

**POLITECNICO DI MILANO**  
**Scuola di Ingegneria Industriale e dell'Informazione**  
**Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica**



**Sviluppo e validazione di un pulsossimetro a riflettanza  
indossabile al dito**

Relatore: **Prof. Andrea Aliverti**

Correlatore: **Ing. Paolo Patete**

Correlatore: **Ing. Massimiliano Torregiani**

Tesi di Laurea di:  
**Andrea De Pascalis**  
Matricola 801426

**Anno Accademico 2014 – 2015**



# INDICE

## Abstract

## Sommario

## Capitolo 1: Introduzione

1.1 – Il sangue: trasporto e scambio di gas	4
1.2 – Diffusione di O <sub>2</sub> e CO <sub>2</sub>	5
1.3 – Il trasporto dell'ossigeno nel sangue	8
1.4 – Monitoraggio della saturazione	12
1.4.1 – Emogasanalisi	14
1.4.2 – Optrodi e fibre ottiche	14
1.4.3 – Ossimetria ottica	16
1.4.3.1 – Ossimetria ottica invasiva	20
1.4.3.2 – Pulsossimetria	21
1.4.3.2.1 – Design di un pulsossimetro	24
1.4.3.2.2 – Applicazioni e limitazioni d'uso	26
1.5 – Scopo dello studio	30

## Capitolo 2: Materiali e metodi

2.1 – Architettura del sistema	34
2.2 – Progettazione EAGLE e sviluppo di 3 configurazioni di sensori	36
2.2.1 – Componenti utilizzati	39
2.3 – Prove preliminari con AFE4400	44
2.3.1 – Diagramma a blocchi	45
2.3.2 – Interfaccia SW e acquisizione	50
2.3.3 – Configurazione componenti e connessioni	52
2.3.4 – Sviluppo algoritmi	55
2.4 – Gestione del sensore tramite PSoC	57
2.4.1 - PSoC® 4 BLE di Cypress	58
2.4.2 – Schema del circuito su PSoC	60

2.4.3 – Configurazione componenti nel <i>TopDesign</i>	66
2.4.4 – Firmware	70
2.4.5 – Circuiti su Breadboard e PCB	73
2.4.6 – Ricezione e lettura dati	77
<b>Capitolo 3: Risultati</b>	
3.1 – Introduzione ai test svolti	83
3.2 – Prove di AFE4400 con le configurazioni 1, 2 e 3	83
3.3 – Calibrazione del pulsossimetro	85
3.3.1 – Acquisizioni con respiro spontaneo	87
3.3.2 – Acquisizioni con tecnica di re-breathing	92
<b>Capitolo 4: Discussione e conclusioni</b>	107
Bibliografia	114
APPENDICE A	118
APPENDICE B	120
APPENDICE C	123
APPENDICE D	124
APPENDICE E	130

# **Abstract**

The aim of the project is to develop a wearable reflectance-based pulse oximeter, which configuration has been miniaturized to fit in a finger ring. The ring shape has been determined by the purpose of making the object light, comfortable and easy to wear everyday for the measurement of the oxygen saturation and the heart rate parameters. This device allows for more freedom in tracking data while performing any type of activities, like even sport, fitness and alpinism. The device front-end consists of the Cypress PSoC 4 BLE, provided with hardware and software platforms to transmit and receive the pulse oximeter signal. The PSoC integrates an onboard BLE that grants the connection with a receiving device for the data transmission. It also includes an internal memory for the storage of data as well as a battery that makes it independent from a pc connection.

# Sommario

L'obiettivo del progetto è lo sviluppo di un pulsossimetro a riflettanza, in cui la configurazione scelta prevede la realizzazione di un anello indossabile al dito di una mano. La scelta dell'anello è determinata dal proposito di rendere un oggetto leggero, comodo ed utilizzato nel quotidiano per la misura dei parametri di saturazione dell'ossigeno e di frequenza cardiaca. Questo dispositivo permette ampia libertà nello svolgimento di qualsiasi attività ed è pensato anche per un utilizzo nello sport, nel fitness o nell'alpinismo. Il front-end scelto per lo sviluppo del dispositivo è costituito dal PSoC 4 BLE di Cypress, dotato di piattaforma hardware e software che svolga le funzioni di trasmissione e ricezione del segnale di pulsossimetria. Il PSoC è dotato di tecnologia BLE che consente la connessione con un dispositivo ricevente per il trasferimento dati. Presenta una memoria interna flash per la memorizzazione dati al suo interno e una batteria che rende indipendente il suo funzionamento da una connessione con un PC.

# Capitolo 1: Introduzione

## 1.1 – Il sangue: trasporto e scambio di gas

Il sangue è un tessuto vivente la cui principale funzione all'interno dell'organismo è quella di *fluido vettore*: esso svolge il compito di trasportare attraverso differenti distretti del corpo non solo le sostanze coinvolte nel metabolismo cellulare, ma anche energia e segnali chimici. Grazie alla circolazione sanguigna avviene il fenomeno noto come *trasporto di massa* che consiste nella distribuzione dei metaboliti ai tessuti ed il raccoglimento dei cataboliti che da essi vengono espulsi come prodotto di scarto (fig. 1.1).

Una delle principali funzioni del sangue, inoltre, è quella di interfacciare ogni singola cellula dell'organismo con l'atmosfera polmonare attraverso il trasporto dei gas respiratori, il che consiste nel far pervenire alle cellule l'ossigeno estratto dall'atmosfera e scaricare nell'aria l'anidride carbonica prodotta dal metabolismo cellulare. Questo processo è noto come *scambio di massa*, durante il quale i gas respiratori nel sangue sono soggetti a fenomeni di tipo diffusivo e convettivo, nonché a reazioni chimiche all'interfaccia tra alveoli e capillari polmonari (nei polmoni) e tra capillari e cellule (nei tessuti)[8].

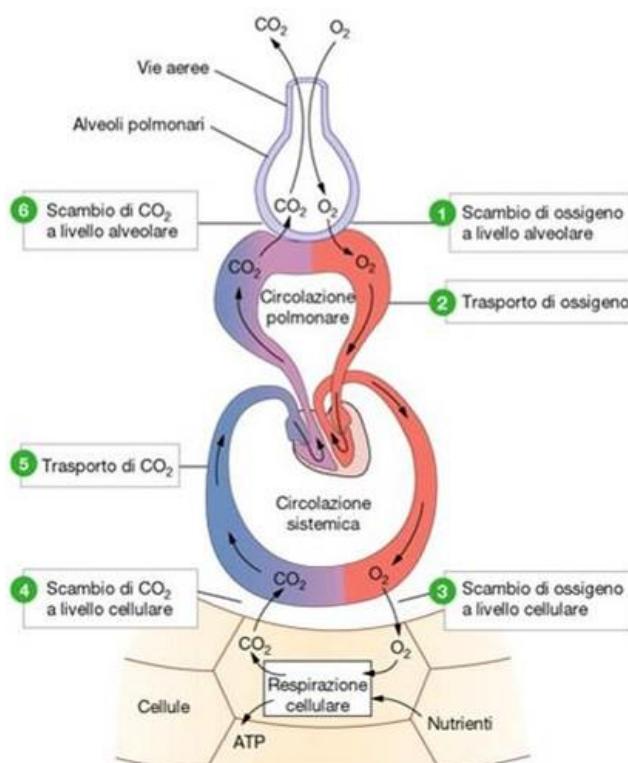


Figura 1.1: Trasporto e scambio di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> [3]

## 1.2 – Diffusione di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>

I gas disolti nell'acqua o nei tessuti dell'organismo esercitano una pressione in quanto al di sopra della temperatura dello zero assoluto (0° K) le molecole in soluzione sono soggette a continui movimenti casuali e possiedono energia cinetica. Così, quando le molecole di un gas dissolte in un fluido incontrano una superficie, quale la membrana di una cellula, esse esercitano una pressione propria, allo stesso modo di un gas che esercita la propria pressione parziale in una fase gassosa.

La legge di Dalton delle pressioni parziali afferma che la pressione parziale P<sub>i</sub> di un gas all'interno di una miscela è pari alla pressione che esso eserciterebbe occupando da solo l'intero volume della miscela. La pressione totale P di una miscela di n gas è definita come:

$$P = \sum_{i=1}^n P_i = P_1 + P_2 + \dots P_n$$

La pressione parziale di ciascun gas nella miscela respiratoria alveolare tende a far passare in soluzione le molecole di quel gas, dapprima nella membrana alveolare e successivamente nel sangue dei capillari alveolari. Al contrario le molecole dello stesso gas, che sono già dissolte nel sangue, sono sottoposte ad una agitazione casuale e costante. La *diffusione netta* del gas è stabilita dalla differenza delle pressioni parziali dei gas nelle due fasi: da una regione a più alta pressione, ad una a più bassa pressione.

La prima legge di Fick regola il passaggio di un determinato volume di gas all'interfaccia con una superficie (fig. 1.2), per cui risulta che [18]:

$$V_{gas} = \frac{A D (P_1 - P_2)}{S} \quad D = \frac{Sol}{\sqrt{PM}}$$

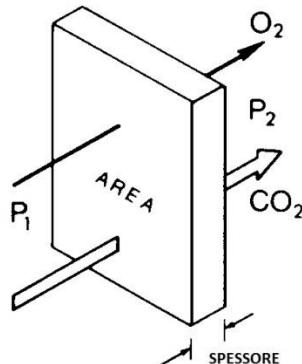


Fig. 1.2 – Modello legge di Fick [3]

in cui A è l'area della superficie,  $P_1$  e  $P_2$  sono le pressioni parziali del gas alle due estremità dell'interfaccia, S è lo spessore della superficie, D è il coefficiente di diffusione dato dal rapporto tra il coefficiente di solubilità specifico per il gas e la radice quadrata del suo peso molecolare.

Se la pressione parziale del gas è maggiore nella fase gassosa alveolare, come normalmente accade per l'ossigeno, allora passerà nel sangue un numero di molecole maggiore rispetto a quello che si muoverà in direzione opposta. Al contrario, se la pressione del gas è maggiore nel sangue, come normalmente si verifica per l'anidride carbonica, la diffusione netta avverrà verso la fase gassosa negli alveoli: tutto ciò avviene per il così detto *gradiente di pressione della diffusione* [17].

A livello del mare la pressione parziale di  $O_2$  disponibile per l'inspirazione è:

$$760 \text{ mmHg} * 0,21 = 160 \text{ mmHg}$$

in quanto l'aria è composta da circa il 21% di ossigeno. All'interno del primo tratto dell'albero respiratorio, l' $O_2$  è umidificato dall'aggiunta di vapore acqueo (pressione parziale di 47 mmHg), per cui ne risulta una diminuzione della  $pO_2$ :

$$(760 - 47) \text{ mmHg} * 0,21 = 149 \text{ mmHg}$$

Il risultato di una interazione tra ventilazione alveolare, produzione di  $CO_2$  e consumo di  $O_2$  causa una ulteriore caduta della  $pO_2$  a livello alveolare che passa da 149 mmHg ad un valore medio di 104 mmHg [18].

La  $pO_2$  del sangue venoso, invece, che entra nei capillari polmonari ha un valore medio di 40 mmHg, avendo questo sangue ceduto ossigeno durante il passaggio lungo i capillari dei tessuti periferici. Di conseguenza, la differenza di pressione iniziale all'interno dei capillari polmonari è pari a oltre 60 mmHg e, per la legge di Fick, si determina una diffusione di ossigeno dagli alveoli verso i capillari, arricchendo la concentrazione di ossigeno nel sangue. Il gradiente di pressione che si genera determina un incremento di  $pO_2$  nel capillare tale da eguagliare quello nell'alveolo in 0,25s (fig. 1.3), per cui all'equilibrio delle pressioni si interrompe il flusso diffusivo del gas attraverso l'interfaccia [3].

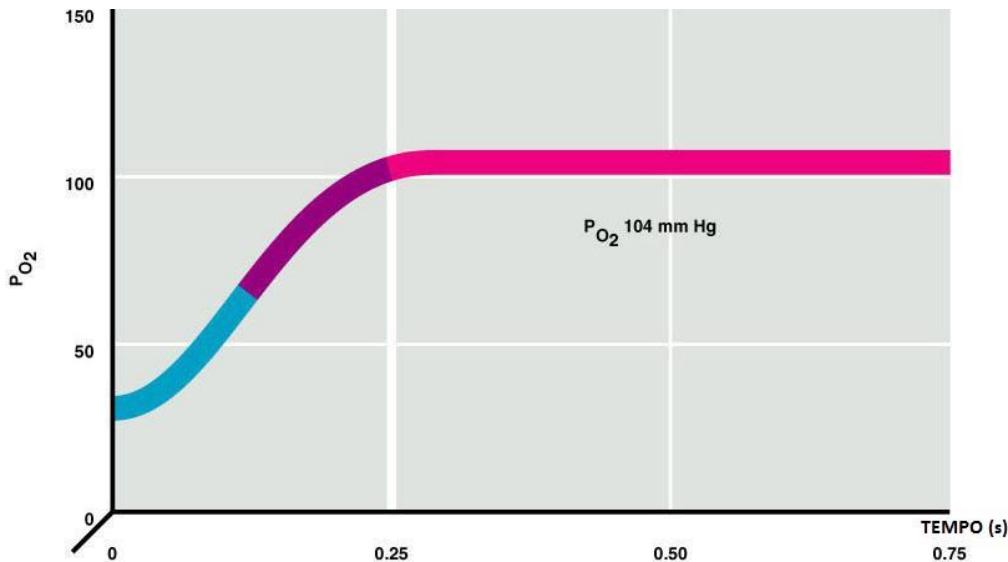


Fig. 1.3 – Incremento di  $pO_2$  nel capillare [3]

Quando il sangue arterioso raggiunge i tessuti periferici, la differenza di pressione parziale tra sangue ossigenato e le cellule dei tessuti è intorno ai 60 mmHg, pertanto, sempre per la legge di Fick, questa differenza di pressione provoca la diffusione dell'ossigeno dal sangue verso i tessuti, così che la  $pO_2$  capillare scenda fino ad eguagliare quella di 40 mmHg di liquido interstiziale e cellule.

Le cellule consumano ossigeno ininterrottamente e ciò comporta la produzione di anidride carbonica, che va ad aumentare la  $pCO_2$  intracellulare. Pertanto la  $CO_2$  diffonde dalle cellule ( $pCO_2 = 46$  mmHg) ai capillari tessutali ( $pCO_2 = 40$  mmHg), venendo trasportata dal sangue ai polmoni, dove diffonde dai capillari polmonari verso gli alveoli che hanno una  $pCO_2$  di circa 45 mmHg. Quindi in ogni punto della catena di trasporto dei gas, l'anidride carbonica diffonde sempre nella direzione opposta a quella della diffusione dell'ossigeno, permettendo un efficiente scambio di gas necessari al mantenimento delle funzioni vitali dei tessuti (fig. 1.4) [17].

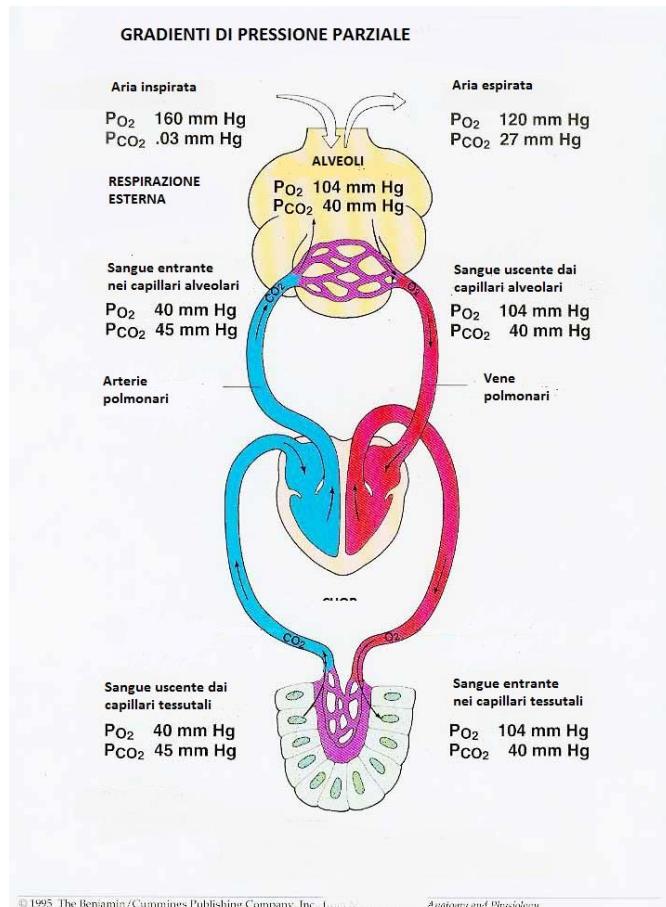


Fig. 1.4: Pressioni parziali di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> [18]

### 1.3 – Il trasporto dell’ossigeno nel sangue

La gran parte delle cellule presenti nel sangue è costituita da *eritrociti* o *globuli rossi* che occupano circa il 45% in volume del sangue intero di un uomo adulto.

L’eritrocita è l’unità funzionale del trasporto di gas respiratori all’interno del sangue. Esso è costituito da una membrana cellulare che racchiude una soluzione acquosa (liquido intraglobulare), i cui principali componenti sono:

- Ioni Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>
- Emoglobina (Hb<sub>4</sub>) (25 % in volume e 33% in peso)

L’emoglobina è una proteina di peso molecolare di 64458 Da, il cui ruolo funzionale è quello di legarsi chimicamente ai gas respiratori, ed in particolare all’ossigeno. La molecola di emoglobina è composta da quattro catene, ciascuna contenente un gruppo funzionale (*eme*). Esistono quattro diversi tipi di catene: *catene alfa, beta, gamma e delta*.

La forma più comune dell'emoglobina nell'uomo adulto è composta da una combinazione di due *catene alfa* e due *catene beta* (fig. 1.5a). Ogni gruppo *eme* (fig. 1.5b) della molecola è in grado di combinarsi mediante una reazione reversibile con una molecola di ossigeno attraverso l'ossidazione di un atomo di  $\text{Fe}^{2+}$ , sicché una molecola di emoglobina può trasportare un massimo di quattro molecole di ossigeno dando origine ad *ossiemoglobina* [17].

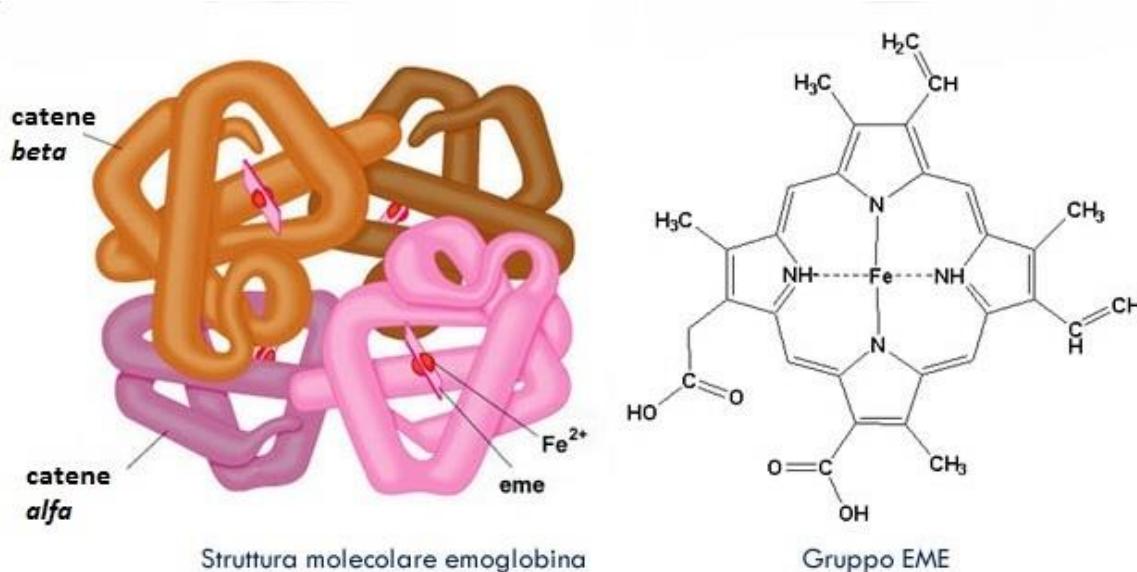


Fig. 1.5 – Struttura dell'emoglobina (a) e gruppo *eme* (b)[14]

In condizioni di normalità circa il 97% dell'ossigeno trasportato dai polmoni ai tessuti si trova chimicamente legato all'emoglobina nei globuli rossi, e solo il restante 3% è sotto forma di gas dissolto nella fase acquosa del plasma e delle cellule [6].

La percentuale di gruppi *eme* ossigenati rispetto al totale di quelli “disponibili” prende il nome di *grado di saturazione* dell'*ossiemoglobina*, o più semplicemente *saturazione*.

La saturazione è un indice di quanto ossigeno risulta effettivamente legato all'emoglobina in una data condizione, rispetto alla capacità totale per l'ossigeno: si tratta di una grandezza adimensionale il cui valore è compreso tra 0 e 1 (spesso espresso in termini percentuali). Numericamente, la saturazione può essere calcolata come:

$$\text{Saturazione ossigeno} = \frac{C(\text{HbO}_2)}{C(\text{HbO}_2) + C(\text{Hb})} * 100 (\%)$$

dove  $C(HbO_2)$  indica la concentrazione di ossiemoglobina e  $C(Hb)$  la concentrazione di emoglobina deossigenata.

Quando la  $pO_2$  è elevata, come nei capillari polmonari, l'ossigeno si combina con l'emoglobina, ma quando la  $pO_2$  si abbassa, come nei tessuti periferici, l'ossigeno viene rilasciato. In altri termini, il grado di saturazione è un indice di quanto è spostato verso destra l'equilibrio nella reazione di produzione dell'ossiemoglobina, essendo influenzato da vari parametri fisico-chimici del sangue [14,17].

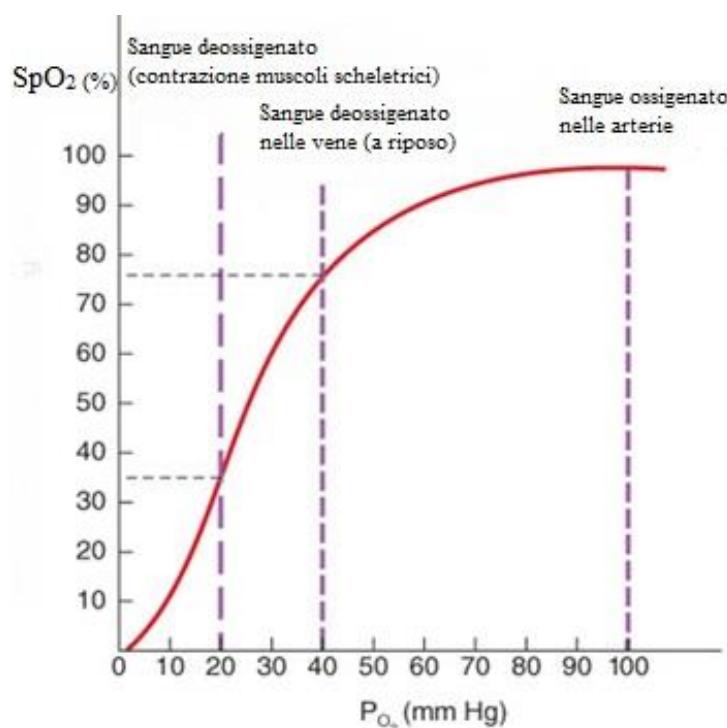


Figura 1.6 – Curva di dissociazione dell'ossiemoglobina [19]

La Fig. 1.6 mostra come esista una correlazione non lineare tra l'aumento della  $pO_2$  ematica e la percentuale di emoglobina che si combina con l'ossigeno. Poiché il sangue arterioso ha generalmente una  $pO_2$  compresa tra 95 e 100 mmHg è possibile dedurre dalla curva di dissociazione che la ‘normale’ saturazione dell’ossigeno nel sangue arterioso è pari a circa il 97-98%. D’altra parte, nel sangue venoso di ritorno dai tessuti la  $pO_2$  è di circa 40 mmHg e la saturazione dell’emoglobina il 75%.

Alcuni fattori come il pH, la temperatura e il 2,3-bisfosfoglicerato<sup>1</sup> influenzano la curva, infatti un aumento o diminuzione di questi valori agisce direttamente sulla affinità dell'emoglobina per l'ossigeno, spostando la posizione della curva (fig. 1.7) [17].

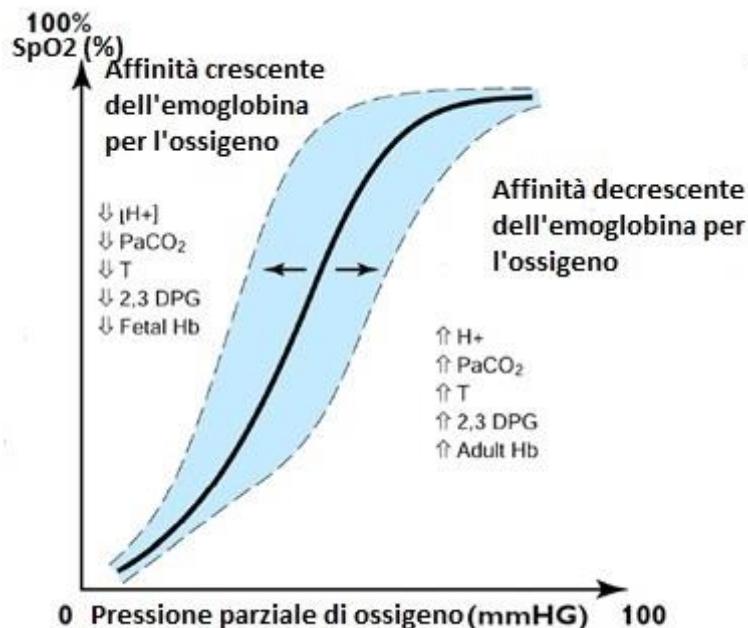


Fig. 1.7 – Influenza di alcuni fattori sulla curva di dissociazione  $\text{HbO}_2$  [26]

Il sangue di un soggetto normale contiene circa 15 grammi di emoglobina in 100 ml di sangue e ogni grammo di emoglobina può combinarsi con un massimo di 1,34 ml di  $\text{O}_2$ .

Pertanto l'emoglobina contenuta in 100 ml di sangue può legarsi quasi con 20 ml di ossigeno, quando essa è saturata al 100%: ciò viene normalmente espresso come *20 volumi di ossigeno per cento di sangue* (fig. 1.8). Passando attraverso i capillari tessutali, questa quantità si riduce in media a 14,4 ml di  $\text{O}_2$  ( $\text{pO}_2$  corrispondente a 40 mmHg e 75% di saturazione). Quindi, in condizioni normali, circa 5 ml di ossigeno vengono trasportati ai tessuti ogni 100 ml di sangue [16].

<sup>1</sup>Il 2,3- bisfosfoglicerato è la base coniugata dell'acido bisfosfoglicerico che si lega alla deossiemoglobina, stabilizzandone la struttura e diminuendo l'affinità per l'ossigeno. Una quantità elevata ostacola la formazione di  $\text{HbO}_2$ , influenzando la saturazione [17].

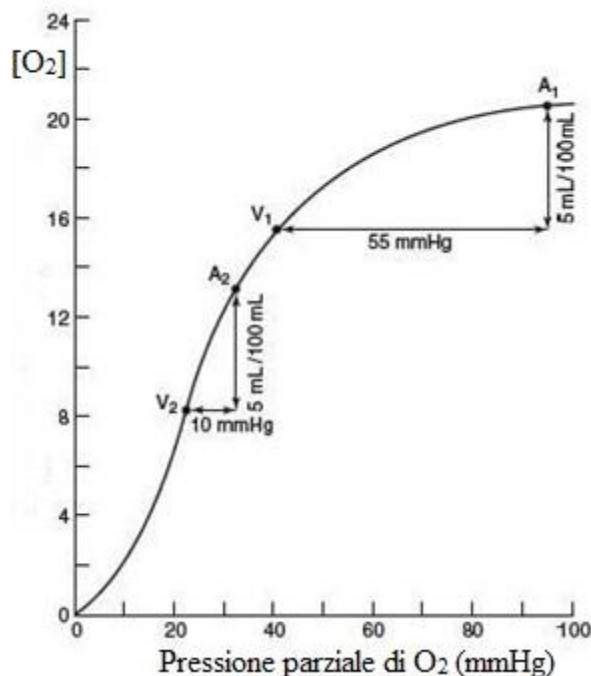


Fig. 1.8 – Concentrazione di  $O_2$  legato ad Hb in funzione della  $pO_2$

Il ruolo che assume l'emoglobina nel trasporto dei gas, in particolare per l'ossigeno, è fondamentale in quanto un eventuale deficit di questo trasporto non garantirebbe un adeguato ricambio a livello tessutale: il trasporto di  $O_2$  dissolto nel plasma è pari a 0,3 ml ogni 100 ml di sangue, una quantità oltre 60 volte inferiore alla quantità trasportata mediante il legame con l'emoglobina [26].

Inoltre l'emoglobina è il principale fattore responsabile del controllo della pressione dell'ossigeno nei tessuti. Durante un intenso esercizio fisico, si necessitano quantità di ossigeno molto maggiori a livello cellulare (fino a 20 volte). Un incremento di apporto di  $O_2$  può essere ottenuto con una riduzione della  $pO_2$  a livello tessutale fino a 15-25 mmHg, che aumenta il gradiente di pressione parziale tra capillari e tessuti e quindi il rilascio di ossigeno.

## 1.4 – Monitoraggio della saturazione

La saturazione dell'emoglobina rappresenta uno dei cinque parametri vitali più importanti per l'uomo. In ordine di importanza si hanno: frequenza cardiaca, temperatura corporea, pressione del sangue, respirazione e saturazione [6]. Il monitoraggio della saturazione ha

l'obiettivo di prevedere e controllare eventuali ipossie o iperventilazioni in soggetti con malattie respiratorie (BPCO o apnea), soggetti che praticano sport e fitness, pazienti sotto anestesia e post-operatori, anziani e neonati, soggetti cardiopatici. E' importante procedere ad una classificazione delle diverse forme di ipossia, su cui poter facilmente impostare le basi fisiologiche di una terapia con ossigeno. Quelle più ricorrenti sono [17]:

1. Insufficiente ossigenazione dei polmoni da cause extrapulmonari
  - a) deficienza di ossigeno nell'aria atmosferica
  - b) ipoventilazione polmonare (da disturbi neuromuscolari)
2. Malattie polmonari
  - a) Ipoventilazione da aumentata resistenza delle vie aeree o da diminuita *compliance* polmonare
  - b) Rapporto ventilazione-perfusione irregolare degli alveoli (con aumento dello spazio morto fisiologico)
  - c) Diminuita diffusione a livello della membrana respiratoria
3. *Shunt*<sup>2</sup> veno-arterioso (*shunt* cardiaco da destra a sinistra)
4. Insufficiente trasporto di ossigeno ai tessuti
  - a) Anemia o emoglobina anomala
  - b) Insufficienza generalizzata del circolo sanguigno
  - c) Insufficienze circolatorie distrettuali (periferica, coronarica, cerebrale)
  - d) Edema tessutale
5. Inadeguata capacità dei tessuti di utilizzare ossigeno
  - a) Avvelenamento degli enzimi cellulari
  - b) Diminuita capacità metabolica cellulare (intossicazioni o altri fattori)

L'ipossia se di grave entità, può provocare la morte cellulare, ma in casi meno gravi i suoi effetti principali consistono in depressione dell'attività cerebrale che può culminare in uno stato comatoso e nella diminuita capacità lavorativa dei muscoli. Alcuni degli effetti acuti principali sono sonnolenza, astenia, affaticamento mentale e fisico, talvolta emicrania, nausea e in qualche caso euforia. Quindi una delle conseguenze principali dell'ipossia è la riduzione dell'efficienza mentale, che altera la capacità di giudizio, la memoria e la capacità di movimento regolato [17].

---

<sup>2</sup> Lo *shunt* è una comunicazione diretta tra due compartimenti anatomicamente separati che causa un flusso anomalo di liquido. Lo *shunt* veno-arterioso è una fisiopatologia che mette in comunicazione sangue del circolo polmonare con quello del circolo sistemico [17].

### 1.4.1 – Emogasanalisi

L’emogasanalisi o ABG (*Arterial Blood Gas*) è un test che permette il monitoraggio dei gas nel sangue mediante prelievo dall’arteria brachiale o radiale. L’esame provvede a fornire informazioni riguardo l’ossigenazione e l’equilibrio acido-base nel sangue: i valori di  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , e pH determinano l’adeguatezza dell’ossigenazione sanguigna, la rimozione di  $CO_2$  e lo stato d’equilibrio respiratorio-metabolico. Questo test viene perlopiù effettuato quando il paziente si trova in terapia intensiva o nel corso di interventi chirurgici, per cui i risultati del test sono da correlare con lo stato fisiologico del paziente al momento del prelievo.

Il campione di sangue prelevato va analizzato rapidamente (entro 15-20 minuti), facendo attenzione che non si introducano bolle d’aria nella siringa *eparinata*, che altererebbero i risultati del test [1,9]. I risultati dei valori analizzati più significativi sono:

- Pressione parziale di  $O_2$  [75 - 100 mmHg]
- Pressione parziale di  $CO_2$  [35 - 45 mmHg]
- pH sangue [7,38 – 7,42]
- Saturazione dell’ossigeno [94 – 100%]
- Concentrazione di ioni  $HCO_3^-$  [22 – 26 mEq/L]

### 1.4.2 – Optrodi e fibre ottiche

Gli optrodi sono dei dispositivi che vengono utilizzati per la misura di gas, ioni e macromolecole. Sono costituiti da:

- una membrana polimerica che include un trasduttore chimico;
- un reagente che costituisce un materiale attivo, che contiene coloranti fluorescenti, assorbenti organici o indicatori chimici, aumentando la selettività chimica;

Dall’estremità opposta della membrana, l’optrodo si connette ad una fibra ottica che permette l’interazione tra sorgente di luce e rilevatore da una parte, e punta del sensore dall’altra (fig. 1.9)[37].

Il funzionamento dell'optrodo si basa sulla selettività della membrana che separa il sangue e il reagente: una sola sostanza ( $O_2$ ,  $CO_2$ , ecc) è in grado di attraversare la membrana e di combinarsi con l'agente fluorescente. La reazione chimica conseguente modifica le caratteristiche ottiche del reagente in proporzione con la quantità di sostanza che ha attraversato la membrana, la cui concentrazione è quindi misurabile attraverso il rilevatore di luce collegato con la sonda.

Il sensore è costituito da coloranti fluorescenti sensibili all'ossigeno come il perilene-dibutirato [31], la cui intensità di luce rilevata è inversamente proporzionale alla pressione parziale dell' $O_2$ :

$$I = \frac{I_0}{(1 + kpO_2)}$$

Dove  $I_0$  indica l'intensità della luce emessa per fluorescenza in assenza del colorante,  $I$  è l'intensità della luce rilevata dal light detector e  $pO_2$  è la pressione parziale di  $O_2$ .

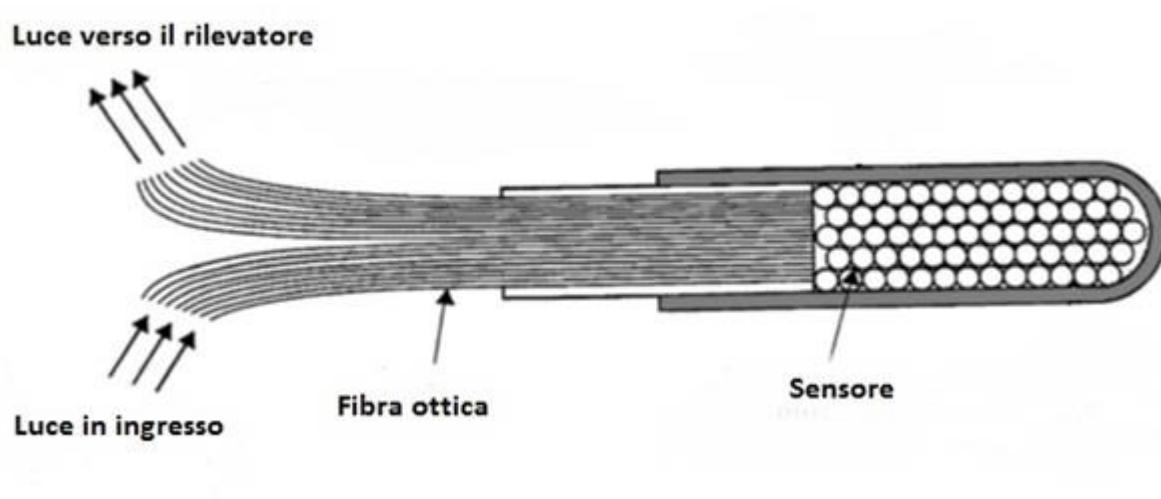


Fig. 1.9 – Optrodo colorimetrico per la misura di  $pO_2$  [4]

I sensori a fibra ottica permettono di monitorare in modo invasivo (generalmente intravascolare) e continuativo l'ossigeno nel sangue, correlando successivamente questo valore a quello della saturazione dell'ossigeno.

### 1.4.3 – Ossimetria ottica

L'ossimetria sfrutta le leggi ottiche di Lambert-Beer secondo cui spessori uguali di un certo materiale assorbono una frazione costante dell'energia luminosa (fig. 1.10) [4].

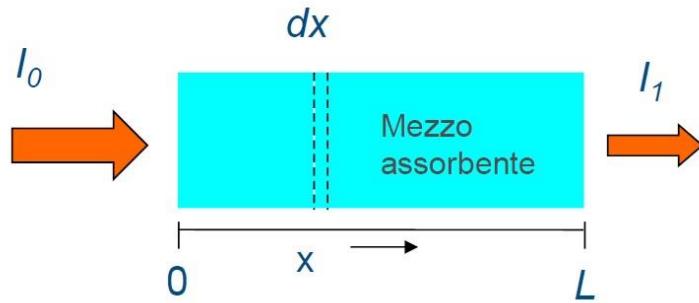


Fig. 1.10 – Luce entrante ed uscente da un mezzo [4]

Definiti:

$I_0$ : intensità di luce entrante nel mezzo assorbente

$I_1$ : intensità di luce uscente dal mezzo assorbente

$L$ : cammino ottico del campione, lunghezza in [cm]

$\alpha$ : coefficiente di assorbimento [ $cm^{-1}$ ]

$h$ : coefficiente molare di estinzione [ $L mol^{-1} cm^{-1}$ ]

$C$ : concentrazione del composto nella soluzione [ $mol L^{-1}$ ]

$$\frac{dI}{dx} = -\alpha I \quad \rightarrow \quad \frac{dI}{I} = -\alpha dx$$

e integrando per  $I$  in  $[I_0, I]$  e per  $x$  in  $[0, L]$  si ottiene:

$$\int_{I_0}^I \frac{1}{I} dI = \int_0^L -\alpha dx \quad \rightarrow \quad \ln(I) - \ln(I_0) = -\alpha L$$

$$\ln(I) = \ln(I_0) - \alpha L \quad \rightarrow \quad I = I_0 e^{-\alpha L}$$

$$I = I_0 e^{-hCL} \quad (\text{con } \alpha = hC) \quad [\text{Legge di Lambert-Beer}]$$

Quindi  $I$  è l'intensità di luce uscente dal mezzo, legata all'intensità di luce entrante nel mezzo da un esponenziale negativo. A questo punto è possibile definire la *trasmittanza*  $T$  e l'*assorbanza*  $A$  come:

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-hLC} \quad A = \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \ln\left(\frac{1}{T}\right) = hLC$$

I dispositivi per l'ossimetria ottica misurano la saturazione dell'ossigeno nel sangue valutando la differenza degli spettri di assorbimento di composti organici che trasportano l'ossigeno, ossia Hb nella sua forma ossigenata e deossigenata.

Vengono utilizzate delle sorgenti luminose costituite da LED di almeno due lunghezze d'onda diverse, la prima nel rosso ( $\sim 660$  nm), la seconda nel vicino infrarosso (tra 805 e 1000 nm).

Hb e  $\text{HbO}_2$  hanno differenze significative nell'assorbimento di luce rossa e infrarossa, in particolare l'ossiemoglobina assorbe maggiore quantità di luce infrarossa e minore di luce rossa, viceversa per l'emoglobina deossigenata (fig. 1.11). Questo è confermato dall'esperienza, in cui sangue arterioso (quindi ricco di ossigeno) appare all'occhio umano rosso vivo in quanto riflette maggiormente luce rossa rispetto al sangue venoso (povero di ossigeno) che invece ne assorbe di più [10].

