

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIA TECNOLÓGICAS – CCT
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA – PPGEEL

BRUNA GABRIELA PEDRO

**DETECÇÃO ANALÍTICA DA GLICOSE SANGUÍNEA USANDO ESPECTROSCOPIA
DE IMPEDÂNCIA ELÉTRICA E FOTOMETRIA**

JOINVILLE

2024

BRUNA GABRIELA PEDRO

**DETECÇÃO ANALÍTICA DA GLICOSE SANGUÍNEA USANDO ESPECTROSCOPIA
DE IMPEDÂNCIA ELÉTRICA E FOTOMETRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho

JOINVILLE

2024

Pedro, Bruna Gabriela
DETECÇÃO ANALÍTICA DA GLICOSE SANGUÍNEA USANDO
ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELÉTRICA E FOTOMETRIA /
Bruna Gabriela Pedro. - Joinville, 2024.
172 p. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho.

Tese Doutorado - Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Tecnológicas, Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Joinville, 2024.

1. Glicose no sangue. 2. Modelo analítico. 3.
Espectroscopia de Impedância. 4. Fotometria. 5.
Monitoramento não invasivo. I. Bertemes Filho, Prof.
Dr. Pedro . II. Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Tecnológicas, Programa
de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica. III. DETECÇÃO
ANALÍTICA DA GLICOSE SANGUÍNEA USANDO ESPECTROSCOPIA DE
IMPEDÂNCIA ELÉTRICA E FOTOMETRIA

BRUNA GABRIELA PEDRO

**DETECÇÃO ANALÍTICA DA GLICOSE SANGUÍNEA USANDO ESPECTROSCOPIA
DE IMPEDÂNCIA ELÉTRICA E FOTOMETRIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Engenharia Elétrica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho
UDESC

Membros:

Prof. Dr. Holokx Abreu Alburquerque
UDESC

Prof. Dr. Jefferson Luiz Brum Marques
UFSC

Prof. Dr. Euclides Lourenço Chuma
UNICAMP

Dr. John Alexander Gomez Sanchez.
UFRJ

Joinville, 10 maio de 2024

A todos que estiveram ao meu lado nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a mim por ser insistente e disciplinada em momentos desmotivadores. Agradeço aos meus pais que me apoiam ao longo de toda a minha trajetória acadêmica de todas as maneiras possíveis. Sou grata à minha família pelos momentos de distração. Agradeço a todos os companheiros acadêmicos pelas discussões, pontos de vistas e críticas. A todos os meus professores da Universidade do Estado de Santa Catarina pela excelência da qualidade técnica de cada um e, em especial, ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Bertemes Filho pelo incentivo e pela dedicação.

*"Eu não falhei, encontrei 10 mil soluções que
não davam certo."(Thomas Edison)*

“Make sure your worst enemy is not living
between your own two ears” (Laird Hamilton)

RESUMO

Esta tese tem por objetivo modelar a impedância elétrica e a absorbância com a concentração de glicose sanguínea para sistemas de medição não-invasivos. Inicialmente desenvolveu-se modelos matemáticos baseados em pesquisas bibliográficas e, em seguida, testados e corrigidos com dados de bancadas experimentais realizados pela autora. O modelo para espectroscopia de impedância elétrica inicial (modelo BGP) começa baseando a condutividade sanguínea na Teoria do Meio Efetivo utilizando as equações de Bruggemam, posteriormente, foram feitos os seguintes experimentos: (I) teste experimental de ringuer-lactato adicionado albumina com dois eletrodos de prata; (II) experimento para analisar a viscosidade do sangue bovino *in vitro* adicionado EDTA (anticoagulante) com acréscimo de glicose; (III) experimento com espectroscopia de impedância elétrica de sangue bovino *in vitro* com EDTA e acréscimo de glicose; (IV) experimento com espectroscopia de impedância elétrica com sangue humano *ex vivo*. Os testes de bancada possibilitaram melhorar o modelo BGP através da descrição correta da condutividade do sangue como uma função sigmoideal da concentração de glicose com erro máximo de 3,75% , deixa claro que testes *in vitro* com sangue bovino não pode representar os acontecimentos dinâmicos do metabolismo da glicose no sangue humano e a análise da sensibilidade demonstra limitações na configuração tetrapolar para altas concentrações de glicose. No modelo de espectrofotometria utilizou-se a lei de Lambert-Beer aplicada a um trio de LEDs (Light Emitting Diode) com comprimentos de onda próximos entre si na faixa do vermelho e infravermelho próximo, o modelo teve seu início com base teórica que prometia não-calibração do dispositivo se conhecido coeficiente de extinção da glicose em sangue. Os dois experimentos de espectrofotometria realizados com sangue humano *ex vivo* de duas voluntárias saudáveis distinguem largura da cubeta, escolha do branco e seleção dos comprimentos de onda. Mas, de forma absoluta os resultados evidenciam o comportamento cúbico da absorbância em relação a variação de glicose. Limitações da lei de Lamber-Beer e referências da óptica não linear suportam os resultados e valida os experimentos. Os testes para o plasma com cubetas de quartzo de 1 mm deixam claros picos de absorção em 975 nm e 1194 nm. Trabalhos futuros para fotometria incluem dosagem de insulina na metodologia e para análise de bioimpedância elétrica estudos com eletrodos concêntricos para melhorar a sensibilidade. Contudo, ambas pesquisas devem incluir aumento no número de amostras saudáveis e testes com sangue diabético.

Palavras-chave: Glicose no sangue. Modelo analítico. Espectroscopia de impedância. Espectrofotometria. Monitoramento não invasivo.

ABSTRACT

This thesis aims to model electrical impedance and absorbance with blood glucose concentration for non-invasive measurement systems. Initially, mathematical models were developed based on bibliographic research and then tested and corrected with data from experimental benches carried out by the author. The initial electrical impedance spectroscopy model (BGP model) starts from the blood conductivity based on the Effective Medium Theory using the Bruggeman equations, the following experiments were carried out: (I) experimental ring-lactate test with albumin added with two silver electrodes; (II) experiment to analyze the viscosity of bovine blood *in vitro* with EDTA (anticoagulant) added and glucose added; (III) experiment with electrical impedance spectroscopy of bovine blood *in vitro* with EDTA and glucose added; (IV) experiment with electrical impedance spectroscopy with *ex vivo* human blood. Bench tests made it possible to improve the BGP model through the correct description of blood conductivity as a sigmoidal function of glucose concentration with a maximum error of 3.75%, make it clear that *in vitro* tests with bovine blood cannot represent the dynamic events of glucose metabolism in human blood and the analysis of sensitivity demonstrates limitations in the tetrapolar configuration for high glucose concentrations. The spectrophotometry model uses the Lambert-Beer law applied to a trio of LEDs (Light Emitting Diode) with wavelengths close to each other in the red and near-infrared range. The model began with a theoretical basis that promised no-calibration of the device if the blood glucose extinction coefficient was known. The spectrophotometry experiments carried out with *ex vivo* human blood from two healthy volunteers distinguish cuvette width, choice of blank, and selection of wavelengths, but all results show the cubic behavior of absorbance about glucose variation. Limitations of the Lambert-Beer law and references from nonlinear optics support the results and validate the experiments. Tests for the plasma with 1 mm quartz cuvettes show absorption peaks at 975 nm and 1194 nm. Future work for photometry includes insulin dosing in the methodology and for bioelectrical impedance analysis studies with concentric electrodes to improve sensitivity. However, both research should include an increase in the number of healthy samples and tests with diabetic blood.

Keywords: Blood glucose. Analytical model. Impedance spectroscopy. Spectrophotometry. Non-invasive monitoring.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação de distribuições aleatórias de grãos isolantes em um meio condutor. Fonte: Autora (2020).	22
Figura 2 – Princípios do método de conformação de calor metabólico. Fonte: adaptado de (SANTOS P.; TEODORO, 2014). A medida da concentração de glicose depende do calor, fluxo sanguíneo e oxigenação; estes parâmetros são obtidos a partir das medidas térmicas e ópticas.	28
Figura 3 – Esquema básico da técnica de Espectroscopia de Infravermelho. Onde usa características de dispersão óptica da própria glicose. A luz é emitida para LED (diodo emissor de luz) e coletada para PD (fotodiodo). À medida que o nível de glicose no sangue aumenta, a intensidade da luz infravermelha refletida também aumenta. Fonte: autora (2020).	28
Figura 4 – Componentes essenciais de um espectrômetro de fluorescência. Fonte: autora (2020).	29
Figura 5 – Esquema de uma possível configuração de espectroscopia Raman dispersiva. Fonte: adaptado de (OTERO J.; CANO, 2015).	30
Figura 6 – Uma representação esquemática do princípio da iontoforese reversa. Fonte: autora (2020).	31
Figura 7 – Princípio de Espectroscopia Fotoacústica. Fonte: adaptado de (SNOOK R.D.; MITCHEM, 2005).	32
Figura 8 – Princípio de espectroscopia ocular. Fonte: autora (2020).	32
Figura 9 – Princípio de Polarimetria. Fonte: autora (2020).	33
Figura 10 – Conceito para medir a concentração de glicose usando detecção de sonoforese. Fonte: adaptado de (MANIKKATH J.; HEGDE, 2016).	34
Figura 11 – Conceito para medir a concentração de glicose usando sensor eletromagnético. Fonte: adaptado de (GONZALES W.; MOBASHSHER, 2019).	34
Figura 12 – Configuração de refletância localizada regulada por temperatura. Fonte: autora (2020).	35
Figura 13 – A câmera funciona como uma matriz de detectores bidimensionais e, com a técnica OCT facilitando a varredura em profundidade, é obtido um dispositivo de imagem tridimensional não invasivo. Fonte: adaptado de (CABALEIRO P.; DE MOURA, 2019).	35
Figura 14 – Conceitos gerais de um sistema para medir a impedância de transferência, onde VCCS é a fonte de corrente do controlador de tensão. Fonte: adaptado de (BERTEMES-FILHO, 2002).	37
Figura 15 – Regiões de dispersão e caminho percorrido pela corrente em relação a alta e baixa frequência. Fonte: adaptado de (ABASI S.; AGGAS, 2022).	40

Figura 16 – Equação de Cole e modelos de Cole para um tecido, em série e paralelo. Fonte: adaptado de (IVORRA A.; GENESCÁ, 2005).	40
Figura 17 – Representação esquemática do efeito <i>electrical duoble layer</i> . Fonte: adaptado de (LIU N.; CHEN, 2019).	41
Figura 18 – Sistema básico de um sistema de eletrodos bipolar (a) e circuito equivalente a medida de dois eletrodos (b). Z_t é a impedância do tecido, Z_{e1} e Z_{e2} são as impedâncias do eletrodos. Fonte: adaptado de (BERTEMES-FILHO, 2018).	42
Figura 19 – Sistema básico de um sistema de eletrodos tetrapolar (a) e circuito equivalente a medida de quatro eletrodos (b). Z_t é a impedância do tecido, Z_{e1} , Z_{e2} , Z_{e3} e Z_{e4} são as impedâncias do eletrodos. Fonte: adaptado de (BERTEMES- FILHO, 2018).	43
Figura 20 – Modelo COMSOL de configuração de eletrodos pontuais tetrapolares. Fonte: autora (2023).	43
Figura 21 – Representação esquemática de um instrumento fotométrico. (1), (2) e (3) representam os efeitos de atenuação por reflexão, dispersão e absorção res- pectivamente. I_0 e I são raio de luz incidente e transmitido. Fonte: Adaptado de (BASQUES, 2010).	45
Figura 22 – Diagrama experimental. Fonte: autora (2021).	53
Figura 23 – Representação da bancada experimental para teste de viscosidade de SB 100%. Fonte: autora (2022).	57
Figura 24 – Representação da bancada experimental para teste de condutividade. Fonte: autora (2022).	58
Figura 25 – Bancada experimental para teste de condutividade. Fonte: autora (2022).	59
Figura 26 – Representação do recipiente isolante com eletrodos de aço inox. Fonte: autora (2022).	60
Figura 27 – Representação da bancada para medida de espectroscopia de impedância elétrica.Fonte: autora (2022).	60
Figura 28 – Bancada para medida de espectroscopia de impedância elétrica com sangue bovino.Fonte: autora (2022).	61
Figura 29 – Esquemático da coleta de amostras nos tubos de flueto e suas respectivas concentrações de glicose aferidas com glicosímetro capilar. Fonte: autora (2022).	62
Figura 30 – Caixa de amostra para medidas.Foi impressa com um material isolante com dimensões de 12,45 mm×12,45 mm×6,35 mm. Fonte: autora (2022).	63
Figura 31 – Caixa com amostra conectada ao analisador de impedância. Fonte: autora (2022).	63

Figura 32 – O sinal fotopletismográfico. Transmissão de luz através o dedo diminui durante a sístole. I_D e I_S indicam o valor máximo e valores mínimos de transmissão de luz durante o período cardíaco, respectivamente. Fonte: autora (2022).	65
Figura 33 – Esquemático de separação das amostras. Fonte: autora (2022).	68
Figura 34 – Foto das amostras sangue e plasma separadas para teste II. A agulha de insulina era utilizada para colocar e retirar a amostra da cubeta de 1 mm. Fonte: autora (2022).	68
Figura 35 – Espectro de impedância normalizada para equação 28. Fonte: autora (2020).	70
Figura 36 – Apresentado por (KAMAT D. K.; BAGUL, 2014) (License CC BY 3.0 at https://creativecommons.org/licenses/by/3.0).. . . .	72
Figura 37 – Espectros de impedância modelados para uma concentração de glicose de 4,1 mmol/L de (KLONOFF, 1997).Fonte: autora (2020).	73
Figura 38 – Medição de impedância de 100 ml solução de lactato de ringuer com 5 g de albumina de ovo usando AD5933. Fonte: autora (2021).	73
Figura 39 – Medição de impedância de 100 ml solução de lactato de ringer com 10 g de albumina de ovo usando AD5933. Fonte: autora (2021).	74
Figura 40 – Queda do módulo de impedância com aumento da concentração de albumina para concentrações de açúcar de 5 g. Fonte: autora (2021).	74
Figura 41 – Curva adequada para 100 ml de solução de lactato de Ringer, 5 g de albumina e 0 g de açúcar. Fonte: autora (2021).	75
Figura 42 – Curva adequada para 100 ml de solução de lactato de Ringer, 5 g de albumina e 5 g de açúcar. Fonte: autora (2021).	75
Figura 43 – Curva adequada para 100 ml de solução de lactato de Ringer, 5 g de albumina e 10 g de açúcar. Fonte: autora (2021).	76
Figura 44 – Espectro de impedância elétrica normalizada em função da frequência normalizada e concentração de glicose. Fonte: autora (2021).	79
Figura 45 – Representação da influência de partículas não condutoras como corpos massivos e fixos que aumentam o caminho livre médio da partícula e o aumento de partículas carregadas via hidrólise de glicose. Fonte: autora (2021).	79
Figura 46 – Espectro do módulo da impedância elétrica da SB 79% para incremento de SG 20% obtidos com $HF2TA$ e $HF2IS$. Fonte: autora (2022).	80
Figura 47 – Espectro da impedância elétrica normalizada em função da frequência normalizada e da concentração da glicose. Gráfico Obtido com mesmo algoritmo de versões anteriores do modelo (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020)(PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021). Fonte: autora (2022).	81
Figura 48 – Regressão polinomial dos dados da tabela 4 com a equação 82. Fonte: autora (2022).	83

Figura 49 – Previsão do comportamento da viscosidade baseado na regressão linear da figura 48. Fonte: autora (2022).	84
Figura 50 – Comportamento linear da condutividade (σ) com a temperatura (T). Fonte: autora (2022).	84
Figura 51 – Ajuste de curva da equação 80 para condutividade elétrica em função da fração volumétrica de glicose. Fonte: autora (2022).	85
Figura 52 – Análise do comportamento de $ Z $ com relação a k' em 60 Hz. Fonte: autora (2022).	86
Figura 53 – Espectro do módulo da impedância elétrica da SR 5,3% para incremento de SG 20% obtidos com HF2TA e HF2IS em altas frequências. Fonte: autora (2022).	87
Figura 54 – Espectro do módulo da impedância elétrica da SR 5,3% para incremento de SG 20% obtidos com HF2TA e HF2IS em baixas frequências. Fonte: autora (2022).	88
Figura 55 – Dados experimentais da condutividade elétrica em relação a concentração de glicose para SR 5,3%. Fonte: autora (2022).	89
Figura 56 – Módulo da impedância em função da frequência para diferentes concentrações de glicose sanguínea. Fonte: autora (2023).	89
Figura 57 – Curvas para condutividade em função da fração volumétrica da glicose sanguínea. Fonte: autora (2023).	90
Figura 58 – Sensibilidade para plano XY. Concentrações de glicose 106 mg/dl em (a), 123 mg/dl em (b), 132 mg/dl em (c) e 188 mg/dl em (d).	91
Figura 59 – Sensibilidade para plano XZ. Concentrações de glicose 106 mg/dl em (a), 123 mg/dl em (b), 132 mg/dl em (c) e 188 mg/dl em (d). Fonte: autora (2023).	91
Figura 60 – Variação de condutividade e da concentração de glicose em relação ao tempo. Fonte: autora (2023).	92
Figura 61 – Curva resultante da subtração das parcelas que compõem a condutividade exemplificada da equação 86. Fonte: autora (2023).	94
Figura 62 – Análise dos dados no domínio do tempo para o plasma em teste I (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).	97
Figura 63 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).	98
Figura 64 – Análise dos dados no domínio do tempo para o sangue total em teste I (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).	99
Figura 65 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o sangue total em teste I (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).	99
Figura 66 – Análise dos dados em relação ao tempo para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	101

Figura 67 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) são da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	101
Figura 68 – Análise dos dados no domínio do tempo para o sangue total em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	102
Figura 69 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o sangue total em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	103
Figura 70 – Absorbância de plasma sanguíneo em relação ao comprimento de onda. Fonte: autora (2023).	103
Figura 71 – Análise da absorbância em 975 nm e 1194 nm relação a concentração de glicose para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	104
Figura 72 – Espectro de absorbância para comprimentos de onda de 700 nm á 1400 nm do plasma e sangue onde (a) são dados da voluntária 1 e (b) são dados da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	104
Figura 73 – Análise da absorbância em 975 nm e 1194 nm relação a concentração de glicose para o sangue total em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Coeficientes de (60) e erro percentual em relação aos dados obtidos de (GINSBERG, 1992).	71
Tabela 2 – Comparação entre a impedância calculada da equação (28) com a experimental extraída da Figura 36 e seus respectivos erros.	72
Tabela 3 – Comparação dos valores dos coeficientes obtidos nos ajustes da curva apresentada nas figuras 41-43 para a equação 30.	76
Tabela 4 – Dados da TG convertidas em k' e viscosidade, para adição de SG 20% em 24 ml de SB 100%.	82
Tabela 5 – Dados da TG convertidas em k' para adição de SG 20% em SB 49%.	85
Tabela 6 – Dados da TG convertidas em k' e viscosidade, para adição de SG 20% e SB 79%.	86
Tabela 7 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorbância para o plasma sanguíneo do teste I.	97
Tabela 8 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorbância para o sangue total do teste I.	98
Tabela 9 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorbância para o plasma sanguíneo do teste II.	100
Tabela 10 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorbância para o sangue total do teste II.	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
BU	Biblioteca Universitária
IN	Instrução Normativa
NBR	Normas Técnicas Brasileiras
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
Udesc	Universidade do Estado de Santa Catarina
BIA	Bioimpedância elétrica
EMT	Teoria do Meio Efetivo
LED	Light Emitting Diode

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	ESCOPO E APLICAÇÃO	19
1.2	OBJETIVOS	19
1.3	JUSTIFICATIVA	20
1.4	ESTRUTURA DA TESE	20
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
2.1	TEORIA DO MEIO EFETIVO E O MODELO DE BRUGGEMAM	22
2.2	DIBETES MELLITUS	23
2.3	SANGUE	24
2.4	MEDIÇÃO NÃO INVASIVA	26
2.5	CALIBRAÇÃO DE DISPOSITIVOS DE MEDIÇÃO DE GLICOSE	37
2.6	BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA	38
2.7	ESPECTOFOTOMETRIA	45
3	MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1	MODELO ANALÍTICO PARA IMPEDÂNCIA	48
3.2	EXPERIMENTO COM RINGUER DE LACTATO E ALBUMINA	51
3.3	INVESTIGAÇÃO ENTRE TEMPO DE RELAXAÇÃO (τ) E AS ALTERAÇÕES DA FRAÇÃO VOLUMÉTRICA DE GLICOSE (k')	54
3.4	TESTES DE BANCADA BIA COM SANGUE BOVINO IN-VITRO	56
3.5	TESTE DE BANCADA BIA COM SANGUE HUMANO EX-VIVO	62
3.6	MODELO ANALÍTICO PARA ABSORBÂNCIA	63
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	70
4.1	MODELO ANALÍTICO PARA IMPEDÂNCIA	70
4.2	EXPERIMENTO COM RINGUER DE LACTATO E ALBUMINA	73
4.3	INVESTIGAÇÃO ENTRE O TEMPO DE RELAXAÇÃO (τ) E AS ALTERAÇÕES DA FRAÇÃO VOLUMÉTRICA DE GLICOSE (k')	76
4.4	TESTES DE BANCADA BIA COM SANGUE BOVINO	80
4.5	TESTE COM RINGUER LACTATO E ALBUMINA NO SISTEMA DE ELETRODOS TETRAPOLAR	87
4.6	TESTE DE BANCADA BIA COM SANGUE HUMANO EX-VIVO	89
4.7	MODELO ANALÍTICO PARA ABSORBÂNCIA	96
5	DISCUSSÕES E CONCLUSÃO	109
5.1	TRABALHOS FUTUROS	110
	REFERÊNCIAS	111

APÊNDICE A – CÓDIGO PYTHON PARA ANÁLISE QUALITATIVA DO MODELO NA SEÇÃO 3.1	123
APÊNDICE B – CÓDIGO PYTHON PARA REGRESSÃO LINEAR DO TESTE COM RINGUER E ALBUMINA	125
APÊNDICE C – CÓDIGO PYTHON PARA ANÁLISE QUALITATIVA DO MODELO NA SEÇÃO 3.3	126
APÊNDICE D – CÓDIGO PYTHON PARA ANÁLISE QUALITATIVA DO MODELO NA SEÇÃO 3.4	128
APÊNDICE E – CONVERSÃO DE MMOL/L PARA K'	130
APÊNDICE F – INSTRUÇÕES PARA MODELAR SENSIBILIDADE EM COMSOL	131
APÊNDICE G – ARTIGOS PUBLICADOS	133

1 INTRODUÇÃO

Estatísticas da Federação internacional de Diabetes (IDF) indicam que 463 milhões de adultos foram diagnosticados com diabetes a nível mundial em 2019, além de gerar cerca de US\$760 bilhões em gastos no ano. A projeção do aumento de portadores de diabetes entre 20 e 79 anos é de 578 milhões em 2030 e 700 milhões em 2045 (MAGLIANO D. J.; BOYKO, 2022). A permanência do diabetes e das mortes correlacionadas as suas complicações continuam a aumentando mundialmente, com consideráveis impactos sociais, financeiros e no sistema de saúde. A única maneira de erradicar tal situação é através da prevenção do diabetes tipo 2 com diagnóstico precoce e cuidados adequados dos outros tipos de diabetes que podem evitar ou retardar complicações.

O monitoramento do controle glicêmico pode ser feito com glicemias de jejum, pré-prandial, pós prandial e pela hemoglobina glicada (HbA_{1C}). Os exames geralmente aplicados são exame de sangue, hemoglobina glicosilada ou hemoglicoteste (HGT) (DUNCAN B. B.; SCHMIDT, 2013).

O teste padrão nos exames de sangue é o enzimático-colorimétrico que tem como princípio a catalisação da oxidação da glicose para ácido glicônico e peróxido de hidrogênio a partir da reação do fluído com a enzima glicose oxidase (GOD). No desenvolver do processo produz-se a quinonimina vermelha proporcionalmente à quantidade de glicose da amostra. A determinação de glicose é feita a partir de espectrofotômetro UV/Vis (RASCÓN-CAREAGA A.; CORELLA-MADUENÓ, 2021).

Os testes para HbA_{1C} são feitos baseados em diferença de carga e estrutura entre os componente da hemoglobina. O método de ensaio mais utilizado é a troca catiônica realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A utilidade deste exame é a identificação de altos níveis de glicemia durante períodos prolongados (GALLAGHER E. J.; LE ROITH, 2009).

O hemoglicoteste ou glicosímetro capilar medem as concentrações de glicose no sangue capilar. São equipamentos pequenos e fáceis de usar. A maior parte deles quantifica o nível de glicose baseados na intensidade de cor produzida pelo contato com a fita reagente, através de um fotômetro ou sensor eletroquímico, fornecendo um resultado aproximado aos níveis séricos obtidos em laboratório. Seu objetivo é obter resultados rápidos (PARRAMÓN, 2004).

Nenhum destes é contínuo. Algumas pessoas por questão de tempo utilizam o teste capilar adquiridos em farmácias para medir a glicose mais de três vezes ao dia, entretanto, isso é desconfortável e eleva o risco de infecções. Outros são chamados de semi-invasivos porque a perfuração da pele é apenas na camada intersticial da pele (ABBOTT, 2015), que segundo produtor deve ter a troca a cada 14 dias (perfuração a cada 14 dias portanto), mas, há usuários que relatam má fixação.

Uma alternativa mais agradável seria dispositivos não invasivos de medição de glicose como o CoG (SEGMAN, 2018). Entretanto, este tipo de tecnologia só está disponíveis para médicos e tem um custo maior que R\$3.000,00 no Brasil (LIBONATI, 2016). Indo mais além,

num cenário mundial, ainda sim tem um custo elevado que está em torno de US\$950,00 (DIABETESTESTTRIPS, 2024).

O inaccessos aos equipamentos existentes é causado pela escassez, que gera baixa competitividade, e portanto, a livre estipulação de preços. Por estas razões, esforços de pesquisadores na área de desenvolvimento de dispositivos de medição de glicose, seja invasivo ou não, é crescente nos últimos anos.

1.1 ESCOPO E APLICAÇÃO

A espectroscopia de bioimpedância elétrica e a espectrofotometria são técnicas candidatas no desenvolvimento de dispositivos contínuos não-invasivos de medição de glicose, que além de não agredirem o paciente tendem a um custo minimizado tornando os aparelhos muito mais atrativos no mercado.

Este trabalho contribui para este propósito através do estudo e construção de modelagens matemáticas para (I) impedância elétrica e (II) absorvância em função da concentração de glicose sanguínea, separadamente. Na primeira técnica o sangue é visto como um composto e através das equações de Bruggeman, derivadas da EMT, a condutividade elétrica é reescrita em função da concentração de glicose. Essa grandeza é substituída dentro da definição do módulo de impedância elétrica e foi ajustada conforme os trabalhos (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020)(PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021).

Os trabalhos com a segunda técnica consistem na determinação de um coeficiente de extinção da glicose imersa em sangue humano. O trabalho motivador (NITZAN M.; ENGELBERG, 2009) sugere uma instrumentação sem a necessidade de calibração do dispositivo. Portanto, medidas de absorvância de duas amostras de sangue humano ex-vivo de 700 nm a 1400 nm foram utilizadas para determinação do coeficiente de extinção segundo modelo do artigo (NITZAN M.; ENGELBERG, 2009). Este trabalho não está concluído, mas os resultados são promissores e a dosagem de insulina deve ser adicionada a metodologia dos trabalhos futuros.

1.2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Modelar e correlacionar impedância elétrica e absorvância com a concentração de glicose sanguínea para sistemas de medição não-invasivos.

Objetivos específicos

- Descrever a condutividade sanguínea em função da concentração de glicose;

- Investigar a validade da utilização de sangue bovino *in vitro* para modelagem de sangue humano;
- Investigar a dinâmica do metabolismo da glicose na condutividade elétrica;
- Medir e investigar a absorbância de diferentes concentrações de glicose do sangue humano *ex vivo* em um grupo de voluntários saudáveis;
- Encontrar um coeficiente de extinção de glicose imerso em sangue humano;
- Avaliar a aplicabilidade da glicemia analítica em dispositivos não invasivos de medição baseados em espectroscopia de bioimpedância elétrica e fotometria.

1.3 JUSTIFICATIVA

As redes neurais artificiais (ANNs), devido a maneira como são construídas, tem um aumento na margem de erro proporcional a diferença que a sua amostra apresenta em relação ao seu grupo de treinamento, o que não acontece em um modelo analítico. O que pode ocorrer são erros propagados, que estão na maior parte das vezes associados a componentes da metodologia utilizada.

A ideia não é eliminar o uso da ANN, é agregar acurácia aos dispositivos desenvolvidos. Além de possibilitar uma interpolação de técnicas, pois um modelo matemático possibilita a visualização da correlação entre os parâmetros internos do sistema, diferentemente da ANN.

1.4 ESTRUTURA DA TESE

No capítulo 2 um embasamento teórico é apresentado para esclarecer as afirmações de seções seguintes. O que é a EMT e as equações de Bruggman, a reologia do sangue humano, efeitos do diabetes no sangue, técnicas não invasivas existentes, fundamentos da espectroscopia de impedância elétrica e os fundamentos da fotometria são os tópicos que compõem este capítulo.

O capítulo 3 apresenta materiais e métodos. O desenvolvimento matemático para regressões de curva, descrição dos testes de bancada e rotina de colheita de amostras são explicados nesta seção. Contém textos, figuras explicativas e álgebra.

Capítulo 4 foi destinado para resultados e discussões. Tanto no capítulo 3 quanto no 4 as pesquisas estão divididas em dois grandes blocos: espectro de bioimpedância elétrica e fotometria. As pesquisas estão em ordem cronológica dentro de cada bloco. Portanto, no capítulo 4 estão presentes gráficos teóricos e experimentais, figuras explicativas, cálculos, análise de erros, extrapolações e hipóteses.

Por fim, o capítulo 5 discute a validade do modelo BGP para amostras em geral, desqualifica testes *in vitro* para representar o metabolismo de glicose neste tipo de estudo e classifica sua metodologia de cálculo de sensibilidade via COMSOL distinta da encontrada na literatura.

Quanto a fotometria, refere-se sucintamente aos pontos de absorção máxima e qual tipo de regressão de curva é mais adequada. Ainda nesta seção há vislumbres de trabalhos futuros para ambas pesquisas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo encontra-se o embasamento teórico de apoio à compreensão deste trabalho. Inicia-se com questões relativas a EMT (*Effective Medium Theory*) e ao modelo de Bruggeman seguidas pelo esboço do problema da diabetes na humanidade e a descrição do sangue através de sua reologia e mudanças associadas a doença. Por fim, uma revisão de algumas técnicas não invasivas, o maior foco em espectroscopia de bioimpedância elétrica e fotometria.

2.1 TEORIA DO MEIO EFETIVO E O MODELO DE BRUGGEMAM

A EMT contempla modelos analíticos ou teóricos para descrever propriedades macroscópicas de sistemas compostos. As propriedades desses materiais são desenvolvidas a partir de um formalismo estatístico baseadas nas frações relativas de seus componentes (CHOY, 2015).

Foi proposta pela primeira vez por Bruggeman e, em outro contexto, por Landauer (STROUD, 1998). Desde sua invenção, tem sido a base de um grande número de estudos de meios macroscopicamente não homogêneos e foi generalizado por vários outros (MICHELS, 1992)(PAL, 2007)(MCLACHLAN, 1988)(BOUKNAITIR I.; ARIBOU, 2017)(MCLACHLAN, 2000) para tratar de uma ampla variedade de problemas. Estas modelagens enquadram-se em estudos voltados ao desenvolvimento tecnológico atual como, por exemplo, a aplicação da teoria da percolação na modelagem e simulação de reservatórios de petróleo (PEREIRA, 2006), análise de modelos de condutividade elétrica CC de compósitos de nanotubos de polímero de carbono com aplicação potencial a dispositivos eletrônicos nanométricos (BERNAL R. V.; HERRERA-PÉREZ, 2013), e outros (REIS, 1993).

Na teoria a condutividade elétrica de compósitos depende sensivelmente da concentração relativa das fases, da forma e distribuição dos componentes. Supõe-se que cada grão elipsoidal de um compósito está, em média, envolvido por uma composição que tem a condutividade efetiva do compósito (FONSECA, 1996)(ZHBANOV A.; YANG, 2015). Na Figura 1 há possibilidades de distribuição de grãos isolantes em uma matriz condutora.

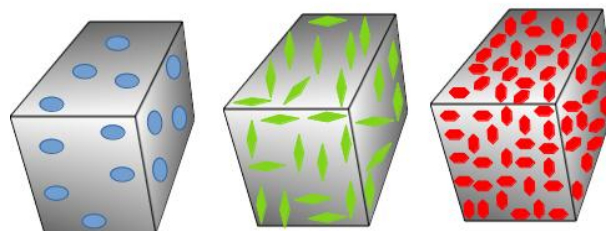


Figura 1 – Representação de distribuições aleatórias de grãos isolantes em um meio condutor.
Fonte: Autora (2020).

O sangue é um meio não homogêneo onde a condutividade elétrica varia com espaço, ele pode então ser modelado através da EMT. E segundo o exposto em (ZHBANOV A.; YANG, 2015), o melhor candidato para tal situação é o modelo de Bruggeman para meios assimétricos, considerando inclusões de grãos esféricos, que são:

$$\frac{(\sigma_m - \sigma_l)^3}{\sigma_m} = (1 - k)^3 \frac{(\sigma_h - \sigma_l)^3}{\sigma_h}, \quad (1)$$

$$\frac{(\sigma_m - \sigma_l)^3}{\sigma_m} = (1 - \phi)^3 \frac{(\sigma_l - \sigma_h)^3}{\sigma_l}. \quad (2)$$

onde σ_m é a condutividade média do material bifásico: um de alta condutividade representado por σ_h e um de baixa condutividade, (σ_l). As frações volumétricas das fases de alta e baixa condutividade são representadas por ϕ e k respectivamente. Esta definição implica que $\phi = (1 - k)$.

2.2 DIBETES MELLITUS

A história, impactos socioeconômicos e o problema causado pela enfermidade serão discutidas a seguir.

História

A Diabetes Mellitus é simbolizada pelo aumento da concentração de açúcar no sangue, e até pelo acúmulo. Esse efeito é causado pela falta de insulina, hormônio produzido pelo pâncreas. Os tipos mais comuns são: tipo 1 (caracterizada pela pouca ou falta de ação do hormônio) e tipo 2 (ocorre quando se desenvolve uma resistência a ação da insulina pelo organismo).

Há cerca de 1500 a.C os egípcios já registravam algo semelhante aos sintomas da doença, urinação frequente, que mais tarde deu origem ao termo *diabetes* que significa "sifão" em grego. Mil anos depois, indianos constatam a atração de insetos para a urina devido a presença de glicose, fato que foi confirmado em 1675 por Thomas Willis que acrescentou o termo *Mellitus* a disfunção. Entretanto, foi só 1889 que a deficiência na produção de insulina foi relacionada a causa da doença, por Joseph von Mering e Oskar Minkowski através da manifestação sintomática em cães com pâncreas removidos (AHMED, 2002).

Em 1923 Banting, Mcleod e Best recebem o Nobel da Medicina por descobrirem a insulina e devido a recusa de Banting e patentear a descoberta a data de 14 de novembro, aniversário de Banting, se tornou o Dia Mundial do Diabetes. Mas, a produção de insulina de origem humana só aconteceu em 1980 e a produção de uma insulina bio sintética apenas em 1983. E faz um pouco mais de 40 anos que o primeiro sistema de administração de insulina sem agulha foi desenvolvido (AHMED, 2002).

Desta maneira, é evidente que a busca por compreensão a doença e suas complicações acompanham a humanidade há muito tempo e continuam sendo foco de pesquisa para erradicação de custos do sistema de saúde e aumento de qualidade de vida dos portadores.

Impactos da doença

A glicose é o principal carboidrato transportador de energia encontrado na maioria dos animais. Em humanos, a concentração de glicose no sangue pode variar de 90 mg/dl a 110 mg/dL (ZHBANOV A.; YANG, 2015) para condições saudáveis. Qualquer valor fora dessa faixa rotineiramente e perpetuamente é perigoso.

O diabetes causou globalmente mais de seis milhões de mortes em 2021 e só no Brasil foram 214 mil mortes por consequências da doença (UMEMURA, 2022). As complicações crônicas do diabetes são particularmente graves. Atingem um grande número de pacientes diabéticos alguns anos após o início da síndrome. Determinam morbidade e mortalidade e podem ser divididas em complicações vasculares e não vasculares. A etiopatogenia das complicações crônicas da doença é caracterizada por microangiopatia diabética, retinopatia diabética, nefropatia e viscosidade anômala do sangue (AZEVEDO, 1986). Por esta razão, muitas técnicas para o desenvolvimento de dispositivos de monitoramento vem sendo desenvolvidas, algumas das encontradas na literatura especialmente elaboradas para atender pessoas com diabetes como (MAGLIANO D. J.; BOYKO, 2022) (HUANG J.; ZHANG, 2020)(GENG Z.; TANG, 2017).

O problema

A maioria dos sistemas confiáveis são invasivos, significando a necessidade de amostra de sangue. Além de ser desconfortável, num quadro grave da doença onde a punção precisa ser frequente e a cicatrização do paciente está comprometida, deixa propenso a infecções pela abertura de feridas na pele do paciente (SANTOS, 2018). Por esse motivo, desenvolver dispositivos não invasivos para medição precisa e confiável da concentração de glicose no sangue é um tema marcante na literatura especializada (RAJINDER, 2007). Esses dispositivos podem melhorar a qualidade da saúde das pessoas com diabetes, permitindo o monitoramento contínuo dos níveis de glicose e levando a uma administração mais coerente dos medicamentos.

2.3 SANGUE

Discorre-se a seguir um esboço teórico sobre a reologia do sangue e os efeitos da instalação da doença no organismo que desencadeiam o estresse oxidativo.

A reologia do Sangue

O sangue é uma suspensão composta por duas fases, uma fase aquosa contínua representada por plasma que contém sais, açúcares, proteínas e outra fase discreta que inclui leucócitos, plaquetas e eritrócitos, que constituem mais de 99,5% das partículas. O plasma é um fluido newtoniano, mas o sangue tem um comportamento não newtoniano, principalmente devido à presença de hemácias (PEREIRA M. G.; MALAGONI, 2015). Possui características de fluidos Bingham ¹, pseudoplásticos e emulsões concentradas. A principal propriedade reológica do sangue estudado é a viscosidade aparente do sangue, escalonada pela viscosidade do plasma (CARVALHO, 2006).

Alguns dos determinantes da viscosidade do sangue são a massa de eritrócitos, sua deformabilidade e agregação, e também a concentração de proteínas plasmáticas. A diminuição da deformabilidade eritrocitária tem várias causas: alteração da hemoglobina (glicosilação, autooxidação, hemoglobinas anormais, etc.), alteração dos lipídios de membrana (relação fosfolípido/colesterol alterada e formação de lipoperóxidos), acúmulo de sorbitol e glicosilação de proteínas de membrana (principalmente espectrina, torna o glóbulo mais rígido e menos deformável) (AZEVEDO, 1986).

As complicações devido o diabetes

Nos estágios avançados das complicações do diabetes, seja por desconhecimento ou indisciplina, os eritrócitos sofrem deformações como anisocitose e poiquilocitose devido ao enrijecimento da parede das hemácias, levando à crenação (SOMER T.; MEISELMAN, 1993). O enrijecimento dos glóbulos vermelhos ocorre porque o auto valor da glicose no sangue leva ao desequilíbrio eletrolítico na membrana celular e também ao estresse oxidativo, que é uma das principais causas de dano celular (BAYNES, 1991). Consequentemente, as células se agregam mais facilmente e não podem se curvar para passar por vias mais estreitas, como capilares (SOMER T.; MEISELMAN, 1993).

Outro problema é a diminuição das proteínas plasmáticas que deixam de exercer funções osmóticas devido à glicosilação ², fenômenos como frutossamina e solvatação são parte do ciclo vicioso que é o estresse oxidativo. Como consequência tem-se a desidratação, sobrecarga renal, aumento da pressão arterial e cetoacidose.

Essas alterações na viscosidade sanguínea do sangue em pacientes diabéticos são discutidas em inúmeros trabalhos, dentre eles (SOMER T.; MEISELMAN, 1993) mostra na Figura 1 que existe um comportamento linear da viscosidade para medir apenas plasma e plasma contendo células rígidas, mostrando que a viscosidade do sangue da solução com os corpos granulados é maior. Também mostra o comportamento não linear da viscosidade do plasma contendo células normais e do plasma contendo também células normais e fibrinogênio, cuja diferença resultou

¹ Se comporta como um sólido em valores baixos da tensão de cisalhamento e como um fluido newtoniano quando a tensão de cisalhamento ultrapassa um valor crítico

² A glicosilação é um processo no qual açúcares são adicionados a proteínas e lipídios, transformando-os em glicoproteínas e glicolipídios.

em menores níveis de agregação de hemácias. Se for analisado o comportamento da curva com células rígidas em relação às células normais e ao fibrinogênio, fica evidente que há uma mudança na viscosidade do sangue diabético para o normal, justificada pelas alterações na rigidez das hemácias e pelo desequilíbrio do plasma proteínas.

Estudos das propriedades reológicas e elétricas do sangue afirmam que a viscosidade é maior em diabéticos, resultando em maior agregação e menor deformidade das hemácias (DESOUKY, 2009), a constante dielétrica e condutividade também são maiores para pacientes com a doença (ABDALLA S.;AL-AMEER, 2010).

Na revisão da literatura, os hematócritos, fibrinogênio e temperatura são fatores influentes na viscosidade sanguínea (OLIVEIRA, 2009)(HUND S.J.; KAMENEVA, 2017). No entanto, correlações dessa grandeza física com a glicose e albumina não são mencionados, o que torna análise inclusa neste trabalho única e sem comparativos.

2.4 MEDIÇÃO NÃO INVASIVA

Apontamentos sobre os dispositivos não invasivos de medição de glicose existente e uma revisão bibliográfica sobre as diferentes metodologias existentes para tal fim serão percorridas nesta seção.

Esboço

Discussões sobre a importância de testes não invasivos de glicose e tentativas de medição são comuns na literatura (GINSBERG, 1992)(KLONOFF, 1997)(HEISE, 1996)(COTÉ, 1997)(HEISE H. M.; BITTNER, 1998). No entanto, nem todos os dispositivos produzidos comercialmente estão em conformidade com o consenso (MICHELS, 1992). O principal fator de erro é o erro do usuário, exemplos desses erros estão associados ao volume da gota de sangue, a precisão com que a gota de sangue é colocada no reservatório, os efeitos do hematócrito no volume do soro, o tempo e o efeito da temperatura na reação geradora do sinal. Portanto, pode-se inferir que a metodologia não invasiva pode resolver alguns desses problemas, mas pode apresentar outros erros proeminentes específicos a ela mesma.

Define-se para este trabalho um dispositivo não invasivo de monitoramento de glicose como um aparato que não exige uma protrusão ou amostra de fluido corporal (WILSON G. S.; ZHANG, 1992). Portanto, um monitor de glicose não invasivo processa sinais elétricos ou ópticos transmitidos ou refletidos pelo estrato córneo, derme e epiderme, tecido sanguíneo, fluido intersticial e vasos sanguíneos (arterial e venoso). Cada uma dessas regiões possui propriedades físicas, concentrações de interferentes e concentrações de glicose diferentes. Logo, o resultado do valor de glicose determinado por um dispositivo não invasivo pode representar um valor médio de diferentes concentrações de glicose, pois a medição de glicose no sangue pode variar de acordo com a localização do corpo, dependendo das diferenças nas propriedades vasculares e

nos tecidos de cada parte (KHALIL, 1999).

Monitores de glicose não invasivos podem ser projetados para testes no Centro de Saúde (SCHWARTZ M. W.; KRINSLEY, 2023) ou monitores pessoais portáteis, o que afetará o atendimento ao paciente. Seu uso aumentará a frequência de exames e levará a um controle mais rigoroso do diabetes. Esses dispositivos precisavam de um sistema de detecção que não seja demasiadamente afetados por fatores ambientais, algoritmos robustos, rotinas de calibração rigorosas e eletrônica e óptica em miniatura.

Sistemas não invasivos de medição de glicose

Uma das metodologias de pesquisa para medições não invasivas de glicose usa modelos de computador baseados na correlação entre os valores de glicose medidos de métodos invasivos e os sinais ópticos ou elétricos da metodologia não invasiva. Esta abordagem não considera outros efeitos ou interferências metabólicas, ruído biológico ou variabilidade na interface corpo-instrumento. O número de variáveis é proporcional à complexidade dos dados e a análise requer o uso de técnicas quimiométricas para catalogar componentes chave, regressão por mínimos quadrados parciais ou métodos de redes neurais artificiais (BOUKNAITIR I.; ARIBOU, 2017)(MCLACHLAN, 2000).

Outra abordagem é a modelagem física (KHALIL, 1999). Neste método, um sinal óptico ou elétrico é medido primeiro em uma matriz simples e a complexidade para imitar tecidos humanos é progressivamente aumentada. O objetivo é encontrar a correlação dos dados com uma modelagem matemática para a propagação desse sinal no tecido. Por fim, comparar-se os resultados obtidos em tecidos vivos reais pelo método não invasivo, para detecção de ruído.

Várias técnicas para o desenvolvimento de sistemas não invasivos de monitoramento de glicose estão sob investigação e desenvolvimento nas últimas décadas. As mais utilizadas serão brevemente revisadas aqui, destacando a portabilidade, usabilidade e precisão para os usuários finais.

Conformação de calor metabólico

O nível de glicose pode ser deduzido da quantidade de dissipação de calor, da taxa de fluxo sanguíneo do tecido local e do grau de saturação de oxigênio no sangue medido na ponta de um dedo (CHO O. K.; KIM, 2004). A implementação de um dispositivo pode ser realizada com sensores comuns de temperatura e umidade ou receptores infravermelhos e emissores de comprimentos de onda facilmente encontrados (950, 880, 810, 660, 535 e 470 nm). A figura 2 mostra os princípios do método. No entanto, esta técnica tem grandes chances de sofrer interferência da temperatura ambiente e iluminação externa (AMARAL C.E.; WOLF, 2008).

Espectroscopia de Infravermelho

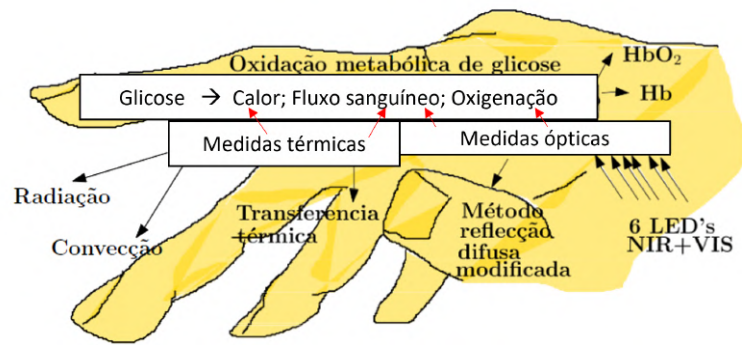


Figura 2 – Princípios do método de conformação de calor metabólico. Fonte: adaptado de (SANTOS P.; TEODORO, 2014). A medida da concentração de glicose depende do calor, fluxo sanguíneo e oxigenação; estes parâmetros são obtidos a partir das medidas térmicas e ópticas.

Técnica em que são utilizadas medidas da intensidade da radiação infravermelha absorvida pelos tecidos. Fenômenos de absorção, dispersão e emissão ocorrem quando a radiação é direcionada a uma amostra e estão relacionados à sua composição estrutural e química. A molécula de glicose possui bandas de absorção específicas que permitem analisar os dados coletados para determinar o teor de glicose na amostra. As radiações no infravermelho próximo (NIR) e no infravermelho médio (MIR) são as mais utilizadas nesta técnica. Na figura 3 está representado um esquema básico usado para este método.

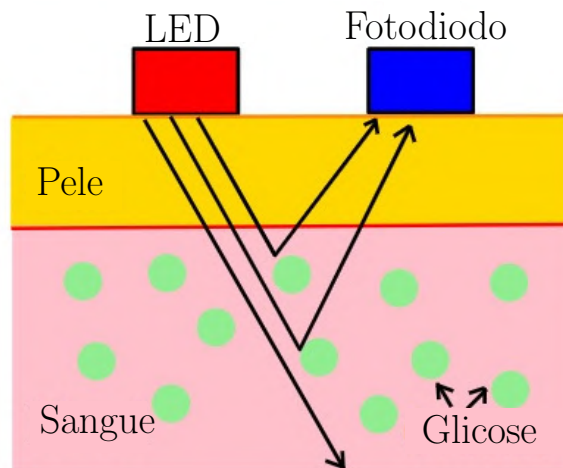


Figura 3 – Esquema básico da técnica de Espectroscopia de Infravermelho. Onde usa características de dispersão óptica da própria glicose. A luz é emitida para LED (diodo emissor de luz) e coletada para PD (fotodiodo). À medida que o nível de glicose no sangue aumenta, a intensidade da luz infravermelha refletida também aumenta. Fonte: autora (2020).

A espectroscopia NIR estima a concentração de glicose medindo a intensidade de transmissão e/ou reflexão da luz, relacionando essas medidas com a intensidade de absorção de

radiação. Utiliza radiação com comprimento de onda na faixa de 750 nm a 2500 nm, com penetração na faixa de 1 a 100 mm de profundidade nos tecidos. A técnica já foi aplicada em medidas na ponta dos dedos, entre os dedos, na pele dos antebraços, nos braços, na mucosa labial, na mucosa bucal, na língua, nas bochechas, no septo nasal e nos lóbulos das orelhas (TURA A.; MARAN, 2007). As principais vantagens da espectroscopia NIR são a alta sensibilidade dos detectores fotocondutores (SO C.; CHOI, 2012) e os custos relativamente baixos para sua aplicabilidade, bem como a disponibilidade de produtos comercialmente.

A espectroscopia MIR apresenta menor dispersão e maior absorção em relação à NIR (LILIENFELD-TOAL H.; WEIDENULLER, 2005) e também por possuir as bandas de absorção da glicose e outros componentes mais nítidos. No entanto, as duas técnicas apresentam os mesmos problemas: diferenças fisiológicas entre indivíduos não relacionados à glicemia, a fração relativamente pequena de glicose no sangue e problemas de sensibilidade e estabilidade do hardware (SO C.; CHOI, 2012). Um dispositivo chamado Diasensor baseado em espectroscopia NIR foi lançado, porém, não teve um bom desempenho e logo foi retirado do mercado (SMITH, 2006).

Espectroscopia de Fluorescência

A espectroscopia de fluorescência ou fluorometria, é um tipo de espectroscopia eletromagnética que analisa a fluorescência de uma amostra. Baseia-se na detecção da fluorescência emitida pelos tecidos quando excitados por radiação de frequências específicas. Um exemplo é uma solução de glicose excitada por luz ultravioleta de 308 nm onde a emissão de luz na forma de fluorescência pode ser detectada em 340, 380 e 400 nm, com intensidade dependente da concentração de glicose na solução (KHALIL, 2004).

Todos os instrumentos de fluorescência contêm três itens básicos: uma fonte de luz, um porta-amostras e um detector. Além disso, para ser de uso analítico, o comprimento de onda da radiação incidente precisa ser selecionável e o sinal do detector capaz de manipulação e apresentação precisas (SHARMA A.; SCHULMAN, 1999), como mostra na figura 4.

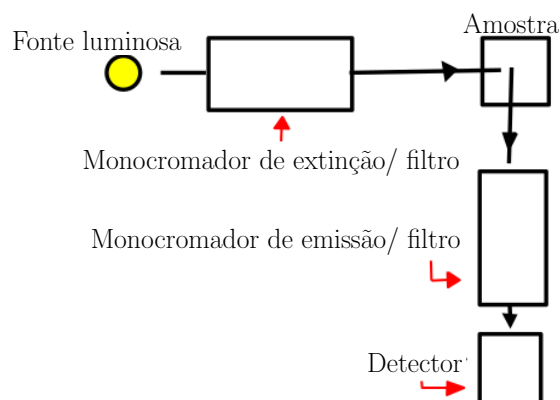


Figura 4 – Componentes essenciais de um espectrômetro de fluorescência. Fonte: autora (2020).

A vantagem desta técnica é que seu sinal não é afetado por flutuações na intensidade

da luz ambiente. No entanto, quando medido em locais como os braços, é dependente de outros parâmetros além da glicose, como pigmentação e espessura da pele (SANDBY-MOLLER J.; POULSEN, 2003). Assim, os olhos são as regiões mais comumente direcionadas à medição, por um feixe de luz que os atravessa tangencialmente.

Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica fotônica de alta resolução que pode fornecer informações químicas e estruturais sobre a maioria dos materiais, composto orgânico ou inorgânico, permitindo sua identificação a partir da medição da radiação dispersa pelos tecidos. A radiação quando direcionada a uma amostra exibe o fenômeno de dispersão e a parte da radiação espalhada apresenta uma mudança no comprimento de onda e uma redução na intensidade, o que está relacionado à composição estrutural e química da amostra. A figura 5 designa um esquema de uma possível configuração de espectroscopia Raman dispersiva. Os lasers monocromáticos são uma tendência em relação às fontes de radiação utilizadas nesta técnica, com comprimentos de onda que variam de 785 a 830 nm (LOSOYA-LEAL A.; CAMACHO-LÉON, 2012).

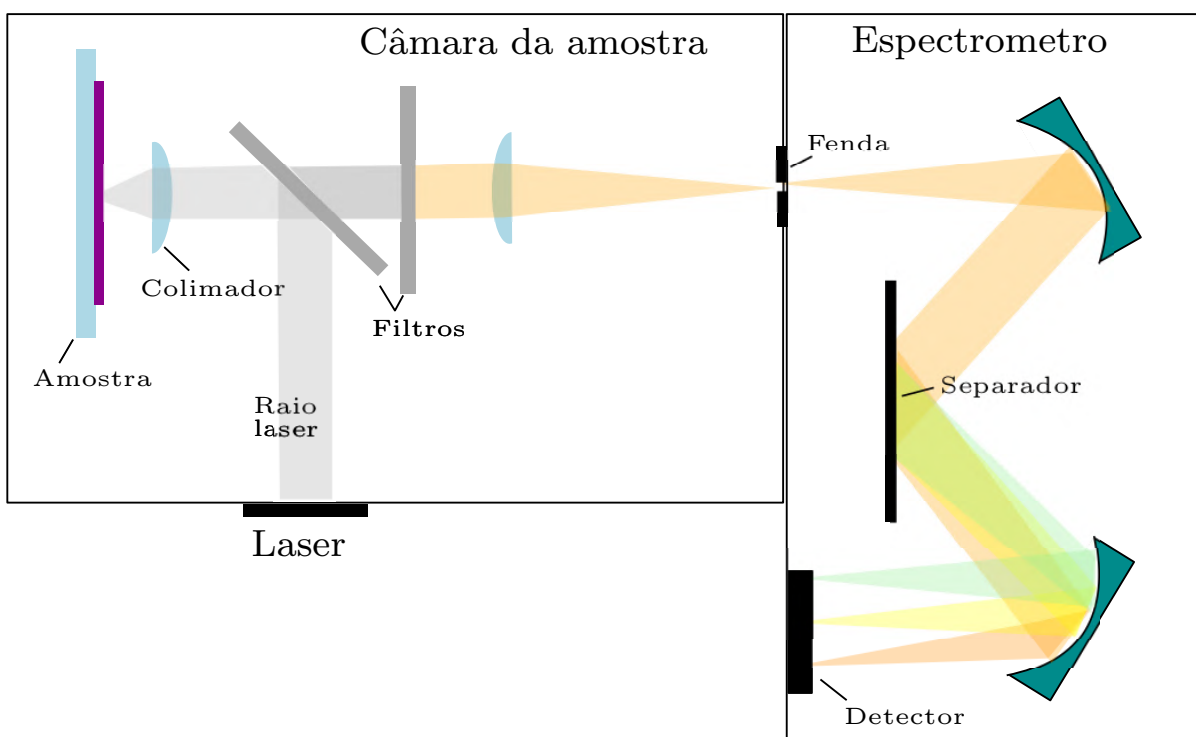


Figura 5 – Esquema de uma possível configuração de espectroscopia Raman dispersiva. Fonte: adaptado de (OTERO J.; CANO, 2015).

Entre as vantagens, a separação dos sinais de diferentes compostos é simples e a não interferência da água nos espectros devido ao seu pequeno índice de dispersão. No entanto, a instabilidade da intensidade e comprimento de onda do laser ainda é uma limitação. E, ainda assim, há necessidade de maiores investigações sobre os danos teciduais antes que a técnica

possa ser utilizada em humanos, pois o local hipotético escolhido para aplicação são os olhos (VASHIST, 2012).

Iontoforese Reversa

A iontoforese é usada para fornecer medicamentos pela pele através da aplicação de corrente elétrica. E a iontoforese reversa transporta a glicose para fora da pele, ou seja, na direção oposta à da iontoforese. Envolve a aplicação de um potencial elétrico entre um ânodo e um cátodo posicionado na superfície da pele como mostra a figura 6. As moléculas de glicose não carregadas presentes no líquido intersticial são transportadas junto com os íons através da pele e coletadas no cátodo. Sucessivamente, a concentração de glicose é então medida usando um sensor de glicose convencional.

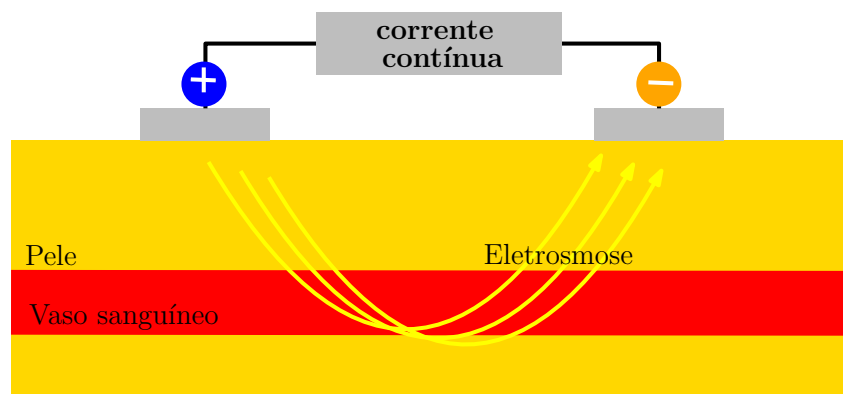


Figura 6 – Uma representação esquemática do princípio da iontoforese reversa. Fonte: autora (2020).

A desvantagem desta técnica é a interferência na medição da glicose devido à sudorese do sujeito, a necessidade de um tempo mínimo para que haja glicose suficiente disponível para a medição e irritabilidade cutânea apresentada em humanos (VASHIST, 2012).

Espectroscopia Fotoacústica

A técnica fotoacústica baseia-se na detecção de ondas de pressão geradas pela absorção de fótons. Baseia-se na interação do feixe de laser projetado com células do tecido que gera calor e provoca variações de pressão na amostra que podem ser monitoradas por um transdutor piezoelétrico. A detecção seletiva de glicose no sangue pode ser feita usando comprimentos de onda específicos do feixe de laser incidente. A figura 7 mostra um esquema do princípio da técnica de Espectroscopia Fotoacústica.

A técnica não é afetada pela água devido à sua fraca resposta fotoacústica. Além disso, pode empregar luz laser com uma ampla faixa de comprimento de onda de ultravioleta a NIR. No entanto, é sensível a mudanças de temperatura, pressão e outros parâmetros ambientais, e também é afetado pela interferência de substâncias fisiológicas (VASHIST, 2012)(PODDAR

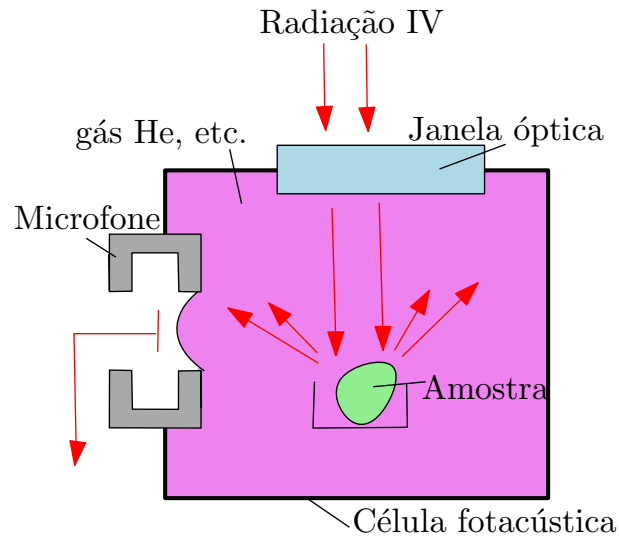


Figura 7 – Princípio de Espectroscopia Fotoacústica. Fonte: adaptado de (SNOOK R.D.; MITCHEM, 2005).

R.; ANDREWS, 2008).

Espectroscopia ocular

A técnica mede a concentração de glicose nas lágrimas com lentes de contato fixadas em hidrogel. Uma pastilha de hidrogel à base de derivados de ácido borônico com $7\mu\text{m}$ de espessura foi fixada à lente de contato, na qual os derivados de ácido borônico formam ligações covalentes reversíveis com a glicose nas lágrimas. A lente é iluminada por uma fonte de luz e a mudança no comprimento de onda da luz refletida, relacionada à concentração de glicose nas lágrimas, é detectada por um espectrômetro, figura 8. No entanto, a técnica sofre de limitações potenciais devido ao uso desconfortável de lentes de contato e ao intervalo de tempo entre a concentração de glicose no sangue e as lágrimas. Além disso, biocompatibilidade, vida útil e resolução do sinal ainda requerem melhorias consideráveis (DOMSCHKE A.; MARCH, 2006).

