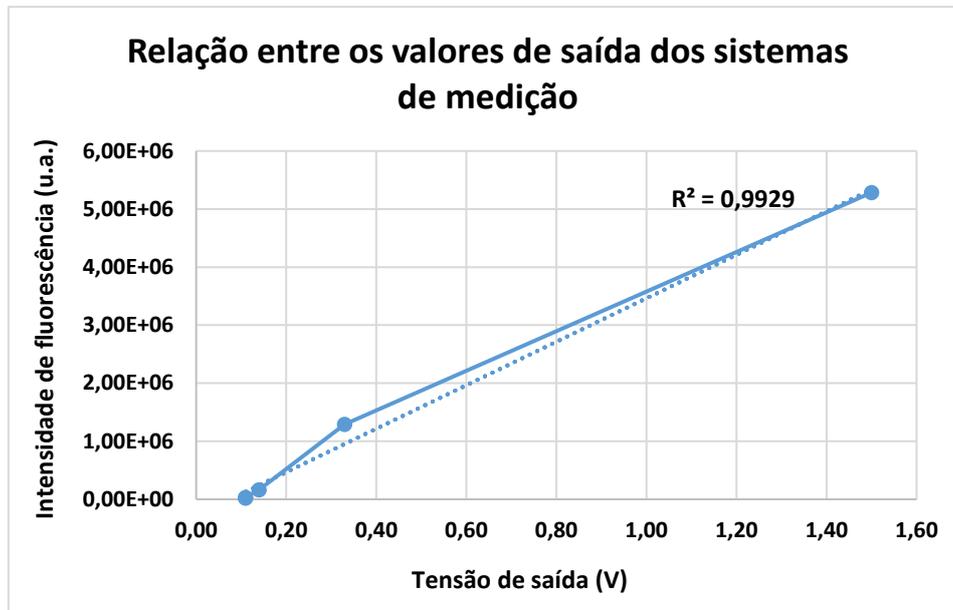


Figura 6.9 – Relação dos valores de saída dos dois sistemas para as diferentes diluições da espécie de fitoplâncton.

Como é possível verificar, a razão entre os valores obtidos é praticamente constante, validando o funcionamento do sistema desenvolvido.

Capítulo 7

Conclusões

Neste último capítulo da dissertação, são apresentadas as ilações retiradas pelo autor, com base na implementação do circuito de leitura *lock-in*. Adicionalmente, são sugeridas algumas alterações para o aperfeiçoamento e expansão do trabalho realizado.

7.1 Conclusão

A presente dissertação apresenta o estudo bibliográfico e a implementação de um circuito de leitura capaz de detetar e medir fitoplâncton, através da fluorescência da clorofila. Este foi sem dúvida um projeto desafiante pela importância ambiental do tema, bem como pela interação com as diversas áreas de investigação constituintes do projeto *Next-Sea*. Este contato permitiu adquirir valências, para além da eletrónica de baixo ruído, na área da biologia marinha, através do acompanhamento direto do cultivo e criação das diversas espécies de fitoplâncton e dos fatores que influenciam todo o processo de crescimento.

Relativamente aos objetivos do trabalho, estes foram efetivamente cumpridos, dado que o sistema de medição de clorofila implementando foi capaz de detetar e medir fitoplâncton de forma viável, quando comparado com um fluorímetro laboratorial. O amplificador tem uma largura de banda inferior a 1 Hz, conseguindo assim uma filtragem efetiva de ruído intrínseco (dos componentes) e extrínseco (como por exemplo da luz solar). No entanto, ao longo do desenvolvimento do sistema, alguns problemas encontrados atrasaram a implementação de um protótipo para utilização em ambiente real, capaz de monitorizar autonomamente. Um dos grandes entraves a nível eletrónico, foi o ruído presente na rede elétrica, introduzido pelos equipamentos de medida, que dificultou o estudo mais detalhado dos sinais presentes nos vários blocos do circuito de leitura, tais como as várias componentes em frequência. Este é um problema que não existe num circuito submerso em água do mar, alimentado a baterias. O outro problema foi o facto da aplicação do circuito de leitura desenvolvido, ser direcionada para a medição de um organismo vivo (fitoplâncton), que obrigou a efetuar culturas com os respetivos períodos de crescimento.

Contudo, os resultados obtidos demonstraram que o circuito de leitura desenvolvido cumpre os requisitos impostos, podendo ser utilizado em variadíssimas aplicações, onde seja requerida a utilização de um amplificador *lock-in* de largura de banda reduzida e modulação a 1 kHz.

7.2 Trabalho Futuro

Apesar do cumprimento dos objetivos inicialmente propostos, existem um conjunto de melhorias e funcionalidades que podem expandir e aperfeiçoar o trabalho desenvolvido.