Il coefficiente molare di estinzione  $h$  di Hb e  $\text{HbO}_2$  è uguale per  $\lambda = 805$  nm, per cui questa lunghezza d'onda è utilizzata come riferimento e prende il nome di *lunghezza d'onda isosbestica* (Fig. 1.11).

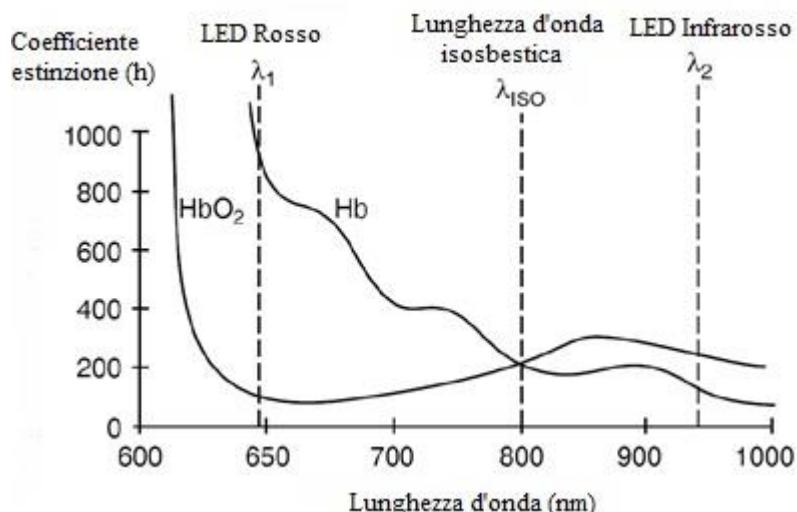


Fig. 1.11 – Spettri di assorbimento di Hb e  $\text{HbO}_2$  [4]

Dato che il sangue non è composto da una sola sostanza, applicando la legge di Beer ad un assorbitore multiplo (fig. 1.12) si ha:

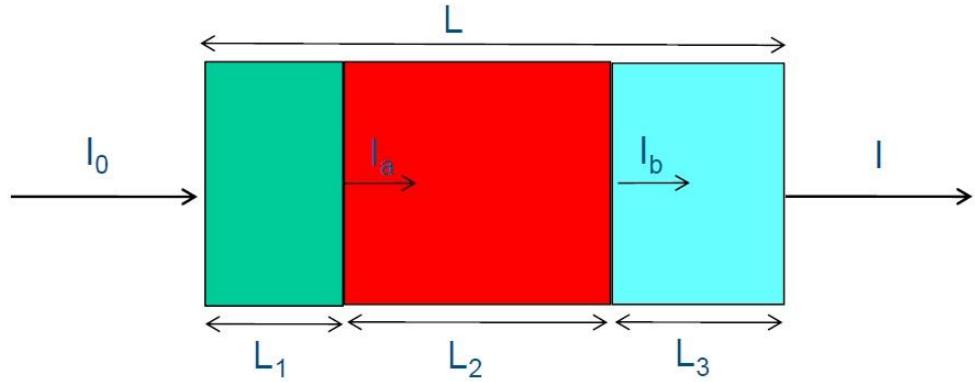


Fig. 1.12 – Assorbitore multiplo [4]

$$I = I_0 e^{-(h_1 C_1 L_1 + h_2 C_2 L_2 + h_3 C_3 L_3)}$$

per cui l'assorbanza totale risulta essere:

$$A_{tot} = \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) \quad \rightarrow \quad A_{tot} = \ln[e^{(h_1 C_1 L_1 + h_2 C_2 L_2 + h_3 C_3 L_3)}]$$

$$A_{tot} = h_1 C_1 L_1 + h_2 C_2 L_2 + h_3 C_3 L_3$$

Quindi l'assorbanza complessiva in un assorbitore multiplo, ossia con mezzi diversi al suo interno, è pari alla somma delle singole assorbanze in ciascun mezzo.

Analogamente, il sangue presenta due mezzi diversi al suo interno costituiti da emoglobina deossigenata ( $Hb$ ) e ossiemoglobina ( $HbO_2$ ).

Per cui l'assorbanza in un generico campione di sangue è pari a:

$$A = \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = L [h(Hb)C(Hb) + h(HbO_2)C(HbO_2)]$$

in cui  $L$  è il cammino ottico,  $C$  la concentrazione ed  $h$  il coefficiente molare di estinzione.

Effettuando quindi misure di assorbanza  $A$  a due diverse lunghezze d'onda ( $\lambda_1$  e  $\lambda_2$ ), le concentrazioni di emoglobina  $C(Hb)$  e di ossiemoglobina  $C(HbO_2)$  possono essere

determinate come incognite di un sistema di due equazioni lineari, in cui sono noti i coefficienti di estinzione  $h$  alle due lunghezze d'onda e la lunghezza del cammino ottico  $L$ .

$$\begin{aligned} C(Hb) &= \frac{[h(\lambda_{2,Hb})A(\lambda_1) - h(\lambda_{1,Hb})A(\lambda_2)]}{L} * [h(\lambda_{1,HbO_2})h(\lambda_{2,Hb}) \\ &\quad - h(\lambda_{2,HbO_2})h(\lambda_{1,Hb})] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C(HbO_2) &= \frac{[h(\lambda_{2,HbO_2})A(\lambda_1) - h(\lambda_{1,HbO_2})A(\lambda_2)]}{L} \\ &\quad * [h(\lambda_{1,Hb})h(\lambda_{2,HbO_2}) - h(\lambda_{2,Hb})h(\lambda_{1,HbO_2})] \end{aligned}$$

Le concentrazioni ricavate permettono il calcolo della saturazione dell'ossigeno nella così detta *ossimetria a trasmissione*.

Nell'*ossimetria a riflessione* (rispetto a quella a *trasmissione* cambia il posizionamento del rilevatore di luce rispetto agli emettitori; vedi paragrafo 1.4.3.3) la luce riflessa indietro è campionata alle due diverse lunghezze d'onda, per cui la saturazione dell'ossigeno viene stimata dalla seguente relazione:

$$SO_2 = A - B \frac{R(\lambda_1)}{R(\lambda_2)}$$

dove  $A$  e  $B$  sono costanti che dipendono dall'ematocrito ed  $R = \ln(I_0/I_r)$  è la riflettanza in cui  $I_0$  è l'intensità della luce incidente ed  $I_r$  è l'intensità della luce riflessa.

### 1.4.3.1 – Ossimetria ottica invasiva

L'ossimetria invasiva permette di misurare la saturazione dell'ossigeno in vivo, utilizzando due led a specifiche lunghezze d'onda ( $\lambda_{\text{rosso}}$  e  $\lambda_{\text{infrarosso}}$ ), un fotodiodo e una fibra ottica che permetta l'invio e la ricezione di questi segnali dal vaso sanguigno cui è connesso lo strumento (fig. 1.13).

I due led emettitori di luce vengono alternati con due circuiti diversi di generatori di impulsi, a loro volta sincronizzati con un circuito di lettura del fotodiodo in uscita.

I segnali analogici letti vengono poi inviati ad un elaboratore che è a sua volta connesso con un display su cui si visualizza la misura della saturazione del soggetto connesso allo strumento.

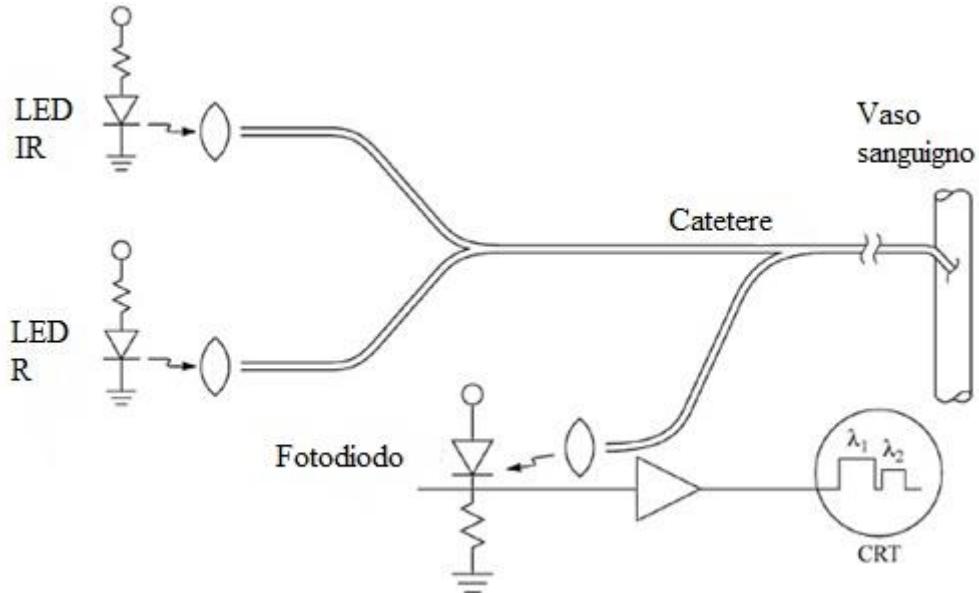


Fig. 1.13 – Schema di un sistema ad ossimetria invasiva [4]

### 1.4.3.2 – Pulsossimetria

Il problema dei metodi invasivi di monitoraggio della saturazione è relativo alla necessità di prelievo o di contatto diretto del sensore con il sangue del paziente con annessi rischi di infezione e di svantaggio per lo stesso paziente, che potrebbe essere non collaborante.

La pulsossimetria, invece, ha rivoluzionato la medicina moderna grazie alla sua capacità di monitorare in modo continuo e trans-cutaneo la saturazione dell'ossigeno nel sangue [34].

Si basa sugli stessi principi ottici dell'ossimetria, ma la sua maggiore rilevanza consiste nella dipendenza della misura dalla variazione di luce trasmessa o riflessa in seguito alla pulsazione arteriosa.

Il segnale varia in corrispondenza delle variazioni delle quantità di sangue che attraversano i tessuti: l'ammontare di luce assorbita cambia con il ciclo cardiaco. Questa caratteristica permette quindi il rilevamento della saturazione dell'ossigeno ( $\text{SpO}_2$ ) e della frequenza cardiaca (bpm) [20,30].

La pulsatilità rilevata avviene per variazioni di flusso sanguigno nelle arterie e nelle arteriole, mentre la quantità di luce assorbita nei tessuti, nelle vene e nel sangue arterioso non-pulsatile rimane costante e costituisce la componente continua del segnale (fig. 1.14).

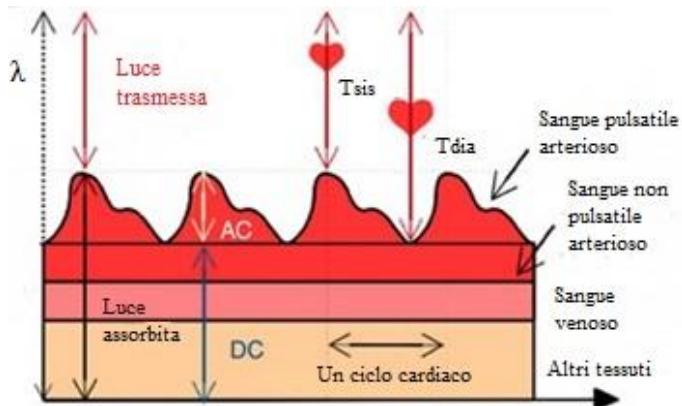


Fig. 1.14 – Luce assorbita da un pulsossimetro [27]

La quantità di sangue che aumenta in corrispondenza della fase sistolica è chiamata pulsatile o “*alternating current*” (AC), mentre quella che non varia con il ciclo cardiaco è detta non-pulsatile o “*direct current*” (DC) [22,23].

Il segnale luminoso proveniente dall'accensione alternata dei due LED pervade il tessuto e viene successivamente rilevato da un fotodiodo (PD). Si hanno due possibili configurazioni del sensore a contatto con la cute (fig. 1.15):

- se il fotodiodo è posto dalla parte opposta rispetto alle sorgenti luminose, allora il pulsossimetro è costituito da un sensore a *trasmittanza*;
- con fotodiodo dalla stessa parte dei led il sensore è a *riflettanza*.

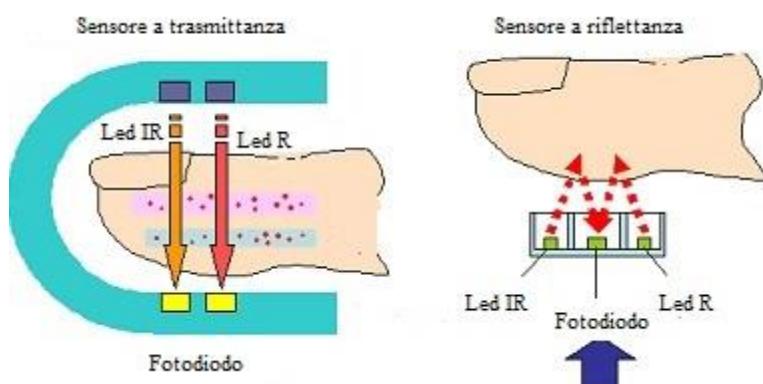


Fig. 1.15 – Sensore a *trasmittanza* (a sinistra) e a *riflettanza* (destra) [4]

Il fotodiodo legge i valori relativi alla luce assorbita o riflessa nel tessuto in corrispondenza dell'accensione alternata dei due led, per cui si ottengono due curve diverse in relazione a quale dei due led emetta luce (fig. 1.16) [15].

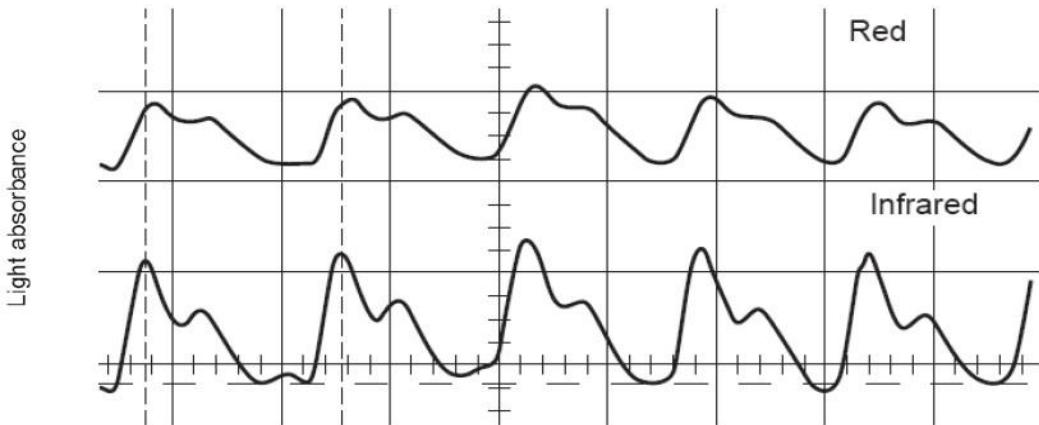


Fig. 1.16 – AC relativa a led R e IR [4]

E' possibile così avere due curve traslate tra loro in ragione della diversa lunghezza d'onda emessa, le cui variazioni sono imputabili alla pulsabilità del vaso arterioso.

Nei due segnali spesso si identifica un picco secondario per ogni battito cardiaco, detto onda dicrota. Ciò è il risultato della improvvisa chiusura della valvola aortica che causa un leggero incremento pressorio andando quindi ad interrompere la discesa dell'onda dopo il picco di pulsazione [10,27].

Vengono sfruttate le ampiezze delle assorbanze per poter calcolare il seguente rapporto:

$$R = \frac{AC_R/DC_R}{AC_{IR}/DC_{IR}}$$

ottenuto delle componenti pulsatile e continua alle due diverse lunghezze d'onda relative ai due led. Il calcolo di  $R$  è fondamentale nella fase di calibrazione di un sensore di pulsossimmetria in quanto costituisce il risultato empirico della misura attinente alle componenti AC e DC e permette di risalire al valore di saturazione dell'ossigeno, avendo trovato la curva di corrispondenza tra  $R$  e  $\text{SpO}_2$ . Una tipica curva di calibrazione di un pulsossimetro prevede alla diminuzione del valore di saturazione ( $\text{SpO}_2$ ) un aumento di  $R$  (fig. 1.17) [20].

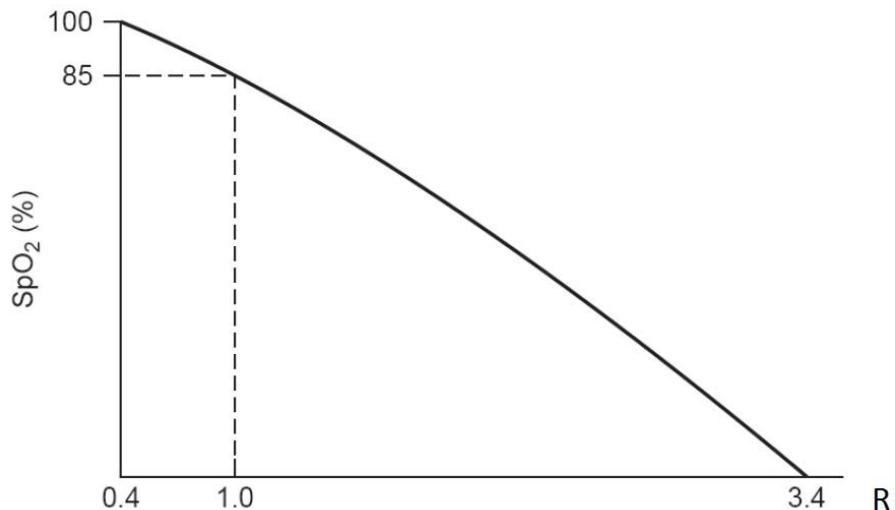


Fig. 1.17 – Curva di calibrazione di un pulsossimetro [4]

#### 1.4.3.2.1 – Design di un Pulsossimetro

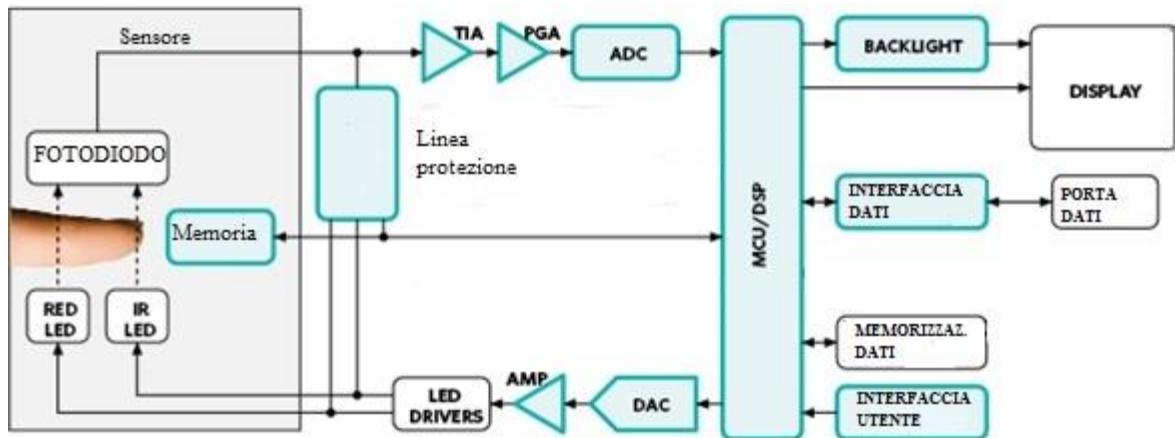


Fig. 1.18 – Block diagram di un pulsossimetro [41]

I led vengono controllati da un apposito circuito (*led drivers*) che permette un ciclo continuo delle seguenti istruzioni (fig. 1.19):

- accensione del led R al tempo 0 e spegnimento dopo un periodo di tempo T;
- spegnimento di entrambi i led per il successivo periodo T;
- accensione del led IR al tempo 2T e spegnimento al periodo 3T ;
- spegnimento di entrambi i led per il successivo periodo T;

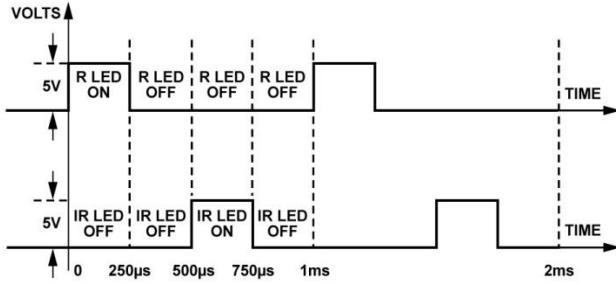


Fig. 1.19 – Controllo temporale dei led R e IR [39]

Il fotodiodo viene scelto in modo da avere un ampio range di risposta spettrale potendo così contenere e catturare entrambi gli spettri d'emissione dei due led.

L'intensità della luce rilevata dal fotodiodo dipende non soltanto dall'intensità della luce incidente su di esso, ma anche da altri fattori quali opacità della pelle, riflessione della luce su ossa e tessuti e quantità di sangue nel letto vascolare.

Se il segnale uscente dal fotodiodo è un segnale di corrente viene innanzitutto convertito in tensione mediante un TIA (*TransImpedanceAmplifier*) (fig. 1.20) tale da avere in uscita [38]:

$$V_{out} = I_p R_f$$

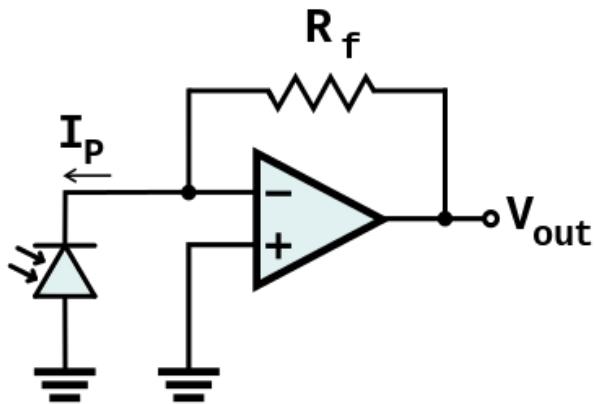


Fig. 1.20 – TIA [38]

Il segnale analogico uscente dal TIA viene amplificato, essendo un segnale biologico di piccola ampiezza, e successivamente filtrato per ridurre il rumore ambientale. In seguito passa attraverso un circuito di campionamento e discretizzazione (fig. 1.21).

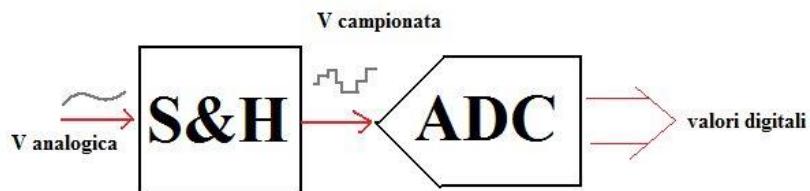


Fig. 1.21 – S&H e ADC [38]

Il campionamento avviene in ognuno dei 4 periodi di accensione/spegnimento dei due led, per cui si hanno 4 canali separati di suddivisione del segnale.

Questi circuiti vengono gestiti da un microprocessore che permette la configurazione di determinati processi da parte del programmatore e di conseguenza controlla e coordina le varie funzioni del sistema. Vengono svolte le opportune operazioni di calcolo real-time mediante algoritmi per poter correlare i valori dei dati acquisiti alla saturazione e alla frequenza cardiaca [2].

I dati estratti possono essere salvati e visualizzati su un display che indica i valori di SpO<sub>2</sub> e bpm; in alcuni pulsossimetri commerciali è presente anche la forma d'onda della pulsazione arteriosa nel tempo.

#### 1.4.3.2.2 – Applicazioni e limitazioni d’uso

Il tipo di pulsossimetro più diffuso in ambito ospedaliero è costituito da un sensore posto all'interno di una clip in cui poter alloggiare un dito della mano. Questa tipologia di sensore è a trasmittanza e sfrutta la trasparenza della zona distale della mano (fig. 1.22).

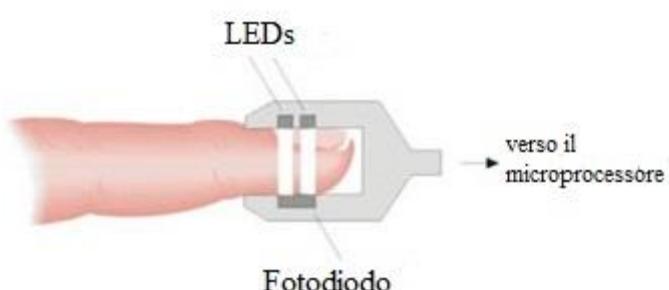


Fig. 1.22 – Sensore a trasmittanza nella clip [30]

Ciò permette al fotodiodo di catturare la quantità di luce trasmessa da ognuno dei due led nel passaggio attraverso il tessuto.

La clip è collegata ad un cavo che la connette alla base del dispositivo (fig. 1.23a), che acquisisce, processa ed elabora i segnali provenienti dal sensore, oltre a possedere un display che indica il valore di SpO<sub>2</sub>, bpm e la forma d'onda della pulsazione cardiaca (fig. 1.23b) [32].



Fig. 1.23 – Clip a dito (a) e display con parametri (b) [32]

Un esempio di questo sistema è il Radical-7 di Masimo® che presenta le caratteristiche indicate nella tabella 1. Sono presenti allarmi visivi ed acustici che permettono di avvisare il personale medico e provvedere così alle necessarie terapie [32].

Tabella 1: Caratteristiche Radical-7 Masimo

PERFORMANCE	RANGE	ACCURATEZZA		RISOLUZIONE	CALCOLO MEDIA OGNI TOT S		
		Range (70-100%)					
		NO MOV.	MOVIM.				
Saturazione (SpO <sub>2</sub> )	0-100%	±2 %	±3 %	1%	2,4,8,10, 12,14,16		
Frequenza cardiaca (bpm)	25-240 bpm	± 3 bpm	±5 bpm	1 bpm	2,4,8,10 12,14,16		
ALTRE CARATTERISTICHE							
Autonomia batteria				10 ore			
Temperatura di funzionamento				5 – 40 ° C			
Umidità di funzionamento				5 – 95 %			

Un altro dispositivo più moderno come Onix Vantage 9590 di Nonin® incorpora sensore con clip e parte elettronica in una singola unità. Ciò determina una maggiore portabilità e versatilità del dispositivo, in quanto si eliminano le sonde di connessione ed è possibile acquisire oltre che dalle dita della mano anche dalle dita del piede. Un piccolo display LCD permette di leggere i valori dei parametri acquisiti, tra i quali in alcuni dispositivi è rappresentata anche la forma d'onda del ciclo cardiaco. L'alimentazione è costituita da pile alcaline che permettono 36 ore di funzionamento continuo (fig. 1.24) [28].



Fig. 1.24 – Pulsossimetro portatile [28]

WristOx<sub>2</sub> 3150 di Nonin® è un dispositivo che permette un minore ingombro sul dito della mano essendo costituito dal sensore a clip connesso tramite un cavo ad un orologio da polso indossabile, che svolge la parte elettronica e di visualizzazione dei dati. Dall'ospedale a casa, è ideale per applicazioni come il monitoraggio ambulatoriale o durante la notte, fornendo ai pazienti maggiore indipendenza durante i controlli continui. Permette maggiore semplicità nel visualizzare i dati su un PC, connettendosi tramite porta USB o trasferendo i dati mediante tecnologia Bluetooth (fig. 1.25)[40].



Fig. 1.25 – Pulsossimetro ad orologio [40]

L'applicazione di una clip sul dito della mano è da una parte semplice, immediata e di veloce rimozione ma dall'altra presenta anche alcuni svantaggi:

- se l'utente monitorato utilizza smalto o unghie ricostruite, la luce dei led viene assorbita maggiormente e quindi la quantità trasmessa al fotodiodo risulta alterata [5];
- la clip è affetta da stress meccanico dopo multipli impieghi, per cui può perdere efficienza nello stringersi saldamente al dito;
- difficoltà di scelta nelle dimensioni per un utilizzo sia per bambini che per adulti;
- parziale inibizione nell'uso della mano connessa alla clip;
- possibile dolore che può sopraggiungere durante un'acquisizione continua.

Un'altra tipologia di monitoraggio utilizzata soprattutto in clinica è costituita da sensori a riflettanza, che permettono una soluzione dal volume ridotto e più leggera per il paziente. Inoltre la scelta d'impiego di questi sensori è determinata da possibili basse perfusioni periferiche o da lunghi monitoraggi, che evitino al paziente di essere inibito dall'uso della mano monitorata (con la classica acquisizione sul dito). Questa soluzione è maggiormente vantaggiosa anche per i bambini, infatti si utilizzano punti di applicazione che presentano range di movimento molto minori della mano [11]. Tra questi vi sono la fronte (Forehead SpO<sub>2</sub> di Covidien®; fig. 1.26), il naso (SpO<sub>2</sub> Adhesive Sensors di Covidien®; fig. 1.27) e il lobo dell'orecchio (Earlobe Sensor di Covidien®; fig. 1.28) .



Fig. 1.26 – Sensori a riflettanza applicati sulla fronte [16]



Fig. 1.27 – Sensore su naso [35]



Fig. 1.28 – Sensore su lobo dell'orecchio [13]

Queste diverse tipologie di sensori si connettono con la base del dispositivo tramite cavo e si applicano sulla cute con un adesivo o mediante una fascia che tenga fermo il sensore. I punti scelti per il monitoraggio sono tutti vicini alla testa, che presenta sempre una maggiore perfusione rispetto ai distretti distali del corpo [27].

Tra gli svantaggi di queste applicazioni vi sono:

- possibilità di ricollocazione della fascia intorno alla fronte;
- artefatti da movimento tra sensore e cute;
- effetto della colla sulle pelli fragili nella rimozione dell'adesivo;
- basso SNR.

Luogo di acquisizione	Tipologia di sensore	Vantaggi	Svantaggi	Utilizzo e specificità per soggetto
Dita mani	Trasmittanza	Immediatezza, semplicità, durata	Scomodità	Il più utilizzato; tutte le età
Fronte	Riflettanza	Accuratezza	Movimento sensore/cute;	Poco utilizzato, Bambini
Naso	Riflettanza	Versatilità	Colla adesivo sensore	Poco utilizzato; Anziani
Lobo orecchio	Trasmittanza oppure Riflettanza	Accuratezza	Colla adesivo sensore	Poco utilizzato: anziani

## 1.5 – Scopo dello studio

L’obiettivo di questo lavoro è quello di realizzare un pulsossimetro indossabile con sensore a riflettanza in una configurazione ad anello, da porre in corrispondenza della prima falange di un dito della mano.



Per fare ciò è necessario innanzitutto costruire il sensore per l’acquisizione del segnale biologico e realizzare la parte elettronica e di elaborazione dei dati in modo da stimare la saturazione dell’ossigeno e la frequenza cardiaca.

La scelta di un anello in questa configurazione del sensore è determinata da diversi fattori:

- rendere un oggetto indossabile nel quotidiano come parte integrante di un dispositivo che monitori SpO<sub>2</sub> e bpm;
- garantire maggiore comodità per monitoraggi continuativi nel tempo rispetto al più diffuso sensore a trasmittanza inserito nella clip a dito;

- determinare più ampia libertà durante l'acquisizione, ossia svolgere varie attività al di fuori dell'ambiente strettamente ambulatoriale o ospedaliero;
- indurre maggiore versatilità nella scelta del dito della mano;
- assicurare stabilità dell'anello intorno alla falange per evitare artefatti da movimento;
- sfruttare per l'acquisizione la parte inferiore della falange, dotata di una ampia distribuzione di arterie in prossimità della superficie cutanea.

Si ha come obiettivo l'estensione del monitoraggio di due tra i cinque più importanti parametri vitali oltre che per finalità cliniche anche per attività sportive, fitness, altitudine o varie situazioni quotidiane. Tutto questo è necessario garantendo ampia mobilità nei movimenti del soggetto, senza restrizione particolari di atti o gesti [36].

La scelta di un sensore a riflettanza permette una ampia scelta di porzione cutanea cui poter effettuare la rilevazione del segnale biologico e ha il vantaggio di un tempo di risposta minore rispetto alla trasmittanza [7,12].

Nelle dita della mano l'apporto di sangue arterioso, oggetto della rilevazione, è dato dai rami vascolari che derivano dalle arterie digitali passanti alle due estremità del dito. Vi è simmetria tra le arterie digitali di ogni dito della mano ad esclusione del pollice, che è composto da sole due falangi, rispetto alle tre delle altre quattro dita (fig. 1.29) [25,29].

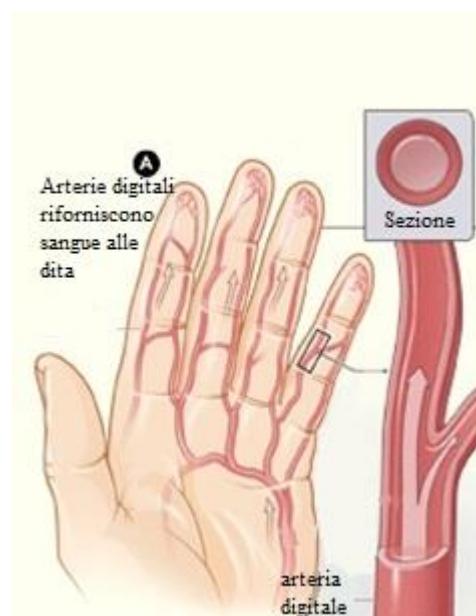


Fig. 1.29 – Vasi arteriosi delle dita della mano [29]

Questa configurazione anatomica permette di sfruttare i vasi arteriosi per la rilevazione del segnale di pulsossimetria [21]. In particolare il sensore va posto nella zona inferiore della falange prossimale (fig. 1.30), evitando la parte superiore per una eventuale presenza di peluria che altererebbe la luce catturata dal fotodiodo [25] .

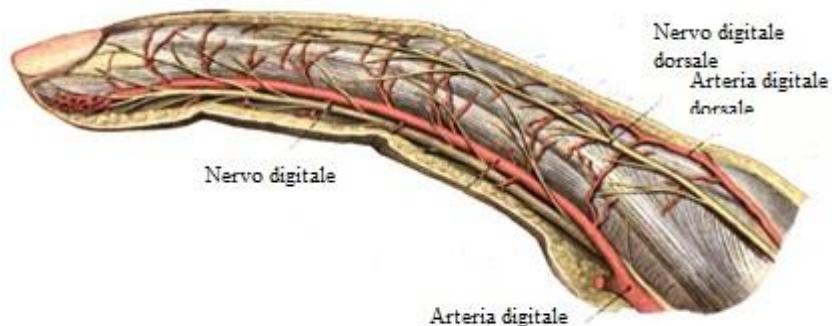


Fig. 1.30 – Arterie digitali [33]

Il segnale acquisito deve essere sottoposto ad una elaborazione per poter ricavare i valori oggetto della misurazione. Ciò può essere svolto dalla stessa parte elettronica cui è connesso il sensore che gestisce i led e il fotodiodo oppure da una interfaccia con elaboratore. Il risultato dei valori di saturazione e di frequenza cardiaca viene visualizzato real-time e il tracciato del ciclo cardiaco può essere salvato per una successiva analisi.

Nel prossimo capitolo verrà descritto l'approccio metodologico adottato, che si suddivide in due soluzioni intraprese: la prima prevede lo sviluppo di diversi sensori di pulsossimetria a *riflettanza* interfacciati con AFE4400 di Texas Instrument®; la seconda, lo sviluppo del firmware utilizzando come hardware PSoC 4 di Cypress® per il controllo e l'acquisizione di dati da un sensore a *riflettanza*.

Nel capitolo 3 saranno esposti i risultati delle acquisizioni relativi ad entrambe le soluzioni sviluppate, infine nel capitolo 4 verrà discusso ciò che i risultati avranno dimostrato.

# CAPITOLO 2 : Materiali e metodi

## 2.1 – Architettura del sistema

L’obiettivo di questo lavoro è quello di progettare e costruire un sensore a riflettanza per l’acquisizione dei dati di pulsossimmetria, posto all’interno di un anello indossabile su un dito della mano. L’architettura del sistema che si intende sviluppare prevede una prima parte relativa alla trasmissione del segnale che consiste nell’accensione in modo alternato dei due led R e IR per un periodo di tempo pari a 0,5 ms, separati tra loro da medesimi periodi in cui non viene trasmesso alcun segnale luminoso. Una seconda parte è invece relativa alla ricezione del segnale costituita dagli stadi di amplificazione, filtraggio e campionamento che costituiscono il circuito di condizionamento del segnale ottico del fotodiodo. I dati in uscita del segnale vengono inviati dal sistema tramite connessione USB ad un PC, permettendo l’analisi del tracciato di pulsossimmetria mediante algoritmi che calcolano i parametri di saturazione.

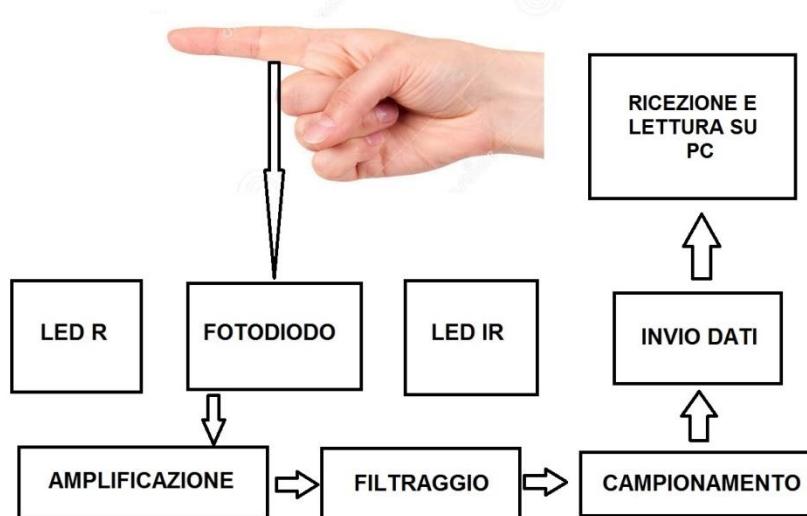


Fig. 2.1 – Architettura del sistema

Sono state realizzate tre configurazioni di sensori che prevedono un numero diverso di led e fotodiodi (vedi par. 2.2) per valutare eventuali differenze nei risultati delle acquisizioni. La scelta dei componenti SMD per i led R e IR e per il fotodiodo è riportata nel par. 2.2.1 in cui vengono descritte le caratteristiche ottiche ed elettriche di ciascun componente. L’utilizzo di un sensore a riflettanza prevede l’impiego di un front end analogico che consente la gestione e il controllo dei dati del sensore dal pc di acquisizione.

Nella prima fase del progetto è stato utilizzato AFE4400 di Texas Instrument®, un front end realizzato per l’interfaccia con applicazioni medicali, che in particolare permette la gestione di una delle tre configurazioni di sensori per pulsossimetria sviluppati ed il monitoraggio della frequenza cardiaca (par. 2.3). AFE4400 integra su un singolo *package* il circuito di guida dei led e quello di condizionamento del segnale del fotodiodo. E’ possibile il settaggio specifico dei parametri di alimentazione dei led e degli stadi successivi alla ricezione del segnale letto dal fotodiodo (par. 2.3.1). AFE4400 è dotato di un software di acquisizione che si interfaccia con l’hardware per la visualizzazione in tempo reale dei quattro tracciati del segnale (led R, ambiente R, led IR, ambiente IR) e per il salvataggio dei dati di pulsossimetria su foglio di calcolo Microsoft Excel© (par. 2.3.2). La configurazione dei componenti e le relative connessioni sono riportate nel par. 2.3.3. Successivamente alla fase di memorizzazione vi è la parte di elaborazione del segnale, in cui tramite specifici algoritmi eseguiti su Matlab® è possibile analizzare il tracciato del segnale con la ricerca dei punti che identificano il ciclo cardiaco nelle corrispondenti fasi di sistole e diastole, in modo da calcolare il coefficiente R per ogni pulsazione (par. 2.3.4). La scelta definitiva di front end è rappresentata dall’utilizzo di PSoC® 4 BLE di Cypress una soluzione che rappresenta la preferenza del progetto e che verrà utilizzato soltanto con una tipologia di configurazione di sensori sviluppati (par. 2.4). PSoC è un sistema dotato di logica programmabile su chip che integra performance analogiche, una memoria flash da 128 KB ed un microcontrollore su un unico chip (par. 2.4.1). Nel paragrafo 2.4.2 sono descritti nel dettaglio gli stadi del circuito che si intende sviluppare con il PSoC e le dinamiche di acquisizione. Per fare ciò, il sistema possiede alcuni componenti interni (OpAmp, ADC, UART, Timer; par. 2.4.3) in cui ognuno di essi è configurabile nel software di gestione PSoC® Creator in un IDE (*Integrating Device Environment*) permettendo la realizzazione del circuito tramite connessione dei componenti. Nel par. 2.4.4 viene descritta la parte firmware in cui vengono date le istruzioni ai componenti e la loro interazione nel programma.