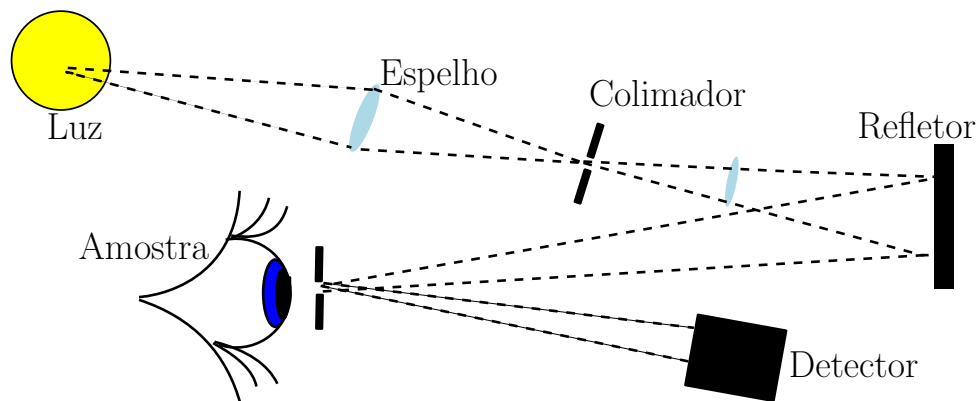


Figura 8 – Princípio de espectroscopia ocular. Fonte: autora (2020).

Polarimetria

Com base na rotação do vetor de polarização linear da luz pela espessura (Figura 9), temperatura e concentrações da amostra, quando a luz polarizada passa por uma solução contendo solutos opticamente ativos, como a glicose. No entanto, os altos coeficientes de espalhamento da pele causam a despolarização completa do feixe. Portanto, o humor aquoso do olho com um meio óptico claro com um comprimento de caminho apropriado é ideal para monitorar a glicose não invasiva.

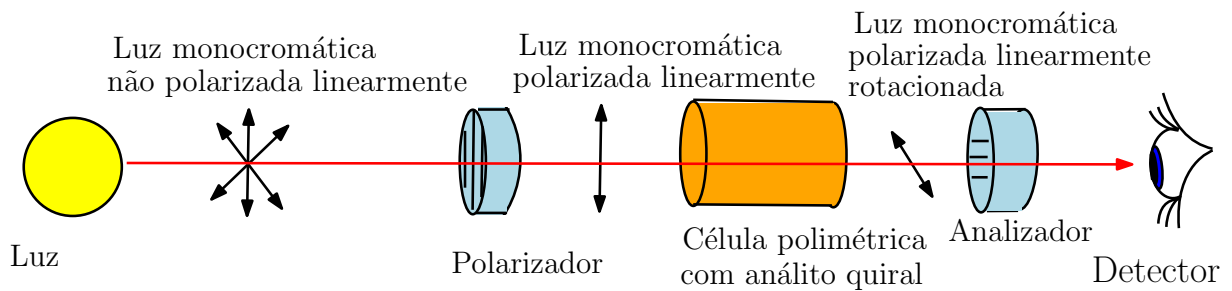


Figura 9 – Princípio de Polarimetria. Fonte: autora (2020).

A polarimetria não é afetada por flutuações de temperatura e pH. Mas tem limitações como interferência de artefatos de movimento e ruído óptico de outras substâncias, preocupações com a segurança da exposição dos olhos à luz e a necessidade de tecnologia para medir pequenos ângulos. Esta técnica tem baixa especificidade para glicose em fluidos fisiológicos devido à interferência de vários solutos opticamente ativos. A dispersão da luz pelos tecidos também afeta as medições (CAMERON B.D; BABA, 2001).

Ultrassom

Técnica considerada minimamente invasiva, pois cria micróporos na pele, também conhecida como sonoforese (VASHIST, 2012), emprega um transdutor piezoelétrico para criar um ultrassom de 20 kHz que aumenta a permissividade da pele ao fluido intersticial e transporta glicose para a epiderme, no qual é medido por um sensor eletroquímico convencional (Figura 10). Existem experimentos *in vivo*, realizados em ratos, para determinar a concentração de glicose no líquido intersticial (LEE S.; NAYAK, 2005).

Sensor eletromagnético

Alterações na concentração de glicose no sangue alteram seus parâmetros dielétricos que podem ser detectados por meio de sensores eletromagnéticos baseados em correntes parasitas (Figura 11). A ressonância magnética nuclear localizada pode detectar o metabolismo do glicogênio no cérebro humano. As medições de glicose por esta técnica são fortemente afetadas por mudanças na temperatura e mudanças nos parâmetros dielétricos do sangue devido a outros componentes fisiológicos (VASHIST, 2012).

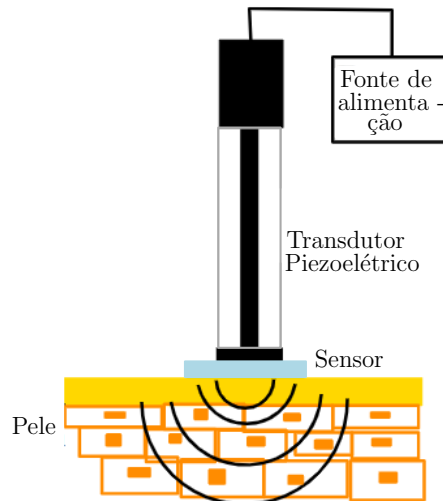


Figura 10 – Conceito para medir a concentração de glicose usando detecção de sonoforese.
Fonte: adaptado de (MANIKKATH J.; HEGDE, 2016).

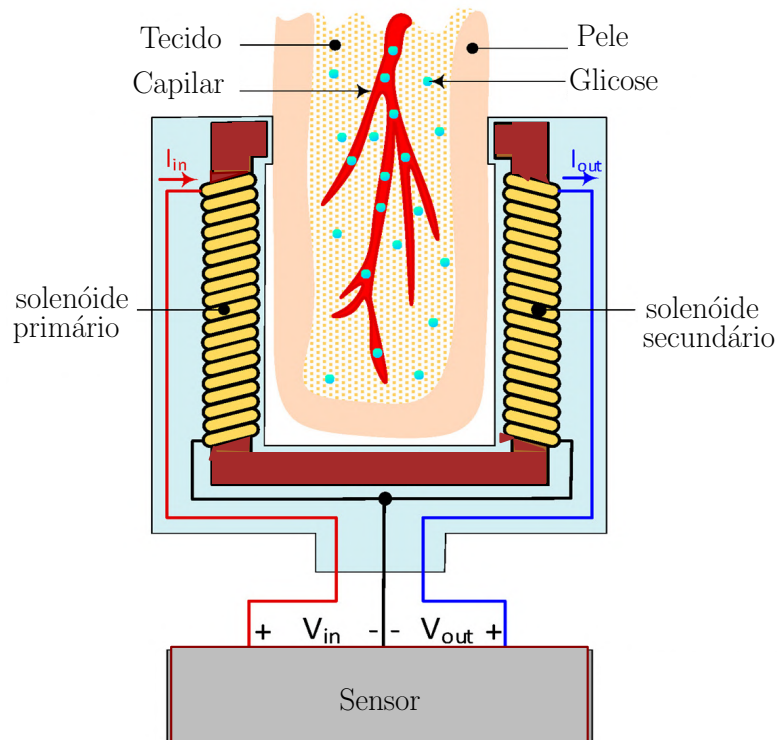


Figura 11 – Conceito para medir a concentração de glicose usando sensor eletromagnético.
Fonte: adaptado de (GONZALES W.; MOBASHSHER, 2019).

Refletância localizada regulada por temperatura

Esta técnica analisa a modulação da temperatura da luz refletida localizada devido ao espalhamento. A concentração de glicose na derme é estimada por medições na pele do antebraço. Variações na temperatura causam alterações no índice de refração dos tecidos que afetam a dispersão da luz dependendo da concentração de glicose (Figura 12). No entanto, vários parâmetros fisiológicos, posição da sonda e várias condições de doença, como as associadas à

febre, podem afetar a medição da glicose (VASHIST, 2012).

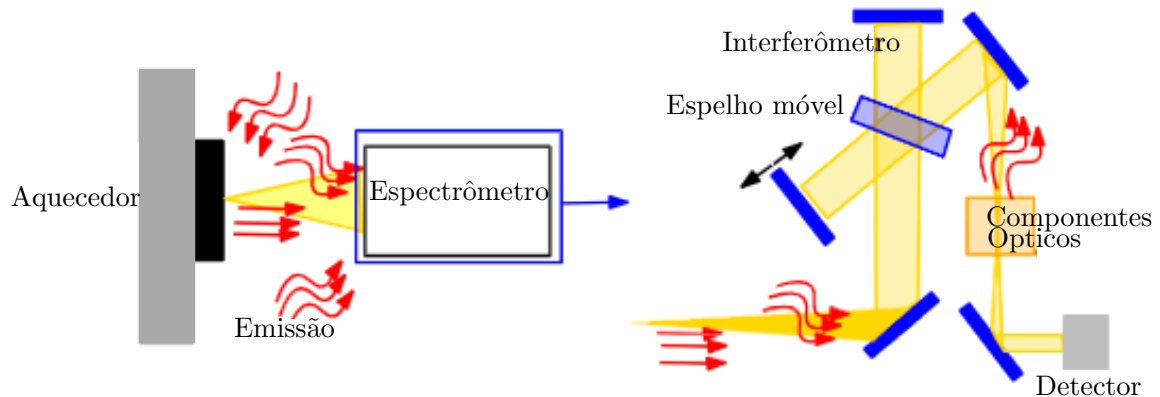


Figura 12 – Configuração de refletância localizada regulada por temperatura. Fonte: autora (2020).

Tomografia de coerência óptica

A tomografia de coerência óptica (OCT) é semelhante à técnica de espalhamento de luz, pois explora o espalhamento de luz. No entanto, baseia-se no atraso da luz retroespalhada em relação à luz refletida pelo espelho do braço de referência, enquanto a técnica de espalhamento de luz emprega a intensidade da luz coletada (Figura 13). Sua limitação é a sensibilidade ao movimento e mudanças na temperatura da pele (VASHIST, 2012)(PODDAR R.; ANDREWS, 2008).

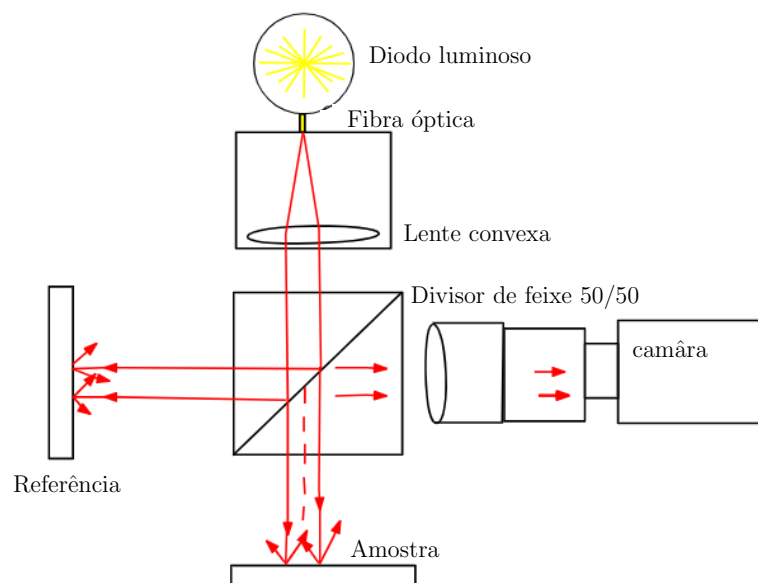


Figura 13 – A câmera funciona como uma matriz de detectores bidimensionais e, com a técnica OCT facilitando a varredura em profundidade, é obtido um dispositivo de imagem tridimensional não invasivo. Fonte: adaptado de (CABALEIRO P.; DE MOURA, 2019).

Espectroscopia de emissão térmica

Esta técnica utiliza um conceito semelhante ao utilizado em termômetros clínicos de membrana timpânica e seus fundamentos são semelhantes à técnica de refletância localizada regulada por temperatura como mostrado na Figura 12 . Ele mede os sinais infravermelhos emitidos naturalmente que são gerados no corpo humano devido a mudanças na concentração de glicose. A diferença é que no caso de monitoramento de glicose os comprimentos de onda específicos para glicose ($9,8\mu\text{ m}$ e $10,9\mu\text{ m}$) também são adicionados. A pele do antebraço, ponta do dedo ou orelha pode determinar a concentração de glicose, uma vez que os efeitos da absorção na radiação IR estão diretamente relacionados à sua concentração. A membrana timpânica é ideal para monitorar a glicose, pois os sinais de detecção de glicose dos vasos sanguíneos precisam cruzar caminhos menores. A técnica demonstrou boa reprodutibilidade, mas a temperatura e os movimentos corporais interferem no sinal de detecção de glicose (VASHIST, 2012).

Espectroscopia de bioimpedância Elétrica

Baseia-se na medição da impedância de um tecido utilizando correntes alternadas de intensidade conhecida (Figura 14). O espectro de impedância é medido em diferentes faixas de frequência. Alterações na concentração de glicose no plasma alteram o potencial de membrana das hemácias (hemácias), variando suas concentrações de íons sódio e potássio. As alterações no potencial de membrana dos eritrócitos são então determinadas pelo espectro de impedância. No entanto, esta técnica tem limitações, pois é afetada pelo teor de água e estados de doença que afetam a membrana celular (VASHIST, 2012)(BERTEMES-FILHO, 2002)(WENTHOLT I.; HOEKSTRA, 2005).

Outras tecnologias

Outras tecnologias vêm sendo estudadas e aplicadas, algumas delas ainda em estado comercial e aguardando aprovação dos órgãos reguladores. Um deles é o *Pendra* baseado na técnica de espectroscopia de bioimpedância (WENTHOLT I.; HOEKSTRA, 2005). Outro é o *Glucowatch*, baseado na técnica de iontoforese reversa (RIERNEY M. J.; TAMADA, 2000). Ambos foram comercializados, porém logo foram retirados de circulação devido à baixa confiabilidade (SMITH, 2006).

Outro dispositivo com o nome de *Glucotrack™* (LIN T.; MAYZEL, 2018) usa princípios combinados de ultra-som, eletromagnetismo e térmico. Este tem aprovação e comercialização em alguns países.

O uso da combinação de mais de um princípio parece ser uma tendência, o que é chamado de medição multissensor. Exemplos de dispositivos multissensoriais em desenvolvimento e teste são *Everion®* e *Glucopred* (SILVA, 2017), entre outros (ALVES, 2007)(PARK J.; KIM, 2018)(SAU, 2015).

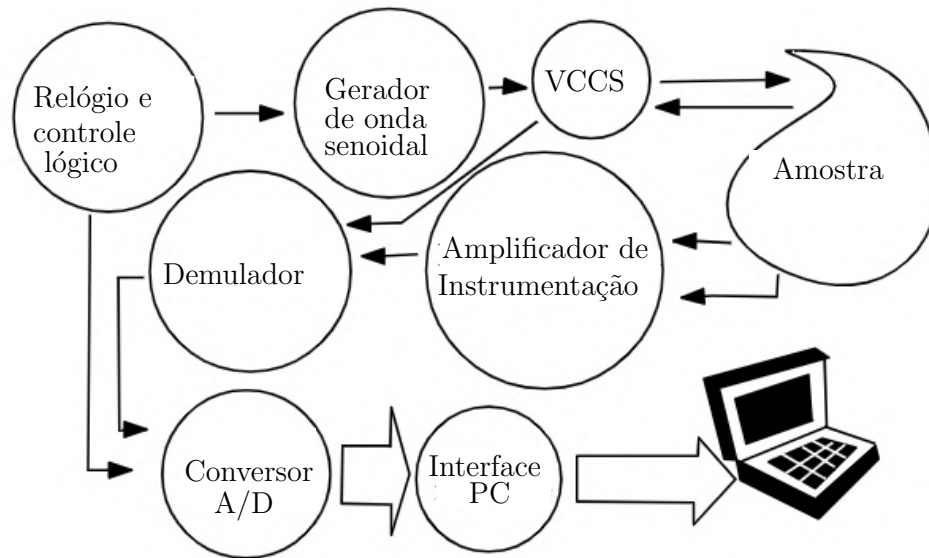


Figura 14 – Conceitos gerais de um sistema para medir a impedância de transferência, onde VCCS é a fonte de corrente do controlador de tensão. Fonte: adaptado de (BERTEMES-FILHO, 2002).

2.5 CALIBRAÇÃO DE DISPOSITIVOS DE MEDIÇÃO DE GLICOSE

A calibração de dispositivos de medição de glicose podem ser feitas de duas maneira. Uma é através da calibração analítica e a outra é a calibração clínica.

A calibração analítica é o conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um instrumento de medição e os valores correspondentes das grandezas estabelecidas por padrões. Para os dispositivos de medição não invasiva de glicose existem inúmeras fontes de erro que podem afetar a medição, que precisam ser eliminadas ou compensadas por um método de calibração. Entretanto, nem todas as fontes de erros podem ser encorporadas na calibração, como por exemplo posicionamento do detector, efeito da temperatura e do pulso cardíaco, movimento, pressão mecânica do dispositivo de teste, estado de hidratação, suor, volume de sangue e alteração do hematócrito (KHALIL, 1999).

Vários simuladores de tecidos foram propostos como sistemas de calibração. Alguns são suspensões de lipídios ou partículas de poliestireno em soluções com diferentes concentrações de glicose. Uma solução fantasma contendo gordura e glicose foi usada para imitar a absorção de glicose no tecido numa faixa de comprimento de onda de 2000 nm á 2500 nm (BURMEISTER J.; CHUNG, 1998). O desenvolvimento de simuladores de tecidos como padrões analíticos para a determinação da medida glicose não invasiva no tecido ainda é uma barreira a ser transpassada e que traria grande benefício para o desenvolvimento da metodologia não invasiva. Um dispositivo não invasivo que é analiticamente calibrado pode ser considerado universalmente calibrado, ou seja, pode ser usado com qualquer paciente.

Já as calibrações clínicas, realizadas in vitro e in vivo, são realizadas com o indivíduo em jejum em intervalos de tempo durante um teste de tolerância a refeições ou em um procedimento

de fixação da glicose. Esses métodos oferecem uma faixa de concentração na qual o sinal de glicose pode ser monitorado. Os dados de um OGTT³ podem ser usados para estabelecer uma resposta do dispositivo não invasivo de medida de glicose, conforme a concentração de glicose do sujeito está mudando. Esse tipo de calibração acaba incorporando efeitos fisiológicos não relacionados à glicose e leva a uma correlação de calibração que é exclusivo para o indivíduo testado. Essa curva de calibração pode precisar ser atualizada periodicamente, por meio de um teste invasivo (KHALIL, 1999).

2.6 BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA

A bioimpedância elétrica engloba todas as propriedades elétricas passivas de materiais biológicos e trata da capacidade de oposição do material a corrente elétrica. Já a espectroscopia, por definição, é toda investigação de como a absorção depende da frequência. Portanto, a espectroscopia de bioimpedância elétrica (EBE) pode ser interpretada como a absorção das ondas eletromagnéticas (EM) por uma amostra biológica perante uma "radiação" aplicada durante a variação de frequência, geralmente entre 100 Hz e 10 MHz (BERTEMES-FILHO, 2018).

A bioimpedância depende da estrutura química e física, tamanho, forma e atividade do material (ABTAHI, 2014), além de fatores como umidade do local, temperatura, atividade hormonal, fatores psicológicos e de perturbações metabólicas em momentos próximos a medição como prática de exercícios físicos (PEREIRA, 2009).

A base para as medidas de impedância é a lei de Ohm: $\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E}$, em que se assume a proporcionalidade entre a corrente elétrica através da densidade de corrente \mathbf{J} com o campo elétrico \mathbf{E} e a condutividade elétrica σ . Na prática, escreve-se $\mathbf{V} = \mathbf{Z}\mathbf{I}$ em que \mathbf{V} é a diferença de potencial entre dois pontos, \mathbf{I} é a corrente que atravessa o condutor e \mathbf{Z} é a impeditividade do condutor.

Uma maneira de medir a impedância é injetar um sinal de corrente com amplitude constante para medir a queda de tensão entre os dois eletrodos, o resultado deve ser proporcional a impedância do material: $\mathbf{Z} = \mathbf{R} + \mathbf{jX}$, em que \mathbf{R} é a resistência, \mathbf{X} a reatância e $\mathbf{j} = \sqrt{-1}$. Na prática, geralmente, utiliza-se a injeção de corrente como um sinal senoidal para estimular o material e medir a tensão. Contudo, o estímulo de tensão também é válido e, neste caso, a corrente é medida (BERTEMES-FILHO P.; TERBLANCHE, 2014).

Os resultados dizem respeito as condições fisiológicas e patológicas da amostra (BERA, 2014), como por exemplo, se um leite pode ser consumido ou não (BERTEMES-FILHO P.; VALICHESKI, 2010). Essa caracterização não invasiva de materiais, a simples aplicabilidade, o baixo custo e a fácil portabilidade tornam a técnica vantajosa para área biomédica (SRINIVASA-RAGHAVAN, 2015).

³ Oral glucose tolerance test

Propriedades elétricas da célula

Uma amostra biológica pode ser dividida em meio intracelular, extracelular e a membrana da celular. As propriedades dinâmicas destas partes ao estímulo elétrico resultam na condutividade e dieletricidade do material (GRIMNES S.; MARTINSEN, 2011).

A condutividade elétrica do tecido representa o livre transporte de íons que ocorre em quais quer das subdivisões citada acima (GRIMNES S.; MARTINSEN, 2011). Obviamente que há uma variedade de íons nos fluídos biológicos, contudo, na região externa a célula os mais comumente encontrados são os íons sódio (Na^+) e cloro (Cl^-) e no interior da célula é o potássio (K^+). A membrana possui estruturas porosas que são canais iônicos para entrada e saída dos íons na célula (SARFARAZ, 2014). Quando em baixas frequências o tecido é considerado um condutor iônico (GRIMNES S.; MARTINSEN, 2011).

Tanto no meio intra como extra celular existem moléculas polarizáveis, proteínas e macromoléculas que se alinham com campo elétrico. Elas não participam da condução iônica mas armazenam energia nesse processo de reorientação. Esse fenômeno representa a parte da dieletricidade da amostra. A outra parcela vem da membrana plasmática que é uma estrutura dielétrica que através dos canais iônicos exerce o transporte e o acúmulo de cargas (SARFARAZ, 2014).

Frequência, dispersões e corrente iônica

O comportamento característico para a permissividade e condutividade em bioimpedância no domínio da frequência é representado na 15. Quando uma molécula alinha seu momento de dipolo com campo elétrico chama-se esse fenômeno de polarização e o tempo necessário para que a célula consiga despolarizar é chamado de tempo de relaxação, ou mais comumente chamado de dispersão. Essas dispersões podem ser divididas em α , β , δ e γ . Em baixas frequências ocorre a dispersão α provocada pela condução iônica extracelular. Se aproximando dos 10 kHz ocorre dispersão β que é responsável pelas mudanças na estrutura da célula e também pela polarização e despolarização de macromoléculas. Dos 30 MHz em diante a dispersão δ está relacionada à grandes moléculas com grandes momentos de dipolos, como as proteínas. E na ordem de GHz a dispersão γ provocada pela relaxação das moléculas de água (JR J.; OKIDA, 2014).

Sendo assim, em baixas e altas frequências, as amostras biológicas podem ser consideradas um condutor dielétrico iônico. Em um tecido biológico a corrente iônica segue por caminhos diferentes para frequências diferentes. Em baixas frequências a corrente iônica não atravessa a célula, limita-se à parte extracelular, entretanto, com o aumento da frequência essa corrente adentra a região intracelular. O processo de carga e descarga ocorre tão rápido em altas frequências que a influência da membrana torna-se nula e a corrente se desloca praticamente pelo mesmo caminho dentro e fora da célula (PEREIRA, 2009). Na Figura 15 demonstra-se a relação entre a frequência e o caminho percorrido pela corrente nos tecidos.

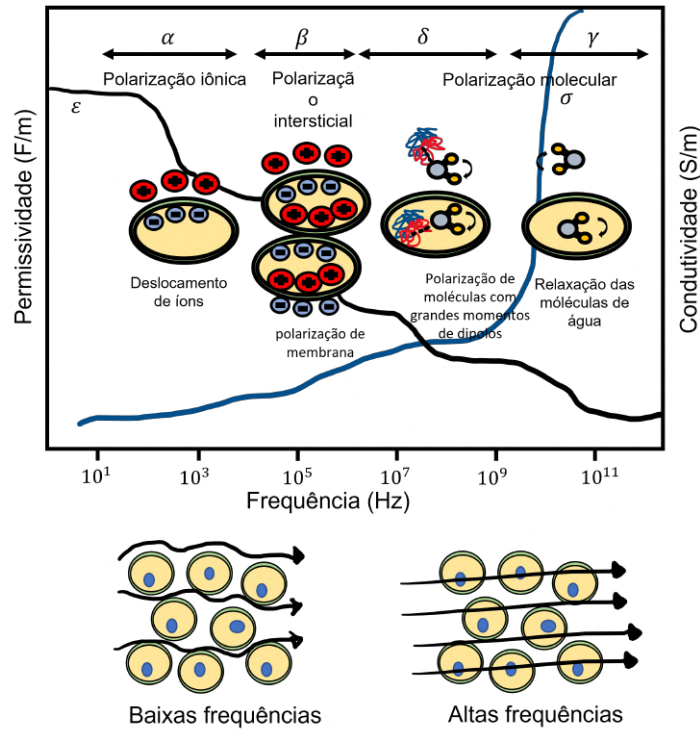


Figura 15 – Regiões de dispersão e caminho percorrido pela corrente em relação a alta e baixa frequência. Fonte: adaptado de (ABASI S.; AGGAS, 2022).

Modelos equivalentes elétricos

É possível obter modelos elétricos para representar tecidos biológicos, impondo a condição de que o tecido é apenas um aglomerado de células em um meio condutivo. Os fluidos intra e extracelulares são modelados por resistores e a membrana celular como um capacitor em paralelo com um resistor. Dentre as primeiras propostas está o modelo de Fricke (RAÚL, 2009), mas, este modelo não consegue explicar alguns fenômenos, como a mudança dielétrica em função da frequência do sinal de excitação. Em solução a este problema no ano de 1940 Kenneth S. Cole desenvolveu um modelo, empiricamente, que ajustava as curvas de medição de bioimpedância (GRIMNES S.; MARTINSEN, 2011) conhecida como equação de Cole, presente na Figura 16. A Figura 16 há duas configurações possíveis para o modelo de Cole em que $j = \sqrt{-1}$, ω

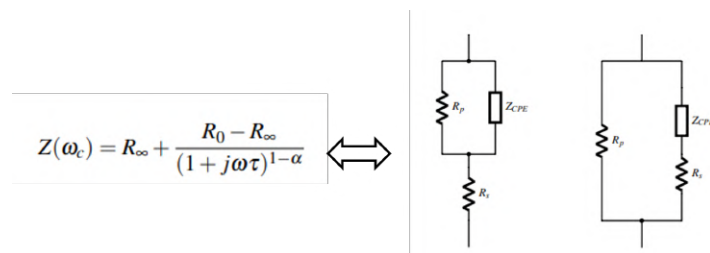


Figura 16 – Equação de Cole e modelos de Cole para um tecido, em série e paralelo. Fonte: adaptado de (IVORRA A.; GENESCA, 2005).

é frequência, R_0 é a resistência quando a frequência é zero, R_∞ é a resistência na frequência infinita, α é uma constante adimensional, τ é a constante de tempo associada a membrana celular (inverso da frequência natural característica) e Z_{CPE}^4 é um elemento de fase constante (PRICE, 2012). O modelo série é representa a caracterização da impedância, enquanto o modelo paralelo caracteriza o comportamento da admitância.

Eletrodos

O transporte de carga nos equipamentos eletrônicos são feitos pelos elétrons e nos biomateriais é responsabilidade predominante dos íons. O eletrodo é o agente responsável por essa conversão entre condução eletrônica e iônica. Alguns fenômenos que ocorrem nessa interface são fontes significativas de erros (BERTEMES-FILHO P.; TERBLANCHE, 2014).

Para análise de biomateriais, eletrodos de aço inoxidáveis são mais adequados (PATHOTE D., 2022), pois o corpo humano é um ambiente altamente corrosivo, e portanto a escolha consciente do material evita processos de oxi-redução durante a medida. O outro efeito inconveniente é o *electrical double layer* (Figura 17) associado a organização dos eletrólitos na interface do eletrodo a amostra. Camadas de carga com polaridade oposta se formam, uma na superfície do eletrodo e outra no eletrólito, que vai interferir na leitura da amostra como uma capacitância parasita (WU, 2022). A escolha sobre o material do eletrodos e a distância entre eles é importante para amenizar esta influência na medidas.

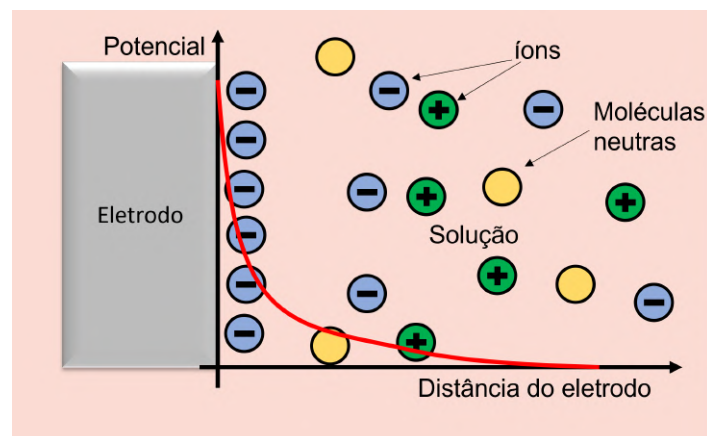


Figura 17 – Representação esquemática do efeito *electrical double layer*. Fonte: adaptado de (LIU N.; CHEN, 2019).

Número de eletrodos

O quociente da diferença de potencial entre dois eletrodos de medida e a corrente injetada nos mesmos/outros dois eletrodos é chamada de “impedância de transferência”. Essa grandeza depende da configuração dos eletrodos e por isso as peculiaridade das utilizadas nas medidas de

⁴ Este elemento é uma impedância que o ângulo de fase não varia, ou seja, uma combinação de resistores e capacitores dependentes da frequência em que o ângulo de fase entre eles é constante.

tensão deste trabalho, bipolar e tetrapolar, serão discutidas brevemente.

Sistema bipolar de eletrodos

Um espectro de impedância pode ser obtido injetando corrente entre dois eletrodos, basta medir as tensões resultantes entre os mesmos eletrodos em que a corrente foi injetada (Fig. 18 (a)). A figura 18 (b) mostra o conceito geral deste tipo de sistema, onde uma fonte de corrente controlada por tensão (VCCS) aplica uma corrente constante e um amplificador diferencial mede a tensão através dos eletrodos.

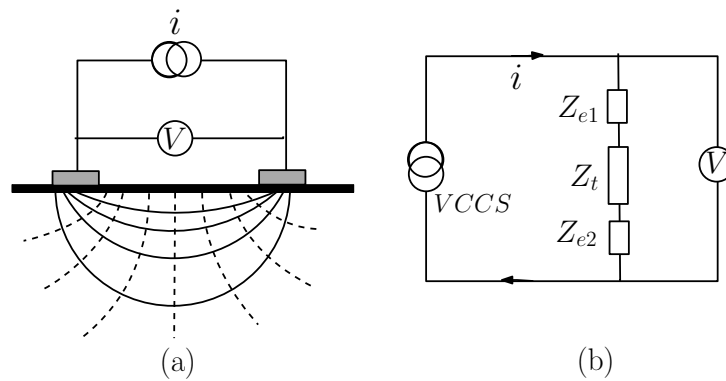


Figura 18 – Sistema básico de um sistema de eletrodos bipolar (a) e circuito equivalente a medida de dois eletrodos (b). Z_t é a impedância do tecido, Z_{e1} e Z_{e2} são as impedâncias dos eletrodos. Fonte: adaptado de (BERTEMES-FILHO, 2018).

Neste sistema existem três variáveis (Z_{e1} , Z_{e2} e Z_t) e apenas uma medida possível, portanto, o sistema é indeterminado. Isso não significa que a mudança na voltagem V é ocasionada exclusivamente pela mudança na impedância do tecido Z_t , mas que pode também ser resultado da mudança na impedância do eletrodo (BERTEMES-FILHO P.; TERBLANCHE, 2014)(BERTEMES-FILHO, 2018).

Sistema tetrapolar de eletrodos

No método tetrapolar, uma corrente constante é injetada por dois eletrodos e a tensão é medida em outros dois eletrodos (Fig. 19 (a)). Essa configuração torna relativamente insensível a mudanças na impedância eletrodo-biomaterial dos eletrodos medidores de tensão e injetores de corrente.

Assumindo as impedâncias da figura 19 (b) de eletrodo iguais ($Z_{e1}=Z_{e2}=Z_{e3}=Z_{e4}=Z$), a impedância de transferência T_Z pode ser descrita de acordo com a equação 3.

$$T_Z = \frac{Z_t}{1 + Z_t \left[\frac{4Z + Z_s + Z_v}{Z_v Z_s} \right] + 2Z \left[\frac{2Z + Z_s + Z_v}{Z_v Z_s} \right]} \quad (3)$$

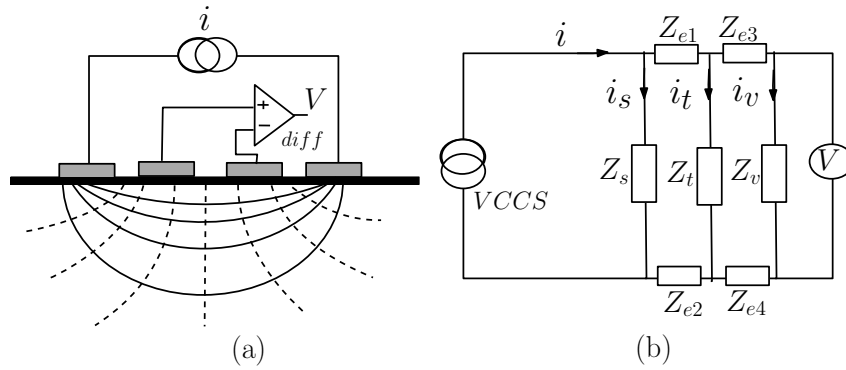


Figura 19 – Sistema básico de um sistema de eletrodos tetrapolar (a) e circuito equivalente a medida de quatro eletrodos (b). Z_t é a impedância do tecido, Z_{e1} , Z_{e2} , Z_{e3} e Z_{e4} são as impedâncias do eletrodos. Fonte: adaptado de (BERTEMES-FILHO, 2018).

A condição de contorno a ser respeitada para que a insensibilidade do método tetrapolar seja satisfeita é: a impedância de saída do gerador de corrente Z_s e a impedância de entrada do amplificador diferencial Z_v devem ser grandes em comparação com a soma das impedâncias do eletrodo e do tecido. Resumindo, a equação 3 será o caso somente se Z_s e Z_v tenderem ao infinito. Na prática, capacitâncias parasitas conectadas ao terra diminuem abruptamente Z_s e Z_v , principalmente em altas frequências. Portanto, as características não idealizadas da eletrônica limitam as medidas da impedância da amostra (BERTEMES-FILHO P.; TERBLANCHE, 2014)(BERTEMES-FILHO, 2018).

Modelagem segundo teorema de Geselowitz

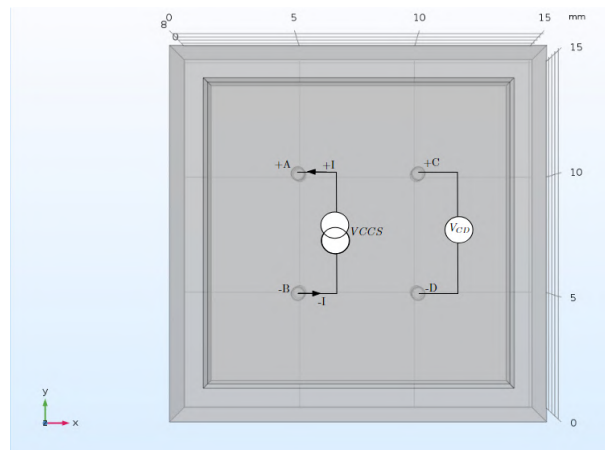


Figura 20 – Modelo COMSOL de configuração de eletrodos pontuais tetrapolares. Fonte: autora (2023).

O teorema de Geselowitz prevê que a variação de impedância ΔZ é diretamente proporcional a uma variação negativa da condutividade $\Delta\sigma$:

$$\Delta\sigma = -\Delta Z.S \quad (4)$$

onde S é a sensibilidade, que descreve como a resistência medida muda com a variação de um parâmetro (GESELOWITZ, 1971) ou como a dissipação de potência local normalizada para a potência total dissipada no meio (BERTEMES-FIHO, 2002).

Para uma amostra homogeneia em um volume semi-infinito submetida a uma medida de impedância segundo a configuração da figura 20 a alteração diferencial da impedância de transferência T_z pelo uma simplificação do teorema de Geselowitz (BERTEMES-FIHO, 2002) é a razão do potencial medido e a corrente aplicada ($T_z = \frac{V_{CD}}{I}$). A tensão medida entre os eletrodos $C : D$ (V_{CD}) é produzida pela corrente I injetada entre os eletrodos $A : B$ por uma fonte controlada de tensão V_{CCS} . O valor da corrente depende da condutividade e da geometria estabelecida pela posição dos eletrodos assumindo a forma matemática:

$$V_{CD} = \frac{1}{2\pi \cdot \sigma} \left(\frac{1}{R_{AC}} - \frac{1}{R_{AD}} + \frac{1}{R_{BC}} - \frac{1}{R_{BD}} \right) \quad (5)$$

Para uma configuração distribuição tetrapolar de eletrodos a condutividade elétrica do meio pode ser descrita como:

$$\sigma = \frac{1}{2\pi \cdot T_z} \left(\frac{1}{R_{AC}} - \frac{1}{R_{AD}} + \frac{1}{R_{BC}} - \frac{1}{R_{BD}} \right) \quad (6)$$

onde R_{AC} é a distância entre os eletrodos A e C , R_{AD} é a distância entre os eletrodos A e D , R_{BC} é a distância entre os eletrodos B e C e R_{BD} é a distância entre os eletrodos B e D . Portanto, o teorema de Geselowitz permite compreender como a impedância elétrica medida no volume de um material muda com a distribuição da condutividade do meio e vice-versa.

Baseado na equação 4, a sensibilidade para uma unidade infinitesimal de volume é dada por:

$$S_i(\mathbf{r}, \rho) = \mathbf{J}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_{A,i}, \mathbf{r}_{B,i}) \cdot \mathbf{J}'(\mathbf{r}, \mathbf{r}_{C,i}, \mathbf{r}_{D,i}) \quad (7)$$

onde \mathbf{J} e \mathbf{J}' são as densidades de corrente geradas pelos eletrodo $A : B$ e $C : D$ respectivamente, $\mathbf{r}_{A,i}$ e $\mathbf{r}_{B,i}$ são a distância desse volume aos eletrodos de injeção de corrente e $\mathbf{r}_{C,i}$ e $\mathbf{r}_{D,i}$ dos eletrodos de medida de tenção para cada volume infinitesimal i .

Uma análise dessa grandeza esboça o quão confiável são os dados obtidos, sendo reflexo direto da instrumentação utilizada na medida da impedância. Portanto, é útil usar software como COMSOL (DARBAS M.; HELEINE, 2021) para análise da sensibilidade antes da projeção da instrumentação ou para a busca de justificativas sobre as limitações observadas no experimento. Para tal, a equação da sensibilidade pode ser computada como:

$$S = (ec.Jx * ec2.Jx + ec.Jy * ec2.Jy + ec.Jz * ec2.Jz) \quad (8)$$

onde $ec.Jx, ec.Jy$ e $ec.Jz$ são as componentes do vetor densidade de corrente dos eletrodos de injeção de corrente (Exemplo: eletrodos $A : B$ da figura 20) e $ec2.Jx, ec2.Jy$ e $ec2.Jz$ são as componentes do vetor densidade de corrente induzida dos eletrodos de medida de tensão (Exemplo: eletrodos $C : D$ da figura 20).

2.7 ESPECTOFOTOMETRIA

A espectrofotometria baseia-se no emprego das propriedades dos átomos e moléculas de absorver e emitir energia eletromagnética em regiões do espectro eletromagnético que é decomposto de acordo com o comprimento de onda de cada tipo de radiação.

Laboratórios clínicos rotineiramente utilizam as medições de radiação absorvida, transmitida ou refletida em condições controladas para determinar quantidades de analitos presentes nas soluções. Os instrumentos empregados são capazes de selecionar uma faixa de comprimento de onda específica. Os fotômetros utilizam filtros e os espectrofotômetros utilizam prismas ou grades de difração (BASQUES, 2010).

Cubetas

Um espectrofotômetro, em geral, é composto por: fonte de energia elétrica, fonte de energia radiante, monocromador, cubetas, detectores, circuito medidor e um microprocessador. A figura 21 esquematiza os componentes básicos da fotometria.

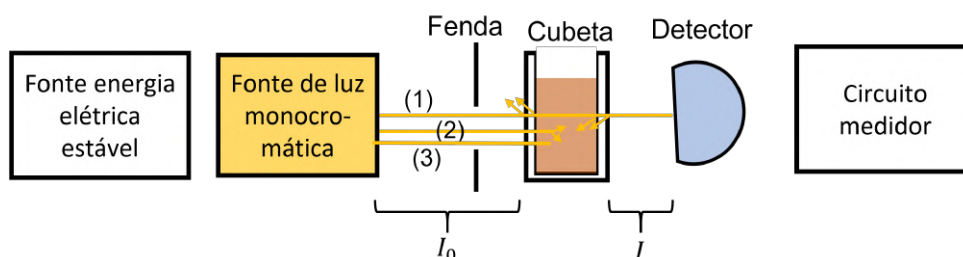


Figura 21 – Representação esquemática de um instrumento fotométrico. (1), (2) e (3) representam os efeitos de atenuação por reflexão, dispersão e absorção respectivamente. I_0 e I são raio de luz incidente e transmitido. Fonte: Adaptado de (BASQUES, 2010).

A cubeta é um recipiente que contém a amostra a ser analisada. São possivelmente a maior fonte de erro fotométrico. As outras partes citadas tem pouca ou nenhuma interação com instrumentador, já as cubetas tem contato direto e devem ser escolhidas de acordo com faixa de frequência estudada e estar sempre limpas.

Elas podem ser de várias formas: quadradas, retangulares ou redondas; de materiais diversos: vidro, sílica (quartzo) ou plástico. As cubetas redondas não são polidas e estão sujeitas a erros de refração pelo efeito lente, as cubetas quadradas ou retangular tem as faces polidas e podem variar suas espessuras de solução (BASQUES, 2010). As cubetas de vidro causam interferência na região UV por isso a de quartzo são mais indicadas para maioria dos experimentos (OLIVEIRA, 2007). As cubetas de plástico apresentam bom desempenho em analisadores automáticos, mas são descartáveis (BASQUES, 2010).

Leis da fotometria

Quando um raio de luz (visível ou não) atravessa uma solução, a intensidade da energia incidente (I_0) será sempre maior que a energia emergente (I), representado na figura 21. A reflexão nas interfaces entre ar e superfície da cubeta (1), dispersão por partículas (2) e absorção de energia por analitos (3) são responsáveis por essa atenuação de I_0 (BASQUES, 2010).

Tanto no processo de absorção quanto no processo de espalhamento (reflexão e dispersão), a intensidade luminosa I_0 decai após passar pelo meio, resultando em I (Figura 21). Essa atenuação é chamada de extinção luminosa. O coeficiente de extinção α é definido como uma combinação dos coeficientes de absorção α_{abs} e espalhamento α_{esp} de todas as partículas do meio (MENDES, 2017). Matematicamente:

$$\alpha = \alpha_{abs} + \alpha_{esp} \quad (9)$$

O coeficiente de extinção molar pode também ser referido como absorbtividade molar, absorvidade molar ou absortividade molar, e representa a quantidade de atenuação da luz por um mol de substância em um determinado comprimento de onda (SKOOG D. A.; WEST, 2020), ou seja, o quanto uma substância absorve radiação de uma determinada frequência. Cada espécie química possui um valor de absorbtividade molar para determinado comprimento de onda. A unidade de α usual é $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ (CUSTÓDIO R., 2000).

A absorção de luz nas aplicações da fotometria é o fator primário na redução da energia e que de acordo com a lei de Lambert-Beer (LLB) (MENDES, 2017)(HENDEE W. R.; MOWER, 2006) pode ser expressa como:

$$I = I_0 e^{-\alpha lc} \quad (10)$$

onde l é o caminho óptico no meio ou espessura da solução atravessada pela radiação, c é a concentração do analito.

A fração da energia transmitida pela incidente indica a transmitância T da solução (LIMA, 2013), ou seja:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (11)$$

Se uma determinada solução não absorve energia, I e I_0 são iguais e T será igual a 1. Conclui-se que qualquer solução que absorva energia terá transmitância menor que 1.

Manipulando a equação 10 obtém-se:

$$-\log \left(\frac{I}{I_0} \right) = \alpha lc = A \quad (12)$$

onde A é a absorbância. E portanto:

$$-\log(T) = A \quad (13)$$

Quando existe um número n de substâncias ativas para o mesmo comprimento de onda a absorvância é descrita como (DUNNE, 1987):

$$A = (\alpha_1 c_1 + \alpha_2 c_2 + \dots + \alpha_n c_n)l \quad (14)$$

onde c_x e α_x são a concentração e o coeficiente de extinção de cada substância com $x = 1, 2, \dots, n$. Os valores podem ser obtidos pela resolução do sistema de N variáveis e N equações.

Uso do branco

O Branco é a parte da amostra que vai estabelecer a absorvância zero do reagente utilizado (BASQUES, 2010). Quando há mistura na amostra, que é o caso do sangue humano, outros componente podem também absorver nos comprimentos de onda estudados e por isso deve-se subtrair essa quantidade de absorvância.

Problemas de fotometria

A equação 10 indica uma relação linear entre absorvância (A) e a concentração (c) do analito e também com o caminho óptico (l). Entretanto, alguns fatores podem causar distorções dessa linearidade, alguma com origem instrumental e outros por limitações da LLB.

A radiação parasita é uma das fontes de erro na medida de fotometria com origem na falha da instrumentação. Uma luminosidade diferente da explícita no monocromador pode resultar da reflexão e dispersão da luz pelas superfícies dos componentes ópticos do sistema. A dispersão é outro problema para o uso adequado do LLB; nos tecidos biológicos o espalhamento ocorre devido à turbidez ou às micropartículas suspensas. Este erro pode surgir da escolha inadequada da cubeta (OSHINA I.; SPIGULIS, 2021).

A não linearidade nos resultados também pode advir das mudanças químicas devido a interações das moléculas, como associações e dissociações, e ao aumento da concentração ou alterações no pH do solvente. Assim como em soluções de altas concentrações (maiores que 10 mmol) as interações físicas como soluto-solvente, soluto-soluto e ligações de hidrogênio podem entrar em ação e influenciar as medições de absorção (OSHINA I.; SPIGULIS, 2021).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo é apresentado materiais e métodos utilizados para todos os trabalhos desenvolvidos no período de formação deste doutorado. Estão divididos entre as duas linhas de pesquisa, espectro de bioimpedância elétrica e fotometria, e organizados de maneira cronológica.

3.1 MODELO ANALÍTICO PARA IMPEDÂNCIA

Apoiado sobre a seção 2.1 esta seção discorrerá sobre o modelo analítico inicial do proposto nesta tese, o modelo BGP, que teve seu desenvolvimento pautado em dados da literatura.

Deve-se considerar que σ_m representa a condutividade do sangue, σ_h a condutividade do plasma e σ_l a condutividade das hemácias (com relação as equações 1 e 2). Num primeiro momento, a fração volumétrica de maior condutividade (ϕ) é referente ao volume de plasma e a fração volumétrica não condutora (k) ao volume das hemácias.

Em (STROUD, 1998) a equação 1 é representada por uma estrutura com um núcleo isolante mergulhado em uma fase condutora juntamente com outras partículas isolante menores é a mais adequada ao modelo. A hemácia é representada por um núcleo isolante maior e as moléculas de glicose pelas partículas isolantes menores.

Modelagem sem a glicose

Para uma primeira aproximação, considerou-se $\sigma_l \simeq 0$, uma vez que as hemácias do sangue são não condutoras de eletricidade no modelo. Desta forma a equação (1) fica reescrita como:

$$\sigma_m = (1 - k)^{\frac{3}{2}} \sigma_h. \quad (15)$$

Outra condição de contorno para o modelo é que o vaso sanguíneo possa ser considerado um cilindro condutor homogêneo, deste modo, pode-se utilizar a definição de resistência elétrica dada pela segunda Lei de Ohm, com o condutor mantido à temperatura constante,

$$R = \frac{L\rho}{A} \quad (16)$$

em que ρ é a resistividade elétrica do condutor, R é a resistência elétrica do material, L é o comprimento do condutor e A é a área da seção do condutor. Substituindo a equação (15) em (16) e considerando $\rho = \rho_m = \frac{1}{\sigma_m}$, vem:

$$R = \frac{L}{A\sigma_h} \frac{1}{(1 - k)^{\frac{3}{2}}} \quad (17)$$

Nos fundamentos das técnicas de medição de bioimpedância, a impedância Z , do ponto de vista elétrico, é a obstrução ao fluxo de uma corrente alternada. A bioimpedância é uma

quantidade complexa composta por resistência R causada pela água corporal total e pela reatância χ que é utilizada pela capacitância da membrana celular (KHALIL S. F.; MOHKOTAR, 2014), de modo que

$$|Z| = \sqrt{R^2 + \chi^2}. \quad (18)$$

Seja a reatância definida como

$$\chi = \frac{1}{2\pi fC} \quad (19)$$

onde C é a capacitância e f é a frequência da corrente aplicada.

Uma ideia muito forte do eletromagnetismo é que um sistema que seja capaz de comportar carga e conduzir corrente pode ter sua capacitância encontrada a partir de sua resistência, e sua resistência a partir de sua capacitância, se a resistividade e permissividade do meio forem conhecidas, de modo que

$$C = \frac{\epsilon \rho}{R} \quad (20)$$

com ϵ sendo a permissividade elétrica do meio.

Substituindo a equação (17) em (20),

$$C = \frac{A\epsilon}{L}. \quad (21)$$

de modo que a reatância da equação (19) pode ser escrita como:

$$\chi = \frac{L}{2A\pi\epsilon f}. \quad (22)$$

Sabe-se que a permissividade elétrica varia de um para outro material biológico dependendo do tipo de íons e frequência de excitação. Isso também é baseado na orientação de polarização causada pela aplicação de um campo magnético ao material (KEYSIGHT, 2019). Sabe-se que átomos, moléculas e defeitos de materiais se reajustam a um equilíbrio em resposta a um campo elétrico aplicado. Este reajuste de átomos, moléculas e defeitos de materiais em resposta a um campo elétrico é conhecido como relaxamento dielétrico. O comportamento de relaxação depende das propriedades da rede, frequência e temperatura (ONIMISI M.Y.; IKYUM-BUR, 2015). Materiais que exibem uma única constante de tempo de relaxação podem ser modelados pela relação de Debye (KEYSIGHT, 2019), que é dada por:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_{\infty} + \frac{\Delta\epsilon}{(1 - j\omega\tau)} \quad (23)$$

onde $\omega = \frac{1}{2\pi f}$ é a frequência angular, ϵ_{∞} é a permissividade elétrica em alta frequência, $\Delta\epsilon = (\epsilon_s - \epsilon_{\infty})$, ϵ_s é a permissividade estática em baixa frequência e τ é o tempo de relaxação característico da amostra.

Como resultado, o módulo de impedância em função da concentração de glicose pode ser formulado combinando as equações. Inserindo (21) em (22) e depois (22) e (17) em (18), e finalmente, substituindo a permissividade com Eq. 23:

$$|Z| = \sqrt{\left(\frac{L^2}{A^2} \frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1-k)^3}\right) + \frac{(L - j2\pi\tau L f^2)^2}{f^2 [2\pi A(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon) - 4\pi^2 A \epsilon_\infty j\pi\tau f^2]^2}} \quad (24)$$

Modelagem com a concentração de glicose

Neste ponto da modelagem é importante fazer uma análise sobre as frações volumétricas ϕ do condutor e k do material isolante. Temos que

$$V_s = V_c + V_i, \quad (25)$$

onde V_s , V_c e V_i são volumes do sangue, plasma e material isolante, respectivamente. De modo que

$$\phi = 1 - k, \quad (26)$$

onde $\phi = \frac{V_c}{V_s}$ e $k = \frac{V_i}{V_s}$.

Essas definições das frações volumétricas estão de acordo com a EMT, visto que, a reinterpretação das constantes ocorrem a menos de uma transformação linear sobre estes mesmos parâmetros. Entretanto, para separar a influência do aumento da glicose da fração volumétrica V_i e rebalancear a Eq. 26 as condições a seguir devem ser consideradas: (I) o volume do vaso sanguíneo é um volume cilíndrico composto pelo plasma, as moléculas de glicose e as hemácias, e é fixo; (II) as hemácias são partículas muito maiores e com maior massa que as partículas de glicose e dos demais componentes iônicos que compõem o plasma. Isso significa que é muito mais fácil retirar o plasma e as moléculas de glicose do estado de repouso que as hemácias, podendo então considerar que a alteração da concentração de glicose vai afetar somente a fração volumétrica referente ao plasma dentro do nosso volume, que é representado por ϕ , matematicamente a alteração da equação (26) resulta em:

$$\phi - k' = 1 - k, \quad (27)$$

onde k' é designada como fração volumétrica da glicose, k é a fração volumétrica somente das hemácias e ϕ continua sendo a fração volumétrica do plasma.

Por fim, basta substituir a equação (27) na equação (24) e o modelo matemático que expressa a condutividade do sangue em função da concentração de glicose e da frequência da corrente aplicada é dado por:

$$|Z| = \sqrt{\left(\frac{L^2}{A^2} \frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1-k+k')^3}\right) + \frac{(L - j2\pi\tau L f^2)^2}{f^2 [2\pi A(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon) - 4\pi^2 A \epsilon_\infty j\pi\tau f^2]^2}} \quad (28)$$

Isso implica numa definição para σ_m igual a:

$$\sigma_m = (1 - k + k')^{\frac{3}{2}} \sigma_h \quad (29)$$

3.2 EXPERIMENTO COM RINGUER DE LACTATO E ALBUMINA

Esta pesquisa foi desenvolvida utilizando um compósito mais simples que o sangue humano utilizando o medidor de impedância AD5933 a fim de verificar a funcionalidade do modelo BGP publicado em (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020).

Compósito

O compósito escolhido para representar sangue humano de maneira simplista tem sua fase condutora representada pela solução de lactato de ringer (RLS) (COSENZA M.; PEREIRA, 2013). A composição desta solução é semelhante à dos líquidos extracelulares (EQUIPLEX, 2014). Dentre as opções comerciais de soluções eletrolíticas para administração intravenosa de grandes volumes existentes no Brasil, a RLS seria a única solução capaz de promover a correção simultânea de desidratação, desequilíbrios eletrolíticos e acidose metabólica (COSENZA M.; PEREIRA, 2013).

E a fase não condutora é a albumina, que é a proteína mais abundante circulando no plasma e fluidos extracelulares, cerca de 60% das concentrações totais de proteínas no plasma (SILVA R. O. P.; LOPES, 2008). Tem meia-vida longa, entre 18 e 20 dias e funciona ligando e transportando substâncias ¹, além de ser responsável por manter a pressão coloidosmótica do plasma, preservando a distribuição da água nos compartimentos corporais (SAMPAIO, 2012). Existem vários tipos de albumina: seroalbumina que é a proteína do soro sanguíneo, albumina do ovo que é a albumina da clara do ovo e lactoalbumina que é a albumina do leite.

Existe pesquisas sobre os derivados artificiais do heme associados à albumina sérica humana (TEIXEIRA, 2010). Esta é uma linha promissora no desenvolvimento de substitutos artificiais do sangue baseado na mutação da micro-vizinhança molecular da albumina sérica (TEIXEIRA, 2010).

A ovoalbumina, apesar de não ser um derivado artificial, faz parte do mesmo grupo de estrutura molecular. Portanto, para fazer um fluido que mimetiza o sangue, foi utilizada por uma mistura de albumina de ovo com lactato de Ringer para uso intravenoso, composta por cloreto de cálcio 2H₂O a 0,02%, 0,03% cloreto de potássio, 0,6% cloreto de sódio e 0,3% lactato de sódio.

Medidor de impedância AD5933

O AD5933 pode ser usado para injetar um sinal de estímulo através de uma amostra de sangue usando uma sonda. O sinal de resposta é analisado e a impedância sanguínea efetiva é

¹ Cálcio, zinco, magnésio, cobre, ácidos graxos de cadeia longa, esteroides, drogas, etc.

tabulada. O AD5933 é ideal para esta aplicação porque permite ao usuário sintonizar a frequência específica necessária para cada teste (ANALOG, 2014). Portanto, é suficientemente adequado para medir a impedância do compósito estudado.

O resultado é a parte real (R) e imaginária (I) do sinal complexo em cada frequência discreta, que ele lê através da interface serial I2C (NOVELETTO F.; BERTEMES-FILHO, 2016). A magnitude e fase da impedância são calculadas conforme ficha técnica do componente.

Bancada de testes

O fenômeno de *double layer* é esperado quando se utiliza uma configuração de eletrodos em uma solução eletrolítica. No caso da solução teste (SRL+albumina), as proteínas também são agentes desse fenômeno. As moléculas de proteína sendo polares se alinham e formam uma camada sobre o eletrodo, porém, independente de sua polaridade nas extremidades, o meio da molécula é constituído de gordura (isolante), esta forma uma camada camada de isolamento extremamente fino com uma grande área. Essa capacitância tem um valor considerável, embora não seja um capacitor perfeito, pois possui fuga de corrente. A solução para esse problema é descartar o uso de tensão contínua, pois a tensão alternada ao estimular esse fluido impedirá que ele forme essa camada de proteínas no eletrodo e, portanto, evita o aparecimento dessa *Double-layer capacitance* (GRIMNES S.; MARTINSEN, 2011).

O AD5933 conforme configurado na placa possui uma capacitância DC de 2,5 V, isto significa que o sinal senoidal emitido por ele oscila entre 0 e 5 V, então há um nível DC que contribui para o aparecimento do efeito de capacitância de dupla camada. Há um exemplo fornecido pelo *datasheet* do componente (ANALOG, 2014) no qual o AD5933 é usado diretamente, no qual é possível reduzir este potencial DC, entre as opções do programa e então, ao escolher uma pequena amplitude, provavelmente resolveria o problema. Para que o dispositivo AD5933 seja utilizado da forma como foi disponibilizado, o problema pode ser resolvido colocando um capacitor na entrada e outro na saída do sinal em cada eletrodo para bloquear este sinal DC. Portanto, neste experimento dois capacitores 470 nF foram implementados entre os eletrodos e revestidos com o AD5933 (Fig.22).

O béquer utilizado foi de 100 ml e tinha 8 cm de diâmetro, então os eletrodos foram espaçados um do outro em 8 cm. Foi utilizado um eletrodo de prata com área de 0,4 cm² em contato com fluido².

As medições foram realizadas para duas soluções com diferentes concentrações de albumina: Uma com 5 g e outra com 10 g. Nestas soluções se adiciona açúcar de 0 g a 15 g em passos de 5 g, ou seja, quatro medidas. E outra mistura com 15 g de albumina e 5 g de açúcar é utilizada para observar o comportamento da impedância em relação à variação dos valores de albumina. Todas as misturas foram realizadas em agitador magnético para atingir a homogeneidade na solução.

² 0,5 cm × 0,8 cm

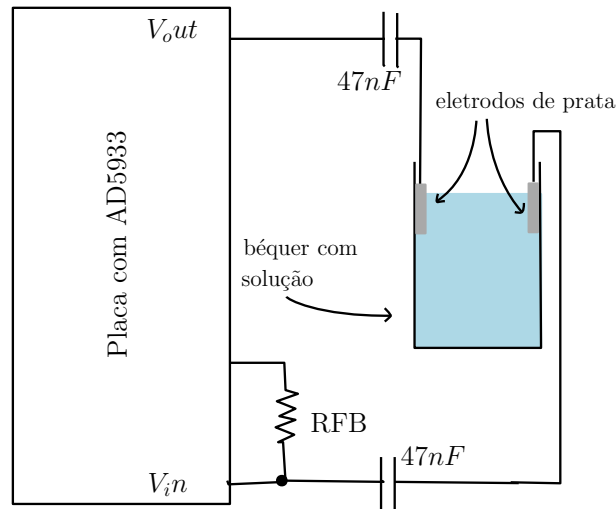


Figura 22 – Diagrama experimental. Fonte: autora (2021).

O AD5933 foi calibrado com um resistor 2,2 k Ω antes de todas as medições. O programa foi instruído a fazer 15 ciclos de medição, em uma frequência variando de 10 kHz a 60 kHz, como os resultados foram significativos nesta faixa, o aumento da frequência foi de 100 Hz para obter o maior número de pontos (511 pontos) permitidos pelo circuito.