A primeira etapa está relacionada com os problemas encontrados na fase de testes do Capítulo 5. Na secção 5.1.4, estão detalhados os futuros procedimentos para o aperfeiçoamento e desenvolvimento do protótipo do circuito de leitura, garantindo com isto, a mitigação dos erros encontrados e a melhoria da qualidade do sinal obtido. As melhorias consistirão, na utilização de um circuito integrado de baixo ruído e elevada largura de banda no amplificador de ganho 1000, no ajuste manual do *offset* do multiplicador, através do circuito eletrónico apresentado na Figura 5.29, na utilização de resistências de filme fino, de forma a reduzir o ruído intrínseco, o desenho do circuito impresso (PCB) com *shield* nos sinais de entrada e com *shield* metálica sobre o amplificador de transimpedância e ainda a possibilidade de aumentar o ganho do amplificador de transimpedância, sem aumentar o valor das resistências (e respetivo ruído intrínseco), utilizando uma malha de realimentação de alta sensibilidade. Posteriormente, será desenvolvido um dispositivo para ser utilizado em testes laboratoriais, onde os sinais adquiridos sejam caracterizados por uma baixa amplitude e necessitem de uma modulação de 1 kHz.

A segunda etapa consiste no desenvolvimento de um protótipo do sistema de medição de fitoplâncton, acoplando o amplificador *lock-in* ao sistema de deteção, quantificação e classificação do fitoplâncton. O objetivo primordial deste protótipo, é garantir um funcionamento autónomo e capaz de detetar, quantificar e distinguir espécies de fitoplâncton. Essa distinção, será realizada através da fluorescência dos pigmentos constituintes em diferentes comprimentos de onda, sendo um deles a clorofila-a. Finalizada esta fase, é fundamental o desenvolvimento de um encapsulamento estanque, capaz de suportar as condições adversas do meio marítimo (correntes marítimas, salinidade, deposição de microrganismos). A incrustação biológica nas janelas óticas deverá ser atenuada, propondo-se mecanismos de luz ultravioleta ou de produção de cloro *in-situ* por eletrólise. Nas zonas opacas de contorno das janelas óticas, poderá ser utilizado cobre, reduzindo o aparecimento de microrganismos.

Ao sistema de medição detalhado no capítulo anterior, será anexado um ADC, um leitor de cartão de memória de modo a guardar os valores de fluorescência obtidos no(s) fotodetor(es) e um módulo RTC (*Real Time Clock*) para calendarização das medições. Para a correta aquisição do sinal, é necessário garantir uma amplitude à saída do sistema de medição, entre 0 e 5 V, possibilitando a leitura do sinal,

por parte do ADC. Um exemplo de uma possível estrutura do protótipo (utilizando a ferramenta de desenvolvimento *Autodesk Fusion 360*), constituída pelos circuitos desenvolvidos até à presente data, e respeitando os requisitos da arquitetura detalhada no capítulo anterior, está apresentado na Figura 7.1.

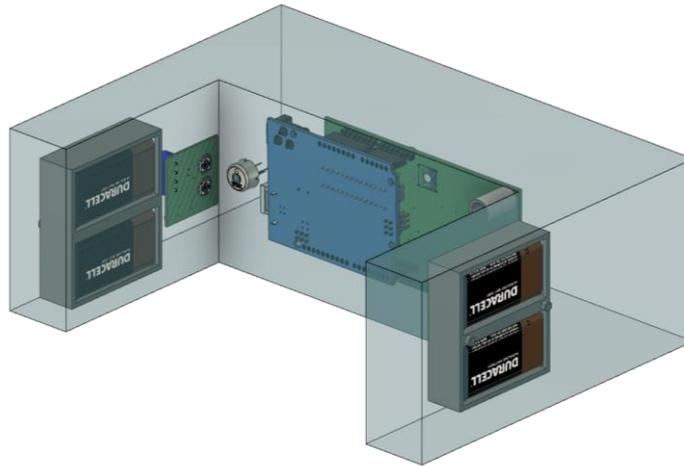


Figura 7.1 – Protótipo do sistema de medição de fitoplâncton.

A estrutura apresentada tem o aspeto de “U”, garantindo a perpendicularidade da fonte de excitação com o receptor e o constante fluxo da coluna de água do mar, evitando o uso de mecanismos adicionais para a circulação da água em análise. O número de LED’s e fotodetetores variará conforme os comprimentos de onda de excitação e emissão das diferentes espécies de fitoplâncton em análise. Numa primeira fase, o Arduino apresentado na Figura 7.2, será responsável pela comutação da fonte de excitação, pelo sinal de referência do circuito de leitura e pelo controlo dos tempos de medição, sendo depois substituído por uma PCB com microcontrolador dedicado. De modo a prolongar o tempo de análise debaixo de água, é necessário reduzir o consumo de energia do equipamento. Para isso, o microcontrolador será programado para ativar o sistema de leitura, em sincronismo com as marés marítimas, ficando em *stand-by* todo o tempo entre medidas. O dispositivo será alimentado por baterias, sendo o objetivo futuro, o desenvolvimento de um equipamento autosustentável. Na figura seguinte estão detalhados os componentes constituintes do protótipo.