Il circuito progettato sul software comunica con un’altro esterno mediante le porte dei pin analogico-digitali della *Baseboard* del PSoC. Il circuito esterno viene sviluppato dapprima su breadboard e successivamente su un PCB (*Printed Circuit Board*) dotati entrambi di resistenze e condensatori opportuni (vedi par. 2.4.5). I dati del segnale acquisito vengono

inviai mediante comunicazione seriale UART USB al PC, in cui avviene la fase di lettura e di calcolo dei parametri di pulsossimetria in tempo reale (par. 2.4.6).

## 2.2 – Progettazione EAGLE e sviluppo di 3 configurazioni di sensori

Cadsoft Eagle® è un software che permette la progettazione di circuiti elettronici finalizzato alla realizzazione di PCB (*Printed Circuit Board*).

Per l’interfaccia con AFE4400 sono stati sviluppati 3 diverse configurazioni di sensori: la possibilità di realizzare differenti tipologie di sensori deriva dal proposito di mettere a confronto il segnale di pulsossimetria ottenuto da ognuno di essi. In questo modo è possibile identificare tre parametri (SNR, ampiezza componente pulsatile AC e fissa DC; cap. 3.1) su cui poter effettuare un confronto statistico. Le configurazioni sono composte dalla stessa tipologia di componenti (vedi par. 2.2.1), ciò che varia è il loro numero, che determina una specifica board. Si riportano di seguito le tre configurazioni utilizzate con AFE:

la configurazione 1 prevede l’utilizzo dei due led R e IR e di un fotodiodo (Configurazione 1; fig. 2.2-2.3). Le dimensioni della *board* sono  $15 \times 12$  mm.

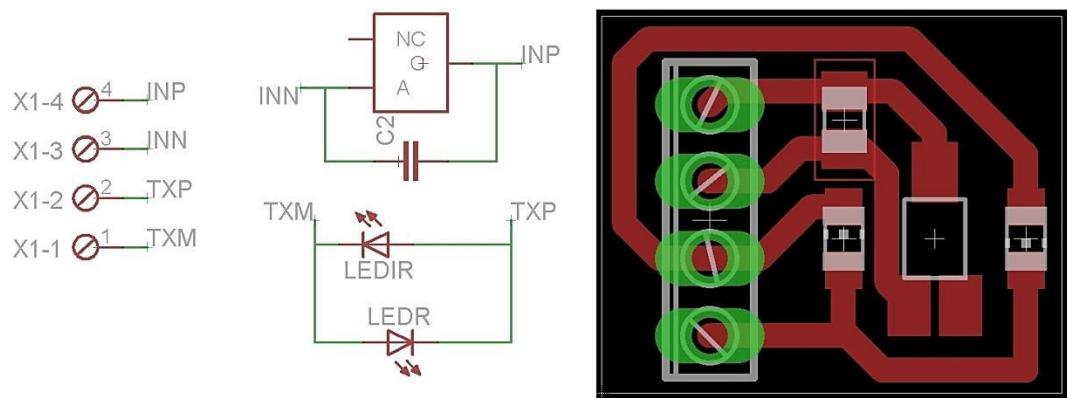


Fig. 2.2 – Schematico e *board*, configurazione 1

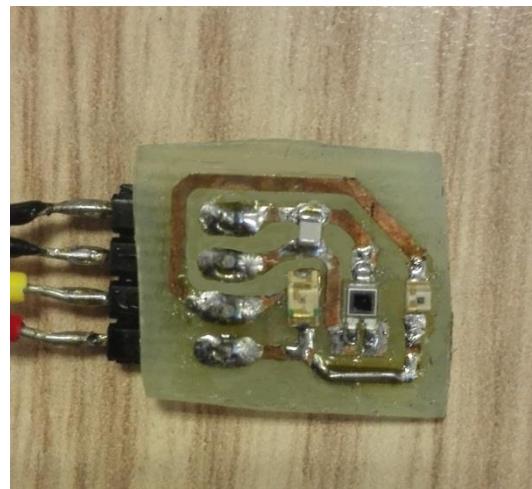


Fig. 2.3 – Configurazione 1

La seconda configurazione è analoga alla prima ma con l'aggiunta di un secondo fotodiodo in serie al primo (configurazione 2; fig. 2.4-2.5). Le dimensioni sono  $23 \times 15$  mm.

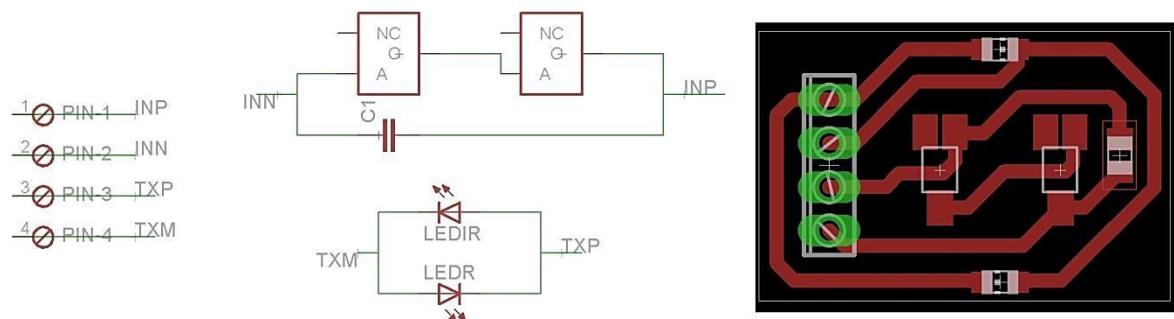


Fig. 2.4 – Schematico e *board*, configurazione 2

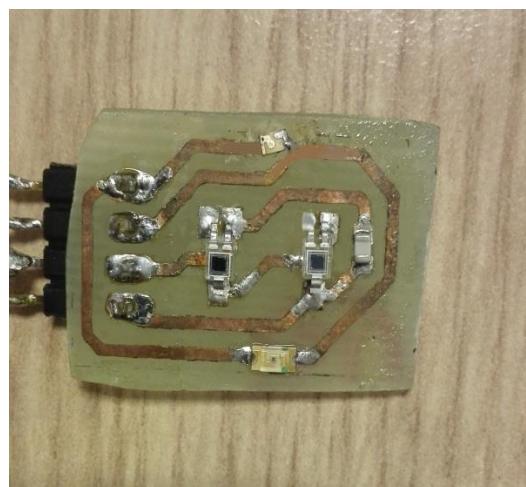


Fig. 2.5 – Configurazione 2

La configurazione 3 è invece costituita da 4 led (2 R in serie e 2 IR in serie ) e da due fotodiodi in serie (Configurazione 3; fig. 2.6-2.7). Ha dimensioni  $22 \times 14$  mm.

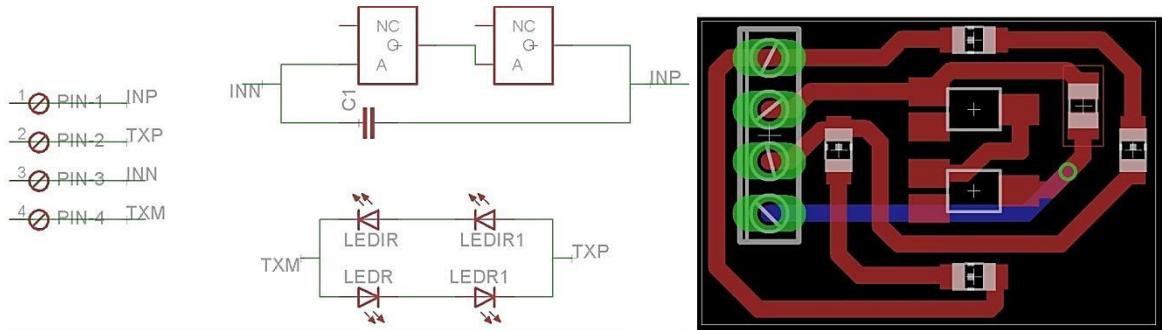


Fig. 2.6 – Schematico e board, configurazione 3

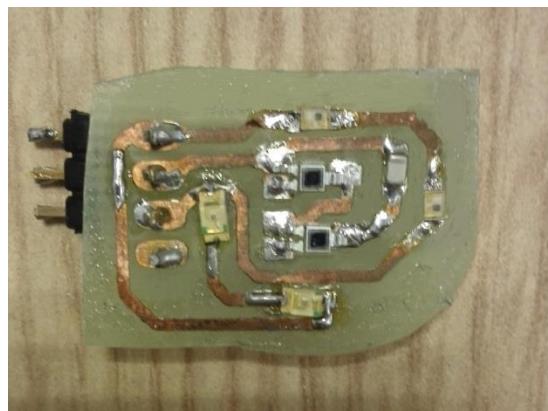


Fig. 2.7 – Configurazione 3

Per l’interfaccia con il PSoC verrà utilizzato la configurazione 4, composta dai due led R e IR e da un fotodiode, ossia presenta la stessa della configurazione 1. A differenza di quest’ultima, però, è stato possibile sfruttare nella realizzazione i 2 *layer* della board che permettono il passaggio delle piste conduttrive da uno strato all’altro mediante dei “via” (fori dotati nelle pareti interne di materiale conduttore).

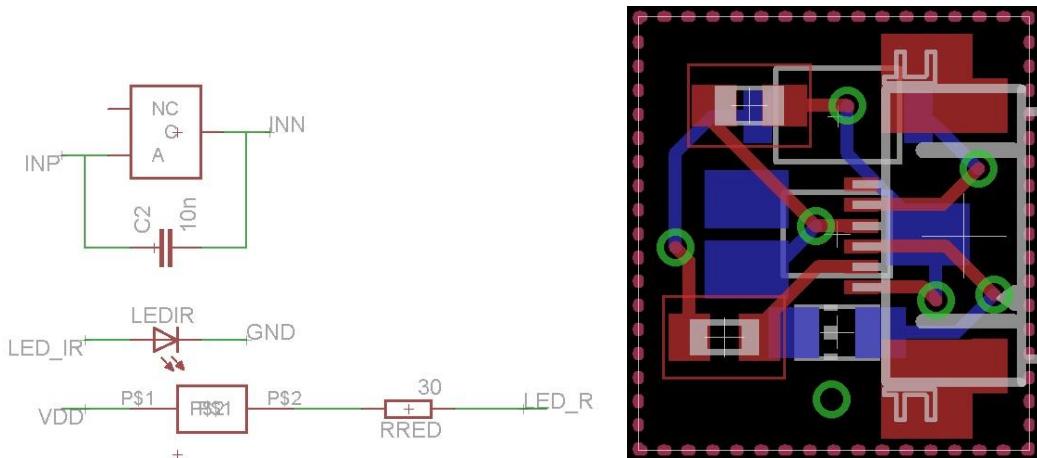


Fig. 2.8 – Schematico e board, Configurazione 4

La configurazione 4 presenta una grandezza minore rispetto alla 1, infatti le sue dimensioni sono  $9,5 \times 10,5$  mm (fig. 2.9).

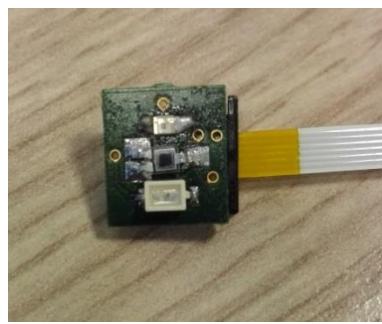


Fig. 2.9 – Configurazione 4

## 2.2.1 – Componenti utilizzati

Avendo descritto i progetti delle board, si riporta in questo paragrafo la descrizione delle caratteristiche elettriche ed ottiche dei componenti utilizzati per lo sviluppo dei sensori.

Il led R scelto è il KPC-3216SRC-PRV di Kingbright®, un chip led di tipo SMD (*Surface Mounting Device*). In fig. 2.10 è rappresentato il *package* ( $3,2 \times 1,6 \times 1,1$  mm). Sono presenti alle estremità del lato del catodo due marcatori, ossia dei trattini neri che permettono la corretta identificazione del catodo rispetto all'anodo.

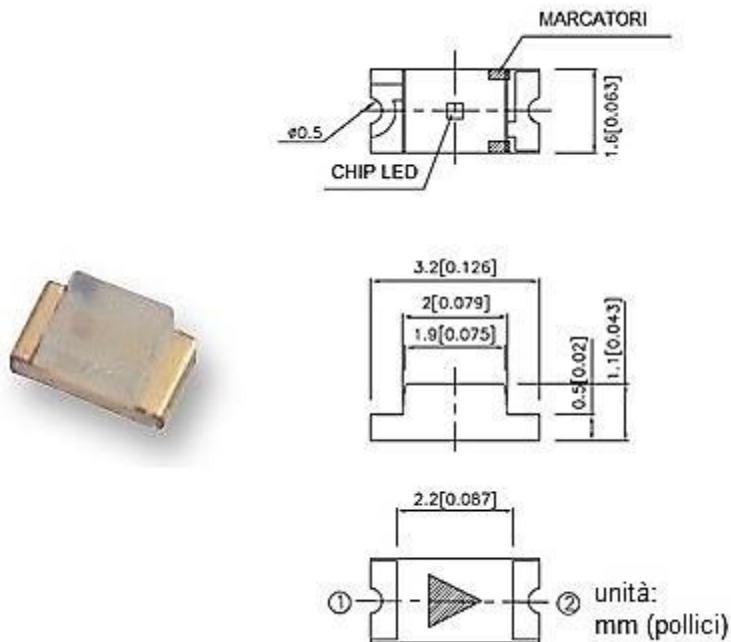


Fig. 2.10 – KPC-3216SRC-PRV (a sinistra) e dimensioni e package (a destra) [46]

La fig. 2.11 mostra come l'intensità relativa radiante sia massima in corrispondenza della lunghezza d'onda di picco  $\lambda=660$  nm. L'intensità luminosa è pari a 80 mcd alla corrente di 20 mA.

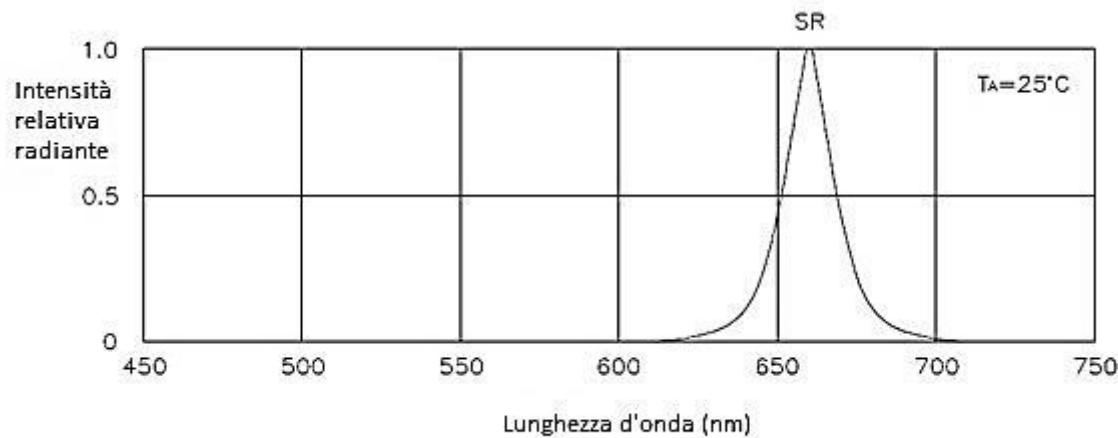


Fig. 2.11 – Lunghezza d'onda – intensità relativa radiante [46]

In fig. 2.12, a sinistra, è rappresentato l'andamento della corrente, che raggiunge 20 mA per una tensione  $V=1,85$  V ed una massima corrente di 30 mA in corrispondenza di 1,9 V.

A destra, invece, è riportato l'incremento lineare dell'intensità luminosa relativa in funzione della corrente.

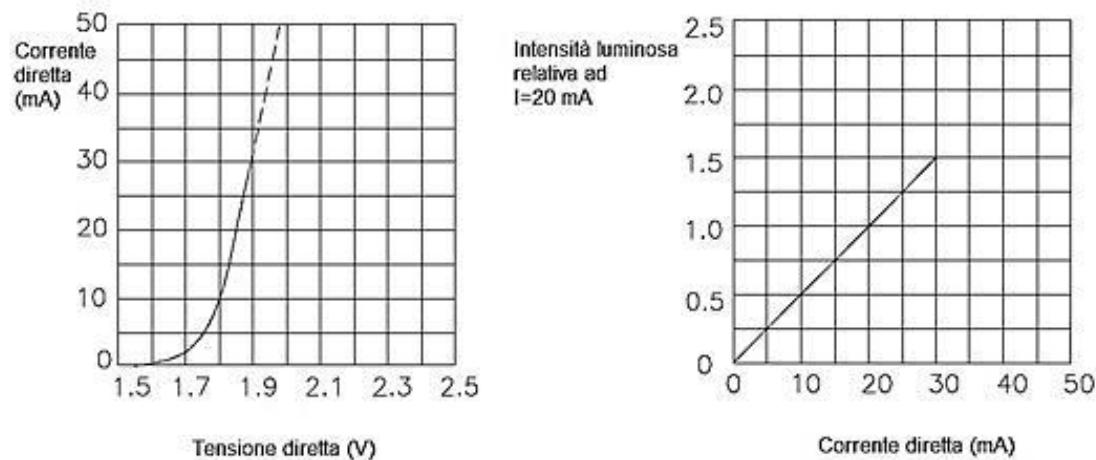


Fig. 2.12 – Caratteristiche elettriche e luminose led R [46]

Il led IR utilizzato è OIS-170 880 di Osa Opto Light®, anch'esso chip led con tecnologia SMD. Le dimensioni e il *package* sono riportati in fig. 2.13.

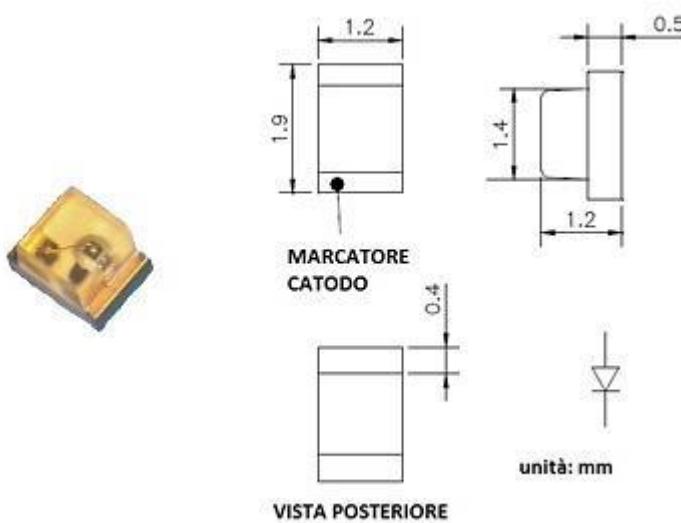


Fig. 2.13 – OIS-170 880 (a sinistra) e dimensioni e package (a destra) [45]

Anche in questo caso il marcitore su un lato del led ne identifica la polarità (catodo).

La lunghezza di picco è in corrispondenza di  $\lambda=880$  nm. La fig. 2.14 riporta l'andamento logaritmico della corrente in funzione della tensione di alimentazione (a sinistra) e

l’incremento lineare dell’intensità luminosa relativa in funzione della corrente circolante nel led (a destra).

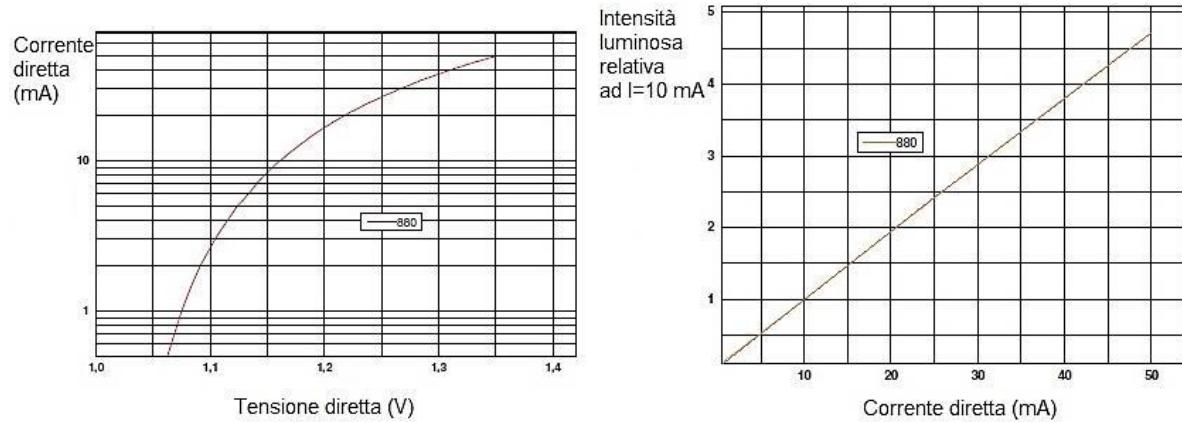


Fig. 2.14 – Caratteristiche elettriche e luminose led IR [45]

Il fotodiodo SMD scelto è SFH2400-Z di Osram®. Il componente presenta da un lato due piedini metallici corrispondenti all’anodo e ad un piedino “non connesso”, dall’altro lato un singolo piedino contraddistingue il catodo. Le dimensioni e il *package* sono mostrati in fig. 2.15.

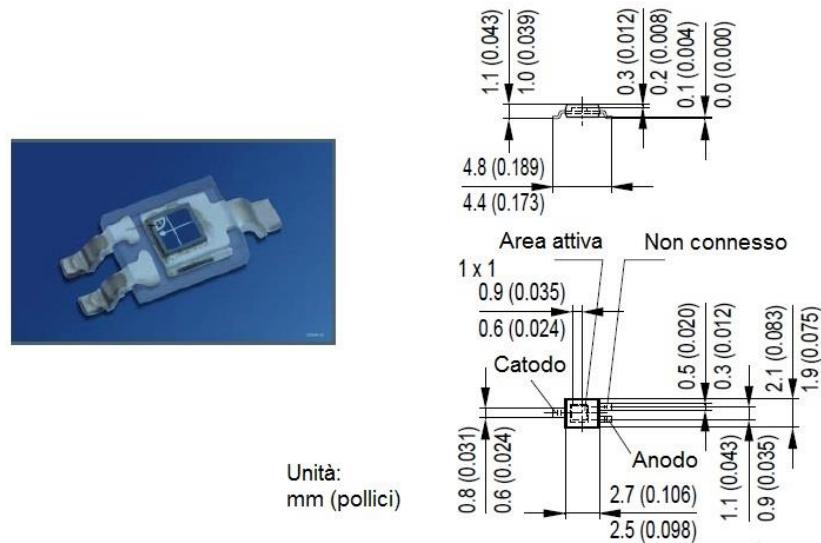


Fig. 2.15 – SFH2400-Z (a sinistra) e *package* e dimensioni (a destra) [44]

L’area attiva, ossia la superficie sulla parte superiore del componente in grado di catturare光子, è pari a  $1 \text{ mm}^2$ . La sensitività spettrale relativa è compresa tra 400 e 1100 nm, con

massimo valore per  $\lambda=850$  nm (fig. 2.16). Ciò influisce sulla diversa alimentazione dei due led, i cui valori sono riportati nel par. 2.4.1 con il sensore interfacciato con AFE4400 e nel par. 2.5.3 con il sensore connesso al PSoC.

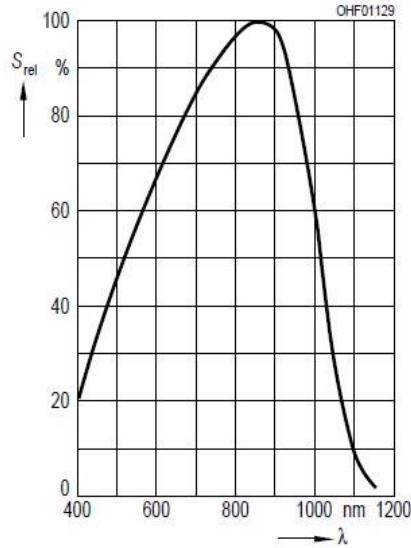


Fig. 2.16 – Sensitività spettrale relativa [44]

L'angolo di ingresso dei fotoni all'interno dell'area attiva, rispetto alla normale, influenza la sensitività spettrale relativa ( $S_{rel}$ ): in fig. 2.17 si può notare come  $S_{rel}$  diventa il 50% per un angolo di incidenza pari a  $60^\circ$ , diminuendo fino a 0 in corrispondenza di  $90^\circ$ .

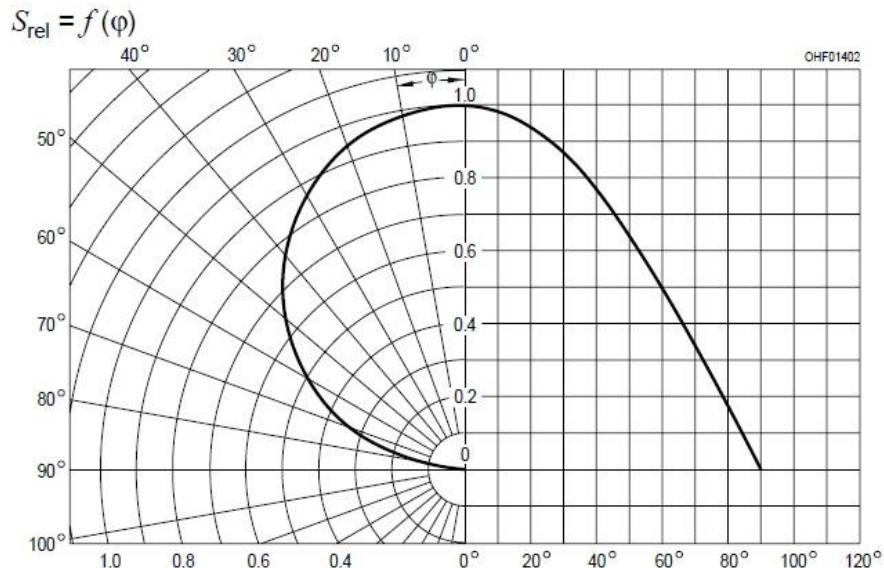


Fig. 2.17 –  $S_{rel}$  e angolo di incidenza [44]

La corrente di buio è pari a 1 nA, mentre gli andamenti in scala logaritmica della photocorrente  $I_p$  e della tensione a circuito aperto  $V_0$  in funzione dell'energia luminosa ( $E_v$ ) espressa in lx sono rappresentati in fig. 2.18:

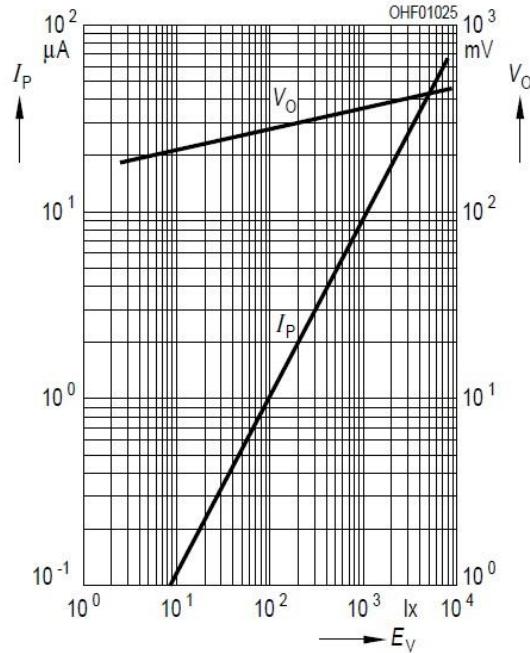


Fig. 2.18 –  $I_p$  e  $V_0$  in funzione di  $E_v$  [44]

## 2.3 – Prove preliminari con AFE4400

Per interfacciare il sensore esterno con il pc di acquisizione la prima scelta è ricaduta su AFE4400, un front-end analogico completamente integrato, ideale per applicazioni di pulsossimetria, sviluppato da Texas Instrument® (fig. 2.19). L'alimentazione fornita tramite la porta USB e la connettività col software installato su PC determinano una semplice e comoda interfaccia per l'utente. AFE4400 interagisce con una delle configurazioni di sensori a *riflettanza* (configurazione 1, 2 o 3) descritti precedentemente, gestendo e acquisendo i dati mediante un connettore DB9. Lo scopo di questa prima parte del progetto è quello di utilizzare AFE per poter discriminare la tipologia di configurazione più adatta da interfacciare con il PSoC, nella successiva fase del lavoro.

Il dispositivo è costituito da un canale ricevente a basso rumore con un convertitore analogico digitale (ADC), una sezione di trasmissione led, un'altra per la diagnostica del sensore e la rilevazione guasti del led. Viene permessa la gestione e la configurazione del controllo dei tempi, caratteristica che determina flessibilità all'utente per il completo

controllo del dispositivo. Il dispositivo comunica con un microcontrollore esterno o con un processore utilizzando un interfaccia SPI (*Serial Peripheral Interface*) [42]. Gli elementi che compongono AFE4400 sono:

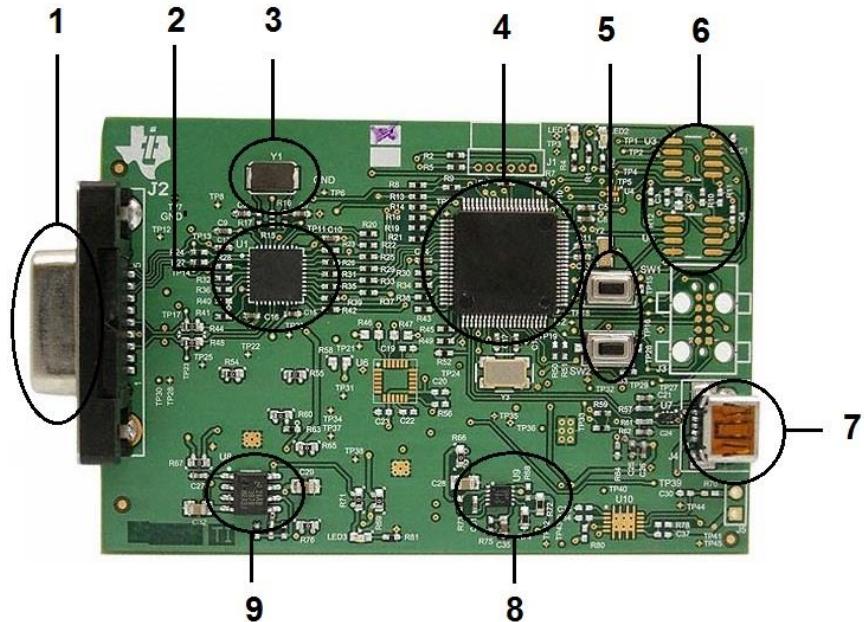


Fig. 2.19 – AFE4400 [42]

- 1) Connettore DB-9 F;
- 2) Front End Analogico;
- 3) Clock;
- 4) Microcontrollore MSP430;
- 5) Pulsanti utente;
- 6) 2Mb Serial FeRam;
- 7) Connettore mini-USB;
- 8) Regolatore Voltaggio IC;
- 9) Regolatore LDO IC;

In Appendice A sono riportate le configurazioni dei 40 pin e le relative funzioni.

### 2.3.1 – Diagramma a blocchi

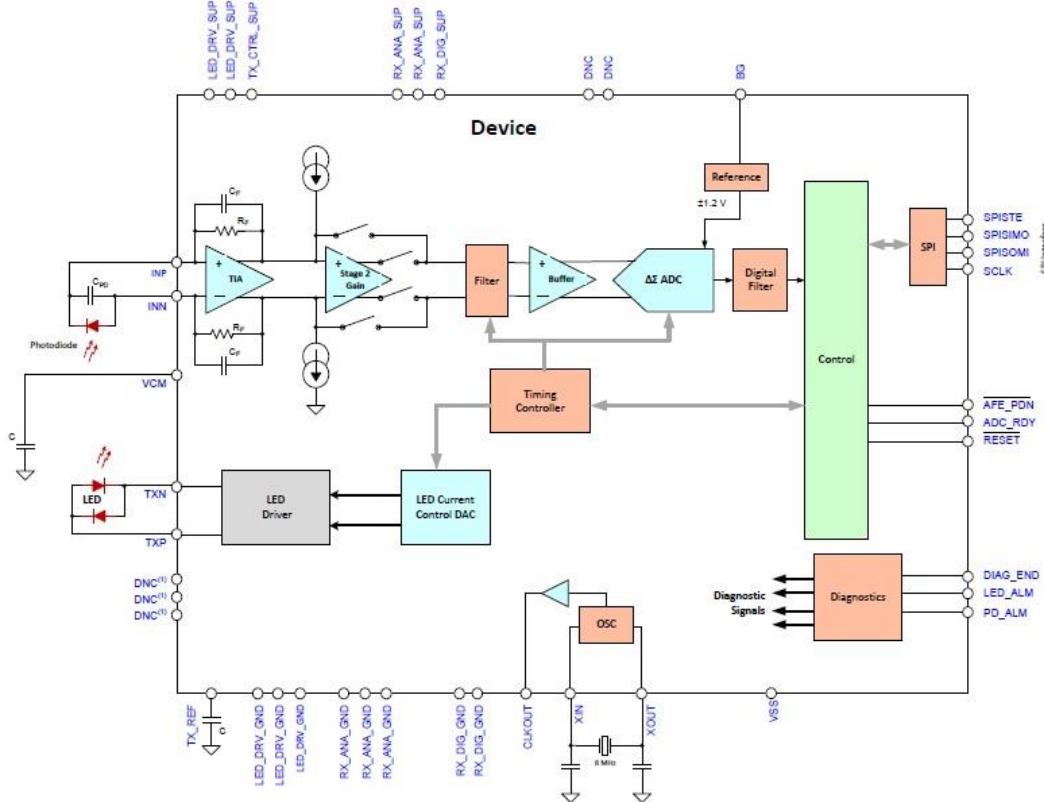


Fig. 2.20 – Diagramma a blocchi funzionale [42]

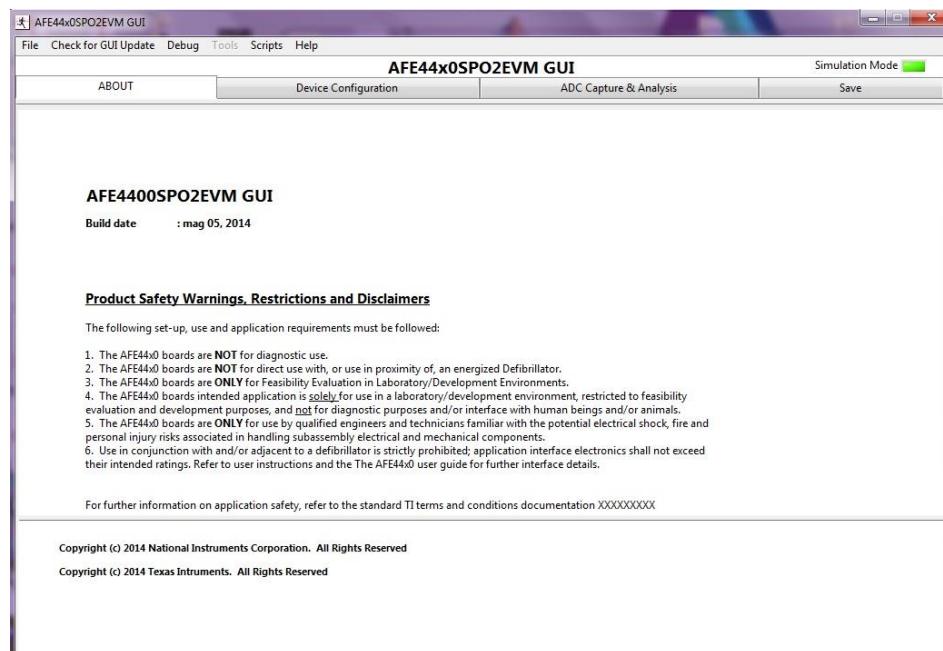


Fig. 2.21 – Interfaccia Software

Nella fig. 2.20 sono rappresentati i diversi blocchi che costituiscono AFE4400, che includono il canale trasmissivo e il canale ricevente, invece in fig. 2.21 è riportata l’interfaccia software con l’utente.

La sezione di trasmissione, che consiste nel circuito che genera l'accensione e lo spegnimento dei led, integra il LED *driver* e la corrente di controllo dotata di 8 bit di risoluzione. L'intensità delle correnti che alimentano i due led possono essere settate in modo indipendente l'una dall'altra e sono state scelte rispettivamente di 11 mA per il led R e di 5 mA per il led IR, con un massimo valore settabile per entrambe di 50 mA.

Sono supportati due schemi differenti per il LED *driver*: il primo prevede la configurazione *push-pull*, il secondo quella *H-bridge*; quest'ultima viene utilizzata per questo progetto (fig. 2.22).

*H-bridge* è un circuito costituito da quattro interruttori (due per ramo) che, chiudendosi in modo incrociato permettono il funzionamento bidirezionale dei due led posti in antiparallelo in presenza di una sola alimentazione.

Il pin LED\_DRV\_SUP fornisce la tensione di alimentazione per entrambi i led. Il minimo di questa tensione è dato dal valore maggiore tra la tensione di 3,0 V e la formula seguente:

$$(1,0 + V_{CABLE} + V_{LED})$$

in cui  $V_{CABLE}$  è la caduta di tensione su cavi, connettori o altri componenti in serie al led e  $V_{LED}$  è la massima caduta di tensione attorno ai capi del led (alla massima corrente supportata). Il massimo di tensione, invece, sostenuto dal pin LED\_DRV\_SUP è 5,25 V.

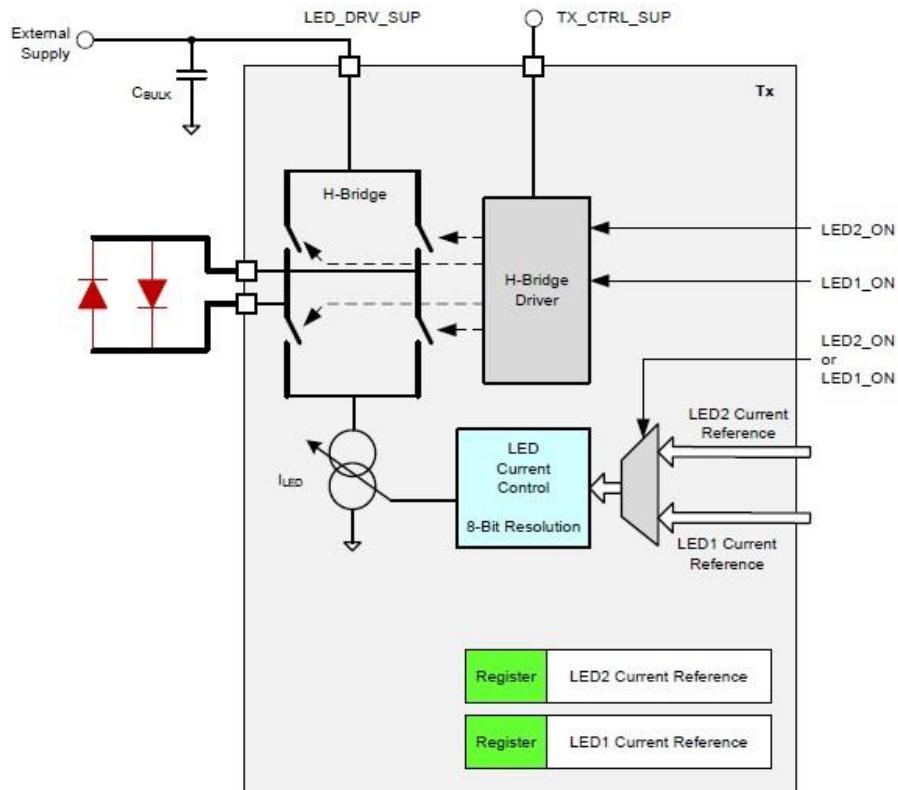


Fig. 2.22 – *H-Bridge* [42]

I quattro periodi che compongono il ciclo del segnale si svolgono complessivamente in 2 ms, ogni periodo dura 0,5 ms. Tra l'accensione di un led e l'altro è presente un periodo, chiamato *ambiente R* o *ambiente IR*, in cui non viene trasmesso alcun segnale luminoso, ma viene acquisita la “linea di base” del fotodiodo, rispettivamente dopo l'acquisizione del led rosso e di quello infrarosso (fig. 2.23).