Ajuste dos dados experimentais ao modelo analítico

O ajuste de curva não foi obtido da mesma maneira que o da seção anterior. A migração de metodologia para o código python (apêndice B) exigiu a reescrita da equação com menos constantes. Portanto, a equação 28 foi reescrita como:

$$|Z| = a \sqrt{1 + \frac{(f^2 + b)^2}{f^2(c f^2 + d)^2}} \quad (30)$$

em que a , b , c e d são coeficientes constantes dados por:

$$a = \frac{L}{A\sigma_h(1 - k + k')^{3/2}} \quad (31)$$

$$b = \frac{\tau^2}{4\pi^2} \quad (32)$$

$$c = \frac{2\pi(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon)^2}{\sigma_h(1 - k + k')^{3/2}} \quad (33)$$

e

$$d = \frac{\epsilon_\infty \tau^2}{2\pi\sigma_h(1 - k + k')^{3/2}} \quad (34)$$

3.3 INVESTIGAÇÃO ENTRE TEMPO DE RELAXAÇÃO (τ) E AS ALTERAÇÕES DA FRAÇÃO VOLUMÉTRICA DE GLICOSE (k')

Nesta etapa da investigação relações entre o coeficiente de relaxação e a fração volumétrica da concentração de glicose são transduzidas pela viscosidade sanguínea e inseridas na definição de condutividade elétrica expressa pela equação 15. Deste modo explica-se os comportamentos exibidos no experimento da seção anterior.

Interpretação de τ no modelo BGP

A interpretação do tempo de relaxação apresentada no modelo de BGP dada na seção 3.1 ou (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020) é o atraso na resposta do sistema devido à variação das forças a que está sujeito, neste caso, a aplicação do campo elétrico. Na compreensão dos processos biológicos básicos subjacentes: As partículas (microdipolos) orientam sua posição de forma a obter a posição de menor energia, ou seja, elas se orientam para ter a resistência mínima da força dieletroforética (ABDALLA S.;AL-AMEER, 2010).

As hemácias são consideradas como esferas circundadas por uma camada isolante, que, quando submetidas à ação de um campo elétrico externo apresentam polarização, ocasionalmente proteínas polares e moléculas de glicose como esferas não condutoras. Em um caso ideal, as esferas de glóbulos vermelhos e proteínas giram em resposta ao campo elétrico e são opostas pela interação friccional com o fluido viscoso circundante. O tempo de relaxamento relevante para esta orientação é dado por:

$$\tau = \frac{4\pi R^3}{\kappa T} \eta \quad (35)$$

onde τ é o tempo de relaxação, R é o raio da esfera, κ é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta e η é a viscosidade da matriz composta.

Modelo Drude

A teoria de Drude é uma aplicação da Teoria Cinética dos gases aos elétrons em um metal e sua fenomenologia está ancorada nas Leis de Newton. Na visão de Drude, o transporte de carga eletrônica é devido ao movimento aleatório de elétrons livres e independentes, que são espalhados pelos íons imóveis apenas durante as colisões (ROCHA, 2015). O modelo de elétrons livres descreve o processo de condução elétrica em metais, respondendo pela relação estabelecida pela lei de Ohm e fornece uma estimativa do valor da condutividade em termos de propriedades intrínsecas dos metais (PÉREZ, 2000), dada pela equação:

$$\sigma = \frac{ne^2\tau}{m_e} \quad (36)$$

onde n o número de elétrons, e é a carga do elétron, m_e é a massa do elétron e τ tempo de espalhamento.

Uma das interpretações para o tempo de espalhamento é dada como o tempo durante o qual um portador de carga é acelerado pelo campo elétrico antes de ser espalhado, perdendo toda a memória de seu deslocamento anterior. Isso significa que é o tempo que uma partícula leva para percorrer um caminho livre médio entre uma colisão e outra com as partículas fixas do sistema, e sua nova velocidade tem direção e magnitude aleatórias dadas pela distribuição de Maxwell. Mas também pode ser vista como a probabilidade de um elétron sofrer uma colisão entre os momentos t e $t + dt$ dado simplesmente por $\frac{dt}{\tau}$, onde τ é o tempo de relaxação. As colisões são, portanto, eventos não correlacionados (ASHCROFT N. W.; MERMIN, 1976). Desta forma, as definições podem ser relacionadas como o tempo de relaxação determinado pelos mecanismos de espalhamento presentes (CARDONA M.; PETER, 2005).

Numa adaptação do modelo para o caso do sangue, as partículas fixas serão as hemácias e os átomos de glicose imersos no plasma. As partículas livres serão os íons e elétrons liberados no processo de hidrólise da glicose. Portanto:

$$\sigma = \frac{nq^2\tau}{m_p} \quad (37)$$

onde n é o número de partículas livres carregando carga na solução (íons e elétrons), q a carga da partícula, m_p massa da partícula e τ o tempo de espalhamento (GRIMNES S.; MARTINSEN, 2011).

Modelo Krieger adaptado para viscosidade do sangue

De acordo com (HUND S.J.; KAMENEVA, 2017) a viscosidade do sangue η pode ser descrita como:

$$\eta = \eta_{pl} \left(1 - \frac{Hct}{Hct^*} \right) \quad (38)$$

onde η_{pl} é a viscosidade do plasma, $\frac{Hct}{Hct^*}$ é a fração volumétrica das hemácias (análogo k no modelo de Bruna).

O parâmetro η_{pl} pode ser escrito como:

$$\eta_{pl} = \overline{\eta_{pl}} \left(1 + \left(\alpha [LM] - \overline{[LM]} \right) \right) \left(\frac{T}{\overline{T}} \right)^b \quad (39)$$

onde os termos com barras são valores de referência para um caso normal (saudável), α são os valores de proporcionalidade, $[LM]$ representam moléculas grandes³, b é uma constante e T é a temperatura absoluta.

³ Como fibrinogênio, que são responsáveis por 1/5 da condutividade do sangue.

Viscosidade em função da concentração de glicose

Os modelos de viscosidade do sangue listados na literatura não incluem a concentração de albumina ou glicose. No entanto, (FERREIRA, 2018) apresenta resultados da mudança de viscosidade da solução composta por água (solvente) e glicose (soluto) e indicou que tem o seguinte comportamento:

$$\ln \eta = D + \frac{B}{T} + Cw_1 \quad (40)$$

onde η é a viscosidade, T é a temperatura e w_1 é a fração de massa do soluto (mesmo significado de k' no modelo de Bruna). D , B e C são ajustáveis parâmetros.

3.4 TESTES DE BANCADA BIA COM SANGUE BOVINO IN-VITRO

Mediante a todo trabalho desenvolvido até aqui, o passo seguinte foi constituído com testes utilizando sangue bovino, devido as propriedades orgânicas semelhantes ao sangue humano, e também no desenvolvimento de uma metodologia que possa ser padronizada para o estudo do modelo com amostra sanguíneas reais ou fluídos semelhantes mais a diante. Os resultados obtidos a seguir servem para avaliar tudo o que foi descrito até então.

Bancada experimentais implementadas

Todos os experimentos descritos a seguir foram realizados com sangue bovino coletado no dia do experimento e com adição de anticoagulante EDTA⁴. Misturava-se 5 g de EDTA para cada 500 ml de sangue.

A solução de glicose presente nos experimentos é composta por 20 g de dextrose anidra adicionada á 80 g de água destilada. A mistura foi realizada com agitador magnético Fisatom *Mod – 752A* á uma temperatura de 50 °C. Esta solução será referida como SG 20% ao decorrer do trabalho.

Todas as soluções foram medidas com uma balança de precisão de 0,01 g e a aferição das concentrações de glicose são feitas com kit *Accu-Check Active* (ZAEEMI M., 2014) para controle da taxa glicêmica (TG).

É importante ter em mente que os três experimentos a seguir são independentes. Eles serviram para fazer ajustes separadamente nas funções de viscosidade, condutividade e módulo da impedância elétrica do sangue. A intersecção destas relações é que regirá o aperfeiçoamento do modelo BGP.

Medição da Viscosidade

⁴ Do inglês *Ethylenediamine tetraacetic acid* ou ácido etilenodiamino tetra-acético.

A busca da relação bem estabelecida entre a viscosidade (η) e a fração volumétrica de glicose (k') foi exigida em (PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021), quando houve a necessidade de introduzir a influência da polarização, indicada por τ no experimento (PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021). A condutividade do plasma (σ_h) é responsabilizada teoricamente pela alteração deste parâmetro, e que portanto deixa de ser constante como dito no modelo BGP inicial, e passa a ser $\sigma_h(\eta)$. O objetivo deste teste de bancada é então encontrar um $\eta(k')$, para estabelecer um $\sigma_h(k')$ e introduzir tal influência em σ_m do modelo BGP.

O sangue tem um comportamento não newtoniano, principalmente devido à presença de glóbulos vermelhos (PEREIRA M. G.; MALAGONI, 2015). Visto isso, para o investigar a viscosidade do sangue os viscosímetros mais indicados são os de cilindros concêntricos ou rotativos. A aplicação destes seja em controle de qualidade ou pesquisa é validada em vários tipo de compósitos não-newtonianos (SILVA, 2013)(BROCK J.; NOGUEIRA, 2008)(SILVEIRA, 2013)(STEUDNERTE, 2012)(FERREIRA, 2018).

Os materiais utilizados foram: viscosímetro rotativo microprocessado Q860M26 com *spindle 0*, balança de precisão, sangue de boi com anticoagulante EDTA, SG 20%, pipeta pasteur e kit *Accu-Check*.

O experimento foi realizado por uma solução sangue+EDTA que continha uma taxa glicêmica (TG) inicial de 134 mg/dl. Pra manter o notação, e não havendo diluição neste teste, esta solução será chamada de SB 100%.

24 ml de sangue foi colocado no reservatório apropriado para uso do *Spindle 0* (Fig. 23) e o equipamento foi ajustado para trabalhar com 30 rpm. O primeiro dado é coletado sem adição de SG 20%, o valor da η e da TG são anotados após 1 minuto. Os processos seguintes consistiam em adicionar 1 gota de SG 20%, medir η e TG após 1 minuto até a solução SB atingir uma TG superior á taxa fisiológica (maior que 300 mg/dl). O ambiente do experimento teve a temperatura mantida á 24 °C. A figura 23 esboça a bancada do experimento descrito.

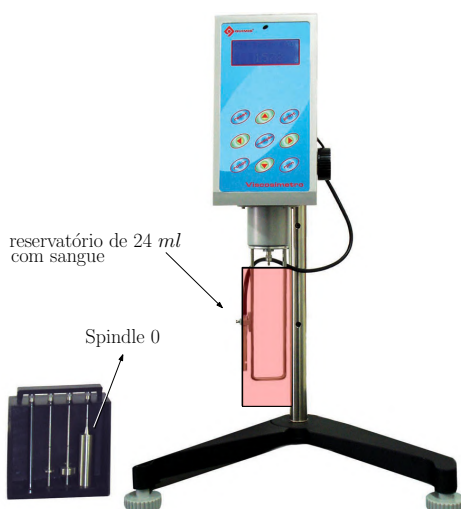


Figura 23 – Representação da bancada experimental para teste de viscosidade de SB 100%.
Fonte: autora (2022).

Medição da Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica do sangue (σ_m) é a variável comum entre o módulo de impedância ($|Z|$) e a fração volumétrica da glicose (k') expressa no modelo BGP. Portanto, a relação correta entre σ_m e k' levará a um melhor ajuste do modelo analítico em desenvolvimento. Objetivo deste teste de bancada é encontrar $\sigma_m(k')$.

O condutímetro Mod. Lutron CD-4303 é fixado dentro de um becker que está posicionado sobre o agitador magnético, observe aa figuraa 24 e 25. O condutímetro contendo um termômetro interno permitia marcar a temperatura da solução e condutividade, enquanto o agitador além de manter a solução homogenia também aquecia a amostra.



Figura 24 – Representação da bancada experimental para teste de condutividade. Fonte: autora (2022).

A amostra de sangue de 100,99 g foi diluída em 105,28 g de água destilada, isso resultou numa solução de sangue de 49% (SB 49%). A diluição garantiu o intervalo de TG desejado onde o experimento iniciou-se com TG de 44 mg/dl sem adição de SG 20%.

A metodologia consistia em anotar σ_m para cada variação de $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ num intervalo de $34,0$ a $40,0\text{ }^{\circ}\text{C}$. A adição de glicose foi feita com uma pipeta pasteur com SG 20% num incremento de gotas. Todas as medidas de TG foram feitas com *Accu-Check* quando termômetro atingia a temperatura (T) de $36,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Figura 25 – Bancada experimental para teste de condutividade. Fonte: autora (2022).

Medição da Espectroscopia de Impedância Elétrica

O $|Z|$ é o real alvo de interesse deste artigo, então a avaliação do comportamento experimental de $|Z(k')|$ deve ser bem estabelecido. Os resultados obtidos nesta etapa também servirão para análise de $|Z(\sigma_m(k'))|$ que é a base do modelo BGP estabelecido sobre o modelo de Bruggman.

Dos materiais utilizados: HF2TA e HF2IS da *Zurich Instruments* para medida de impedância elétrica (IE), 106,74 g de SB 79%⁵, SG 20%, pipeta pasteur, agitador magnético e recipiente isolante com eletrodos de aço inoxidável⁶ (Fig. 26).

O recipiente isolante da figura 26 tem a função de manter a temperatura da solução interna, os eletrodos fixos para respeitar a mesma configuração em todas as medidas executadas e o furo na tampa serve para evitar uma grande vazão de calor no momento de adição da SG 20%.

As figuras 27 e 28 representam a bancada experimental onde a função do agitador magnético é manter a solução homogênea e aquecida em 36,5 °C para todas as medidas de IE. Aguardava-se 10 minutos para uma boa mistura da solução SB+SG e coletava-se $|Z|$, aferia-se TG, se adicionava *gotas* de SG e repetia o processo até atingir uma TG acima de 300 mg/dl.

⁵ 298,29 g de sangue bovino diluído em 80,26 g de água filtrada. Diluição devido ao mesmo motivo do teste anterior.

⁶ medidas: 0,43 × 0,63 × 130 mm

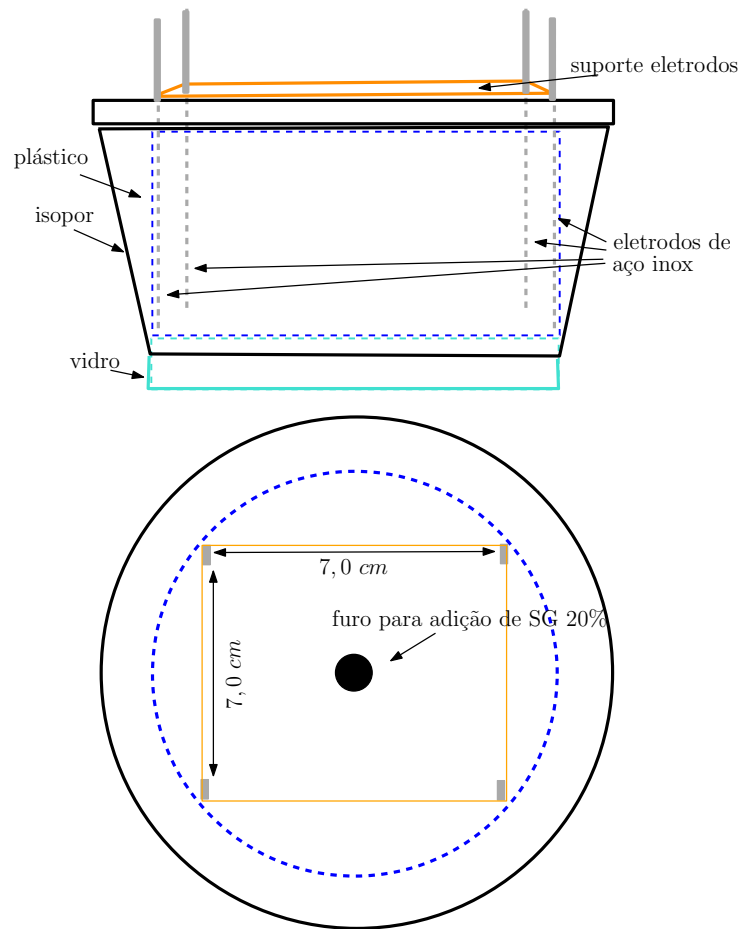


Figura 26 – Representação do recipiente isolante com eletrodos de aço inox. Fonte: autora (2022).

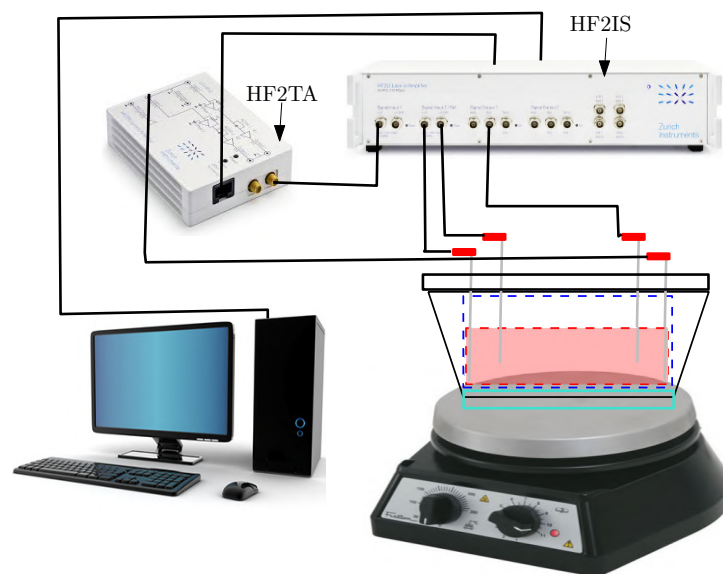


Figura 27 – Representação da bancada para medida de espectroscopia de impedância elétrica. Fonte: autora (2022).

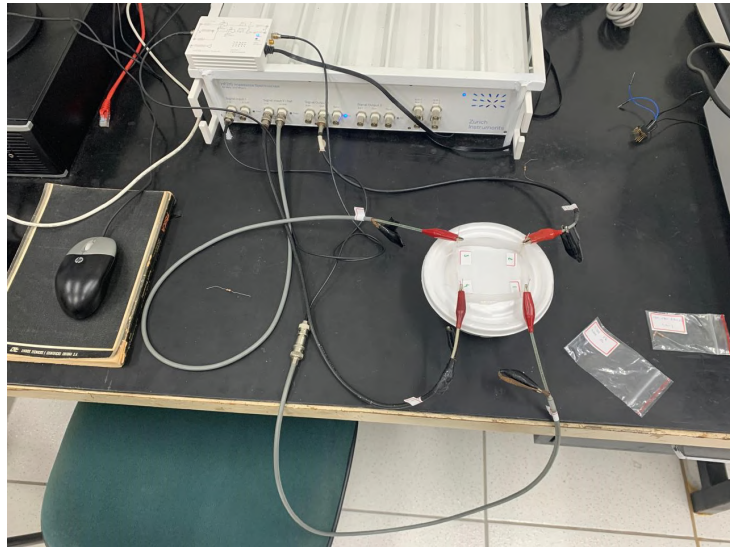


Figura 28 – Bancada para medida de espectroscopia de impedância elétrica com sangue bovino. Fonte: autora (2022).

3.5 TESTE DE BANCADA BIA COM SANGUE HUMANO EX-VIVO

Tubos coletores com fluoreto foram utilizados na coleta do sangue humano para o experimento *ex vivo* deste artigo. O fluoreto é um inibidor glicolítico e exerce efeito anticoagulante suficiente para o intervalo entre coleta e medida da amostra. A investigação fez uso de cinco amostras de sangue que correspondem a pontos da curva glicêmica feita com exame padrão laboratorial (teste enzimático colorimétrico). A primeira media foi feita com voluntário em jejum e as outras quatro ocorrem com 30, 60, 90 e 120 minutos depois da ingestão de 75g de dextrose anidra (glicose).

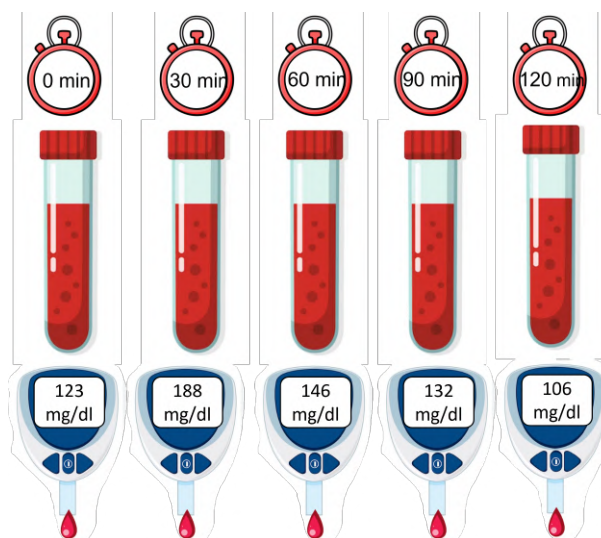


Figura 29 – Esquemático da coleta de amostras nos tubos de fluoreto e suas respectivas concentrações de glicose aferidas com glicosímetro capilar. Fonte: autora (2022).

A caixa mostrada nas figuras 30 e 31 foi impressa com material isolante com as dimensões de 12,45 mm×12,45 mm×6,35 mm (LxAxH). Os eletrodos de aço inoxidável AISI 304 com diâmetro de 0,18 mm e distanciam-se 5,08 mm entre si.

O analisador de impedância MFIA da *Zurich Instruments* mede as amostras num intervalo de 10 Hz á 1 MHz repetitivamente (5 vezes) para assegurar estabilização das medidas. As medidas foram feitas da amostra com menor concentração de glicose até a maior. O volume do recipiente (1 ml) foi totalmente preenchido para cada medida. A limpeza foi realizada com água destilada e auxílio de uma seringa, a finalização da higienização utilizava de papel toalha para retirada de toda umidade.

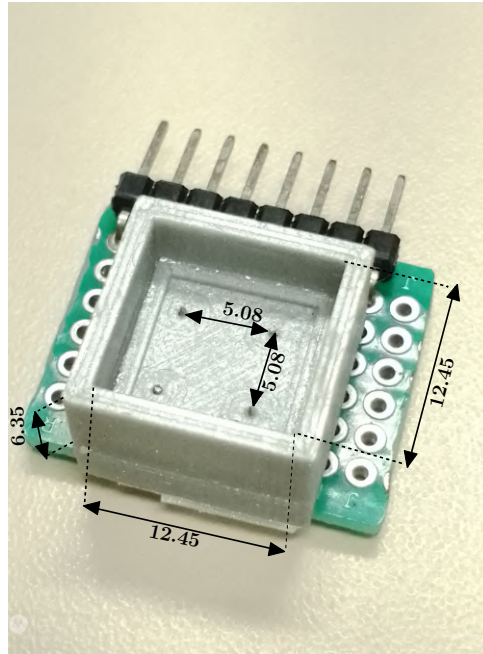


Figura 30 – Caixa de amostra para medidas. Foi impressa com um material isolante com dimensões de 12,45 mm × 12,45 mm × 6,35 mm. Fonte: autora (2022).



Figura 31 – Caixa com amostra conectada ao analisador de impedância. Fonte: autora (2022).

3.6 MODELO ANALÍTICO PARA ABSORBÂNCIA

A ideia de propor um glucosímetro de pulso baseada na técnica de espectroscopia do infravermelho já foi validada em (JR, 2010), utilizando dos mesmos princípios de oxímetros de pulso. Porém, este trabalho, como tantos outros, utilizam de ajustes de curva para calibração do dispositivo.

Dado o quadro problemático apresentado pela calibração dos dispositivos não invasivos

de medida de glicose que utilizam técnicas de espectroscopia de infravermelho próximo, este artigo traz a sugestão de um glicosímetro de pulso que utiliza de três LED's. Este deve descartar a necessidade de calibração se sanadas as exigências das aproximações físicas e matemáticas que serão apresentadas seguidamente.

A absorvância do sangue segundo a equação 14 pode ser escrita como:

$$A = (\alpha_g c_g + \alpha_f c_f) l \quad (41)$$

em que c_g e c_f são as concentrações da glicose e do restante de partículas absorventes no fluido. c_f contém as informações de alteração de níveis de insulina e de íons devido a ativação de sistemas como a bomba de sódio e potássio para entrada da glicose na célula.

Comparando o lado direito da equação 12 com a equação 42 e isolando o coeficiente de extinção α tem se:

$$\alpha = \alpha_g \frac{c_g}{c} + \alpha_f \frac{c_f}{c} \quad (42)$$

em que $C_g = \frac{c_g}{c}$ e $C_f = \frac{c_f}{c}$ são frações volumétricas.

Retomando a equação 10, lei de Lambert-Beer, pode-se escrevê-la da seguinte maneira:

$$\ln \left(\frac{I_0}{I} \right) = \alpha l c \quad (43)$$

Para pequenas variações na intensidade da luz $I_0 - I \ll I$ então pode-se escrever

$$\ln \left(\frac{I_0}{I} \right) \cong \frac{I_0 - I}{I} \quad (44)$$

ou seja,

$$\frac{I_0 - I}{I} \cong \alpha l c \quad (45)$$

A oximetria de pulso baseia-se no isolamento da contribuição do sangue arterial para a absorção de luz por fotopletismografia (PPG) a medida da absorção de luz muda devido às alterações no volume sanguíneo arterial induzido pelo coração. O sinal PPG é mostrado na figura 32. A intensidade da luz transmitida diminui durante a sístole devido ao aumento no volume sanguíneo arterial durante a sístole, quando o sangue é ejetado do ventrículo esquerdo para o sistema vascular periférico. Os valores máximos e mínimos do sinal de PPG I_D e I_S na figura 32, respectivamente, são proporcionais à irradiância da luz transmitida através do tecido na diástole final e na sístole, quando o volume de sangue no tecido é mínimo ou máximo, respectivamente (NITZAN M.; ENGELBERG, 2009).

Na oximetria de pulso, a luz transmitida é medida em dois comprimentos de onda, λ_1 e λ_2 , e I_D e I_S são substituídos por I_0 e I . Uma razão R que isola a contribuição da variação do volume de sangue devido a pulsação cardíaca, levando em consideração as aproximações dada pela equação 45, é dada por

$$R_{12} = \frac{\left(\frac{I_0 - I}{I} \right)_1}{\left(\frac{I_0 - I}{I} \right)_2} \quad (46)$$

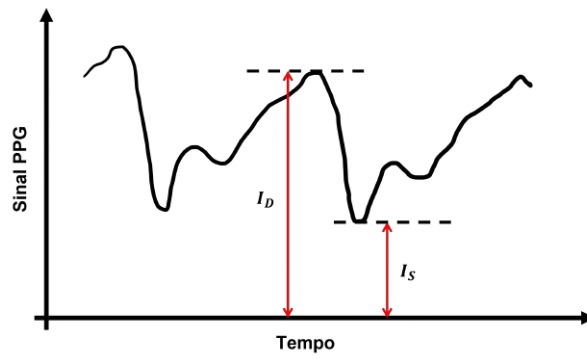


Figura 32 – O sinal fotopletismográfico. Transmissão de luz através o dedo diminui durante a sístole. I_D e I_S indicam o valor máximo e valores mínimos de transmissão de luz durante o período cardíaco, respectivamente. Fonte: autora (2022).

onde os índices 1 e 2 são referentes aos valores de I_0 e de I coletados para os comprimentos de onda λ_1 e λ_2 respectivamente.

Usando a equação nove, temo-se

$$R_{12} = \frac{\alpha_1 l_1}{\alpha_2 l_2} \quad (47)$$

onde α_1 é o coeficiente de extinção do sangue para o comprimento de λ_1 , α_2 é o coeficiente de extinção do sangue para o comprimento de λ_2 , l_1 e l_2 são os caminhos ópticos para os respectivos comprimentos de onda λ_1 e λ_2 .

Da mesma forma que demonstrados para LED's com comprimentos de onda λ_1 e λ_2 , pode-se introduzir um terceiro LED com comprimento de onda λ_3 . Desse modo, pode-se escrever

$$R_{13} = \frac{\alpha_1 l_1}{\alpha_3 l_3} \quad (48)$$

onde l_3 é o caminho óptico do terceiro LED.

Da equação 42 pode-se escrever o coeficiente de extinção do sangue para cada um dos comprimentos de onda, então

$$\alpha_1 = \alpha_{g1}C_g + \alpha_{f1}C_f, \quad (49)$$

$$\alpha_2 = \alpha_{g2}C_g + \alpha_{f2}C_f, \quad (50)$$

irei

$$\alpha_3 = \alpha_{g3}C_g + \alpha_{f3}C_f \quad (51)$$

Substituindo as equações 49 e 50 em 47. E isolando a concentração de glicose C_g

$$C_g = \frac{\alpha_{f1} - \alpha_{f2}R_{12} \left(\frac{l_2}{l_1} \right)}{\alpha_{f2}R_{12} \left(\frac{l_2}{l_1} \right) (\alpha_{g2} - \alpha_{f2}) - (\alpha_{g1} - \alpha_{f1})} \quad (52)$$

Agora, substituindo as equações 49 e 51 em 48

$$C_g = \frac{\alpha_f 1 - \alpha_{f3} R_{13} \left(\frac{l_3}{l_1} \right)}{\alpha_{f3} R_{13} \left(\frac{l_3}{l_1} \right) (\alpha_{g3} - \alpha_{f3}) - (\alpha_{g1} - \alpha_{f1})} \quad (53)$$

O fator $\frac{l_2}{l_1}$ ou $\frac{l_3}{l_1}$ geralmente não pode ser negligenciado e, se não for conhecido, o C_g não pode ser derivado do valor medido de R_{12} ou de R_{13} . Na prática, determina-se a relação entre R e C_g calibrando cada tipo de sensor de glicosímetro de pulso. R é medido em vários indivíduos simultaneamente com a medição in vitro de C_g no sangue arterial extraído por meio de um glicosímetro padrão invasivo. Para cada pessoa, R e C_g no sangue são medidos para vários valores de C_g . A relação entre R e C_g é assumida como sendo (JR, 2010):

$$C_g = \frac{a - bR}{c - dR} \quad (54)$$

ou

$$C_g = a + bR + cR^2 \quad (55)$$

onde as constantes a, b, c e d são determinadas a partir dos correspondentes valores medidos de R e C_g . As equações 18 e 19 fornecem a calibração necessária para a derivação de C_g a partir do parâmetro medido R . A calibração para os dispositivos com dois LED's é baseada no pressuposto de que $\frac{l_2}{l_1}$ ou $\frac{l_3}{l_1}$ não mudam entre pessoas diferentes e diferentes situações fisiológicas e clínicas. A validade dessa suposição é limitada e os desvios são provavelmente a principal origem da imprecisão na avaliação da C_g pelo método implantado.

R_{12} e R_{13} das equações 47 e 48 podem ser medidos, e os coeficientes de extinção α_1 e α_2 para os três comprimentos de onda podem ser encontrados na literatura. No entanto, para determinar a C_g , é necessário encontrar $\frac{l_2}{l_1}$ e $\frac{l_3}{l_1}$. O comprimento do caminho l , bem como desvio padrão deste, a relação entre o comprimento do caminho e a distância entre a fonte de luz e o detector aumenta com a constante de espalhamento e diminui com a constante de absorção. Como a dependência do espalhamento no comprimento de onda é suave, a relação entre o comprimento do caminho l e o comprimento de onda também é suave na região espectral em que os coeficientes de extinção, pois a hemoglobina depende suavemente do comprimento de onda. Se λ_1 , λ_2 e λ_3 são escolhidos como três comprimentos de onda adjacentes em uma região infravermelha apropriada, pode-se assumir uma relação linear entre pequenas alterações no comprimento do caminho l e pequenas alterações no comprimento de onda λ (NITZAN M.; ENGELBERG, 2009):

$$l - l_0 = k(\lambda - \lambda_0) \quad (56)$$

onde k é uma constante. Deste modo, pode-se escrever

$$l_1 - l_2 = k(\lambda_1 - \lambda_2) \quad (57)$$

e

$$l_1 - l_3 = k(\lambda_1 - \lambda_3) \quad (58)$$

Dividindo a equação 57 pela 58:

$$\left(\frac{\lambda_1 - \lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_3} \right) = \frac{1 - \left(\frac{l_2}{l_1} \right)}{1 - \left(\frac{l_3}{l_1} \right)} \quad (59)$$

Das três equações (52 , 53 e 59), C_g pode ser determinado sem informações prévias sobre $\frac{l_2}{l_1}$ e $\frac{l_3}{l_1}$, já que há três equações em três incógnitas: C_g , $\frac{l_2}{l_1}$ e $\frac{l_3}{l_1}$.

Testes de bancada para determinação do coeficiente de extinção da glicose em sangue humano

Este estudo foi submetido à apreciação do comitê de ética em pesquisa com seres humanos e foi aprovado sob o parecer nº 6.318.291. A amostragem contou com 2 indivíduos para estudo, duas mulheres saudáveis e que se atendiam aos critérios de inclusão determinados no delineamento metodológico.

Este experimento foi realizado duas vezes com as mesmas voluntárias, denominamos teste I e teste II para indicação das diferenças e discussão dos resultados depois.

Metodologia clínica: coleta e manejo das amostras

Cada voluntária foi submetida a coleta de sangue venoso, realizada por um flebotomista capacitado e seguindo as instruções e recomendações feitas pelo Ministério da Saúde (SAÚDE, 2001) e pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial (LABORATORIAL, 2009).

Para o teste I 4 amostras de de sangue total de cada voluntária foram coletadas, o número de amostras foi determinado a partir da adaptação técnica do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) aos objetivos do estudo. Para isso, uma amostra foi coletada em jejum, 30 min, 60 min e 120 min.

Para o teste II foram obtidas 5 amostras de sangue total de cada voluntária, o número de amostras também foi determinado a partir da adaptação técnica do teste oral de tolerância à glicose (TOTG) aos objetivos do estudo. Neste caso, uma amostra foi coletada em jejum enquanto as outras foram coletadas com intervalos de 30 minutos a partir da sobrecarga de 75 g de glicose e após a primeira coleta, representada pelo jejum.

Em ambos os testes às coletas venosas tinham a taxa glicêmica medida via teste laboratorial colorimétrico padrão e teste capilar nos mesmos pontos.

A figura 33 representa o processo separação das amostras e a figura 34 indica o experimento com as amostras já separada. Elas foram centrifugadas para a obtenção de plasma

fluoretado e posteriormente aliqüotadas. As aliqüotas foram encaminhadas para análises quantitativas distintas. Ambas amostras de sangue e plasma foram analisadas.

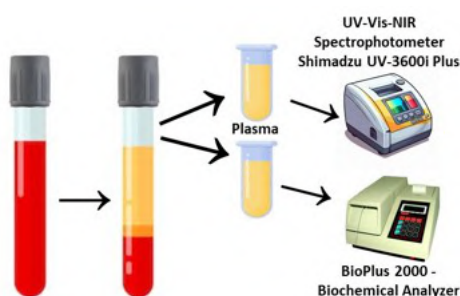


Figura 33 – Esquemático de separação das amostras. Fonte: autora (2022).

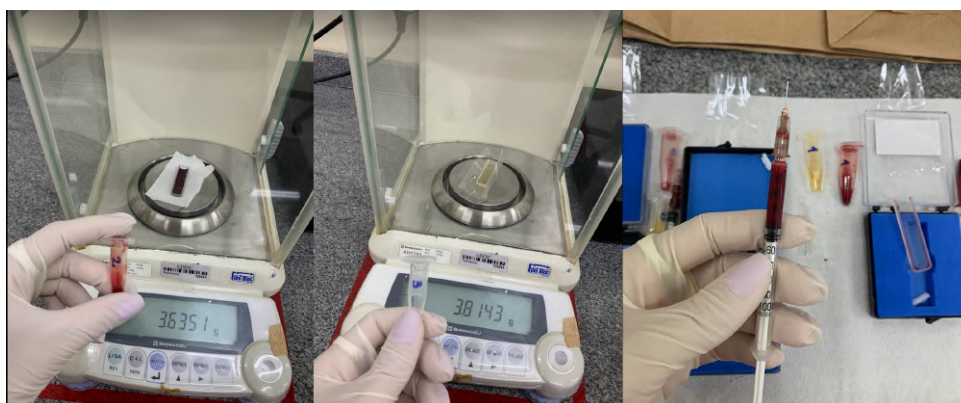


Figura 34 – Foto das amostras sangue e plasma separadas para teste II. A agulha de insulina era utilizada para colocar e retirar a amostra da cubeta de 1 mm. Fonte: autora (2022).

Metodologia laboratorial: processamento e análise das amostras

As amostras de plasma foram analisadas em equipamento bioquímico comercial semiautomático para dosagem de glicose (mg/dL) devidamente calibrado e com passagem e aprovação de soros controles de níveis altos e baixos. A metodologia utilizada foi a enzimática colorimétrica baseada em espectrofotometria.

No teste I as amostras de sangue total e de plasma foram analisadas com espectrofotômetro Bel UV-M51 UV-Visível com seleção manual do comprimento de onda em 740, 810, 850 e 940 nm para estudo de comportamento do padrão de absorbância em uma curva glicêmica. Cubetas de quartzo de 1 cm serviram como caminho óptico. O branco para este teste foi a água, pois a utilização da amostra em jejum dava valores negativos de absorbância, a discussão sobre estes resultados é feita mais adiante.

As escolhas dos comprimentos de onda para o teste I tiveram influência de trabalhos paralelos (TEIXEIRA, 2023)⁷ e do projeto de um glicosímetro de pulso (e-Gluco) liderados pelo orientador desta tese. Além do mais, o equipamento disponíveis para os testes de absorbância

⁷ trabalho sem permissão de publicação pelo autor.

neste momento da pesquisa, com ajuste manual dos comprimentos de onda, limitava a obtenção do número testes á valores específicos por demanda de tempo.

No teste II as amostras de sangue total e de plasma foram analisadas em espectrofotômetro UV-Vis-NIR Shimadzu UV3600Plus, com varredura de comprimento de onda que variou de 700 nm a 1400 nm para estudo de comportamento do padrão de absorbância. Cubetas de quartzo de 1 mm serviram como caminho óptico. O branco para medidas fotométricas foi a amostra em jejum.

A faixa de comprimentos de onda trabalhada (entre 700 nm e 1400 nm) levou em consideração interferentes plasmáticos conhecidos, como a albumina e diferentes globulinas - proteínas em maior quantidade no plasma. É muito bem estabelecido que a albumina tem reatividade maior em 620 nm, enquanto as globulinas reagem bem em comprimentos de onda que caminham entre os 430 nm e 450 nm, o que é evidenciado por (DOUMAS B. T.; WATSON, 1971) e (NETO C. A.; OLIVEIRA-FILHO, 2018), respectivamente.

Um dos maiores interferentes colorimétricos na espectrofotometria sanguínea é a hemoglobina, que apresenta absorvidade maior em comprimentos de onda de 540 nm e 580 nm (ZIJLSTRA W. G.; BUURSMA, 1991). Nesse caso, a interferência do pigmento é desprezada pelo uso exclusivo de plasma, mas a escolha da faixa de comprimentos de onda estabelecido no protocolo padrão do estudo também poderia superar a interferência da hemoglobina, no caso de uso de sangue total.

O uso da faixa estabelecida não descarta outras moléculas absorventes que respondam aos mesmos comprimentos de onda, bem como o desconhecimento da relevância das mesmas no comportamento óptico da glicose. O que abre lacunas para estudos posteriores a respeito do comportamento fotométrico de outros componentes plasmáticos presentes em quantidade significativa durante o ciclo de regulação do pico de glicose, como hormônios pancreáticos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 MODELO ANALÍTICO PARA IMPEDÂNCIA

A Figura 35 mostra o espectro de impedância para diferentes concentrações de glicose. A equação (28) foi normalizada e reescrita em termos de σ_m , σ_h , L , A , ϵ_∞ , $\Delta\epsilon$, τ e f . O novo conjunto de constantes adimensionais são: $Z = Z/Z_{norm}$, $k = k/k_{norm}$, $k' = k'/k'_{norm}$ e $f = f/f_{norm}$. As constantes a , b , c , d e g na equação (28) representam uma variação relativa de Z em termos de volume sanguíneo, concentração de glicose e frequência, respectivamente. O fator Z_{norm} é obtido por meio de L e A , k'_{norm} pelas densidades molar e volumétrica da glicose e f_{norm} pela permissividade elétrica do sangue. O apêndice A contém o algoritmo desenvolvido para computação do resultado visto na Figura 35.

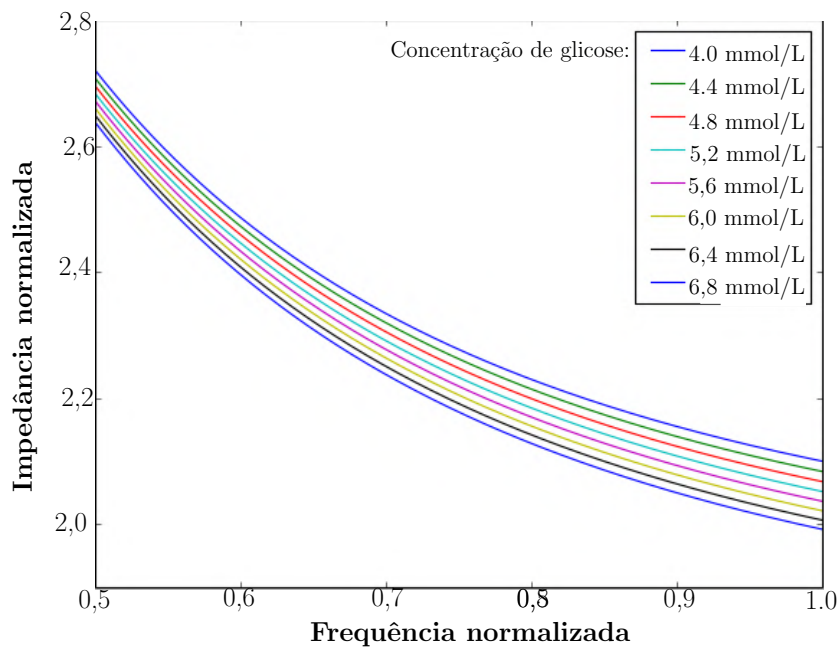


Figura 35 – Espectro de impedância normalizada para equação 28. Fonte: autora (2020).

O espectro de impedância é calculado variando o fator de concentração de glicose adimensional k' de 0,0040 a 0,0068, conforme mostrado na Figura 35. Os dados experimentais mostram uma notável relação com o modelo proposto pela equação (28). Além da dimensão, a equação (28) pode ser ajustada por dados experimentais. Os cálculos da equação (28) foram comparados com os dados experimentais mostrados em (GINSBERG, 1992) usando o método dos mínimos quadrados. De acordo com o gráfico da figura 36 em (GINSBERG, 1992), a impedância foi medida entre a mão esquerda e o pé usando dois eletrodos de AgCl conectados ao conversor de impedância AD5933. A concentração de glicose utilizada nesta comparação foi 4,0 mmol/L. Como resultado, a equação (28) foi convertida em uma forma polinomial em função

da frequência, como:

$$|Z| = \sqrt{b + \frac{(a + cf)^2}{f^2(g + df)^2}} \quad (60)$$

onde

$$a = L, \quad (61)$$

$$b = \frac{L}{A} \frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1 - k + k')^3}, \quad (62)$$

$$c = -2L\pi j\tau, \quad (63)$$

$$d = -4\pi^2 A \epsilon_\infty j\tau, \quad (64)$$

e

$$g = 2\pi A(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon) \quad (65)$$

Os valores para concentração de glicose k' foram plotados num intervalo de 0,0040 até 0,0068 com incrementos constantes de 0,0004. Comparando os resultados numéricos (Figura 35) e experimental (Figura 36) pode-se inferir que a equação do modelo proposto mostra o mesmo comportamento entre as curvas para as variáveis de interesse (impedância, frequência e concentração de glicose).

A tabela 1 apresenta os erros associados ao processo de ajuste que são, por sua vez, os erros máximos da norma pelo método dos mínimos quadrados.

Tabela 1 – Coeficientes de (60) e erro percentual em relação aos dados obtidos de (GINSBERG, 1992).

Coefficient	Value	Error %
a	$-1,12600 \times 10^0$	4,0
b	$+5,07358 \times 10^{-3}$	7,0
c	$+2,60469 \times 10^{-2}$	4,0
d	$-5,64804 \times 10^{-6}$	4,0
g	$+2,45902 \times 10^{-4}$	4,0

A tabela 2 mostra os desvios entre os dados modelados e experimentais, onde as constantes estimadas na tabela 1 foram substituídas na equação (28).

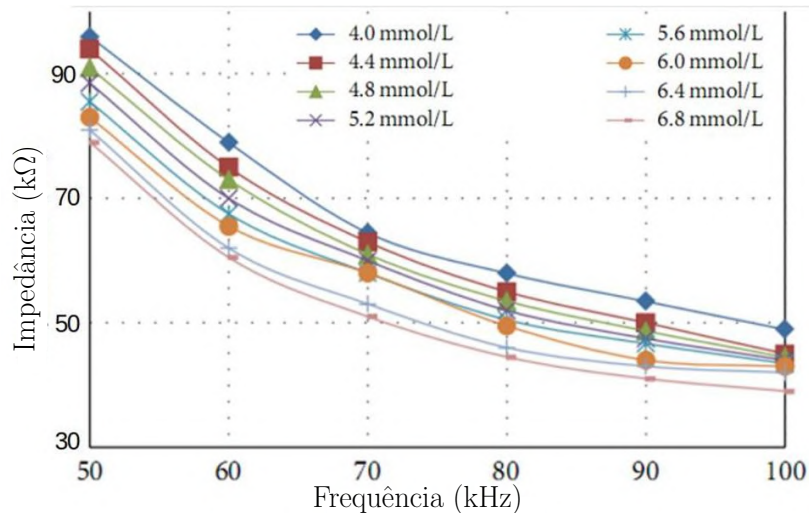


Figura 36 – Apresentado por (KAMAT D. K.; BAGUL, 2014) (License CC BY 3.0 at <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

Tabela 2 – Comparação entre a impedância calculada da equação (28) com a experimental extraída da Figura 36 e seus respectivos erros.

$f(kHz)$	$Z_{numerica}(k\Omega)$	$Z_{experimental}(k\Omega)$	Error %
50,0	97,9	97,5	0,5
55,0	86,8	87,5	0,8
60,0	78,7	80,0	1,6
65,6	71,6	70,0	2,2
70,0	66,9	65,0	2,9
75,0	62,3	60,0	3,8
80,0	58,3	57,5	1,4
85,0	54,8	56,2	2,6
96,0	48,0	50,0	4,0
100,0	46,4	49,0	5,2

Os dados do (POCKEVICIUS V.; MARKEVICIUS, 2013) também foram usados para investigações adicionais em termos de robustez e eficiência. A figura 37 mostra os dados de ajuste da modelagem e seus respectivos dados brutos de (KAMAT D. K.; BAGUL, 2014) e (POCKEVICIUS V.; MARKEVICIUS, 2013) para concentrações semelhantes de glicose no sangue. Pode-se observar que o modelo analítico proposto também é suportado quando utilizado os dados publicados por (POCKEVICIUS V.; MARKEVICIUS, 2013).

Na conclusão deste parte da pesquisa muitas dúvidas sobre a metodologia de obtenção dos dados experimentais de terceiros e sobre a quantidade de influências externas ao sistema foram levantadas. Portanto, o trabalho a seguir busca duas coisas: encontrar um fantoma que possa imitar o sangue humano e encontrar uma utilidade mais ampla do modelo do que só pra medições de impedância do sangue.

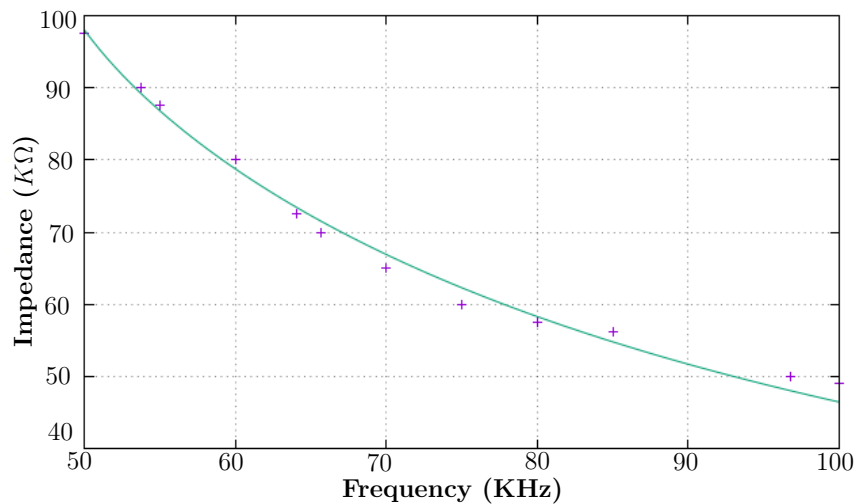


Figura 37 – Espectros de impedância modelados para uma concentração de glicose de 4,1 mmol/L de (KLONOFF, 1997).Fonte: autora (2020).

4.2 EXPERIMENTO COM RINGUER DE LACTATO E ALBUMINA

As figura 38 e 39 mostram as medidas do módulo de impedância para a solução com 100 ml de lactato de ringer e 5 g e 10 g de ovoalbumina respectivamente.

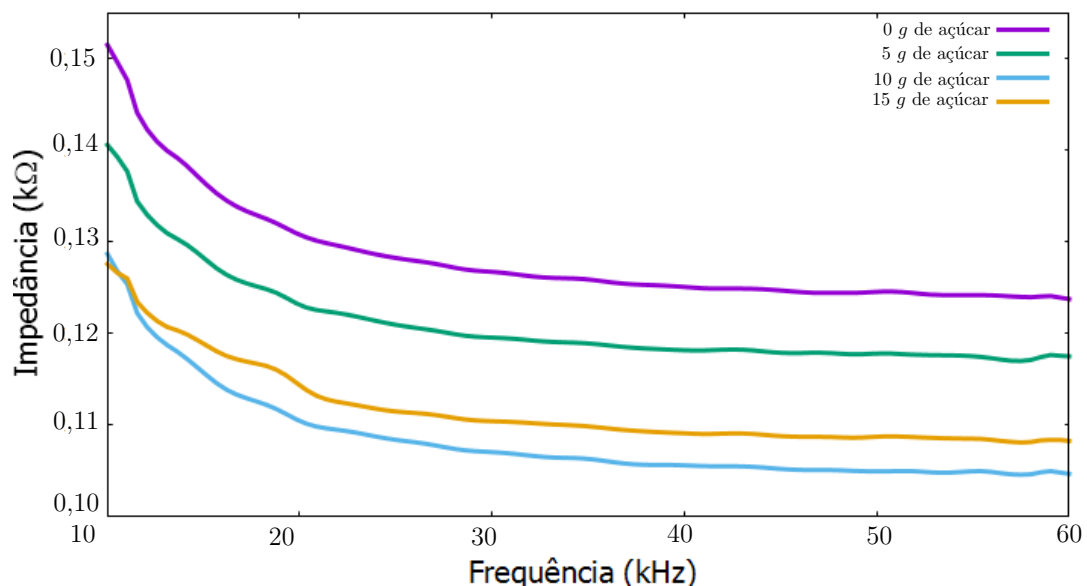


Figura 38 – Medição de impedância de 100 ml solução de lactato de ringuer com 5 g de albumina de ovo usando AD5933. Fonte: autora (2021).

A influência da albumina na solução também foi analisada através da Figura 40, onde a concentração de açúcar é fixada em 5 g. O comportamento mostra claramente uma queda no módulo de impedância com o aumento de albumina.

Nas figuras 41-43 são mostrados os ajustes da curva, todos para concentrações de 100 ml de ringer lactato com 5 g de albumina. A solução de albumina 5 g foi escolhida para os ajustes da curva por se assemelhar aos dados experimentais da figura 36. No entanto, a solução

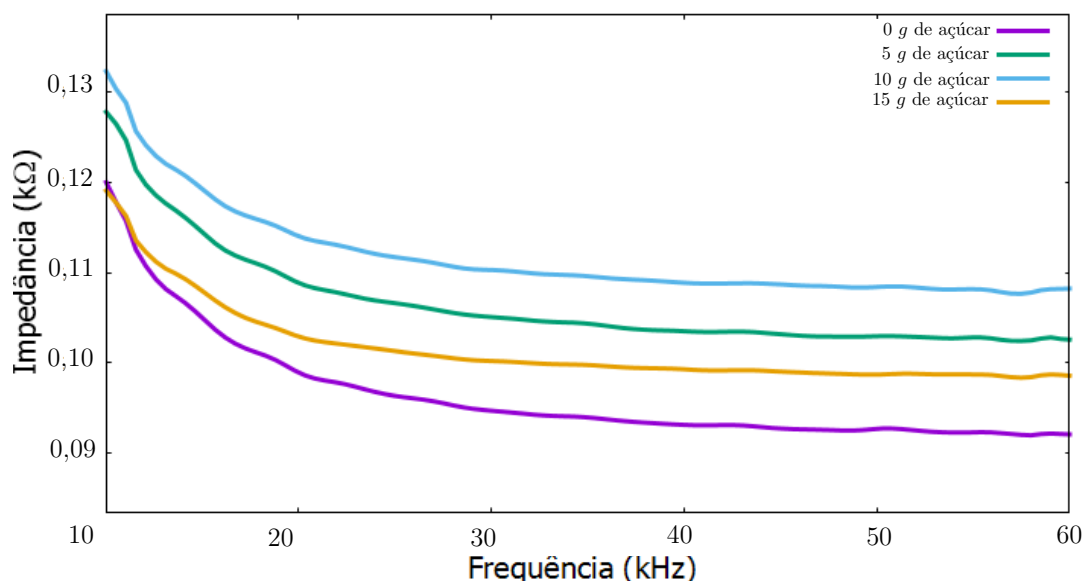


Figura 39 – Medição de impedância de 100 ml solução de lactato de ringier com 10 g de albumina de ovo usando AD5933. Fonte: autora (2021).

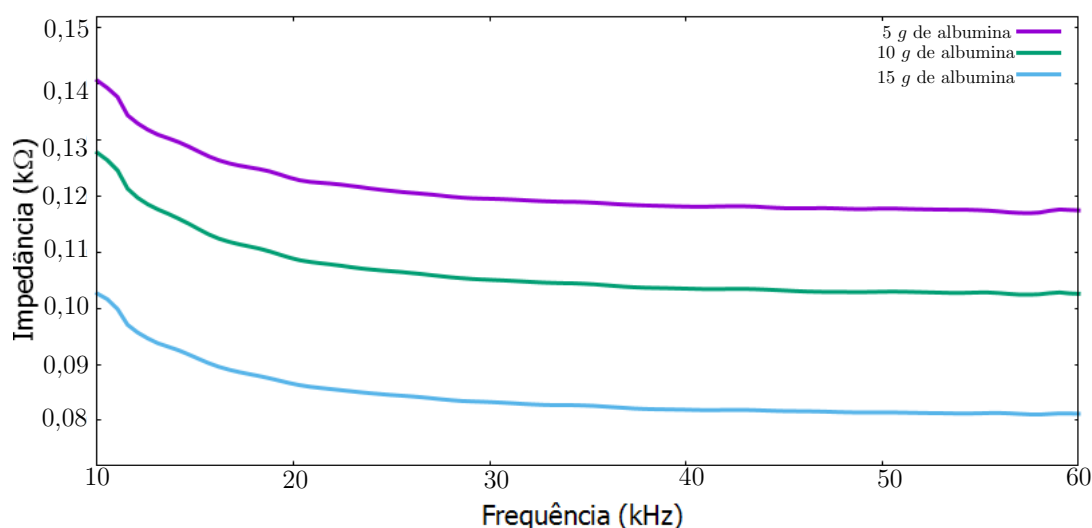


Figura 40 – Queda do módulo de impedância com aumento da concentração de albumina para concentrações de açúcar de 5 g. Fonte: autora (2021).

de albumina 5 g com açúcar 15 g foi descartada desse tipo de análise porque a curva não indica um comportamento análogo às demais curvas, pois ao invés de queda de impedância, ela sobe com aumento na glicose, fenômeno explicado mais a diante.

Os ajustes resultaram nos coeficientes utilizados para o cálculo dos módulos de impedância utilizando a equação 30. Os valores de impedância calculados foram comparados com os valores experimentais apresentados na Figura 38. Para o ajuste da curva mostrada na figura 41, obteve-se um erro mínimo de 0,03% e um máximo de 0,64%.

Os erros percentuais calculados para o ajuste da curva na Figura 42 têm valores mínimo e máximo de 0,02% e 0,71%, respectivamente. Por fim, os erros calculados para o ajuste da curva na figura 43 têm valores mínimo e máximo de 0,02% e 1,35%, respectivamente.

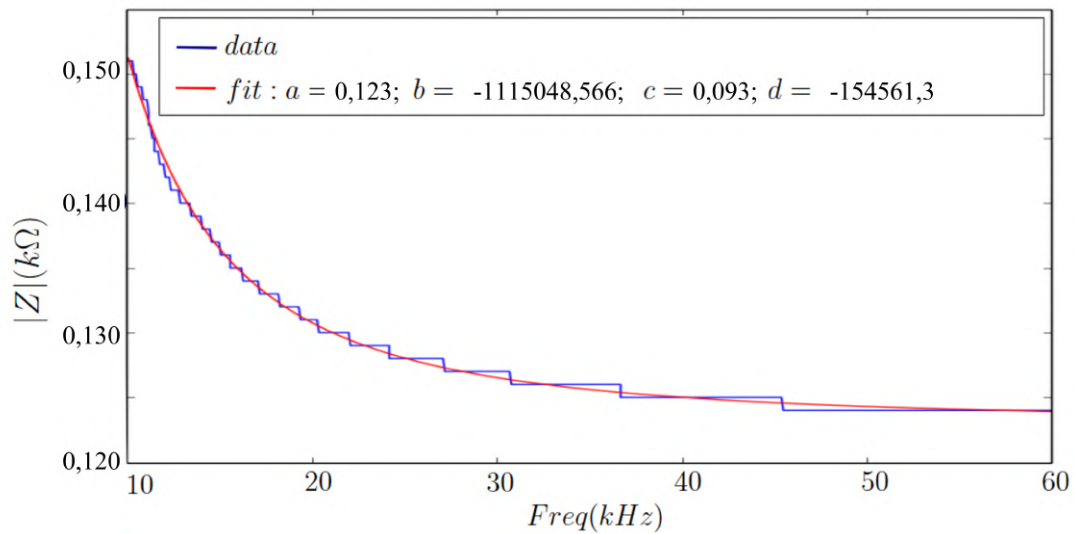


Figura 41 – Curva adequada para 100 ml de solução de lactato de Ringer, 5 g de albumina e 0 g de açúcar. Fonte: autora (2021).

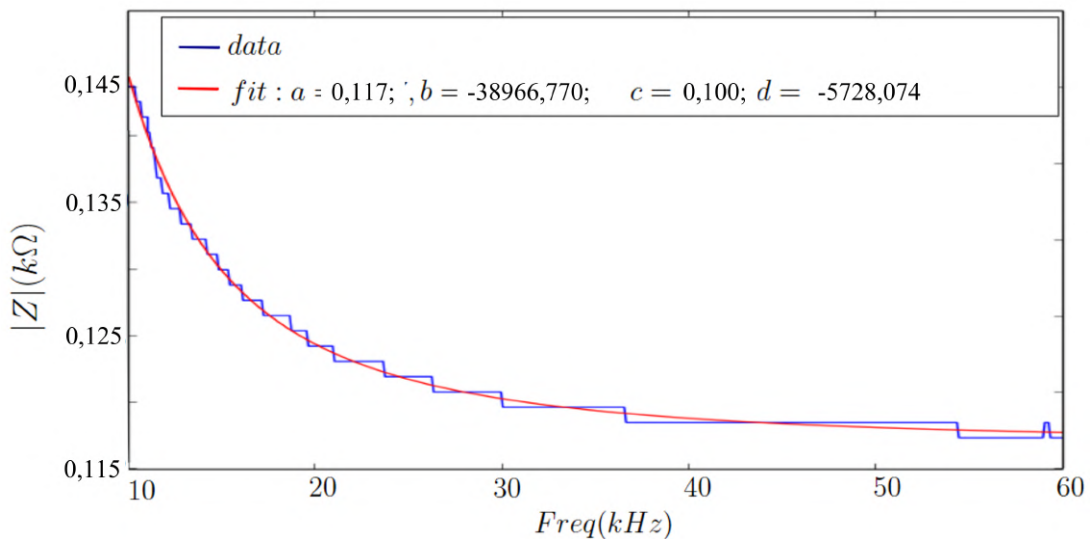


Figura 42 – Curva adequada para 100 ml de solução de lactato de Ringer, 5 g de albumina e 5 g de açúcar. Fonte: autora (2021).

Estes resultados dos ajustes de curva levam a presumir que os coeficientes encontrados são satisfatórios e que o modelo analítico proposto também é aplicável á SRL+albumina.

A tabela 3 mostra os valores dos coeficientes obtidos para todos os ajustes da curva. Observe que os coeficientes a e c da tabela 3 são todos da mesma ordem de grandeza, porém b e d diminuem cerca de duas ordens de grandeza para cada 5 g de açúcar adicionado ao a solução.

Analisando as equações 31-34 nota-se que a , c e d são funções da concentração de glicose (k') e apenas d entre esses três coeficientes tem valores significativamente alterada pela adição de açúcar. Além do mais, apenas b e d dependem de τ^2 , levando à conclusão de que o tempo de relaxação característico da amostra é responsável por essa mudança de ordem de grandeza nos coeficientes.