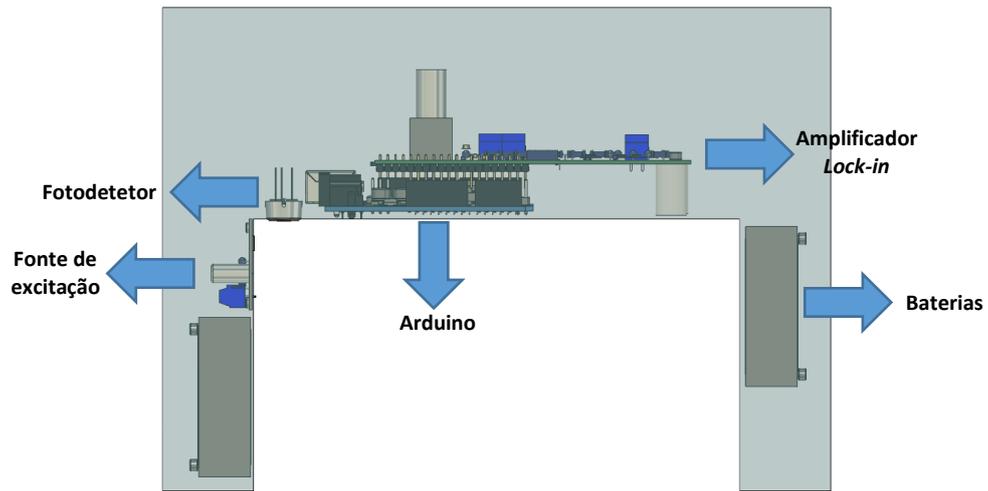


Figura 7.2 – Constituição do sistema de medição de fitoplâncton.

Lista de Referências

- [1] "Fitoplâncton, Importância, Tipos, Constituição Fitoplâncton." [Online]. Available: <http://www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/fitoplancton>. [Accessed: 16-Nov-2017].
- [2] T. Leeuw, E. Boss, and D. Wright, "In situ Measurements of Phytoplankton Fluorescence Using Low Cost Electronics," *Sensors*, vol. 13, no. 6, pp. 7872–7883, Jun. 2013.
- [3] L. Zeng and D. Li, "Development of *In Situ* Sensors for Chlorophyll Concentration Measurement," *J. Sensors*, vol. 2015, pp. 1–16, 2015.
- [4] "SNPP VIIRS Monthly Chlorophyll Concentration, OCI Algorithm." [Online]. Available: <https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/cgi/l3>. [Accessed: 16-Jan-2017].
- [5] L. M. S. Sales¹, R. B. Prado², and A. O. Gonçalves³, "ANÁLISE COM PARATIVA ENTRE SONDAS MULTIPARAMÉTRICAS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA PARA FINS AGROAMBIENTAIS."
- [6] "aquaDam - Controle de Qualidade das Águas Represadas." [Online]. Available: <http://adasaproducts.com/pt/portfolio/aquadam/>. [Accessed: 16-Jan-2017].
- [7] "APA - Aquisição de dados em tempo real." [Online]. Available: <http://www.apambiente.pt/index.php?ref=x76>. [Accessed: 16-Jan-2017].
- [8] "TriLux - Monitoramento de Algas, clorofila A, turbidez e cianobactérias - Ag Solve Monitoramento Ambiental." [Online]. Available: <https://www.agsolve.com.br/produtos/algas/trilux-monitoramento-de-algas-clorofila-a-turbidez-e-cianobacterias>. [Accessed: 16-Jan-2017].
- [9] "Analisador de Clorofila e Cianobactéria - Tecnal." [Online]. Available: <http://tecnal.com.br/pt/produtos/analizador-de-clorofila-e-cianobacteria-algaecheck-modern-water/>. [Accessed: 08-Aug-2017].
- [10] L. Orozco, "Synchronous Detectors Facilitate Precision, Low-Level Measurements," *Analog Dialogue*, vol. 48, no. 12, pp. 1–5, 2014.
- [11] O. Oguz, "A Lock-In Amplifier for Fluorescent Light Detection," 2002.
- [12] "Reducing Signal Noise in Practice | Precision Digital." [Online]. Available: <https://www.predig.com/whitepaper/reducing-signal-noise-practice>. [Accessed: 10-Aug-2017].
- [13] H. Zhai, P. Xu, M. Ning, Q. Cheng, J. Mandal, and Y. Yang, "A Flexible Solid Composite Electrolyte with Vertically Aligned and Connected Ion-Conducting Nanoparticles for Lithium Batteries," *Nano Lett.*, vol. 17, no. 5, pp. 3182–3187, May 2017.
- [14] M. Duff, "Amplifier Noise Principles for the Practical Engineer." pp. 1–76, 2014.
- [15] "Noise | Electronic RF Radio Frequency Noise | Radio-Electronics.Com." [Online]. Available: <http://www.radio-electronics.com/info/rf-technology-design/noise/electronics-radio-frequency-rf-noise.php>. [Accessed: 11-Aug-2017].
- [16] "RF Thermal Noise | Johnson-Nyquist Noise | Tutorial." [Online]. Available: <http://www.radio-electronics.com/info/rf-technology-design/noise/thermal-johnson-nyquist-basics-tutorial.php>. [Accessed: 10-Aug-2017].
- [17] "Shot noise." [Online]. Available: <http://www.lorentz.leidenuniv.nl/beenakker/beenakkr/mesoscopics/topics/noise/noise.html>. [Accessed: 11-Aug-2017].
- [18] D. V Perepelitsa, "Johnson Noise and Shot Noise," *Analysis*, no. 2, pp. 2–5, 2006.
- [19] "What is Flicker Noise | 1/f Noise | Electronics Notes." [Online]. Available: https://www.electronics-notes.com/articles/basic_concepts/electronic-rf-noise/flicker-noise-1-f-what-is.php. [Accessed: 11-Aug-2017].
- [20] "Signal to Noise Ratio | Radio Receiver SNR | Radio-Electronics.com." [Online]. Available: <http://www.radio-electronics.com/info/rf-technology-design/rf-noise-sensitivity/receiver-signal-to-noise-ratio.php>. [Accessed: 11-Aug-2017].