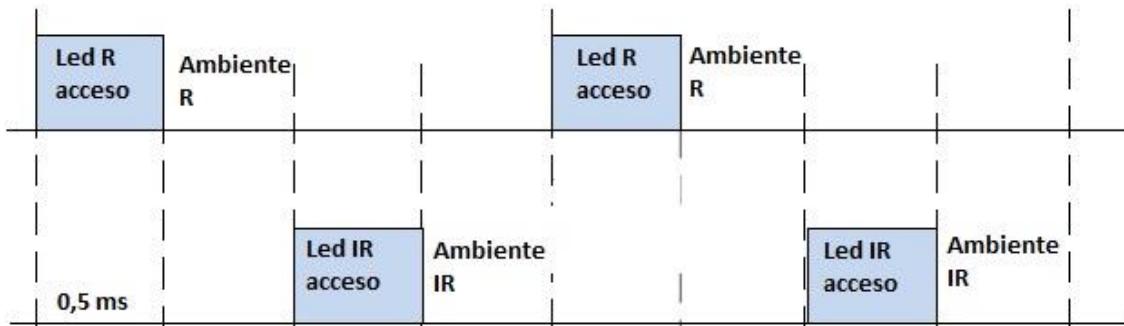


Fig. 2.23 – Periodi del segnale [42]

Il canale ricevente (fig. 2.24), invece, è costituito nella sua prima parte da un TIA (paragrafo 1.4.3.3.1) che converte l'input di corrente dal fotodiodo in un appropriato

voltaggio. E' possibile scegliere la resistenza di retrazione dell'amplificatore ( $R_F$ ) tra diversi valori, al fine di supportare un ampio range di correnti. Tra quelle disponibili (da 1 MΩ a 10 kΩ) viene scelta quella da 10 kΩ, che insieme ad un condensatore di retrazione ( $C_F = 5\text{pF}$ ) forma un filtro passa basso per il segnale di corrente in ingresso con costante di tempo  $\tau = R_F * C_F = 50\text{ ns}$ . L'output di questo stadio include sia il segnale desiderato, sia una componente risultante dalla luce ambientale.

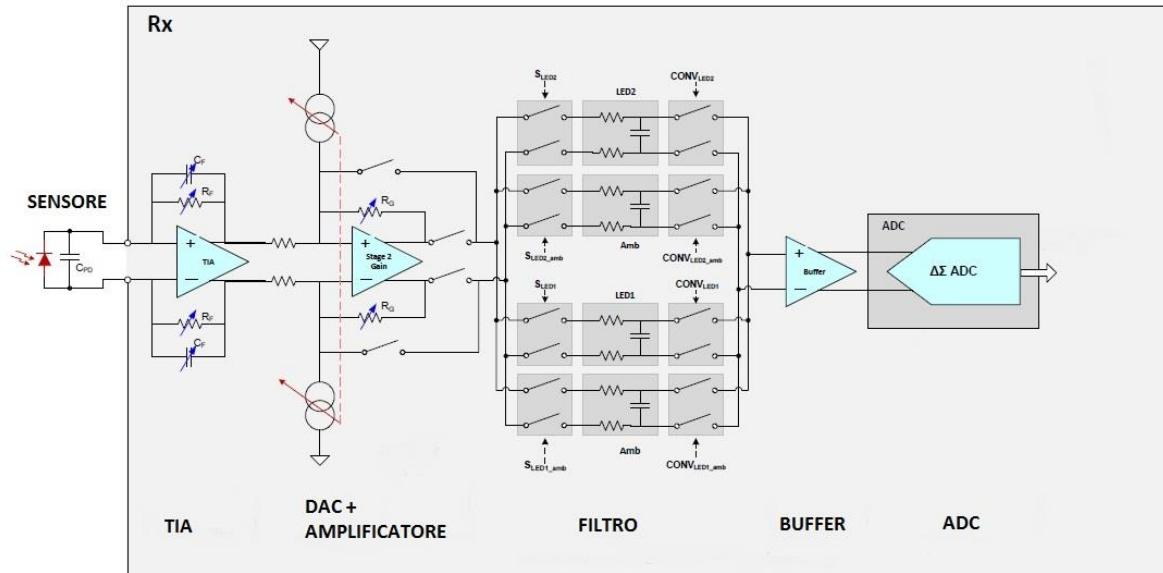


Fig. 2.24 – Canale di ricezione [42]

La seconda parte del canale ricevente è costituita da un convertitore digitale-analogico (DAC) e da un amplificatore che amplifica le sole componenti AC e DC del segnale. L'amplificazione ha cinque diversi settaggi programmabili, quello scelto prevede un guadagno di 9 dB a fronte di  $R_G = 300\text{ k}\Omega$ . L'uscita  $V_{DIFF}$  (fig. 2.25) può essere calcolata come:

$$V_{DIFF} = 2 * \left( I_{PLETH} * \frac{R_F}{R_I} + I_{AMB} * \frac{R_F}{R_I} \right) * R_G$$

essendo  $I_{PLETH}$  la corrente del segnale (AC+DC) uscente dal fotodiodo,  $I_{AMB}$  la corrente del segnale *ambiente* uscente dal fotodiodo ed infine  $R_I = 100\text{ k}\Omega$ .

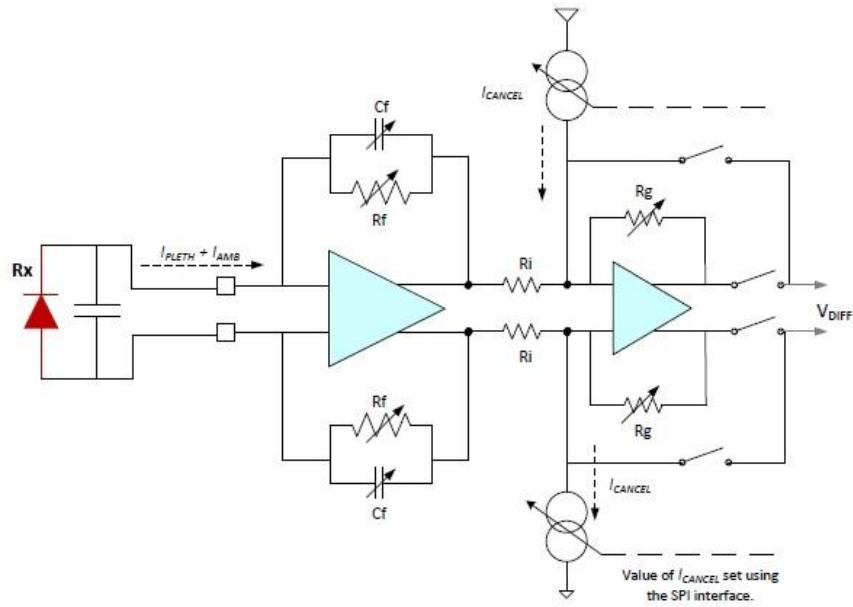


Fig. 2.25 – Primi due stadi del canale ricevente [42]

Il terzo stadio genera la separazione in due canali differenti relativi al led R e al led IR. Quando è acceso il led R, l'output di amplificazione del secondo stadio è filtrato e campionato utilizzando il condensatore  $C_{LEDr}$ , analogamente il filtraggio e il campionamento del led IR avviene mediante il condensatore  $C_{LEDir}$ .

Nel periodo che intercorre tra l'accensione dei due led, l'uscita del segnale viene campionata per stimare il segnale *ambiente* tramite i condensatori  $C_{LEDr\_amb}$  e  $C_{LEDir\_amb}$ .

Quarta e quinta parte del canale ricevente sono rispettivamente un *buffer* e un ADC a 22 bit, che discretizza i segnali relativi ai due LED e a quello *ambiente*, in cui ogni conversione provvede a fornire una singola uscita digitale dall'ADC.

Il campionamento avviene in ognuno dei 4 periodi: la tempistica del campionamento prevede una partenza ritardata di 80  $\mu s$  rispetto all'inizio del periodo di riferimento ed una fine coincidente con la fine del periodo stesso. La conversione in valore digitale di un segnale avviene nel periodo immediatamente successivo all'acquisizione (fig. 2.26). La PRF (*Pulse Repetition Frequency*) è:

$$PRF = \frac{1}{PRP} = \frac{1}{2 * 10^{-3}s} = 500 \text{ Hz}$$

in cui PRP (*Pulse Repetition Period*) è il periodo del segnale pari a 2 ms.

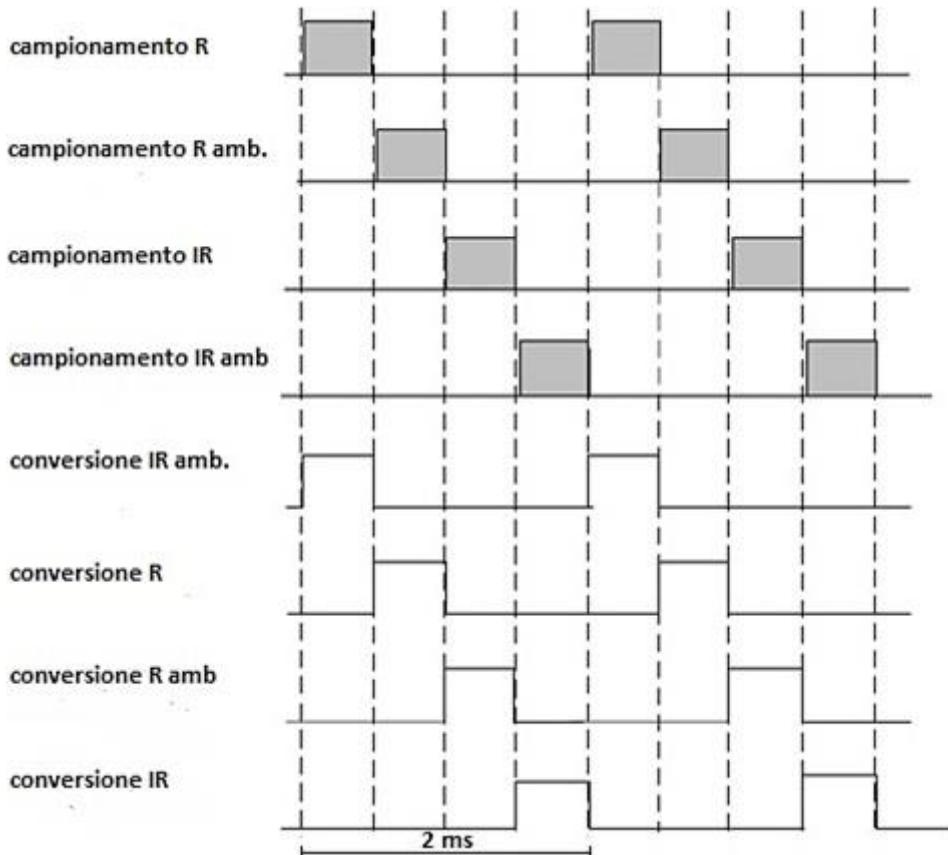


Fig. 2.26 – Campionamento e discretizzazione [42]

### 2.3.2 – Interfaccia SW e acquisizione

AFE4400 dispone di un software che permette all’utente di configurare facilmente, all’interno della sezione “Device Configuration”, le varie caratteristiche e funzioni come il guadagno dello stadio ricevente, la larghezza di banda, le correnti e le tempistiche dei led. La sezione “ADC Capture & Analysis” viene invece utilizzata per settare la modalità di acquisizione (continua o finita), visualizzare i dati in Volt (scelta del progetto) o codici e selezionare un eventuale filtro Notch (a 50 o 60 Hz). I dati catturati possono, inoltre, essere analizzati nel dominio del tempo o della frequenza.

Il sensore viene saldato ad un connettore DB-9-M, che si inserisce all’interno del DB-9-F di AFE4400 permettendo l’acquisizione e l’invio dei segnali col front-end.

Il sensore viene posto nella zona inferiore della prima falange dell’indice della mano sinistra, stretto attorno alla cute mediante l’applicazione di uno strato di velcro (fig. 2.27).



Fig. 2.27 - Sensore e velcro

Per iniziare l’acquisizione è necessario innanzitutto connettere l’AFE4400 alla porta USB del computer, dopodiché cliccando su “Capture” il sistema comunica col sensore e permette la visualizzazione dell’andamento dei 4 segnali relativi a led e *ambiente* all’interno di quattro quadranti (fig. 2.28).

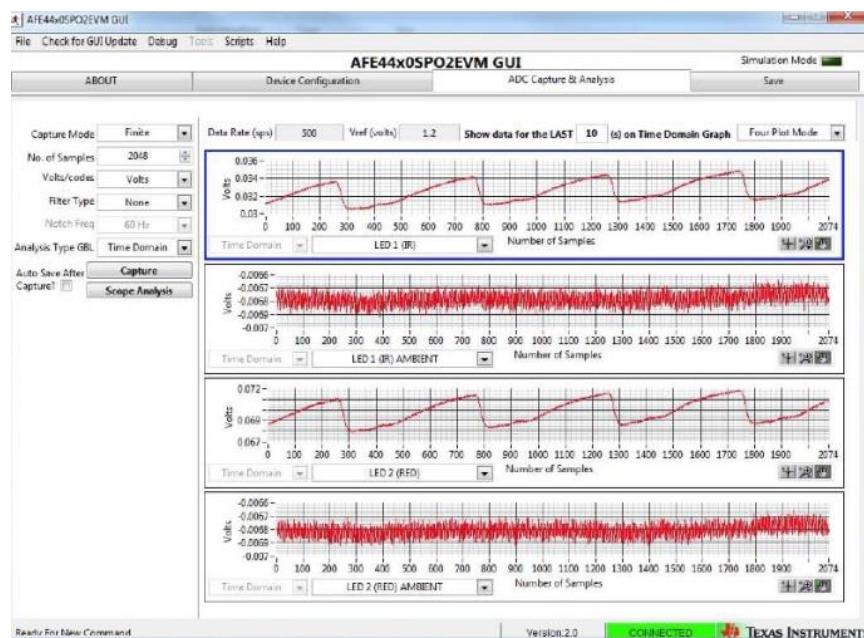


Fig. 2.28 – Schermata d’acquisizione AFE4400

I dati vengono salvati alla fine dell'acquisizione su un file Excel® permettendo la successiva analisi dei tracciati.

### 2.3.3 – Configurazione componenti e connessioni

I Led, alimentati tramite il circuito *H-Bridge*, vanno configurati come segue (fig. 2.29):

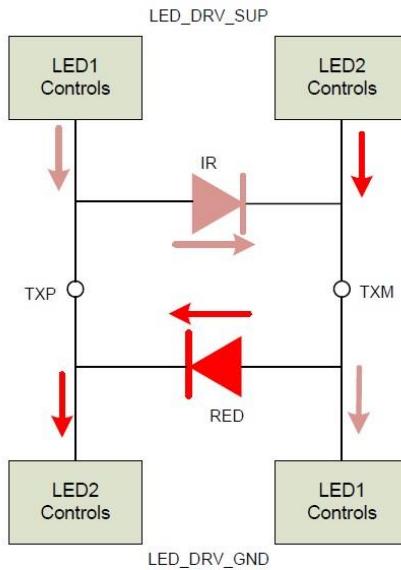


Fig. 2.29 – Configurazione led con schema *H-Bridge* [42]

in cui tra LED\_DRV\_SUP e LED\_DRV\_GND vi è la tensione di alimentazione agente ai capi dei led, invece TXP e TXM sono i pin analogici di connessione.

Il fotodiodo, posto in parallelo con un condensatore, va configurato con anodo connesso al pin INN e catodo al pin INP (fig. 2.30).

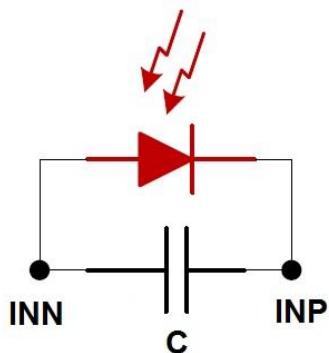


Fig. 2.30 - Connessioni fotodiodo [42]

AFE4400 possiede un connettore di tipo DB-9-F (presa analogica dotata di 9 pin; fig. 2.31) che permette l'uscita e il collegamento dei 4 segnali (INN, INP, TXM, TXP) con un sensore esterno configurato come descritto precedentemente.



Fig. 2.31 – DB-9 di AFE4400

I quattro pin che permettono l'alimentazione dei componenti esterni sono configurati alle seguenti uscite del DB-9-F (fig. 2.32):

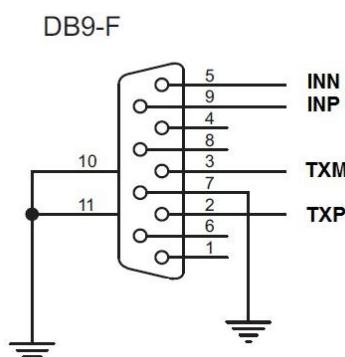


Fig. 2.32 – Configurazione uscite DB-9 [42]

In questo modo è possibile avere una connessione tra un sensore di pulsossimetria e AFE4400.

## 2.3.4 – Sviluppo algoritmi

L’andamento dei segnali viene analizzato utilizzando appositi script in Matlab®. I dati vengono innanzitutto importati dal file Excel `nomeFILE` con estensione `.xlsx` come riportato nel codice che segue:

```
function [output]=B(nomeFILE)
c=xlsread([nomeFILE '.xlsx']);
```

I dati relativi ai led R e IR sono sottoposti ad un’analisi volta alla ricerca dei punti di massimo (AC) e minimo (DC) che identificano l’andamento del ciclo cardiaco.

Gli script di seguito sono relativi al segnale del led R (sono analoghi quelli per il segnale del led IR).

All’inizio del programma avviene la ricerca dei punti di massimo (punti sistolici) trovati nei primi 10 secondi di acquisizione utilizzando la funzione `findpeaks()` nel vettore `c()`, che rappresenta i dati del segnale del led R catturati ogni 2 ms .

```
%LED ROSSO
START=600;
c(:,1)= (-1)*c(:,1);
g=1;
[MAX,tmax]=findpeaks(c(START:5000,1));
tmax=tmax+START;
PASSO=ceil((tmax(end,1)-tmax(1,1))/length(tmax)-1);
riga=length(tmax);
for i=tmax(riga-1,1)+ceil(0.5*PASSO):PASSO:length(c(:,1))
    if(i+PASSO<length(c(:,1)))
        [MAX(riga,1),tmax(riga,1)]=max(c(i:i+PASSO,1));
        tmax(riga,1)=i+tmax(riga,1);
        riga=riga+1;
        g=g+1;
        PASSO= ceil ((tmax(riga-1,1)- tmax(1+g,1))/length(riga-g));
    end
end
```

Le coordinate trovate vengono salvate in due array: in `MAX()` viene memorizzata l’ordinata del punto, invece `tmax()` è l’ascissa che corrisponde all’asse dei tempi. Sulla base delle distanze temporali tra i punti  $n$  ritrovati, viene calcolata una distanza media denominata `PASSO`. All’interno di un ciclo `for` avviene la ricerca del primo punto di massimo ( $n+1$ ) immediatamente successivo all’ultimo trovato ( $n$ ). Ciò avviene partendo dal riferimento della coordinata temporale del punto  $n$  ed utilizzando come intervallo di ricerca il `PASSO` precedentemente calcolato. Le nuove coordinate del punto di massimo ( $n+1$ ) vengono memorizzate, e l’indice `riga` dei due array viene incrementato ad ogni iterazione. La

distanza temporale media `PASSO` viene aggiornata all'ultimo punto trovato ed è calcolata per tutto il vettore `c()` sulla base di un numero  $n$  di punti.

Questo aggiornamento permette di considerare un eventuale variazione del ciclo cardiaco, mediata sulle ultime  $n$  pulsazioni. I punti di minimo, ossia i punti diastolici, vengono invece ottenuti nell'intervallo tra due massimi adiacenti, come riportato nei seguenti script:

```
for i=1:length(MAX(:,1))-1
    [MIN(rig,1),tmin(rig,1)]=min (c(tmax(i,1):tmax(i+1,1),1));
    tmin(rig,1)=tmax(i,1)+tmin(rig,1);
    rig=rig+1;
end
```

Un andamento del segnale è mostrato in fig. 2.33, in cui vengono messi in evidenza i punti di massimo (asterischi in rosso) e quelli di minimo (asterischi in verde).

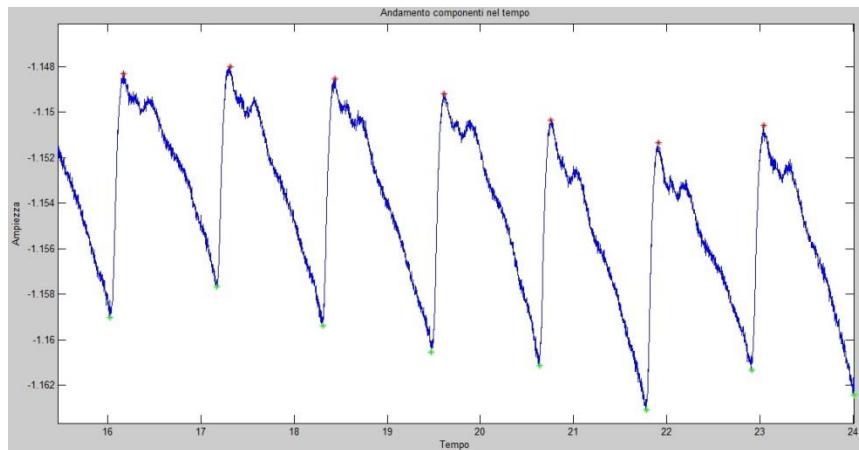


Fig. 2.33 – Analisi del tracciato

Il numeratore del coefficiente  $R$  (relativo al segnale led  $R$ ) viene calcolato per ogni pulsazione come rapporto tra la componente pulsatile  $AC$  (differenza tra un massimo sistolico  $i$  ed il minimo diastolico  $i$  seguente) e la componente fissa  $DC$  (minimo diastolico  $i$ ), venendo salvato nell'array `R_num()` come riportano le seguenti righe di codice:

```
for i=1:length (MIN)
    R_num(i,1)= (MAX(i,1)-MIN(i,1))/MIN(i,1);
end
```

Correlando quest'ultimo array con il denominatore `R_den` (relativo ai punti del segnale led  $IR$ ) per ogni corrispettiva pulsazione ritrovata, è possibile calcolare il coefficiente  $R$  salvato nell'array `R()`:

```

for i=1:length(tmax)
    a=tmax(i,1);
    [scarto, index]= min (abs(tmaxir-a));
    R(r,1)= (R_num(i,1)) / (R_den(index,1));
    r=r+1;
end

```

In fig. 2.34 si mostra un esempio di valori di R calcolati nel tempo, con le approssimazioni ai minimi quadrati di grado 1, 2 e 4:

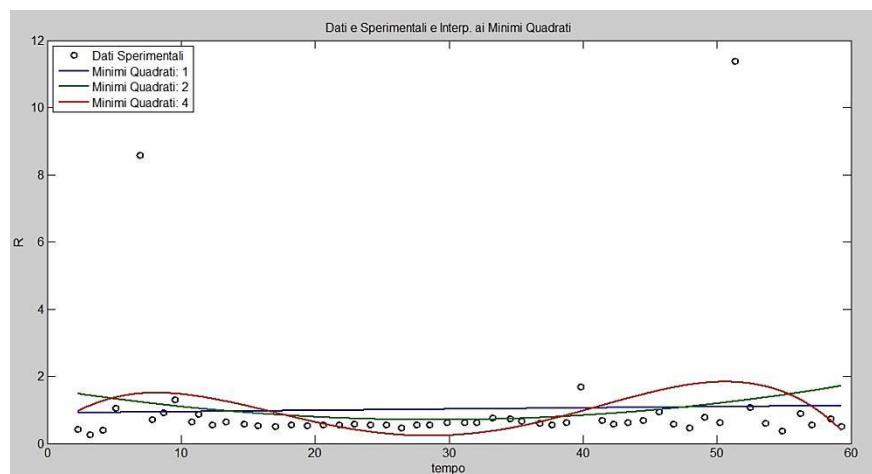


Fig. 2.34 - R in funzione del tempo di acquisizione

In Appendice B è possibile trovare gli script completi in Matlab per l’analisi del segnale.

## 2.4 – Gestione del sensore tramite PSoC® 4

Nel paragrafo precedente è stato descritto AFE4400, utilizzato per la gestione di uno dei sensori a *riflettanza* le cui configurazioni sono state esposte nel par. 2.2. Il funzionamento del dispositivo è però legato ad un esclusivo utilizzo porta USB, necessaria sia all’alimentazione del sistema che al trasferimento dati dal sensore. Infatti AFE non possiede fonti alternative, se non la tensione di 5V derivante dalla connessione USB con un PC. Un’altra limitazione deriva dal funzionamento con uno specifico software di interfaccia, che non permette flessibilità nella visualizzazione dati o nel salvataggio, se non su un foglio di lavoro Microsoft Excel.

Per la realizzazione di un sensore indossabile su anello si preferisce utilizzare un dispositivo che svincola dalla connessione via cavo con PC.

Il sistema scelto per superare i vincoli imposti da AFE4400 è il PSoC 4® BLE di Cypress. Quest'ultimo è dotato di una piattaforma hardware e software che concede le basi operative per lo sviluppo di un sistema tale da svolgere le funzioni di trasmissione e ricezione del segnale di pulsossimetria, in analogia con AFE. Il PSoC è però dotato di uno slot per l'inserimento di una batteria CR2032 da 3V, quindi il suo funzionamento può essere indipendente da una connessione con PC. Possiede inoltre una memoria flash da 128 KB, che permette la memorizzazione dati al suo interno ed un'analisi dell'acquisizione a posteriori. Un altro vantaggio è la disponibilità di tecnologia BLE (*Bluetooth Low Energy*) operativa alla frequenza di 2.4 GHz, che permette la connessione ed il trasferimento dati *real-time* con un altro dispositivo Bluetooth ricevente (smartphone, tablet, PC, ecc.). Il PSoC potrebbe anche gestire più di un sensore di pulsossimetria determinando ridondanza di dati da sfruttare ad esempio in caso di artefatti da movimento.

Queste caratteristiche determinano una ampia versatilità del PSoC 4 BLE e verranno sfruttate per lo sviluppo di un front end da affiancare alla configurazione4 del sensore sensore di pulsossimetria (par. 2.2) replicando il circuito di trasmissione e ricezione del segnale svolto da AFE.

#### 2.4.1 – PsoC® 4 BLE di Cypress

PSoC 4 BLE è un ARM-CORTEX 48 MHz a 32 bit, costituisce un front-end analogico e possiede 36 connessioni GPIO (*General Purpose Input/Output*). Fornisce una soluzione completa per attività di monitoraggio in sport e fitness, dispositivi indossabili elettronici, dispositivi medici e sensori a bassa potenza.

Il kit del PSoC è composto da una BLE *Pioneer Baseboard* (fig. 2.35) che consiste di diversi blocchi:

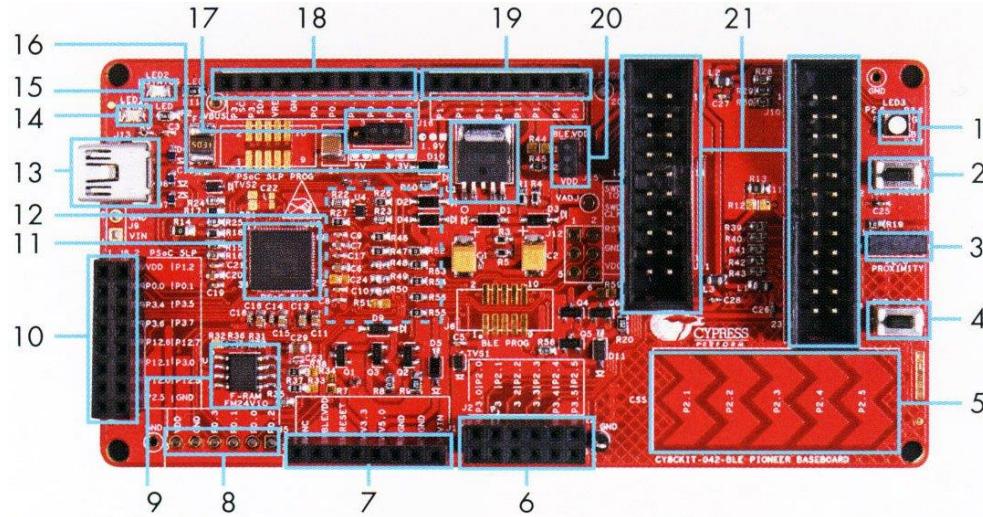


Fig. 2.35 – BLE Pioneer Baseboard [46]

1) Led RGB; 2) bottone RESET; 3) Header di prossimità Capsense; 4) Pulsante utente; 5) CapSense Slider; 6-7) Header I/O compatibili con Arduino; 8) Header I/O compatibili con Digilent Pmod; 9) Cypress Ferroelectric RAM; 10) Header PSoC 5LP; 11) PSoC 5LP Progammer e Debugger; 12) Supporto Pila; 13) Connettore USB; 14) Led alimentazione; 15) Led di stato; 16-17) Jumper di alimentazione del sistema; 18-19) Header I/O compatibili con Arduino; 20) Jumper misuratore di corrente; 21) 2 moduli Header da 20 e 24 pin per attacco di PSoC 4 BLE.

La tensione di alimentazione sulla BLE Pioneer Baseboard è versatile in quanto permette un input da diverse fonti: 5 V dal connettore USB, da 5 a 12 V tramite Header Arduino, 3 V da una batteria a bottone CR2032.

Il PSoC 4 BLE (fig. 2.36) è il componente principale del modulo.

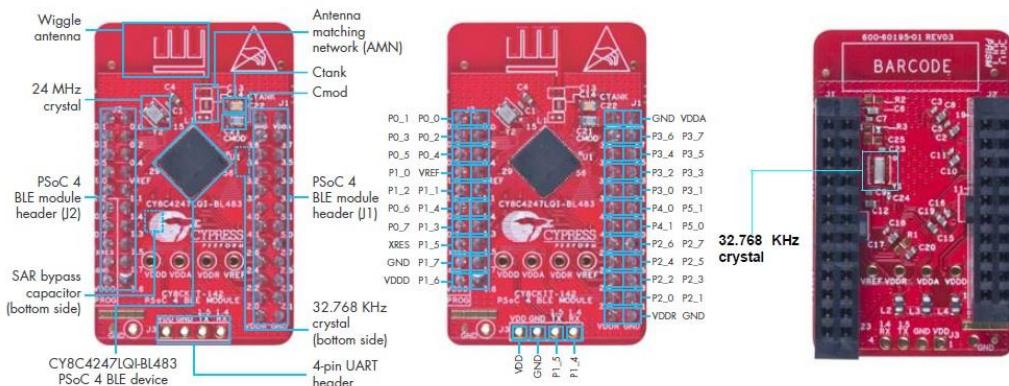


Fig. 2.36 – PSoC 4 BLE [46]

In Appendice C è riportato lo schematico dei pin del modulo BLE.

Possiede una antenna *Wiggle* stampata sulla *board*, una AMN (*Antenna Matching Network*), 2 cristalli di cui uno da 24 MHz e un altro da 32 KHz sulla parte inferiore del modulo, 2 circuiti Ctank e Cmod per il *CapSense*, una capacità SAR per registro ad approssimazioni successive, 4 pin UART (*Universal Asynchronous Receiver-Transmitter*) e 44 *Header* (20 da una parte e 24 dall'altra) per accoppiamento con *Baseboard* [46].

Per lo sviluppo dei progetti il PSoC è fornito di un software, PSoC Creator, che costituisce un ambiente di progettazione integrato. Permette una cooperazione hardware-software, supportato da una libreria di componenti precaricati. Infatti con PSoC Creator è possibile selezionare i componenti necessari per costruire lo schematico desiderato, configurare i GPIO e sviluppare ed eseguire il *debug* del firmware.

E' costituito da 3 interfacce principali: il *TopDesign* è l'interfaccia che permette lo sviluppo del progetto tramite la scelta dei componenti da un catalogo, la loro specifica configurazione e la connessione tramite *wires* degli elementi del sistema.

*Hardware Connection* è l'ambiente di sviluppo in cui configurare i pin per la connessione del progetto sviluppato nel *TopDesign* con un circuito esterno.

“Source File” e “Generated Sources” sono invece le interfacce in cui è possibile scrivere il codice di esecuzione firmware del progetto.

## 2.4.2 – Schema del circuito su PSoC

Avendo definito l'obiettivo del progetto si espone in questo paragrafo il circuito da realizzare con il PSoC per ottenere un front-end analogico tale da interfacciarsi con la configurazione 4 del sensore di pulsossimetria a *riflettanza*, dotato di due led ed un fotodiodo, eseguendo le seguenti operazioni: trasmissione del segnale ai due led, ricezione dati dal fotodiodo, amplificazione del segnale in ingresso, filtraggio e campionamento, invio dati tramite UART USB ad un computer, ricezione e lettura dati.

La prima parte del sistema include la trasmissione del segnale di corrente per l'accensione e lo spegnimento dei due led.

Il led IR presenta la configurazione SOURCE. Significa che viene alimentato mediante una corrente  $I = 4 \text{ mA}$  direttamente dal pin del PSoC che viene connesso al lato dell'anodo, invece il catodo è connesso a massa (fig. 2.37).

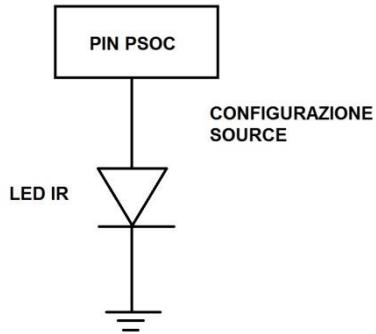


Fig. 2.37 – Configurazione led IR

Il led R, invece, assume la configurazione SINK. Ciò vuol dire che viene alimentato con una tensione pari a  $V=3,3$  V all'anodo, mentre il lato del catodo viene connesso al pin di ingresso del PSoC. Per limitare la corrente circolante all'interno di questo circuito, viene aggiunta una resistenza al catodo del led pari a  $R=30\Omega$  (fig. 2.38).

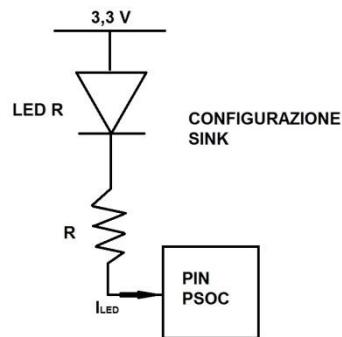


Fig. 2.38 – Configurazione led R

La scelta di una resistenza di questo valore deriva dalla seguente formula:

$$R = \frac{V_A - V_{LED}}{I_{LED}} = 30\Omega$$

dove  $V_A = 3,3V$  è la tensione di alimentazione,  $V_{LED} = 1,95$  V è la tensione ai capi del led e  $I_{LED} = 45$  mA è la corrente circolante nel circuito.

La tempistica di accensione e spegnimento dei led è analoga a quella descritta in precedenza per AFE4400, in cui ogni periodo del segnale dura 0,5 ms e quindi l'intero ciclo di quattro periodi avviene in un tempo totale di 2 ms (vedi par. 2.3.1).

Anche il fotodiodo è configurato come nel caso di AFE4400, ossia con un condensatore in parallelo di capacità  $C=20$  pF, e con i due segnali INN e INP ai capi dei due componenti (Fig. 2.39).

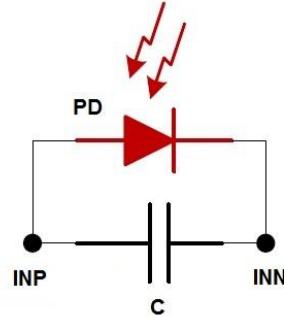


Fig. 2.39 – Fotodiodo e condensatore

Il circuito di amplificazione scelto prevede l'utilizzo di un INA (*INstrumentation Amplifier*), in cui si ricorre a 3 amplificatori operazionali (*OpAmp*) connessi come in fig. 2.40.  $V_1$  è il segnale INN uscente dal fotodiodo, mentre  $V_2$  è il segnale INP. Per cui si ha che:

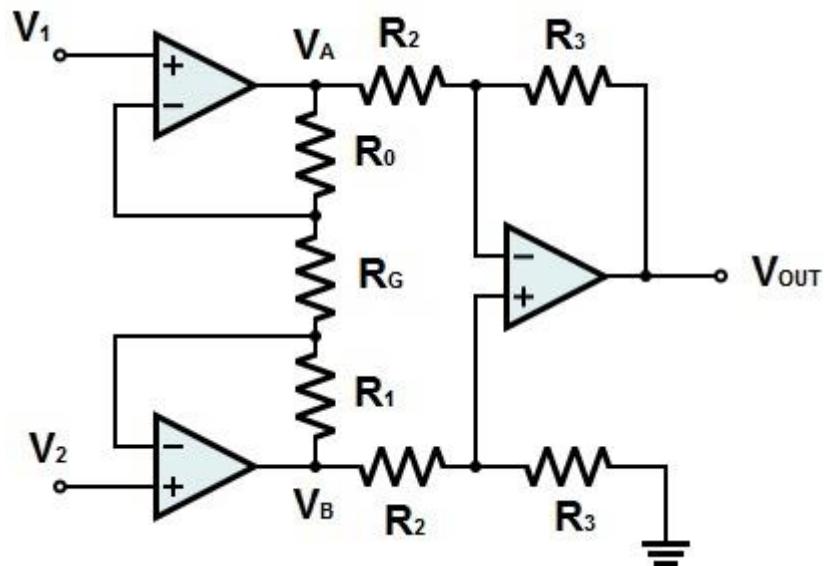


Fig. 2.40 – INA

$$V_1 - V_2 = IR_G \quad I = \frac{V_1 - V_2}{R_G}$$

$$V_A - V_1 = IR_0$$

$$V_A = V_1 + \frac{V_1 - V_2}{R_G} * R_0$$

$$V_2 - V_B = IR_1$$

$$V_B = V_2 - \frac{V_1 - V_2}{R_G} * R_1$$

$$V_{OUT} = (V_B - V_A) \frac{R_3}{R_2}$$

$$V_{OUT} = \left[ V_2 - V_1 + \frac{V_2 - V_1}{R_G} * (R_0 + R_1) \right] \frac{R_3}{R_2}$$

$$V_{OUT} = (V_2 - V_1) \left( \frac{R_0 + R_1}{R_G} + 1 \right) \frac{R_3}{R_2}$$

in cui  $R_0=5\text{K}\Omega$ ,  $R_G=100\Omega$ ,  $R_1=R_2=R_3=1\text{K}\Omega$  e  $I$  è la corrente che circola tra  $V_A$  e  $V_B$ .

Con la scelta di questi valori delle resistenze si ha un guadagno dell'INA pari a :

$$\left( \frac{R_0 + R_1}{R_G} + 1 \right) \frac{R_3}{R_2} = 61$$

Quindi rispetto alla differenza di tensione tra  $V_2$  e  $V_1$  all'ingresso dello stadio dell'INA, il segnale d'uscita  $V_{OUT}$  è amplificato 61 volte.

La fase seguente allo step di amplificazione è quella di filtraggio del segnale che avviene mediante un filtro passa-basso passivo costituito da una resistenza  $R$  e un condensatore  $C$  (fig. 2.41).

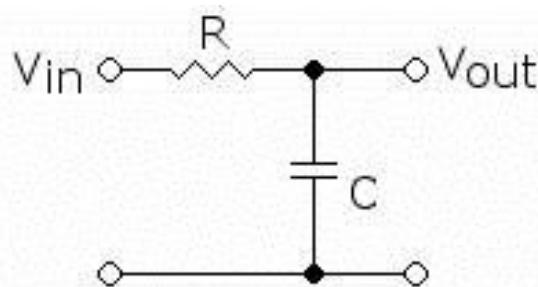


Fig. 2.41 – Filtro passa basso

Si ricorda che in tensione continua il condensatore  $C$  risulta infinito (circuito aperto), pertanto la tensione di ingresso si trasferisce integralmente in uscita e quindi a basse frequenze il filtro fa passare il segnale.

In alternata, invece, si comporta come un cortocircuito e pertanto la tensione di uscita è nulla, quindi il filtro alle alte frequenze taglia il segnale d'ingresso. Un circuito di questo tipo privilegia dunque la trasmissione a frequenze minori della frequenza di taglio risultante.