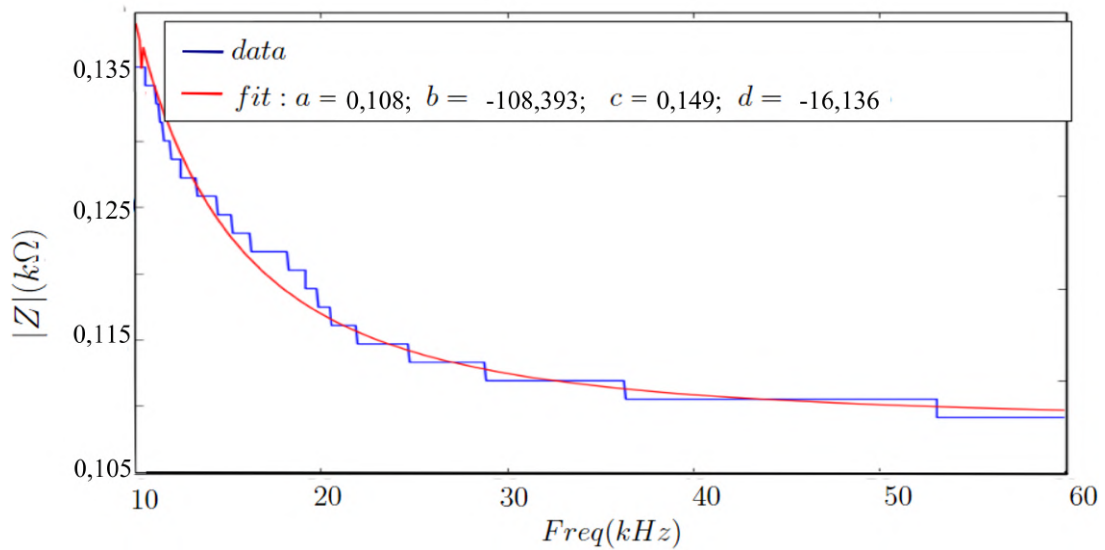


Figura 43 – Curva adequada para 100 ml de solução de lactato de Ringer, 5 g de albumina e 10 g de açúcar. Fonte: autora (2021).

Tabela 3 – Comparação dos valores dos coeficientes obtidos nos ajustes da curva apresentada nas figuras 41-43 para a equação 30.

fit	a	a	c	d
0g	$1,23 \times 10^{-1}$	$-1,12 \times 10^6$	$9,30 \times 10^{-2}$	$-1,55 \times 10^5$
5g	$1,17 \times 10^{-1}$	$-3,90 \times 10^4$	$1,00 \times 10^{-1}$	$-5,73 \times 10^3$
10g	$1,08 \times 10^{-1}$	$-1,08 \times 10^2$	$1,49 \times 10^{-1}$	$-1,61 \times 10^1$

A conclusão deste experimento é: A SRL+albumina não é um bom fantoma para o sangue para o objetivo do qual foi testado, pois ele oferece processos de saturação em que fenômenos químicos como solvatação, frutossamina e hidrólise do açúcar limitam a analogia com sistema real (PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021). Entretanto, o modelo BGP mostrou-se útil novamente. E com relação as alterações significativas dos coeficientes fitados, hipoteticamente causada pelo tempo de relaxação, abre questionamentos quanto as relações τ e k' que deve ser investigada.

4.3 INVESTIGAÇÃO ENTRE O TEMPO DE RELAXAÇÃO (τ) E AS ALTERAÇÕES DA FRAÇÃO VOLUMÉTRICA DE GLICOSE (k')

Suportada pelos resultados experimentais da seção 3.2 e na investigação bibliográfica exposta até aqui, a condutividade elétrica da Eq. 29 é reescrita. Essa grandeza continua sendo um $\sigma(k')$, mas agora σ_h não é mais vista como uma constante e sim uma grandeza que varia com a viscosidade $\eta(k')$.

A viscosidade do plasma para o modelo BGP

A viscosidade do plasma sanguíneo pode ser dada como uma relação linear da viscosidade da água (OLIVEIRA, 2009), pois a maior parte do plasma é composta por água, então a equação descrita e ajustada para a viscosidade dada por (FERREIRA, 2018) é considerado válido para este caso.

Para desenvolver uma equação mais completa para a viscosidade do plasma sanguíneo, a Eq. 23 é introduzida na Eq. 39. E o parâmetro $[LM]$ é estendido como uma soma para as demais proteínas do sangue, especialmente para a albumina que compõe 60% do total de proteínas nela. Então:

$$\eta_{pl} = e^{(D + \frac{B}{T} + CK')} \left(1 + \sum \left(\alpha_i [LM]_i - \overline{[LM]}_i \right) \right) \left(\frac{T}{\overline{T}} \right)^b \quad (66)$$

Em um caso ideal onde a temperatura e a quantidade de proteínas são mantidas constantes, a viscosidade pode ser descrita por:

$$\eta_{pl} = Ae^{CK'} \quad (67)$$

onde

$$A = e^{(D + \frac{B}{T})} \left(1 + \sum \left(\alpha_i [LM]_i - \overline{[LM]}_i \right) \right) \left(\frac{T}{\overline{T}} \right)^b \quad (68)$$

Condutividade do plasma

Inserindo a equação 67 em 35:

$$\tau = \frac{4\pi R^3}{\kappa T} Ae^{CK'} \quad (69)$$

Substituindo τ na equação 37 na condutividade do plasma fica:

$$\sigma_h = \frac{nq^2 \frac{4\pi R^3}{\kappa T} Ae^{CK'}}{m_p} \quad (70)$$

Considerando também um caso ideal onde os demais parâmetros salvo k' , são constantes, vem:

$$\sigma_h = Be^{CK'} \quad (71)$$

onde

$$B = \frac{nq^2 4\pi R^3 A}{\kappa T m_p} \quad (72)$$

Efeito da condutividade elétrica do sangue no modelo BGP

De acordo com Eq. 29 o parâmetro $(1 - k + k')$ é tomado como um valor que diminui com o aumento dos glóbulos vermelhos que aumenta com o valor da glicose, um modelo pelo qual a mudança na viscosidade do plasma não é considerado. No entanto, ao considerar a influência da glicose na viscosidade do plasma, é necessário substituir σ_h da equação 71 na equação 29 e a condutividade sanguínea ficaria:

$$\sigma_m = (1 - k + k')^{\frac{3}{2}} B e^{Ck'} \quad (73)$$

Modelo BGP adaptado

Substituindo as Eqs. 29 e 69 na Eq. 28, temos:

$$|Z| = a \sqrt{1 + \frac{(f^2 + b)^2}{f^2(c f^2 + d)^2}}, \quad (74)$$

onde

$$a = \frac{L}{AB^4} \frac{1}{e^{4Ck'} (1 - k + k')^6}, \quad (75)$$

$$b = \left(\frac{2R^3 A}{\kappa T} \right)^2 e^{2Ck'}, \quad (76)$$

$$c = \frac{2\pi(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon)}{B e^{Ck'} (1 - k + k')^{3/2}}, \quad (77)$$

$$d = \frac{\epsilon_\infty 2R^2 m_p A}{n q^2 \kappa T} \frac{e^{Ck'}}{(1 - k + k')^{3/2}}. \quad (78)$$

Para avaliar a variação relativa de $|Z|$ em termos de concentração de glicose k' e frequência f , a equação 74 foi normalizada e reescrita em termos de $e^{Ck'}$, $(1 - k - k')^{3/2}$ e f , da mesma maneira que na seção 3.1 (código python no apêndice C) obtendo a Figura 44.

Para concluir a presente seção, duas coisas precisam ser ditas: a interpretação sobre a influências das partículas isolantes na matriz condutora e diferença entre o modelo BGP inicial e adaptado.

A interpretação da contribuição das partículas isolantes está abstraída na Figura 45. Mostra que o aumento de partículas fixas leva a um caminho mais longo percorrido e, portanto, dificulta a condutividade devido ao aumento do tempo de espalhamento/relaxamento. Por outro lado, há um aumento na quantidade de partículas condutoras na solução, uma vez que fenômenos químicos de reação da glicose com o sistema liberam elétrons (PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021)(BAYNES, 1991)(SOMER T.; MEISELMAN, 1993).

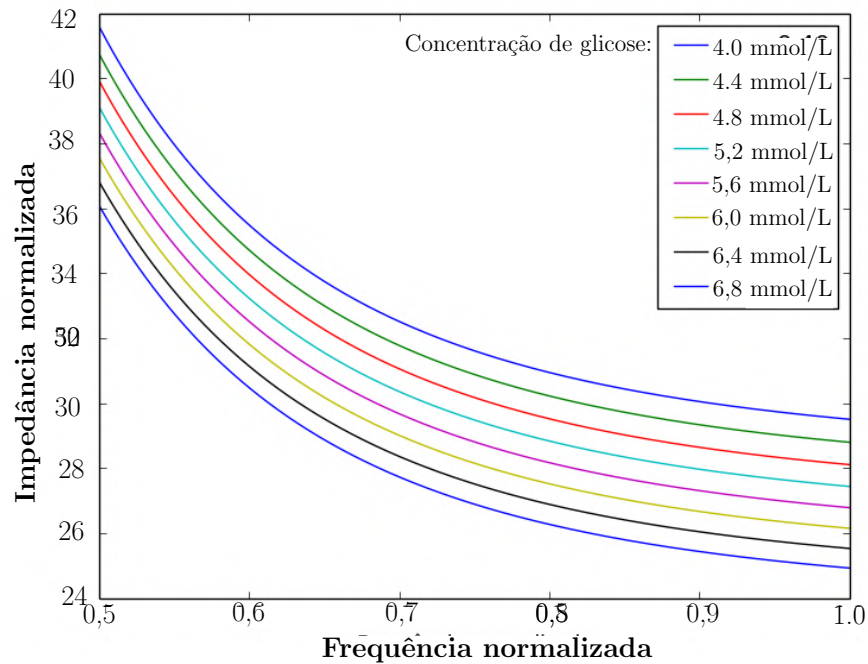


Figura 44 – Espectro de impedância elétrica normalizada em função da frequência normalizada e concentração de glicose. Fonte: autora (2021).

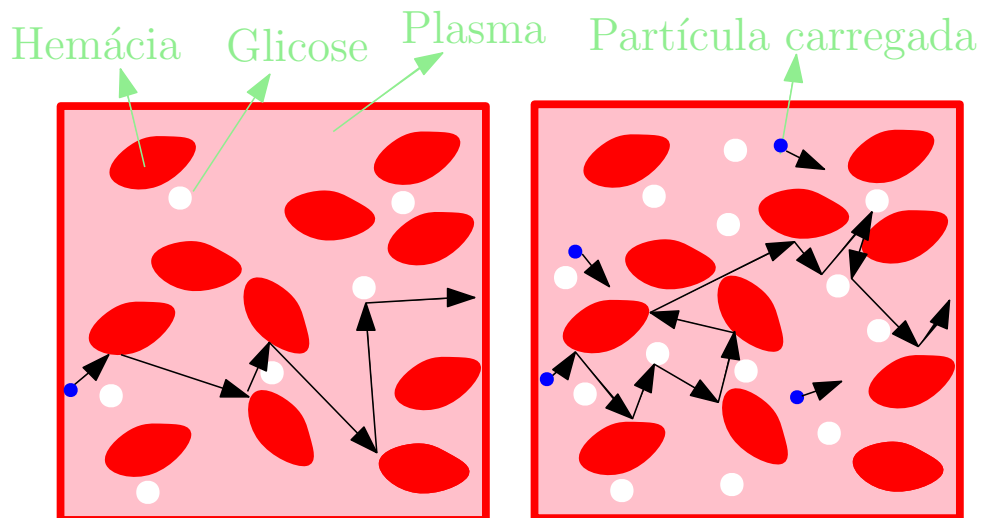


Figura 45 – Representação da influência de partículas não condutoras como corpos massivos e fixos que aumentam o caminho livre médio da partícula e o aumento de partículas carregadas via hidrólise de glicose. Fonte: autora (2021).

Quanto a diferença entre os modelos, primeiramente, é a escala de impedância que possui maior ordem de grandeza no modelo proposto pela equação 74. Isso permite uma melhor identificação entre o espectro de $|Z(k', f)|$ e $|Z(k' + \Delta k', f)|$, onde $\Delta k'$ é a mudança na concentração de glicose. Outra diferença é a velocidade de decaimento da impedância para variação de frequência que ocorre mais rapidamente no modelo proposto do que na versão anterior. A curva na figura 44 é mais semelhante aos resultados experimentais de (PEDRO B.G.;

BERTEMES-FILHO, 2021).

Além disso, o modelo matemático descrito envolve outros parâmetros além dos descritos na literatura até o momento. Parâmetros como temperatura, massa, carga e raio da partícula e influência das proteínas plasmáticas são implementados no modelo conforme descrito em 74.

4.4 TESTES DE BANCADA BIA COM SANGUE BOVINO

A faixa de frequência escolhida para medida de impedância elétrica foi de 50 Hz á 100 kHz com 100 pontos, entretanto, para frequências maiores que 100 Hz a diferença entre os valores de módulo de impedância tornavam-se ínfimos. Na figura 46 a faixa entre 50 Hz e 100 Hz foi escolhida para análise dos dados, pois uma futura confecção de um dispositivo eletrônico real exige clareza na distinção de valores para que os erros associados aos componentes e ruídos externos não interfiram significativamente no resultado final. O resultado demonstra que aumento da concentração de glicose na solução aumenta também o módulo da impedância e de maneira não linear.

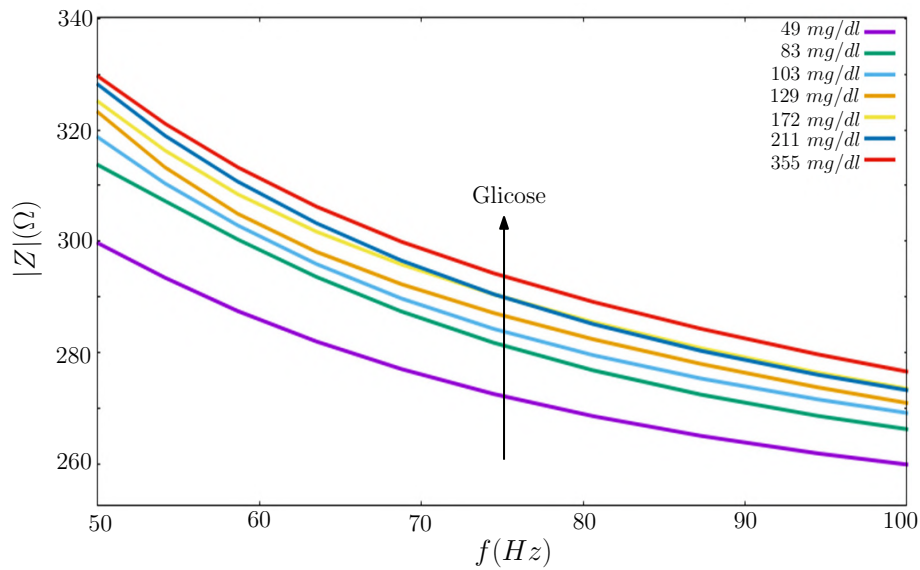


Figura 46 – Espectro do módulo da impedância elétrica da SB 79% para incremento de SG 20% obtidos com *HF2TA* e *HF2IS*. Fonte: autora (2022).

Segundo os resultados da seção 3.1 (Eq. 28, figura 35, figura 36) esperava-se que o módulo de impedância caísse com aumento de SG 20%. Porém, para corresponder ao observado neste experimento, um ajuste na equação do modelo BGP é necessário: a troca do sinal positivo do fator $(1 - k + k')$ por $(1 - k - k')$. A equação modificada é dada pela equação 79 e o gráfico da rotina *Python* que simula o aumento da curva de espectroscopia da impedância esta na figura 47:

$$|Z| = \sqrt{\left(\frac{L^2}{A^2} \frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1 - k - k')^3} \right) + \frac{(L - j2\pi\tau L f^2)^2}{f^2 [2\pi A(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon) - 4\pi^2 A \epsilon_\infty j\pi\tau f^2]^2}} \quad (79)$$

onde $|Z|$ é o módulo da impedância elétrica, σ_h é a condutividade do plasma sanguíneo, k é a fração volumétrica das hemácias, k' é a fração volumétrica da glicose, ε é a constante dielétrica do sangue e f é a frequência do sinal aplicado.

Para demonstrar a diferença entre a modelagem matemática anteriores, o mesmo código *Python* e regra de normalização foi adotada para a obtenção da figura 47. O objetivo é visualizar de maneira qualitativa o comportamento do módulo de impedância em relação a frequência e a concentração de glicose (k'). Concluindo que a mudança do fator $(1 - k - k')$ torna crescente a curva de $|Z|$ com relação ao aumento de k' .

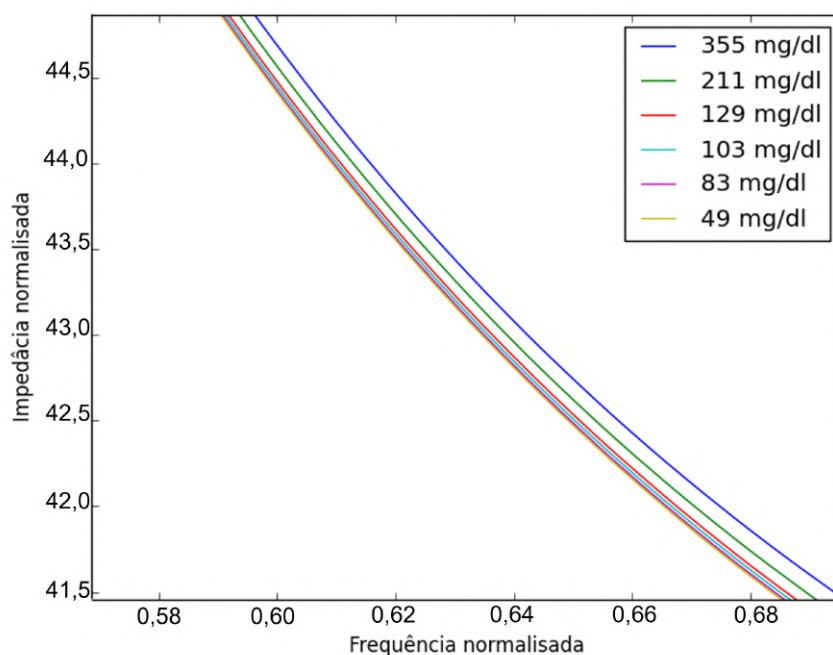


Figura 47 – Espectro da impedância elétrica normalizada em função da frequência normalizada e da concentração da glicose. Gráfico Obtido com mesmo algoritmo de versões anteriores do modelo (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020)(PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, 2021). Fonte: autora (2022).

Entra em discussão a inversão de comportamento entre o experimento usado como base (Figura 36) e os resultados obtidos pela autora (Figura 46). A primeira consideração, o teste feito por (KAMAT D. K.; BAGUL, 2014) são testes *in vivo* enquanto o resultado de figura 46 é *in vitro*. No modelo inicial o fator ficou escrito como $(1 - k + k')$ adequado aos dados utilizados. A interpretação é que num sistema aberto, o vaso sanguíneo real, há entrada e saída de matéria, isto é, a entrada de glicose num determinado volume de sangue retiraria moléculas dos componentes do plasma do volume dito fixo. Já para o caso *in vitro* o volume é aumentado com a adição de glicose (adição considerada no cálculo das frações volumétricas com apêndice E).

Segunda consideração, as moléculas de glicose e as hemácias são consideradas esferas isolantes e são representadas por k' e k respectivamente, a menos de uma diferença de tamanho, ambas deveriam causar o mesmo efeito na condutividade do sangue que adaptando a equação de

Bruggeman resultaria em $(1 - k - k')$ intuitivamente. A interpretação física para o teste *in vitro* as esferas isolantes imersas na matriz condutora dificultam a transição dos portadores de carga por interferir no livre caminho médio, representado na Fig. 45. E no caso do modelo inicial essa interferência mecânica da porção isolante no sistema não é evidente, até porque no sistema real o corpo humano ativa sistemas metabólicos afim de diluir a glicose em excesso, chegando muitas vezes num ciclo de estresse oxidativo.

E terceira consideração, a mudança das técnicas aplicadas. Uma é tetrapolar com a posição geométrica dos eletrodo bem definida, enquanto a outra é bipolar e não aparece clareza na localização dos eletrodos no sistema.

E por último, o comportamento de aumento do $|Z|$ com a acréscimo da concentração de glicose aparece em outras fontes (SBRIGNADELLO S.; TURA,)(HOSSAIN Q. D.; DHAR, 2013)(JUANSAN J.; YULIANT, 2016), demonstrando ser um comportamento não anômalo ou singular do experimento apresentado.

Portanto, a condutividade do sangue é reescrita como:

$$\sigma_m = A_\sigma e^{-B_\sigma k'} (D_\sigma - k')^{\frac{3}{2}} + C_\sigma \quad (80)$$

Em que A_σ , B_σ , C_σ e D_σ são constantes, onde $D_\sigma = 1 - k$.

Viscosidade em função de k'

A equação que representa o comportamento da viscosidade sanguínea baseada na seção 3.3 e na mudança de sinal para k' deve ser:

$$\eta(k') = A_\eta (1 - k - k') e^{C_\eta k'} \quad (81)$$

onde A_η e C_η são constantes arbitrárias.

A tabela 4 mostra os dados coletados de TG (que é expressa em mg/dl) convertidos para k' (que é adimensional), pois, o modelo BGP expressar a concentração de glicose em termos da fração volumétrica.

Tabela 4 – Dados da TG convertidas em k' e viscosidade, para adição de SG 20% em 24 ml de SB 100%.

TG (mg/dl)	k'	η (mPa.s)
134	0,000250	10,5
179	0,000475	10,3
235	0,000949	10,6
258	0,001422	11,1
327	0,001896	11,4
362	0,002368	11,1

O fato dos valores de $k' \ll 1$ permitem expandir em série a equações 81 de modo que:

$$\eta(k') = A_\eta k'^3 + B_\eta k'^2 + C_\eta k' + D_\eta \quad (82)$$

A regressão de curva apresentada na Fig 48 possui um erro máxima de 0,45%. Os resultados para os parâmetros arbitrários são: $A_\eta = -7,41193 \times 10^8$, $B_\eta = 2,74804 \times 10^6$, $C_\eta = -2261,11$ e $D_\eta = 10,8799$.

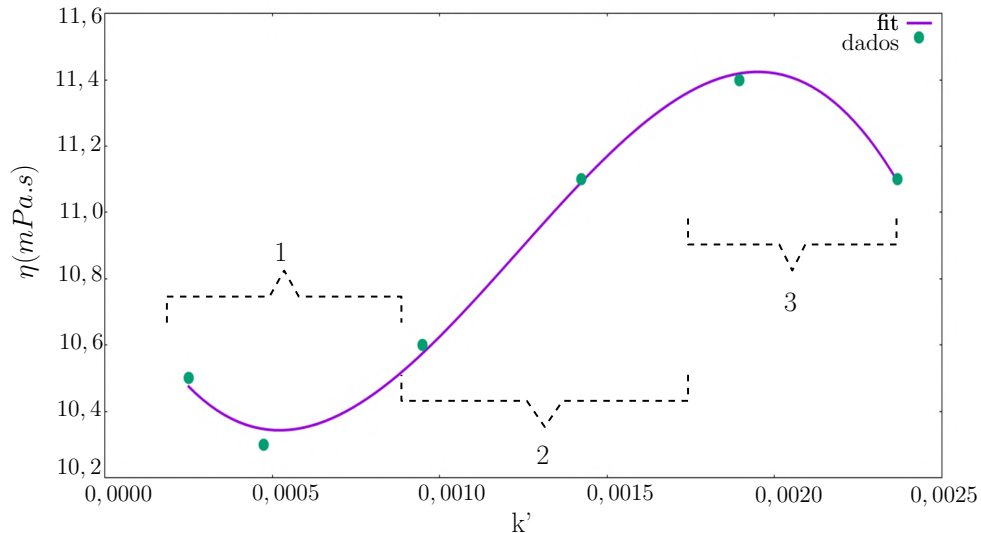


Figura 48 – Regressão polinomial dos dados da tabela 4 com a equação 82. Fonte: autora (2022).

O esperado era uma curva crescente segundo (FERREIRA, 2018), entretanto obteve-se uma flutuação, que pode ser explicada em três etapas que estão indicadas na figura 48. Na etapa 1 há aumento do soluto na solução, logo a mobilidade das moléculas fica dificultada e a viscosidade decresce. Na etapa 2 ocorre o entumescimento das moléculas de glicose, portanto redução água da solução e aumento de viscosidade. E por fim, na etapa 3 há hidrólise da glicose, destruição das ligações α entre os monômeros de glicose. Causando mais mobilidade na solução e diminuindo viscosidade.

Na busca dessa curva crescente de $\eta(k')$ foi feita uma previsão com os parâmetros a regressão linear para equação 82 representada na figura 49. A explicação é que em um sistema *in vitro* o sistema é considerado fechado, e portanto não há adição de água na solução, o que significa que após a etapa 3 a viscosidade tende a cair até chegar a zero. Se a viscosidade é nula, a flexibilidade do material é inexistente.

Entretanto, num sistema *in vivo* a viscosidade é maior em diabéticos (DESOUKY, 2009)(ABDALLA S.;AL-AMEER, 2010) implicando em maior agregação e menor deformidade das hemácias, a constante dielétrica e a condutividade são maiores também para portadores da doença. Esse aumento de η é resultado de um quadro de estresse oxidativo (SOMER T.; MEISELMAN, 1993) que pode ser interpretado como uma saturação do sistema de autorregulação do corpo humano que busca manter constante a viscosidade. Todos estes fatores levam a crer que a alteração da viscosidade no sangue não é devido a glicose em si, mas sim de todas as outras falhas que ocorrem devido o excesso de glicose no sangue a longo prazo. A viscosidade deverá então numa situação real e de curto prazo flutuar em torno de um ponto médio, caracterizando o comportamento da figura 48.

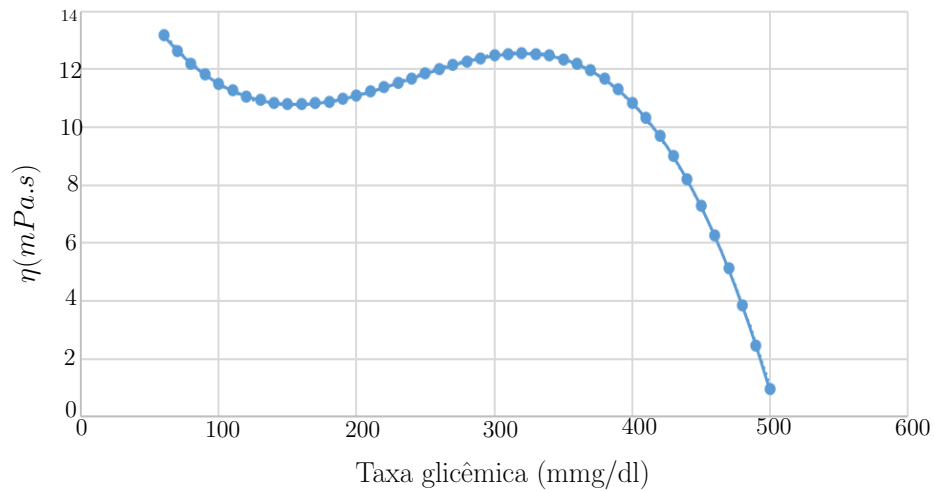


Figura 49 – Previsão do comportamento da viscosidade baseado na regressão linear da figura 48.
Fonte: autora (2022).

Condutividade em função de k'

A figura 50 mostra a dependência linear da condutividade da amostra com a temperatura T e nitidamente uma relação não linear com k' .

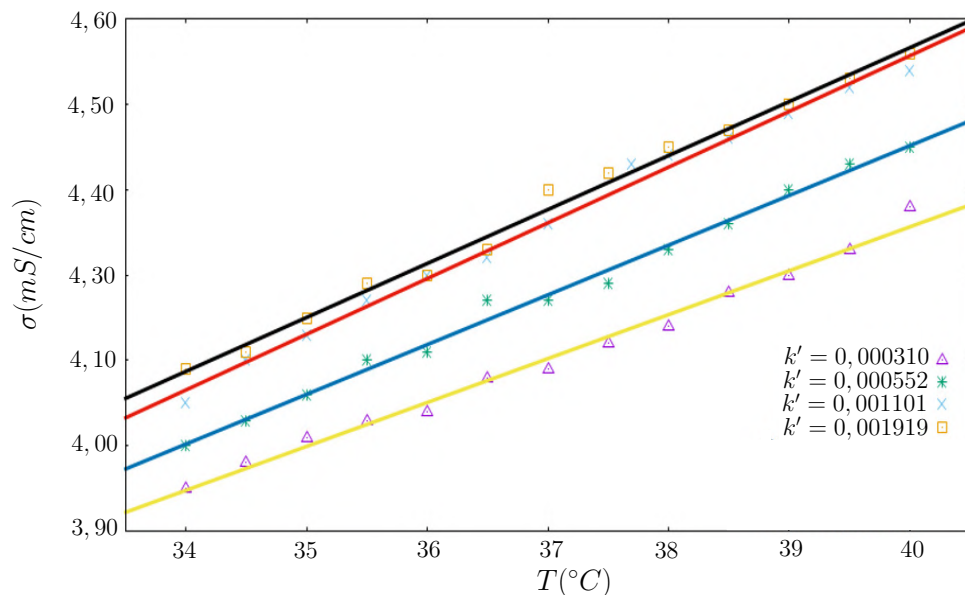


Figura 50 – Comportamento linear da condutividade (σ) com a temperatura (T). Fonte: autora (2022).

Para analisar o tipo de comportamento de $\sigma(k')$ a temperatura foi fixada em 36,5 °C e a curva foi fitada baseada na equação 80. A conversão da TC para k' é dada pela tabela 5:

Tabela 5 – Dados da TG convertidas em k' para adição de SG 20% em SB 49%.

TG (mg/dl)	k'
44	0,000310
102	0,000552
158	0,001101
246	0,001919

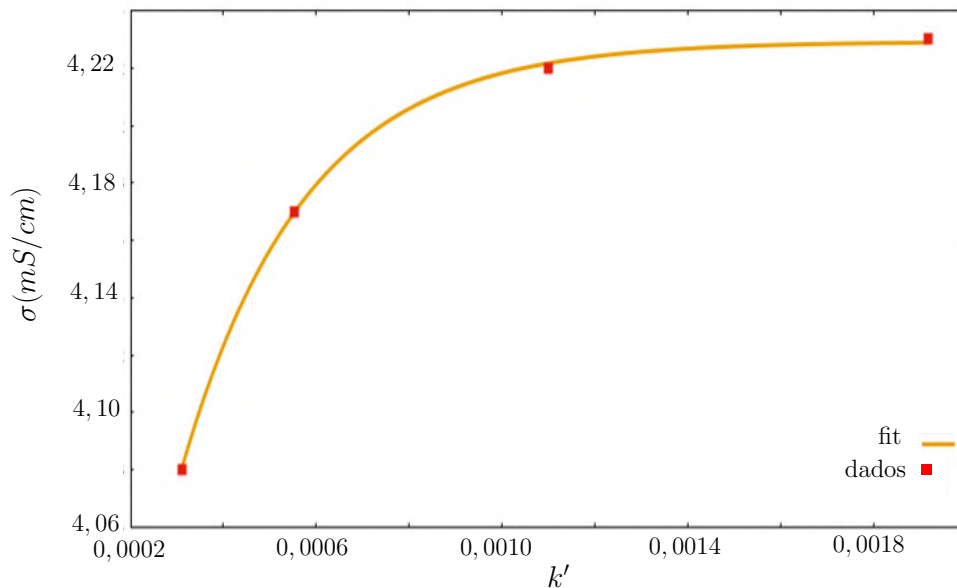


Figura 51 – Ajuste de curva da equação 80 para condutividade elétrica em função da fração volumétrica de glicose. Fonte: autora (2022).

O resultado dos parâmetros são: $A_{\sigma} = -1,14641$; $B_{\sigma} = 3775,43$; $C_{\sigma} = 4,22917$ e $D_{\sigma} = 0,559553$. Sendo $D_{\sigma} = 1 - k$, então $k = 0,440447$.

Julga-se aceitável este resultado, uma vez que o valor da fração volumétrica de hemácias (k) está dentro de um valor normal. Além dos erros relativos serem menores que 6% na faixa fisiológica ($k' > 0,0005$, isso porque $k' = 0,0005$ significa TG igual a 70 mg/dl).

O fato da condutividade aumentar com o aumento de glicose não deve interferir no fator $(1 - k - k')$, que representa a interferência do livre caminho médio das partículas, mas a relação é caracterizada também pela parte exponencial da Eq. 80, que representa o aumento do número de portadores de carga presente na solução. Esse acréscimo de íons é devido aos processos químicos de hidrólise da glicose. Além do mais, que esse tipo de comportamento aparece em outros resultados da literatura (KARACOLAK T.; MORELAND, 2013)(AKBAR M. A.; RIANTO, 2020)(??).

Impedância elétrica em função da glicose

Para encontrar uma relação $|Z(k')|$, a frequência foi fixada em 60 Hz (como indicado na figura 46) e os respectivos valores de $|Z|$ referente as curvas de k' foram utilizados. A conversão

da TG para fração volumétrica k' está na Tabela 6 e a regressão linear da figura 52 foi aplicada segunda a equação 83.

$$|Z(k')| = H_z \sigma_m = H_z \left\{ A_z e^{-B_z k'} (D_z - k')^{\frac{3}{2}} + C_z \right\} \quad (83)$$

Tabela 6 – Dados da TG convertidas em k' e viscosidade, para adição de SG 20% e SB 79%.

TG (mg/dl)	k'
49	0,0000700
83	0,0001210
103	0,0002110
129	0,0003010
211	0,0006330
355	0,0010844

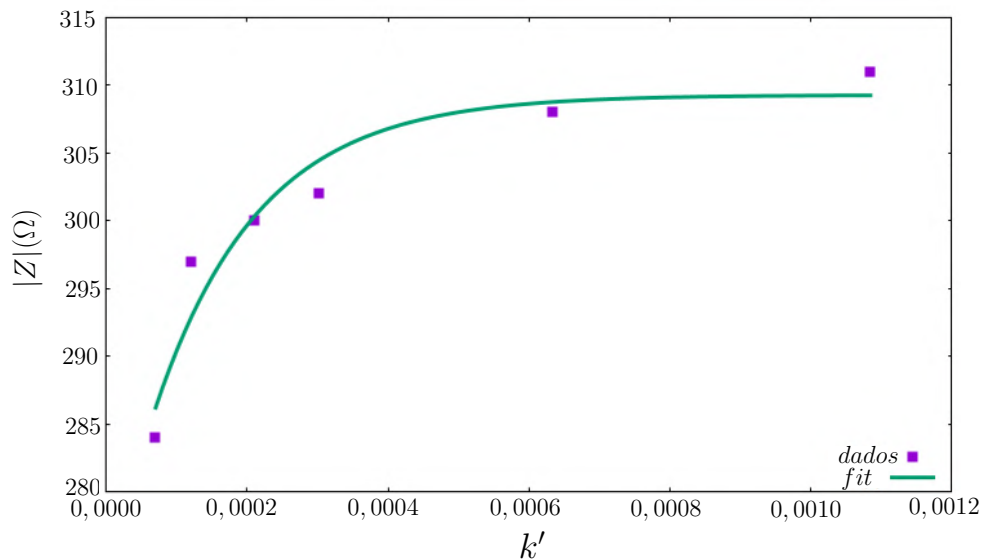


Figura 52 – Análise do comportamento de $|Z|$ com relação a k' em 60 Hz. Fonte: autora (2022).

Os resultados dos parâmetros: $H_z = 67,6458$; $A_z = -1,12431$; $B_z = 6746,24$; $C_z = 4,5721$ e $D_z = 0,618746$. Sendo $D_z = 1 - k$, então $k = 0,381254$.

A equação 83 foi escolhida para regressão como consequência da semelhança no comportamento de $|Z(k')|$ e $\sigma(k')$ e obteve erro relativo máximo de 7%, que torna coerente o ajuste de curva realizado. Entretanto, ela difere da relação descrita pela equação 79 que representa o modelo BGP.

Conclui-se que a ideia de que o módulo da impedância elétrica seja integralmente determinado como um múltiplo da condutividade elétrica é equivocada. Há várias explicações para poderiam testar este fato, tais como: analisar o teste da condutividade, analisar o teste da impedância ou buscar justificativas na literatura sobre uma dependência de $\varepsilon(k')$.

4.5 TESTE COM RINGUER LACTATO E ALBUMINA NO SISTEMA DE ELETRODOS TETRAPOLAR

A mesma metodologia de medição de impedância e tratamento dos dados realizada com sangue bovino foi feita com uma solução de ringuer de lactato e albumina. O objetivo é verificar se a diferença de resultado entre o trabalho de (KAMAT D. K.; BAGUL, 2014), Figura 36, e da Figura 46 é causada pela diferença de sistema de eletrodos (bipolar e tetrapolar) ou até mesmo pelo equipamento (AD5933 ou Zurick).

Uma solução com 235,78 g de ringuer lactato com 13,28 g de ovoalbumina, exatamente os mesmo componentes da seção 3.2, é preparada e nomeada de SR 5,3%. A mesma metodologia da seção 3.4 foi utilizada para encontra a relação entre condutividade e impedância com relação a concentração de glicose.

Análise do teste da impedância

O resultado para medição do módulo da impedância elétrica é dividido em duas partes: baixas e altas frequências. A comparação entre as figuras 38 e 53 mostra a oposição dos comportamentos entre as duas metodologias. Após uma região de inflexão das curvas, a impedância sobe com aumento de glicose na mesma faixa de kHz e isso pode justificar porque o resultado da seção 3.4 não é correspondente ao da seção 3.1.

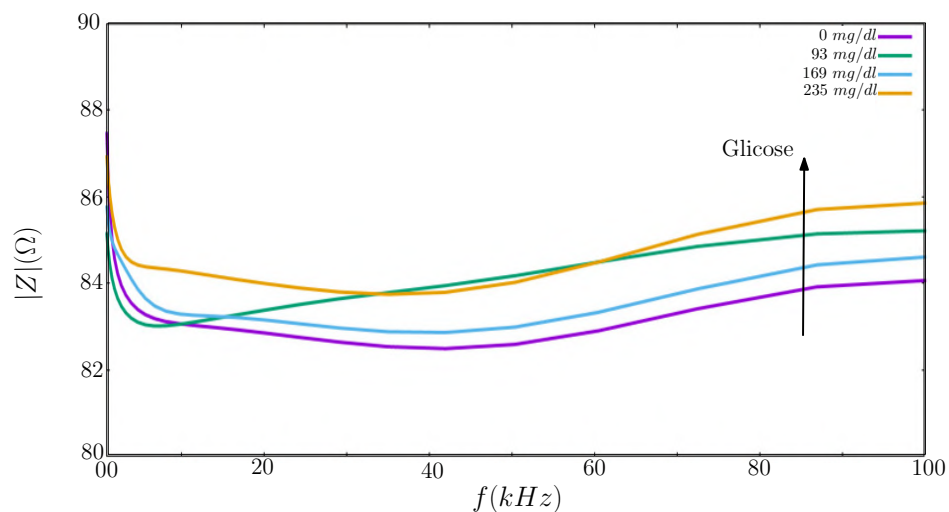


Figura 53 – Espectro do módulo da impedância elétrica da SR 5,3% para incremento de SG 20% obtidos com HF2TA e HF2IS em altas frequências. Fonte: autora (2022).

A figura 54 mostra o mesmo comportamento da figura 38, entretanto, pertence as baixas frequências e antes da inflexão das curvas (Figura 53).

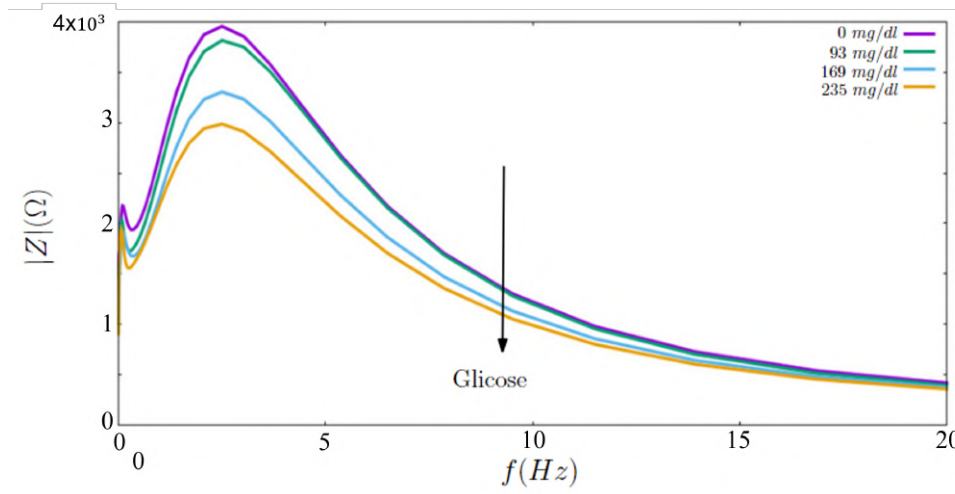


Figura 54 – Espectro do módulo da impedância elétrica da SR 5,3% para incremento de SG 20% obtidos com HF2TA e HF2IS em baixas frequências. Fonte: autora (2022).

Estes resultados deixam em aberto a possibilidade de existir também uma região de inflexão seguida da oposição de comportamento do $|Z(k')|$ para solução de sangue bovino, que demonstre, portanto, algo correspondente ao resultado da figura 36. Contudo, dos resultados coletados até então se essa região existir para SB ela está acima dos 100 kHz, que é a região não explorada nos teste com SB.

Análise do teste da condutividade

A figura 55 mostra o comportamento da condutividade elétrica com relação á concentração de glicose. Note que ela sobe inicialmente e depois decai, este comportamento é explicado na própria figura e corresponde a teoria desenvolvida até aqui.

O interessante é que mesmo mudando a solução utilizada na metodologia, a relação de $|Z(k')|$ é proporcional a $\sigma(k')$, isto é, a impedância cai com aumento de glicose (Figura 54) e a condutividade também, a menos de um ponto inicial com glicose zero na SR, que não existe no sangue.

Dessa forma, o experimento com SB deixa ser alvo de erro metodológico e passa a ser motivação de trabalhos futuros.

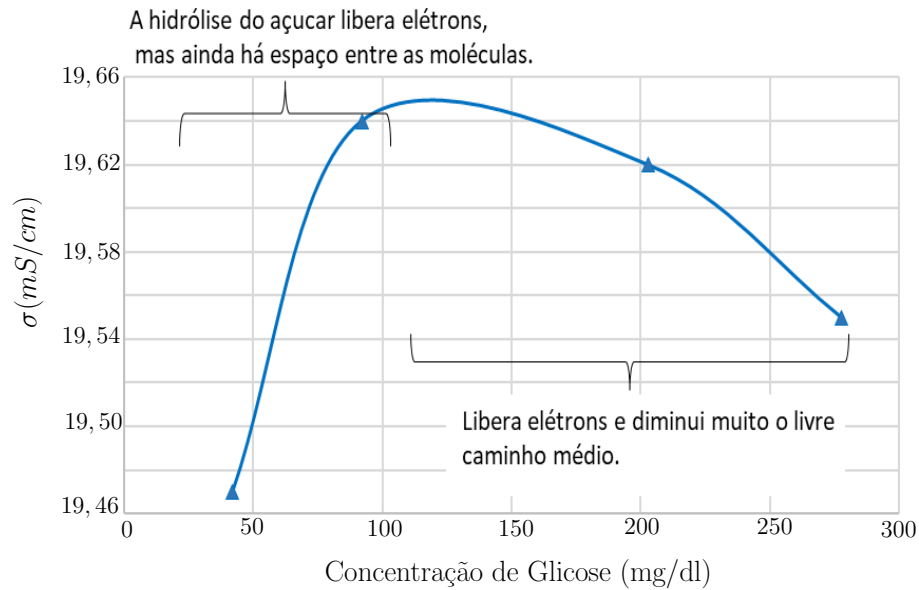


Figura 55 – Dados experimentais da condutividade elétrica em relação a concentração de glicose para SR 5,3%. Fonte: autora (2022).

4.6 TESTE DE BANCADA BIA COM SANGUE HUMANO EX-VIVO

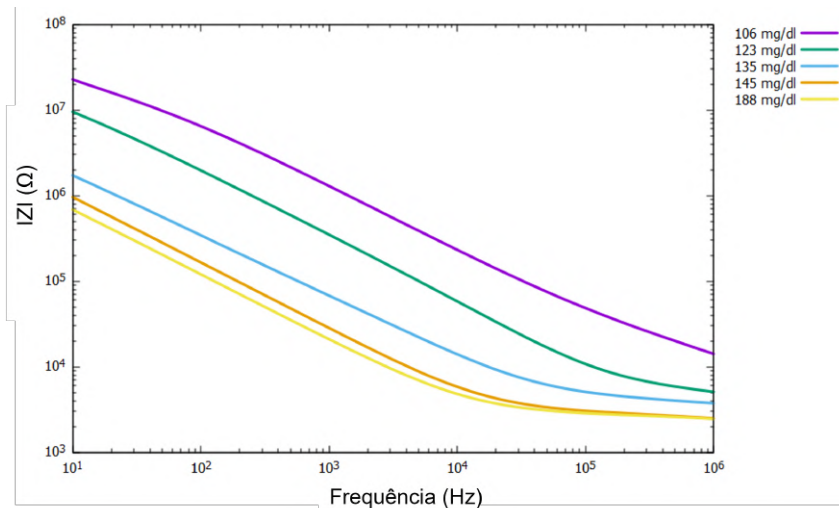


Figura 56 – Módulo da impedância em função da frequência para diferentes concentrações de glicose sanguínea. Fonte: autora (2023).

A impedância da amostra na figura 56 mostra que a menor concentração de glicose (106 mg/dl) é dominada pela capacitância em toda a faixa de frequência 10 Hz á 1 MHz. Os dados da figura 56 indicam a queda da impedância com o aumenta a concentração de glicose, mesmo comportamento observado e modelado em (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020). Para frequências entre 100 Hz e 10 kHz a curva tem uma pendente linear que caracteriza uma capacitância de double layer e resistência de transferência (ROJAS-DIAZ J.; FELICE, 2019).

Os valores de $|Z|$ empregados ao Teorema de Geselowitz na equação 4 são os valores para frequência de 1, 3,9 e 24,9 kHz, escolhidos randomicamente. Como resultado, a figura 57 exhibe um comportamento sigmoide da condutividade em relação a fração volumétrica da glicose no sangue.

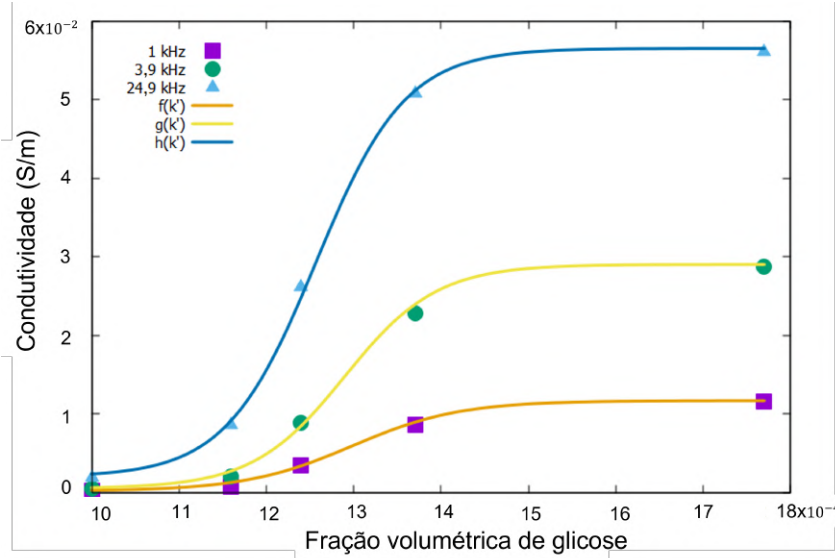


Figura 57 – Curvas para condutividade em função da fração volumétrica da glicose sanguínea.
Fonte: autora (2023).

As equações $f(k')$, $g(k')$ e $h(k')$ são as regressões de curva para 1 kHz, 3,9 kHz e 24,9 KHz respectivamente. A equação sigmoide que representa o comportamento da condutividade $\sigma(k')$ em função da fração volumétrica da glicose k' é:

$$\sigma(k') = \frac{a}{(1 + be^{c-dk'})} + g \quad (84)$$

onde a , b , c , d e g são coeficiente.

Os melhores valores de erro percentual foram os de $h(k')$ 0,6 e 3,75%. Os coeficientes de $h(k')$ foram utilizados para cálculo do parâmetro condutividade nas simulações segundo a equação 85:

$$\sigma(k') = \frac{0,054}{(1 + 14,94e^{21,80-19500k'})} + 0,0015 \quad (85)$$

A distribuição de sensibilidade em um ponto dentro de o volume condutor da caixa na figura 30 foi calculada usando o teorema de Geselowitz para as distintas concentrações de glicose utilizando a equação 8 (BERTEMES-FILHO P.; BROWN, 2003). Os resultados da sensibilidade mostram duas zonas (positiva e negativa), figura 59, sendo considerado neste estudo a região central de sensibilidade positiva, chamada zona focada (MOBARAK, 2022). A figura mostra simetria nos planos yz e xz.

O número de pontos com sensibilidade máxima positiva aumentam na região focal juntamente com a concentração de glicose, até saturar na concentração de 188 mg/dl. Os

pontos de sensibilidade máxima negativa também aumentam pelo em menor proporção na região periférica.

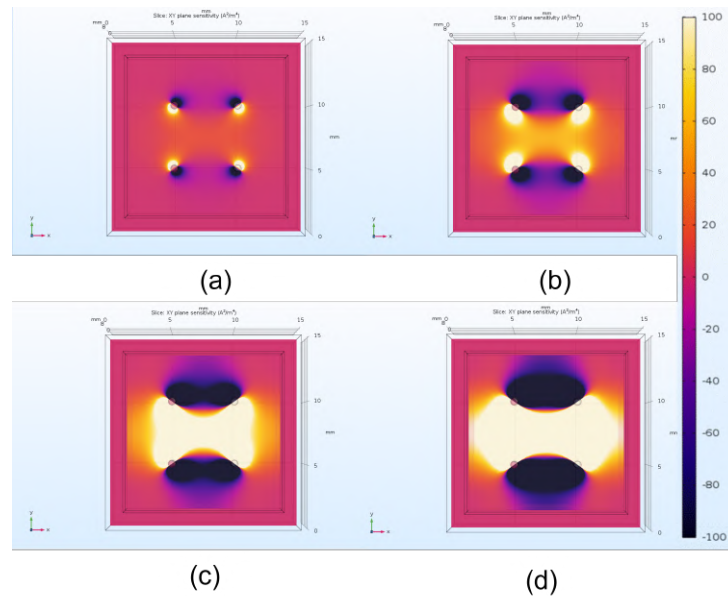


Figura 58 – Sensibilidade para plano XY. Concentrações de glicose 106 mg/dl em (a), 123 mg/dl em (b), 132 mg/dl em (c) e 188 mg/dl em (d).

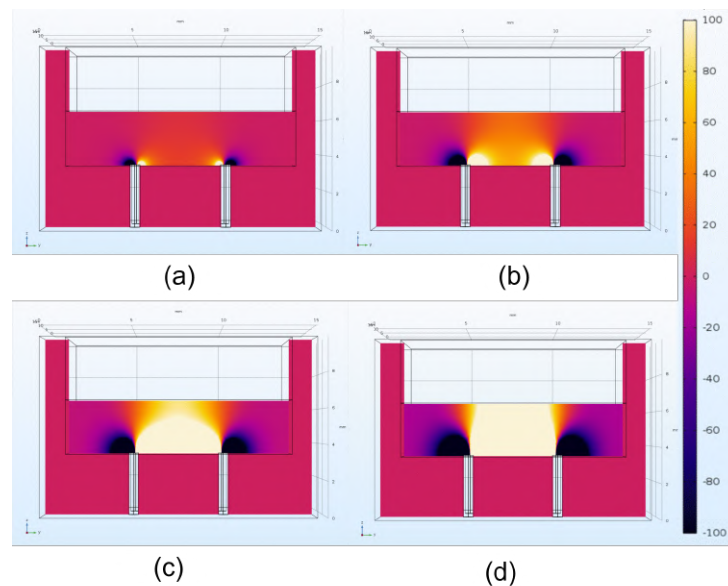


Figura 59 – Sensibilidade para plano XZ. Concentrações de glicose 106 mg/dl em (a), 123 mg/dl em (b), 132 mg/dl em (c) e 188 mg/dl em (d). Fonte: autora (2023).

Os dados de condutividade também permitem uma análise de variação dos parâmetros de condutividade e concentração de glicose com relação ao tempo. A figura 60 demonstra uma relação de proporcionalidade entre as taxas de variações de condutividade e concentração de glicose com o tempo.

Correlação entre impedância e glicose

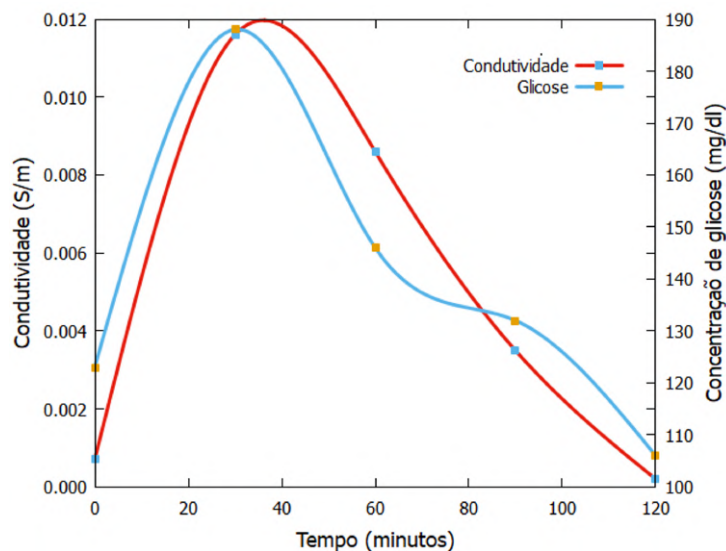


Figura 60 – Variação de condutividade e da concentração de glicose em relação ao tempo. Fonte: autora (2023).

Como mostra a figura 56, $|Z|$ é inversamente proporcional a concentração de glicose, que concorda com dados utilizados no trabalho que deu origem a este artigo (PEDRO B. G; MARCÔNDES, 2020). Entretanto, para uma frequência fixa o comportamento de $|Z| \times k'$ é não linear neste experimento. A não linearidade é justificável por uma reação redox faradaica do H_2O_2 na superfície do eletrodo AISI 304 (LE, 2021). A composição do AISI 304 contém 2% manganês que provavelmente se funcionalizou devido no inércia eletroquímica pela formação de um filme passivo do aço (WANG H.; SWEIKART, 2003).

Observe que a configuração tetrapolar dos eletrodos em baixas concentrações de glicose (<132 mg/dl) mostra alguns incrementos paulatinos (Figuras 59 e 58). Na região intereletrodos observa-se uma alta intensidade de sensibilidade com o aumento da concentração de glicose, ou seja, com uma maior concentração de glicose, o fluido atinge o limite da mobilidade iônica e consequentemente fica saturado. O fator geométrico da posição dos eletrodos limita a sensibilidade (SINGH U.; SHARMA, 2022) como se evidencia quando a concentração de glicose aumenta (figuras 59 e 58). Neste caso, a influência da geometria está relacionada à oscilação ou reorientação das cargas iônicas devido às forças eletrostáticas no volume, e à reorganização das estruturas atômicas da amostra na superfície do eletrodo (GÓMEZ-SÁNCHEZ J. A.; FELICE, 2012).

A glicose quando é imersa em água fica não condutora de eletricidade, e pouco ionizável, portanto, contribuirá com aumento na resistividade (HELLIGE N. C.; MEYER, 2012). Esta consideração supõe que o acréscimo de glicose no sangue resulta em uma diminuição de condutividade (hipótese levanta no modelo original BGP). Mas em meio iônico a glicose se torna polarizável (PADUSZYNSKI K.; OKUNIEWSKI, 2016) através do processo de glicólise. E apesar de armazenar parte da energia do campo elétrico nela, esse efeito gera uma organização das moléculas que reduz a probabilidade de colisões dos portadores de cargas, contribuindo com

a mobilidade iônica (WEI J.; TANG, 2020).

Este processo de quebra da molécula de glicose além de torná-la polar, aumenta os íons na solução. No meio deste processo a glicose está sendo transportada para dentro da hemácia (amostra não diabética) ativando a bomba de sódio e potássio, que também aumenta o número de íons. Este processo ocorre até um momento que a solução torna-se saturada de íons. Este momento ocorre no pico da concentração de glicose, onde insulina tende aos níveis mais altos e portanto, os processos de glicólise e para regular os níveis de eletrólitos no sangue. (MERNISSI G.; BARLET-BAS, 1991).

Estendendo a ideia de (PADUSZYNSKI K.; OKUNIEWSKI, 2016), a energia do campo elétrico também deve ser a soma do que está armazenada nas moléculas polarizadas com a parte cinética das mobilidade dos íons. E quando os íons aumentam muito na solução, a parcela destinada para polarização é diminuída, como um princípio de conservação de energia do sistema. Isso explicaria porque as inflexões da da curva de $|Z|$ na Figura 56 se antecipam no eixo das abscissas conforme a concentração de glicose aumenta (SURAJUDEEN S.; YAHYA, 2020).

Observe que para 188 mg/dl essa inflexão ocorre em 10 kHz, 123 mg/dl em 100 kHz e para 106 mg/dl não é observável na faixa de frequência estudada. Essa mudança de inclinação na curva evidência qual é a faixa de frequência em que a impedância de polarização é mais significativa do que a impedância da amostra.

Outra análise sobre a figura 56 é a variação de $|Z|$ tender a zero quando as concentrações de glicose aumentam. Esta limitação é da geometria do eletrodos, evidenciada na figura 59 através da redução da sensibilidade. Sendo a sensibilidade resultado da geometria dos eletrodos, portanto, este teste de bancada não serve para amostras de sangue com concentrações de glicose maiores que 188 mg/dl. Logo, com alterações adequadas na geometria outros testes com concentrações maiores de glicose, como 300 mg/dl (valor tangível em sangue diabético), tornam-se possíveis.

Correlação entre condutividade e glicose

A análise da figura 57 e interpretação física da equação 84 indica pontos de concordância e discordância com modelo BGP original. Para fins didáticos considere a função sigmoideal na forma algébrica (todos coeficientes unitários):

$$\sigma(k') = k' \cdot \frac{1}{\sqrt{1 + k'^2}} \quad (86)$$

Dividindo a equação 86, na primeira parte, a glicólise e o fenômeno bomba-potássio aumentam os íons no plasma. Isto justificaria o aumento de condutividade ao aumentar a concentração de glicose no sangue, o que discorda do modelo BGP original. Na segunda parte, a glicose no sangue deve ser interpretada como uma molécula grande em relação aos íons e ionizável depois da glicólise. Sendo muito maior que os íons, ela não contribui para o transporte de carga e já não armazena tanta energia para polarização quando os valores de glicose chegando

ao pico (lembre-se que a parcela da impedância de polarização diminui com aumento de glicose). Neste processo ela dificulta o livre caminho média das partículas transportadas. Portanto diminui a condutividade, concordando com modelo BGP original.

A curva resultante da subtração das parcelas $f(k') = k' - \sqrt{1 + k'^2}$ é crescente e está representada na figura 61. Dando sentido então a resposta crescente da condutividade ao aumento de glicose na solução.

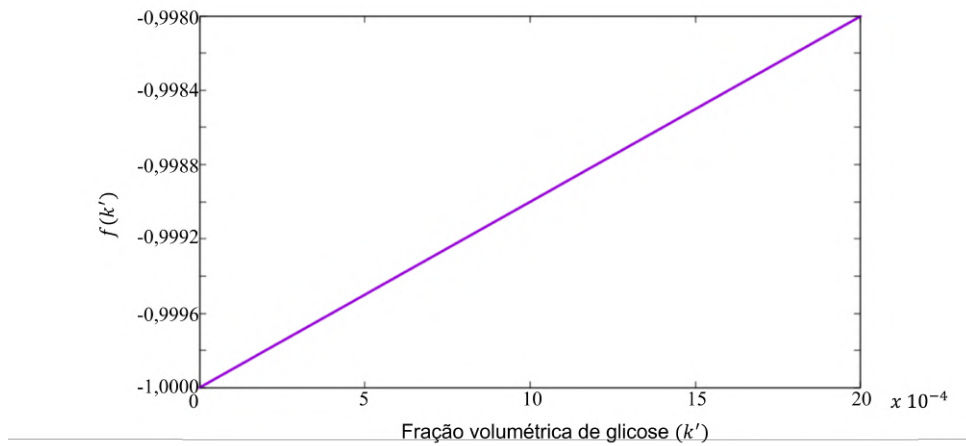


Figura 61 – Curva resultante da subtração das parcelas que compõem a condutividade exemplificada da equação 86. Fonte: autora (2023).

Impacto dos resultados

Modelos analíticos são utilizados para descrever comportamentos entre parâmetros ou para prever o que acontece com um deles conforme o outro é alterado. A descrição do comportamento da glicose sanguínea em relação a medida de espectroscopia de impedância elétrica (IES) pode ser organizada da seguinte maneira: Escrevendo $|Z(\sigma)|$ temos também que $|Z(k')|$, utilizando então a IES obtém-se $|Z(\sigma)|_i$ onde i é o índice de impedância para cada valor de frequência f_i discretizada na medida do dispositivo. Sendo os valores de f_i pré-estabelecidos é possível calcular σ_i para cada uma das suas frequências correspondentes. Este processo resultar-a em $\sigma_1 \approx \sigma_2 \approx \dots \approx \sigma_n$ com $i = [1 : n]$, logo uma média dos valores de σ_i resultariam num valor de condutividade a ser inserido na equação 84 e encontrar k' a partir da descrição de $k'(\sigma)$. Assim monitorando continuamente os valores de glicose quase que instantaneamente.