- [21] "In signal-to-noise ratio, is it limited by the speakers if the sound card has a greater value? - Quora." [Online]. Available: <https://www.quora.com/In-signal-to-noise-ratio-is-it-limited-by-the-speakers-if-the-sound-card-has-a-greater-value>. [Accessed: 11-Aug-2017].
- [22] SRS, "About Lock-In Amplifiers," *Appl. Note*, no. 408, pp. 1-9, 2011.
- [23] P. M. Maya-Hernández, L. C. Álvarez-Simón, M. T. Sanz-Pascual, and B. Calvo-López, "An integrated low-power lock-in amplifier and its application to gas detection," *Sensors (Switzerland)*, vol. 14, no. 9, pp. 15880-15899, Aug. 2014.
- [24] M. V. Wylliam Husson, "Design Multiple Feedback Band-Pass," *IEEE Trans. Magn.*, pp. 1-2, 1995.
- [25] V. Wong, "Counting Electrons : Making Ultra-high Sensitivity Femtoamp Measurements," 2017. [Online]. Available: <http://www.analog.com/en/education/education-library/webcasts/counting-electrons-making-ultra-high-sensitivity-femtoamp-measurements.html>. [Accessed: 13-Aug-2017].
- [26] "Using ground vs virtual ground in a single-supply Sallen-Key low-pass filter - Electrical Engineering Stack Exchange." [Online]. Available: <https://electronics.stackexchange.com/questions/212309/using-ground-vs-virtual-ground-in-a-single-supply-sallen-key-low-pass-filter>. [Accessed: 13-Aug-2017].
- [27] M. F. Band-pass, "Multiple Feedback Band-Pass Filter," 2012. [Online]. Available: http://www.ecircuitcenter.com/Circuits/MFB_bandpass/MFB_bandpass.htm. [Accessed: 14-Aug-2017].
- [28] TI, "SBFA001C - FilterPro™ User's Guide," no. June 1991, pp. 1-39, 2011.
- [29] J. Karki, "Analysis of the Sallen-Key Architecture Application Report," no. July, pp. 1-14, 1999.
- [30] A. Devices, "ADA4522-1/ADA4522-2/ADA4522-4 (Rev. E)."
- [31] G. P. J-fet and S. O. Amplifiers, "GENERAL PURPOSE J-FET s HIGH INPUT IMPEDANCE J - FET INPUT," *Current*, no. April, pp. 1-11, 2001.
- [32] A. Devices -, "Model AD633J, AD633A."
- [33] D. Sheet, "Ultralow Offset Voltage Operational Amplifier OP07 * PRODUCT PAGE QUICK LINKS," 2011.
- [34] "TCSPC Lifetimes on your Steady State Spectrofluorometer | FluoroLog® TCSPC from HORIBA Scientific - HORIBA." [Online]. Available: <http://www.horiba.com/in/scientific/products/fluorescence-spectroscopy/lifetime/fluorolog-tcspc/fluorolog-tcspc-lifetimes-on-your-steady-state-spectrofluorometer-578/>. [Accessed: 13-Oct-2017].