Per determinare la funzione di trasferimento del filtro e la frequenza di taglio si calcola il rapporto tra la tensione d'uscita e quella d'ingresso del filtro mediante la trasformata di Laplace. Applicando il partitore di tensione al circuito si ha:

$$V_{OUT} = V_{IN} * \frac{\frac{1}{sC}}{R + \frac{1}{sC}} \quad \frac{V_{OUT}}{V_{IN}} = \frac{1}{1 + sCR}$$

Scegliendo la costante di tempo  $\tau$  pari ad un decimo di un periodo (0,5 ms) del segnale si ha che:

$$\tau = 0,05 * 10^{-3} \text{ s}$$

Per cui utilizzando un condensatore  $C = 10 \text{ nF}$  si determina il valore della resistenza  $R$ :

$$\tau = RC \quad R = \frac{\tau}{C} = \frac{0,05 \text{ ms}}{10 \text{ nF}} = 5k\Omega$$

E' possibile così calcolare la frequenza di taglio del filtro che risulta essere:

$$f = \frac{1}{2\pi\tau} = \frac{1}{2\pi * 0,05 * 10^{-3}} = 3184 \text{ Hz}$$

Il segnale passa successivamente alla fase di campionamento all'interno di un ADC che lavora in modo differenziale, ovvero da un lato si ha il segnale uscente dal filtro e dall'altro si applica una tensione costante pari a 1,1 V. Quest'ultima è determinata da un partitore di tensione rappresentato in fig. 2.42:

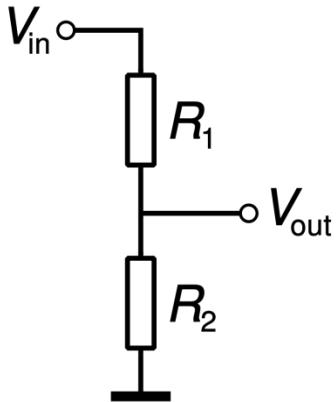


Fig. 2.42 – Partitore di tensione

in cui  $V_{IN} = 3,3 \text{ V}$ ,  $R_1 = 2 \text{ k}\Omega$ ,  $R_2 = 1 \text{k}\Omega$ , per cui risulta che:

$$V_{OUT} = \frac{R_2}{R_1 + R_2} * V_{IN} = \frac{1 \text{ k}\Omega}{(2 + 1)\text{k}\Omega} * 3,3 \text{ V} = 1,1 \text{ V}$$

In questo modo l'ADC lavora nell'intervallo tra 1,1 V e 3,3 V (limite superiore di voltaggio). La risoluzione dell'ADC del PSoC è 12 bit, quindi si ha che:

$$12 \text{ bit} = 2^{12} = 4096 \text{ livelli}$$

Il range entro cui varia il segnale risulta essere 2,2 V per cui la minima differenza di tensione  $\delta V$  tra due livelli adiacenti è:

$$\delta V = \frac{2,2 \text{ V}}{4096 \text{ liv}} = 0,53 \frac{\text{mV}}{\text{liv}}$$

I tempi di acquisizione (ADC *Clocks*) e di conversione (*Conversion Time*) del segnale durante un singolo campionamento sono pari rispettivamente a 2,5  $\mu\text{s}$  e 17  $\mu\text{s}$ , per un totale di 19,5  $\mu\text{s}$ , ma vengono mediate due campionature all'interno di ogni periodo del ciclo del segnale per cui il tempo totale risulta 39  $\mu\text{s}$ . Questa fase temporale avviene tra il 236-esimo e il 275-esimo  $\mu\text{s}$  (fig. 2.43), ossia nella fase centrale di ognuno dei 4 periodi (2 relativi ai led e 2 al segnale *ambiente*).

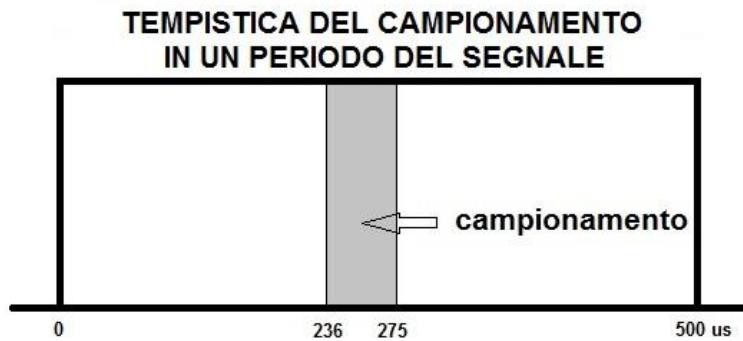


Fig. 2.43 – Campionamento

L’invio dei dati successivi alla fase di campionamento dell’ADC avviene ad ogni fine ciclo del segnale, per cui si prevede la trasmissione dei quattro valori relativi alle 4 fasi. Ogni singolo valore viene inviato come carattere *char* ed in particolare viene scisso nell’invio in due parti, *low byte* e *high byte*.

### 2.4.3 – Configurazione componenti nel *TopDesign*

Avendo stabilito e descritto il sistema da realizzare, si necessita lo sviluppo del circuito e dei componenti interni al PSoC nella sezione *TopDesign* del software PSoC Creator.

Per prima cosa bisogna definire cosa è un *interrupt*: è un evento sincrono che consente l’interruzione di un processo conseguente all’utilizzo di un *timer*. All’interno della funzione di *interrupt* che verrà utilizzata avvengono tutte e 4 le fasi del segnale e l’invio dei dati; dopodiché, avendo raggiunto il periodo temporale impostato con un *timer*, il processo si interrompe, il *timer* si azzera e il ciclo riparte con le successive 4 fasi.

Per prima cosa viene aggiunto il componente *Timer\_1* nell’editor dello schematico (Fig. 2.44).

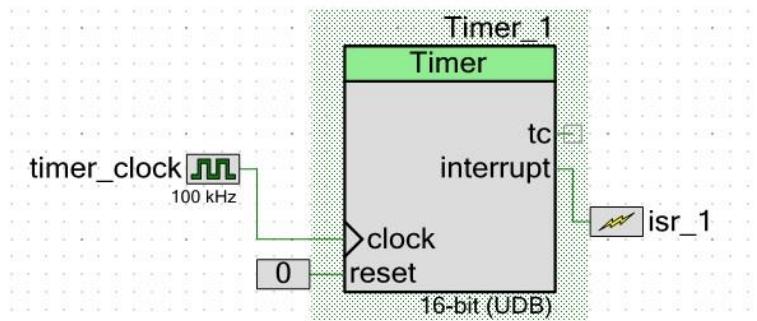


Fig. 2.44 – Timer\_1

Questo componente fornisce un metodo per misurare intervalli, generare un evento periodico oppure, come nel nostro caso, un segnale di *interrupt*. E' configurato con una risoluzione pari a 16 bit, un periodo del contatore pari a 8 ms sufficiente a garantire i 4 periodi del segnale e l'invio dei dati (pari rispettivamente a 2 e 5 ms). E' impostato con una modalità attiva solo software ed una modalità di esecuzione continua nel tempo. Necessita di alcune connessioni I/O: un clock esterno *timer\_clock* che definisce la frequenza operativa del *Timer\_1*, un reset a 0 del valore del contatore ed un componente esterno *isr\_1* che permette l'esecuzione dell'*interrupt*.

I 2 led R e IR sono configurati con 2 pin impostati su *Digital Output* (fig. 2.45).

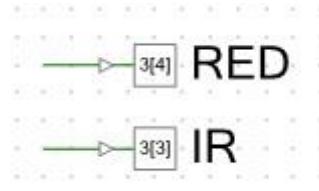


Fig. 2.45 – Led R e IR

Questa scelta prevede che un pin sia guidato in una logica di tipo “alta” o “bassa”, analoga ad una applicazione come l'accensione e lo spegnimento di un led. La modalità di guida del pin è *Strong Drive*, il cui circuito è mostrato in fig. 2.46:

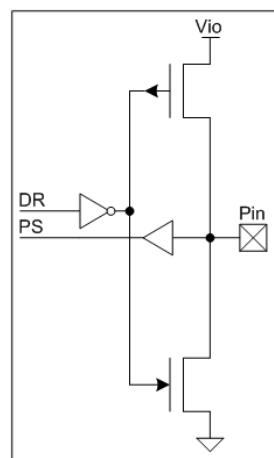


Fig. 2.46 – Strong drive

Lo stadio di amplificazione dell'INA è costituito da 3 OpAmp in cui ognuno di essi supporta un massimo di 10 mA e possiede input ed output connessi a dei pin sulla *Baseboard*. Il disegno del circuito dell'INA all'interno del *TopDesign* e i segnali di ingresso ed uscita degli OpAmp sono mostrati in fig. 2.47:

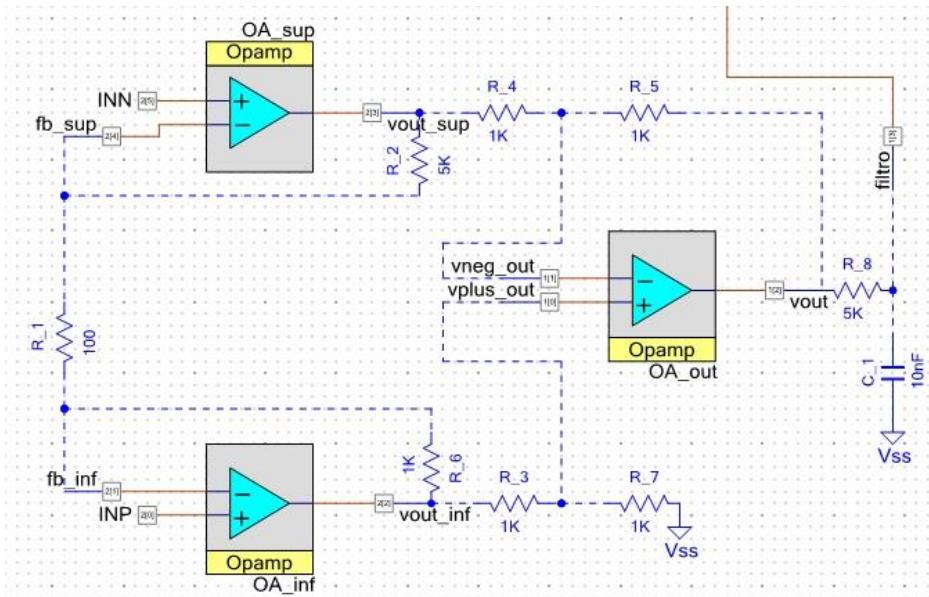


Fig. 2.47 – INA in PSoC Creator

Nello schematico sono presenti componenti e connessioni di colore blu che indicano il circuito esterno al PSoC, rispetto alle connessioni dei componenti interni ad esso di colore arancione. I segnali di ingresso e di uscita dagli Opamp comunicano tramite 10 pin (INN, INP, fb\_inf, fb\_sup, vout\_sup, vout\_inf, vneg\_out, vplus\_out, vout e filtro) con un circuito esterno dotato di resistenze R e condensatori C, con valori visti nel par. 2.5.2.

Il segnale filtrato uscente dall'INA viene connesso al polo positivo del componente ADC, invece quello proveniente dal partitore di tensione entra nel polo negativo (fig. 2.48).

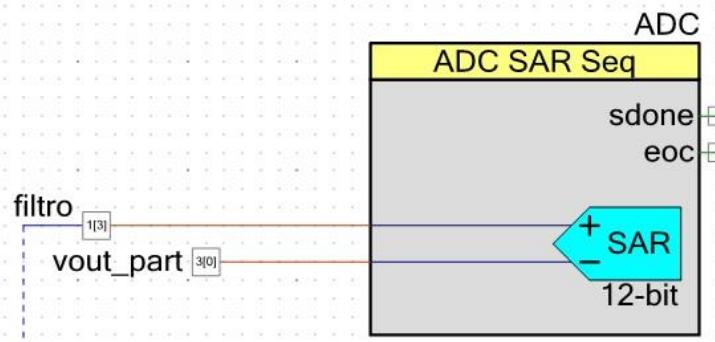


Fig. 2.48 – ADC SAR Seq

Il risultato della conversione è una funzione differenziale che sottrae l'input positivo dal voltaggio di riferimento. La frequenza di clock impostata è pari ad 1 MHz ed è la minima impostabile nell'intervallo di scelta (1MHz-18MHz). La modalità di campionamento è la

*Free Running*, permettendo così al componente di eseguire continuamente le operazioni di *sample* stabilite. In fig. 2.49 si mostrano le tempistiche nella sezione “Channels” del componente che prevedono 3 acquisizioni ADC *clocks* in un tempo pari a 2,5  $\mu$ s, l’utilizzo di un solo canale (Channel 0) su 4 disponibili e il settaggio del *Conversion time* pari a 17  $\mu$ s.

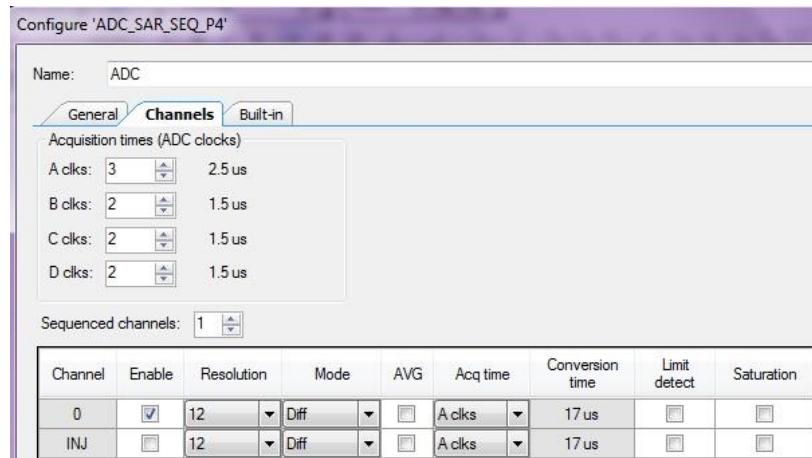


Fig. 2.49 – “Channels” di ADC

L’ultimo componente sviluppato è quello preposto all’invio dati: “Software Transmit UART” (fig. 2.50).

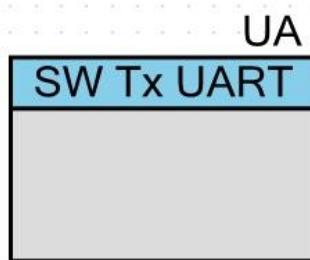


Fig. 2.50 – UART

Viene utilizzato per l’invio di dati seriali nel formato-dati RS-232. Consiste esclusivamente di firmware e di un pin, per cui è utile in un dispositivo senza risorse digitali. Il baud rate, ovvero il numero di simboli trasmessi in un secondo, è settato sul valore di 115200.

## 2.4.4 – Firmware

PSoC Creator dispone di una sezione *main.c* in cui poter scrivere la sequenza di istruzioni che permettono la gestione dei componenti configurati nel paragrafo precedente e la loro interazione.

Il seguente codice riporta gli script del *main* in cui viene eseguita l'inizializzazione e l'avvio dei componenti, prima dell'esecuzione della funzione di *interrupt*:

```
#include <project.h>
#define ON 1
#define OFF 0

int main()
{
    RED_Write(OFF);
    IR_Write(OFF);
    isr_1_Start();
    isr_1_Enable();
    Timer_1_Init();
    Timer_1_Start();
    OA_inf_Start();
    OA_sup_Start();
    OA_out_Start();
    ADC_Start();
    ADC_StartConvert();
    UA_Start();
    CyGlobalIntEnable;
    while(1)
    {

    }

    return 0;
}
```

All'interno del *main* vengono innanzitutto spenti entrambi i led tramite la dicitura `RED_Write(OFF)` e `IR_Write(OFF)` avendo definito gli stati ON e OFF con 1 e 0. Si avvia la funzione di interrupt `isr_1_Start()` e la si inizializza all'interno dell'interrupt controller (`isr_1_Enable()`). Tutti i componenti (Timer, Opamp ADC e UART) vengono inizializzati ed avviati, mentre la funzione `CyGlobalIntEnable` gestisce l'interrupt globale del sistema. Le istruzioni proseguono con un ciclo infinito `while(1)` e con l'ingresso nella funzione di interrupt (`isr_I`), in cui vengono eseguite le istruzioni di tutti i componenti del progetto.

Il codice all'interno del sorgente generato dell'interrupt (`isr_I`) è il seguente:

```
#include <cydevice_trm.h>
#include <CyLib.h>
#include <isr_1.h>
#include "timer_1.h"
#include "RED.h"
```

```

#include "IR.h"
#include "ADC.h"
#include <project.h>
#define ON 1
#define OFF 0
#include <stdio.h>
int count=1;
int16 adcResultr;
int16 adcResultir;
int16 adcResultrA;
int16 adcResultirA;
uint16 counter=0;

CY_ISR(isr_1 Interrupt)
{
    Timer_1_ReadStatusRegister();

    RED_Write(ON);
    CyDelayUs(236);
    sampler();
    CyDelayUs(225);
    RED_Write(OFF);
    CyDelayUs(236);
    samplerA();
    CyDelayUs(225);
    IR_Write(ON);
    CyDelayUs(236);
    sampleir();
    CyDelayUs(225);
    IR_Write(OFF);
    CyDelayUs(236);
    sampleirA();
    invio();
    count=count+1;
}
void samplerA() {
    adcResultrA = ADC_GetResult16(0);

}
void sampleirA() {
    adcResultirA = ADC_GetResult16(0);

}
void sampler() {
    adcResultr = ADC_GetResult16(0);
}
void sampleir() {
    adcResultir = ADC_GetResult16(0);
}

void invio () {
    uint16 term=9999;
    counter++;
    UA_PutChar((counter >>8) & 255);
    UA_PutChar(counter & 255);
    UA_PutChar((adcResultr >>8) & 255);
    UA_PutChar(adcResultr & 255);
    UA_PutChar((adcResultrA >>8) & 255);
    UA_PutChar(adcResultrA & 255);
}

```

```

UA_PutChar((adcResultir >>8) & 255);
UA_PutChar(adcResultir & 255);
UA_PutChar((adcResultirA >>8) & 255);
UA_PutChar(adcResultirA & 255);
UA_PutChar((term >>8) & 255);
UA_PutChar(term & 255);

}

```

Prima dell'esecuzione delle istruzioni all'interno della funzione di interrupt, vengono inclusi (`#include nome_libreria`) i file delle librerie dei componenti e del progetto e sono definiti sei interi (`int, int16, uint16`) che serviranno in seguito nel programma.

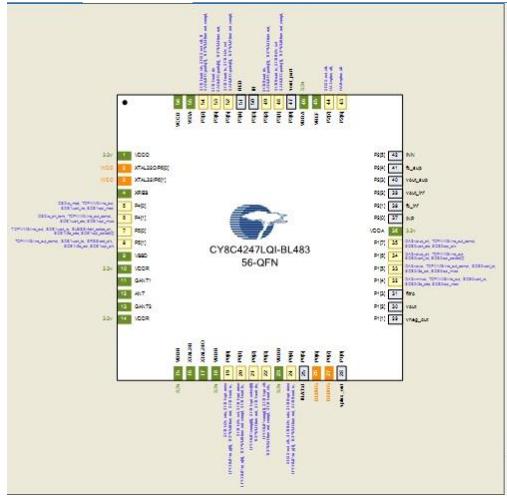
La funzione di interrupt `CY_ISR(isr_1_Interrupt)` contiene la prima funzione `Timer_1_ReadStatusRegister()` che ha come valore di ritorno lo stato corrente del registro di stato del *timer*. Dopodiché viene eseguito il primo dei 4 periodi del segnale con l'accensione del led R tramite l'istruzione `RED_Write(ON)`. Segue una attesa del programma con la funzione `CyDelayUs()` che determina uno stop temporale dell'esecuzione delle istruzioni. Questa funzione prende come parametro un numero intero di  $\mu\text{s}$  (236), per permettere alla successiva funzione `sampler()` un campionamento dopo un preciso intervallo di tempo dall'accensione del led. Quest'ultima funzione rimanda alla lettura da parte dell'ADC (avviene in  $39 \mu\text{s}$ ) tramite la funzione `ADC_GetResult16(0)` che prende come parametro il canale di lettura impostato e restituisce un risultato intero *signed* a 16 bit. In seguito è presente nuovamente la funzione `CyDelayUs()` con parametro pari a 225 in modo da stabilire un periodo totale dall'accensione allo spegnimento del led (`RED_Write(OFF)`) esattamente di  $500 \mu\text{s}$ . I tempi di attesa e il campionamento sono analoghi per ognuno dei 4 periodi, ciò che cambia è la desinenza del nome delle funzioni: “r” “rA” “ir” e “irA” indicano il periodo rispettivamente di led R, *ambiente* R, led IR, *ambiente* IR.

Al termine dei 4 periodi avviene la chiamata alla funzione `invio()` che include la trasmissione di 6 valori: il *counter* che parte da 1 e viene incrementato ad ogni iterazione nell'esecuzione dell'interrupt, i 4 valori relativi ai valori letti dall'ADC (`adcResultr, adcResultrA, adcResultir, adcResultirA`) ed il *term*, ossia un carattere terminatore. Quest'ultimo (`uint16 term=9999`) è un valore di riferimento che viene inviato per ultimo nella successione dei caratteri di invio. In questo modo permette in fase di ricezione l'identificazione del termine del pacchetto di 6 dati inviati per volta dall'UART.

La funzione `invio()` prevede la trasmissione dei 6 dati sotto forma di caratteri mediante l'utilizzo della funzione `UA_PutChar()` che corrisponde all'invio di 1 Byte. Inoltre ogni dato viene inviato scisso in due parti: *low byte* e *high byte*. L'invio dell'*high byte* del *counter*, ad esempio, presenta come parametro della funzione `UA_PutChar` la seguente espressione `((counter >>8) & 255)`, invece il *low byte* assume la dicitura `(counter & 255)`.

## 2.4.5 – Circuiti su Breadboard e PCB

Nella sezione *Hardware Connection* del software PSoC Creator è possibile settare i pin della BLE *Pioneer Baseboard* di ingresso e uscita dei segnali configurati nel circuito del *TopDesign*. In fig. 2.51 vengono riportate la porta dei pin e il nome del segnale associato:



Alias	Name /	Port	Pin	Lock
\UA:Tx\		P0 [5] LPCOMP:in_n[1], TCFWM1:line_out_compl, SCB0:uart_tx, SCB0:i2c_scl, SCB0:spi_miso	25	✓
fb_inf	P2 [1] OA0:vminus, SCB0:spi_select[2]		38	✓
fb_sup	P2 [4] OA1:vminus		41	✓
filtro	P1 [3] OA3:vout_10x, TCFWM1:line_out_compl, SCB1:spi_select[3]		31	✓
INN	P2 [5] OA1:vplus		42	✓
INP	P2 [0] OA0:vplus, SCB0:spi_select[1]		37	✓
IR	P3 [3] SARMUX:pads[3], TCFWM1:line_out_compl, SCB0:uart_cts		50	✓
RED	P3 [4] SARMUX:pads[4], TCFWM2:line_out, SCB1:uart_rx, SCB1:i2c_sda		51	✓
vneg_out	P1 [1] OA2:vminus, TCFWM0:line_out_compl, LPCOMP:comp[1], SCB1:spi_select[1]		29	✓
vout	P1 [2] OA2:vout_10x, TCFWM1:line_out, SCB1:spi_select[2]		30	✓
vout_inf	P2 [2] OA0:vout_10x, SRSS:wakeup, SCB0:spi_select[3]		39	✓
vout_part	P3 [0] SARMUX:pads[0], TCFWM0:line_out, SCB0:uart_rx, SCB0:i2c_sda		47	✓
vout_sup	P2 [3] OA1:vout_10x, SRSS:ext_clk_lf		40	✓
vplus_out	P1 [0] OA2:vplus, TCFWM0:line_out, LPCOMP:comp[0], SRSS:ext_clk_lf		28	✓

Fig. 2.51 – Settaggio pin-segnali

Una prima configurazione del circuito esterno al PSoC è stata svolta mediante l'utilizzo di una breadboard, uno strumento di plastica e dotati di numerosi fori dal passo di 2,54 mm nei quali inserire i reofori dei componenti. Al suo interno la breadboard presenta delle clip metalliche composte da linee di trasmissione che consentono il collegamento tra i fori (fig. 2.52).

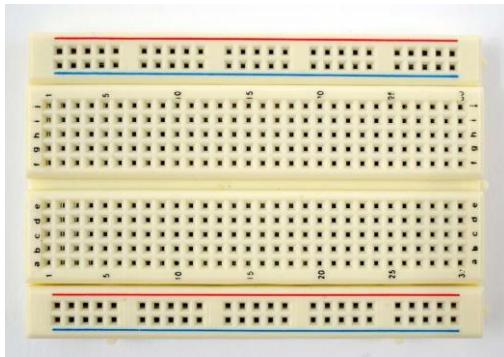


Fig. 2.52 – Breadboard

Viene costruito il circuito dell'INA, del filtro e del partitore di tensione (fig. 2.53) con gli elementi R e C di valore precedentemente calcolato, ed i segnali entranti ed uscenti dai pin del PSoC vengono connessi alla breadboard mediante dei fili di collegamento metallico.

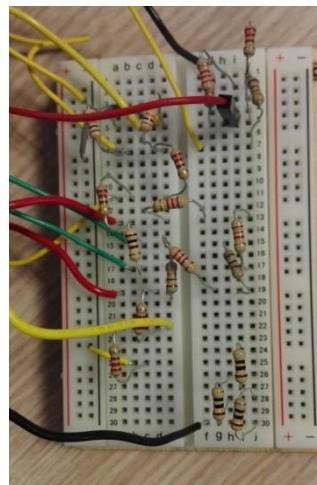


Fig. 2.53 – Circuito su breadboard

Una seconda configurazione, che riduce l'ingombro della breadboard ed elimina l'intreccio tra fili dovuto al loro numero, è costituita da un PCB che utilizza dei componenti SMD e possiede dei pin che si interfacciano direttamente con gli *Header* della *Pioneer Baseboard*. Il PCB è progettato in modo da essere posto sulla parte superiore della *Baseboard* e connettersi al di sopra di essa avendo tenuto conto dell'architettura e delle distanze relative tra gli *Header*. Il progetto Eagle del PCB è mostrato nelle fig. 2.54 (schematico) e 2.55 (*board*). E' stato possibile sfruttare i 2 *layer* della board permettendo il passaggio delle piste elettriche da un *layer* all'altro.

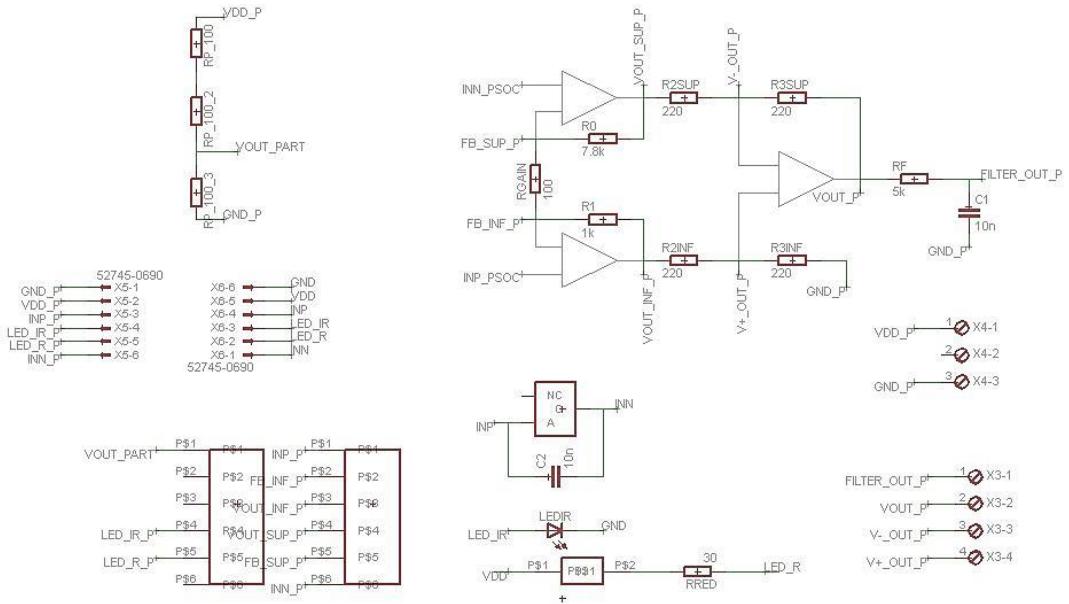


Fig. 2.54 – Schematico del PCB

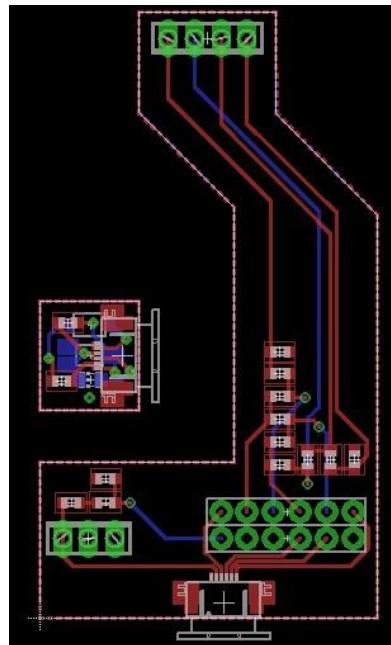


Fig. 2.55 – Board del sensore e del PCB

La stampa del PCB e l’interfaccia con il PSoC è mostrata in fig. 2.56.

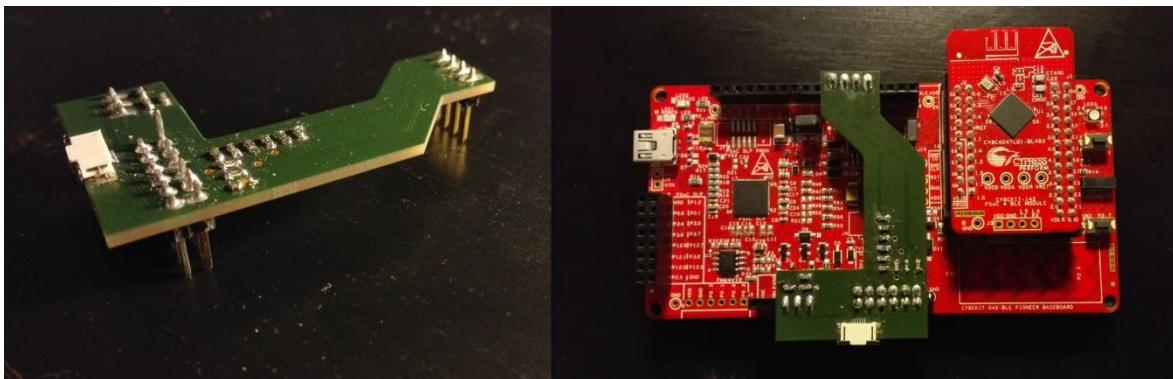


Fig. 2.56 – PCB (a sinistra) e PCB + PSoC (a destra)

Sensore e PCB sono dotati ciascuno di un connettore Molex® 52745 (fig. 2.57b) per permettere il passaggio dei segnali necessari al funzionamento del sensore (INN, INP, GND, Vdd, LEDr, LEDir) e sono connessi tramite il cavo piatto a 6 vie Molex® 98266 (fig. 2.57a).



Fig. 2.57 – Cavo piatto (a) e connettore (b)

Il sensore 4 può essere inserito all'interno di una delle due fessure che presenta l'anello stampato mediante stampante 3D, mostrato in fig. 2.58a.

In questo modo si facilita la stabilità del sensore che si pone a stretto contatto con la cute dell'utente monitorato, permettendo inoltre la scelta di uno dei due spazi progettati all'interno dell'anello. Questa idea nasce dalla conformazione anatomica delle arterie digitali passanti alle estremità del dito (par.1.5), per cui il sensore si pone in entrambe le possibili configurazioni a contatto con la zona di tessuto più adiacente ai vasi arteriosi.



Fig. 2.58 – Sensore con anello (a) e anello su dito (b)

#### 2.4.6 – Ricezione e lettura dati

L'ultima parte dell'architettura del sistema prevede la comunicazione seriale tra PSoC e computer e avviene mediante l'utilizzo di UART USB UM232R di FTDI Chip®, che possiede un range di trasferimento dati da 300 baud a 1 Megabaud (fig. 2.59).



Fig. 2.59 – UART USB

I dati in ingresso devono essere letti e analizzati per la corretta identificazione del tracciato di pulsossimetria e per fare ciò viene utilizzato un programma in Matlab. Lo scopo del programma è quello di analizzare in tempo reale i segnali in ingresso e restituire il valore del coefficiente R per ogni pulsazione.

In Appendice D si ritrova l'intero codice del programma, qui verrà analizzato per blocchi. Innanzitutto bisogna assicurarsi di trasmettere e ricevere i dati dalla stessa porta seriale, che va indicata nel programma:

```
serialObject=serial('COM7','Baudrate',115200,'Terminator',CR,'DataBits',8,'StopBits',1,'Parity','none');
```

Il Baudrate impostato col componente SW Tx Uart del PSoC deve coincidere con quello settato nel codice Matlab; in seguito si può aprire la connessione con la porta seriale:

```
fopen(serialObject);
```

Si ricorda che vengono inviati 6 diversi caratteri, ognuno scisso in *low byte* e *high byte*, e che i dati in ingresso costituiscono un “treno” di caratteri da decifrare. Il primo carattere da ricercare è quello relativo all’*high byte* del carattere terminatore “term” seguito dal suo *low byte*. Le istruzioni poste all’interno di un ciclo `while(1)` sono le seguenti:

```
while(1)
    carattereh= fread(serialObject,1,'uint8');
    if (bitand(carattereh,255)==39)
        caratterel= fread(serialObject,1,'uint8');
        if (bitand(caratterel,255)==15)
```

Il numero decimale 9999 corrisponde in binario a 10011100001111, per cui separando il byte in due parti si ha un *high byte* 100111 che corrisponde in decimale a 39 e un *low byte* 00001111 che corrisponde a 15. La funzione `bitand()` restituisce il “bit wise and” in decimale tra il parametro letto e 255 (in decimale corrisponde a 11111111), che viene confrontato all’interno di una istruzione `if`. Quando vengono riconosciuti i due caratteri relativi al *term* il programma entra all’interno di un nuovo ciclo `while(1)` in cui si ha la certezza di leggere il primo dei valori di un nuovo pacchetto di dati inviato dall’UART. Le istruzioni successive sono le seguenti:

```
while(1)
    hb=fread(serialObject,1,'uint8');
    lb=fread(serialObject,1,'uint8');
    counter(count) = bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255));

    hb=fread(serialObject,1,'uint8');
    lb=fread(serialObject,1,'uint8');
    r(count) = bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255));

    hb=fread(serialObject,1,'uint8');
    lb=fread(serialObject,1,'uint8');
    rA(count) =bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255));

    hb=fread(serialObject,1,'uint8');
    lb=fread(serialObject,1,'uint8');
    ir(count) = bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255));

    hb=fread(serialObject,1,'uint8');
    lb=fread(serialObject,1,'uint8');
    irA(count) =bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255));
```

```

hb=fread(serialObject,1,'uint8');
lb=fread(serialObject,1,'uint8');

```

Tutti e 6 i nuovi caratteri vengono letti dal programma nelle due sotto-parti di byte e soltanto i primi 5 vengono memorizzati in altrettanti array pre-allocati (non ha utilità memorizzare il carattere *term*). La ricostruzione di un numero intero avviene dapprima con la funzione vista precedentemente `bitand()` per entrambi i dati “hb” ed “lb”, viene shiftato di 8 posizioni il risultato della funzione `bitand()` relativa ad hb ed infine la funzione `bitor()` restituisce un numero che viene memorizzato nell’array.

Il codice prosegue nella ricerca dei punti di massimo sistolici e minimo diastolici del segnale di pulsossimetria, necessari al successivo calcolo del coefficiente R (si riportano le istruzioni sui dati del led IR, sono analoghe quelle per il led R).

```

[d,f]=butter (3,0.042);
a= 1000;
if ciclo==0
    if count==a
        yy= filtfilt(d,f,ir(1:count));
        [MAX,tmax] = findpeaks(yy(30:end));
        tmax=tmax+30;
        DataInv = 1.01*max(yy) - yy;
        [MIN,tmin] = findpeaks(DataInv);
        MIN = yy(tmin);
        dist=(tmax(end)-tmax(1))/(length(tmax)-1);
        temp=dist*0.008;
        freq=ceil(60/temp);
        riga=length(tmax);
        rig=riga-length(tmin);
        ciclo=1;
    end
end

```

Viene utilizzato un contatore `count` interno al programma Matlab che, partendo da 0, incrementa il suo valore ogni nuovo sestetto di dati letto in ingresso. Il codice riportato permette di trovare tutti gli *n* punti di massimo `MAX()` e gli *h* punti di minimo `MIN()` tramite la funzione `findpeaks()` nel primo intervallo temporale pari a 8 s. I dati vengono filtrati dalla funzione `filtfilt()` che prende in ingresso i dati del segnale del led e i due coefficienti (`d, f`), risultato della funzione `butter()` in cui si specifica il grado del filtro passa basso di Butterworth e la frequenza di taglio normalizzata. Nella variabile `dist` viene memorizzata la distanza temporale media che intercorre tra il primo e l’ultimo massimo ritrovato (*n*). In questo modo è possibile tenere conto di questo intervallo temporale medio per la ricerca dei successivi punti sistolici, in quanto è caratterizzato

dall'andamento del ciclo cardiaco. Il codice segue come riportato, in cui avviene l'identificazione dei nuovi punti in tempo reale con l'acquisizione:

```
elseif ciclo==1
    if count==tmax(riga-1,1)+ 350
        yy=filtfilt(d,f,ir(1:count));
        [MAX(riga,1),tmax(riga,1)]=max(yy( tmax(riga-1,1)+ ceil(0.6*dist) :
            tmax(riga-1,1)+ ceil(1.45*dist)));
        tmax(riga,1)=tmax(riga,1)+ tmax(riga-1,1)+ceil(0.6*dist);
        [MIN(rig,1),tmin(rig,1)]= min(yy(tmax(riga-1,1):tmax(riga,1)));
        tmin(rig,1)=tmax(riga-1,1)+tmin(rig,1);
        R_den(i,1)=(MAX(riga-1,1)-MIN(rig,1))/MIN(rig,1);
        riga=riga+1;
        rig=rig+1;
        miniciclo=miniciclo+1;
        if miniciclo==5
            ciclo=2;
        end
```

Avviene la ricerca del primo punto di massimo ( $n+1$ ) immediatamente successivo all'ultimo trovato ( $n$ ). Ciò avviene partendo dal riferimento della coordinata temporale del punto  $n$  ed utilizzando come intervallo di ricerca il valore `dist` precedentemente calcolato. Le nuove coordinate del punto di massimo ( $n+1$ ) vengono memorizzate, e l'indice `riga` dei due array `MAX` e `tmax` viene incrementato. Nell'intervallo tra il massimo  $n$  ed il successivo  $n+1$  avviene l'identificazione del punto di minimo  $h+1$  del segnale. In questo modo si può calcolare il denominatore del coefficiente `R` (in quanto consideriamo il segnale del led IR) del segnale di pulsossimetria relativo a quella pulsazione mediante il picco sistolico  $n$  e quello diastolico  $h+1$ .

Questo ciclo prosegue fino al punto di massimo  $n+5$ , dopodiché il codice prosegue come riportato di seguito:

```
elseif ciclo==2
    if count==tmax(riga-1,1)+ 350
        yy=filtfilt(d,f,ir(1:count));
        aa= ceil(0.6*(0.6*dist + 0.4*(tmax(riga-1,1)-tmax(riga-5,1))/4));
        bb= ceil(1.45*(0.6*dist + 0.4*(tmax(riga-1,1)-tmax(riga-5,1))/4));
        [MAX(riga,1),tmax(riga,1)]=max(yy( tmax(riga-1,1)+ aa : tmax(riga-
            1,1)+ bb));
        tmax(riga,1)=tmax(riga,1)+ tmax(riga-1,1)+aa ;
        [MIN(rig,1),tmin(rig,1)]= min(yy(tmax(riga-1,1):tmax(riga,1)));
        tmin(rig,1)=tmax(riga-1,1)+tmin(rig,1);
        R_den(i,1)=(MAX(riga-1,1)-MIN(rig,1))/MIN(rig,1);
        i=i+1;
        riga=riga+1;
        rig=rig+1;
        stampal=0;
        end
    end
```

La logica del codice è la stessa di quella precedente. La differenza è che ogni nuova pulsazione è rilevata dal sistema basandosi sulle distanze medie delle ultime 5 ritrovate, in modo da tenere conto nel prosieguo dell'acquisizione di un'eventuale variazione del ciclo cardiaco, rilevabile proprio dalle distanze picco-picco.