Quanto a predição de comportamentos, a figura 60 permite, mesmo que grosseiramente, o uso da equação para análise temporal das grandezas analisadas. Isso significa que com conhecimento de um $\sigma(t)$ e de um $\sigma(t + \Delta t)$, aplicando a definição de limite para quando $\Delta t \rightarrow \delta t$, encontra-se uma taxa de variação $\frac{\delta \sigma}{\delta t}$, e portanto tem-se um valor para $\frac{\delta k'}{\delta t}$ que permitia uma previsibilidade da variação de glicose. Utilizando novamente a equação 84 com valor de $\sigma + \frac{\delta \sigma}{\delta t}$ é possível então saber qual será o valor de $k' + \frac{\delta k'}{\delta t}$ e intervir em casos de anormalidade glicêmica evitando quadros de hipo/hiperglicemia.

Para uma aplicação mais real, podemos utilizar a equação de condutividade 84 no modelo BGP, tal que:

$$|Z|_{sangue} = \frac{L}{A} \sqrt{\left(\frac{1 + b \cdot e^{c-dk'}}{a + g(1 + b e^{c-dk'})} \right)^2 + \left(\frac{1}{4\pi^2 \epsilon^2 f^2} \right)} \quad (87)$$

onde L e A são o comprimento e a área da seção transversal da embarcação, respectivamente

Numa medida *in vivo* obtém-se um sinal $|Z|_{externo}$, que deve ser $|Z|_{sangue}$ somado a uma impedância $|Z|_{restante}$ de tudo que não diz respeito ao sangue (ossos, pele, nervos, gordura, etc). Um dispositivo físico deve ter uma penetração regulável para o campo elétrico, que permite medir a camada superficial que corresponde a $|Z|_{restante}$ e depois medir $|Z|_{externo}$ correspondente a um campo elétrico mais profundo na amostra.

Desta forma, $|Z|_{sangue} = |Z|_{externo} - |Z|_{restante}$, e a equação 87 descreverá k' como:

$$k' = \frac{c - \ln \left[\frac{(a+g)M-1}{b(1-gM)} \right]}{d} \quad (88)$$

onde

$$M = \left[\left(\frac{A}{L} |Z|_{sangue} \right)^2 - \left(\frac{1}{4\pi^2 \epsilon^2 f^2} \right) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (89)$$

a frequência f é pré-estabelecida para cada ponto de coleta no dispositivo, L e A dependem da geometria dos eletrodos, os coeficientes a , b , c , d e g devem ser clinicamente calibrado para cada paciente.

Análise de sensibilidade em COMSOL

As figuras 56 e 57 mostram uma saturação para concentração de glicose acima de 145 mg/dl talvez causada pela geometria ou sensibilidade do eletrodo. A sensibilidade aumenta com a condutividade numa zona de saturação causada por um campo elétrico.

A figura 59 indica alterações de impedância no volume que envolve os eletrodos. A interpretação correta dos valores positivos e negativos sensibilidade nos permite analisar se o modelo BGP está sendo utilizado corretamente, já que a impedância é escrita em função da glicose sanguínea através da condutividade. Segundo (MOBARAK, 2022) os valores de sensibilidade positivos, mais próxima do limite máximo, indicam um comportamento contrário entre estas grandezas, isto é, se a condutividade aumentar, a impedância diminui e se a condutividade diminuir, a impedância aumenta. Já a sensibilidade negativa imprime um comportamento paralelo, isto é, ambos aumentam ou diminuem.

Observe que a figura 56 indica o declínio da curva de impedância com o aumento da concentração de glicose e a figura 57 mostra o aumento da condutividade com o mesmo aumento de glicose. Isso confirma a confiabilidade dos dados obtidos, pois a sensibilidade positiva na

zona focal é exatamente a região ativa dos eletrodos e descreve exatamente o comportamento inverso entre impedância e condutividade que corroboram com o modelo BGP.

Os resultados obtidos mostram que a sensibilidade pode ser usada como parâmetro para medir a saturação do eletrodo como indicado na figura 59. As variações físicas da amostra levam a redução de sensibilidade da geometria escolhida. Então, utilizando as ferramentas de simulação é possível determinar qual a melhor geometria para o estudo de caso desejado.

Outro ponto interessante sobre sensibilidade neste artigo é a maneira com que ela é calculada. Na maioria dos trabalhos a sensibilidade é calculada como os padrões de (HÓYUM P.; KALVOY, 2010)(SHUVO O. I.; ISLAM, 2016), onde a corrente induzida na verdade é simulada com um par de eletrodo de corrente análogo aos eletrodos de injeção do sinal elétrico. O que torna a simulação, distinta da situação real, pois a corrente induzida não será da mesma intensidade da corrente de injeção e a simulação deve ser feita como eletrodos de tensão e não de corrente.

As instruções no anexo F servem para demonstrar o procedimento executado para construção do modelo em COMSOL. Neste estudo utilizou-se um par de eletrodos de corrente e outro par de tensão que tem seus valores setados a partir da diferença de potencial gerada pelo eletrodos de injeção de corrente.

4.7 MODELO ANALÍTICO PARA ABSORBÂNCIA

Tanto para o teste I quanto para o teste II o objetivo principal é encontrar o coeficiente de extinção da glicose para utilizar o modelo analítico discutido em (PEDRO B. G.; BERTEMES-FILHO, 2021). A absorvância tem unidade adimensional e o coeficiente de extinção usualmente é medida em $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, logo as unidades de l devem estar em cm e de concentração de glicose em $mol \cdot L^{-1}$. Como os testes para determinação de glicose forneciam os dados em mg/dl o fator de conversão $1 \text{ mg/dl} = 0,0555 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ foi utilizado para transformar as unidades e construir os gráficos.

Teste I

Faz-se importante lembrar que este teste foi realizado com cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico, o branco utilizado foi a água e tomados 4 pontos de amostra correspondente ao teste da curva glicêmica padrão. Como a tomada de dados de absorvância era manual, a média de 5 medidas para cada comprimento de onda foi calculada. Todos os dados referentes ao plasma sanguíneo estão apresentados na tabela 7.

O comportamento da absorvância em cada comprimento de onda em relação ao tempo e da concentração de glicose para cada voluntária estão presentes na figura 62. Foram plotados com rotinas de uso geral para interpolação e aproximação de dados no Gnuplot, portanto, os gráficos a seguir não são regressões de curva e nem suavização de ruído.

Tabela 7 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorvância para o plasma sanguíneo do teste I.

Voluntária 1						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)	Absorvância em: (mmol/L)	740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	83	4,61	0,210	0,185	0,172	0,146
30	160	8,88	0,075	0,065	0,059	0,046
60	121	6,72	0,129	0,110	0,100	0,079
120	108	5,99	0,130	0,112	0,102	0,082
Voluntária 2						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)	Absorvância em: (mmol/L)	740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	78	4,33	0,265	0,229	0,209	0,172
30	157	8,71	0,131	0,112	0,101	0,079
60	131	7,27	0,198	0,169	0,153	0,128
120	79	4,38	0,292	0,250	0,229	0,198

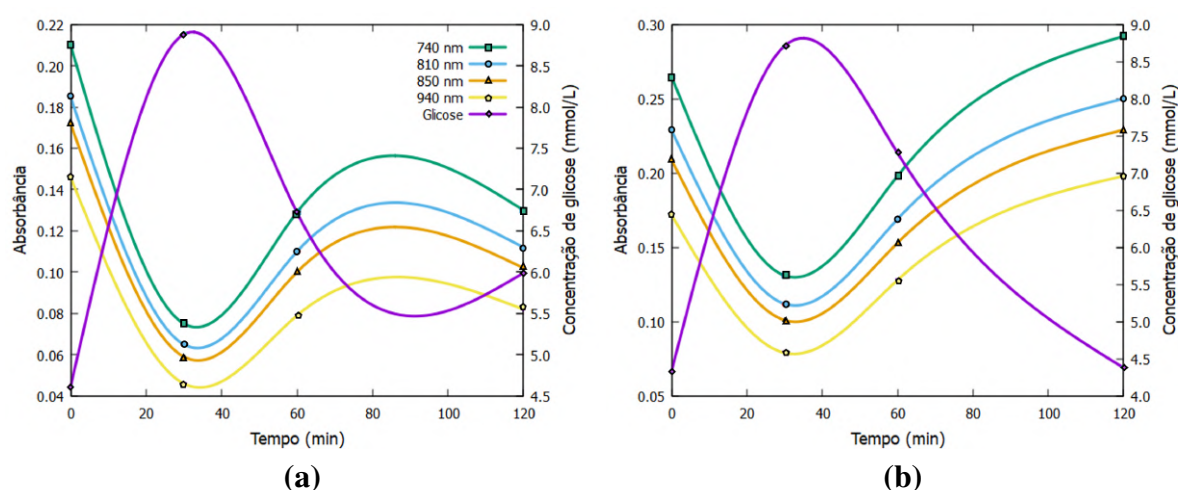


Figura 62 – Análise dos dados no domínio do tempo para o plasma em teste I (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).

Os resultados demonstram um comportamento inversamente proporcional entre absorvância do plasma e concentração de glicose no domínio do tempo, deixando claro também o decréscimo da absorvância em relação aos comprimentos de onda escolhidos e comportamento não linear semelhante para qualquer um destes.

A figura 63 deixa evidente a não linearidade da absorvância em relação a concentração do analito, e portanto, que o sistema não pode ser modelado pela Lei de Lambert-Beer. Num primeiro momento cogitou-se erros fotométricos como altas concentrações ou erros de instrumentação que justificam a execução do teste II, mas comparações entre os resultados dos teste I e II tornaram estes dados relevantes para serem discutidos depois.

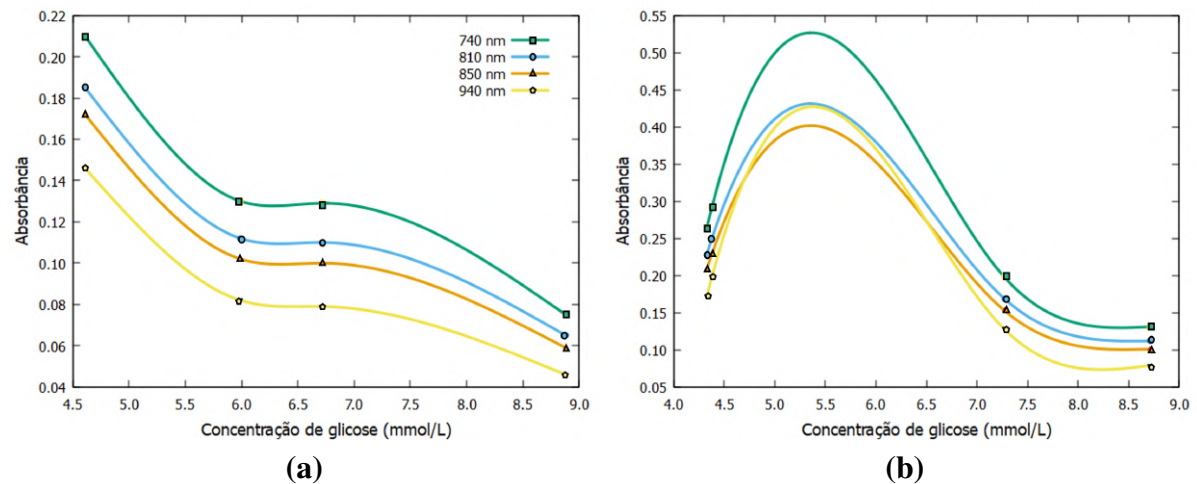


Figura 63 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).

Os dados da tabela 8 e das figuras 64 e 65 pertencem a amostra de sangue total. Apesar da figura 64 não demonstrar tanta clareza no comportamento da absorbância em relação ao tempo, observa-se que para 810 nm, 850 nm, 940 nm o comportamento da absorbância é inverso da glicose e que para 740 nm a hemoglobina causa perturbações significativas na leitura em comparação aos dados dos plasma (Figura 63) para ambas voluntárias. Neste experimento o número de cubetas eram reduzidos (não existia 1 cubeta para cada amostra), portanto, erros por interferência de resíduos na limpeza podem ser levados em consideração.

Apesar de decepcionante, os resultados são expostos aqui com intenção de discussão juntamente ao teste II. A diferença entre as metodologias exibem alguns pontos comuns e obviamente que os resultados podem servir de exemplo para trabalhos futuros.

Tabela 8 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorbância para o sangue total do teste I.

Voluntária 1						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)	(mmol/L)	Absorbância em:			
			740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	83	4,61	2,380	2,488	2,511	2,491
30	160	8,88	2,424	2,407	2,412	2,377
60	121	6,72	2,439	2,423	2,421	2,379
120	108	5,99	2,353	2,403	2,427	2,405
Voluntária 2						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)	(mmol/L)	Absorbância em:			
			740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	78	4,33	2,310	2,346	2,358	2,322
30	157	8,71	2,330	2,337	2,339	2,305
60	131	7,27	2,272	2,325	2,334	2,296
120	79	4,38	2,295	2,338	2,350	2,317

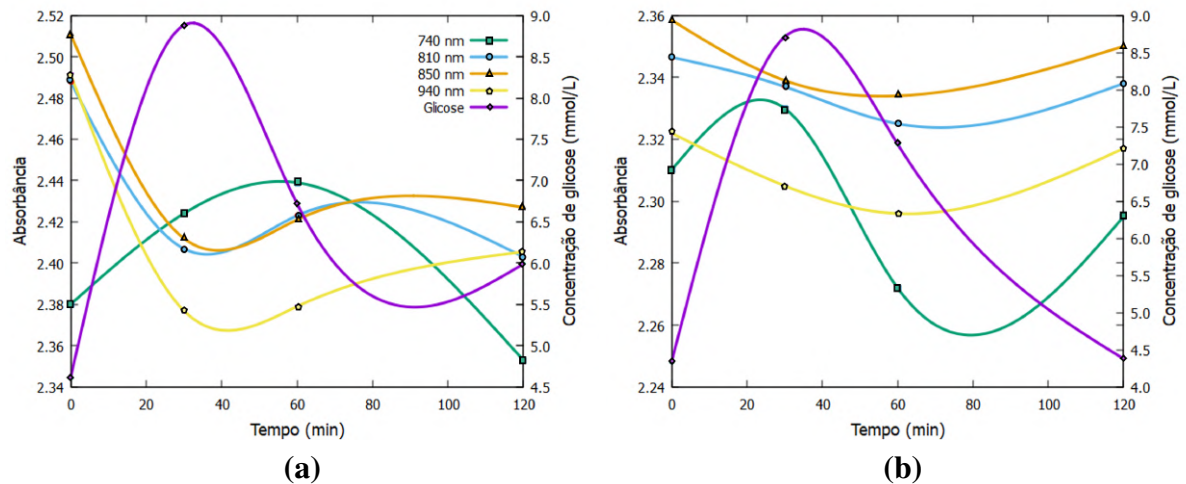


Figura 64 – Análise dos dados no domínio do tempo para o sangue total em teste I (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).

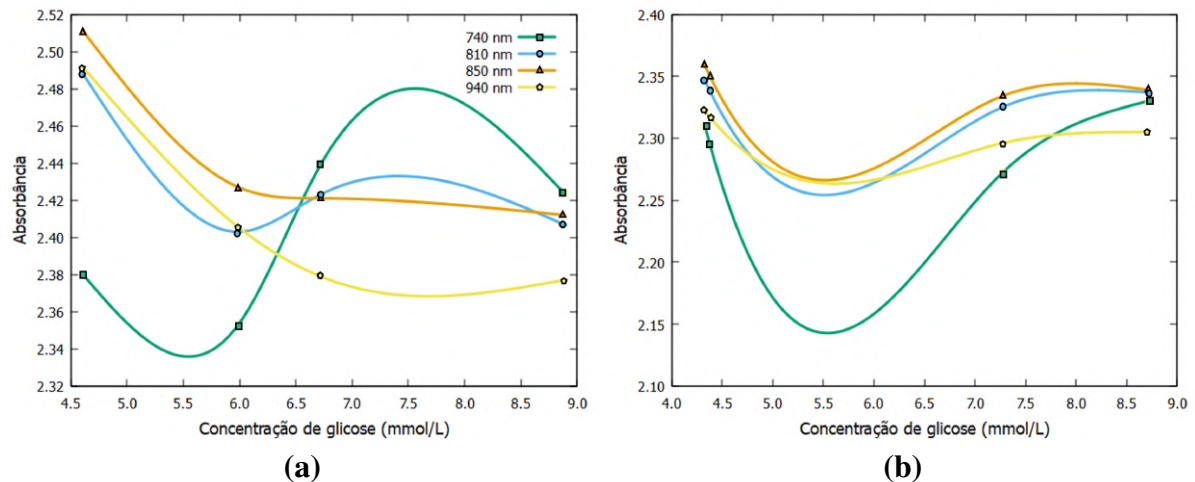


Figura 65 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o sangue total em teste I (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2022).

Teste II

Assim como para o teste anterior, é importante lembrar que este teste foi realizado com cubetas de quartzo de 1 mm de caminho óptico, o branco utilizado foi a amostra em jejum e tomados 5 pontos de amostra correspondente ao teste da curva glicêmica padrão. Neste caso, a obtenção dos dados de absorbância era por varredura automática do equipamento e triplicata. Todos os valores referentes ao plasma sanguíneo está apresentado na tabela 9.

Mesmo com acesso a todos os comprimento de onda entre 700 nm e 1400 nm a primeira análise destes resultados são em relação ao teste I. Os gráficos das figuras 66-69 foram feitos da mesma maneira que os do teste I.

Na figura 66 a absorbância começa com um comportamento de proporcionalidade com a glicose em relação ao tempo (parecido com teste I), mas depois da medida 60 min as grandezas apresentam comportamentos inversos. E a curva para os comprimentos de onda de 740 nm, 810

Tabela 9 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorvância para o plasma sanguíneo do teste II.

Voluntária 1						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)		Absorvância em:			
		(mmol/L)	740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	80	4,44	0,000	0,000	0,000	0,000
30	118	6,58	0,042	0,040	0,036	0,042
60	126	6,99	0,041	0,038	0,035	0,041
90	112	6,22	0,043	0,040	0,035	0,041
120	83	4,63	0,043	0,041	0,037	0,042
Voluntária 2						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)		Absorvância em:			
		(mmol/L)	740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	89	4,94	0,000	0,000	0,000	0,000
30	198	10,99	0,051	0,048	0,047	0,050
60	169	9,48	0,044	0,042	0,041	0,045
90	143	7,94	0,054	0,052	0,050	0,053
120	112	6,22	0,063	0,058	0,056	0,057

nm e 850 nm até apresentam um decréscimo na absorvância (parecido com teste I), mas para 940 nm a curva sobe se aproximando dos 740 nm.

Novamente, o comportamento da absorvância em relação a concentração do analito na figura 67 é não linear. A interpolação de dados utilizada é uma curva definida matematicamente pelos pontos de controle que conectam os pontos consecutivos por splines cúbicas naturais após tornar os dados monotônicos¹. Métodos matemáticos para curvas lineares e quadráticas foram também aplicados, mas não demonstraram bons ajustes. Portanto, os resultados dos testes I e II implicam que a absorvância do plasma sanguíneo em relação concentração de glicose deve ser modelada por uma equação de terceiro grau.

¹ A transformação monotônica é um caso em que o ordenamento da utilidade deve ser mantido perante o ordenamento da quantidade dos bens.

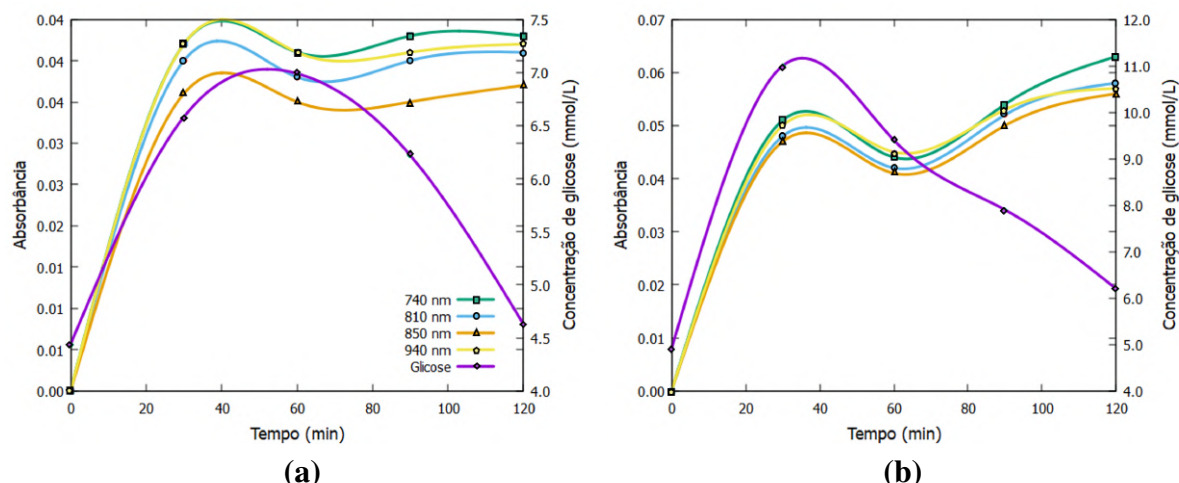


Figura 66 – Análise dos dados em relação ao tempo para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) são da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

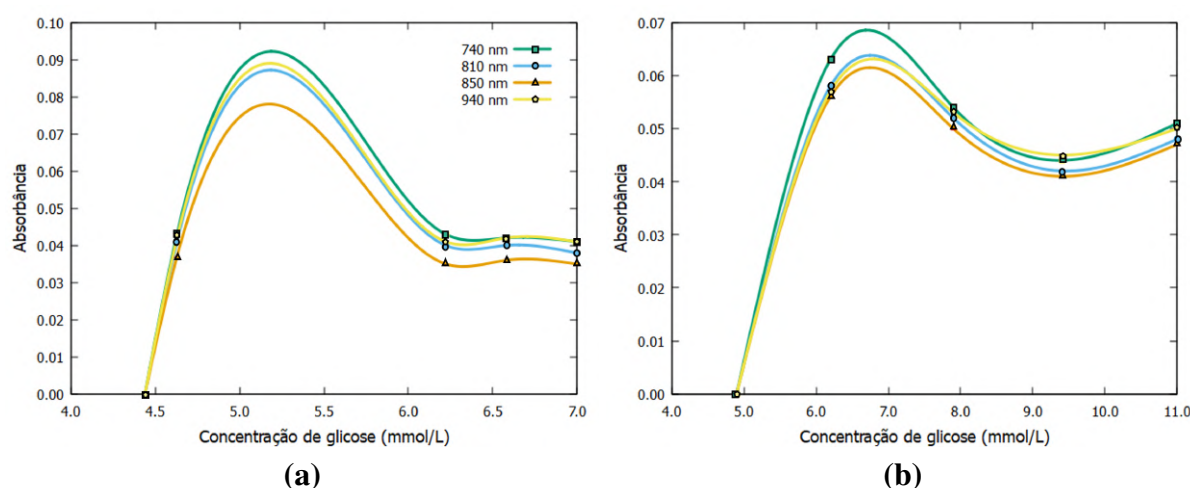


Figura 67 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) são da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

A tabela 10 e as figuras 68 e 69 são referentes as amostras de sangue total. O manual do espectrofotômetro utilizado neste teste diz que os resultados tornam-se menos confiáveis quando absorbância ultrapassa do valor 2, mesmo assim os dados foram utilizados para observações qualitativas, pois quaisquer desvio acima do valor 2 deve influenciar sistematicamente em todos os resultados.

Na figura observa-se um comportamento parecido com o que ocorre no plasma pra ao teste II (Figura 64); relação de proporcionalidade até 60 min e inversamente proporcional após este ponto. E a figura 66 também condiz com comportamento do plasma (Figura 67). O *gap* entres os comprimentos de onda de 740 nm e 810 nm com 850 nm e 940 nm podem ser justificados pelo erro instrumental citado no parágrafo anterior.

Aqui encerram as comparações entre teste I e teste II para absorbância do plasma e sangue com variação da concentração de glicose. Os resultados mostram que:

- O comportamento da absorbância no domínio do tempo em relação a variação de glicose

Tabela 10 – Dados da concentração de glicose e valores das médias de absorvância para o sangue total do teste II.

Voluntária 1						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)	(mmol/L)	Absorvância em:			
			740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	80,0	4,44	0,000	0,000	0,000	0,000
30	118,5	6,58	3,020	3,150	2,189	2,242
60	126,0	6,99	3,277	3,143	2,288	2,235
90	112,0	6,22	3,096	3,267	2,283	2,259
120	83,5	4,63	3,069	3,067	2,186	2,228
Voluntária 2						
Tempo (min)	Taxa glicêmica (mg/dl)	(mmol/L)	Absorvância em:			
			740 nm	810 nm	850 nm	940 nm
0	89	4,9	0,000	0,000	0,000	0,000
30	198	11,0	3,221	3,135	2,389	2,425
60	169	9,4	3,132	3,105	2,359	2,421
90	143	7,9	2,977	3,101	2,317	2,401
120	112	6,2	2,848	2,881	2,322	2,418

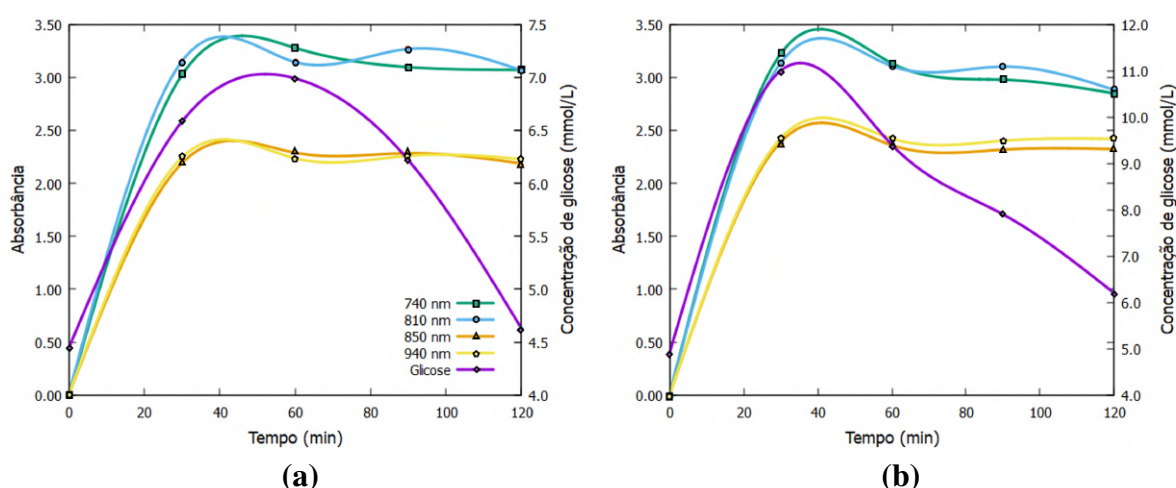


Figura 68 – Análise dos dados no domínio do tempo para o sangue total em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

seja no plasma (compare as figuras 62 e 66) ou no sangue total (compare as figuras 64 e 68) é igualmente diferente entre os testes), salvo a curva para 740 nm em teste I.

- Todos os gráficos da absorvância em relação a concentração de glicose (Figuras 63, 65, 67 e 69)apresentam comportamentos não lineares regidos por uma equação de terceiro grau independente do branco (água ou amostra em jejum) ou caminho óptico (1 cm ou 1 mm).
- Os resultados para o teste II demonstram mais conformidade entre os comportamento do plasma e do sangue. Acredita-se que seja influência de um caminho óptico menor que consequentemente gera um espalhamento reduzido e deixa os resultados entre ambas

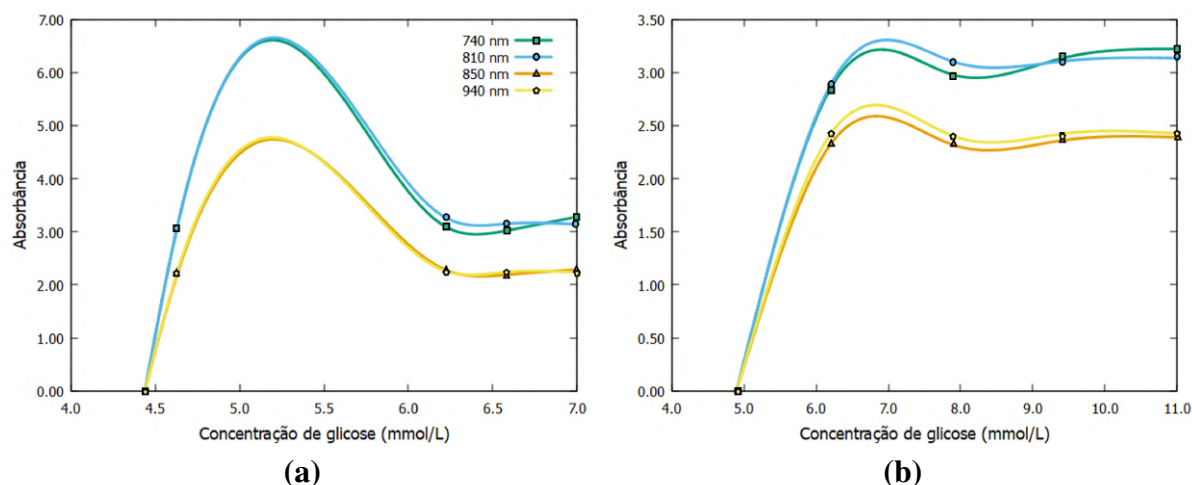


Figura 69 – Análise da absorbância em relação a concentração de glicose para o sangue total em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

amostras parecidas.

Continuando a explorar os dados do teste II, a figura 70 mostra que nos teste com plasma os comprimentos de onda em torno de 975 nm e 1194 nm, pico I e II respectivamente, tem um maior valor de absorbância. Isso já justifica porque nas figuras 66 e 67 a curva de absorbância sobe aos 940 nm. Supõe-se então que as alterações metabólicas causada pela variação de glicose no sangue geram uma maior resposta de absorbância nestas regiões do espectro de comprimento de onda. A figura 71 demonstra que estas regiões mantêm a relação cúbica entre a absorbância e a concentração de glicose mantendo os padrões da figura 67.

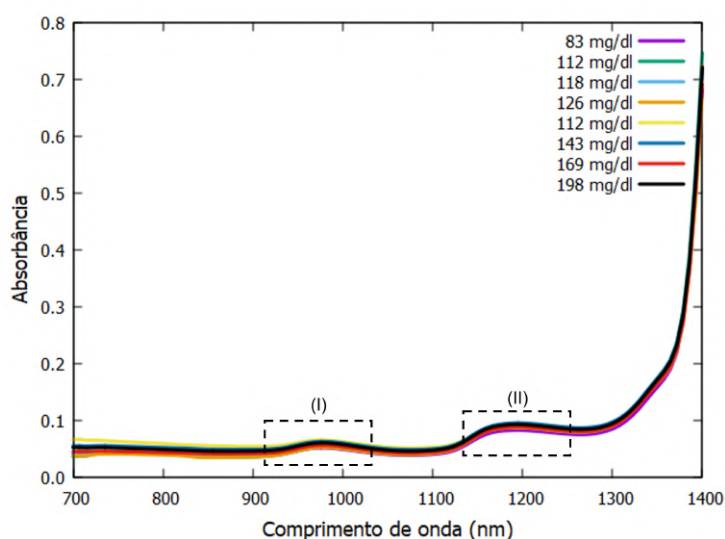


Figura 70 – Absorbância de plasma sanguíneo em relação ao comprimento de onda. Fonte: autora (2023).

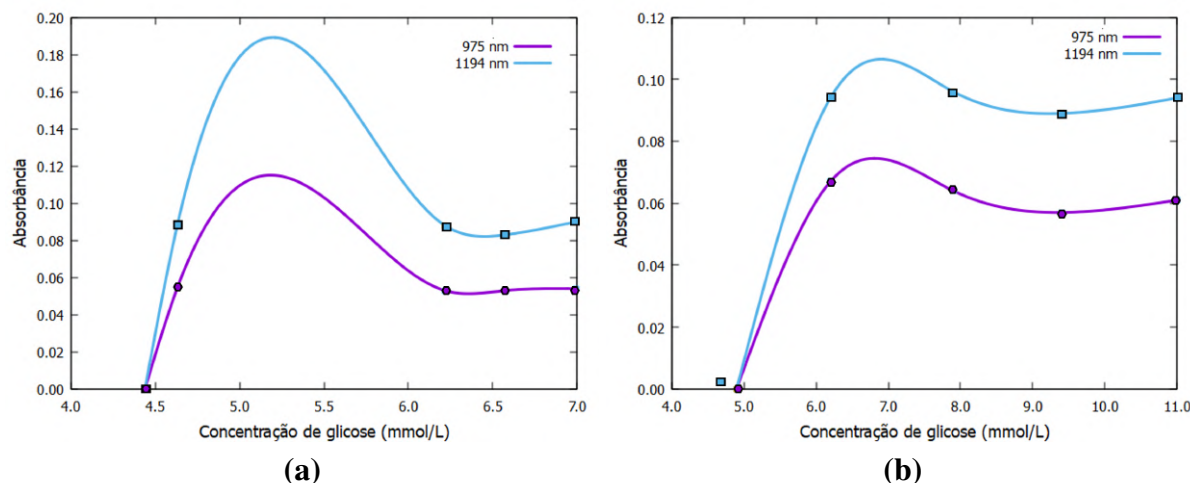


Figura 71 – Análise da absorbância em 975 nm e 1194 nm relação a concentração de glicose para o plasma em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

A figura 72 replica o gráfico da absorbância do plasma, porém a intenção é comparar a diferença entre as amostras de plasma e de sangue. É nítido que os valores de absorbância do sangue são muito maiores dos que os do plasma e que os picos I e II de absorbância máxima do plasma ficam menos pronunciados na curva do sangue total.

A figura 73 deixa clara a inversão de superioridade dos valores de absorbância entre 975 nm e 1194 nm quando comparada a figura 71, e também, que a interferência da hemoglobina reduz a diferença de absorbância entre 975 nm e 1194 nm. Mas, ainda sim estes comprimentos de onda mantêm a relação cúbica entre a absorbância e a concentração de glicose tais como os padrões da figura 69.

Alguns dos fatos citados no momento da apresentação dos resultados não foram explorados para discussão, pois a análise íntegra era necessária para formulação de uma explicação

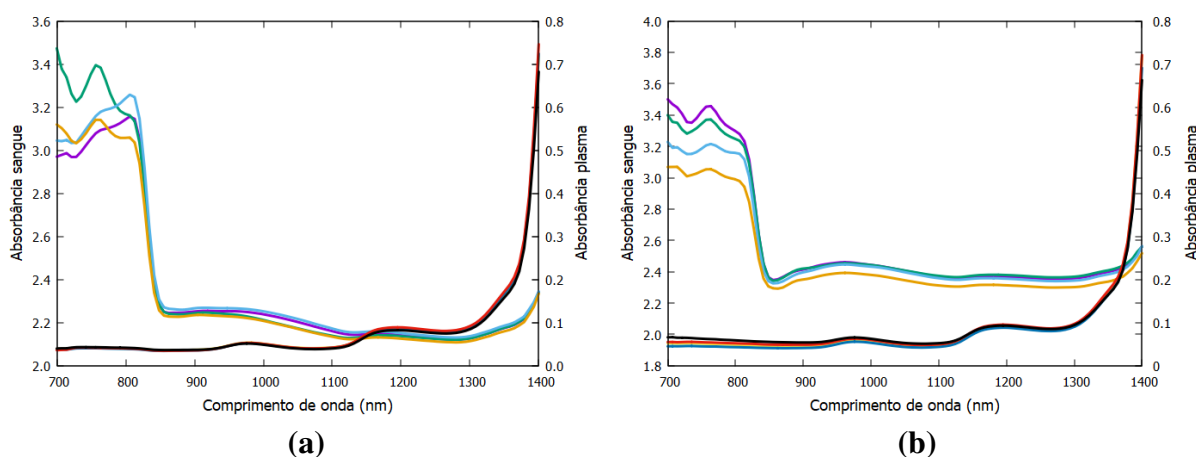


Figura 72 – Espectro de absorbância para comprimentos de onda de 700 nm á 1400 nm do plasma e sangue onde (a) são dados da voluntária 1 e (b) são dados da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

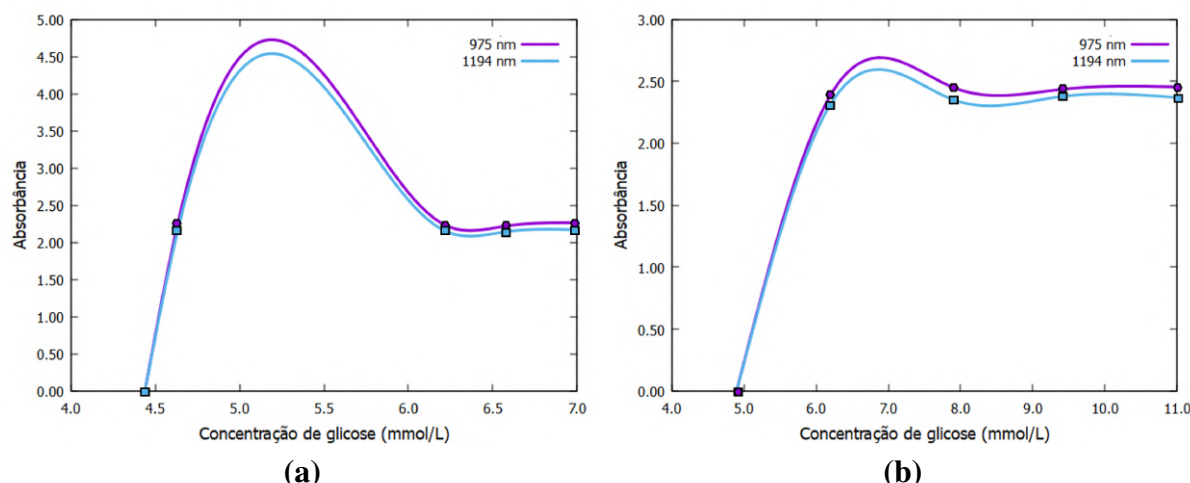


Figura 73 – Análise da absorbância em 975 nm e 1194 nm relação a concentração de glicose para o sangue total em teste II (a) da voluntária 1 e (b) da voluntária 2. Fonte: autora (2023).

válida. Portanto, daqui em diante o leitor deve considerar ambos experimentos (teste I e II) nas discussões a seguir.

Analisa-se primeiro a situação de que no teste I a absorbância foi negativa para o ponto $t=30$ minutos quando se utilizou jejum como branco. Considerando que o equipamento de absorção molecular no UV/Vis mede a luz transmitida por inferência e depois utiliza as equações 11 e 13 para fornecer a absorbância A . Neste processo admite-se que não há fenômenos de reflexão ou refração, apenas absorção (SKOOG D. A.; WEST, 2020). Então quando é observado a queda da absorbância no gráfico, na verdade foi medido um aumento na transmitância e vice-versa.

E portanto, ao escolher o branco do equipamento escolhe-se o zero do referencial, ou seja, para o equipamento aquele valor de perda de potência é o zero. Como a absorção negativa é resultado de uma atividade matemática é aceitável que ela resulte em valores menores que zero se a amostra medida consegue transmitir mais luz que o branco. Então, no teste I o a amostra para $t = 30 \text{ min}$ transmitiu mais luz do que a amostra do jejum. Na época, por conveniência matemática escolheu-se alterar o referencial (o branco) para trabalhar apenas com valores positivos.

Agora, é conveniente explicar porque a amostra com maior concentração de glicose (amostra para $t=30$ minutos) absorve menos do que a amostra em jejum. Para o equipamento a alteração do referencial ocorre de modo que $A_{medida} = A_{total} - A_{branco}$ onde $A_{branco} = A_{ref} + A_{refr}$, sendo A_{ref} e A_{refr} as atenuações devido reflexão e refração. No sangue ou plasma há mais de um tipo de substâncias que não estão presentes no branco e que causam aumento ou diminuição das reflexões e refrações, introduzindo novas componentes a equação:

$$A_{total} = A_{medida} + A_{branco} + A_{ref1} + A_{refr1} + A_{ref2} + A_{refr2} + \dots + A_{branco} + A_{refn} + A_{refrn} \quad (90)$$

onde o índice $1, 2, \dots, n$ refere-se ao cada substância absorvente diferente do branco. Portanto:

$$A_{medida} = A_{total} - A_{branco} - A_{ref1} - A_{refr1} - A_{ref2} - A_{refr2} - \dots - A_{branco} - A_{refn} - A_{refrn} \quad (91)$$

Quando a contribuição dos termos de reflexão e refração forem maiores na segunda medida do que na primeira o resultado para A_{medida} da segunda amostra é maior que da segunda amostra (SKOOG D. A.; WEST, 2020). Ou seja, o teste I indica com a figura 62 a todo momento que a maior contribuição da glicose e das outras substâncias envolvidas em sua dinâmica metabólica aumentam o espalhamento do feixe luminoso.

Isso explica também porque no teste II a amostra de $t = 30$ minutos absorve mais do que amostra em jejum, contrário a tentativa de no teste I usar plasma como branco. Essa diferença é devido a alteração do l , que no teste II é 10 vezes menor que no teste I. Note que uma mesma concentração de glicose pode estar presente em uma cubeta de 1 cm e em outra de 1 mm, mas a probabilidade de colisão com alguma molécula é maior quando $l=1$ cm devido ao maior número de moléculas presentes. Isso significa que os termos de reflexão e refração da equação 91 são menos significativos nesse processo inicial de $t=0$ min até $t=60$ min.

Nota-se nos resultados que a absorbância no teste II (figura 66) inicialmente é proporcional a concentração de glicose e após 60 minutos o seu comportamento inverte. Isso ocorre porque a lei de Lambert-Beer tende a falhar em altas concentrações, principalmente para substâncias altamente dispersivas. Neste estudo algumas das imposições para que a lei funcione perfeitamente são infringidas: (i) o meio atenuante não deve espalhar a radiação (o teste I comprova que ocorre espalhamento); (ii) a radiação incidente deve consistir em raios paralelos, cada um atravessando o mesmo comprimento no meio absorvente.

A falha (ii) acontece quando há a inversão de comportamento no teste II e durante todo teste I porque o maior números de moléculas desencadeiam um maior número de reflexões que tendem a aumentar o livre caminho médio do fóton. A figura 45 serve para explicar este mesmo processo, salvo que é um fóton e não um elétron nesta situação.

No início do teste II esta limitação não é tão pronunciada devido ao mesmo motivo anterior "uma mesma concentração de glicose pode estar presente em uma cubeta de 1 cm e em outra de 1 mm, mas a probabilidade de colisão com alguma molécula é maior quando $l = 1$ cm devido ao maior número de moléculas presentes". Note que o limite de saturação para o número de moléculas é atingido a partir da amostra com $t = 60$ min do teste II.

Neste momento abri-se a oportunidade pra explicar porque a relação entre a absorbância e a concentração de glicose é cúbica (Figuras 63, 65, 67, 69 e 71) em ambos testes. A óptica não linear é o ramo da óptica que trata do comportamento da luz em meios não lineares. Nestes meios a polarização dielétrica P do material não é proporcional ao campo elétrico E da luz (LUGIATO L.; PRATI, 2015)(BUTCHER P.; COTTER, 1990)(BOYD, 2008). Efeitos não lineares ocorrem com altas intensidade de luz, como a radiação a laser. A representação matemática, em circunstancias simples, da polarização pode ser:

$$\tilde{P}(t) = \epsilon_0 \left[\chi^{(1)} \tilde{E}(t) + \chi^{(2)} \tilde{E}^2(t) + \chi^{(3)} \tilde{E}^3(t) + \dots \right] \quad (92)$$

em que $\chi^{(1)}$ é o tensor susceptibilidade elétrica linear, $\chi^{(2)}$ de segunda ordem, $\chi^{(3)}$ de terceira ordem, etc. \tilde{P} e \tilde{E} representam entidades tensoriais de P e E (BOYD, 2008).

O segundo termo da equação 92, com $\chi^{(2)}$ presente nos materiais não centro-simétricos, é responsável pelos efeitos ópticos não-lineares de segunda ordem, tais como a geração do segundo harmônico, a geração de soma de frequências, a geração de diferença de frequências e o efeito eletro-óptico linear ou Efeito Pockels. O terceiro termo, com $\chi^{(3)}$, é responsável pelos efeitos ópticos não-lineares de terceira ordem que incluem a geração do terceiro harmônico, a mistura de frequências, o espalhamento Raman e Brillouin, a auto-modulação de fase, a modulação de fase cruzada e o efeito eletro-óptico quadrático ou Efeito Kerr. O termo existe em meios com ou sem simetria de inversão (LUGIATO L.; PRATI, 2015)(BUTCHER P.; COTTER, 1990)(BOYD, 2008).

O *efeito Kerr* descreve uma contribuição no índice de refração (equação 93) do meio proporcionada pelo próprio raio de luz, que quando intenso, pode prover a si mesmo o campo elétrico modulante, sem a necessidade de um campo elétrico externo a ser aplicado (BUTCHER P.; COTTER, 1990). O índice de refração n depende da parte linear $n_0 = (1 + \chi^{(1)})^{\frac{1}{2}}$ e da parte não linear $\tilde{n}_2 = \frac{3}{8} \frac{\chi^{(3)}}{n_0}$ (LUGIATO L.; PRATI, 2015).

$$n_0 + \tilde{n}_2 |E_0|^2 \quad (93)$$

Assumindo que há uma variação significativa no índice de refração do meio devido á alterações associadas ao metabolismo da glicose (por exemplo, com entrada de insulina, variação de água e eletrólitos no volume da amostra) pode-se explorar um caso contrário ao efeito Kerr, quando não é o laser que muda o índice de refração do meio, mas sim variação no índice de refração que altera a intensidade da luz transmitida de maneira não linear, e portanto no cálculo de absorbância.

Por outro lado, estudos de óptica não linear em material orgânicos alegam que a não linearidade é característica desse tipo de amostra (PIOVENAN, 2009)(NALWA, 2020). Átomos de carbono apresentam orbitas atômicos s e p e são geralmente os constituintes de moléculas orgânicas. Quando se ligam formam os orbitais moleculares σ e π . O orbital π fora do plano é fortemente afetado pelo campo elétrico da radiação laser incidente, causando distorções que resultam nos cenários não lineares (PIOVENAN, 2009).

Existem algumas consequências destes resultados que não corresponderam ao esperado quando elaborada a ideia dos testes. Primeiramente, a não linearidade entre absorbância e concentração de glicose torna o modelo descrito pelas equações 52, 53 e 57 descartável. Não é possível determinar o coeficiente de extinção pela metodologia planejada. A menos que o modelo seja reformulado com um coeficiente de extinção "efetivo" que deve ser atualizado mediante calibrações clínicas de cada indivíduo. Entretanto, isso retira totalmente o requisito motivacional de "dispositivo sem calibração".

Seguidamente, se os teste clínicos forem um opção, eles devem se concentrar na região em que absorbância é mas intensa e sofre menor interferência das hemácias; uma opção são os

valores próximos do pico I (975 nm). Obviamente que para aplicação efetiva deve-se realizar teste com homens saudáveis e diabéticos para o estabelecimento de padrões normais e alterados. Testes com dosagem de insulina remetem ajustes rápidos a metodologia e permitem uma nova avaliação dos resultados e consequentemente uma melhor compreensão dos efeitos físicos-químicos associados a técnica de fotometria.

Os resultados desta pesquisa não encerram a pesquisa dos dispositivos não invasivos de medição de glicose baseados em fotometria, mas certamente conhecer o formato analítico da equação para regressão de curva é importante para melhorar os dispositivos baseados em redes neurais artificiais.

5 DISCUSSÕES E CONCLUSÃO

Com relação a espectroscopia de impedância elétrica, esta tese descreve um modelo analítico da impedância elétrica em relação a concentração glicose. O modelo baseado em EMT demonstra que o modelo pode servir a interesses que vão além da biomédica, como o caso do ringuer-lactato. Contudo a descrição da condutividade sanguínea em função da concentração de glicose como uma função sigmoide é importante para aplicação no desenvolvimento de dispositivos não-invasivos para medida de glicose. A fronteira entre modelar um compósito usando o BGP original e o final está na complexidade do sistema, a modelização com as equações de Bruggeman é um caso particular de funções algébricas mais gerais da função sigmoide.

Este trabalho deixa claro que os estudos do dinamismo do metabolismo da glicose em sangue humano devem ser feitos exatamente com amostras humanas *ex vivas*. O paliativo de utilizar ringuer-lacto e sangue bovino *in vitro* para evitar a árdua tarefa de recrutar voluntários humanos não é recomendado por apresentar comportamento diferente do teste com amostras *ex vivo*. Motivos pelos quais os testes com sangue bovino necessitaram de adaptações na descrição do modelo, enquanto o teste *ex vivo* com sangue humano é compatível com o modelo inicial em que a impedância elétrica decresce com aumento da concentração de glicose (Compare as figuras 36 e 56).

Outra contribuição deste estudo é a simulação para análise de sensibilidade, que neste caso distingue-se da literatura existente por considerar a diferença de potencial no eletrodos de medida. O Apêndice F tem as instruções para reprodução da simulação segundo o que é publicado neste trabalho.

Com respeito aos resultados de fotometria as contribuições principais estão no estabelecimento de uma relação cúbica entre absorbância e concentração de glicose e dos comprimentos de ondas mais efetivos para medida dessa grandeza (em torno de 975 nm e 1194 nm). Estes resultados implicaram na escolha mais consciente dos LEDs no dispositivo não invasivo e também qual deve ser a curva de regressão aplicada para regressões de curvas voltada a calibrações clínicas, que é a cúbica.

Por outro lado, os dados de fotometria evidenciam limitações precoces da lei de Lambert-Beer para este tipo de amostra, e consequentemente esboça um comportamento óptico de não linearidade cúbica. Essa clareza na relação entre as grandeza permitirá uma modelização mais adequada para aplicar em dispositivos não invasivos.

Conclui-se que o modelo BGP com a condutividade descrita como a função sigmoide é uma alternativa para dispositivos não invasivos de medição de glicose que baseiam-se em espectroscopia de impedância elétrica e buscam minimizar as margens de erros das redes neurais através do uso de modelos analíticos. E que a medida de fotometria demonstra um padrão que deve ser explorado para possível aplicação, também, em dispositivos não invasivos de medição de glicose.

Espera-se que os resultados desta tese encontre especialistas capazes de torná-lo um

dispositivo aplicável. Quando isso for realidade, vale a pena a sugestão da substituição gradativa das atuais técnicas de medida de glicose pelas técnicas propostas. Esta ação irá gerar além de bancos de dados para melhora dos resultados, também um convite a confiança do paciente na nova abordagem.

5.1 TRABALHOS FUTUROS

O estudo em ambas as técnicas, utilizando a metodologia como está descrita nesta tese precisa obviamente de testes com mais indivíduos, isto incluem homens e mulheres, saudáveis e diabéticos, com diversidade de faixa etária. Este ato de aumentar o número de voluntários e amostras, é importante principalmente para se criar um banco de dados (dataset) para outros trabalhos que utilizem outras metodologias de análise mesmo dentro de algoritmos de inteligência artificial (IA).

Contudo, algumas otimizações na metodologia podem ser feitas antes do árduo trabalho de recrutamento de voluntário. Para o teste de impedância elétrica é necessário melhorar a sensibilidade e para fotometria é preciso estabelecer um modelo analítico adequado.

O modelo BGP proposto foi caracterizado em uma configuração de eletrodos tetrapolar de aço inoxidável. Portanto, em trabalhos futuros deve-se explorar a alteração desta configuração e também do material do eletrodo. Sugere-se uma configuração concêntrica para os eletrodos de medição da impedância elétrica a fim de melhorar a sensibilidade e eficiência do dispositivo, mesmo porquê a concentração de glicose certamente ultrapassará os 188 mg/dl em indivíduos diabéticos.

Quanto a absorbância do sangue, a análise do teste de tolerância glicêmica padrão (ingestão de 75 g de dextrose anidra) pode ser aproximado de um oscilador harmônico criticamente amortecido. A pesquisa a ser explorada é a correspondência entre as grandezas intrínsecas do sistema e as variáveis da equação deste tipo de oscilador. Se isto for possível, a diversidade de possibilidades mediante as soluções das equações diferenciais já resolvidas e bem estabelecidas na literatura permitem a previsão de passado e futuro.

REFERÊNCIAS

- ABASI S.; AGGAS, J. R.; GARAYAR-LEYVA G. G.; WALTHER B. K.; GUISEPPI-ELIE A. Bioelectrical impedance spectroscopy for monitoring mammalian cells and tissues under different frequency domains: A review. **ACS Measurement Science Au**, v. 2, 08 2022. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 40.
- ABBOTT. Freestyle® libre, novo monitor de glicose da abbott, que elimina a necessidade de picadas no dedo, é destaque no 20º congresso da sociedade brasileira de diabetes. **site Abbott**, 2015. Disponível em: <<https://www.abbottbrasil.com.br/imprensa/noticias/press-releases/freestyle--libre--novo-monitor-de-glicose-que-elimina-a-necessid.html>>. Acesso em: 26 Fev. 2024. Citado na página 18.
- ABDALLA S.;AL-AMEER, S. S.; AL-MAGAISHI S.H. Electrical properties with relaxation through human blood. **Biomicrofluidics**, AIP Publishing, v. 4, n. 3, 2010. Citado 3 vezes nas páginas 26, 54 e 83.
- ABTAHI, F. **Aspects of electrical bioimpedance spectrum estimation**. Tese (Doutorado) — KTH Royal Institute of Technology, 2014. Citado na página 38.
- AHMED, A. M. History of diabetes mellitus. **Saudi medical journal**, MEDICAL SERVICES DEPARTMENT SAUDI ARABIAN ARMED, v. 23, n. 4, p. 373–378, 2002. Citado na página 23.
- AKBAR M. A.; RIAN TO, S.; SAKTI-S. P. Analysis of the relation between glucose concentration in water and resonant frequency using the resonance model. In: IOP PUBLISHING. **Journal of Physics: Conference Series**. [S.l.], 2020. v. 1465, n. 1, p. 012002. Citado na página 85.
- ALVES, D. M. Quantificação de glicemia através de análises de imagens da íris humana utilizando redes neurais. **Dissertação de Mestrado**, USP, SP, p. 110, 2007. Citado na página 36.
- AMARAL C.E.; WOLF, B. Current development in non-invasive glucose monitoring. **Medical engineering & physics**, Elsevier, v. 30, n. 5, p. 541–549, 2008. Citado na página 27.
- ANALOG, D. **Datasheet AD5933. Analog Devices**. 2014. Citado na página 52.
- ASHCROFT N. W.; MERMIN, N. D. **Solid state physics**. [S.l.]: holt, rinehart and winston, new york London, 1976. v. 2005. Citado na página 55.
- AZEVEDO, M. S. Chronic complications of diabetes. i. **Acta medica portuguesa**, v. 7, n. 1, p. 55–61, 1986. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 25.
- BASQUES, J. C. Fotometria e padronização. **Labtest Diagnóstica s/a. Minas Gerais. Ed**, 2010. Citado 4 vezes nas páginas 10, 45, 46 e 47.
- BAYNES, J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. **Diabetes**, Am Diabetes Assoc, v. 40, n. 4, p. 405–412, 1991. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 78.
- BERA, T. K. Bioelectrical impedance methods for noninvasive health monitoring: a review. **Journal of medical engineering**, Hindawi, v. 2014, 2014. Citado na página 38.

BERNAL R. V.; HERRERA-PÉREZ, G.; CALIXTO-OLALDE M. E.; TECPOYOTL-TORRES M. Analysis of dc electrical conductivity models of carbon nanotube-polymer composites with potential application to nanometric electronic devices. **Journal of Electrical and Computer Engineering**, Hindawi, v. 2013, 2013. Citado na página 22.

BERTEMES-FILHO, P. **Tissue characterisation using an impedance spectroscopy probe**. Tese (Doutorado) — University of Sheffield Thesis, 2002. Citado na página 44.

BERTEMES-FILHO, P. **Tissue characterisation using an impedance spectroscopy probe**. Tese (Doutorado) — University of Sheffield, 2002. Citado 3 vezes nas páginas 9, 36 e 37.

BERTEMES-FILHO, P. Electrical impedance spectroscopy. **Bioimpedance in Biomedical Applications and Research**, Springer, p. 5–27, 2018. Citado 4 vezes nas páginas 10, 38, 42 e 43.

BERTEMES-FILHO P.; BROWN, B. H.; SMALLWOOD-R. H.; WILSON A. J. Stand-off electrode (soe): a new method for improving the sensitivity distribution of a tetrapolar probe. **Physiological Measurement**, IOP Publishing, v. 24, n. 2, p. 517, 2003. Citado na página 90.

BERTEMES-FILHO P.; TERBLANCHE, E.; GUNGA H. C. Bioelectrical impedance: Concepts, applications and new perspectives. Bauru/SP, p. 130–151, 2014. Citado 4 vezes nas páginas 38, 41, 42 e 43.

BERTEMES-FILHO P.; VALICHESKI, R.; PEREIRA R. M.; PATERNO A. S. Bioelectrical impedance analysis for bovine milk: preliminary results. In: IOP PUBLISHING. **Journal of Physics: Conference Series**. [S.l.], 2010. v. 224, n. 1, p. 012133. Citado na página 38.

BOUKNAITIR I.; ARIBOU, N.; ELHAD KASSIM S. A.; EL HASNAOUI M.; MELO B. M. G.; ACHOUR M. E.; Costa L. C. Electrical properties of conducting polymer composites: Experimental and modeling approaches. **Spectroscopy Letters**, Taylor & Francis, v. 50, n. 4, p. 196–199, 2017. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 27.

BOYD, R. W. Second-and higher-order harmonic generation. **Handbook of Biological Nonlinear Optical Microscopy**, Oxford University Press USA, 2008. Citado 2 vezes nas páginas 106 e 107.

BROCK J.; NOGUEIRA, M. R.; ZAKRZEWSKI C.; CORAZZA F. D. C.; CORAZZA M. L.; OLIVEIRA J. V. D. Determinação experimental da viscosidade e condutividade térmica de óleos vegetais. **Food Science and Technology**, SciELO Brasil, v. 28, p. 564–570, 2008. Citado na página 57.

BURMEISTER J.; CHUNG, H.; ARNOLD M. A. Phantoms for noninvasive blood glucose sensing with near infrared transmission spectroscopy. **Photochemistry and photobiology**, Wiley Online Library, v. 67, n. 1, p. 50–55, 1998. Citado na página 37.

BUTCHER P.; COTTER, D. **The elements of nonlinear optics**. [S.l.]: Cambridge university press, 1990. Citado 2 vezes nas páginas 106 e 107.

CABALEIRO P.; DE MOURA, J.; NOVO J.; CHARLÓN P.; ORTEGA M. Automatic identification and representation of the cornea–contact lens relationship using as-oct images. **Sensors**, v. 19, p. 5087, 11 2019. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 35.

CAMERON B.D; BABA, J. S.; COTÉ G. L. Measurement of the glucose transport time delay between the blood and aqueous humor of the eye for the eventual development of a noninvasive glucose sensor. **Diabetes technology & therapeutics**, Mary Ann Liebert, Inc., v. 3, n. 2, p. 201–207, 2001. Citado na página 33.

CARDONA M.; PETER, Y. Y. **Fundamentals of semiconductors**. [S.l.]: Springer, 2005. Citado na página 55.

CARVALHO, J. A. A. Mecânica dos fluídos aplicada a escoamento do sangue na microcirculação. **16º Simpósio de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica**, Uberlândia, Brasil, 2006. Citado na página 25.

CHO O. K.; KIM, Y. O.; MITSUMAKI H.; KUWA K. Noninvasive measurement of glucose by metabolic heat conformation method. **Clinical chemistry**, Clinical Chemistry, v. 50, n. 10, p. 1894–1898, 2004. Citado na página 27.

CHOY, T. C. **Effective medium theory: principles and applications**. [S.l.]: Oxford University Press, 2015. v. 165. Citado na página 22.

COSENZA M.; PEREIRA, P. F. V.; FERNANDES L. I.; DEARO A. C. O.; FLAIBAN K. K. M. C.; LISBÔA J. A. N. Effect of lactated ringer's solution on fluid, electrolyte and acid-base balances of healthy horses, ewes and calves. **Ciência Rural**, SciELO Brasil, v. 43, n. 12, p. 2247–2253, 2013. Citado na página 51.

COTÉ, G. L. Sensor óptico não invasivo de glicose - uma visão geral. **Journal of Clinical Engineering**, v. 22, n. 4, p. 253, 1997. Citado na página 26.

CUSTÓDIO R., KUBOTA L. T.; DE ANDRADE J. C. Lei dos processos de absorção da radiação. **Revista Chemkeys**, n. 3, p. 1–5, 2000. Citado na página 46.

DARBAS M.; HELEINE, J.; MENDOZA R.; VELASCO A. C. Sensitivity analysis of the complete electrode model for electrical impedance tomography. **Aims Mathematics**, v. 6, n. 7, p. 7333–7366, 2021. Citado na página 44.

DESOUKY, O. S. Rheological and electrical behavior of erythrocytes in patients with diabetes mellitus. **Rom J Biophys**, v. 19, n. 4, p. 239–250, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 83.