Quando il sistema trova i due nuovi punti di massimo rispettivamente per il segnale led R e led IR, combina i due coefficienti `R_num()` ed `R_den()` per permettere il calcolo della `R()` specifica di quella pulsazione:

```
if j>1
    if i>1
        if stampa1==0 && stampa2==0
            R(k,1)=R_num(j-1,1)/R_den(i-1,1);
            fprintf('R(%d) %d\n',k, R(k,1));
            k=k+1;
            stampa1=1;
            stampa2=1;
        end
    end
end
```

`R` viene calcolato e stampato a schermo ad ogni nuova pulsazione come rapporto di `R_num` ed `R_den` che sono a loro volta i rapporti tra la componente pulsatile e quella fissa rispettivamente del segnale led R e di quello led IR. Potrebbe non coincidere esattamente l'istante temporale del picco sistolico tra led R e led IR, per cui il rapporto viene svolto dal codice soltanto quando si ritrovano entrambi i nuovi punti sistolici, utilizzando i due booleani `stampa1` e `stampa2`.

L'acquisizione prosegue fino al raggiungimento da parte del `count` di un numero prestabilito `maxlength`, dopodiché si esce dai due cicli `while(1)`, si salvano tutti i dati, si stampa a schermo per entrambi i segnali dei led l'andamento del segnale originale, quello filtrato, i punti sistolici e diastolici ritrovati ed infine l'andamento di `R`.

```
if count==maxlength
    tmax=tmax*0.008;
    tmin=tmin*0.008;
    tmaxr=tmaxr*0.008;
    tminr=tminr*0.008;
    figure(1)
    plot(b(1:end-1),ir(1:end-1),'y');
    hold on
    plot(b(1:length(yy)),yy(1:end),'b');
    plot(tmax,MAX,'g*');
    plot(tmin,MIN,'r*');
    plot(b(1:end-1),r(1:end-1),'y');
    plot(b(1:length(xx)),xx(1:end),'b');
    plot(tmaxr,MAXr,'g*');
    plot(tminr,MINr,'r*');
```

```

plot(R);
break
end

```

In fig. 2.60 e 2.61 si riportano rispettivamente una parte dell'andamento relativo al segnale del led IR con individuazione dei punti sistolici e diastolici e i punti del coefficiente R in una acquisizione dalla durata di 110 s.

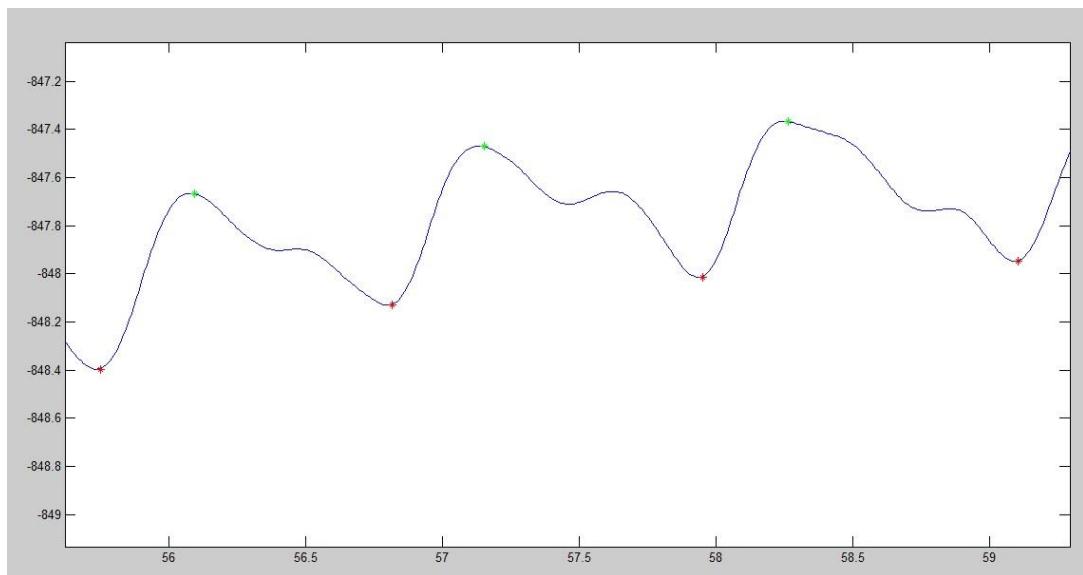


Fig. 2.60 – Segnale led IR

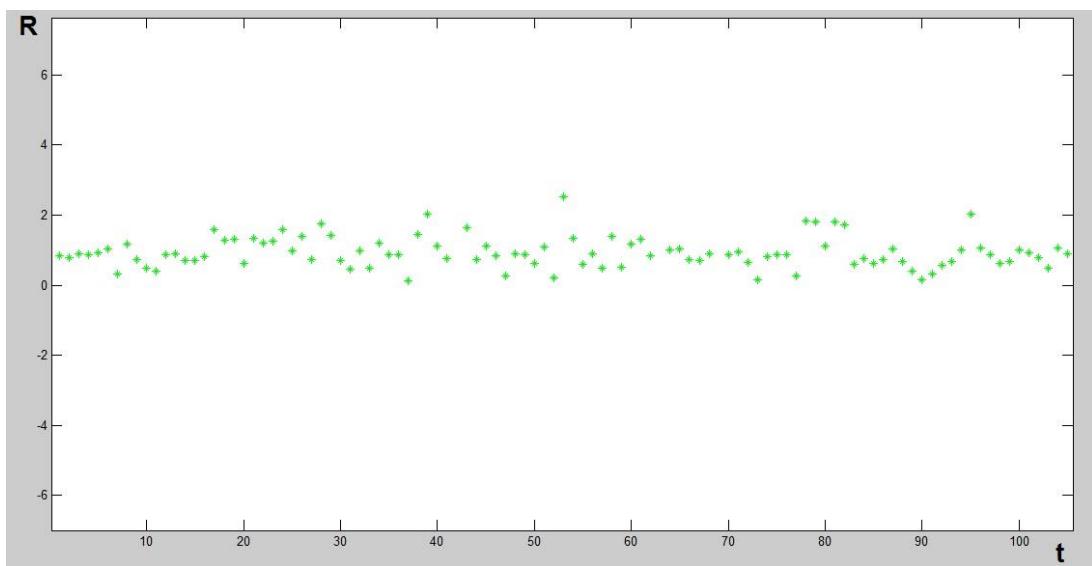


Fig. 2.61 – Coefficiente R nel tempo

# CAPITOLO 3: Risultati

## 3.1 – Introduzione ai test svolti

Nel capitolo precedente sono stati descritti i due diversi front end utilizzati per lo sviluppo del sistema di pulsossimetria, in questo capitolo verranno invece esposti i risultati che ciascun sistema ha prodotto. AFE4400 è stato utilizzato solo nella prima parte del progetto per la valutazione dei parametri delle acquisizioni nelle tre diverse configurazioni di sensori sviluppati. Nel paragrafo 3.1 viene fatto un confronto statistico tra le diverse popolazioni di dati relative alle tre configurazioni gestite da AFE, prendendo come parametro di confronto il rapporto segnale-rumore ottenuto sia per il segnale del led R che per quello del led IR in 40 acquisizioni per ciascuna configurazione. Nel paragrafo 3.2 si riportano le metodiche e i risultati delle acquisizioni svolte per la calibrazione del pulsossimetro sviluppato con il PSoC. Sono stati acquisiti 6 soggetti in due modalità differenti: la prima consiste in una acquisizione dalla durata di 60 secondi (par. 3.2.1), invece la seconda utilizza la tecnica del re-breathing che comporta una desaturazione del soggetto (3.2.2). Per la procedura di calibrazione viene posto un pulsossimetro di riferimento in parallelo a quello sviluppato, in modo da calcolare la frequenza cardiaca e i valori di SpO<sub>2</sub> del dispositivo sviluppato correlati al coefficiente R. L'intervallo di saturazione totale per cui è stato possibile svolgere la correlazione tra i due dispositivi avviene nel range 86 - 99% SpO<sub>2</sub>. Per ogni soggetto è stata dapprima calcolata la curva di calibrazione del sistema, dopodiché viene posto un confronto tra i valori di SpO<sub>2</sub> calcolati e quelli letti dal pulsossimetro di confronto. Viene inoltre riportato il Bland Altman plot che indica il grado di correlazione tra i due sistemi sulla base dei valori di SpO<sub>2</sub> ottenuti. Alla fine dell'esposizione di tutti i grafici relativi ai 6 soggetti viene mostrata una tabella comparativa di risultati ottenuti dalla media del coefficiente R rispettivamente per 3, 4 e 5 valori. Infine viene svolta un'analisi complessiva, prendendo i dati di R mediati su 5 valori, per il calcolo della curva di calibrazione del sistema.

## 3.2 – Prove di AFE4400 con le configurazioni 1, 2 e 3

AFE4400 è stato utilizzato per valutare se esiste una differenza nell'acquisizione tra le configurazioni 1, 2 e 3. Il test svolto si basa sulla rilevazione del segnale di pulsossimetria

sulla prima falange del dito indice della mano sinistra in una prova a respiro spontaneo dalla durata di 60 secondi. Sono state svolte 40 prove su un soggetto per ogni configurazione, in cui vengono rilevati per entrambi i segnali di led R e IR, i seguenti parametri:

ampiezza AC media della componente pulsatile, ampiezza DC media della componente fissa ed SNR (*Signal to Noise Ratio*). Quest'ultimo parametro viene calcolato come segue:

$$SNR_{db} = 20 \log_{10} \frac{A_s}{A_r}$$

in cui  $A_s$  è la componente pulsatile AC del segnale e  $A_r$  è il segnale *ambiente*, rumore di fondo letto dal fotodiodo.

In appendice E è possibile trovare i valori dei parametri per ogni acquisizione.

E' stato svolto un test ANOVA a due vie utilizzando il programma SigmaStat®, volto a rilevare eventuali differenze statisticamente significative sia tra  $SNR_r$  ed  $SNR_{ir}$  nello stessa configurazione, sia per i parametri  $SNR_r$  e  $SNR_{ir}$  tra i tre campioni di dati.

Si procede nell'analisi dei dati statistici sulla base del metodo di Holm-Sidak per comparazioni multiple.

La configurazione 1 presenta mediane e quartili (1 e 3) per  $SNR_r$  ed  $SNR_{ir}$  indicati nella Tabella 2:

Tabella 2: Statistiche Configurazione 1

Parametro	Mediana [db]	Quartile 1[db]	Quartile 3[db]
$SNR_r$	21,406	18,930	26,729
$SNR_{ir}$	27,05	24,02	33,87

La configurazione 2 invece possiede valori di mediana e quartili (1 e 3) per i due parametri  $SNR_r$  ed  $SNR_{ir}$  indicati nella Tabella 3:

Tabella 3: Statistiche Configurazione 2

Parametro	Mediana [db]	Quartile 1[db]	Quartile 3[db]
$SNR_r$	12,019	10,541	14,391
$SNR_{ir}$	22,23	18,67	24,726

La configurazione 3 presenta valori di mediana e quartili (1 e 3) per i parametri  $SNR_r$  ed  $SNR_{ir}$  indicati nella Tabella 4:

Tabella 4: Statistiche Configurazione 3

Parametro	Mediana [db]	Quartile 1[db]	Quartile 3[db]
SNR <sub>r</sub>	3,18	1,58	5,4
SNR <sub>ir</sub>	19,46	11,17	28,99

Il livello di significatività minimo adottato per il quale l’ipotesi nulla viene rifiutata è p-value < 0,05.

Si mostrano in Tabella 5 i risultati del confronto statistico tra SNR<sub>r</sub> ed SNR<sub>ir</sub> per ogni configurazione.

Tabella 5: Confronto statistico SNR<sub>r</sub> vs SNR<sub>ir</sub>

Configurazione	p-value
1	< 0,001
2	< 0,001
3	< 0,001

Nel confronto tra i due segnali delle tre popolazioni sono stati rilevati dei p-value < 0,001, per cui la differenza tra SNR<sub>r</sub> ed SNR<sub>ir</sub> è statisticamente rilevante per ognuna delle configurazioni di sensori.

Il confronto statistico relativo ad SNR<sub>r</sub> per le tre configurazioni è invece riportata in tabella 6:

Tabella 6: Confronto statistico SNR<sub>r</sub>

Configurazioni a confronto	p-value
1 vs 2	< 0,001
1 vs 3	< 0,001
2 vs 3	< 0,001

La differenza di SNR<sub>r</sub> si rileva statisticamente rilevante, essendo i tre p-value risultanti al di sotto della soglia stabilita per il rifiuto dell’ipotesi nulla.

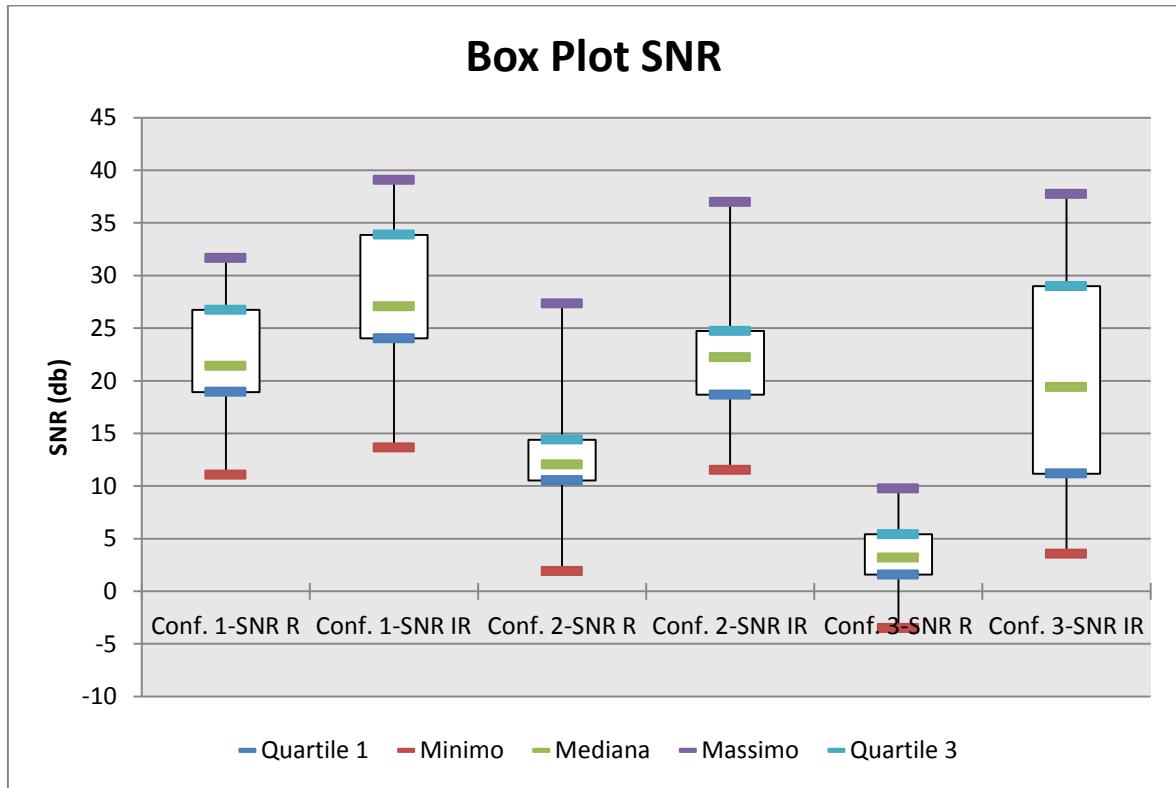
Si riportano in Tabella 7 i valori dei p-value per il parametro SNR<sub>ir</sub> nei confronti tra le popolazioni:

Tabella 7: Confronto statistico SNR<sub>ir</sub>

Configurazioni a confronto	p-value
1 vs 2	0,046
1 vs 3	0,036
2 vs 3	0,523

In questo caso l'ultimo confronto (configurazione 2 vs configurazione 3) non risulta soddisfare i requisiti per la differenza statisticamente significativa, al contrario dei primi due in cui il p-value < 0,05.

Nel seguente grafico si riporta il box plot dei risultati statistici delle tre configurazioni:



### 3.3 – Calibrazione del pulsossimetro

Il sistema di pulsossimetria sviluppato con il PSoC 4 BLE di Cypress necessita della procedura sperimentale di calibrazione in modo da confrontare i parametri di R con un altro strumento di riferimento e definire così il rapporto ingresso-uscita del sistema. Questa metodologia, che ha anche l'obiettivo di migliorare l'accuratezza del sistema, richiede l'utilizzo di un pulsossimetro di riferimento commerciale in modo da correlare i dati in

tempo reale del coefficiente R con il valore di saturazione SpO<sub>2</sub> indicato dal riferimento. In questo modo si mette in relazione l'uscita dello strumento (SpO<sub>2</sub>) con l'ingresso (coefficiente R), attraverso una misura precisa e nota dell'ingresso, identificando così la funzione di trasferimento del pulsossimetro sviluppato con il PSoC. Per fare questo è necessario avere sia un numero elevato di punti nell'intervallo di variabilità dell'ingresso sia un numero elevato di ripetizioni della misura per lo stesso valore di ingresso. A questo scopo sono stati acquisiti 6 soggetti in due prove differenti: nella prima viene richiesto al soggetto di respirare in modo naturale per un tempo pari a 60 secondi.

Nella seconda prova il soggetto respira attraverso un boccaglio l'aria contenuta in un sacco di plastica per un tempo massimo di 4 minuti. In questo modo si costituisce un "circuito chiuso" che determina la progressiva desaturazione del soggetto nel tempo. Ciò avviene in seguito ad aumento di concentrazione di CO<sub>2</sub> e ad una diminuzione di O<sub>2</sub> nel volume di aria scambiato tra polmoni e sacco nel corso dell'acquisizione. Questo effetto è determinato ad ogni atto respiratorio del soggetto che consuma O<sub>2</sub>, necessario al mantenimento delle funzioni della cellula, ed all'emissione di CO<sub>2</sub>, prodotto di scarto del metabolismo cellulare (par. 1.1). La desaturazione è variabile tra i soggetti, essendo dipendente sia dalla frequenza che dalla entità degli atti respiratori durante il corso dell'acquisizione.

Questo tecnica è chiamata "re-breathing" e permette di ricavare il coefficiente R non solo per valori di saturazione nel range di "normalità" di una persona sana, ossia tra il 95 e il 100%, ma anche per valori di saturazione minori di quell'intervallo. Infatti sono stati raggiunti tra i soggetti acquisiti dei limiti inferiori indicati dal pulsossimetro di riferimento pari all'86% di SpO<sub>2</sub>. In questo modo si ottiene una curva di calibrazione complessiva per un intervallo di SpO<sub>2</sub> che va dal 99% fino all'86%, permettendo al pulsossimetro sviluppato di rilevare il valore di saturazione dell'ossigeno in un ampio intervallo [48].

Il pulsossimetro commerciale utilizzato allo scopo di questa operazione è il PULOX ®-PO 200 (fig. 3.1), un dispositivo che incorpora in una singola unità sia la parte elettronica che il sensore a clip per l'acquisizione su un dito della mano. Presenta un display che permette di leggere i valori dei parametri di SpO<sub>2</sub> e di frequenza cardiaca, oltre che l'andamento del ciclo cardiaco.



Fig. 3.1 – PULOX PO-200

Le caratteristiche del dispositivo sono indicate in tabella 8:

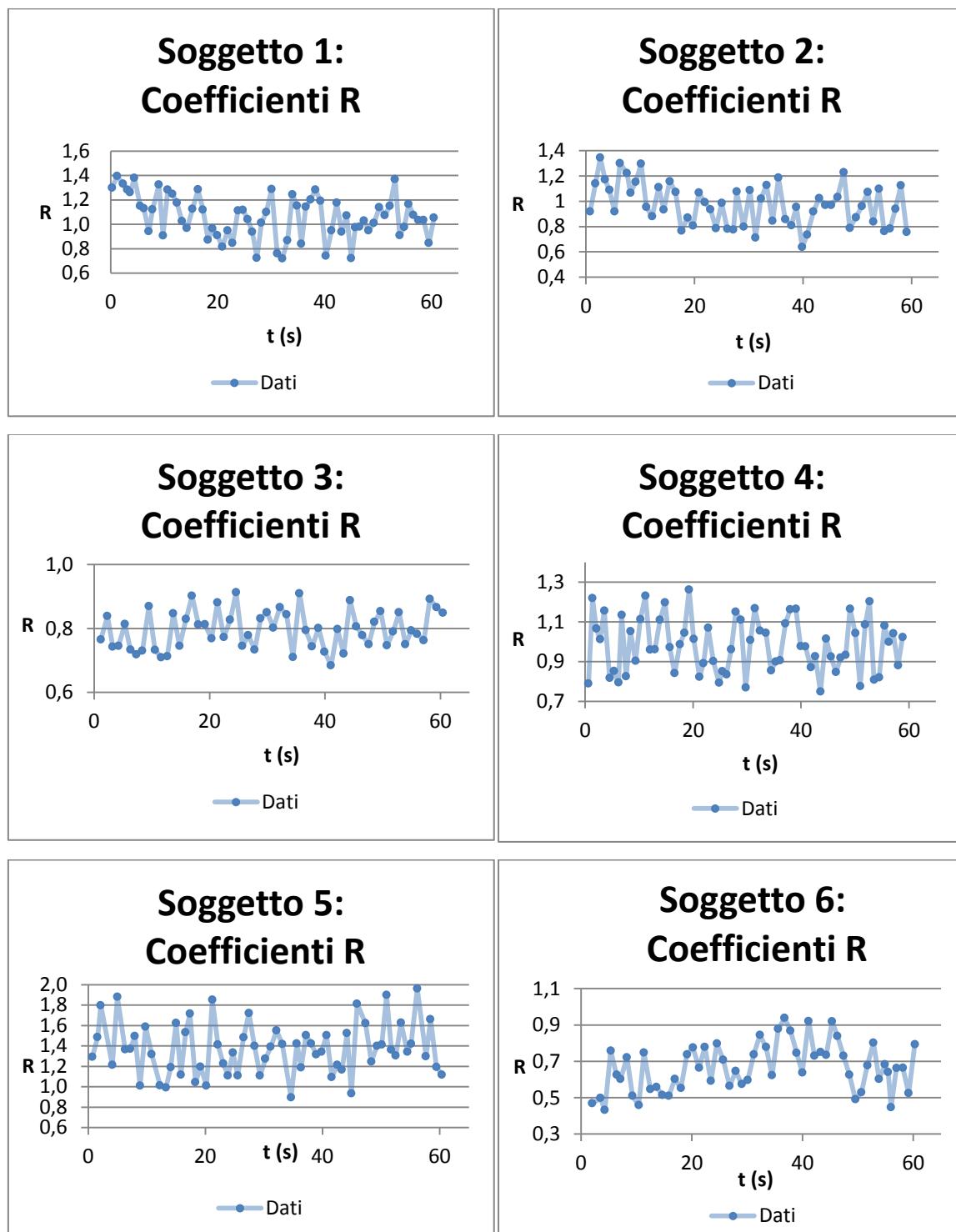
Tabella 8: Caratteristiche PULOX PO-200

PERFORMANCE	RANGE	ACCURATEZZA	RISOLUZIONE
Saturazione [SpO <sub>2</sub> ]	0-99%	±2 % (Range 70-99%)	1%
Frequenza cardiaca [bpm]	30-250	± 5	1
ALTRE CARATTERISTICHE			
LED R [nm]		660	
LED IR [nm]		905	
Autonomia [ore]		40 di funzionamento continuo	

### 3.3.1 – Acquisizioni con respiro spontaneo

In questa prima parte di calibrazione del sistema di pulsossimetria sono stati acquisiti 6 soggetti per un tempo pari a 60 s. Viene chiesto al soggetto di respirare in modo naturale e continuo, in modo da rilevare la frequenza cardiaca media ed i coefficienti R per ogni pulsazione attraverso il sensore ad anello posto sul dito indice della mano sinistra. In parallelo viene posto il pulsossimetro di riferimento sul dito medio della stessa mano, che indica la frequenza cardiaca ed il valore di saturazione sul display del dispositivo.

In seguito verranno esposti per i 6 soggetti i grafici relativi ai valori di R in corrispondenza del tempo in cui vengono rilevati.



Nella seguente tabella 9 sono riportati i valori della media del coefficiente R (Media R), la deviazione standard di R (SD), la frequenza cardiaca media (Fc media) ed il corrispondente valore di saturazione letto dal pulsossimetro di riferimento ( $\text{SpO}_2$ ).

Tabella 9: Dati soggetti in acquisizioni con respiro spontaneo

Soggetto	Media R	SD	Fc media [bpm]	$\text{SpO}_2$ [%]
1	1,067	0,174	67	97
2	0,9733	0,166	58	98
3	0,795	0,059	61	98
4	0,983	0,134	67	98
5	1,372	0,251	64	98
6	0,666	0,130	56	99

### 3.3.2 – Acquisizioni con tecnica di “re-breathing”

Come precedentemente esposto, la respirazione da parte del soggetto dell’aria contenuta nel sacchetto di plastica attraverso la tecnica del re-breathing permette il raggiungimento di valori di  $\text{SpO}_2$  al di sotto del range di “normalità” di una persona sana. Non c’è un valore di  $\text{SpO}_2$  fisso raggiunto dopo un tempo prestabilito, ma è presente variabilità inter-soggetto. Il sistema che si viene a creare è composto da una parte dalle vie aeree e dai polmoni del soggetto e dall’altra da un sacco di plastica con un boccaglio all’estremità (fig. 3.2).

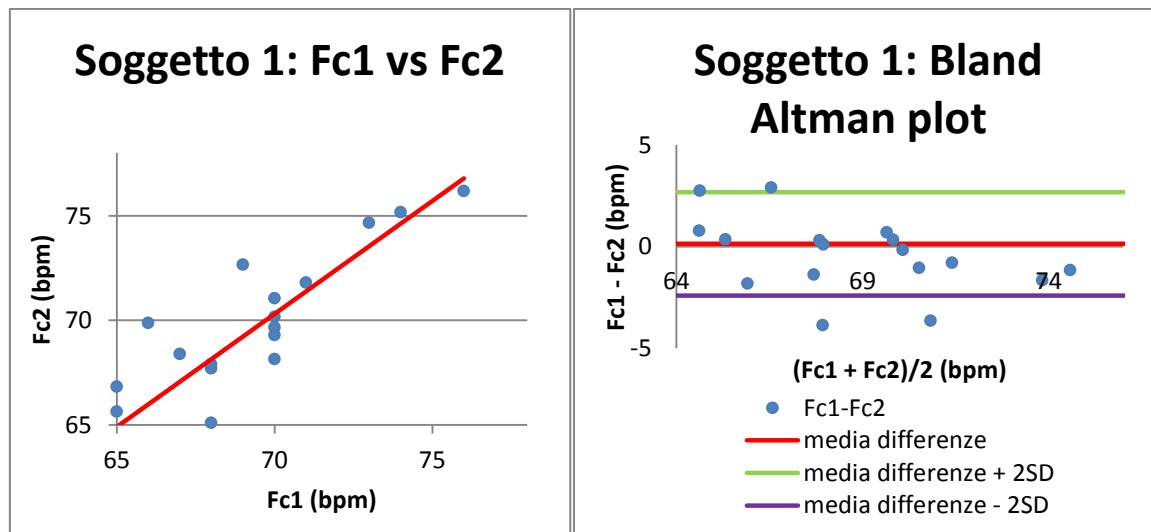


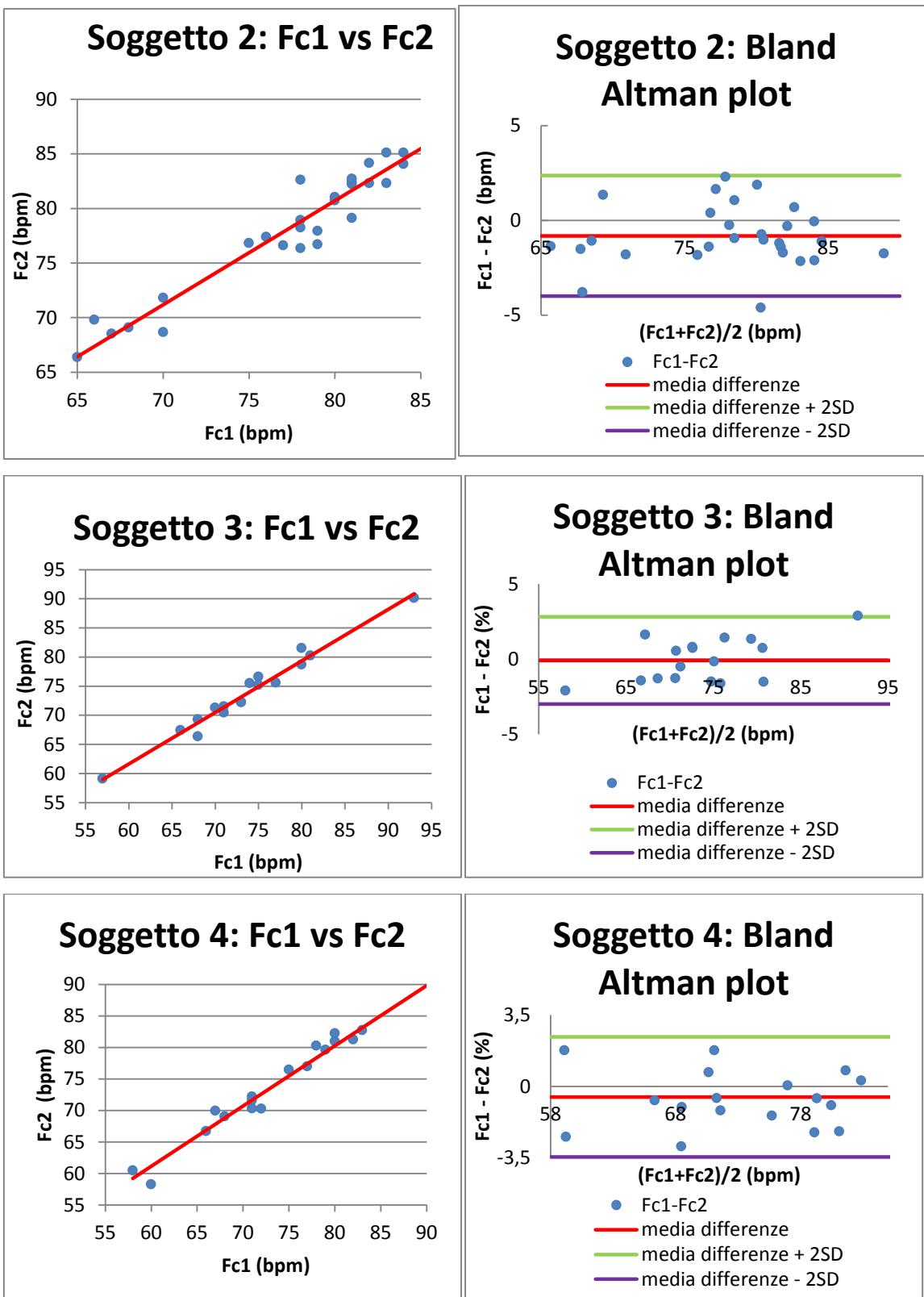
Fig. 3.2 – Re-breathing (a) e sacco (b)

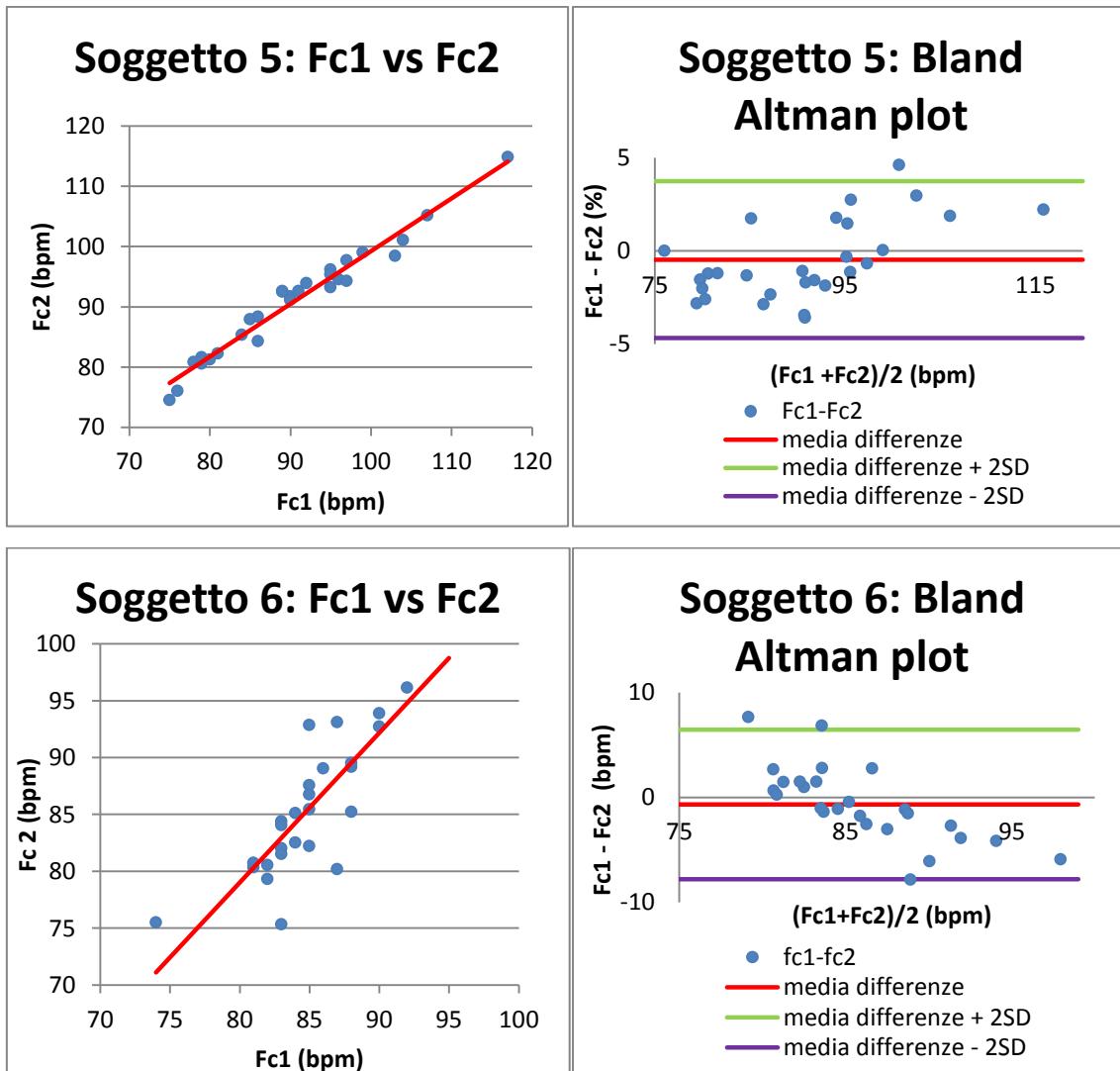
Vengono mostrati in seguito i risultati delle singole acquisizioni dei 6 soggetti relativi alla frequenza cardiaca rilevata ogni 10 pulsazioni.

Fc1 indica la battito cardiaco rilevato dal pulsossimetro di riferimento, mentre Fc2 indica il battito rilevato dal pulsossimetro sviluppato.

Nei grafici sulla sinistra si indicano i valori di Fc2 calcolati in corrispondenza del valore Fc1 letto dal dispositivo. In quelli a destra si riporta il Bland Altman plot in cui sulle ordinate viene rappresentata la differenza Fc1-Fc2, in ascissa è presente la media dei valori  $(Fc1+Fc2)/2$ .





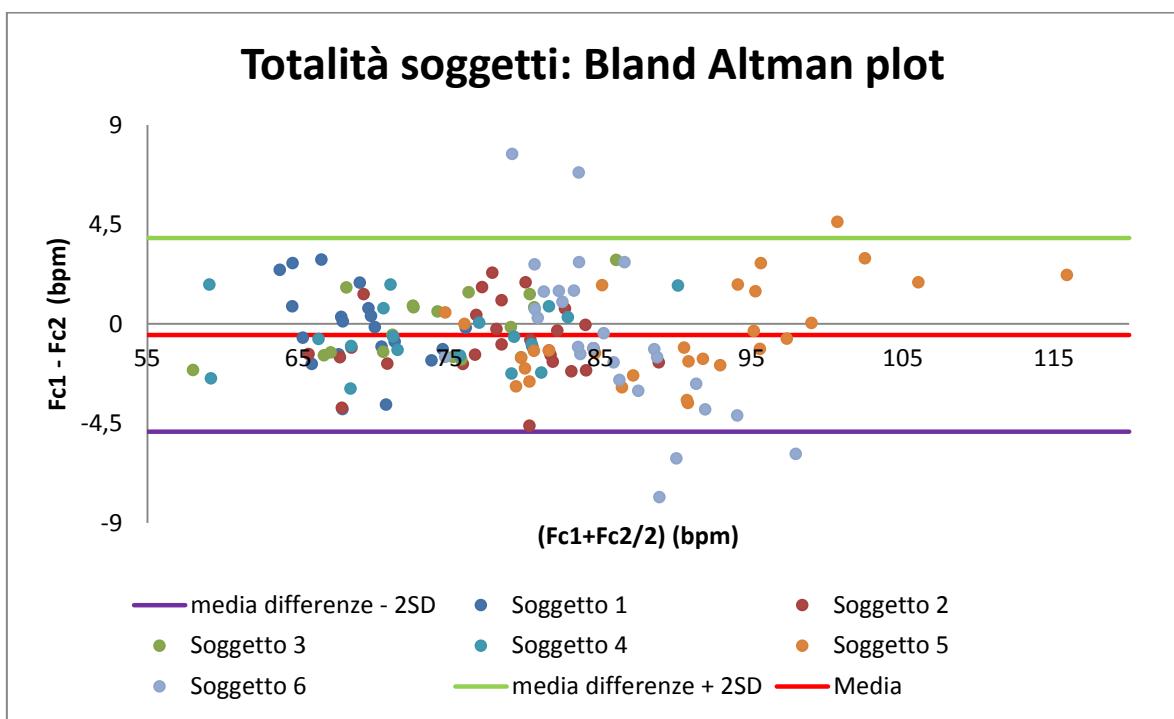
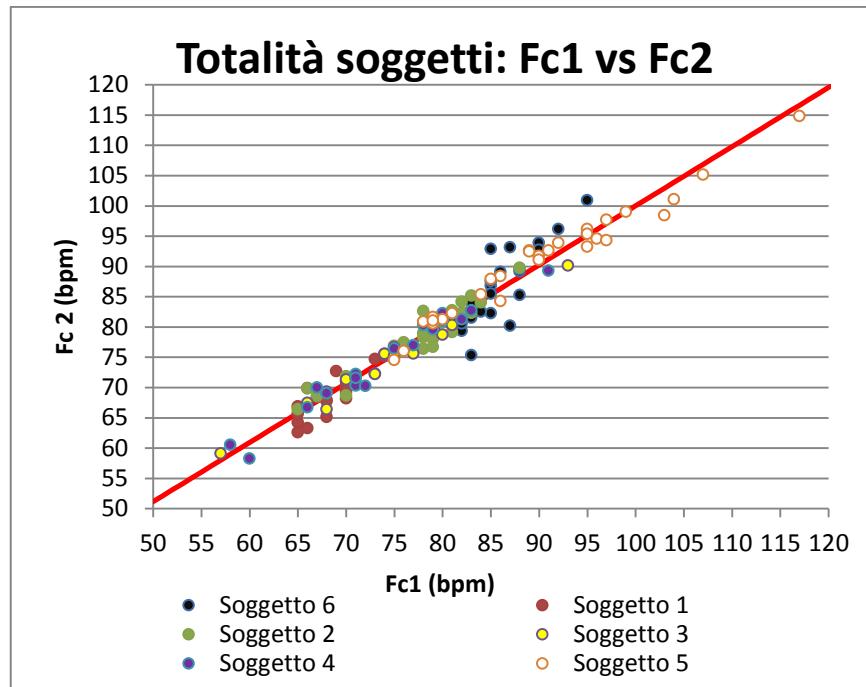


Si riportano in Tabella 10 i dati relativi ai 6 soggetti, in cui nella colonna “Analisi regressione lineare” si riportano la pendenza Slope della retta di approssimazione lineare, il coefficiente di determinazione  $R^2$  tra retta e dati e l’intercetta della retta; nella colonna “Analisi Bland Altman” riportano i valori della media delle differenze ( $Fc1-Fc2$ ) e la deviazione standard delle differenze (SD).