DIABETESTESTSTRIPS. 2024. Disponível em: <<https://diabetesteststripswholesale.com/136-cnoga-cog-hybrid-glucometer.html>>. Acesso em: 26 Fev. 2024. Citado na página 19.

DOMSCHKE A.; MARCH, W. F.; KABILAN S.; LOWE C. Initial clinical testing of a holographic non-invasive contact lens glucose sensor. **Diabetes technology & therapeutics**, Mary Ann Liebert, Inc. 2 Madison Avenue Larchmont, NY 10538 USA, v. 8, n. 1, p. 89–93, 2006. Citado na página 32.

DOUMAS B. T.; WATSON, W. A.; BIGGS H. G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinica chimica acta**, Elsevier, v. 31, n. 1, p. 87–96, 1971. Citado na página 69.

DUNCAN B. B.; SCHMIDT, M. I.; GIUGLIANI E. R. J.; DUNCAN M. S.; GIUGLIANE C. **Medicina ambulatorial: condutas de atenção primária baseadas em evidências**. Porto alegre: Artmed, 2013. Citado na página 18.

DUNNE, T. G. **Physical Chemistry, (Levine, Ira N.)**. [S.l.]: ACS Publications, 1987. Citado na página 47.

EQUIPLEX, I. F. L. **Solução Ringer com lactato**. 2014. <<https://www.bulas.med.br/p/bulas-de-medicamentos/bula/578367/solucao+ringer+com+lactato.htm>>. Accessed: 28 fev 2024. Citado na página 51.

FERREIRA, A. F. B. Determinação de propriedades volumétricas e de transporte de diferentes tipos de carboidratos em meio aquoso. 2018. Citado 4 vezes nas páginas 56, 57, 77 e 83.

FONSECA, F. C. Propriedades doo compósito supercondutor $yba_2cu_3o_7-x$ -ag preparado pela técnica dos citratos. In: **Tese (Mestrado em ciências) - IPEN**. SP, Brasil: [s.n.], 1996. p. 95. Citado na página 22.

GALLAGHER E. J.; LE ROITH, D.; BLOOMGARDEN Z. Review of hemoglobin a1c in the management of diabetes. **Journal of diabetes**, Wiley Online Library, v. 1, n. 1, p. 9–17, 2009. Citado na página 18.

GENG Z.; TANG, F.; DING Y.; LI S.; WANG X. Noninvasive continuous glucose monitoring using a multisensor-based glucometer and time series analysis. **Scientific reports**, Nature Publishing Group, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017. Citado na página 24.

GESELOWITZ, D. B. An application of electrocardiographic lead theory to impedance plethysmography. **IEEE Transactions on biomedical Engineering**, IEEE, n. 1, p. 38–41, 1971. Citado na página 44.

GINSBURG, B. H. Uma visão geral das tecnologias minimamente invasivas. **Clinical Chemistry**, v. 38, n. 9, p. 1596–1600, 1992. Citado 4 vezes nas páginas 14, 26, 70 e 71.

GONZALES W.; MOBASHSHER, A. T.; ABBOSH A. VILLENA. The progress of glucose monitoring—a review of invasive to minimally and non-invasive techniques, devices and sensors. **Sensors**, MDPI, v. 19, n. 4, p. 800, 2019. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 34.

GRIMNES S.; MARTINSEN, O. G. **Bioimpedance and bioelectricity basics**. [S.l.]: Academic press, 2011. Citado 4 vezes nas páginas 39, 40, 52 e 55.

GÓMEZ-SÁNCHEZ J. A.; FELICE, C. J. Description of corrections on electrode polarization impedance using isopotential interface factor. **Journal of Electrical Bioimpedance**, v. 3, n. 1, p. 29–35, 2012. Citado na página 92.

HEISE, H. M. Monitoramento não invasivo de metabólitos usando espectroscopia no infravermelho próximo: estado da arte. **Hormone and metabolic research**, v. 28, n. 10, p. 527–534, 1996. Citado na página 26.

HEISE H. M.; BITTNER, A. Ensaios de glicemia baseados em espectroscopia no infravermelho: alternativas para diagnóstico médico. In: **Espectroscopia de infravermelho: nova ferramenta na medicina**. [S.l.: s.n.], 1998. v. 3257, p. 2–12. Citado na página 26.

HELLIGE N. C.; MEYER, B.; RODT T.; VOGEL-CLAUSSEN J.; HAHN G.; HELLIGE G. In-vitro evaluation of contrast media for assessment of regional perfusion distribution by electrical impedance tomography (eit). **Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik**, Walter de Gruyter, v. 57, n. SI-1-Track-B, p. 000010151520124442, 2012. Citado na página 92.

HENDEE W. R.; MOWER, H. W. A time of opportunity in the education of medical physicists: Report of a multi-organizational summit on the education of medical physicists. **Medical physics**, Wiley Online Library, v. 33, n. 9, p. 3327–3332, 2006. Citado na página 46.

HOSSAIN Q. D.; DHAR, S. K. Characterization of physiological glucose concentration using electrical impedance spectroscopy. **International Journal of Computer Science Issues (IJCSI)**, Citeseer, v. 10, n. 1, p. 105, 2013. Citado na página 82.

HUANG J.; ZHANG, Y.; WU J. Review of non-invasive continuous glucose monitoring based on impedance spectroscopy. **Sensors and Actuators A: Physical**, Elsevier, 2020. Citado na página 24.

HUND S.J.; KAMENEVA, M. V.; ANTAKI J. F. A quasi-mechanistic mathematical representation for blood viscosity. **Fluids**, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 2, n. 1, p. 10, 2017. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 55.

HÓYUM P.; KALVOY, H.; MARTINSEN Ø. G.; GRIMNES-S. A finite element model of needle electrode spatial sensitivity. **Physiological measurement**, IOP Publishing, v. 31, n. 10, p. 1369, 2010. Citado na página 96.

IVORRA A.; GENESCÁ, M.; SOLA A.; PALACIOS L.; VILLA R.; HOTTER G.; AGUILÓ J. Bioimpedance dispersion width as a parameter to monitor living tissues. **Physiological measurement**, v. 26, p. S165–73, 05 2005. Citado 2 vezes nas páginas 10 e 40.

JR J.; OKIDA, S.; STEVAN Jr S. L. MENDES. Principais conceitos relacionados ao método de bioimpedância. In: . [S.l.: s.n.], 2014. Citado na página 39.

JR, R. CASTRO. **Glucosímetro de pulso**. Tese (Doutorado) — Escola Politécnica de São Paulo, São Paulo, 2010. Citado 2 vezes nas páginas 63 e 66.

JUANSAH J.; YULIANT, W. Studies on electrical behavior of glucose using impedance spectroscopy. In: IOP PUBLISHING. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. [S.l.], 2016. v. 31, n. 1, p. 012039. Citado na página 82.

KAMAT D. K.; BAGUL, D.; PATIL P. M. Blood glucose measurement using bioimpedance technique. In: . [S.l.]: Hindawi, 2014. v. 2014. Citado 4 vezes nas páginas 11, 72, 81 e 87.

KARACOLAK T.; MORELAND, E. C.; TOPSAKA E. Cole-cole model for glucose-dependent dielectric properties of blood plasma for continuous glucose monitoring. **Microwave and Optical Technology Letters**, Wiley Online Library, v. 55, n. 5, p. 1160–1164, 2013. Citado na página 85.

KEYSIGHT, T. Basics of measuring the dielectric properties of materials. **Keysight**, 2019. Citado na página 49.

KHALIL, O. Non-invasive glucose measurement technologies: An update from 1999 to the dawn of the new millennium. **Diabetes technology & therapeutics**, v. 6, p. 660–97, 11 2004. Citado na página 29.

KHALIL, O. S. Spectroscopic and clinical aspects of noninvasive glucose measurements. **clinical chemistry**, Clinical Chemistry, v. 45, n. 2, p. 165–177, 1999. Citado 3 vezes nas páginas 27, 37 e 38.

KHALIL S. F.; MOHKAR, M. S.; IBRAHIM F. The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases. **Sensors**, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 14, n. 6, p. 10895–10928, 2014. Citado na página 49.

KLONOFF, D. C. Noninvasive blood glucose monitoring. **Diabetes care**, Am Diabetes Assoc, v. 20, n. 3, p. 433–437, 1997. Citado 3 vezes nas páginas 11, 26 e 73.

LABORATORIAL, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina. **Recomendações da SBPC/ML para coleta de sangue venoso**. [S.l.]: MANOLE, 2009. Citado na página 67.

LE, V. X.; LEE H.; PHAM N. S.; BONG S.; OH H.; CHO S. H.; SHIN I. S. Stainless steel 304 needle electrode for precise glucose biosensor with high signal-to-noise ratio. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Elsevier, v. 346, p. 130552, 2021. Citado na página 92.

LEE S.; NAYAK, V.; DODDS J.; PISHKO M.; SMITH N. B. Ultrasonic mediated glucose measurements in vivo using the cymal array. **Ultrasound Med. Biol**, v. 31, n. 7, p. 971–977, 2005. Citado na página 33.

LIBONATI, B. Anvisa aprova glicosímetro não-invasivo. **blog: convivendo com diabetes**, 2016. Disponível em: <<https://www.convivendocomdiabetes.com/anvisa-aprova-glicosimetro-nao-invasivo/>>. Acesso em: 26 Fev. 2024. Citado na página 18.

LILIENFELD-TOAL H.; WEIDENULLER, M. XHELAJ A.; MANTELE W. VON. A novel approach to non-invasive glucose measurement by mid-infrared spectroscopy: The combination of quantum cascade lasers (qcl) and photoacoustic detection. **Vibrational Spectroscopy**, v. 38, p. 209–215, 07 2005. Citado na página 29.

LIMA, L. S. Lei de lambert-beer. **Revista de Ciência Elementar**, Casa das Ciências, v. 1, n. 1, 2013. Citado na página 46.

LIN T.; MAYZEL, Y.; BAHARTAN K. The accuracy of a non-invasive glucose monitoring device does not depend on clinical characteristics of people with type 2 diabetes mellitus. **Journal of drug assessment**, Taylor & Francis, v. 7, n. 1, p. 1–7, 2018. Citado na página 36.

LIU N.; CHEN, R.; WAN Q. Recent advances in electric-double-layer transistors for bio-chemical sensing applications. **Sensors**, v. 19, n. 15, 2019. ISSN 1424-8220. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1424-8220/19/15/3425>>. Citado 2 vezes nas páginas 10 e 41.

LOSOYA-LEAL A.;CAMACHO-LÉON, S.; DIECK-ASSAD G.; MARTÍNEZ-CHAPA S. O. State of the art and new perspectives in non-invasive glucose sensors. **Revista Mexicana De Ingeniería Biomédica**, v. 33, n. 1, p. 41–52, 2012. Citado na página 30.

LUGIATO L.; PRATI, F.; BRAMBILA M. **Nonlinear optical systems**. [S.l.]: Cambridge University Press, 2015. Citado 2 vezes nas páginas 106 e 107.

MAGLIANO D. J.; BOYKO, E. J.; et al. Idf diabetes atlas. 2022. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 24.

MANIKKATH J.; HEGDE, A.R.; PAREKH H.S.; MUTALIK S. Chapter 7 - peptide dendrimers in delivery of bioactive molecules to skin. In: HAMBLIN, Michael R.; AVCI, Pinar; PROW, Tarl W. (Ed.). **Nanoscience in Dermatology**. Boston: Academic Press, 2016. p. 89–97. ISBN 978-0-12-802926-8. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128029268000070>>. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 34.

MCLACHLAN, D. S. Measurement and analysis of a model dual-conductivity medium using a generalised effective-medium theory. **Journal of Physics C: Solid State Physics**, IOP Publishing, v. 21, n. 8, p. 1521, 1988. Citado na página 22.

MCLACHLAN, D. S. Analytical functions for the dc and ac conductivity of conductor-insulator composites. **Journal of Electroceramics**, v. 5, p. 93–110, 2000. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 27.

MENDES, A. C. M. Utilização da técnica da lente térmica para o estudo das propriedades termo-ópticas de meios espalhadores de luz. Universidade Federal de Uberlândia, 2017. Citado na página 46.

MERNISSI G.; BARLET-BAS, C.; KHADOURI C.; MARSY-S.; CHEVAL L.; DOUCET A. El. Characterization and localization of ouabain-insensitive na-dependent atpase activities along the rat nephron. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, Elsevier, v. 1064, n. 2, p. 205–211, 1991. Citado na página 93.

MICHELS, M. Scaling relations and the general effective-medium equation for isolator-conductor mixtures. **Journal of Physics: Condensed Matter**, IOP Publishing, v. 4, n. 15, p. 3961, 1992. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 26.

MOBARAK, M. A review paper on the sensitivity analysis in bioimpedance measurement technique. v. 7, n. 5, p. 346–350, 2022. Citado 2 vezes nas páginas 90 e 95.

NALWA, H. S. Organic materials for third-order nonlinear optics. In: **Nonlinear Optics of Organic Molecules and Polymers**. [S.l.]: CRC Press, 2020. p. 611–798. Citado na página 107.

NETO C. A.; OLIVEIRA-FILHO, J. P.; DELFIOL D. J.; BADIAL P. R.; ARAÚJO J. P.; CRUZ T. F.; BORGES A. S. Proteinograma e concentração sérica de igh em potros, do nascimento aos trinta dias de vida, tratados com plasma. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, SciELO Brasil, v. 38, p. 795–805, 2018. Citado na página 69.

NITZAN M.; ENGELBERG, S. Three-wavelength technique for the measurement of oxygen saturation in arterial blood and in venous blood. **Journal of biomedical optics**, International Society for Optics and Photonics, v. 14, n. 2, p. 024046, 2009. Citado 3 vezes nas páginas 19, 64 e 66.

NOVELETTO F.; BERTEMES-FILHO, P.; DUTRA D. **Analog Front-End for the Integrated Circuit AD5933 Used in Electrical Bioimpedance Measurements**. [S.l.: s.n.], 2016. 48-51 p. ISBN CHO O. Citado na página 52.

OLIVEIRA, F. M. Aplicação e testes do método apha-4500-no3-c para determinação de nitratos em águas por leitura em uv com segunda-derivada. **Revista Analytica**, v. 27, p. 80–88, 2007. Citado na página 45.

OLIVEIRA, P. G. Viscosidade do sangue. **UBI**, p. 034101, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 26 e 77.

ONIMISI M.Y.; IKYUMBUR, J. T. Comparative analysis of dielectric constant and loss factor of pure butan-1-ol and ethanol. **American Journal of Condensed Matter Physics**, v. 5, n. 3, p. 69–75, 2015. Citado na página 49.

OSHINA I.; SPIGULIS, J. Beer–lambert law for optical tissue diagnostics: current state of the art and the main limitations. **Journal of biomedical optics**, Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, v. 26, n. 10, p. 100901–100901, 2021. Citado na página 47.

OTERO J.; CANO, V. **Espectroscopía Raman: Fundamento y aplicaciones**. 2015. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 30.

PADUSZYNSKI K.; OKUNIEWSKI, M.; DOMANSKA U. An effect of cation functionalization on thermophysical properties of ionic liquids and solubility of glucose in them—measurements and pc-saft calculations. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, Elsevier, v. 92, p. 81–90, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 92 e 93.

PAL, R. On the electrical conductivity of particulate composites. **Journal of Composite materials**, Sage Publications Sage UK: London, England, v. 41, n. 20, p. 2499–2511, 2007. Citado na página 22.

PARK J.; KIM, J.; KIM S. Y. CHEONG W. H.; JANG J.; PARK Y. G.; Park J. U. Soft, smart contact lenses with integrations of wireless circuits, glucose sensors, and displays. **Science Advances**, American Association for the Advancement of Science, v. 4, n. 1, 2018. Disponível em: <<https://advances.sciencemag.org/content/4/1/eaap9841>>. Citado na página 36.

PARRAMÓN, M. Particularidades de la medición de la glucemia capilar: aspectos técnicos, clínicos y legales. **Endocrinología y Nutrición**, Elsevier, v. 51, n. 7, p. 433–439, 2004. Citado na página 18.

PATHOTE D., JAISWAL D.; SINGH V.; BEHERA C. K. Optimization of electrochemical corrosion behavior of 316l stainless steel as an effective biomaterial for orthopedic applications. **Materials Today: Proceedings**, Elsevier, v. 57, p. 265–269, 2022. Citado na página 41.

PEDRO B. G.; BERTEMES-FILHO, P. Blood glucose detection using 3-leds: Analytical model. **Revista Brasileira de Física Médica**, v. 15, p. 613, jul. 2021. Disponível em: <<https://www.rbfm.org.br/rbfm/article/view/613>>. Citado na página 96.

PEDRO B. G.; MARCÔNDES, D. W. C.; BERTEMES-FILHO P. Analytical model for blood glucose detection using electrical impedance spectroscopy. **Sensors**, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 20, n. 23, p. 6928, 2020. Citado 7 vezes nas páginas 11, 19, 51, 54, 81, 89 e 92.

PEDRO B.G.; BERTEMES-FILHO, P. Glucose detection of ringer-lactate solution using electrical bioimpedance: preliminary results. **Título do periódico**, v. 2008, n. 1, p. 012003, 2021. Citado 7 vezes nas páginas 11, 19, 57, 76, 78, 80 e 81.

PEREIRA, M. G. Aplicações da teoria da percolação à modelagem e simulação de reservatórios de petróleo. In: **Tese (Doutorado em Física da Matéria Condensada; Astrofísica e Cosmologia Física da Ionosfera) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte**. Natal, Brasil: [s.n.], 2006. v. 4, p. 94. Citado na página 22.

PEREIRA M. G.; MALAGONI, R.; FINZER J. Reologia do escoamento do sangue em artéria. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 3, p. 2135–2140, 2015. Citado 2 vezes nas páginas 25 e 57.

PEREIRA, R. M. Desenvolvimento de um sistema de espectroscopia de impedância elétrica multicanal. Universidade do Estado de Santa Catarina, 2009. Citado 2 vezes nas páginas 38 e 39.

PIOVENAN, E. **Propriedades Ópticas não lineares de compostos orgânicos e organometálicos**. Tese (Doutorado) — Universidade de São Paulo, 2009. Citado na página 107.

POCKEVICIUS V.; MARKEVICIUS, V.; CEPENAS M.; ANDRIUKAITIS D.; NAVIKAS D. Blood glucose level estimation using interdigital electrodes. **Elektronika ir elektrotechnika**, v. 19, n. 6, p. 71–74, 2013. Citado na página 72.

PODDAR R.; ANDREWS, J. T.; SHUKLA P.; SEN P. Non-invasive glucose monitoring techniques: A review and current trends. **arXiv preprint arXiv:0810.5755**, 2008. Citado 2 vezes nas páginas 32 e 35.

PRICE, D. T. **Optimization of Bio-Impedance Sensor for Enhanced Detection and Characterization of Adherent Cells**. [S.l.]: University of South Florida, 2012. Citado na página 41.

PÉREZ, C. A. S. O modelo do elétron livre de drude completa 100 anos. **Caderno Brasileiro de Ensino de Física**, v. 17, n. 3, p. 348–359, 2000. Citado na página 54.

RAJINDER, P. On the electrical conductivity of particulate composites. **Journal of Composite Materials**, v. 41, n. 20, p. 2499–2511, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/0021998307076489>>. Citado na página 24.

RASCÓN-CAREAGA A.; CORELLA-MADUENÕ, M. A. G.; PÉREZ-MARTÍNEZ C. J.; GARCÍA-ROJAS A. M.; SOUFLÉ-VÁSQUEZ S. Z.; GARCÍA-MOROYOQUI M. T. GARCÍA-ALEGRÍA A. M. Validation and estimation of uncertainty for a glucose determination method god-pap using a multi-calibrator as reference. **MAPAN**, v. 36, n. 2, p. 269–278, 2021. Citado na página 18.

RAÚL, M. M. Towards wearable spectroscopy bioimpedance applications: power management for a battery driven impedance meter. Universitat Politècnica de Catalunya, 2009. Citado na página 40.

REIS, S. T. Caracterizacao eletrica dos compositos zirconia-niobio e zirconia-titanio. In: **Tese (Mestrado em ciências) - IPEN**. SP, Brasil: [s.n.], 1993. p. 98. Citado na página 22.

RIERNEY M. J.; TAMADA, J. A.; POTTS R. O.; EASTMAN R. C.; PITZER-K.; ACKERMAN N. R.; FERMI S. J. The glucowatch® biographer: a frequent, automatic and noninvasive glucose monitor. **Annals of Medicine**, Taylor Francis, v. 32, n. 9, p. 632–641, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.3109/07853890009002034>>. Citado na página 36.

ROCHA, R. P. Tempo de relaxação em sistemas moleculares desordenados. 2015. Citado na página 54.

ROJAS-DIAZ J.; FELICE, C. J.; RUIZ G. A. Continuous monitoring of conductivity using a uniform magnetic field. In: IOP PUBLISHING. **Journal of Physics: Conference Series**. [S.l.], 2019. v. 1272, n. 1, p. 012022. Citado na página 89.

SAMPAIO, L. R. S. Avaliação bioquímica do estado nutricional. **Avaliação Nutricional**, p. 49, 2012. Citado na página 51.

SANDBY-MOLLER J.; POULSEN, T.; WULF H. C. Influence of epidermal thickness, pigmentation and redness on skin autofluorescence. **Photochemistry and photobiology**, v. 77, p. 616–20, 07 2003. Citado na página 30.

SANTOS P.; TEODORO, D. V.; DE ANDRADE F. A.; GUIMARÃES J. B.; DA SILVA F.; DE SOUZA F. M.; SANTOS-FILHO-S. A. Proposta de método não invasivo para detectar variação do nível de glicemia. **Congresso Brasileiro de Engenharia Biomedica**, XXIV, p. 2091, 01 2014. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 28.

SANTOS, S. F. **Modeling Blood Glucose Levels Using Non-Invasive Bioimpedance and Infrared Measurements**. Dissertação (Mestrado) — UDESC, Joinville, Brasil, 2018. Disponível em: <<http://www.udesc.br/cct>>. Acesso em: 10 nov. 2020. Citado na página 24.

SARFARAZ, A. M. **Development of low Cost Portable Platform for Bioimpedance Based Diagnostics**. Tese (Doutorado), 2014. Citado na página 39.

SAU, T. **Breath acetone-based non-invasive detection of blood glucose levels**. 2015. Citado na página 36.

SAÚDE, BRASIL: Ministério da. **Técnicas para coleta de sangue**. [S.l.]: MINISTÉRIO DA SAÚDE-TeleLab, 2001. Citado na página 67.

SBRIGNADELLO S.; TURA, A.; RAVAZZANI P. Electroimpedance spectroscopy for the measurement of the dielectric properties of sodium chloride solutions at different glucose concentrations. Citado na página 82.

SCHWARTZ M. W.; KRINSLEY, J. S.; FABER C. L.; HIRSCH I. B.; BROWNLEE M. **Diabetes Care**, v. 46, n. 2, p. 237–244, 01 2023. ISSN 0149-5992. Disponível em: <<https://doi.org/10.2337/dc22-1445>>. Citado na página 27.

SEGMAN, Y. Device and method for noninvasive glucose assessment. **Journal of diabetes science and technology**, SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA, v. 12, n. 6, p. 1159–1168, 2018. Citado na página 18.

SHARMA A.; SCHULMAN, S. G. **Introduction to fluorescence spectroscopy**. [S.l.]: Wiley New York, 1999. v. 13. Citado na página 29.

SHUVO O. I.; ISLAM, M. N. Sensitivity analysis of the tetrapolar electrical impedance measurement systems using comsol multiphysics for the non-uniform and inhomogeneous medium. **Dhaka University Journal of Science**, v. 64, n. 1, p. 7–13, 2016. Citado na página 96.

SILVA, B. L. Sistema de medição não invasiva de glicose sanguínea baseado em princípios de espectroscopia de infravermelho próximo. **Dissertação de Mestrado**, UFSC, Florianópolis, p. 220, 2017. Citado na página 36.

SILVA R. O. P.; LOPES, A. D. F.; FARIA R. M. D. D. Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. 2008. Citado na página 51.

SILVA, V. H. P. P. **Caracterização reológica de fluidos não newtonianos através do viscosímetro de Stormer**. Tese (Doutorado) — Universidade Santa Cecília, 2013. Citado na página 57.

SILVEIRA, C. A. Uso do viscosímetro brookfield em determinações reológicas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Associação Brasileira de Polímeros-ABPol, v. 1, n. 1, p. 41–43, 2013. Citado na página 57.

SINGH U.; SHARMA, P. K. Study on geometric factor and sensitivity of subsurface for different electrical resistivity tomography arrays. **Arabian Journal of Geosciences**, Springer, v. 15, n. 7, p. 560, 2022. Citado na página 92.

SKOOG D. A.; WEST, D. M.; HOLLER J. **Fundamentos de química analítica. Volumen 2**. [S.l.]: Reverté, 2020. Citado 3 vezes nas páginas 46, 105 e 106.

SMITH, J. **The Pursuit of Noninvasive Glucose: Hunting the Deceitful Turkey**. [S.l.: s.n.], 2006. Citado 2 vezes nas páginas 29 e 36.

SNOOK R.D.; MITCHEM, L. Photoacoustic spectroscopy. In: WORSFOLD, Paul; TOWNSHEND, Alan; POOLE, Colin (Ed.). **Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)**. Second edition. Oxford: Elsevier, 2005. p. 174–180. ISBN 978-0-12-369397-6. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123693977004647>>. Citado 2 vezes nas páginas 9 e 32.

SO C.; CHOI, K. S.; WONG T. K.; CHUNG J. W. Recent advances in noninvasive glucose monitoring. **Medical Devices (Auckland, NZ)**, Dove Press, v. 5, p. 45, 2012. Citado na página 29.

SOMER T.; MEISELMAN, H. J. Disorders of blood viscosity. **Annals of medicine**, Taylor & Francis, v. 25, n. 1, p. 31–39, 1993. Citado 3 vezes nas páginas 25, 78 e 83.

SRINIVASARAGHAVAN, V. **Bioimpedance spectroscopy of breast cancer cells: A microsystems approach**. Tese (Doutorado) — Virginia Tech, 2015. Citado na página 38.

STEUDNERTE, A. B. Estudo da viscosidade do sangue: quantidade de amostra necessária à obtenção de medida. Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2012. Citado na página 57.

STROUD, D. The effective medium approximations: Some recent developments. **Superlattices and microstructures**, Elsevier, v. 23, n. 3-4, p. 567–573, 1998. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 48.

SURAJUDEEN S.; YAHYA, N.; SOLEIMANI H.; ALI A. M.; AFEEZ Y. Impact of ionic-electromagnetic field interaction on maxwell-wagner polarization in porous medium. **Journal of Molecular Liquids**, v. 318, p. 114039, 2020. ISSN 0167-7322. Citado na página 93.

TEIXEIRA, K. N. Estudos bioquímicos e análise de atividade enzimática em mioglobinas nativas e recombinantes de moluscos do gênero biomphalaria. Universidade Federal de Minas Gerais, 2010. Citado na página 51.

TEIXEIRA, L. G. P. **Desenvolvimento de um dispositivo não invasivo multiparamétrico para medida do nível de glicose no sangue**. Tese (Doutorado) — Dissertação (Mestrado Profissional)-Universidade do Estado de Santa Catarina, 2023. Citado na página 68.

TURA A.; MARAN, A.; PACINI G. Non-invasive glucose monitoring: assessment of technologies and devices according to quantitative criteria. **Diabetes research and clinical practice**, Elsevier, v. 77, n. 1, p. 16–40, 2007. Citado na página 29.

UMEMURA, T. Y. G. Análise proteômica do tecido hepático de camundongos com diabetes mellitus induzidos por estreptozotocina e dieta hiperlipídica. Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2022. Citado na página 24.

VASHIST, S. K. Non-invasive glucose monitoring technology in diabetes management: A review. **Analytica chimica acta**, Elsevier, v. 750, p. 16–27, 2012. Citado 4 vezes nas páginas 31, 33, 35 e 36.

WANG H.; SWEIKART, M. A.; TURNER J. A. Stainless steel as bipolar plate material for polymer electrolyte membrane fuel cells. **Journal of Power Sources**, Elsevier, v. 115, p. 243–251, 2003. Citado na página 92.

WEI J.; TANG, Y.; RIDGEWAY M. E.; PARK M. A.; COSTELLO C. E.; LIN C. Accurate identification of isomeric glycans by trapped ion mobility spectrometry-electronic excitation dissociation tandem mass spectrometry. **Analytical chemistry**, ACS Publications, v. 92, n. 19, p. 13211–13220, 2020. Citado na página 93.

WENTHOLT I.; HOEKSTRA, J. B. L.; ZWART A.; DEVRIES J. H. Pendra goes dutch: Lessons for the ce mark in europe. **Diabetologia**, v. 48, p. 1055–8, 07 2005. Citado na página 36.

WILSON G. S.; ZHANG, Y.; REACH G.; MOATTI-SIRAT D.; POITOUT V.; THÉVENOT D. R.; KLEIN J. C. Progress toward the development of an implantable sensor for glucose. **Clinical Chemistry**, Oxford University Press, v. 38, n. 9, p. 1613–1617, 1992. Citado na página 26.

WU, J. Understanding the electric double-layer structure, capacitance, and charging dynamics. **Chemical Reviews**, ACS Publications, v. 122, n. 12, p. 10821–10859, 2022. Citado na página 41.

ZAEEMI M., et al. Measurement of pigeon blood glucose concentration with accu-chek active glucometer in comparison with standard methods (autoanalyzer biotecnica targa, 3000). In: . [S.l.: s.n.], 2014. Citado na página 56.

ZHBANOV A.; YANG, S. Effects of aggregation on blood sedimentation and conductivity. **PLOS ONE**, Public Library of Science, v. 10, n. 6, p. 1–25, 06 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129337>>. Citado 3 vezes nas páginas 22, 23 e 24.

ZIJLSTRA W. G.; BUURSMA, A.; MEEUWSEN-VAN DER ROEST W. P. Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin. **Clinical chemistry**, Oxford University Press, v. 37, n. 9, p. 1633–1638, 1991. Citado na página 69.

APÊNDICE A – CÓDIGO PYTHON PARA ANÁLISE QUALITATIVA DO MODELO NA SEÇÃO 3.1

```

import numpy
import math
import pylab
import matplotlib.pyplot as grafico
from mpl_toolkits.mplot3d.axes3d import Axes3D

# parametros #

a = 1.0
b = 1.0
c = 1.0
d = 1.0
g = 1.0
h = 0.7
k = 0.45
k_linha = 0.01

numero_pontinhos = 1000000
w_min = 0.5
w_max = 1

z_mod1 = []
z_mod2 = []
z_mod3 = []
z_mod4 = []
z_mod5 = []
z_mod6 = []
z_mod7 = []
z_mod8 = []
w_freq = []

def z(w):
    b = h*( 1.0/( 1.0 - k + k_linha)**3)
    return ( math.sqrt( b + ( (a + c*w)**2/((w**2)*(g + d*w)**2))))

for i in range(numero_pontinhos):
    w = w_min + i*(w_max - w_min)/numero_pontinhos
    w_freq.append(w)
    k_linha = 0.040
    z_mod1.append( z(w) )
    k_linha = 0.044
    z_mod2.append( z(w) )
    k_linha = 0.048
    z_mod3.append( z(w) )
    k_linha = 0.052
    z_mod4.append( z(w) )
    k_linha = 0.056
    z_mod5.append( z(w) )
    k_linha = 0.060
    z_mod6.append( z(w) )
    k_linha = 0.064

```

```

k_linha = 0.02752
z_mod7.append( z(w) )
k_linha = 0.02924
z_mod8.append( z(w) )

treco = open("graficos.txt","w")

for i in range(numero_pontinhos):
    treco.write("%f %f %f %f %f %f %f %f %f \n" % (w_freq[i], z_mod1[i],
z_mod2[i], z_mod3[i], z_mod4[i], z_mod5[i], z_mod6[i], z_mod7[i], z_mod8[i] ))

treco.close()

figure = grafico.figure()
grafico.plot(w_freq, z_mod1, label='f = 0.40')
grafico.plot(w_freq, z_mod2, label='f = 0.44')
grafico.plot(w_freq, z_mod3, label='f = 0.48')
grafico.plot(w_freq, z_mod4, label='f = 0.52')
grafico.plot(w_freq, z_mod5, label='f = 0.56')
grafico.plot(w_freq, z_mod6, label='f = 0.60')
grafico.plot(w_freq, z_mod7, label='f = 0.64')
grafico.plot(w_freq, z_mod8, label='f = 0.68')
grafico.xlabel(u'Frequência normalisada')
grafico.ylabel(u'Impedância normalisada')
grafico.legend()
grafico.show()

```

APÊNDICE B – CÓDIGO PYTHON PARA REGRESSÃO LINEAR DO TESTE COM RINGUER E ALBUMINA

```
# -*- coding: cp1252 -*-
import matplotlib.pyplot as plt
import math
from scipy.optimize import curve_fit
import numpy as np

def func(x, a, b, c, d):
    return a*np.sqrt(1+((x**2-b)**2/(((c*x**2-d)**2)*x**2)) )

xdata=np.zeros(0)
ydata=np.zeros(0)

dataset=open('linha_albumina5g_açucar5g.txt', 'r')

u = dataset.readlines()

for i in range(len(u)):
    a = u[i].split("\t")
    aux1 = a[0]
    aux2 = a[1].replace("\n", "")
    aux1 = aux1.replace("*10^", "E")
    aux2 = aux2.replace("*10^", "E")
    xdata = np.append(xdata, float(aux1))
    ydata = np.append(ydata, float(aux2))

dataset.close()

plt.plot(xdata, ydata, 'b-', label='data')

popt, pcov = curve_fit(func, xdata, ydata)

plt.plot(xdata, func(xdata, *popt), 'r-',
         label='fit: a=%5.3f, b=%5.3f, c=%5.3f, d=%5.3f' % tuple(popt))

plt.xlabel('Freq. (kHz)', size='20')
plt.ylabel('|Z| (k$\Omega$)', size='20')
plt.legend()
plt.show()
```

APÊNDICE C – CÓDIGO PYTHON PARA ANÁLISE QUALITATIVA DO MODELO NA SEÇÃO 3.3

```

import numpy
import math
import pylab
import matplotlib.pyplot as grafico
from mpl_toolkits.mplot3d.axes3d import Axes3D

# parametros #

a = 1.0
b = 1.0
c = 1.0
d = 1.0
g = 1.0
h = 1.0
k = 0.45
k_linha = 0.001

numero_pontinhos = 100000
w_min = 0.5
w_max = 0.6

z_mod1 = []
z_mod2 = []
z_mod3 = []
z_mod4 = []
z_mod5 = []
z_mod6 = []
z_mod7 = []
z_mod8 = []
w_freq = []

def z(w):
    a = h*(math.exp(-4*k_linha)*( 1.0 - k + k_linha)**(-6))
    return ( a*math.sqrt(1+(w**2 +
b*math.exp(2*k_linha))**2/((w**2)*(c*w**2*math.exp(-k_linha)*(1.0-k+k_linha)**(-
3/2)+d*w*math.exp(k_linha)*(1.0-k+k_linha)**(-3/2))**2)))

for i in range(numero_pontinhos):
    w = w_min + i*(w_max - w_min)/numero_pontinhos
    w_freq.append(w)
    k_linha = 0.0172
    z_mod1.append( z(w) )
    k_linha = 0.01892
    z_mod2.append( z(w) )
    k_linha = 0.02064
    z_mod3.append( z(w) )
    k_linha = 0.02236
    z_mod4.append( z(w) )
    k_linha = 0.02408
    z_mod5.append( z(w) )
    k_linha = 0.02580

```

```

import numpy
import math
import pylab
import matplotlib.pyplot as grafico
from mpl_toolkits.mplot3d.axes3d import Axes3D

# parametros #

a = 1.0
b = 1.0
c = 1.0
d = 1.0
g = 1.0
h = 1.0
k = 0.45
k_linha = 0.001

numero_pontinhos = 100000
w_min = 0.5
w_max = 0.6

z_mod1 = []
z_mod2 = []
z_mod3 = []
z_mod4 = []
z_mod5 = []
z_mod6 = []
z_mod7 = []
z_mod8 = []
w_freq = []

def z(w):
    a = h*(math.exp(-4*k_linha)*( 1.0 - k + k_linha)**(-6))
    return ( a*math.sqrt(1+(w**2 +
b*math.exp(2*k_linha))**2/((w**2)*(c*w**2*math.exp(-k_linha)*(1.0-k+k_linha)**(-
3/2)+d*w*math.exp(k_linha)*(1.0-k+k_linha)**(-3/2))**2)))

for i in range(numero_pontinhos):
    w = w_min + i*(w_max - w_min)/numero_pontinhos
    w_freq.append(w)
    k_linha = 0.0172
    z_mod1.append( z(w) )
    k_linha = 0.01892
    z_mod2.append( z(w) )
    k_linha = 0.02064
    z_mod3.append( z(w) )
    k_linha = 0.02236
    z_mod4.append( z(w) )
    k_linha = 0.02408
    z_mod5.append( z(w) )
    k_linha = 0.02580

```


APÊNDICE D – CÓDIGO PYTHON PARA ANÁLISE QUALITATIVA DO MODELO NA SEÇÃO 3.4

```

import numpy
import math
import pylab
import matplotlib.pyplot as grafico
from mpl_toolkits.mplot3d.axes3d import Axes3D

# parametros #

a = 1.0
b = 1.0
c = 1.0
d = 1.0
g = 1.0
h = 1.0
k = 0.45
k_linha = 0.001

numero_pontinhos = 100000
w_min = 0.5
w_max = 1

z_mod1 = []
z_mod2 = []
z_mod3 = []
z_mod4 = []
z_mod5 = []
z_mod6 = []
w_freq = []

def z(w):
    a = h*(math.exp(-4*k_linha)*( 1.0 - k - k_linha)**(-6))
    return ( a*math.sqrt(1+(w**2 +
b*math.exp(2*k_linha))**2/((w**2)*(c*w**2*math.exp(-k_linha)*(1.0-k-
k_linha)**(-3/2)+d*w*math.exp(k_linha)*(1.0-k-k_linha)**(-3/2))**2)))

for i in range(numero_pontinhos):
    w = w_min + i*(w_max - w_min)/numero_pontinhos
    w_freq.append(w)
    k_linha = 0.0010844
    z_mod1.append( z(w) )
    k_linha = 0.0006330
    z_mod2.append( z(w) )
    k_linha = 0.000310
    z_mod3.append( z(w) )
    k_linha = 0.0002110
    z_mod4.append( z(w) )
    k_linha = 0.0001210
    z_mod5.append( z(w) )
    k_linha = 0.0000700
    z_mod6.append( z(w) )

```

```

import numpy
import math
import pylab
import matplotlib.pyplot as grafico
from mpl_toolkits.mplot3d.axes3d import Axes3D

# parametros #

a = 1.0
b = 1.0
c = 1.0
d = 1.0
g = 1.0
h = 1.0
k = 0.45
k_linha = 0.001

numero_pontinhos = 100000
w_min = 0.5
w_max = 1

z_mod1 = []
z_mod2 = []
z_mod3 = []
z_mod4 = []
z_mod5 = []
z_mod6 = []
w_freq = []

def z(w):
    a = h*(math.exp(-4*k_linha)*( 1.0 - k - k_linha)**(-6))
    return ( a*math.sqrt(1+(w**2 +
b*math.exp(2*k_linha))**2/((w**2)*(c*w**2*math.exp(-k_linha)*(1.0-k-
k_linha)**(-3/2)+d*w*math.exp(k_linha)*(1.0-k-k_linha)**(-3/2))**2)))

for i in range(numero_pontinhos):
    w = w_min + i*(w_max - w_min)/numero_pontinhos
    w_freq.append(w)
    k_linha = 0.0010844
    z_mod1.append( z(w) )
    k_linha = 0.0006330
    z_mod2.append( z(w) )
    k_linha = 0.000310
    z_mod3.append( z(w) )
    k_linha = 0.0002110
    z_mod4.append( z(w) )
    k_linha = 0.0001210
    z_mod5.append( z(w) )
    k_linha = 0.0000700
    z_mod6.append( z(w) )

```

APÊNDICE E – CONVERSÃO DE MMOL/L PARA K’

As frações volumétricas descritas no modelo Bruna são que :

Vt= Vg+Vh+Vp

1-k-k'= phi

Vt = volume do total do sangue

Vg = volume da glicose

Vh= volume da hemácias

Vp= vlume do plasma

k' = fração volumétrica da glicose = Vg/Vt

k = fração volumétrica da hemácia = Vh/Vt

phi = fração volumétrica do plasma = Vp/Vt

não condutor

não condutor

condutor

isso significa qye tem 0,004mol por Litro

Qua é o volume de 4mmol?

Na literatura existente encontro que 1kg de açúcar tem 1,75x10^24 moléculas.
Então, quantos gramas tem 1 moléculas?

5,71E-22 [g]

Se 1mol = 6,02x10^23 moléculas.....0,004mol tem quantas moléculas?

2,41E+21 [moléculas]

1mol= 6,02E+23 [moléculas]

2,6488E+21 2,8896E+21 3,1304E+21 3,3712E+21 3,612E+21 3,8528E+21 4,0936E+21

Portanto o o peso de 4mmol é :

1,38E+00 [g]

1,51E+00 1,65E+00 1,79E+00 1,93E+00 2,06E+00 2,20E+00 2,34E+00

Naa rede a densidade da glicose é:

0,8 [g/cm^3]

Parra descobrir o volume destes 4mmols:

d=m/V logo, V=m/d

V [L]= [cm^3]

logo, as frações volumétricas são:
Para vt= 1 [L]

irei manter k fixo = 45% do volume do sangue total

k= 0,45

4mmol	4,4mmol	4,8mmol	5,2mmol	5,6mmol	6,0mmol	6,4mmol	6,8mmol
1,72E-03	1,89E-03	2,06E-03	2,24E-03	2,41E-03	2,58E-03	2,75E-03	2,92E-03
1,72	1,89	2,06	2,24	2,41	2,58	2,75	2,92
0,00172000	0,00189200	0,00206400	0,00223600	0,00240800	0,00258000	0,00275200	0,00292400
k'=							

APÊNDICE F – INSTRUÇÕES PARA MODELAR SENSIBILIDADE EM COMSOL

MODELING INSTRUCTIONS

From the File menu, choose "New".

NEW

1 In the New window, click "Model Wizard".

MODEL WIZARD

1 In the Model Wizard window, click "3D".

2 In the Select physics tree, select "AC/DC" > "Electric Currents (ec)".

3 Click "Add".

4 Again Select physics tree, select "AC/DC" > "Electric Currents 2 (ec2)".

5 Click "Add" again.

6 Click "Study".

7 In the Select study tree, select Preset "Studies" > "Stationary".

8 Click "Done".

GEOMETRY

1 On the Geometry toolbar, click "import".

2 Choose your archive ".stl".

% The geometry of this model was made in FreeCAD 0.20 and solved in .stl extension but could be possible to build in COMSOL if necessary.

PARAMETER

1 On the Global Definitions toolbar, click "Parameter".

2 Add "Name", "Expression" and "Description".

% for this simulation was used:

k	[0.00100, 0.00116, 0.00124, 0.00137, 0.00177]	Volumetric ration Glucose
sig	$0.0545/(1+14.9413*\exp(21.8007-19500*k))+0.0015$	Conductivity Blood

MATERIALS

1 On the Materials toolbar, click "Add Material from Library".

2 Choose "Kynar 710 [solid]", "304 [solid, polished]" and "Water".

3 In "settings" of Water must be renamed material how "Blood".

4 Write in the "settings" of each material the Electrical conductivity and permissivity.

5 Select the part of Geometry that is the corresponding material.

% for this simulation was used:

material	conductivity	permissivity
Kynar 710 [solid]	1e-6	3
304 [solid, polished]	$\sigma(T[1/K])[S/m]$	1e10
Blood	1*sig	60

PHYSICS

- 1 On the Electric Current (ec) toolbar, click "Terminal".
- 2 Choose Terminal type "Current" and write the current value in the appropriate space (in this simulation 10e-3).
- 3 Select the part of Geometry that is the corresponding electrode.
- 4 On the Electric Current (ec), click "Ground".
- 5 Select the part of Geometry that is the corresponding electrode.
- 6 On the Electric Current 2 (ec2), click "Terminal".
- 7 Choose Terminal type "Voltage".
- 8 Select the part of Geometry that is the corresponding electrode.
- 9 Repeat 7 and 8 for the fourth electrode.

% The Voltage values are only written in the Electric Current 2 (ec2) setting after simulating the Electric Potential of Electric Current (ec). Use the results of the simulation to know the potential difference between terminal voltages. This must be done every time the k value.

STUDY

- 1 Add one "study" for each volumetric ration glucose (five in total).
- 2 Use each value in parameter "k" for time.

RESULTS

- 1 On the Results toolbar, click "2D Plot Group" > "Slice".
- 2 Write $(ec.Jx*ec2.Jx+ec.Jy*ec2.Jy+ec.Jz*ec2.Jz)$ in "Expression".
- 3 Choose plane type and coordinates.
- 4 Adjust Range.
- 5 Plot and see the sensibility plot for each "Data set" of each Study.

APÊNDICE G – ARTIGOS PUBLICADOS

Letter

Analytical Model for Blood Glucose Detection Using Electrical Impedance Spectroscopy

Bruna Gabriela Pedro, David William Cordeiro Marcôndes and Pedro Bertemes-Filho * 

Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville 89219-710, Santa Catarina, Brazil; bruna.pedro@edu.udesc.br (B.G.P.); david.wcm@edu.udesc.br (D.W.C.M.)

* Correspondence: pedro.bertemes@udesc.br; Tel.: +55-47-348-178-48

Received: 15 October 2020; Accepted: 21 November 2020; Published: 4 December 2020



Abstract: Pathogens and adulterants in human feeding consumables can be readily identified according to their electrical properties. Electrical bioimpedance analysis (BIA) has been widely used for body contents characterization, such as blood, urine, lactate, and sweat. If the concentration of glucose in blood alters the electrical properties of the blood medium, then the impedance spectrum obtained by BIA can be used to measure glycemia. For some applications, artificial neural networks allow the correlation of these parameters both impedance and concentration of glucose by means of symbolic and statistical rules. According to our literature review, there is not any physical model that allows the interpretation of the relationship between blood's electrical properties from impedance spectra and the concentration of glucose in blood plasma. This article proposes a simplified physical model for blood electrical conductivity as a function of concentration of glucose, based on Bruggeman's effective medium theory. The equations of this model were obtained considering an insulating phase distribution diffused in a conductive matrix, in which red blood cells are represented by macroscopic insulating nuclei and glucose molecules by microscopic insulating particles. The impedance spectrum for different glucose concentrations (4.0 to 6.8 mmol/L) in a blood sample, published by Kamat Bagul (2014), were compared to the proposed model. The results showed a significant correlation with the experimental data, showing a maximum error of 5.2%. The proposed model might be useful in the design of noninvasive blood glucose monitoring systems.

Keywords: blood glucose; analytical model; impedance spectroscopy; noninvasive monitoring

1. Introduction

Glucose is the main energy conveyor carbohydrate found in the most of animals. In humans, the concentration of glucose in blood may vary from 90 to 110 mg/dL [1] for healthy conditions. Any value that resides outside this range can be hazardous, causing a well known disease, called diabetes. Diabetes caused more than four million deaths in 2018 and is a leading global cause of heart disease, blindness, kidney failure, and lower-limb amputation [2]. For this reason, many monitoring techniques can be found in the literature which are specially designed to assist people with diabetes [3–5].

Most of the reliable diabetes monitoring systems are invasive that means they require a blood sample in order to measure the concentration of glucose. Unfortunately, these methods can cause pain, are expensive when used for continuous monitoring and prone to cause infections by opening wounds in the patient skin [6]. For that reason, developing non-invasive devices for accurate and reliable measure of concentration of glucose in blood is a remarkable topic in the specialized literature [7]. These devices can improve health quality of people with diabetes, allowing continuous monitoring of glucose levels and leading to a more precise administration of medication.

There are glucometers based on radio wave transmission. However, the higher frequencies necessary to reduce skin effects places difficulties in the measuring systems. Photoplethysmography is a method that relies upon infrared emission, where the absorption pattern is used to estimate glucose concentration. Unfortunately, this method requires a precise tracking of the heart rate by a second measuring system. In addition, an electrode pair must be placed on the skin in order to accurately measure tissue conductivity and permeability [8,9].

BIA has been successfully applied in the non invasive prognosis and characterization of living tissues. It consists of a pair of electrode placed on a patient's skin. A sinusoidal current is injected by a pair of electrode, while the second pair measures the voltage drop across the sample under study. The tissue impedance can be calculated by using analytical models, and then biological parameters are estimated in order to assist medical prognosis [10]. The major drawback of BIA sensors are their complexity and development expensiveness [11]. In order to overcome that, ref. [8] proposes a reliable and low cost method whose results were compared with [11]. They got an equivalent precision into comparison to [11], presenting a good relationship between glucose concentrations and tissue impedance spectra.

Advances in electrical approaches are important for accurate detection, but analytical models have also been proven to be useful for blood investigations. There are models that analytically correlate blood proprieties with electrical parameters [1,6,12–14]. One such model establishes a correlation between blood and its mechanical proprieties, like viscosity, and electrical conductivity [12]. The results showed reasonable agreement with experimental data, for both diabetic and healthy blood, concluding that BIA can be used to investigate blood micro structure. The study presented by [13] brings a detailed model that includes several blood parameters and their relationship to electrical impedance. The study by [14] showed that red blood cell orientation and deformation can explain quantitatively the flow dependency of blood conductivity. Moreover, cell aggregation during blood sedimentation does also affect the electrical conductivity at different hematocrits [1]. Although these studies did not establish a clear connection between glucose concentration, excitation frequency and electrical blood conductivity, some experimental preliminary data have showed such a correlation of these parameters [8,11,15].

An alternative approach to the problem of estimating glucose levels is by using statistical and artificial neural networks (ANN). In these frameworks, an algorithm searches for a relationship between several input parameters and a target prediction: the blood glucose level. It is highly recommended that an ANN be trained with large experimental databases [16,17], so that it can lead to a proper convergence at its output. Once extensively trained and calibrated, ANN can then be used to estimate glucose levels with a given input data from outside the training set [18].

The main problem in any ANN comes from its output nature, that is, a statistical prediction [19]. ANN gives an output summed with an inference error that comes from its mathematical structure. The larger the training databases the better because, in order to reduce inference error, it is necessary to hold the input parameters in the training data neighborhood. On the contrary, a mathematical model that properly describes the phenomena gives a prediction that only relies upon measuring precision. Instead of the inference error, this approach carries a propagation error that arises only from the measuring methodology.

Regardless of its output prediction, ANN poses problems in the nature interpretation of the input data. In fact, the physical relationship between parameters are buried in the deep learning layers of ANN. If the relative rate of a parameter is required, then mathematical models are able to offer estimations by using straightforward algebraic equations. Additionally, ANN requires a new set of training data that depends upon a complete different experimental methodology in the search for such estimation. Therefore, ANN have less flexibility into comparison to mathematical models when a deep study of phenomena is required. In other words, to increase precision on the output of an ANN, it is necessary to enlarge the training databases, both quantitatively and qualitatively [20]. In contrast, mathematical models only require an increase in experimental precision in order to reduce the propagated error.

The study performed here applies the Effective Medium Theory (EMT) to describe the phenomena of glucose levels correlated to the electrical blood conductivity. The study done by [21] presents Bruggeman's equations as an appropriate model for blood conduction, where the space's nonhomogeneity distribution was taken into account. Thus, the volume conductor can be modeled by both insulating and conductive phases. The red cells and glucose molecules compose the insulating phase, while blood plasma the conductive one.

Firstly proposed by Bruggeman and Landauer [21], EMT has been the main framework in many applications where the macroscopically composed medium is the object under study [1,22–26]. EMT poses important technological applications like for percolation theory, employed for the monitoring and the simulation of oil reservoirs [27]. Another example deals with the analysis of carbon nanotubes conductivity, which is a material that increases performance of integrated circuits [28].

The focus of this article is to investigate the Bruggeman's effective medium theory by developing and proposing a simplified physical model for blood electrical conductivity as a function of glucose concentration. It is expected that the proposed model may assist noninvasive glucose measuring devices and also be used as an alternative technique for ANNs. In addition, an analytical model can either be fully controlled regarding the error propagation or customized according to the parameters based on the device-individual setup.

2. Materials and Methods

The EMT describes composite materials resistivity as a function of the relative phase concentration, shape, and distribution gradient. It is supposed that each ellipsoidal insulating grain is completely immersed in a conducting medium with known resistivity [26,29]. Figure 1 shows one randomly insulating grain distributions in a conducting medium [30].

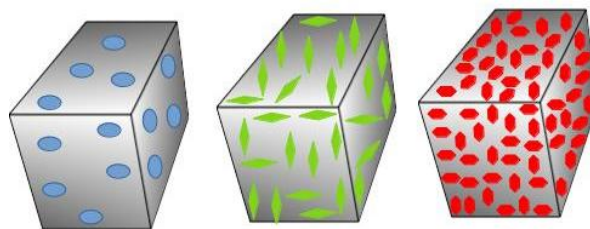


Figure 1. Representation of random insulating grain distributions in a conducting medium.

The Bruggeman's equations for asymmetric mediums, considering spherical grain inclusions, are:

$$\frac{(\sigma_m - \sigma_l)^3}{\sigma_m} = (1 - k)^3 \frac{(\sigma_h - \sigma_l)^3}{\sigma_h}, \quad (1)$$

$$\frac{(\sigma_m - \sigma_l)^3}{\sigma_m} = (1 - \phi)^3 \frac{(\sigma_l - \sigma_h)^3}{\sigma_l}. \quad (2)$$

where σ_m is the medium conductivity which contains two phases: a high conductivity material σ_h and a low conductivity one (σ_l). The volumetric fraction of the high conductivity phase is represented by ϕ and k stands for the low one. This definition implies that $\phi = (1 - k)$.

For this proposed model, σ_m is considered the whole blood conductivity, σ_h is the plasma conductivity, and σ_l is the red cells conductivity. The volumetric fraction ϕ of the high conductivity phase is related to plasma volume, whereas k is related to red blood cells volume.

In ref. [21], Equation (1) represents a structure in which there is an insulating core submerged in a conductive medium with other smaller non-conductive particles. Consequently, Equation (1) is suitable for the required model, where the insulating core represents the red blood cells and glucose molecules the non conductive particles.

Considering a first approximation, σ_l can be considered zero because red cells are insulating in the proposed model. This hypothesis applied in Equation (1) implies that:

$$\sigma_m = (1 - k)^{\frac{3}{2}} \sigma_h. \quad (3)$$

It should be considered that blood vessels are represented by perfect cylinders with homogeneous conductivity. Therefore, at a constant temperature, the second Ohms' law can be applied to give:

$$R = \frac{L\rho}{A} \quad (4)$$

where ρ is the blood resistivity, R is the vessel resistance, and L and A are the length and traversal section area of the vessel, respectively. Combining Equations (3) and (4) and considering $\rho = \rho_m = \frac{1}{\sigma_m}$, Equation (4) can be redefined by:

$$R = \frac{L}{A\sigma_h} \frac{1}{(1 - k)^{\frac{3}{2}}}. \quad (5)$$

The impedance Z is the opposition to an alternate current flow. It is known that Z is highly sensitive to frequency for any living tissues. The real part of the impedance (R) is associated with water content, while the imaginary part (χ) with capacitive effects of cell membranes [31]. The modulus of the impedance can be given by:

$$|Z| = \sqrt{R^2 + \chi^2}. \quad (6)$$

While the imaginary part of Z (i.e., reactance) is given by:

$$\chi = \frac{1}{2\pi fC} \quad (7)$$

where C is the total equivalent capacitance of the sample under study and f is the frequency excitation.

According to the classical electromagnetism theory, when charges are submitted to a potential variation, then a current flow without physical displacement of charge in a cross section between potential boundary is established. This phenomenon leads to a "resistance" associated with a capacitance, so that:

$$C = \frac{\varepsilon\rho}{R}, \quad (8)$$

where ε and ρ are the medium electrical permittivity and resistivity, respectively.

Combining Equations (5) and (8), and making $\rho = \rho_m = \frac{1}{\sigma_m}$, then Equation (8) can be rewritten as:

$$C = \frac{A\varepsilon}{L}. \quad (9)$$

This last implies that the reactance given by Equation (7) can be written as:

$$\chi = \frac{L}{2A\pi\varepsilon f}. \quad (10)$$

The electrical impedance can be rewritten combining Equations (9), (10) and (5) into (6), then the impedance modulus can be given by:

$$|Z| = \frac{L}{A} \sqrt{\left(\frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1 - k)^3}\right) + \left(\frac{1}{4\pi^2\varepsilon^2} \frac{1}{f^2}\right)}. \quad (11)$$

The impedance modulus can also be expressed as function of the volumetric conductive fraction, so that:

$$|Z| = \frac{L}{A} \sqrt{\left(\frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{\phi^3} \right) + \left(\frac{1}{4\pi^2 \epsilon^2} \frac{1}{f^2} \right)}. \quad (12)$$

The analyzing expressions for volumetric conductive fraction take into account the composite material, the plasma, and the red cells, so that:

$$V_s = V_c + V_i, \quad (13)$$

where V_s is the blood volume (composite material), V_c is the conductive material volume (plasma), and V_i is the insulating material volume (red cells and glucose molecules). As already mentioned, the volumetric fraction of the high conductivity phase is given by:

$$\phi = 1 - k, \quad (14)$$

where $\phi = \frac{V_c}{V_s}$ and $k = \frac{V_i}{V_s}$.

These definitions are in full agreement with EMT, since the constants reinterpretation occurs less than a linear transformation over the same parameters. However, the volumetric fractions ϕ and k are not fixed, as their values change with glucose concentration. This hypothesis is in contradiction to EMT, once the blood vessel volume should also be considered fixed in this first model approach.

If one considers the cylindrical volume occupied by the plasma, glucose molecules, and red cells, then it can be assumed that red blood cells are much larger in volume and mass than glucose molecules and other ionic components present in blood. This implies that red cells have much larger inertia than plasma and glucose molecules. Therefore, it can be assumed that changes in glucose concentration only affect the volumetric fraction of plasma, which is represented here by ϕ . Then, it can be formulated from Equation (14) that:

$$\phi - k' = 1 - k \quad (15)$$

where k' is the volumetric fraction of glucose, k is the volumetric fraction only assigned to red blood cells, and ϕ is the volumetric fraction of plasma.

Combining Equations (12) and (15), the blood impedance modulus as a function of glucose concentration can be expressed by:

$$|Z| = \frac{L}{A} \sqrt{\left(\frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1 - k + k')^3} \right) + \left(\frac{1}{4\pi^2 \epsilon^2} \frac{1}{f^2} \right)} \quad (16)$$

It is known that the electrical permittivity varies from one to another biological materials depending on the ions type and excitation frequency. This is also based on the polarization orientation caused by the application of a magnetic field to the material [32]. It is known that atoms, molecules, and defect of materials re-adjust to an equilibrium in response to an applied electric field. This re-adjustment of atoms, molecules, and defect of materials in response to an electric field is known as dielectric relaxation. The relaxation behavior depends on the lattice properties, frequency, and temperature [33]. Materials that exhibit a single relaxation time constant can be modeled by the Debye's relation [32], which is given by:

$$\epsilon(\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{(1 - j\omega\tau)} \quad (17)$$

where $\omega = \frac{1}{2\pi f}$ is the angular frequency, ϵ_∞ is the electrical permittivity at a high frequency, $\Delta\epsilon (= \epsilon_s - \epsilon_\infty)$, ϵ_s is the static permittivity at a low frequency, and τ is the characteristic relaxation-time of the sample.

As a result, the proposed impedance modulus as a function of glucose concentration can be formulated by combining Equations (16) and (17), so that:

$$|Z| = \sqrt{\left(\frac{L^2}{A^2} \frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{\phi^3}\right) + \frac{(L - j2\pi\tau Lf)^2}{f^2 [2\pi A(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon) - 4\pi^2 A\epsilon_\infty j\pi\tau f] + j^2}} \quad (18)$$

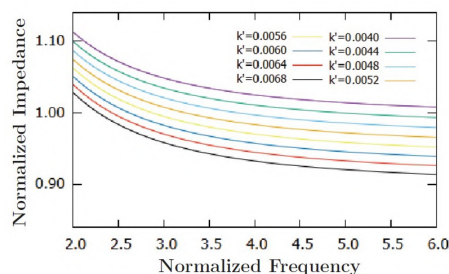
3. Results

Figure 2a shows the impedance spectrum for different glucose concentrations. Equation (18) was normalized and rewritten in terms of σ_m , σ_h , L , A , ϵ_∞ , $\Delta\epsilon$, τ , and f . The new set of dimensionless constants are: $Z = Z/Z_{norm}$; $k = k/k_{norm}$; $k' = k'/k'_{norm}$; $f = f/f_{norm}$. The constants a , b , c , d and g in Equation (19) represent a relative variation of Z in terms of blood volume, glucose concentration, and frequency, respectively. The factor Z_{norm} is obtained by means of L and A , k'_{norm} by both glucose molar and volumetric densities and f_{norm} by the blood's electrical permittivity.

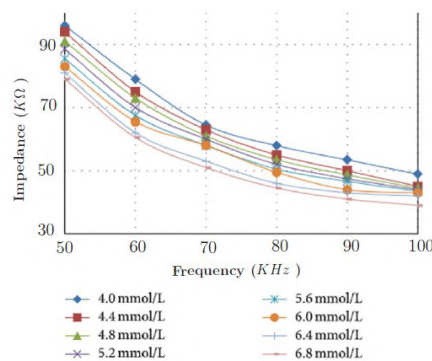
The impedance spectrum is calculated by varying the dimensionless glucose concentration factor k' from 0.0040 to 0.0068, as shown in Figure 2. The experimental data show a noticeable relation with the model proposed by Equation (18). Besides adimensionality, Equation (18) can be fitted by experimental data. Equation (18) calculations were compared to the experimental data shown in [8] by using the least square method. According to Figure 3 at [8], the impedance was measured between both left hand and foot by using two AgCl electrodes connected the impedance converter AD5933. The glucose concentration used in this comparison was 4.0 mmol/L. As a result, Equation (18) was converted into a polynomial form as a function of frequency, such as:

$$|Z| = \sqrt{b + \frac{(a + cf)^2}{f^2(g + df)^2}}, \quad (19)$$

where $a = L$, $b = \frac{L}{A} \frac{1}{\sigma_h^2} \frac{1}{(1-k+k')^3}$, $c = -2L\pi j\tau$, $d = -4\pi^2 A\epsilon_\infty j\tau$ and $g = 2\pi A(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon)$.



(a)



(b)

Figure 2. Normalized impedance spectra calculated by the proposed mathematical model (a) and the experimental data (b) presented by [8] (License CC BY 3.0 at <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0>).

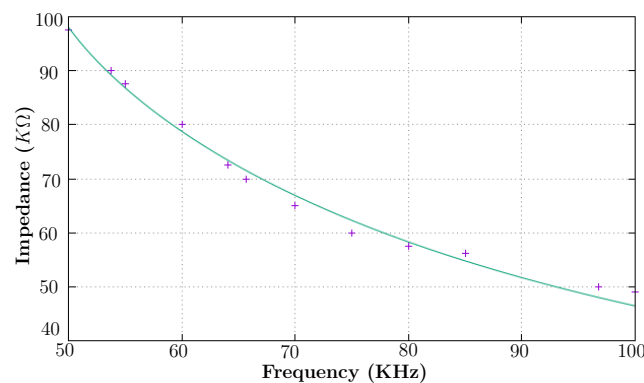


Figure 3. Frequency response of the modeled impedance data for a glucose concentration of 4.0 mmol/L from [8].

Table 1 presents the errors associated in the fitting process, which are, in turn, the norm's maximum errors at the least squares method.

Table 1. Coefficient values from Equation (19) and percentage errors with respect to data obtained from [8].

Coefficient	Value	Error %
a	-1.12600×10^0	4.0
b	$+5.07358 \times 10^{-3}$	7.0
c	$+2.60469 \times 10^{-2}$	4.0
d	-5.64804×10^{-6}	4.0
g	$+2.45902 \times 10^{-4}$	4.0

Table 2 shows the deviations between modeled and experimental data, where the estimated constants in Table 1 were replaced in Equation (19). Notwithstanding, the model presents a major error at a frequency of 70 kHz. This corresponds to the apparent anomaly in Figure 2b, which might be due to a measuring error.

Table 2. Comparison between calculated impedance from Equation (19) with the experimental one extracted from Figure 2b and their respective errors.

f (kHz)	$Z_{numerical}$ (kΩ)	$Z_{experimental}$ (kΩ)	Error %
50.0	97.9	97.5	0.5
55.0	86.8	87.5	0.8
60.0	78.7	80.0	1.6
65.6	71.6	70.0	2.2
70.0	66.9	65.0	2.9
75.0	62.3	60.0	3.8
80.0	58.3	57.5	1.4
85.0	54.8	56.2	2.6
96.0	48.0	50.0	4.0
100.0	46.4	49.0	5.2

4. Discussion

It was shown in Figure 2 that the numerical curve has a significant similarity to the experimental one, implying that the proposed model can be used for modeling in vivo impedance data in a frequency range from 50 to 70 kHz. It was observed that the impedance module decrease exponentially with increasing frequency, whereas the error between data increases as increasing frequency. It can be noted in Figure 2b that the impedance modulus converges to approximately 45 kΩ (± 5 kΩ) at 100 kHz,

whereas, in Figure 2a, there is no data overlap even at high frequency. The discrepancy at high frequency observed in Figure 2b might be explained by the cell membrane capacitance which, in turn, is responsible for the transport of ions within the cell nucleus. Therefore, this imposes a limitation on the proposed numerical model at higher frequencies. Further investigations need to be done in order to find the optimal frequency range for this glucose measurement method.

It must be emphasized that the impedance variation due to glucose concentration is much smaller than the frequency excitation itself. Therefore, further investigations regarding the influences of other blood constituents (e.g., vitamins, lipids, lactate, amino acids, metabolic wastes and electrolytes) upon impedance spectra must be carefully done. However, regarding the low blood glucose sensitivity with respect to impedance, a similar result using occlusion spectroscopy was also found by [34]. In this study, the authors carried out *in vitro* experiments in a glucose range concentration from 0 and 100 mg/dL at different hematocrit concentrations. The glucose concentration used in the study [34] is much higher than the one we used for modeling, as it can be seen in Figure 2b. The study [34] verified that the glucose variation is quite insensitive to the occlusion spectroscopy intensity, whereas it is very significant to the percentages of hematocrit and the signal wavelength. As a result, the results found here and by [34] may denote a standard behavior of the human circulatory system, even using different measuring techniques.

Results at Figure 2b showed that the impedance spectra for glucose concentrations of 6.4 and 6.8 mmol/dL are quite different in comparison to other curves. This might suggest either a measuring procedure error or parasitic interference of the instrumentation used by [8] for collecting the data. This difference was confirmed by the proposed numerical model, then not allowing a proper prediction for this type of behavior.

A maximum error of 7.0% when calculating the coefficients from Equation (19) was found, which might be explained by the methodology adopted here for extracting the data from a plot-manual and visual inspection. We believe that having access to more experimental data in a wider glucose concentration range, both standard deviation and fitting errors, might be reduced. Regarding Table 2, the maximum impedance error of 5.2% at 100 kHz can also be explained by the non-idealities of the instrumentation used to measure the published data, especially at higher frequencies. Furthermore, this error could also be caused by the not standard visual-extraction technique used in this paper.

It is known that the resistance of any part of the tissue does not exceed 500 Ω in a short distance when measured by typical AgCl electrodes [6]. Although the results calculated here ranged from 40 to 100 k Ω , the impedance magnitudes seems to be plausible over the frequency range of 50 to 100 kHz for such an electrode arrangement used by [8]. It is known that body impedance depends on the body site, the size of electrode, and the measuring technique, which, in turn, used a bipolar technique (current is applied between the two electrodes and a voltage drop is measured across them). In a bipolar technique, the total measured impedance includes both body and electrode–skin interface impedance; then, it is expected to get higher impedance in comparison to the tetrapolar technique. Furthermore, the bigger the distance between electrodes, the higher its equivalent impedance will be, even using small-area electrodes. In addition, electrode–skin interface impedance plays a great role in the impedance spectrum at lower frequencies, which might explain the fact that the work by [11] acknowledged that their results correlate better with capacitance change.

The fact that the impedance drops with increasing frequency certainly denotes a capacitive behavior, which is a typical characteristic of the dispersive medium like biological tissues. However, we proposed investigating the relative variation of impedance into respect to the concentration of glucose in blood. By deriving the Z final equation, one can observe that the impedance variation does not contain any capacitive element, especially in the frequency range used here. Although the behavior of the impedance curves seemed to correspond well to the data presented in both [8,11], care should be taken when using both different frequency range and electrode measuring technique.

It should bear in mind that our model is linked to the behavior of an impedance change related to a glycemic rate. Although the absolute value of the impedance has differences in comparison to

other studies in the area, it is worth mentioning that, in both cases, the impedance change due to glucose is similar. The robustness of our proposal is mainly due to the linearized form utilized by the equations. As a future work, using different electrode configurations and types, we are preparing to collect a couple pieces of data from impedance spectra in blood in order to improve the accuracy of the mathematical modeling. We believe that local impedance spectra obtained from a 4-electrode system will differ from the one obtained by [8,11], and it also might be more sensitive to the interstitial glucose in the local blood stream.

Data from [11] were also used for further investigations in terms of robustness and efficiency. It can be observed that the proposed analytical model can also stand when data published by [11] is used, presenting smaller errors for the coefficients and predictions compared to the results presented in Table 2, as shown in Table 3. The smaller errors may suggest that the measuring technique and body site might affect the modeled impedance. In addition, the model seems to present a good sensitivity with respect to the impedance measurement technique, since the measurement location and the type of electrodes used in both experiments in [8,11] are different. Figure 4 shows the fitting data from modeling and their respective raw data from [8,11] for a similar concentration of glucose in blood.

Table 3. Coefficient values from Equation (19) and percentage errors with respect to data obtained from [11].

Coefficient	Value	Error %
a	$-71,993.4 \times 10^0$	1.6
b	$+2.46206 \times 10^0$	3.4
c	$+5.84262 \times 10^{-2}$	1.6
d	$+5.87295 \times 10^{-2}$	1.6
g	$-72,208.6 \times 10^0$	1.6

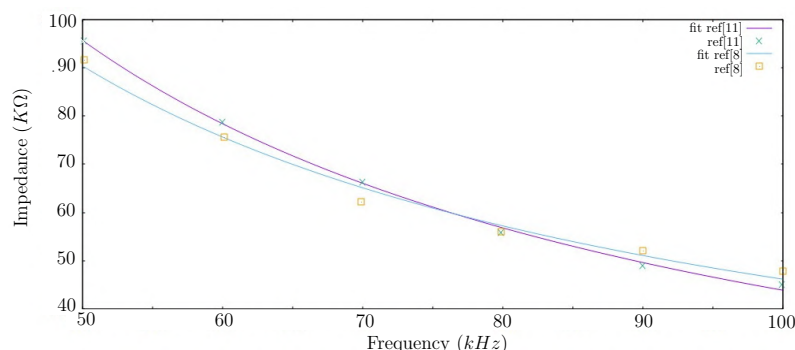


Figure 4. Modeled impedance spectra for a glucose concentration of 4.0 mmol/L from [8] and 4.1 mmol/L from [11].

Finally, the proposed analytical model may improve the performance and increase the accuracy of commercial glucometer devices. The equations presented here provided a crude understanding of the physics behind the blood conductivity, which sheds light on the dynamic behavior between the blood glucose concentration and its electrical parameters.

5. Conclusions

Regarding the mathematical relationship between blood glucose concentration and its electrical impedance, the BIA technique was presented as a suitable method for developing noninvasive glucose measuring systems into comparison to other noninvasive techniques. Moreover, the proposed mathematical modeling could confirm the validity of the hypothesis, where Bruggeman's effective medium equation was satisfactorily used for modeling the blood conductivity as a function of its glucose concentration. Although the proposed model is simple, we could qualitatively explain the behavior of blood's impedance with respect to its glucose concentration upon a short frequency range.

Author Contributions: B.G.P. has made the main contributions to the conception of the work and the creation of new analytical models used in the work. D.W.C.M. has contributed to the analysis and interpretation of data. P.B.-F. has drafted the work, substantively revised it, and agrees to be personally accountable for the first author's own contributions and for ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work, even ones in which the author was not personally involved, are appropriately investigated, resolved, and documented in the literature. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This project was funded by UDESC (State University of Santa Catarina) Grant No. 092384469-46.

Acknowledgments: We thank UDESC for the institutional support and the State Foundation for Research Support of Santa Catarina (FAPESC) for the financial support by means of main components used in this research.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

BIA	Bioimpedance Analysis
ANN	Artificial Neural Networks
EMT	Effective Medium Theory

References

1. Zhbanov, A.; Yang, S. Effects of Aggregation on Blood Sedimentation and Conductivity. *PLoS ONE* **2015**, *10*, 1–25. [CrossRef] [PubMed]
2. Federation, I.D. Families Demand Government Action to Halt the Growing Diabetes Epidemic. September 2018. Available online: <https://www.prnewswire.com/news-releases/international-diabetes-federation-families-demand-government-action-to-halt-the-growing-diabetes-epidemic-300716859.html> (accessed on 10 November 2020).
3. Batra, P.; Tomar, R.; Kapoor, R. Challenges and trends in glucose monitoring technologies. *AIP Conf. Proc.* **2016**, *1715*, 020060. [CrossRef]
4. Huang, J.; Zhang, Y.; Wu, J. Review of Non-invasive Continuous Glucose Monitoring Based on Impedance Spectroscopy. *Sens. Actuators A Phys.* **2020**, *311*, 112103. [CrossRef]
5. Geng, Z.; Tang, F.; Ding, Y.; Li, S.; Wang, X. Noninvasive continuous glucose monitoring using a multisensor-based glucometer and time series analysis. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 12650. [CrossRef]
6. Santos, S.F. Modeling Blood Glucose Levels Using Non-Invasive Bioimpedance and Infrared Measurements. Master's Thesis, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, Brazil, December 2018.
7. Pal, R. On the Electrical Conductivity of Particulate Composites. *J. Compos. Mater.* **2007**, *41*, 2499–2511. [CrossRef]
8. Kamat, D.K.; Bagul, D.; Patil, P.M. Blood Glucose Measurement Using Bioimpedance Technique. *Adv. Electron.* **2014**, *2014*, 5. [CrossRef]
9. Grimnes, S.; Ørjan, G.M. (Eds.) Chapter 1—Introduction. In *Bioimpedance and Bioelectricity Basics*, 3rd ed.; Academic Press: Oxford, UK, 2015; pp. 1–7. [CrossRef]
10. Bertemes-Filho, P.; Valichski, R.; Pereira, R.; Paterno, A. Bioelectrical impedance analysis for bovine milk: Preliminary results. *J. Phys. Conf. Ser.* **2010**, *224*, 012133. [CrossRef]
11. Pockevicius, V.; Markevicius, V.; Cepenai, M.; Andriukaitis, D.; Navikas, D. Blood glucose level estimation using interdigital electrodes. *Elektron. Elektrotech.* **2013**, *19*, 71–74. [CrossRef]
12. Abdalla, S.; Al-Ameer, S.; Al-Magaishi, S. Electrical properties with relaxation through human blood. *Biomicrofluidics* **2010**, *4*, 034101. [CrossRef]
13. Trutman, E.D.; Newbower, R.S. A practical analysis of the electrical conductivity of blood. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1983**, *BME-30*, 141–154. [CrossRef]
14. Hoetink, A.E.; Faes, T.J.C.; Visser, K.R.; Heethaar, R.M. On the flow dependency of the electrical conductivity of blood. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **2004**, *51*, 1251–1261. [CrossRef] [PubMed]
15. Hirsch, F.G.; Texter, E.; Clinton, J.; Wood, L.A.; Ballard, W.C.J.; Horan, F.E.; Wright, I.S.; Frey, C.; Starr, D. The Electrical Conductivity of Blood: I. Relationship to Erythrocyte Concentration. *Blood* **1950**, *5*, 1017–1035. Available online: <http://xxx.lanl.gov/abs/https://ashpublications.org/blood/article-pdf/5/11/1017/580068/1017.pdf> (accessed on 20 November 2020). [CrossRef]

16. Basso, M.; Vieira, J.P.; Parreira, F.J.; Silveira, S.R.; de Souza, A.S. Sistema Inteligente para Apoio ao Diagnóstico de Diabetes Empregando Redes Neurais. *An. Eati Encontro Anu. Tecnol. Informação Sem. Acadêmica Tecnol. Informação* **2014**, *4*, 56–63.
17. Paterno, A.S.; Stiz, R.A.; Bertemes-Filho, P. Phase/Magnitude Retrieval Algorithms in Electrical Bioimpedance Spectroscopy. In Proceedings of the World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, Munich, Germany, 7–12 September 2009; pp. 5–8.
18. Alves, D.M. Quantificação da glicemia através de análise de imagens da íris humana utilizando redes neurais. Master's Thesis, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, Brazil, 2007.
19. Osório, F.S. Redes Neurais Artificiais: Do aprendizado Natural ao Aprendizado Artificial. *Tutorial—I Fórum de Inteligência Artificial/Ulbra*; 1999. Available online: <http://osorio.wait4.org/oldsite/IForumIA/fia99-ppt.pdf> (accessed on 10 November 2020).
20. Kovács, Z.L. *Redes Neurais Artificiais*; Editora Livraria da Física: Sao Paulo, Brazil, 2002.
21. Stroud, D. The effective medium approximations: Some recent developments. *Superlattices Microstruct.* **1998**, *23*, 567–573. [[CrossRef](#)]
22. Michels, M. Scaling relations and the general effective-medium equation for isolator-conductor mixtures. *J. Phys. Condens. Matter* **1992**, *4*, 3961. [[CrossRef](#)]
23. McLachlan, D. Measurement and analysis of a model dual-conductivity medium using a generalised effective-medium theory. *J. Phys. C Solid State Phys.* **1988**, *21*, 1521. [[CrossRef](#)]
24. Bouknaitir, I.; Aribou, N.; Elhad Kassim, S.; El Hasnaoui, M.; Melo, B.; Achour, M.; Costa, L. Electrical properties of conducting polymer composites: Experimental and modeling approaches. *Spectrosc. Lett.* **2017**, *50*, 196–199. [[CrossRef](#)]
25. McLachlan, D.S. Analytical Functions for the dc and ac Conductivity of Conductor-Insulator Composites. *J. Electroceram.* **2000**, *5*, 93–110. doi:10.1023/A:1009954017351. [[CrossRef](#)]
26. Tsukerman, I. Classical and non-classical effective medium theories: New perspectives. *Phys. Lett. A* **2017**, *381*, 1635–1640. [[CrossRef](#)]
27. Pereira, M.G. Aplicações da teoria da percolação à modelagem e simulação de reservatórios de petróleo. In *Tese (Doutorado em Física da Matéria Condensada; Astrofísica e Cosmologia Física da Ionosfera)*; Universidade Federal do Rio Grande do Norte: Rio Grande do Norte, Brazil, 2006; Volume 4, p. 94.
28. Vargas-Bernal, R.; Herrera-Pérez, G.; Calixto-Olalde, M.; Tecpoyotl-Torres, M. Analysis of DC electrical conductivity models of carbon nanotube-polymer composites with potential application to nanometric electronic devices. *J. Electr. Comput. Eng.* **2013**, *2013*, 179538. [[CrossRef](#)]
29. Fonseca, F.C. Propriedades doo compósito supercondutor YBA2CU3O7-x-AG preparado pela técnica dos citratos. Master's Thesis, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, 1996; p. 95.
30. Reis, S.T. Caracterizacao Eletrica dos Compositos Zirconia-Niobio e Zirconia-Titanio. Available online: <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/65439> (accessed on 10 November 2020).
31. Khalil, S.F.; Mohktar, M.S.; Ibrahim, F. The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases. *Sensors* **2014**, *14*, 10895–10928. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Technologies, K. Basics of Measuring the Dielectric Properties of Materials. Available online: https://www.cmc.ca/wp-content/uploads/2019/08/Basics_Of_MeasuringDielectrics_5989-2589EN.pdf (accessed on 10 November 2020).
33. Onimisi, M.; Ikyumbur, J. Comparative analysis of dielectric constant and loss factor of pure butan-1-ol and ethanol. *Am. J. Condens. Matter Phys.* **2015**, *5*, 69–75.
34. Amir, O.; Weinstein, D.; Zilberman, S.; Less, M.; Perl-Treves, D.; Primack, H.; Weinstein, A.; Gabis, E.; Fikhte, B.; Karasik, A. Continuous noninvasive glucose monitoring technology based on “occlusion spectroscopy. *J. Diabetes Sci. Technol.* **2007**, *1*, 463–469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

PAPER • OPEN ACCESS

Glucose detection of ringer-lactate solution using electrical bioimpedance: preliminary results

To cite this article: B G Pedro and P Bertemes-Filho 2021 *J. Phys.: Conf. Ser.* **2008** 012003

View the [article online](#) for updates and enhancements.

You may also like

- [Bioimpedance-based measurement method for simultaneous acquisition of respiratory and cardiac gating signals](#)
T Koivumäki, M Vauhkonen, J T Kuikka et al.
- [Bioimpedance measurements of temporal changes in beating hearts](#)
F J Pettersen, Ø G Martinsen, J O Høgetveit et al.
- [Estimation of normal hydration in dialysis patients using whole body and calf bioimpedance analysis](#)
Fansan Zhu, Peter Kotanko, Garry J Handelman et al.



HONOLULU, HI
Oct 6–11, 2024

Abstract submission deadline:
April 12, 2024

Learn more and submit!



Joint Meeting of

The Electrochemical Society
•
The Electrochemical Society of Japan
•
Korea Electrochemical Society

Glucose detection of ringer-lactate solution using electrical bioimpedance: preliminary results

B G Pedro and P Bertemes-Filho

Dept. of Electrical Engineering, State University of Santa Catarina, Joinville-SC, Brazil.

E-mail: bruna.pedro@edu.udesc.br

Abstract. Continuous glucose monitoring is essential to reduce the damages caused by diabetes and for choosing the right treatment approach. In most cases, non-invasive glucose measurement devices generate their results through statistical tools (e.g., artificial neural networks) with an error that increases the further away from the training sample the measurement is. An analytical model would contain only propagated errors. Impedance measurements of lactate ringer's solutions with egg albumin containing different concentrations of sugar were performed to validate the model proposed for measuring glycemia in human blood using the electrical bioimpedance meter AD5933. The curve fitting showed errors lower than 1.5%. Chemical phenomena, such as reduced sugar, fructosamine and solvation, might explain the behaviors observed in the experiments. The results suggest that the relaxation coefficient has significant changes with the increase of sugar in the solutions. The findings encourage future research with bovine blood for a more realistic analytical model.

1. Introduction

At SUS (Brazilian National Health Service), the costs with hypertension, diabetes and obesity have reached *BRL* \$3.45 billion in 2018. From that costs, 30% was directed to the treatment of diabetes [1]. Diabetes Mellitus (DM) is characterized by hyperglycemia due to insulin secretion and/or insulin action defects. These defects can lead to dysfunction and failure of different organs, such as eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessels. [2].

The blood sugar control is essential to avoid diabetes but also to reduce the side effects of it. That control is a quite difficult task as each person holds its own reference. There are many methods for assessing the blood sugar level in a long-term basis, such as glycated hemoglobin, self-monitoring of capillary glycemia and continuous glucose monitoring [3].

The use of continuous glucose monitoring (CGM) has grown rapidly in the recent years as a result of improved sensor accuracy, greater convenience and the ease of use [4]. Pedro et al (2020) presented an analytical model correlating the electrical impedance spectra to the blood glucose levels variations. The mathematical model is based on Bruggeman's equations and the Theory of the Effective Environment (EMT) [5]. The EMT equations can be extended to high volume fraction by gradually adding particles of interest. EMT can be used to describe the behavior of percolation systems, unlike other approaches [6]. The application of adequate electrical percolation models in experimental and theoretical researches on composites is common in several fields of science [6][7][8].

The model proposed by [5] assumes that blood is a composite formed by non-conductive particles (hematocrit and glucose particles) immersed in a conductive matrix (plasma).



That model describes the blood glucose levels by using electrical impedance spectroscopy. Adjustments are needed for this type of model, which requires practical experiments in a phantom system simpler than human blood.

In order to validate a the mathematical model, a simple composite of ringer's lactate solution with albumin is used to calculate glucose by BIA measurements. It is expected to analyze the results by fitting the curves of the proposed model to the experimental data, and then to ascertain whether the model satisfy the objective of this work.

2. Methodology

This a similar composite to human blood for measuring its electrical impedance spectra by means of a commercial impedance meter, AD5933. It is then verified the functionality of the mathematical model developed by [5].

2.1. Composite

The composite chosen to represent a simpler system than human blood has its conductive phase represented by the ringer's lactate solution. The composition of this solution is similar to that of extracellular liquids. Among the commercial options for electrolytic solutions in Brazil, RLS would be the only solution capable of promoting the simultaneous correction of dehydration, electrolyte imbalances and metabolic acidosis [9]. Furthermore, the non-conductive phase is found to be albumin, which is the most abundant protein in both plasma and extracellular fluids (60% of the total protein concentrations in plasma [10]). It has a long half-life (between 18 and 20 days), responsible for binding and transporting substances¹, for maintaining the plasma's colloid osmotic pressure and for preserving the distribution of water in the body compartments. There are several types of albumin: Seroalbumin which is the blood serum protein, egg albumin which is the egg white albumin and lactoalbumin which is the milk albumin [11].

Recent research has shown that artificial derivatives of heme associated with human serum albumin provide a significant capacity for binding to oxygen, representing a promising line in the development of artificial blood substitutes. One of the most important studies for creating artificial blood compounds based on the mutation of the molecular micro-neighborhood of serum albumin [12]. Therefore, in order to make a blood-mimicking fluid, a mixture of egg albumin with ringer's lactate was used. This is composed of calcium chloride $2H_2O$ a 0.02%, 0.03% potassium chloride, 0.6% sodium chloride and 0.3% sodium lactate.

2.2. Impedance meter AD5933

This device is a complete solution for measuring an impedance spectra (modulus and phase) in a frequency range from 100 Hz to 500 kHz. It is used together with an impedance probe, which is immersed into the blood samples, for example. The AD5933 can be tuned into a specific frequency required for each test. Both real (R) and imaginary (I) part of the impedance at each discrete frequency is recorded, processed and transmitted via its I2C serial interface. The magnitude and phase of the impedance are calculated according to the technical notes of the AD5933 [13].

2.3. Test bench

According to [14], an electrolyte solution with proteins and large molecules when crossed by a continuous electric current generates a so called double layer capacitance. This capacitance may have a high value, although it is not a perfect capacitor because of a leakage current. High capacitance values are a big issue in impedance measurements of the analysed sample. One of the solutions is to discard the use of continuous voltage, since the alternating voltage

¹ Calcium, zinc, magnesium, copper, long-chain fatty acids, steroids, drugs, etc.

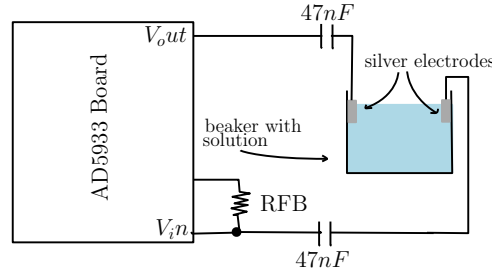


Figure 1. Schematic diagram of the experiment using the 2-electrode method from AD5933, where RFB is the feedback resistor.

shaking this fluid will prevent it from forming a layer of proteins at the electrode surface and, therefore, prevents the appearance of this double layer capacitance. Most solutions used the 4-point electrode technique for reducing the electrode-electrolyte interface impedance.

The AD5933 is designed to have a DC voltage of 2.5 V at its output, then the alternate signal has a mean value of 2.5 V. Therefore, the DC level contributes to the appearance of the double layer capacitance effect. The use of a DC blocking filter with a 0.1 Hz cutoff frequency is required at each electrode site. Here, it was used two capacitors of 470 nF between the electrodes and both input and output pins of the AD5933 (see figure 1).

The solution was put inside a beaker of 100 ml and 8 cm of diameter. The electrodes were placed 8 cm apart from each other. the electrodes are made of silver with an area of 0.4 cm² in contact with fluid.

2.4. Analytical model

Pedro et al. (2020) suggested that the electrical conductivity of blood can be modelled as a function of glucose concentration by using the EMT theory. The equation 18 in [5] represents the module of electrical impedance upon frequency and the concentration of blood glucose, which can be rewritten as:

$$|Z| = a \sqrt{1 + \frac{(f^2 + b)^2}{f^2(cf^2 + d)^2}} \quad (1)$$

where $a = \frac{L}{A\sigma_h(1-k+k')^{3/2}}$, $b = \frac{\tau^2}{4\pi^2}$, $c = \frac{2\pi(\epsilon_\infty + \Delta\epsilon)^2}{\sigma_h(1-k+k')^{3/2}}$, $d = \frac{\epsilon_\infty\tau^2}{2\pi\sigma_h(1-k+k')^{3/2}}$, k' is the volumetric fraction of glucose and k is the volumetric fraction of red blood cells.

The blood vessel is modeled as a cylindrical conductor of constant volume (L =length of the conductor, A =area of the conductor section). σ_h is the conductivity of the composite's high electrical conductivity phase, which is here represented by the ringer's lactate. Particularly at this experiment, k' is the volume fraction of sugar, f is the frequency of the electrical signal applied to measure the sample using the BIA technique, ϵ_∞ is the electrical permittivity at high frequency and τ is the characteristic relaxation time.

2.5. Measurements

Three solutions with different concentrations of albumin were used. The 5g and 10g-solution were added sugar from 0 g to 15 g in a step of 5 g. The third solution used 15 g of albumin and 5 g of sugar in order to investigate the behavior of the impedance change due to albumin variations. All mixtures were carried out on a magnetic stirrer to reach homogeneity and to prevent any decant of solids.

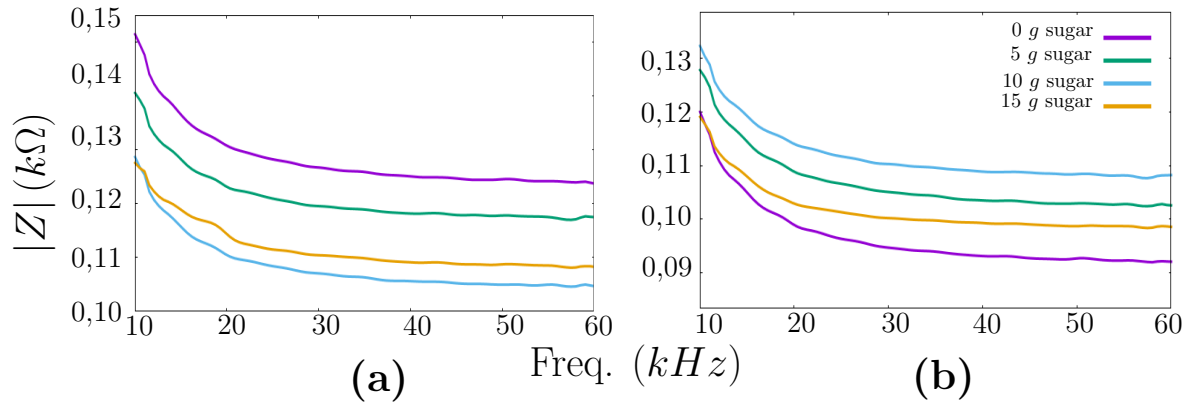


Figure 2. Impedance modulus for a 100 *ml* ringer's lactate solution with (a) 5 *g* and (b) 10 *g* of egg albumin.

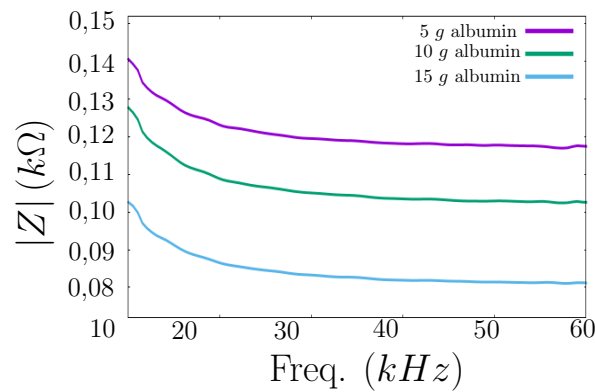


Figure 3. Impedance modulus changes as increasing albumin concentration at a sugar level of 5 *g*.

The AD5933 was calibrated with a 2.2 *kΩ* resistor before solution measurements. The AD5933 was set to generates 15 signal wave cycles for averaging purpose in a frequency ranging from 10 to 60 *kHz*.

3. Results

The impedance measurements for the ringer's lactate solutions with different concentrations of albumin are shown in figure 2. Figure 2(a) indicates the impedance modulus for a solution of 100 *ml* of ringer's lactate and 5 *g* of egg albumin. Figure 2(b) shows the impedance modulus of the 100 *ml* solution of ringer's lactate and 10 *g* of egg albumin.

The influence of albumin in the solution can also be observed in figure 3. The impedance modulus decreases as increasing the albumin concentration for 5 *g* of sugar.

Figure 4 shows the results from curve fitting by using equation 1 and concentrations of 100 *ml* of ringer's lactate with 5 *g* of albumin. The 5 *g* albumin solution was chosen for the curve fitting due to its similarity to the experimental data shown in [15] and [5]. However, the 5 *g* albumin solution with 15 *g* sugar was discarded from our analysis because the curve does not indicate a similar behavior compared to other curves. In other words, the impedance was not expected to

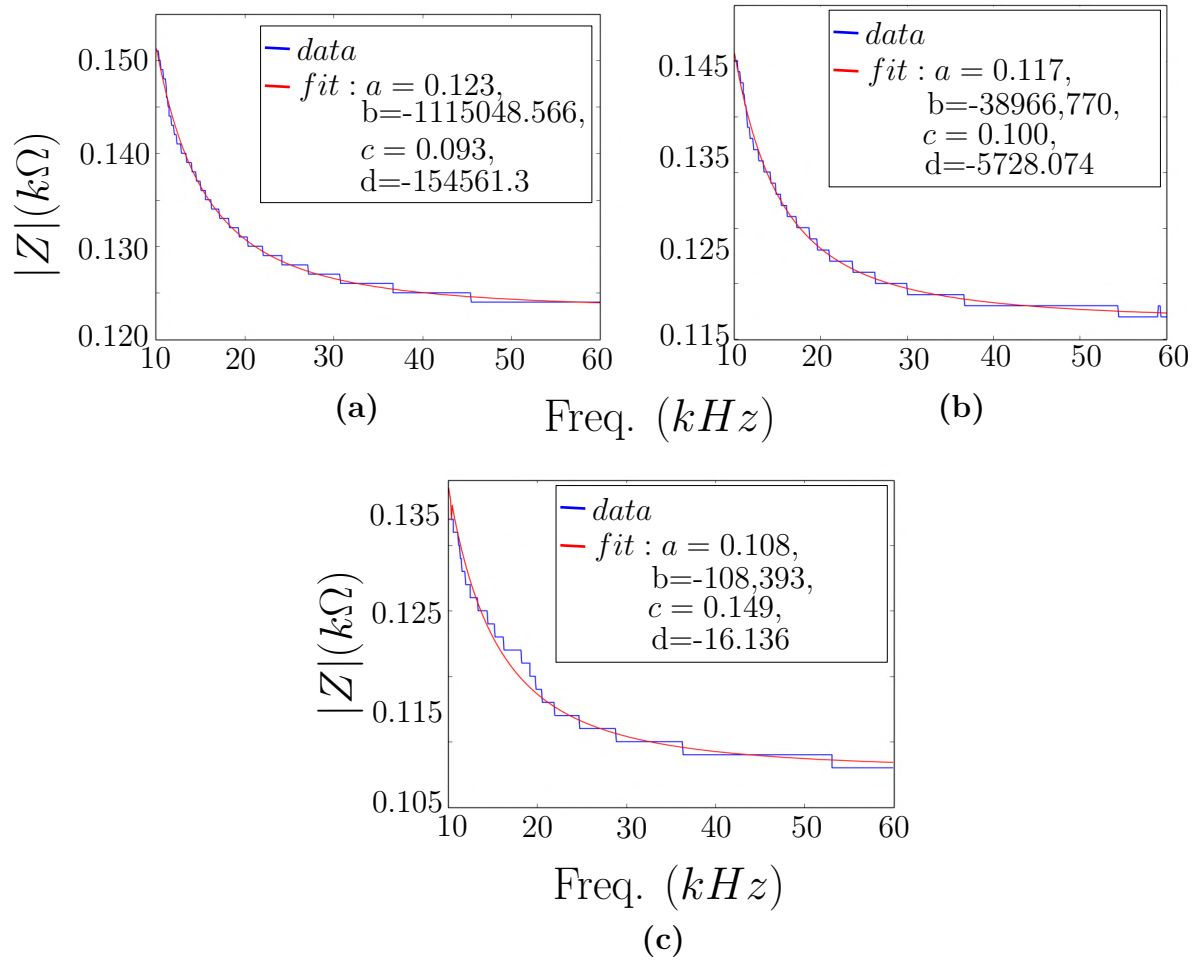


Figure 4. Curve fit for a 100 ml ringers lactate solution, 5g of albumin and (a)0 g,(b) 5 g and (c)10 g of sugar.

increase as increasing glucose, whose phenomenon is explained further in the following.

The calculated impedance values were compared to the experimental ones collected with AD5933 (see figure 2). According to the curve fitting process shown in the figure 4, a minimum error of 0.03% and a maximum of 0.64% was obtained.

The percentage errors calculated for the curve fitting in figure 4(b) have a minimum and a maximum value of 0.02% and 0.71%, respectively. Finally, the errors calculated for the curve fitting in figure 4(c) have a minimum and a maximum value of 0.02% and 1.35%, respectively.

4. Discussions

It can be observed in figure 2 that the impedance modulus decreases as increasing sugar value. This might be explained by the dependence of the electrical conductivity on the number of free ions in the solution [16]. This dependency might be related to a sugar reduction process which yields negative ions to the solution, contributing to the increase in electrical conductivity which, in turns, to the decrease of the impedance modulus.

On the other hand, according to figure 2(a), the 15g-sugar-curve does not match the predictive

curves. This might be explained by a process called fructosamine², which can cause such mismatch and also non-linearity in the results due to sugar saturation. Therefore, the amount of proteins in the solution decreases as decreasing the amount of free ions which, in turns, increases its impedance modulus

It can be observed in figure 2(b) and figure 2(a) that the 0 g sugar curve is the lowest one. The explanation might be laid in the fact that the addition of 10 g of albumin saturates the the solution, instead of adding sugar, in a process called solvation. Solvation is the phenomenon that occurs when an ionic or polar compound dissolves into a polar substance³, without forming a new substance and generating bonds between the molecules of the solute and the molecules of the solvent. Proteins are macromolecules composed of amino acids, according to [16], then most of them are polar and are immersed in an ionic solvent. This supports the existence of the solvation phenomenon during the measurements.

Therefore, the explanation for the results of figure 2(b) is that when the concentration of albumin is increased to 10 g in the solution with ringer's lactate, the fluid saturates because there are more proteins that the solvent is able to solvate. This results in an excess of proteins which triggers the fructosamine process for diluting the albumin which, in turns, increases the impedance modulus for the 5 g and 10 g sugar cases. Finally, since the fructosamine process is irreversible, when sugar is increased to 15 g the impedance decreases, acting similarly to the sugar reduction effect described in the previous case.

It was also observed that occurs an impedance drop with increasing the albumin at fixed values of sugar, as shown in figure 3(a). Solvation process is main cause of this result, as the increase of proteins contributes to increase the conductivity, then the impedance decreases.

It can be observed in figure 4 that the maximum percentage error was 1.35%, when comparing experimental and numerical data. This may indicate that the coefficients are satisfactory and that the proposed analytical model by [5] is feasible for modelling the materials analyzed in this work. Table 1 shows the coefficient values obtained for all curve adjustments.

Table 1. Comparison of the coefficient values obtained in the curve adjustments presented in the figure 4 for the equation 1.

<i>fit</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>
0g	$1,23 \times 10^{-1}$	$-1,12 \times 10^6$	$9,30 \times 10^{-2}$	$-1,55 \times 10^5$
5g	$1,17 \times 10^{-1}$	$-3,90 \times 10^4$	$1,00 \times 10^{-1}$	$-5,73 \times 10^3$
10g	$1,08 \times 10^{-1}$	$-1,08 \times 10^2$	$1,49 \times 10^{-1}$	$-1,61 \times 10^1$

It can be noted that the coefficients *a* and *c* have almost the same order of magnitude, however *b* and *d* decrease by approximately two orders of magnitude as 5 g of sugar is added into the solution. According to the definitions given by equation 1, it can be noted that *a*, *c* and *d* depends on the glucose concentration (*k'*) whereas *d* is significantly changed by the addition of sugar. However, only *b* and *d* depend on τ^2 , leading to the conclusion that the sample's characteristic relaxation time is responsible for this lag in the coefficients. As a result, it can be concluded that the addition of sugar in the solution affects the relaxation coefficient.

The relaxation phenomena also occurs in biological tissue, which has been investigated by electrical bioimpedance spectroscopy over the last 50 years. This may also be the case of

² Fructosamine is a ketoamine derived from an irreversible non-enzymatic reaction of a sugar with a protein and is the general term to describe total glycated proteins. It is derived from the non-enzymatic binding of glucose to proteins present in blood plasma, such as albumin, and is an irreversible process.

³ There is a difference in electronegativity between the atoms, presenting a positive pole and a negative pole.

non-invasive glucose measurement by the same technique, where accuracy of the measuring instrument is high and then allowing the use mathematical modeling instead of artificial neural networks (ANNs).

The order of magnitude of b and d coefficients, with respect to the sugar concentration, might be an advantage for using impedance spectroscopy technique due to its sensitivity upon frequency for small changes in glucose.

5. Conclusion

The analytical model described by [5] is able to represent the proposed experiment and, probably, other composites with similar configurations. However, it cannot be used as a phantom for human blood due to its simplicity and saturation issues. Nevertheless, the results shown in figure 2(a), excepting the case of 15 g of sugar, presented a similar behavior found by [15]. The fitting process presented better results than those found by [5].

The findings here will promote future researches with bovine blood glucose at different frequency and fluid constituents by means of electrical impedance spectroscopy.

Acknowledgment

We thank the State University of Santa Catarina (UDESC) and the State Research Foundation of Santa Catarina (FAPESC) for the institutional and financial support by means of a scholarship and laboratory components, respectively.

References

- [1] Nilson EA, Andrade RC, Brito DA, Oliveira ML. Custos atribuíveis a obesidade, hipertensão e diabetes no Sistema Único de Saúde. Revista panamericana de salud pública [Internet]. 2020 Apr [cited 2021 Mar 15]:1-7. DOI <https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.32>. Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51945>
- [2] Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes care [Internet]. 2014 Jan [cited 2021 Jul 28]:S81-S90. DOI <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>. Available from: https://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S81
- [3] Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee. Diabetes Canada 2018 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada. Can J Diabetes. 2018;42(Suppl 1):S1-S325.
- [4] Jackson T, Henrique P, Aramuni JP, Villela HF. Biotecnologia Associada ao Monitoramento e Tratamento da Diabetes. Computação e sociedade [Internet]. 2019 Sep 24 [cited 2021 Jul 28]:152-166. Available from: <http://revista.fumec.br/index.php/computacaoesociedade/article/view/7312>
- [5] Pedro BG, Marcôndes DWC, Bertemes-Filho P. Analytical Model for Blood Glucose Detection Using Electrical Impedance Spectroscopy. Sensors [Internet]. MDPI AG; 2020 Dec 4;20(23):6928. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/s20236928>.
- [6] Zhanov A, Yang S. Effects of Aggregation on Blood Sedimentation and Conductivity. PLOS ONE [Internet]. 2015 Jun [cited 2021 Jul 28]:1-25. DOI 10.1371/journal.pone.0129337. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0129337>
- [7] Silva MJ. Preparação e caracterização elétrica do compósito de Poliuretano/Negro de Fumo [Dissertação on the Internet]. [place unknown]: Faculdade de engenharia, Universidade Estadual Paulista; 2009 [cited 2021 Jul 28]. Available from: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/99870> Mestrado em Ciência dos Materiais.
- [8] Coelho PH, Morales AR. Modelos de percolação elétrica aplicados para compósitos poliméricos condutores. Polímeros: Ciência e Tecnologia [Internet]. 2017 [cited 2021 Jul 28];27:1-13. DOI 10.1590/0104-1428.2016. Available from: <https://revistapolimeros.org.br/journal/polimeros/article/doi/10.1590/0104-1428.2016.1-13>.
- [9] Cosenza M, Pereira PFV, Fernandes LI, Dearo ACO, Flaiban KKM, Lisboa JAN. Effect of lactated Ringer's solution on fluid, electrolyte and acid-base balances of healthy horses, ewes and calves. Ciência rural [Internet]. 2013 Dec [cited 2021 Jul 28];43:2247-2253. Available from: <https://periodicos.ufsm.br/cr/article/view/59078/38046>

- [10] Silva ROP, Lopes AF, Faria RMD. Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. *Revista médica de Minas Gerais* [Internet]. 2008 [cited 2021 Jul 28];18(2):1-11. Available from: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/520>
- [11] Sampaio LR, Silva MCM, Oliveira AN, Souza CLS. Avaliação bioquímica do estado nutricional [Internet]. Salvador: SciELO; 2012 [cited 2021 Jul 28]. 49-72 p. ISBN: 978-85-232-1874-4. Available from: <http://books.scielo.org/id/ddxwv/pdf/sampaio-9788523218744-05.pdf>
- [12] Teixeira KN. Estudos bioquímicos e análise de atividade enzimática em mioglobinas nativas e recombinantes de moluscos do gênero *Biomphalaria* [Tese de Doutorado on the Internet]. [place unknown]: Universidade Federal de Minas Gerais; 2010 [cited 2021 Jul 28]. 49-72 p. Available from: <http://hdl.handle.net/1843/BUOS-8UAJVT>
- [13] II Latin American Conference on Bioimpedance. IFMBE Proceedings [Internet]. [place unknown]: Springer; 2016. Analog front-end for the integrated circuit AD5933 used in electrical bioimpedance measurements; [cited 2021 Jul 28]; p. 48-51. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-981-287-928-8_13
- [14] Grimnes S, Martinsen OG. Bioimpedance and bioelectricity basics. 2nd ed; 2008.
- [15] Kamat DK, Bagul D, Patil PM. Blood glucose measurement using bioimpedance technique. *Advances in Electronics*. 2014.
- [16] Quim. Nova [Internet]. 2018. Measuring the conductivity of very dilute electrolyte solutions, drop by drop; [cited 2021 Jul 28]; p. 814-817. Available from: <https://www.scielo.br/j/qn/a/3hCRZZx6fGQbgc4wwwHdpGL/?lang=en>



A New Impedance Sensor Based on Electronically Implemented Chaotic Coupled van der Pol and Damped Duffing Oscillators

Bruna Gabriela Pedro* and Pedro Bertemes-Filho

Departamento de Engenharia Eletrica, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Guang Yao,
University of Electronic Science and
Technology of China, China

Reviewed by:

Gonzalo Marcelo Ramírez-Avila,
Universidad Mayor de San Andrés,
Bolívia
Uwe Pliquet,
Institut für Bioprozess- und
Analysentechnik (IBA), Germany

*Correspondence:

Bruna Gabriela Pedro
bruna.pedro@edu.udesc.br

Specialty section:

This article was submitted to
Bioelectronics,
a section of the journal
Frontiers in Electronics

Received: 18 October 2021

Accepted: 21 April 2022

Published: 10 May 2022

Citation:

Pedro BG and Bertemes-Filho P
(2022) A New Impedance Sensor
Based on Electronically Implemented
Chaotic Coupled van der Pol and
Damped Duffing Oscillators.
Front. Electron. 3:797525.
doi: 10.3389/felec.2022.797525

The chaotic behaviour of a system depends on the parameter values, and when the system exhibits such a chaotic behaviour, it is sensitive to the initial conditions. This feature can be used for manufacturing high sensitivity sensors. Sensors based on chaotic circuits have already been used for measuring water salinity, inductive effects, and both noise and weak signals. This article investigates an impedance sensor based on the van der Pol and Duffing damped oscillators. The calibration process is a key point and therefore the folding behaviour of signal periods was also explored. A sensitivity of 0.15 k Ω /Period was estimated over a range from 89.5 to 91.6 k Ω . This range can be adjusted according to the application by varying the gain of the operational amplifier used in this implementation. The development of this type of sensor might be used in medical and biological engineering for skin impedance measurements, for example. This type of chaotic impedance sensor has the advantage of sensing small disturbances and then rapidly detecting small impedance changes within biological materials.

Keywords: impedance sensor, chaotic oscillator, van der Pol, damped duffing circuit, impedance sensitivity

1 INTRODUCTION

Many experiments in the biological, engineering and physical sciences have shown that a fundamental implicit property of chaos is a sensitive dependence on the initial conditions. According to Arshad et al. (2020) and Teodorescu, (2017), the change in a dynamic non-linear system due to small changes in its parameters is also sensitive to the initial conditions. This might occur if the dynamic variables of the initial conditions are selected inside the instability region of the system; hence, small perturbations over the parameter values set will significantly affect the system's dynamics. Therefore, the parameter's sensitively depend on the initial conditions. Characteristic improvements in sensory systems can be achieved by exploring these attributes. Small changes in system's parameters may cause different results when the initial conditions are precisely chosen for that purpose, in contrast to linear oscillators whose changes are at the same magnitude according to the defined variation Karimov et al. (2019). For this reason, sensors based on chaotic circuits have been increasingly studied and used in the sensing area. Among some examples, this approach has been used to determine the salinity of water Teodorescu and Cojocaru, (2012), in inductive sensors Karimov et al. (2019), noise-activated non-linear sensors Gammaitoni and Bulsara, (2002), Gammaitoni and Bulsara, (2003), Korneta and Gomes, (2017), weak signal detection sensors Farxodovich, (2021), Ling et al. (2019) and impedance sensors Korneta et al. (2018). There are several ways to implement a chaotic circuit for sensing Gammaitoni and Bulsara, (2002) provided a

description of the system dynamic, which allows for the use of a measurement technique based on monitoring the permanence time of the system in its stationary states. Brown et al. (1992) presented three different case studies that explored the sensitivity dependence on the initial conditions to build a sensory device that can be implemented in hardware. One of the experiments used control manifold theory to build a sensor that used the change in the character of a fixed point from elliptical to hyperbolic as a detection mechanism. A second experiment used the escape from the basin of attraction from a fixed point as a detection mechanism. Finally, a third one used a bifurcation event to obtain a change of state in a duplication oscillator. Bifurcation theory studies and classifies phenomena characterised by sudden changes in behaviour resulting from small variations in the imposed conditions, analysing how the qualitative nature of the equation solutions depends on the system parameters Hoff (2014). In a system of equations dependent on parameters, the qualitative structure of the flow can change by varying its parameters. In order to better understand these dynamic changes, it is necessary to briefly define the period, equilibrium point and chaos within the context of nonlinear dynamics. Period in nonlinear dynamics means that the chaotic system can have sequences of values for the evolution of variables that are repeated at a regular interval, providing periodic behaviour from any point in that sequence Marcondes, (2017). In particular, equilibrium points can be created or destroyed, or have their stability altered. These qualitative changes in dynamics are called bifurcations and the parameter values in which they occur are called bifurcation points. In other words, bifurcation is a change in the topological type of the system when its parameters pass through a critical value. Bifurcations are scientifically important, as they provide models of transitions and instabilities when some parameters are varied Hoff, (2014).

There are some types of bifurcation in continuous dynamic systems, in which equilibrium points can be created or destroyed, or have their stability altered by varying one or more parameters Pedro, (2019). In continuous dynamic systems, there are two main bifurcations by which an equilibrium has its stability altered by varying one or more parameters: the saddle-node bifurcation and the Hopf bifurcation. The saddle-node bifurcation is the basic mechanism for creating and destroying equilibrium points, and is also called the fold, tangent, limit point or return point bifurcation. The Hopf bifurcation of a system implies in the generation of a limit cycle.

If Hopf bifurcation evolves by adequately varying the system parameters, it can generate a limit cycle or an attractor. In addition to the equilibrium, the most common form of behaviour is a limit cycle. A limit cycle is an isolated closed path, isolated in the sense that neighbouring paths are not closed, so they spiral towards or away from the limit cycle. Stable limit cycles are very scientifically important, as they model systems that exhibit self-sustaining oscillations. In other words, these systems oscillate even without periodic external forces.

One of the possible bifurcations of a limit cycle generated by Hopf bifurcation is the period doubling bifurcation. The original limit cycle becomes unstable as a family of duplicate period solutions emerges. In general, a series of n duplications may

arise after each $2^n T$ period limit cycle is obtained. Several systems have an infinite series of bifurcations with a finite accumulation point; the associated movement beyond that point is chaotic, characterising a route to chaos *via* a period doubling or Feigenbaum's scenario Hoff (2014).

Impedance sensors are very well-established in the industry due to their versatility and their main appeal for being non-invasive and non-contact. The first attribute is given by the adjustable penetration of the electric field in matter, while the latter is due to charge induction (capacitive coupling). Impedance sensors can either be individually classified as capacitive and inductive for single frequency applications. In the case of multifrequency systems, impedance sensors measure a spectrum in a wide frequency range. Therefore, impedance sensors can measure the change in either resistance (the real part of the impedance) or reactance (the imaginary part of the impedance) or both. It is known that resistance depends mostly on the resistivity of the material and electrode (sensor) geometry Carminati, (2017). Many biological applications use the phase angle given by $\arctan(\text{reactance/resistance})$ in order to characterise the sample under study. Therefore, this type of sensor can have great applicability within the context of biomedical engineering, since skin hydration levels are typically characterised by measurements of electrical skin impedance or thermal conductivity, or by optical spectroscopic techniques, including reflectivity. Mechanical or geometric properties can be evaluated by indirect methods, such as electrical impedance. It is among the most robust, simple and low cost technique Huang et al. (2012).

Impedance sensors based on chaotic circuits are of great interest, for example: 1) monitoring of skin hydration and temperature changes by Huang et al. (2012); 2) investigations of skin nonlinear properties by Pabst, (2018); 3) investigations related to bioelectrical impedance analysis (BIA) by Bertemes-Filho et al. (2010); 4) optimisation of bio-oscillators by Shitiri et al. (2018) and Huertas et al. (2015). The second application suffers from low sensitivity when measuring its properties. Signal sensitivity may also be related to precision and/or accuracy. Either precision or accuracy of the measured output voltage depends on many things, such as movement artifacts. These artifacts (noise) significantly change the skin impedance which, in turns, cannot not be separated from the total measured impedance. It is known from Sinclair, (2000) that skin has a memristive characteristic, where the skin delivered charge depends on the applied voltage used to characterize it. Therefore, a low output voltage may imply a low resistance change; standard impedance sensors may have difficulties in measuring these changes. In the case of chaotic sensor, coupled analogue or digital filters can be used to analyse the signal as a function of time by using the theory of non-linear dynamic systems in order to remove external noise.

Chaotic sensors are cheap and easy to implement. In addition, They can be implemented to have a high sensitivity to the sample's resistivity change and analysed by a simpler bifurcation diagram in comparison to the one presented in Brown et al. (1992). Therefore, based on the sensitivity offered by chaotic circuits, this article proposes an active impedance sensor based on the chaotic van

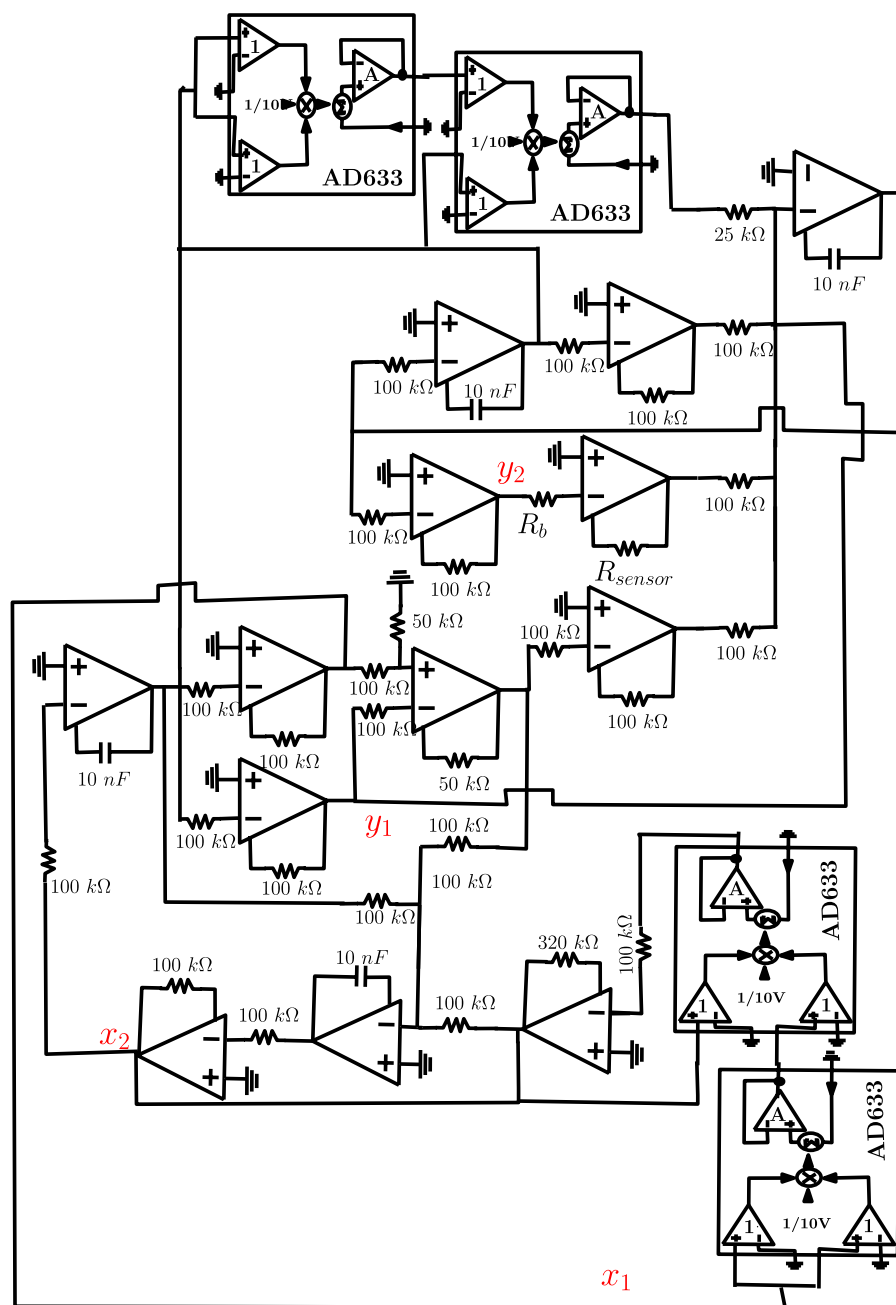


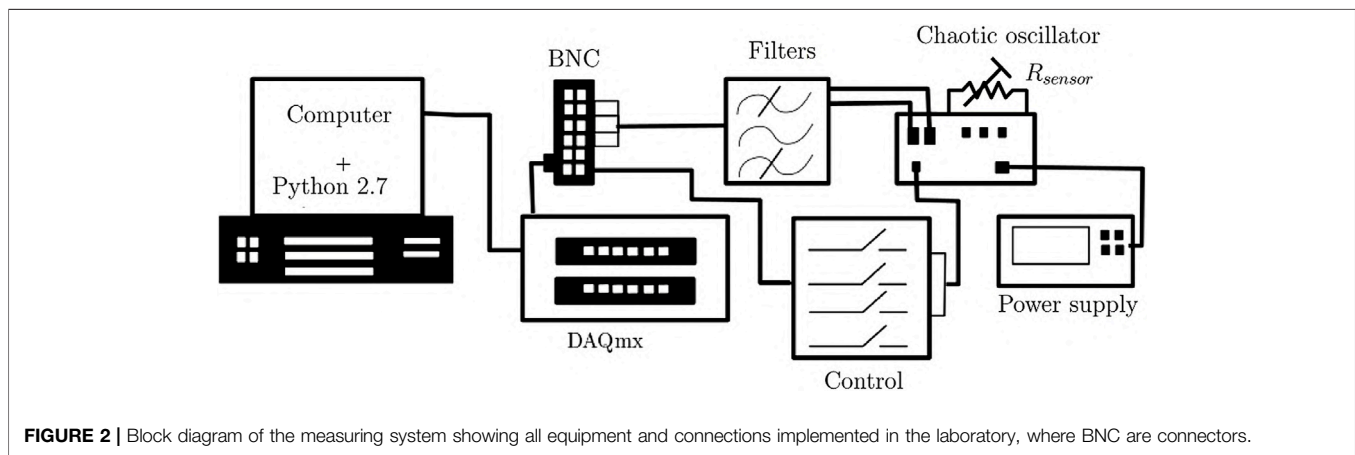
FIGURE 1 | Schematic integrated circuit of the van der Pol and Duffing damped oscillators coupled system, where A, B and C represent the transfer equations.

der Pol and damped Duffing coupled circuits with different attractors. The transition from periodic to other regular dynamics is found through chaotic dynamics in a weak coupling, resulting in windows of regularity immersed in chaos in the parameter space. The chaotic region is also shown for the position of periodic window islands, some of which exhibit period doubling phenomena. The latter case, in turn, can be analyzed using an experimentally obtained bifurcation diagram which will provide a relationship between the resistance representing one of the system parameters and the periodic attractor described by Pedro (2019).

2 MATERIALS AND METHODS

In order to better understand the electrical implementation of the sensor proposed here, some basic equations are presented in the following for justifying the electrical circuit simulated in this article. The dynamics of the system that linearly couples the van der Pol and damped Duffing oscillators is given by:

$$\ddot{x} - \mu(1 - x^2)\dot{x} + x - k(y - x) = 0 \quad (1)$$



$$\ddot{y} + \alpha \dot{y} - y + y^3 - k(x - y) = 0 \quad (2)$$

where μ is a positive parameter that controls one of the model's nonlinear behaviours, α corresponds to the dissipation term and k is the coupling constant.

For $k = 0$, both oscillators are decoupled. The van der Pol exhibits a limit cycle while the Duffing circuit presents a damped oscillatory movement. Certainly, coupling can be seen as the disturbance which proportionally arises from the difference in their positions.