Tabella 10: Dati Frequenza cardiaca per i 6 soggetti.

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze [bpm]	SD [bpm]
1	1,07	0,77	-5,15	0,133	2,55
2	0,95	0,93	4,43	-0,82	1,59
3	0,885	0,97	8,55	-0,08	1,45
4	0,957	0,96	3,69	-0,52	1,47
5	0,87	0,96	11,85	-0,47	2,11
6	1,31	0,72	-26,73	-0,67	3,56
<b>Media</b>	<b>1,007</b>	<b>0,885</b>	<b>-0,56</b>	<b>-0,404</b>	<b>2,12</b>
<b>SD</b>	<b>0,164</b>	<b>0,11</b>	<b>14,04</b>	<b>0,361</b>	<b>0,82</b>

In seguito vengono considerati tutti i valori di frequenza cardiaca calcolati per tutti i 6 soggetti. In questo modo è possibile correlare i dati di Fc1 e di Fc2 per il sistema complessivo e calcolare i parametri Slope, R<sup>2</sup> e l'intercetta corrispondenti. Viene svolta la medesima analisi fatta in precedenza mediante il Bland Altman plot, considerando in questo caso la totalità dei dati rilevati e rilevando la media delle differenze e la deviazione standard per il sistema complessivo.



Si riportano in Tabella 11 i dati ottenuti di frequenza cardiaca per il sistema complessivo.

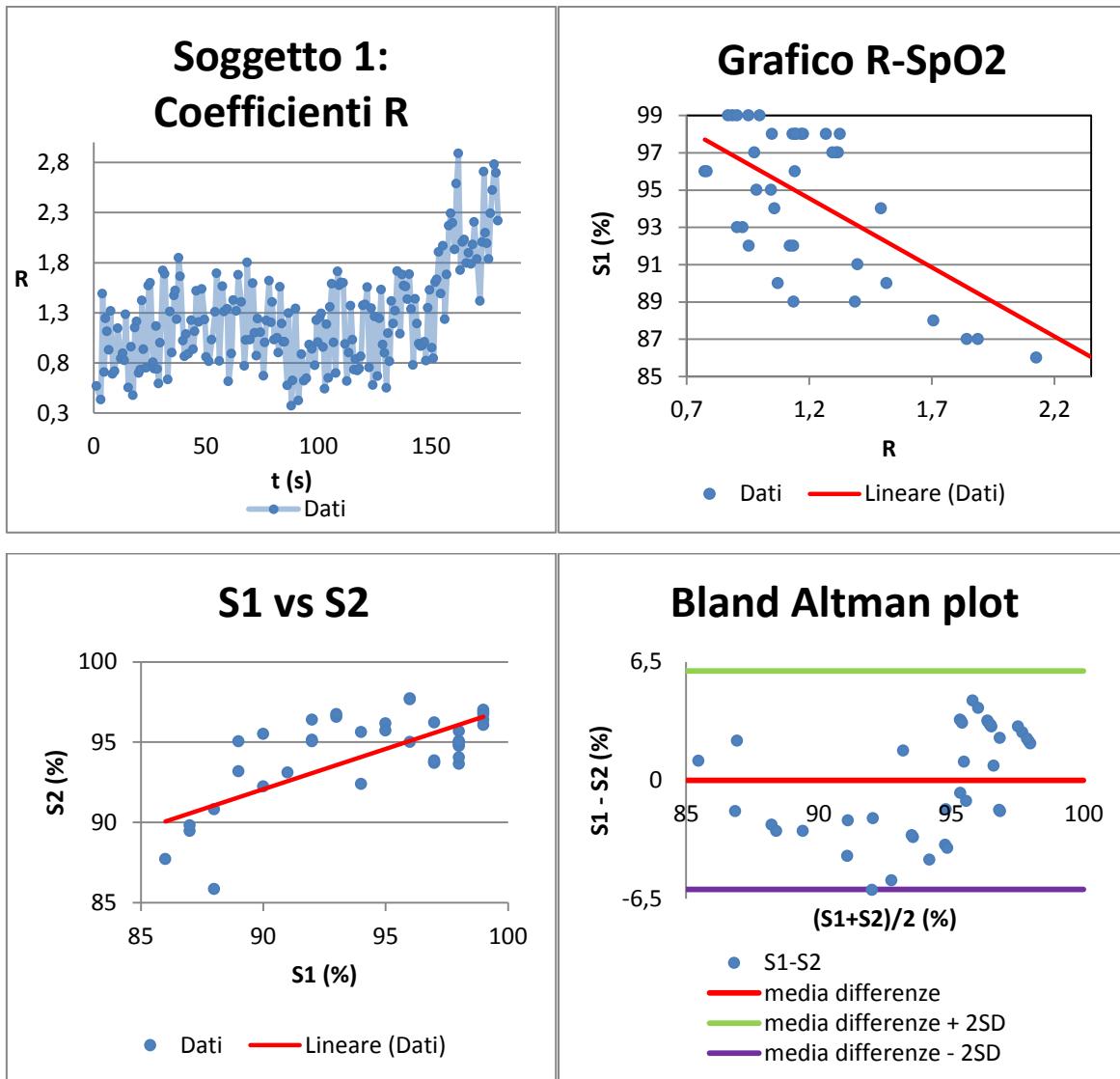
Tabella 11: Parametri di frequenza cardiaca del sistema complessivo

	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
Dati	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze [bpm]	SD [bpm]
Totalità delle rilevazioni su tutti i soggetti	0,977	0,945	2,29	-0,49	2,19

In seguito viene svolta l'analisi riguardante la correlazione tra il coefficiente R calcolato dal sistema ed il valore di saturazione letto dal pulsossimetro di interfaccia. Nel primo dei grafici sulla sinistra si mostra l'andamento di R nel corso dell'acquisizione. Ai fini della calibrazione del sistema vengono svolte tre analisi in cui si procede con la media di 3, 4 e 5 valori consecutivi di R, ma verranno riportati i soli grafici di R mediato per 5 valori. A fine paragrafo sono mostrati in tabella 18 i risultati calcolati per ognuna delle analisi svolte. Nel grafico R-SpO<sub>2</sub> si riportano i valori di R in corrispondenza del valore di saturazione letto.

Vengono approssimati i dati con delle approssimazioni lineari, che permettono di ricavare il valore di saturazione S2 per ogni valore di R. In questo modo vengono posti in un ulteriore grafico i valori di saturazione letti S1 con quelli calcolati S2 dal pulsossimetro sviluppato con il PSoC. L'approssimazione lineare determina i parametri di pendenza Slope, il coefficiente di determinazione R<sup>2</sup> e l'intercetta che vengono utilizzati per identificare il confronto tra i due dispositivi. Infine viene riportato il Bland Altman plot, che determina il grado di correlazione tra i due sistemi. I punti che cadono al di fuori dell'intervallo di confidenza definito dalla media delle differenze  $\pm$  SD, vengono considerati degli *outlier*.

I grafici relativi all'acquisizione del soggetto 1 sono riportati in seguito. Il soggetto raggiunge un intervallo di SpO<sub>2</sub> pari a 86-99%.



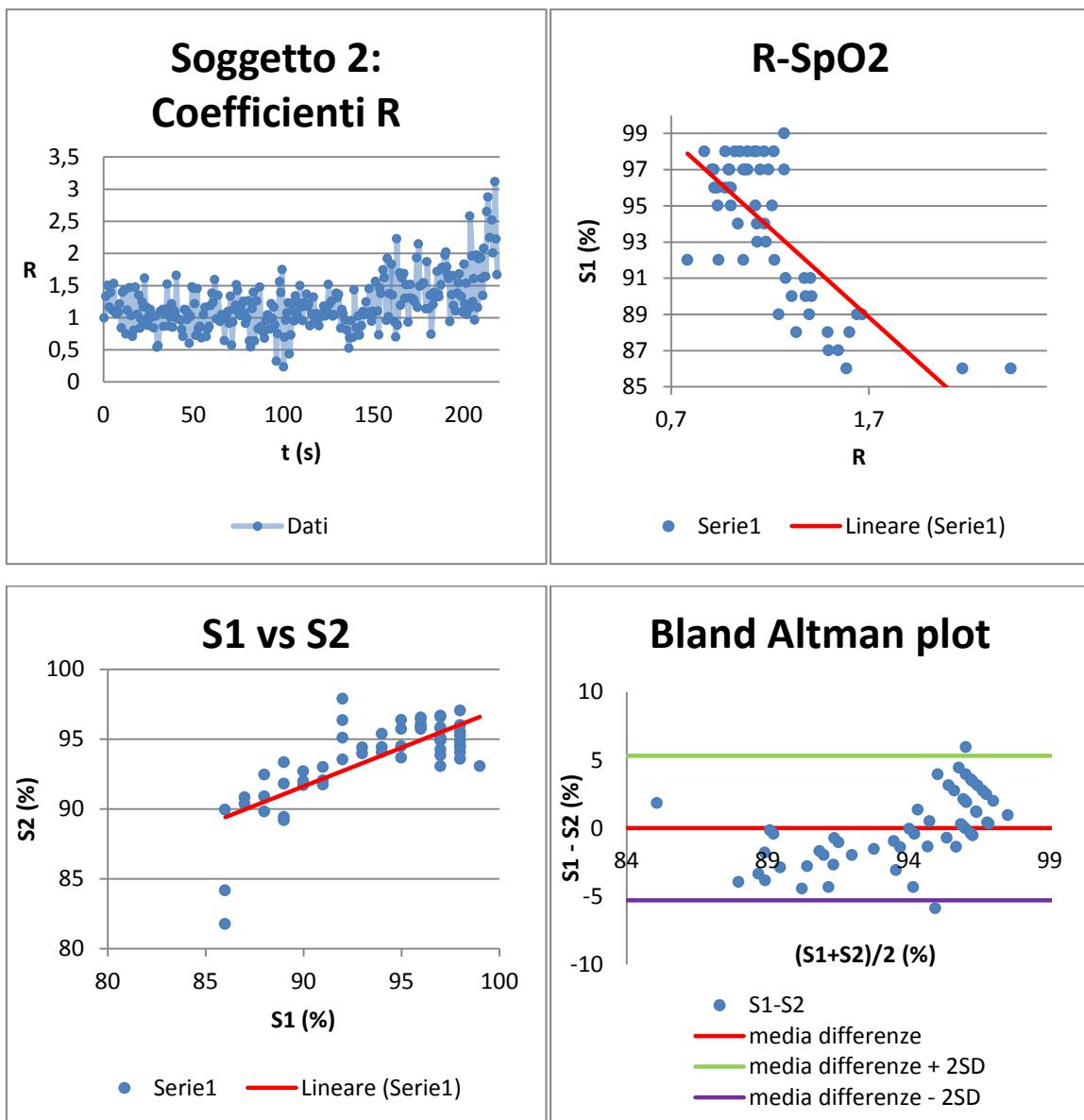
Ricapitolando, i dati ottenuti mediante la tecnica del re-breathing per il soggetto 1 sono in Tabella 12.

Tabella 12: Dati soggetto 1

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
1	0,50	0,50	46,96	-0,0011	3

Il soggetto 2 presenta un numero totale di valori di R calcolati in un tempo totale di 218 s.

Viene raggiunto un intervallo di saturazione pari a 86-99%.



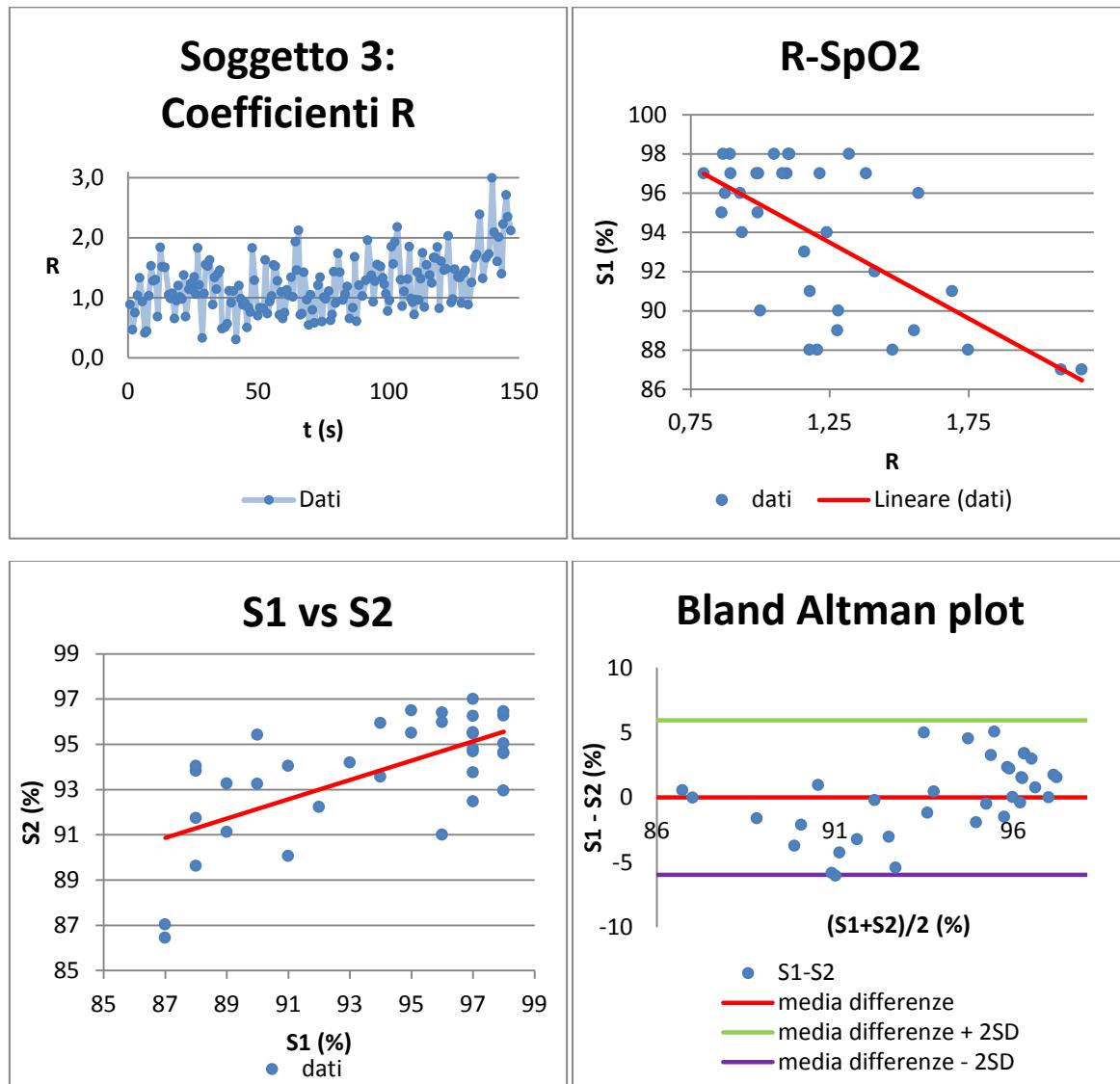
I dati calcolati del soggetto 2 sono riassunti in Tabella 13.

Tabella 13: Dati soggetto 2

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
2	0,49	0,45	41,97	0,143	2,65

I valori del coefficiente R acquisiti per il soggetto 3 sono rilevati in 146 s.

Il range di saturazione raggiunto dal soggetto è pari a 87-98%.



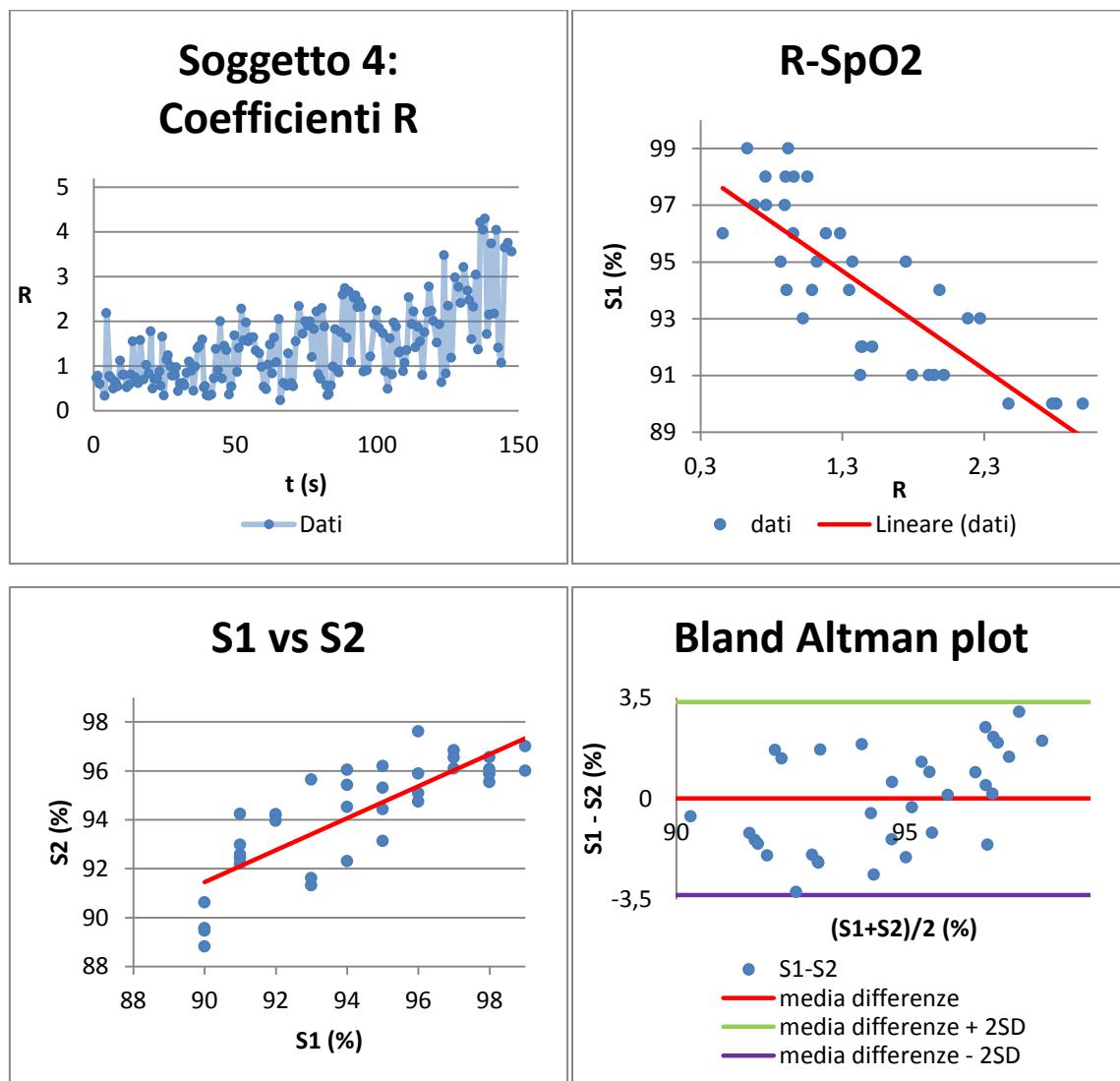
I dati del soggetto 3 sono riassunti in tabella 14.

Tabella 14: Dati soggetto 3

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	$R^2$	Intercetta	Media differenze	SD
3	0,426	0,426	53,72	-0,00045	2,97

Il soggetto 4 presenta i coefficienti R riportati nel grafico e rilevati in 147 s.

Il range di saturazione raggiunto dal soggetto è pari a 90-99% di SpO<sub>2</sub>.

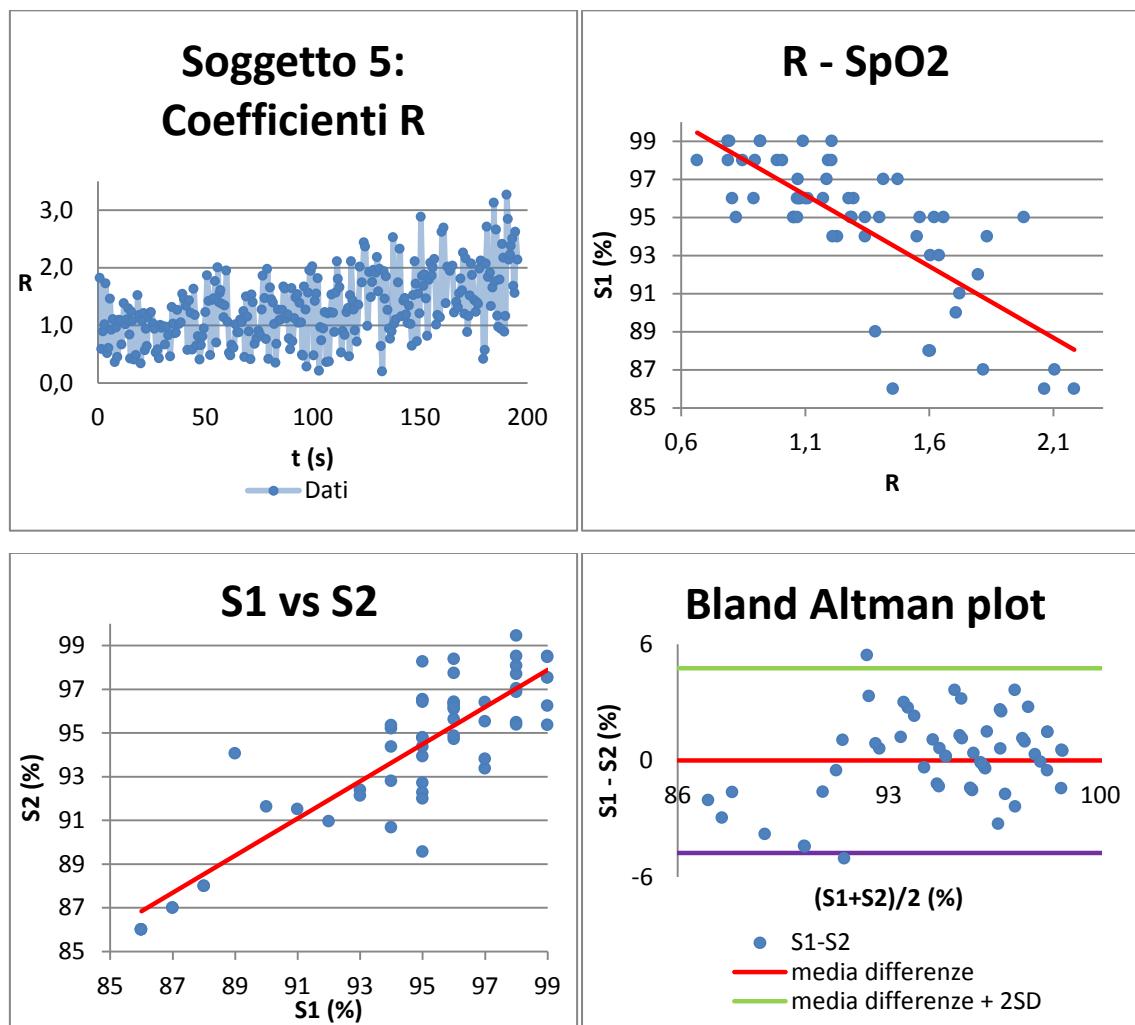


I dati del soggetto 4 sono riassunti in tabella 15.

Tabella 15: Dati soggetto 4

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
4	0,65	0,65	32,57	-0,000071	1,67

Il soggetto 5 presenta i valori di R acquisiti in 195 s. L'intervallo di saturazione raggiunto è pari a 86-99%.

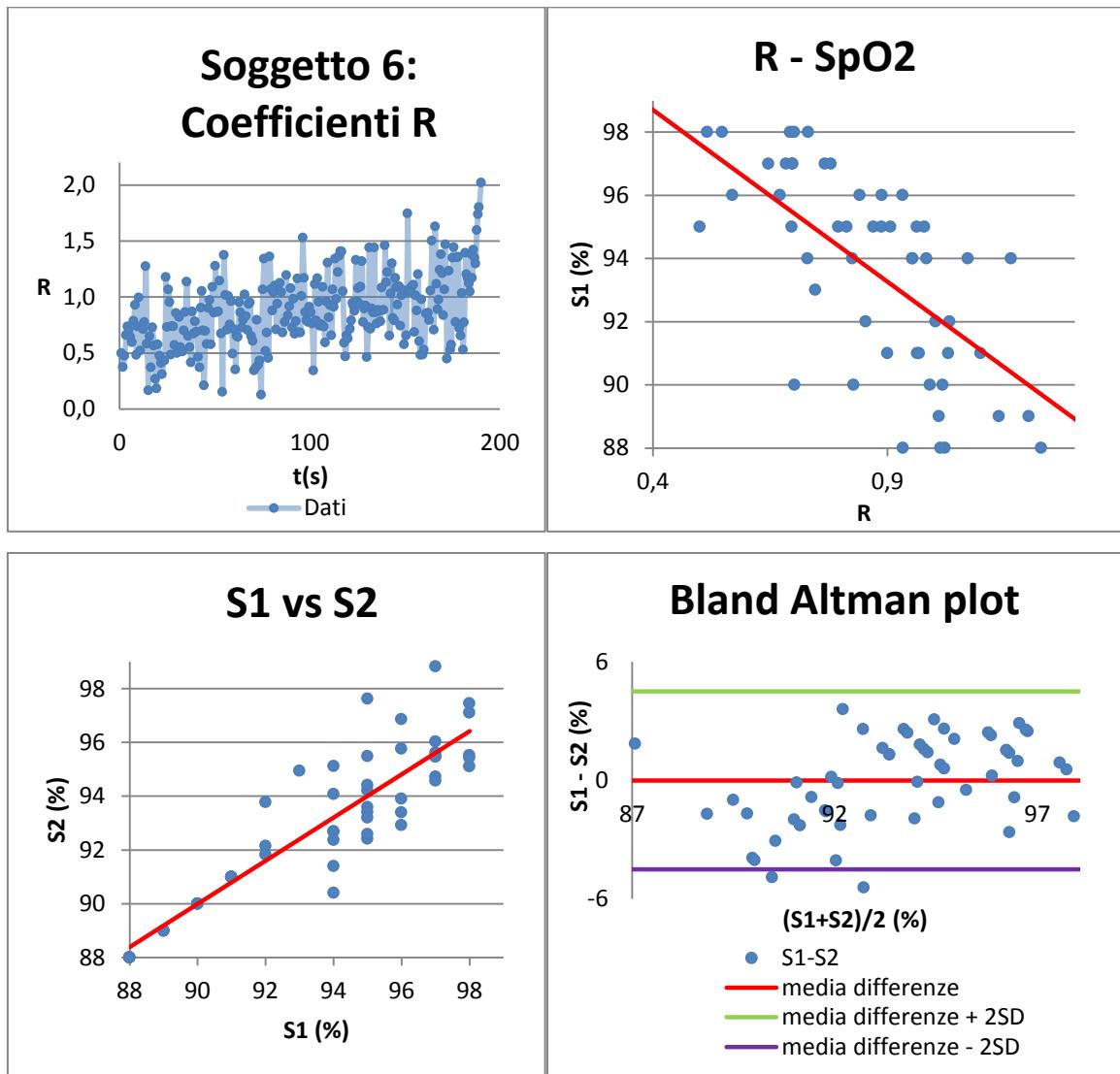


Riassumendo in tabella 16 i dati ricavati per il soggetto 5 si ha che:

Tabella 16: Dati soggetto 5

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
5	0,84	0,76	13,84	0,004	2,38

Il soggetto 6 presenta i seguenti valori di R calcolati in un tempo pari a  $t = 190$  s.  
L'intervallo di saturazione raggiunto è pari a 88-98%.



In tabella 17 si riassumono i dati calcolati del soggetto 6:

Tabella 17: Dati soggetto 6

Soggetto	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	$R^2$	Intercetta	Media differenze	SD
6	0,80	0,81	17,74	-0,0053	2,25

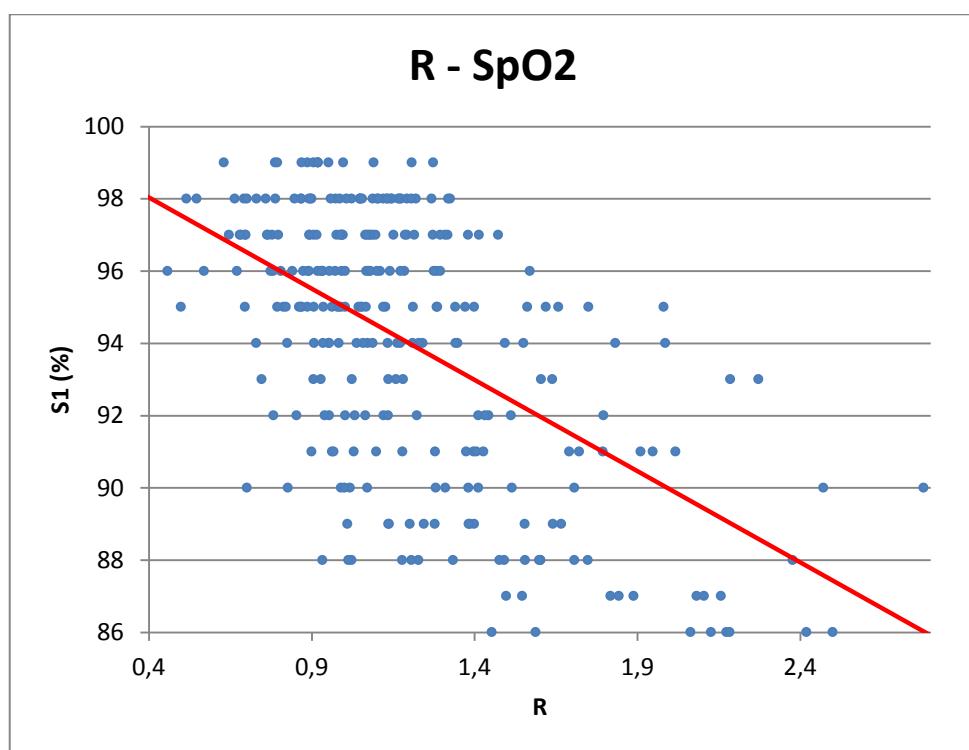
Tutti i dati ricavati da ciascun soggetto sono riportati nella seguente tabella 18, in cui sono infine ricavate media e deviazione standard per le cinque tipologie di dati nelle tre diverse analisi svolte, ossia per R mediato su 3, 4 e 5 valori.

Tabella 18: Dati complessivi di tutti i soggetti

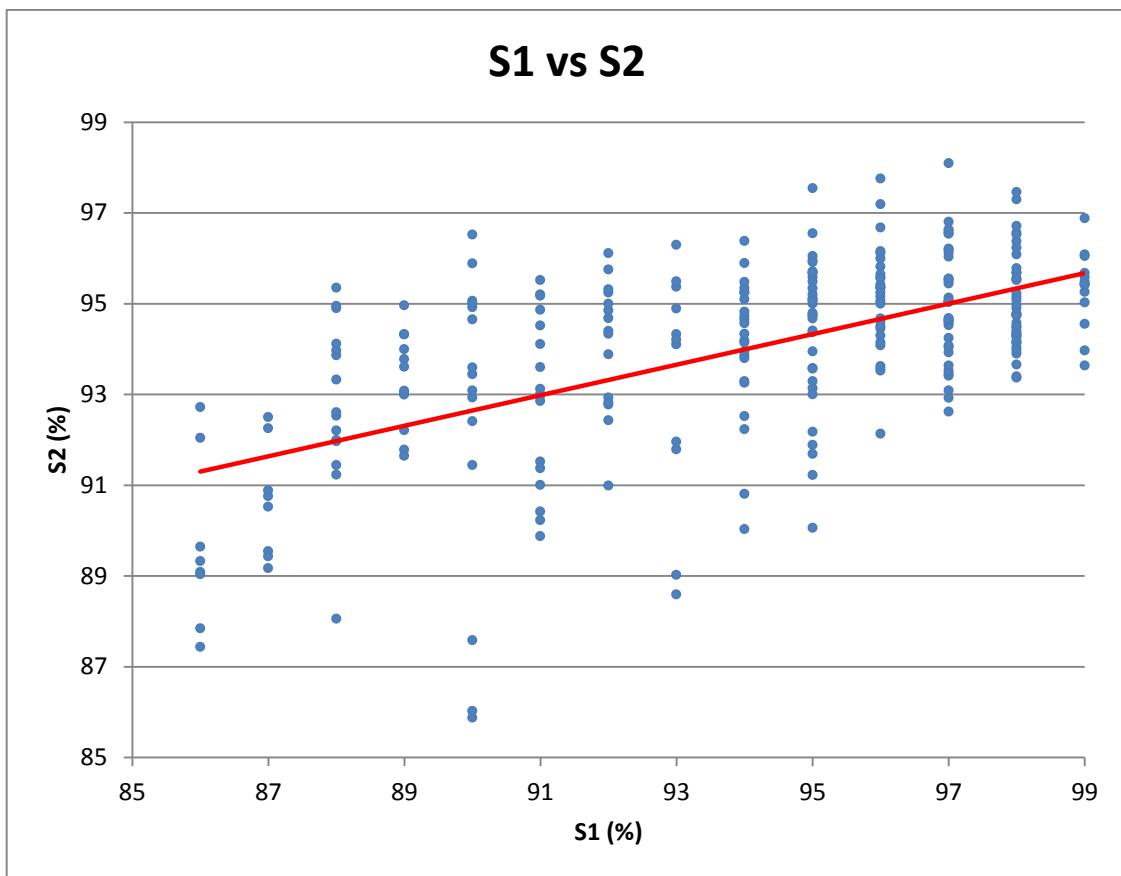
Media su 3 valori di R	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
Soggetto	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
1	0,42	0,42	54,23	-0,0046	3,16
2	0,49	0,45	47,2	0,143	2,9
3	0,35	0,35	61,19	-0,628	3,22
4	0,51	0,52	46,08	-0,08	1,86
5	0,42	0,43	55,21	-0,24	2,58
6	0,37	0,37	58,68	0,0027	2,5
<b>Media</b>	<b>0,42</b>	<b>0,42</b>	<b>53,76</b>	<b>-0,134</b>	<b>2,7</b>
<b>SD</b>	<b>0,06</b>	<b>0,06</b>	<b>6,06</b>	<b>0,27</b>	<b>0,5</b>
Media su 4 valori di R					
Soggetto	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
1	0,47	0,47	49,58	-0,0045	3,05
2	0,50	0,50	46,76	0,0045	2,78
3	0,37	0,37	58,18	-0,0044	3,18
4	0,62	0,62	35,34	-0,000054	1,71
5	0,48	0,48	49,18	-0,0031	2,71
6	0,42	0,42	54,58	0,2734	2,39
<b>Media</b>	<b>0,476</b>	<b>0,476</b>	<b>48,93</b>	<b>0,044</b>	<b>2,63</b>
<b>SD</b>	<b>0,084</b>	<b>0,084</b>	<b>7,84</b>	<b>0,11</b>	<b>0,53</b>
Media su 5 valori di R					
Soggetto	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
1	0,50	0,50	46,96	-0,0011	3

2	0,5	0,55	41,97	-0,0044	2,65
3	0,426	0,426	53,72	0,00045	2,97
4	0,65	0,65	32,57	-0,000071	1,67
5	0,84	0,76	13,84	-0,004	2,38
6	0,80	0,81	17,74	-0,0053	2,25
<b>Media</b>	<b>0,619</b>	<b>0,616</b>	<b>34,46</b>	<b>-0,0024</b>	<b>2,48</b>
<b>SD</b>	<b>0,17</b>	<b>0,15</b>	<b>16,07</b>	<b>0,0025</b>	<b>0,5</b>

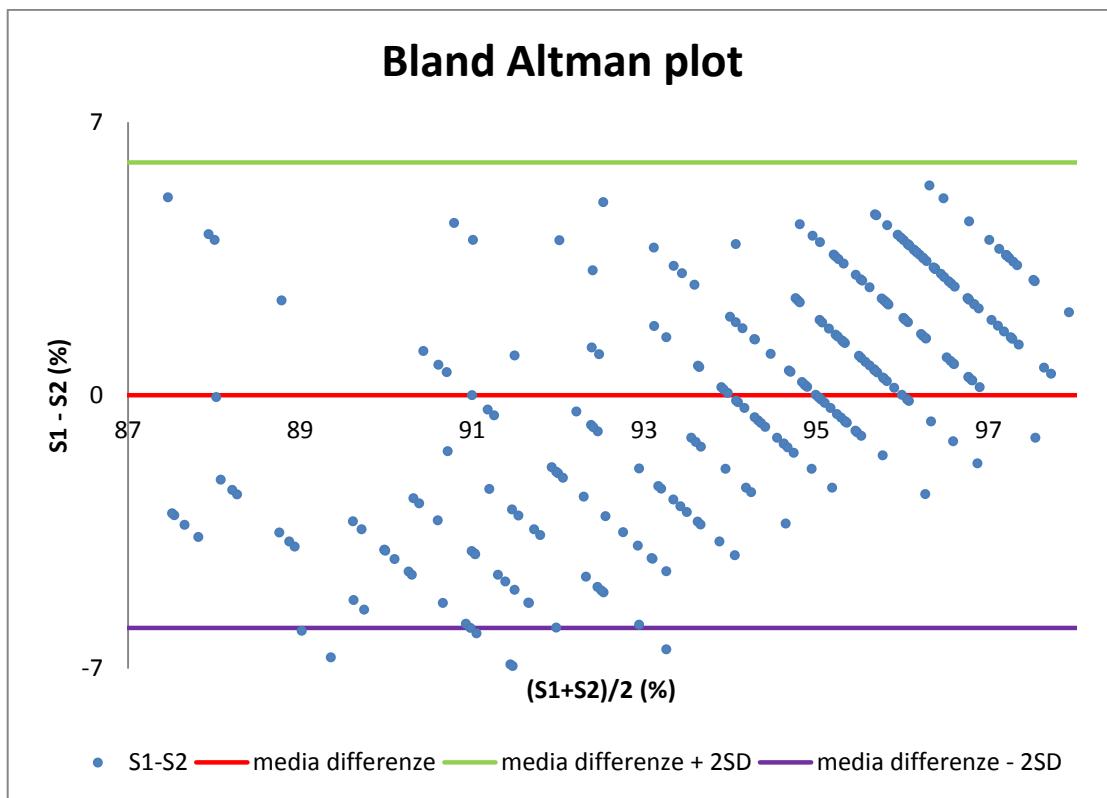
Viene inoltre svolta un'analisi che prende tutti e sei i soggetti nel caso di R mediato su 5 valori. Si riporta in seguito il grafico R-SpO<sub>2</sub> per la totalità dei dati di R.



Il grafico seguente riporta invece il valore di S2 calcolato in corrispondenza di quello S1 letto.



Il Bland Altman plot del sistema complessivo per R mediato su 5 valori è il seguente:



Nella seguente tabella 18 vengono riportati i parametri dell'analisi svolta per i valori complessivi di R, valutati su tutti e 6 i soggetti:

Tabella 18: Parametri saturazione sistema complessivo (R mediato su 5 valori)

Dati	Analisi regressione lineare			Analisi Bland Altman	
	Slope	R <sup>2</sup>	Intercetta	Media differenze	SD
Totalità dei 6 soggetti	0,33	0,33	62,37	0,0028	2,98

## Capitolo 4: Discussione e conclusioni

Il *grado di saturazione* dell'ossiemoglobina, o più semplicemente la saturazione dell'emoglobina, è un indice che rappresenta quanto ossigeno risulta legato alla molecola di emoglobina nel sangue.

L'emoglobina è una proteina che permette il legame con l'ossigeno mediante reazione reversibile con uno dei 4 gruppi funzionali *eme* che costituiscono la molecola. Quindi una molecola di emoglobina può trasportare fino ad un massimo di quattro molecole di ossigeno, dando origine ad ossiemoglobina. La percentuale dei gruppi eme ossigenati rispetto al totale di quelli "disponibili" definisce la saturazione dell'emoglobina nel sangue il cui valore è adimensionale (espresso tipicamente in percentuale).

L'importanza che assume il legame tra Hb e O<sub>2</sub> è fondamentale in quanto un eventuale deficit non garantirebbe un adeguato rifornimento di ossigeno a livello dei tessuti. Infatti il trasporto di O<sub>2</sub> disciolto nel plasma è pari a 0,3 ml ogni 100 ml di sangue, oltre 60 volte inferiore rispetto alla quantità di O<sub>2</sub> trasportata mediante l'emoglobina, pari a 20 ml ogni 100 ml di sangue.

Gli effetti di una situazione ipossica sono affaticamento mentale e fisico, emicrania, sonnolenza, coma e nei casi più estremi morte cellulare.