Considering that $x = x_1$, $y = y_1$, $\dot{x} = x_2$ and $\dot{y} = y_2$, then the system can be rewritten as:

$$\dot{x}_1 = x_2 \quad (3)$$

$$\dot{x}_2 = \mu(1 - x_1^2)x_2 - x_1 + k(y_1 - x_1) \quad (4)$$

$$\dot{y}_1 = y_2 \quad (5)$$

$$\dot{y}_2 = -\alpha y_2 + y_1 - y_1^3 + k(x_1 - y_1) \quad (6)$$

Thereby, an integrating circuit can be built following the schematic shown in **Figure 1**, where τ is the time of integration ($R_b = 100 \text{ k}\Omega$ and $C_b = 10 \text{ nF}$). The circuit was built with the k coupling constant = 0.5, $\mu = 0.8$ and $\alpha = \frac{R_{\text{sensor}}}{R_b}$. TL074 operational amplifiers were implemented together with AD633 analogue multipliers.

Figure 2 shows the block diagram of the measuring system. A *National Instruments* data acquisition board read the voltages at a maximum rate of 180 kS/s^1 and also wrote parameters at a maximum rate of 100 kS/s . The board contains eight analogue inputs, two outputs for parameter control and 20 digital I/O ports. The control of the initial conditions was done by relays connected to each capacitor of the operational amplifier. Analog outputs were in the range of -10 to 10 V at a resolution of 16 bits, as well as the analog inputs. Measured voltages are filtered and then controlled by an algorithm programmed the *Python* language¹.

Both integrated circuits (TL074 and AD633) have a flat frequency response within the working bandwidth of the proposed sensor. Therefore, the voltage amplitude must be less than $\sqrt[3]{10}$ and y_1^3 should be kept below 10 V , assuring good linearity working room for

the multiplier AD633. R_{sensor} is recommended to range from $100 \text{ k}\Omega$ to $10 \text{ M}\Omega$ (see **Figure 2**), resulting in a voltage gain from 0.1 to 1.0 ($= \frac{R_{\text{sensor}}}{R_b}$). The SNR was adjusted so that all voltages in the circuit were kept between 0.001 and 3 V , preventing any instability and nonlinearity response of the Opamps. Both voltage pairs X1/X2 and Y1/Y2 were measured by an oscilloscope (BK Precision, model 2,534) in order to monitor the respective Lissajous curves. It was observed that the measured Lissajous curves had the same behaviour compared to the numerical results.

A $100 \text{ k}\Omega (\pm 10 \Omega)$ potentiometer was used to characterise the α parameter (see **Eq. 6**). 100 points were collected within the chosen resistance range. These points were linearly spaced and collected manually; that is, for each increment in the resistance value. A code algorithm in the *Python* language was implemented for updating the voltage value of y_2 (see **Figure 1**).

3 RESULTS

An experimental bifurcation diagram was obtained from the coupled van der Pol and Duffing damped oscillators integrated circuit, as shown in **Figure 3**.

Based on the numerical data and the technique presented by Woaf et al. (1996), the resistance range was chosen to be between 80 and 100Ω . This range comprises the chaotic region where the phenomenon called period doubling happens, which is a point in the bifurcation diagram in which the phase space starts to present a period orbit duplicate to the previous one.

Table 1 shows four points extracted at the region nearby the period doubling, as shown in the bifurcation diagram of **Figure 3**.

A fitting curve was done to best represent the data shown in **Table 1**, which used a Taylor series model nearby the fixed points. It should be emphasised that there are many types of bifurcation, each one may have a specific equation according to Onias, (2012). In this work, it was used the model proposed by Tresser et al. (2014), was used, in which an exponential function was used for the fitting process, such as:

$$P(R) = a \cdot e^{(-b \cdot R + c)} \quad (7)$$

where P represents the system period, R is the sensor resistance and a , b and c are the coefficients of the fitting equation.

¹S/s = samples per second.

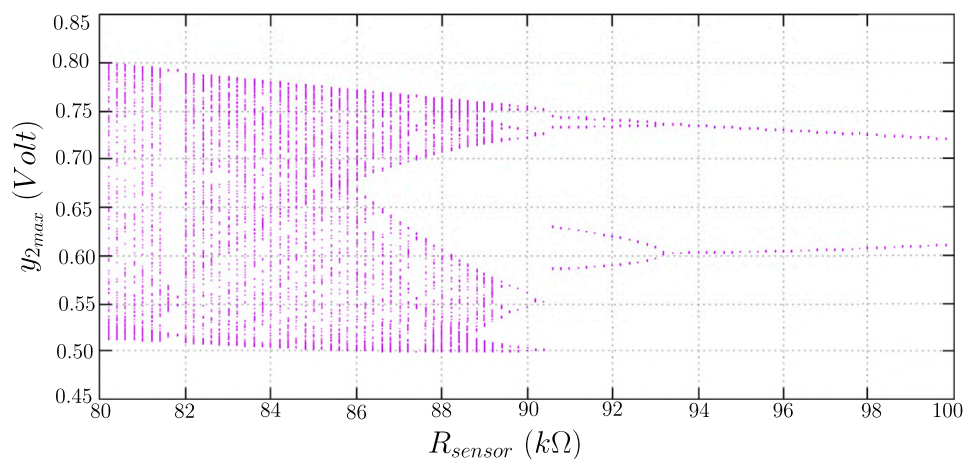


FIGURE 3 | Experimental bifurcation diagram of the coupled van der Pol and damped Duffing circuit.

TABLE 1 | Nearby-period-doubling points from **Figure 3** showing their respective periods.

Resistance (kΩ)	Period
91.66	2.0
90.90	4.0
90.20	8.0
89.50	16.0

The correlation between the points and their respective periods was done by *via* visual inspection, either using the measured voltage by the DAQ or by the oscilloscope through the Lissajous curve. The results are shown in **Figure 4**; resistance can be written as a function of period P , so that:

$$R(P) = 92.10 - \ln\left(\frac{P}{1.237}\right) \quad (8)$$

The resistance given by **Eq. 8** has a confidence range from 89.87 to 90.13 kΩ with a fitting correlation coefficient of -0.96 kΩ.

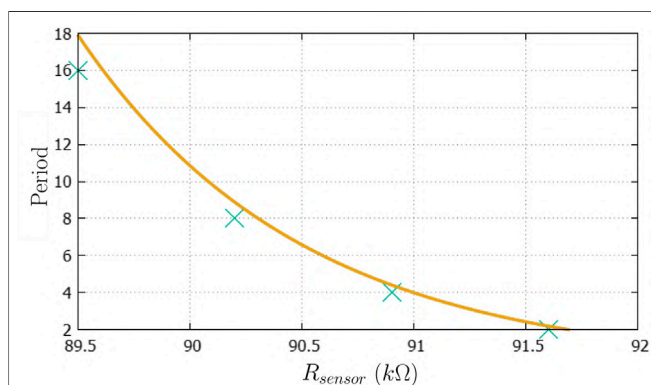


FIGURE 4 | Curve adjustment of **Eq. 7** to the experimental data shown in **Table 1**.

Therefore, the sensor sensitivity can be calculated based on its resistance curve. Generically, sensitivity is defined as a variation of the output signal for a given variation of the physical input parameter. According to work done by *Limited, (2021)*, the sensitivity S of a transducer can be calculated as:

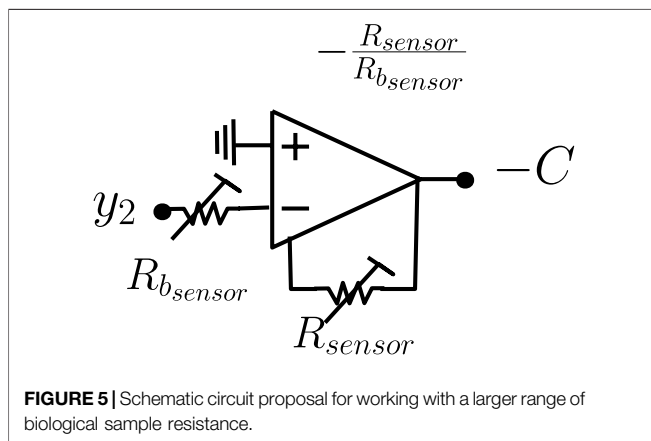
$$S = \frac{RFS}{PFS} \quad (9)$$

where RFS is the full-scale resistance and PFS is the measured full-scale period, resulting in a sensitivity of 150 Ω/Period, according to the data shown in **Table 1**.

4 DISCUSSIONS

Even with various ways for implementing chaotic circuits for sensing mentioned in *Gammaitoni and Bulsara, (2002)* and *Brown et al. (1992)*, none of these are focused on impedance sensing for bioimpedance applications. The development of this type of sensor could be applied both to beauty therapy areas, where there is a need to measure the levels of moisture and oiliness *Fábrica do Micropigmentador (2021)*, as well as to the biomedical field *Ferreira, (2006)*, with importance in investigating thermoregulation, haemodynamic control and metabolite excretion processes. In addition, the presence of elements from the peripheral nervous system in the dermis layer of the skin means it should be considered an organ for capturing sensory information (heat, cold, pressure, pain and touch) of key importance in research.

A methodology for measuring impedance is electrical impedance spectroscopy (EIS). Most EIS designers prototype systems for larger bandwidth, lower cost, power excitation control and best portability and usability for users. These systems work with voltage controlled current source VCCS circuits, which have a very high output impedance into compared to the unknown load. This special characteristic gives a sufficient stability in the transfer function over a large frequency range, but it depends on the size of the unknown load



and on the characteristics of the Opamps used in the implementation. Hence, chaotic sensing circuits might overcome this required specification.

An EIS-based VCCS system consists of applying a sinusoidal current of multiple frequencies and constant amplitude to the tissue sample, measuring the resulting potential and then calculating the transfer impedance, as shown by Bertemes-Filho et al. (2012). In terms of measuring biological impedance, three advantages of this proposed sensor can be identified, such as: 1) there is no need of any type of source for exciting the sample under study; 2) it can be used either for sensing grounded or floating loads without the presence of fluctuation due to common voltage; 3) larger working frequency bandwidth in comparison to the standard EIS.

Over the last 20 years, biosensors have been used in wearable applications for measuring electrochemical properties in the human body, such as bioimpedance. There are still technical limitations to be overcome when developing electrochemical impedance spectroscopy measuring systems, including low sensitivity, the impossibility of using non-disposable electrodes (sensors) and of measuring small molecules in a tiny biological sample. Therefore, we believe that the proposed chaotic impedance sensor will overcome these disadvantages over biosensors, with high sensitivity, reusability as an impedance sensor, frequency independence and tunability according to the sample under study.

Although the implemented resistance was on the order of $k\Omega$, other values can be easily investigated. This can be done by exchanging the R_b resistance of the chaotic oscillator (see Figure 1) by a potentiometer ($R_{b,sensor}$), as shown in Figure 5. This can provide a method for measuring the impedance range most used for this type of application. However, it is required to keep the $R_{s,sensor}/R_{b,sensor}$ ratio in the range of 0.1–1.0.

We have investigated here a new impedance sensor to indirectly measure a sample's impedance, whether biological or not, by means of a known mathematical relationship. The main advantage of this implementation is the absence of either a voltage or current source in the measuring system. It can be observed in Figure 1 that the circuits of the oscillator are only powered by a continuous-current supplier, but generating an alternate-current voltage with a period that varies with the impedance of the samples in contact to the proposed sensor. It can be observed in Figure 3 that small variations in the sample's

impedance dramatically changes the dynamic response of the chaotic oscillation system. It should also be pointed out that different regions of the parameter space have different types of bifurcations, allowing sensor sensitivity to be adjusted according to the application under study. It must be emphasized that only one application was investigated among many other phenomena in dynamic systems.

Further investigations are required; for example, the stochastic resonance phenomena for sensor optimisation, as described by Barreto, (2015). This is due to the fact that the coupling of van der Pol and damped Duffing oscillators could act as a noise signal, which is simultaneously feed back to the measuring system. Therefore, the hypothesis that the coupling constant can improve the sensor's ability to identify signals through the stochastic resonance phenomenon might be plausible.

Regarding chaotic sensors for commercial applications, care should be taken, and more investigations carried out. An alternative is to use a discrete peak detector circuit and a counter for detecting the number of peaks of y_2 . This should be carefully studied, since coupling chaotic circuits working with auxiliary circuits may add several difficulties due to noise. However, the visual inspection of folding periods in the bifurcation diagram given by the routines in *Python* might be considered a feasible solution to characterize the impedance change of a sample under study.

Finally, it should be expected that the system dynamics from a certain finite amount of doubling period will lead to chaos. We believe that the behaviour presented by the bifurcation diagram shown in Figure 3 is such a case. It can be noticed that there is no visual way to count the doubling periods after the fourth step, unless a magnification is done to possibly find further steps until chaos is reached. Future works will use the TISEAN routine in order to read longer periods that occur on a smaller parameter variation. TISEAN is a software package for analysing time series with methods based on nonlinear dynamic systems according to Hegger et al. (1999) and Kantz and Schreiber, (2004). There are open-source electronic prototyping platforms (e.g., Arduino) capable of performing automated data processing routines which might be useful for this application.

It should be emphasised that the presented model was not intended to implement a practical device, but to propose the modelling of an impedance sensor based on the van der Pol and Duffing damped oscillators. Although the sensor sensitivity ($=150 \Omega/\text{Period}$) may be low for practical applications, bioimpedance solutions are more complex and expensive which, in turn, use signal generators, current sources and voltage meters to calculate impedance by means of electrodes placed on the skin surface.

5 CONCLUSION

This work brought a proposal for an impedance sensor based on the coupling of the van der Pol and damped Duffing circuits. It was observed that small variations might be identified using chaotic oscillators. Most disturbances have magnitudes as great as the signal variation desired to be measured, then a chaotic sensor may be able to sense only the signal variation disregarding

the disturbance (e.g., noise). The findings from this work might be used in the development of a portable, real time, low-power consumption and low-cost device for detecting very small impedance changes in real life applications. It must be emphasised that practical tests with different types of samples, including biological ones, must be done before exploiting the applicability and usability of the proposed sensor.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Material, further inquiries can be directed to the corresponding author.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

BGP made the main contributions to the conception of the work and the creation of new analytical models used in the work. PB-F

drafted the work, substantively revised it and agrees to be personally accountable for the first author's own contributions and for ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work, even ones in which the author was not personally involved, are appropriately investigated, resolved, and documented in the literature.

FUNDING

This project was funded by UDESC (State University of Santa Catarina) grant number 092384469-46.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the State University of Santa Catarina (UDESC) for the institutional support and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the financial support by means of PROAP-AUXPE.

REFERENCES

- Arshad, A. A. E. A. S. S. A., Shaukat, S., and Ahmad, J. (2020). Chaos Theory and its Application: An Essential Framework for Image Encryption. *Chaos Theory Appl.* 2 (1), 17–22.
- Barreto, M. A. (2015). Aplicação de ressonância estocástica em medidas eletrofisiológicas. Available at: http://www.cc.faccamp.br/Dissertacoes/Marco_2015.pdf
- Bertemes-Filho, P., Negri, L. H., Felipe, A., and Vincence, V. C. (2012). Mirrored Modified Howland Circuit for Bioimpedance Applications: Analytical Analysis. *J. Phys. Conf. Ser.* 407, 012030. doi:10.1088/1742-6596/407/1/012030
- Bertemes-Filho, P., Valichski, R., Pereira, R. M., and Paterno, A. S. (2010). Bioelectrical Impedance Analysis for Bovine Milk: Preliminary Results. *J. Phys. Conf. Ser.* 224, 012133. doi:10.1088/1742-6596/224/1/012133
- Brown, R., Chua, L., and Popp, B. (1992). Is Sensitive Dependence on Initial Conditions Nature's Sensory Device? *Int. J. Bifurc. Chaos* 02, 193–199. doi:10.1142/s0218127492000185
- Carminati, M. (2017). Advances in High-Resolution Microscale Impedance Sensors. *J. Sensors*. doi:10.1155/2017/7638389
- [Dataset] Fábrica do Micropigmentador (2021). Analisador de pele digital bio impedância oleosidade umidade. Available at: <https://www.fabricadomicropigmentador.com.br/produtos/analizador-de-pele-digital-bio-impedancia-oleosidade-umidade/> (Accessed Oct 16, 2021).
- Farxodovich, I. J. (2021). Using a Chaotic Generator as a Detector of Weak Periodic Signals. *Archive Conf.* 13, 93–97.
- Ferreira, D. M. (2006). *Impedância Elétrica na Determinação de alterações da Pele Provocadas por Substâncias Irritantes*. Ph.D. thesis, UFRJ. Available at: http://www.peb.ufrj.br/teses/Tese0040_2006_08_25.pdf (Accessed Oct 16, 2021).
- Gammaitoni, L., and Bulsara, A. R. (2002). Noise Activated Nonlinear Dynamic Sensors. *Phys. Rev. Lett.* 88, 230601. doi:10.1103/PhysRevLett.88.230601
- Gammaitoni, L., and Bulsara, A. R. (2003). Nonlinear Sensors Activated by Noise. *Phys. A Stat. Mech. its Appl.* 325, 152–164. doi:10.1016/s0378-4371(03)00194-8
- Hegger, R., Kantz, H., and Schreiber, T. (1999). Practical Implementation of Nonlinear Time Series Methods: The Tisean Package. *Chaos* 9, 413–435. doi:10.1063/1.166424
- [Dataset] Hoff, A. (2014). Estruturas de bifurcação em sistemas dinâmicos quadridimensionais. Available at: https://www.udesc.br/arquivos/cct/id_cpmenu/877/dissertacao_david_15162081954893_877.pdf.
- Huang, X., Yeo, W.-H., Liu, Y., and Rogers, J. A. (2012). Epidermal Differential Impedance Sensor for Conformal Skin Hydration Monitoring. *Biointerphases* 7, 52. doi:10.1007/s13758-012-0052-8
- Huertas, G., Maldonado, A., Yúfera, A., Rueda, A., and Huertas, J. L. (2015). The Bio-Oscillator: A Circuit for Cell-Culture Assays. *IEEE Trans. Circuits Syst. II* 62, 164–168. doi:10.1109/tcsii.2014.2386233
- Kantz, H., and Schreiber, T. (2004). *Nonlinear Time Series Analysis*, 7. Cambridge University Press.
- Karimov, T., Nepomuceno, E. G., Druzhina, O., Karimov, A., and Butusov, D. (2019). Chaotic Oscillators as Inductive Sensors: Theory and Practice. *Sensors* 19, 4314. doi:10.3390/s19194314
- Korneta, W., and Gomes, I. (2017). Noise Activated Bistable Sensor Based on Chaotic System with Output Defined by Temporal Coding and Firing Rate. *Chaos* 27, 111103. doi:10.1063/1.5006564
- Korneta, W., Iacyle, G., Rodrigo, P., and Zabovsky, M. (2018). "Nonlinear Sensor Driven by Chaotic Dynamics," in ANNA'18: Advances in Neural Networks and Applications 2018 (VDE), 1–4.
- [Dataset] Limited, G. I. (2021). Calculating Sensitivity and Full Scale Output. Available at: <http://www.gdsinstrumentspp.com/SUPPORT%20SITE/Product%20Helpsheets/125%20-%20Hardware%20-%20Transducers%20-%20Calculating%20sensitivity%20and%20full%20scale%20output.pdf> (Accessed Nov 29, 2021).
- Ling, Y.-f., Chen, C.-x., Niu, D.-z., and Chen, T. (2019). Weak Signal Detection Using Double-Well Duffing-van der Pol Oscillator and Formulation of Detection Statistics. *J. Phys. Soc. Jpn.* 88, 044001. doi:10.7566/jpsj.88.044001
- [Dataset] Marcondes, D. C. (2017). Controle de parâmetros via tensão contínua: uma aplicação em dinâmica não-linear. Available at: https://www.udesc.br/arquivos/cct/id_cpmenu/877/dissertacao_david_15162081954893_877.pdf.
- [Dataset] Onias, H. H. S. (2012). Bifurcações Dinâmicas Em Circuitos Eletrônicos. Available at: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/11087>.
- Pabst, O. (2018). Rectifying Memristor Bridge Circuit Realized with Human Skin. *J. Electr. Bioimpedance* 9, 184–192. doi:10.2478/joeb-2018-0023
- [Dataset] Pedro, B. G. (2019). Acoplamento dos osciladores van der pol e duffing amortecido: Uma abordagem experimental. Available at: https://www.udesc.br/arquivos/cct/id_cpmenu/877/Disserta_o_Bruna_15705659818779_877.pdf.
- Shitiri, E., Vasilakos, A., and Cho, H.-S. (2018). Biological Oscillators in Nanonetworks-Opportunities and Challenges. *Sensors* 18, 1544. doi:10.3390/s18051544
- Sinclair, I. (2000). *Sensors and Transducers*. Elsevier.
- Teodorescu, H.-N. L., and Cojocaru, V. P. (2012). "Biomimetic Chaotic Sensors for Water Salinity Measurements and Conductive Titrimetry," in 2012 Third International Conference on Emerging Security Technologies (IEEE), 182–185. doi:10.1109/est.2012.42

- Teodorescu, H.-N. L. (2017). "Sensors Based on Nonlinear Dynamic Systems—A Survey," in 2017 International Conference on Applied Electronics (AE) (IEEE), 1–10.
- Tresser, C., Couillet, P., and Faria, E. (2014). Period Doubling. *Scholarpedia* 9, 3958. doi:10.4249/scholarpedia.3958
- Woafo, P., Chedjou, J. C., and Fotsin, H. B. (1996). Dynamics of a System Consisting of a van der pol Oscillator Coupled to a Duffing Oscillator. *Phys. Rev. E* 54, 5929–5934. doi:10.1103/physreve.54.5929

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations or those of the publisher, the editors, and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Pedro and Bertemes-Filho. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Blood Glucose Detection Using 3-LEDs: Analytical Model

Detecção de glicose no sangue usando 3 LEDs: modelo analítico

Bruna G. Pedro¹, Pedro Bertemes Filho²¹Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, Brazil.²Depart. Eng. Elétrica, Universidade do Estado de Santa Catarina, Joinville, Brazil.

Abstract

Calibration of non-invasive blood glucose measuring devices have an important role in the routine of people with diabetes. Continuous monitoring is one of the most efficient manner to control the disease. Besides the errors associated with the user, the calibration of such devices is the key point for obtaining reliable data. Researchers have failed to correlate the 2 near-infrared-light wavelength response from skin with the blood glucose level and then use it for diagnosing both upper and lower glycaemia status. The aim of this article is to purpose a mathematical model for calculating the blood glucose level using 3-LEDs with different wavelengths. It is presented and demonstrated all equations involved by using the theory of absorption of light by photoplethysmography. The final proposed equation can be calculated without using prior data obtained from patient. It can be concluded that it is possible to reduce the necessity of using calibration processes before acquiring data by a non-invasive device.

Keywords: Blood Glucose; Photoplethysmography; NIR; 3-LED Modeling.

Resumo

A calibração de dispositivos não invasivos de medição de glicose no sangue tem um papel importante na rotina das pessoas com diabetes. O monitoramento contínuo é uma das formas mais eficientes de controle da doença. Além dos erros associados ao usuário, a calibração de tais dispositivos é o ponto chave para a obtenção de dados confiáveis. Os pesquisadores não conseguiram correlacionar a resposta de 2 comprimento de onda de luz infravermelha próximas da pele com o nível de glicose no sangue e, em seguida, usá-lo para diagnosticar o estado de glicemia superior e inferior. O objetivo deste artigo é propor um modelo matemático para o cálculo do nível de glicose no sangue usando 3-LEDs com diferentes comprimentos de onda. São apresentadas e demonstradas todas as equações envolvidas com o uso da teoria de absorção de luz por fotopletiografia. A equação final proposta pode ser calculada sem o uso de dados anteriores obtidos do paciente. Pode-se concluir que é possível reduzir a necessidade de utilização de processos de calibração antes da aquisição de dados por um dispositivo não invasivo.

Palavras-chave: Glicose no sangue; Fotopletiografia; NIR; Modelagem de 3 LEDs.

1. Introduction

Calibration of non-invasive glucose measuring devices can be done in two ways. One is through analytical calibration, which consists of a set of operations that establishes, under specified conditions, the relationship between the values indicated by a measuring instrument and the corresponding values of the quantities established by standards. For non-invasive glucose measurement devices, there are numerous sources of error that can affect the measurement, which need to be eliminated or compensated by a calibration method. However, not all sources of errors can be incorporated in the calibration, such as positioning of the detector, effect of temperature and cardiac pulse, movement, mechanical pressure of the test device, hydration status, sweat, blood volume and alteration of the hematocrit (1).

Several tissue simulators have been proposed as calibration systems. Some are suspensions of lipids or polystyrene particles in solutions with different concentrations of glucose. Others propose a phantom solution containing fat and glucose used to mimic the absorption of glucose into the tissue over a wave range of 2000nm to 2500nm (2). The development of tissue simulators as analytical standards for the determination of non-invasive glucose measurement in tissue is still a barrier to be overcome and that

would bring great benefit to the development of the non-invasive methodology. therefore, a non-invasive device that is analytically calibrated can be considered universally calibrated, that is, it can be used with any patient.

Another way of calibrating non-invasive devices is through clinical calibrations, they are performed with the individual fasting at intervals of time during a meal tolerance test or in a glucose fixation procedure. These methods provide a concentration range in which the glucose signal can be monitored. Data from an OGTT (Oral Glucose Tolerance Test) can be used to establish a non-invasive glucose measurement device response as the subject's glucose concentration is changing. This type of calibration results in the incorporation of physiological effects unrelated to glucose and leads to a calibration correlation that is unique to the tested individual. This calibration curve may need to be updated periodically through an invasive test.

The idea of proposing a pulse glucometer based on the infrared spectroscopy technique has already been validated in (3), using the same principles of pulse oximeters. However, this work, like so many others, uses curve adjustments to calibrate the device.

Due to the problematic picture presented by the calibration of non-invasive glucose measurement devices that use near infrared spectroscopy

techniques, this article suggests a pulse glucometer that uses three LEDs through a mathematical modeling based on the Lambert-Beer law and also in the optical technique of plethysmography to detect changes in volumes in the microvascular bed of the tissue. This should discard the need for calibration if the requirements of the physical and mathematical approximations that are presented below are met.

2. Methodology

The processes of interaction between the radiation field and a medium are known as extinction and emission. When the light interacts with the sample, the electromagnetic wave can also be scattered. In spreading, unlike the absorption process, there is no removal of energy from the radiation field, but its redirection. Both in the absorption process and in the scattering process, the luminous intensity decays after it passes through the medium. This decay is called light extinction. Therefore the extinction coefficient α is defined as a combination of the absorption coefficients α_{abs} and scattering α_{esp} of all the particles in the medium when light passes through it (4), mathematically:

$$\alpha = \alpha_{abs} + \alpha_{esp} \quad (1)$$

Light absorption, according to the Lambert-Beer law (1,3,4) can be expressed as

$$I = I_0 e^{-\alpha l} \quad (2)$$

where l is the effective length of the path in the middle and α is the extinction coefficient.

The blood extinction coefficient can be written as a combination of the glucose extinction coefficient plus the extinction coefficient of the rest of the fluid,

$$\alpha = \alpha_g C_g + \alpha_f C_f \quad (3)$$

Where

$$C_g + C_f = 1 \quad (4)$$

where α_g and α_f are the glucose and fluid extinction coefficients, respectively, and C_g and C_f are the coefficients that represent their concentration in the blood composition. Therefore, equation 3 can be rewritten as

$$\alpha = \alpha_g C_g + \alpha_f (1 - C_g) \quad (5)$$

$$\alpha = C_g (\alpha_g - \alpha_f) + \alpha_f \quad (6)$$

Equation 2 can be written as follows

$$\ln \ln \left(\frac{I_0}{I} \right) = \alpha l \quad (7)$$

For small variations in light intensity $I_0 - I \ll I$, then

$$\ln \ln \left(\frac{I_0}{I} \right) \cong \frac{I_0 - I}{I} \quad (8)$$

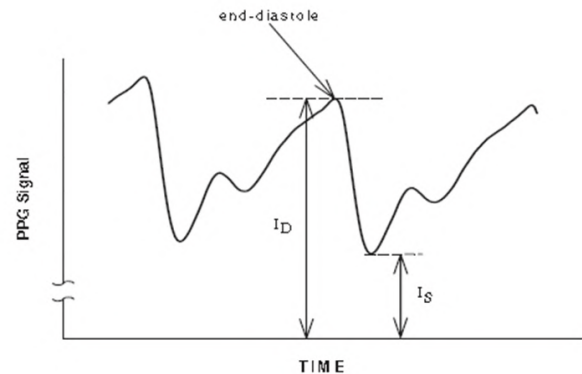
From the equations 7 and 8,

$$\frac{I_0 - I}{I} \cong \alpha l \quad (9)$$

Pulse oximetry is based on isolating the contribution of arterial blood to the absorption of light by photoplethysmography (PPG). The measurement of light absorption changes due to alterations in arterial blood volume induced by the heart. The PPG signal is shown in Figure 1. The intensity of transmitted light decreases during systole due to the increase in arterial blood volume during systole, when blood is ejected from the left ventricle into the peripheral vascular system.

The maximum and minimum values of the PPG signal I_D and I_S in Figure 1, respectively, are proportional to the irradiance of the light transmitted through the tissue in the final diastole and in the systole, when the blood volume in the tissue is minimal or maximum, respectively (5).

Figure 1 - The photoplethysmographic sign. Light transmission through the finger decreases during systole. I_D and I_S indicate the maximum and minimum values of light transmission during the cardiac period, respectively.



Source: Nitzan, M.; Engelberg, S. (2009).

In pulse oximetry, the transmitted light is measured in two wavelength, λ_1 and λ_2 , and I_D and I_S are replaced by I_0 and I . A ratio R that isolates the contribution of the variation in blood volume due to heartbeat, taking into account the approximations given by the equation 9, is written as

$$R_{12} = \frac{\left(\frac{I_0 - I}{I} \right)_1}{\left(\frac{I_0 - I}{I} \right)_2} \quad (10)$$

where the indices 1 and 2 refer to the values of I_0 and I collected for wavelength λ_1 and λ_2 respectively. From the equations 9:

$$R_{12} = \frac{\alpha_1 l_1}{\alpha_2 l_2} \quad (11)$$

where α_1 is the blood extinction coefficient for wavelength λ_1 , α_2 is the blood extinction coefficient for wavelength λ_2 , l_1 and l_2 are the optical paths for the respective wavelengths λ_1 and λ_2 .

From equation 6 it is possible to write the blood extinction coefficient for each wavelength, then

$$\alpha_1 = \alpha_{g1} C_{g1} + \alpha_{f1} C_{f1} \quad (12)$$

$$\alpha_2 = \alpha_{g2} C_{g2} + \alpha_{f2} C_{f2} \quad (13)$$

Replacing equations 12 and 13 in 11 and isolating the glucose concentration C_g :

$$C_g = \frac{\alpha_{f1} - \alpha_{f2}R_{12} \left(\frac{l_1}{l_2}\right)}{\alpha_{f2}R_{12} \left(\frac{l_1}{l_2}\right) (\alpha_{g2} - \alpha_{f2}) - (\alpha_{g1} - \alpha_{f1})} \quad (14)$$

The factor $\left(\frac{l_1}{l_2}\right)$ generally cannot be overlooked and, if not known, C_g cannot be derived from the measured value of R_{12} . In practice, the relationship between R and C_g is determined by calibrating each type of pulse glucometer sensor. R is measured in several individuals simultaneously with the in vitro measurement of C_g in arterial blood drawn using an invasive standard glucometer. For each person R and C_g in blood are measured at various values of C_g . The relationship between R and C_g is assumed how [3]:

$$C_g = \frac{a - bR}{c - dR} C_g \quad (15)$$

Or

$$C_g = a + bR + cR^2 \quad (16)$$

where the constants a , b , c and d are determined from the corresponding measured values of R and C_g . Equations 15 and 16 provide the necessary calibration for the derivation of C_g from the measured parameter R . Calibration for devices with two LED's assumes that $\left(\frac{l_1}{l_2}\right)$ does not change between different people and different physiological and clinical situations. The validity of this assumption is limited and deviations are probably the main source of the inaccuracy in the evaluation of C_g by the method implemented.

3. Results

As shown for LEDs with λ_1 and λ_2 wavelengths in equation 10, a third LED with λ_3 wavelength can be introduced:

$$R_{13} = \frac{\alpha_1 l_1}{\alpha_3 l_3} \quad (17)$$

where l_3 is optical paths for the third LED.

And from equation 6:

$$\alpha_3 = \alpha_{g3}C_{g3} + \alpha_{f3}C_{f3} \quad (18)$$

Now, replacing the equations 13 and 15 in 12:

$$C_g = \frac{\alpha_{f1} - \alpha_{f3}R_{13} \left(\frac{l_1}{l_3}\right)}{\alpha_{f3}R_{13} \left(\frac{l_1}{l_3}\right) (\alpha_{g3} - \alpha_{f3}) - (\alpha_{g1} - \alpha_{f1})} \quad (19)$$

R_{12} e R_{13} of equations 10 and 17 can be measured, and the extinction coefficients α_1 and α_2 for the three wavelengths can be obtained in the literature or even in text bench. However, to determine C_g , it is necessary to find $\left(\frac{l_1}{l_2}\right)$ and $\left(\frac{l_1}{l_3}\right)$.

The optical path l , as well as its standard deviation, the relationship between the wavelength and the distance between the light source and the detector increases with the scattering constant and decreases with the absorption constant. Since the dependence of scattering on the wavelength is smooth, the relationship between the path length l and the wavelength is also smooth in the spectral region where the extinction coefficients, since hemoglobin depends gently on the wavelength. If λ_1 , λ_2 and λ_3 are chosen as three adjacent wavelengths in an appropriate infrared region, a linear relationship can be assumed between small changes in the path length l and small changes in λ wavelength (5):

$$l - l_0 = k(\lambda - \lambda_0) \quad (20)$$

Where k is a constant. In this way, you can write:

$$l_1 - l_2 = k(\lambda_1 - \lambda_2) \quad (21)$$

And

$$l_1 - l_3 = k(\lambda_1 - \lambda_3) \quad (22)$$

Dividing equation 21 by 22:

$$\frac{\lambda_1 - \lambda_2}{\lambda_1 - \lambda_3} = \frac{1 - \left(\frac{l_2}{l_1}\right)}{1 - \left(\frac{l_3}{l_1}\right)} \quad (23)$$

Of the equations 16, 17 and 23 C_g can be determined without prior information about $\left(\frac{l_2}{l_1}\right)$ and $\left(\frac{l_3}{l_1}\right)$, since there are three equations in three unknowns: C_g , $\left(\frac{l_2}{l_1}\right)$ and $\left(\frac{l_3}{l_1}\right)$.

4. Discussions

As for the choice between measuring the absorption or spreading coefficient, the suggestion is to use the spreading coefficient. This is because the change in light absorption measured by α_{abs} may occur due to the increase in glucose concentration, where α_{abs} increases with the increase in glucose, or by decreasing water, where α_{abs} decreases with increasing glucose. However, several other parameters may be responsible for the decrease in water, since any other solute other than glucose, if increased, causes a kind of water displacement, such as hematocrits. Changes in temperature and hydration status also affect the water absorption bands and act as noise sources for a non-invasive glucose measurement.

The glucose absorption coefficient in the IR is much lower than that of water. Its magnitude is too small to allow direct measurements of absorption at wavelengths below 1400 nm. The attenuation of light in this wavelength range in a certain part of the body, which may be a finger, varies in the range of 3 to 4 absorbance units, while the change caused by 5 mmol/L in the glucose concentration is approximately 10^{-5} absorbance units (1).

While, for the intensity of the light spread over the tissue, it is altered due to the variation of the glucose concentration. A reduced scattering coefficient, $\alpha'_{esp} = \alpha_{esp}(1 - g)$ where g is the anisotropic factor, of a tissue can be written as a function $\alpha'_{esp} = f(\rho, a, n_{cells}/n_{medium})$, where ρ is the numerical density of the dispersing cells in the observation volume, a is the diameter of the cells, n_{cells} is the refractive index of the cell and n_{medium} is the refractive index of the interstitial fluid (6).

Changes in n_{medium} can be caused by any change in the total concentration of solutes in the blood and in the interstitial fluid. (1) analyzes the variation of the water refraction index, based on (7), showing the change in n_{water} caused by various metabolic factors. It is evident that during hyperglycemic conditions, the concentration of glucose changes rapidly, while other concentrations of solutes change at a slower rate. Thus, it is possible to relate α'_{esp} to changes in glucose concentration in a short period of time.

However, as the temperature increases, the water decreases, characterizing dehydration, this affects n_{cells}/n_{medium} in the tissue (7) and presents a source of error in the scattering measurements. It is already confirmed that values of α'_{esp} decrease with increasing concentrations of glucose (8) and other sugars in in vitro tissue simulations due to their effect on n_{medium} (9).

5. Conclusion

The mathematical model presented has the potential to rule out the need for calibration for non-invasive blood glucose measurement devices if the boundary conditions and applied engineering technology are met. This would be of great applicability for patients with Diabetes, as it will avoid the need for frequent calibrations of monitoring devices and also a reduction in measurement errors due to the solution of errors associated with calibration.

Acknowledgments

We thank UDESC for the institutional support and the State Foundation for Research Support of Santa Catarina (FAPESC) for the financial support by means of main components used in this research.

References

1. Khalil Omar S. Aspectos espectroscópicos e clínicos das medições não invasivas de glicose ;45:165–177. Hendee WR, Mower HW. A time of opportunity in the education of medical physicists: Report of a multi-organizational summit on the education of medical physicists. Med Phys. 2006; 33(9):3327–32.
2. Burmeister Jason J, Chung Hoeil, Arnold Mark A. Phantoms for noninvasive blood glucose sensing with near infrared transmission spectroscopy Photochemistry and photobiology. 1998;67:50–55
3. R. Castro Jr. Glucosímetro de pulso Tese de doutorado. 2010:180.
4. M. Mendes; A. C.. Utilização da técnica de lente térmica para o estudo das propriedades termo ópticas de meios espalhadores de luz Trabalho de graduação de Física Médica. 2017:48.
5. Nitzan Meir, Engelberg Shlomo. Three-wavelength technique for the measurement of oxygen saturation in arterial blood and in venous blood Journal of biomedical optics. 2009;14:024046
6. Graaff R, Aarnoudse JG, Zijp Jaap R, et al. Reduced light-scattering properties for mixtures of spherical particles: a simple approximation derived from Mie calculations Applied optics. 1992;31:1370–1376.
7. Kohl M, Essenpreis M, Cope M. The influence of glucose concentration upon the transport of light in tissue-simulating phantoms Physics in Medicine and Biology. 1995;40:1267–1287.
8. Amir Orna, Weinstein Daphna, Zilberman Silviu, et al. Continuous noninvasive glucose monitoring technology based on “occlusion spectroscopy” 2007.
9. Groenhuis RAJ, Ferwerda Hedzer A, Ten Bosch JJ. Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements. 1: Theory Applied optics. 1983;22:2456–2462.

Contact:

Bruna Gabriela Pedro
Universidade do Estado de Santa Catarina
Rua Paulo Malschitzki, 200 - Zona Industrial Norte,
Joinville-SC, 89219-710.
E-mail: bruna.pedro@edu.udesc.br



ICBEM
Bioelectromagnetism



EIT | Electrical Impedance
Tomography

Proceedings of the International Conference of
Bioelectromagnetism, Electrical Bioimpedance, and Electrical Impedance Tomography
June 28 – July 1, 2022 / Kyung Hee University, Seoul, Korea

Blood viscosity on glucose level using electrical impedance spectroscopy

Bruna Gabriela Pedro^{1,2}, Pedro Bertemes Filho^{1,2}

¹ State Universtisy of Santa Catarina , Joinville, Brazil

²Department of Electrical Engineering

Correspondence: Bruna Gabriela Pedro, e-mail: bruna.pedro@edu.udesc.br

Abstract– Human blood is primarily composed of plasma and hematocrit, and the complications of diabetes change all these parameters by generating severe chronic complications. For patients with long-term disease, the study of blood rheology points out effects of hardening of red blood cells and changes in blood viscosity. These changes are generated by oxidative stress, which turns into a vicious cycle and worsens the disease condition. Bioelectrical impedance analysis (BIA) has been used to develop non-invasive glucose measurement devices for continuous monitoring. This work presents a mathematical modeling of the electrical impedance as a function of glucose concentration. It is obtained by interpolating the Drude, Krieger and Bruna models. The plasma viscosity is related to blood conductivity whereas the equation parameters to the electrical impedance modulus. The proposed model predicted the glucose level closer to the gold standard one.

Keywords: Bioimpedance; Blood glucose; Mathematical modeling; Plasma viscosity.

1. Introduction

The chronic complications of diabetes are particularly serious. They reach a large number of diabetic patients a few years after the beginning of the syndrome. They determine morbidity and mortality and can be divided into vascular and non-vascular complications. The etiopathogenesis of the chronic complications of the disease is characterized by diabetic microangiopathy, diabetic retinopathy, nephropathy and blood viscosity (da Silva Azevedo 1986).

It is evident that poor management of the disease triggers poor quality of life (Somer and Meiselman 1993)(Baynes 1991)(da Silva Azevedo 1986) and high costs to the health system (Bertemes-Filho 2016). Therefore, research on non-invasive glucose measurement devices has been developed with the aim of providing continuous monitoring and without protrusions on the patient's fingers. Bioelectrical impedance spectroscopy is one of the techniques used and that seeks to improve data processing such as artificial neural networks (ANNs) (Bertemes-Filho 2016) and analytical models (Pedro et al 2020a).

ANNs are statistical tools that use a group of sample data to find patterns (Alves 2007). However, it has some disadvantages in relation to the analytical model, for example: having a margin of error that grows as the measurement moves away from the samples and not providing a correlation between other parameters of the system. Whereas, an analytical model has only propagated errors and the explicit relationship of the parameters (Pedro et al 2020b).

A mathematical model is a scientific model that uses mathematical formulas to express relationships, predictions, variables, parameters, entities and relationships between variables (Friedenthal et al 2015). Therefore, the understanding of the determining parameters and changes of a system must be analyzed and subsequently connected to the resulting effects. In the case of an analytical model for blood glucose detection using electrical impedance spectroscopy, a deeper understanding of blood rheology is relevant.

Blood is a suspension composed of two phases, a continuous aqueous phase represented by plasma that contains salts, sugars, proteins and another discrete phase that includes leukocytes, platelets and erythrocytes, which constitute more than 99.5% of the particulates. Plasma is a Newtonian fluid, but blood has a non-Newtonian behavior, mainly due to the presence of red blood cells (Pereira et al 2015). It features characteristics of Bingham fluids, pseudoplastics and concentrated emulsions. The main rheological property of the blood studied is the apparent viscosity of the blood, scaled by the viscosity of the plasma (de Carvalho and de Oliveira 2006).

Some of the determinants of blood viscosity are erythrocyte mass, their deformability and aggregation, and also the concentration of plasma proteins. Decreased erythrocyte deformability has several causes: alteration of hemoglobin (glycosylation, autoxidation, abnormal hemoglobins, etc.), alteration of membrane lipids (altered

phospholipid/cholesterol ratio and formation of lipoperoxides), accumulation of sorbitol and glycosylation of membrane proteins (mainly spectrin, makes the globule more rigid and less deformable) (da Silva Azevedo 1986).

In advanced stages of diabetes complications, whether due to ignorance or indiscipline, erythrocytes undergo deformations such as anisocytosis and poikilocytosis due to the stiffening of the red blood cell wall, leading to crenation (Somer and Meiselman 1993). Stiffening of red blood cells occurs because blood glucose eigenvalue leads to electrolyte imbalance in cell membrane and also to oxidative stress which is one of the main causes of cell damage (Baynes 1991)(da Silva Azevedo 1986). Consequently, cells aggregate more easily and cannot bend to pass through narrower pathways such as capillaries (Somer and Meiselman 1993).

Another problem is the decrease in plasma proteins that cease to exert osmotic functions due to glycosylation², phenomena such as fructosamine and solvation are part of the vicious cycle that is oxidative stress leading to dehydration, kidney overload, increased blood pressure and ketoacidosis.

These changes in blood viscosity of blood in diabetic patients are discussed in numerous works, among them (Somer and Meiselman 1993) shows in Figure 1 that there is a linear behavior of viscosity for measuring only plasma and plasma containing rigid cells, showing that the viscosity of the solution with the granulated bodies has higher viscosity. It also shows the non-linear behavior of the viscosity of plasma containing normal cells and plasma containing normal cells and fibrinogen, the difference of which resulted in lower levels of aggregation of red blood cells. If the behavior of the curve with rigid cells is analyzed in relation to normal cells and fibrinogen, it is evident that there is a change in viscosity from diabetic to normal blood, justified by changes in the rigidity of red blood cells and the imbalance of plasma proteins.

Another article that corroborates is (Desouky 2009) for studies of the rheological and electrical properties of blood states that the viscosity is higher in diabetics, resulting in greater aggregation and less deformity of red blood cells, the dielectric constant and conductivity are also higher for patients with the disease, as reported in (Abdalla et al 2010).

In the literature review, it was found that hematocrit, fibrinogen and temperature were influential factors in blood viscosity (Oliveira 2009)(Hund et al 2017). However, factors such as glucose and albumin identified in (Pedro and Bertemes-Filho 2021) are not mentioned.

In this article, an interpolation of the Krieger model adapted for blood (Hund et al 2017) with the model for water viscosity as a function of glucose given by (Ferreira 2018) in addition to the introduction of the albumin and glucose factor in the plasma viscosity is made. It also investigates the influence of glucose variation on plasma viscosity in the Bruna model proposed in (Pedro et al 2020a).

2. Mathematical Models

2.1 Bruna model

The interpretation of the relaxation time presented in Bruna model (Pedro et al 2020a) represents the time response due to the applied electric field into the sample under study. This might be explained by the orientation of the particles inside the sample in order to have the minimum resistance of the dielectrophoretic force (Abdalla 2010) The model considers the red blood cells as spheres surrounded by an insulating layer, which, when subjected to the action of an external electric field, present polarization. The blood sample may also contain proteins and glucose molecules as non-conducting spheres. The red blood cell and protein spheres rotate in response to the electric field and are opposed by frictional interaction with the surrounding viscous fluid. The relaxation time in response to this orientation is given by:

$$\tau = \frac{4\pi R^3}{\kappa T} \eta \quad (1)$$

where τ is the relaxation time, R is the radius of the sphere, κ is Boltzmann's constant, T is the absolute temperature and η is the viscosity of the composite matrix.

2.2 Drude model

Drude's theory is an application of the Kinetic Theory of gases to electrons in a metal and based on Newton's Laws. According to Drude, the electronic charge transport is due to the random movement of free and independent electrons, which are scattered by the immobile ions during collisions (Rocha et al 2015). The free electron model describes the process of electrical conduction in metals and provides an estimate of the value of conductivity in terms of intrinsic properties of metals (Cardona and Peter 2005), then:

$$\sigma = \frac{ne^2\tau}{m_e} \quad (2)$$

where n the number of electrons, e is the electron charge, m_e is electron mass and τ scattering time.

The model is adapted for red blood cells and glucose atoms immersed in the plasma of the blood. The free particles are the ions and electrons released in the process of glucose hydrolysis. Therefore:

$$\sigma = \frac{nq^2\tau}{m_q} \quad (3)$$

where n is the number of free particles carrying charge in the solution (ions and electrons), q the particle charge, m_q particle mass and τ the scattering time.

2.3 Adapted Krieger model for blood viscosity

According to (Hund et al 2017), the blood viscosity can be described as:

$$\eta = \eta_{pl} \left(1 - \frac{Hct}{Hct^*}\right) \quad (4)$$

where η_{pl} is the plasma viscosity, $\frac{Hct}{Hct^*}$ is the volumetric fraction of red blood cells.

The parameter η_{pl} is given by:

$$\eta_{pl} = \overline{\eta_{pl}} \left(1 + (\alpha[LM] - \overline{[LM]})\right) \left(\frac{T}{\overline{T}}\right)^b \quad (5)$$

where the slashed terms are reference values for a normal (healthy) case, α is the proportionality values, $[LM]$ represent large molecules, b is a constant and T is the absolute temperature.

2.4 Viscosity as a function of glucose concentration

The models for blood viscosity listed in the literature do not include albumin or glucose concentration. However, (Ferreira 2018) presents results of the change in viscosity of the solution composed of water (solvent) and glucose (solute) and indicated that it has the following behavior:

$$\ln \eta = D + \frac{B}{T} + Cw_1 \quad (6)$$

where η is the viscosity, T is the temperature and w_1 is the mass fraction of solute (same meaning of k' in the Bruna model). D , B and C are adjustable parameters.

3. Proposed analytical model

The improvement of the Bruna model considers the impedance modulus as a function of glucose concentration.

3.1 Plasma viscosity

The viscosity of blood plasma can be given as a linear relationship of the viscosity of water (Oliveira 2019).

Taking into account other blood proteins, such as albumin, equation 5 can be rewritten by:

$$\eta_{pl} = e^{(D + \frac{B}{T} + Ck')} \sum (1 + (\alpha[LM] - \overline{[LM]})) \left(\frac{T}{\overline{T}}\right)^b \quad (7)$$

Considering both temperature and amount of proteins constant, then the viscosity can be described by:

$$\eta_{pl} = Ae^{Ck'} \quad (8)$$

Where

$$A = e^{(D + \frac{B}{T})} \sum (1 + (\alpha[LM] - \overline{[LM]})) \left(\frac{T}{\overline{T}}\right)^b \quad (9)$$

3.2 Plasma conductivity

Replacing equation 8 into 1, then:

$$\tau = \frac{4\pi R^3}{\kappa T} A e^{Ck'} \quad (10)$$

Replacing τ in equation 3, the plasma conductivity (σ_h) is given by:

$$\sigma = \frac{nq^2}{m_q} \frac{4\pi R^3}{\kappa T} A e^{Ck'} \quad (11)$$

If the different parameters of glucose are constant, then:

$$\sigma = B e^{Ck'} \quad (12)$$

where

$$B = \frac{nq^2}{m_q} \frac{4\pi R^3}{\kappa T} \quad (13)$$

3.3 Blood's electrical conductivity effect at Bruna model

According to (Pedro et al 2020a), the electrical conductivity of blood is:

$$\sigma_m = (1 - k + k')^{\frac{3}{2}} \sigma_h \quad (14)$$

where σ_m is the blood conductivity, σ_h is the plasma conductivity, k is the volumetric fraction of red blood cells and k' is the volumetric fraction of glucose.

The parameter $(1 - k + k')$ decreases as increasing red blood cells which, in turns, increase due to glucose level. However, when considering the influence of glucose on plasma viscosity, it is necessary to substitute, σ_h from equation 12 into 14, then:

$$\sigma_m = (1 - k + k')^{\frac{3}{2}} B e^{Ck'} \quad (15)$$

3.4 Electrical impedance versus glucose concentration

In order to correlate the modulus of the electrical impedance ($|Z|$) with the electrical conductivity, then σ_m of equation 15 and τ of equation 10 are used, so that:

$$|Z| = a \sqrt{1 + \frac{(f^2 + b)^2}{f^2(c f^2 + d)^2}} \quad (16)$$

where

$$a = \frac{L}{AB^{\frac{1}{2}}} \frac{1}{e^{4Ck'} (1 - k + k')^6} \quad (17)$$

$$b = \frac{2R^3 A^2}{\kappa T} e^{2Ck'} \quad (18)$$

$$c = \frac{2\pi(\varepsilon_{\infty} - \Delta\varepsilon)}{B e^{Ck'} (1 - k + k')^{\frac{3}{2}}} \quad (19)$$

$$d = \frac{\varepsilon_{\infty} 2R^2 m_p A}{nq^2 \kappa T} \frac{e^{Ck'}}{e^{4Ck'} (1 - k + k')^6} \quad (20)$$

In order to assess the relative variation of $|Z|$ in terms of glucose concentration k' and frequency f , equation 16 was normalized and rewritten in terms of $e^{Ck'}$, $(1 - k + k')$ and f , so that:

$$|Z| = a' \frac{1}{e^{4Ck'(1-k+kf)^6}} \sqrt{1 + \frac{(f^2 + b'e^{2Ck'})^2}{f^2 \left(\frac{c'}{e^{Ck'(1-k+kf)^2}} f^2 + d' \frac{e^{Ck'}}{e^{4Ck'(1-k+kf)^6}} \right)^2}} \quad (21)$$

where

$$a' = \frac{L}{AB^4} \quad (22)$$

$$b' = \frac{2R^3 A^2}{\kappa T} \quad (23)$$

$$c' = \frac{2\pi(\epsilon_{\infty} - \Delta\epsilon)}{Be^{Ck'}} \quad (24)$$

$$d' = \frac{\epsilon_{\infty} 2R^2 m_p A}{nq^2 \kappa T} \quad (25)$$

Equation 21 was plotted considering parameters a' , b' , c' and d' equal to unit. The value of the volumetric fraction of red blood cells was set to 45% (Somer and Meiselman 1993), then $k = 0.45$. A frequency has its values between 0.5 and 1.0, this facilitates the visualization of glucose changes, as values of higher orders of magnitude can be considered as incorporated into the system constants. Figure 1 shows the impedance spectra for a glucose concentration (k') range of 4.0 to 6.8 mmol/L. It can be observed that the impedance modulus decreases as glucose concentration increases whereas frequency increases, which was also observed by (Pedro et al 2020b) and (Kamat 2014).

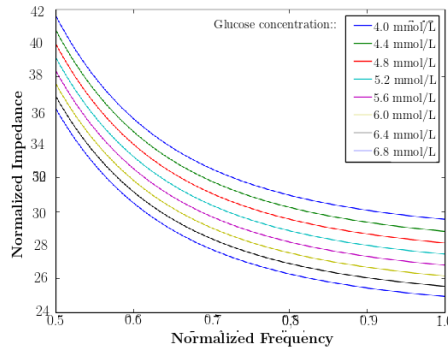


Figure 1. Normalized electrical impedance as a function of normalized frequency and glucose concentration.

4. Discussions

It should bear in mind that blood were considered particles suspended in a conducting fluid and it contains different types of particles with different masses. Micro-masses form electric dipoles under an electric field. Then, heavy cells form freely rotated dipoles which have a more significant rotational motion in comparison to lighter particles and lesser linear motion. In contrast, lighter cells have higher drift speed in a linear motion and less significant rotational motion. In other words, larger particles such as hemoglobin and glucose are responsible for changing blood viscosity, while ions are responsible for electrical conductivity. These findings were observed in the proposed model.

According to the proposed model, it can be shown that the plasma conductivity depends only on charged molecules. If we write σ_h as a summation for each individual particle, then:

$$\sigma_{h_i} = \sum_i^n \sigma_{h_i} \quad (26)$$

where

$$\sigma_{h_i} = \frac{n_i q_i^2 \tau_i}{m_{q_i}} \quad (27)$$

Large particles (e.g., hemoglobin and glucose) have zero charge, then resulting in a null respective σ_{h_i} . This implies that all charge transport is done by the charged particles of the solution. Therefore, the contribution of insulating particles is much more affected by the free path of the conducting particles, as predicted by the Drude model. This effect can be represented in figure 2, which shows that the increase of fixed particles increases the travelling path along the solution. As a result, the changes in conductivity cannot be observed due to the increase in the scattering/relaxation time. On the other hand, there is an increase in the amount of conducting particles in the solution, since chemical phenomena due to glucose reaction releases electrons (Pedro and Bertemes-Filho 2021)(Baynes 1991)(Somer and Meiselman 1993).

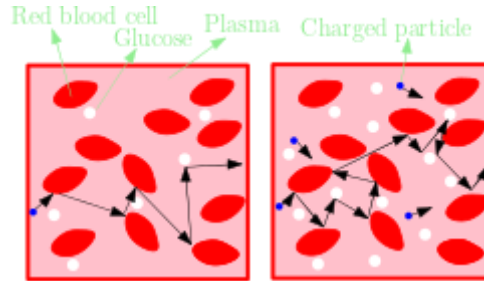


Figure 2. Representative impacts of the non-conducting particles in the solution conductivity due to glucose hydrolysis.

The glucose concentrations of previous models (Pedro and Bertemes-Filho 2021)(Pedro et al 2020a)(Pedro et al 2020b) are described in mmol/L. However, the influence of glucose due to red blood cells and frequency were not analyzed. Therefore, a fair comparison between these models to the proposed one here should be considered. Then, the mathematical models are written as follows:

$$|Z_{norm}| = \sqrt{\frac{a}{(1-k+kr)^3} + \frac{(b+cf^2)^2}{f^2(g+df^2)^2}} \quad (28)$$

where $|Z|$ is the impedance described by model in \cite{eu}, parameters a , b , c , d and g are equal to unit, $k = 0.45$ e $f = [0.5: 1.0]$ according to figure 3.

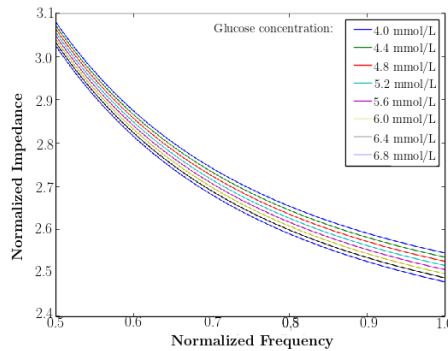


Figure 3. Normalized electrical impedance as a function of normalized frequency and glucose concentration, according to equation 28.

It can be observed that the impedance values are greater than the ones predicted by equation $|Z_{norm}|$. This allows a better identification between the spectrum of $|Z(k', f)|$ and $|Z(k' + \Delta k', f)|$, where $\Delta k'$ is the change in glucose concentration. For example, a change in glucose from 4.0 to 4.4 mmol/L gives a $\Delta k' = 0.000172$, which results in $\Delta|Z(f = 0.5)| = 0.00783$ (equation 21) and 0.8211 (equation 28). It can be observed that the real impedance change is about 105 times higher than it was predicted by (Pedro et al 2020).

It can also be observed that the impedance decreases more rapidly as increasing frequencies for all glucose concentration, in contrast to what it was found in (Pedro et al 2020). It should be emphasized that other types of parameters, such as temperature, mass, charge, particle radius and plasma proteins, need to be taken into account for a more complete and accurate model, as mentioned in (Ferreira 2018).

4.1 Conclusions

It was showed that both impedance modulus and conductivity of blood takes into account hematocrit concentration, temperature, plasma proteins, permittivity, charge, mass, and particle radius, frequency and glucose concentration. By adding glucose and albumin into blood, it was also found that the plasma viscosity may change the conductivity or impedance of the solution. These findings might be useful for non-invasive glucose measurement devices.

References

- Abdalla, S., Al-Ameer, S., e Al-Magaishi, S. (2010). *Propriedades elétricas com relaxamento através de humanos sangue*. Biomicrofluídica 4, 034101.
- Alves, D.M. (2007). *Quantificação da glicemia através da análise de imagens da íris humana usando redes neurais* (Tese de Doutorado, Universidade do Estado de Santa Catarina).
- Ashcroft, N.W., & Mermin, N.D. (1976). *Física do estado sólido*.
- Baynes, J.W. (1991). *Papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de complicações no diabetes*. Diabetes, 40(4), 405-412.
- Razera, T. M., Korbes, G. D. F., Bertemes Filho, P., Paterno, A. S., Sommacal, L. F., Pogere, A., & Dias, D. D. C. (2016). *Reconhecimento de padrões para classificação da impedância elétrica do tecido cervical*. J. informe de saúde, 829-838.
- Cardona, M., & Peter, Y.Y. (2005). *Fundamentos de semicondutores* (Vol. 619). Springer-Verlag Berlim Heidelberg.
- de Carvalho, J. A. A., & de Oliveira, T. T. (2006). *Mecânica dos fluidos aplicada a escoamento do sangue na microcirculação*.
- Desouky, O.S. (2009). *Comportamento reológico e elétrico dos eritrócitos em pacientes com diabetes mellitus*. Rom J Biophys, 19(4), 239-250.
- Ferreira, A.F.B. (2018). *Determinação de propriedades volumétricas e de transporte de diferentes tipos de carboidratos em meio aquoso*.
- Friedenthal, S., Moore, A., & Steiner, R. (2015). *Integrando sysml em um ambiente de desenvolvimento de sistemas*. Um Guia Prático para SysML (Terceira Edição), terceira edição, Morgan Kaufmann, 507-541.
- Hund, S.J., Kameneva, M.V., & Antaki, J.F. (2017). *Uma representação matemática quase mecanicista para a viscosidade do sangue*. Fluidos, 2(1), 10.
- Kamat, D.K., Bagul, D., & Patil, P.M. (2014). *Medição da glicemia pela técnica de bioimpedância*. Avanços em Eletrônica, 2014.
- Oliveira, P. (2009). Viscosidade do sangue. UBI, 034101
- Pedro, B. G., Marcôndes, D. W. C., & Bertemes-Filho, P. (2020a). *Analytical model for blood glucose detection using electrical impedance spectroscopy*. Sensors, 20(23), 6928.
- Pedro, B. G. Marcôndes, D. W. C., and Bertemes-Filho, P. *Modelo analítico para o cálculo do nível de glicose no sangue usando espectroscopia de impedância elétrica*. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2020b, Vitória. Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica 1, 1–4
- Pedro, B. G., & Bertemes-Filho, P. (2021, August). *Glucose detection of ringer-lactate solution using electrical bioimpedance: preliminary results*. In Journal of Physics: Conference Series (Vol. 2008, No. 1, p. 012003). IOP Publishing.
- Pereira, M., Malagoni, R., & Finzer, J. (2015). *Reologia do escoamento do sangue em sangue*. Blucher Chemical Engineering Proceedings, 1(3), 2135-2140.
- Pérez, C.A.S. (2000). *O modelo do elétron livre de Drude completa 100 anos*. Caderno Brasileiro de Ensino de Física, 17(3), 348-359.
- Rocha, R.P. (2015). *Tempo de relaxamento em sistemas moleculares desordenados*.
- Somer, T., & Meiselman, H.J. (1993). *Distúrbios da viscosidade do sangue*. Annals of Medicine, 25(1), 31-39.