Il ruolo che assume la saturazione dell'emoglobina nel sangue è di fondamentale importanza per la corretta ossigenazione di tutti i tessuti del corpo, rappresentando uno tra i cinque parametri vitali più importanti per l'uomo.

Per questi motivi il monitoraggio della saturazione è essenziale per la prevenzione ed il controllo ed avviene in modo ordinario per i pazienti sotto anestesia o nei reparti di rianimazione per evitare eventuali ipossie o iperventilazioni, su cui impostare le basi per una terapia di ventilazione assistita.

Uno dei metodi di misurazione della saturazione è l'emogasanalisi che consiste nel prelievo *one-shot* di sangue dall'arteria brachiale o radiale. Un altro metodo anch'esso invasivo, ma continuativo, consiste invece nell'utilizzo di optrodi composti da una fibra ottica di trasmissione di luce verso un sensore, posto a livello del vaso sanguigno e selettivo chimicamente verso specie ioniche, gas o macromolecole.

I principi alla base dell'ossimetria ottica permettono la misura non invasiva della saturazione dell'ossigeno nel sangue valutando la differenza degli spettri di assorbimento

di composti organici che trasportano l'ossigeno, ossia Hb nella sua forma ossigenata e non ossigenata. Hb e  $\text{HbO}_2$  presentano differenti coefficienti di estinzione  $h$  relativi all'emissione di luce proveniente da un led alla lunghezza d'onda del rosso (R,  $\sim 660$  nm) e ad un altro led a quella del vicino infrarosso (IR, tra 805 e 1000 nm). Effettuando due misure di assorbanza alle due diverse lunghezze d'onda è possibile ricavare le concentrazioni di emoglobina ed ossiemoglobina nel sangue.

La pulsossimetria si basa sui principi ottici dell'ossimetria e consiste nella misura della variazione trans-cutanea di luce trasmessa o riflessa in seguito alla pulsazione arteriosa, permettendo il rilevamento della saturazione dell'ossigeno nel sangue e della frequenza cardiaca.

La quantità di luce assorbita nei tessuti e nelle vene costituisce la componente continua del segnale, a differenza della variazione di flusso sanguigno nelle arterie che varia con il ciclo cardiaco e costituisce la componente pulsatile.

Il segnale luminoso proveniente dai due led viene rilevato da un fotodiodo, la cui posizione determina la configurazione del sensore di pulsossimetria:

- se è posto dalla parte opposta rispetto ai due led, allora il sensore è detto a *trasmittanza*;
- con fotodiodo dalla stessa parte dei led il sensore è a *riflettanza*;

I led vengono accesi in modo alternato, per cui si ottengono due diverse curve di luce assorbita relative a quale tra il led R o IR emette il segnale luminoso. Vengono sfruttate le ampiezze delle assorbanze delle due curve per il calcolo del coefficiente R, ottenuto dal rapporto delle componenti pulsatile e continua alle due lunghezze d'onda.

Questo coefficiente permette la correlazione tra il risultato della misura attinente alle componenti delle due lunghezze d'onda e il valore di saturazione  $\text{SpO}_2$ .

E' fondamentale nella fase di calibrazione trovare la curva di corrispondenza tra R e  $\text{SpO}_2$ , in modo da risalire al valore di saturazione del soggetto monitorato.

La tipologia di sensore più diffusa è costituita da un sensore a trasmittanza inserito in una clip in cui alloggiare un dito della mano. Viene sfruttata la trasparenza della parte distale della mano per la cattura della luce trasmessa da ognuno dei due led nel passaggio attraverso il tessuto.

Altre soluzioni sono costituite da tipologie di applicazioni da porre su fronte, naso e lobo dell'orecchio tramite configurazione del sensore a riflettanza.

Lo scopo di questo lavoro di tesi è stato la realizzazione di un pulsossimetro con sensore a riflettanza in una configurazione ad anello, da indossare nella prima falange di un dito della mano.

La scelta di un anello per la misurazione della saturazione permette di rendere un oggetto indossabile nel quotidiano come parte integrante di un dispositivo che monitori SpO<sub>2</sub> e bpm. Si vuole garantire una maggiore comodità rispetto al “classico” sensore a clip che limita ed impedisce i liberi movimenti della mano di un soggetto.

In questo modo è possibile l'utilizzo del dispositivo anche per coloro che praticano sport, fitness, alpinismo, o qualsiasi altra attività quotidiana. Il sensore viene vincolato tramite l'anello alla cute del dito indossato, assicurando la stabilità del dispositivo e riducendo gli artefatti da movimento.

La scelta della specifica posizione del sensore sulla parte inferiore del dito è dettata inoltre dalla distribuzione delle arterie digitali passanti in prossimità della superficie cutanea alle due estremità del dito. Vi è simmetria tra le arterie passanti su ogni dito della mano ad esclusione del pollice, inducendo versatilità nel posizionamento del dispositivo sulle diverse dita della mano. In questo modo il sensore sfrutta la quantità di luce emessa dai led e riflessa dalle arterie sottostanti per la rilevazione del segnale di pulsossimetria.

Nel corso del progetto sono state dapprima sviluppate tre diverse configurazioni di sensori a riflettanza da interfacciare con AFE4400. La configurazione 1 è costituita da due led ed un fotodiode, la 2 da due led e due fotodiodi, invece la configurazione 3 da quattro led e due fotodiodi.

L'obiettivo di questa prima parte del lavoro è consistito nel mettere a confronto il segnale di pulsossimetria rilevato da ognuno di essi nello stesso modalità di acquisizione. Il parametro di confronto utilizzato è SNR (*Signal to Noise Ratio*) per entrambi i segnali relativi ai due led R e IR, calcolato come rapporto tra la componente pulsatile del segnale e il segnale *ambiente* del fotodiodo. E' stato svolto un test ANOVA a due vie che permette di rilevare eventuali differenze statisticamente significative in 40 acquisizioni svolte per ogni configurazione sia nel confronto tra i due parametri SNR sia nel confronto tra i parametri SNR<sub>r</sub> ed SNR<sub>ir</sub> nelle diverse configurazioni.

Per le tre configurazioni, il confronto tra SNR<sub>r</sub> ed SNR<sub>ir</sub> risulta statisticamente significativo. In particolare SNR<sub>ir</sub> risulta maggiore rispetto al parametro SNR<sub>r</sub>.

Ciò è un indice di rilevazione più accurata del segnale IR da parte del fotodiodo, a conferma della maggiore sensitività spettrale per la luce infrarossa piuttosto che per il visibile. Questo potrebbe indurre all'utilizzo di un fotodiodo con maggiore sensitività nei confronti della luce R per permettere l'aumento del parametro  $\text{SNR}_r$ .

Nel confronto tra sensori, il parametro  $\text{SNR}_r$  ha presentato delle differenze statisticamente rilevanti tra tutti e tre i campioni di dati sulla base del p-value calcolato, per il quale l'ipotesi nulla viene rifiutata per valori p-value < 0,05.

Il parametro  $\text{SNR}_{ir}$  risulta soddisfare i requisiti di differenza statisticamente rilevante nel confronto tra i sensori 1 vs 2 e 1 vs 3.

L'importanza del parametro SNR deriva dal rapporto tra la potenza del segnale utile rispetto al rumore di fondo dell'acquisizione. Tanto maggiore è il rumore letto dal fotodiodo, tanto peggiore è la qualità del segnale biologico in ingresso al sistema elaborazione del segnale. L'obiettivo della realizzazione di tre diverse configurazioni è stato la valutazione di quale di essi presenta i parametri SNR maggiori degli altri, valutando se la differenza è resa significativa dal test statistico svolto.

Nei risultati delle acquisizioni, sono stati rilevati per la configurazione 1 i valori di mediane di  $\text{SNR}_r$  ed  $\text{SNR}_{ir}$  rispettivamente pari a 21,4 db e 27,05 db. La configurazione 1 presenta le mediane maggiori per entrambi i parametri di SNR rispetto agli altri due.

Inoltre, il test svolto conferma che la differenza è statisticamente significativa rispetto alle altre due popolazioni di dati.

Per queste ragioni, la seconda parte del progetto ha previsto lo sviluppo del pulsossimetro a riflettanza mediante l'utilizzo del PSoC 4 BLE, in cui viene scelta la configurazione 1 del sensore di pulsossimetria composta dai due led R e IR e da un fotodiodo, per le motivazioni esposte in precedenza.

Il pulsossimetro sviluppato utilizzando come front-end il PSoC ha necessitato della procedura di calibrazione, in modo da correlare il coefficiente R rilevato dal sensore con il valore di saturazione  $\text{SpO}_2$  ottenuto tramite monitoraggio di un altro pulsossimetro che funge da riferimento. L'obiettivo è stato l'identificazione della funzione di trasferimento del dispositivo sviluppato, in modo da definire la relazione ingresso-uscita dello strumento.

Per permettere il calcolo del coefficiente R anche per valori di saturazione minori del range di normalità di una persona sana ( $\text{SpO}_2$  nell'intervallo 95-100%), è stato chiesto a 6 soggetti di svolgere una prova che prevede la respirazione attraverso un boccaglio dell'aria

contenuta in un sacchetto di plastica, per un tempo massimo di 4 minuti. Questa tecnica, chiamata “re-breathing”, ha determinato la progressiva desaturazione del soggetto nel tempo in quanto avviene il consumo di gran parte dell’ossigeno contenuto nel circuito chiuso costituito da sacco e vie respiratorie.

E’ stata dapprima fatta una correlazione tra i valori di frequenza cardiaca letti e quelli misurati. La retta di approssimazione lineare presenta Slope  $\sim 1$ , per cui è presente una proporzione pari circa ad uno tra la variazione di Fc2 calcolata e la variazione letta Fc1.

Tutti i punti calcolati vengono approssimati per il 94,5% dalla retta, per cui il regressore predice in modo accurato il valore della variabile dipendente.

Riguardo la saturazione, per ognuno dei 6 soggetti il coefficiente R mostra nel tempo un tipico andamento che consiste nell’aumento del suo valore medio in corrispondenza di un decremento dei valori di saturazione.

Si è optato per la scelta di tre tipi di analisi diverse che prendono in considerazione rispettivamente 3, 4 e 5 valori di R mediati nel tempo.

Per l’approssimazione dei valori tra R rilevato e SpO<sub>2</sub> letto vengono utilizzate delle approssimazioni lineari, che coprono l’intero intervallo di saturazione raggiunto dallo specifico soggetto. Tramite l’equazione dell’approssimazione è possibile identificare, per ogni R mediato, il valore di saturazione del pulsossimetro sviluppato con il PSoC. In questo modo si correlano in un ulteriore grafico i valori di saturazione derivanti dal pulsossimetro di riferimento (S1) con quelli relativi alla lettura da parte del pulsossimetro PSoC (S2). Nelle 6 acquisizioni svolte la pendenza dell’approssimazione lineare Slope, relativa alle saturazioni S1 ed S2 calcolate mediante i due dispositivi, è mediamente pari a 0,42, 0,47 e 0,61 rispettivamente per R mediato su 3, 4 e 5 valori. Il grafico S1-S2 viene rappresentato con il valore di SpO<sub>2</sub> di S1 sull’asse delle ascisse e sulle ordinate quello di S2. Una pendenza della retta compresa tra 0 e 1 determina una maggiore variazione del valore SpO<sub>2</sub> di S1 rispetto alla variazione SpO<sub>2</sub> di S2.

Si è notata una pendenza maggiore della retta all’aumentare del numero di R mediate. Il pulsossimetro sviluppato presenta ampia variabilità del coefficiente R su medesimi valori di saturazione letti, per cui mediando un numero maggiore di R si ottengono dei risultati meno influenzati da rumore.

Il coefficiente di determinazione presenta lo stesso trend della pendenza Slope, quindi aumentando il numero di coefficienti R mediati, si approssimano meglio i dati, con il

coefficiente  $R^2$  che risulta pari al 42%, 47% e 61% rispettivamente per R mediato su 3, 4 e 5 valori.

Il Bland Altman plot rileva invece la differenza di  $\text{SpO}_2$  ( $S_1-S_2$ ) per ogni valore di R mediato, dando indicazione del grado di correlazione tra i due sistemi.

La media delle differenze delle 6 acquisizioni è prossima allo zero (con R mediato 5 volte) essendo pari a -0,0024, quindi risultano proporzionate le differenze in positivo ed in negativo nella discrepanza tra  $S_1$  ed  $S_2$  rispetto alla media  $(S_1+S_2)/2$ . Vengono considerati outlier i valori che cadono al di fuori dell'intervallo di confidenza determinato dal valore della media delle differenze  $\pm 2\text{SD}$  (deviazione standard).

La percentuale di valori uscenti dall'intervallo di confidenza definito è per tutti i 6 soggetti minore del 5%, quindi la maggioranza delle differenze dei valori calcolati tramite i due pulsossimmetri ricade all'interno dell'intervallo indicato.

La deviazione standard relativa alla media delle differenze si riduce aumentando il numero di valori di R mediati nel tempo.

Per questi motivi i risultati relativi a 5 valori di R sono considerati maggiormente affidabili nella correlazione tra il dispositivo calibrante e quello calibrato.

Avendo svolto un'analisi complessiva sui 6 soggetti si nota un decremento sia della pendenza Slope sia del coefficiente  $R^2$  rispetto alle medie dei singoli soggetti. Questo è dovuto ad un trend analogo del coefficiente R, ma è presente un offset differente tra i soggetti. Ciò si traduce in minore linearità nella correlazione tra  $S_1$  ed  $S_2$  ed una SD maggiore rispetto alla media delle sei deviazioni standard relative alle singole acquisizioni (2,98 vs 2,48).

Il pulsossimetro PSoC presenta un range di R variabile (SD fino a 0,25 R) in corrispondenza di valori di  $\text{SpO}_2$  costanti, per cui la scelta di utilizzo del pulsossimetro sviluppato è consistita nel mediare 5 valori di R consecutivi nel tempo. Ciò ha permesso di definire un unico valore ogni 5 calcolati e risalire al corrispettivo valore di saturazione  $\text{SpO}_2$  sulla base della approssimazione lineare calcolata per il sistema complessivo.

La retta di regressione viene calcolata su un numero di soggetti molto limitato, per cui occorrerebbe da una parte aumentare il numero di soggetti acquisiti e dall'altra utilizzare delle tecniche di desaturazione per raggiungere range inferiori dell'86% di  $\text{SpO}_2$ .

In situazioni di alta montagna è possibile la riduzione dei valori di saturazione al di sotto dell'85%, per cui un criterio accettabile consiste nel raggiungere la calibrazione dello strumento per valori prossimi al 70%.

La procedura di calibrazione si è avvalsa di uno strumento commerciale non utilizzato in clinica, che presenta un'accuratezza del 2% nel range 70-100% SpO<sub>2</sub>. Per ridurre ulteriormente l'errore del pulsossimetro sviluppato mediante il PSoC sarebbe più opportuno procedere alla fase di calibrazione utilizzando un dispositivo professionale con accuratezza inferiore al 2%.

La frequenza cardiaca rilevata dallo strumento ha presentato una buona affidabilità, denotata dalla pendenza circa pari al valore unitario tra le letture Fc1 ed Fc2 dei due dispositivi e dal coefficiente di regressione R<sup>2</sup>.

Il PSoC permette una connessione tramite tecnologia Bluetooth non sfruttata in questo progetto. Per la realizzazione di un pulsossimetro facilmente indossabile occorre innanzitutto svincolarsi dal collegamento al PC attuale, sviluppando e sfruttando la connessione con un dispositivo ricevente BLE che può identificarsi in uno smartphone, tablet ecc. In questo modo si concede al soggetto monitorato maggiori libertà di movimento e varie attività, controllando tramite l'anello la saturazione dell'ossigeno e la frequenza cardiaca.

Per sfruttare questo tipo di possibilità va integrata sul dispositivo una pila CR2032 da 3V in modo da garantire il funzionamento del sistema.

Un ulteriore sviluppo futuro potrebbe essere quello di integrare sul dispositivo un secondo sensore gestito dal PSoC. L'anello è stato progettato con due appositi spazi che permettono l'alloggiamento massimo di due sensori. Essendo il dispositivo rivolto ad attività non necessariamente cliniche, una tipologia di movimento che comporta gesti repentini potrebbe indurre rumore nell'acquisizione del segnale luminoso, per cui con due sensori si può generare ridondanza del segnale. L'integrazione di un unico segnale derivante dalla cooperazione tra due sensori gestiti dal PSoC potrebbe ridurre fortemente gli artefatti da movimento.

E' possibile inoltre sfruttare la memoria flash da 128 Kb in modo da memorizzare i dati derivanti dall'acquisizione del segnale, per permettere un'analisi a posteriori. Con questo tipo di applicazione si permetterebbe un funzionamento simile a quanto accade per la rilevazione del segnale di ECG e di pressione secondo Holter.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] AARC clinical practice guideline. Sampling for arterial blood gas analysis. American Association for Respiratory Care. *Respir Care*. Anno: 1992. Pag. 913-917.
- [2] AFE4400 Texas Instrument. <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/afe4400.pdf>
- [3] Aliverti A. Dispense del corso “*Bioingegneria del Sistema respiratorio*”. Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica. Politecnico di Milano. Anno: 2014
- [4] Aliverti A. Dispense del corso “*Tecnologie per sensori e strumentazione clinica*”. Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica. Politecnico di Milano. Anno: 2014
- [5] Chan E. What is the effect of fingernail polish pulse oximetry? *Chest*. Anno: 2003. Pag. 2163-2164
- [6] Chan E., Chan M., Chan M. Pulse oximetry: understanding its basic principles facilitates appreciation of its limitations. *Respiratory Medicine* Anno: 2013. Pag. 789-791
- [7] Choi s., Ahn H., Yang M. et al. Comparison of desaturation and resaturation response times between transmission and reflectance pulse oximeters. *Acta Anaesthesiological Scand*. Anno:2010. Pag. 215-216
- [8] Costantino M., Fiore G. Dispense del corso “*Progettazione di sistemi di supporto alla vita*”. Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica. Politecnico di Milano. Anno: 2014. Pag. 325-326.
- [9] Danckers M., Fried E. Arterial Blood Gas Sampling. *Medscape reference drugs, disease and procedures*. Anno: 2014. Pag. 1, 19-20.
- [10] DeMeulenaere S. Pulse Oximetry: Uses and Limitations. *The journal for nurse practitioners*. Anno: 2007. Pag. 314-316
- [11] Dresher R. Wearable forehead pulse oximetry: minimization of motion and pressure artifacts. *Worcester Polytechnic Institute*. Anno: 2006. Pag. 12-13
- [12] Duun S., Haahr R., Birkelund K. A ring shaped photodiode designed for use in a reflectance pulse oximetry sensor in wireless health monitoring applications. *Sensors Journal*. Anno: 2010. Pag. 261-264
- [13] Earlobe Sensor. Covidien. <http://www.covidien.com/rms/products/pulse-oximetry/nellcor-spo2-adhesive-sensors>
- [14] Eaton W., Henry E., Hofrichter J. et al. Is cooperative oxygen binding by hemoglobin really understood? *Nature America*. Anno: 1999. Pag 351-352.

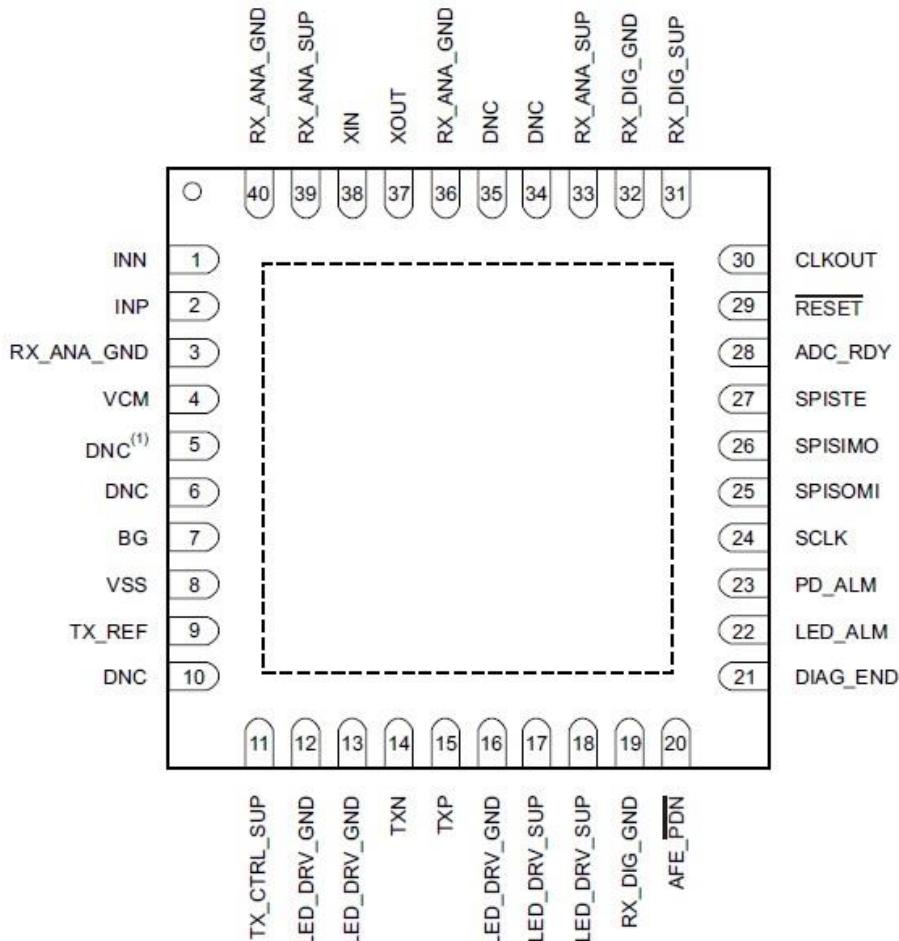
- [15] Emarose S., Asokan R., Valayaputtur D. Continuous monitoring of heart rate variability and haemodynamic stability of an automobile driver to prevent to prevent road accidents. *Computing communication & networking technologies*. Anno: 2012. Pag. 2-3
- [16] Forehead SpO<sub>2</sub>. Covidien <http://www.covidien.com/rms/products/pulse-oximetry/nellcor-spo2-forehead-sensors>
- [17] Guyton A., Hall J. *Fisiologia Medica*. Edises. Anno:2006. Pag. 395; 463; 473-474; 478-479; 500;
- [18] Hasan A. Handbook of blood Gas/Acid-Base Interpretation. *Springer*. Anno: 2013. Pag. 15-18
- [19] Haymond S. Oxygen Saturation. *Clinical Laboratory News*. Anno: 2006. Pag. 10-12
- [20] How to read SpO<sub>2</sub>. Basic understanding of the pulse oximeter. *Konica Minolta Sensing*. Anno: 2006
- [21] Huang C., Chan M., Chen C. et al. Novel wearable and wireless ring type pulse oximeter with multi detectors. *Sensors*. Anno: 2014. Pag. 17586-17588
- [22] Kamat V. Pulse Oximetry *Indian Journal of Anaesthesia*. Anno: 2002. Pag. 261-262
- [23] Karlen W., Petersen C., Dumont G. et al. Variability in estimating shunt from single pulse oximetry measurements. *Physiological Measurement*. Anno: 2015. Pag. 967-969
- [24] Kastle S., Noller F., Falk S. et al. A new family of sensors for pulse oximetry. *Hewlett-Packard Journal*. Anno: 1997. Pag. 1
- [25] Krawiecki Z., Cysewska A., Wiczynski G. Modeling and measurements of light transmission through human tissues. *Bulletin of the polish academy of sciences*. Anno: 2008. Pag. 147-149
- [26] McLellan S., Walsh T. Oxygen delivery and hemoglobin. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*. Anno: 2004. Pag 124-125.
- [27] Nitzan M., Romem A., Koppel R., Pulse oximetry: fundamentals and technology update. *Medical devices: evidence and research*. Anno: 2014. Pag. 231-233
- [28] Onyx Vantage 9590. Nonin <http://www.nonin.com/Finger-Pulse-Oximeter/Onyx-Vantage-9590>
- [29] Palastanga N., Field D., Soames R. *Anatomia del movimento umano*. Anno: 2006. Pag. 207

- [30] Pretto J., Roebuck T., Beckert L. et al. Clinical use of pulse oximetry: Official guidelines from the Thoracic Society of Australia and New Zealand. *Respirology*. Anno 2013. Pag. 38; 41
- [31] Quaranta M., Borisov S., Klimant I. Indicators for optical oxygen sensors. *Springer*. Anno: 2012. Pag. 125-126.
- [32] Radical 7. Masimo <http://www.masimo.com/rainbow/Radical7.htm>
- [33] Silva J., Kuyven C., Fallopa F., et al. An anatomical study of the dorsal cutaneous branches of the digital arteries. *Journal of hand surgery*. Anno: 2002. Pag. 577-579
- [34] Sinex J. Pulse Oximetry: Principles and Limitation. *American Journal of emergency Medicine*. Anno: 1999. Pag. 59-61
- [35] SpO<sub>2</sub> Adhesive Sensors. Covidien. <http://www.covidien.com/rms/products/pulse-oximetry/nellcor-spo2-adhesive-sensors#features>
- [36] Tamura T., Maeda Y., Sekine M. et al. Wearable Photoplethysmographic Sensors – Past and Present. *Electronics*. Anno: 2014. Pag 282-285
- [37] Tengberg A., Hovdenes J., Andersson J. et al. Evaluation of a life-time based optode to measure oxygen in aquatic system. *American Society of limnology*. Anno: 2006. Pag. 3-5
- [38] Transimpedance Amplifier. [massey.dur.ac.uk/gsl/Documents/Amplifiers.pdf](http://massey.dur.ac.uk/gsl/Documents/Amplifiers.pdf)
- [39] Understanding Pulse Oximetry SpO<sub>2</sub> Concepts. *Philips Medical Systems*. Anno: 2002
- [40] Wrist-O<sub>2</sub> 3150. Nonin <http://www.nonin.com/PulseOximetry/WristWorn/WristOx3150>
- [41] [www.maximintegrated.com/en/solutions/medical/diagnostics-monitoring-therapy/pulse-oximeters.html#tb\\_tab3](http://www.maximintegrated.com/en/solutions/medical/diagnostics-monitoring-therapy/pulse-oximeters.html#tb_tab3) Block diagram pulse oximeter.
- [42] AFE4400 Texas Instrument. <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/afe4400.pdf>
- [43] AFE4400 Development Guide [www.ti.com/lit/ug/slau480c/slau480c.pdf](http://www.ti.com/lit/ug/slau480c/slau480c.pdf)
- [44] Fotodiodo SFH2400-Z di Osram <http://www.farnell.com/datasheets/36138.pdf>
- [45] LED IR OIS-170 880 di Osa Opto Light <http://www.farnell.com/datasheets/78194.pdf>
- [46] LED R KPC-3216SRC-PRV di Kingbright <http://www.farnell.com/datasheets/68689.pdf>
- [47] PSoC® 4 BLE – Pioneer Kit Guide <http://www.cypress.com/?docID=51311>
- [48] Stuban N, Masatsugu N. Non invasive calibration method for pulse oximeters. *Periodica Polytechnica* Anno 2008. Pag. 91-94.



# APPENDICE A

Di seguito viene riportata la configurazione dei 40 pin di AFE4400:



Le funzioni dei 40 pin sono descritte nella seguente tabella:

PIN		FUNCTION	DESCRIPTION
NAME	NO.		
ADC_RDY	28	Digital	Output signal that indicates ADC conversion completion. Can be connected to the interrupt input pin of an external microcontroller.
AFE_PDN	20	Digital	AFE-only power-down input; active low. Can be connected to the port pin of an external microcontroller.
BG	7	Reference	Decoupling capacitor for internal band-gap voltage to ground. (2.2- $\mu$ F decoupling capacitor to ground)
CLKOUT	30	Digital	Buffered 4-MHz output clock output. Can be connected to the clock input pin of an external microcontroller.
DIAG_END	21	Digital	Output signal that indicates completion of diagnostics. Can be connected to the port pin of an external microcontroller.
DNC <sup>(1)</sup>	5, 6, 10, 34, 35	—	Do not connect these pins. Leave as open circuit.
INN	1	Analog	Receiver input pin. Connect to photodiode anode.
INP	2	Analog	Receiver input pin. Connect to photodiode cathode.
LED_DRV_GND	12, 13, 16	Supply	LED driver ground pin, H-bridge. Connect to common board ground.
LED_DRV_SUP	17, 18	Supply	LED driver supply pin, H-bridge. Connect to an external power supply capable of supplying the large LED current, which is drawn by this supply pin.
LED_ALM	22	Digital	Output signal that indicates an LED cable fault. Can be connected to the port pin of an external microcontroller.
PD_ALM	23	Digital	Output signal that indicates a PD sensor or cable fault. Can be connected to the port pin of an external microcontroller.
RESET	29	Digital	AFE-only reset input, active low. Can be connected to the port pin of an external microcontroller.
RX_ANA_GND	3, 36, 40	Supply	Rx analog ground pin. Connect to common board ground.
RX_ANA_SUP	33, 39	Supply	Rx analog supply pin; 0.1- $\mu$ F decoupling capacitor to ground
RX_DIG_GND	19, 32	Supply	Rx digital ground pin. Connect to common board ground.
RX_DIG_SUP	31	Supply	Rx digital supply pin; 0.1- $\mu$ F decoupling capacitor to ground
SCLK	24	SPI	SPI clock pin
SPISIMO	26	SPI	SPI serial in master out
SPISOMI	25	SPI	SPI serial out master in
SPISTE	27	SPI	SPI serial interface enable
TX_CTRL_SUP	11	Supply	Transmit control supply pin (0.1- $\mu$ F decoupling capacitor to ground)
TX_REF	9	Reference	Transmitter reference voltage, 0.75 V default after reset. Connect a 2.2- $\mu$ F decoupling capacitor to ground.
TXN	14	Analog	LED driver out B, H-bridge output. Connect to LED.
TXP	15	Analog	LED driver out B, H-bridge output. Connect to LED.
VCM	4	Reference	Input common-mode voltage output. Connect a series resistor (1 k $\Omega$ ) and a decoupling capacitor (10 nF) to ground. The voltage across the capacitor can be used to shield (guard) the INP, INN traces.
VSS	8	Supply	Substrate ground. Connect to common board ground.
XOUT	37	Digital	Crystal oscillator pins. Connect an external 8-MHz crystal between these pins with the correct load capacitor (as specified by vendor) to ground.
XIN	38	Digital	Crystal oscillator pins. Connect an external 8-MHz crystal between these pins with the correct load capacitor (as specified by vendor) to ground.

## APPENDICE B

```
function[output]=B(nomeFILE)
c=xlsread([nomeFILE '.xlsx']);
%LED ROSSO
START=600;
c(:,1)= (-1)*c(:,1);
g=1;
[MAX,tmax]=findpeaks(c(START:5000,1));
tmax=tmax+START;
PASSO=ceil((tmax(end,1)-tmax(1,1))/length(tmax)-1);
riga=length(tmax);
for i=tmax(riga-1,1)+ceil(0.5*PASSO):PASSO:length(c(:,1))
    if(i+PASSO<length(c(:,1)))
        [MAX(riga,1),tmax(riga,1)]=max(c(i:i+PASSO,1));
        tmax(riga,1)=i+tmax(riga,1);
        riga=riga+1;
        g=g+1;
        PASSO= ceil ((tmax(riga-1,1)- tmax(1+g,1))/length(riga-g));
    end
end
for i=2:(length(tmax(:,1)))
    if(tmax(i,1)-tmax(i-1,1)< 0.8*PASSO)
        if (MAX(i,1)<= MAX(i-1,1))
            MAX(i,1)=0;
            tmax(i,1)=0;

        elseif (MAX(i,1)> MAX(i-1,1))
            MAX(i-1,1)=0;
            tmax(i-1,1)=0;
        end
    end
end
k=1;
for j=1:length(tmax)
    if tmax(j,1)~=0
        TMAX(k,1)= tmax(j,1);
        MAXX(k,1)= MAX(j,1);
        k=k+1;
    end
end
rig=1;
i=1;
for i=1:length(MAXX(:,1))-1
    [MIN(rig,1),tmin(rig,1)]=min (c(TMAX(i,1):TMAX(i+1,1),1));
    tmin(rig,1)=TMAX(i,1)+tmin(rig,1);
    rig=rig+1;
end
for i=1:length (MIN)
    R_num(i,1)= (MAXX(i,1)-MIN(i,1))/MIN(i,1);
end
%LED INFRAROSSO
c(:,3)= (-1)*c(:,3);
h=1;
[MAXir,tmaxir]=findpeaks(c(START:5000,3));
tmaxir=tmaxir+START;
PASSO=ceil((tmaxir(end,1)-tmaxir(1,1))/length(tmaxir)-1);
rigair=length(tmaxir);
for i=tmaxir(rigair-1,1)+ceil(0.5*PASSO):PASSO:length(c(:,3))
    if(i+PASSO<length(c(:,3)))
        [MAXir(rigair,1),tmaxir(rigair,1)]=max(c(i:i+PASSO,3));
        tmaxir(rigair,1)=i+tmaxir(rigair,1);
```

```

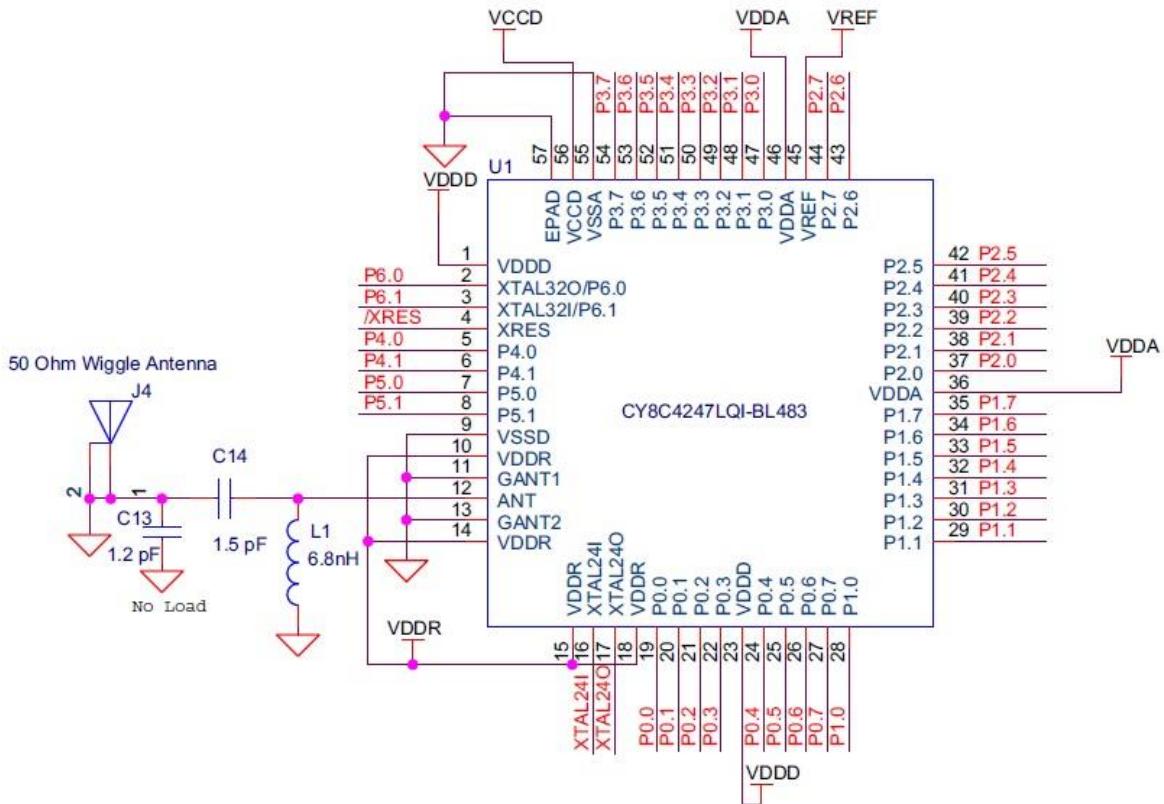
        rigair=rigair+1;
        h=h+1;
        PASSO= ceil ((tmaxir(rigair-1,1)- tmaxir(1+h,1))/length(rigair-
h));
    end
end
for i=2:(length(tmaxir(:,1)))
    if(tmaxir(i,1)-tmaxir(i-1,1)< 0.8*PASSO)
        if (MAXir(i,1)<= MAXir(i-1,1))
            MAXir(i,1)=0;
            tmaxir(i,1)=0;

        elseif (MAXir(i,1)> MAXir(i-1,1))
            MAXir(i-1,1)=0;
            tmaxir(i-1,1)=0;
        end
    end
k=1;
for j=1:length(tmaxir)
    if tmaxir(j,1)~=0
        TMAXir(k,1)= tmaxir(j,1);
        MAXirX(k,1)= MAXir(j,1);
        k=k+1;
    end
end
rigir=1;
i=1;
for i=1:length(MAXirX(:,1))-1
    [MINir(rigir,1),tminir(rig,1)]=min (c(TMAXir(i,1):TMAXir(i+1,1),1));
    tminir(rigir,1)=TMAXir(i,1)+tminir(rigir,1);
    rig=rig+1;
end
for i=1:length (MINir)
    R_den(i,1)= (MAXirX(i,1)-MINir(i,1))/MINir(i,1);
end
for i=1:length (tmaxir)
    a=tmax(i,1);
    [scarto, index]= min (abs(tmaxir-a));
    R(r,1)= (R_num(i,1))/(R_den(index,1));
    r=r+1;
end
AAA_dis = linspace(min(TMAX(:,1)), max(TMAX(:,1)), 1000);
epsilon_IMQ(1,:) = polyval(polyfit(TMAX(:,1), R(:,1), 1), AAA_dis);
epsilon_IMQ(2,:) = polyval(polyfit(TMAX(:,1),R(:,1), 2), AAA_dis);
epsilon_IMQ(3,:) = polyval(polyfit(TMAX(:,1),R(:,1), 4), AAA_dis);
figure(1)
xlabel ('Tempo')
ylabel ('Ampiezza')
title ('Andamento componenti nel tempo')
TMAX=TMAX*0.002;
tmin=tmin*0.002;
TMAXir=TMAXir*0.002;
tminir=tminir*0.002;
plot(c(START:end,7),c(START:end,1));
hold on
plot(c(START:end,7),c(START:end,3));
plot (tminir(:,1),MINir(:,1),'g*');
plot (TMAXir(:,1), MAXirX(:,1),'r*');
plot (tmin(:,1), MIN(:,1),'g*');
plot (TMAX(:,1), MAXX(:,1),'r*');
AAA_dis = linspace(min(TMAX(:,1)), max(TMAX(:,1)), 1000);
epsilon_IMQ(1,:) = polyval(polyfit(TMAX(:,1), R(:,1), 1), AAA_dis);
epsilon_IMQ(2,:) = polyval(polyfit(TMAX(:,1),R(:,1), 2), AAA_dis);

```

```
epsilon_IMQ(3,:) = polyval(polyfit(TMAX(:,1),R(:,1), 4), AAA_dis);
figure(2)
axes('FontSize',12)
plot(TMAX(:,1), R(:,1),'ko', AAA_dis, epsilon_IMQ, 'linewidth', 2)
xlabel('tempo')
ylabel('R')
title('Dati e Sperimentali e Interp. ai Minimi Quadrati')
legend('Dati Sperimentali', ...
'Minimi Quadrati: 1', ...
'Minimi Quadrati: 2', ...
'Minimi Quadrati: 4',2)
```

## APPENDICE C



## APPENDICE D

```
function []= test_sacco()
maxlength=30000;
instr=instrfind;

if (~isempty(instr))
    fclose(instr);
    delete(instr);
end

serialObject=serial('COM7','Baudrate',115200,'Terminator',
'CR','DataBits',8,'StopBits',1,'Parity','none');
fopen(serialObject);
counter=zeros(30000,1);
r=zeros(maxlength,1);
rA=zeros(maxlength,1);
ir=zeros(maxlength,1);
irA=zeros(maxlength,1);
riga=1;
rigl=1;
rigar=1;
rigrl=1;
n=0;
l=0;
i=1;
j=1;
k=1;
m=3;
y=1;
ac=5;

b=zeros(maxlength,1);
[a,c]=butter (3,0.042);
[d,f]=butter (3,0.042);

%% imposta la modalità remota
fprintf(serialObject,'SYSTEM:REMOTE');
count = 1;
b(count,1)=0;
stampal=1;
stampa2=1;
ciclo=0;
miniciclo=0;
pp=1000;
ciclor=0;
miniciclor=0;

while(1)
    carattereh= fread(serialObject,1,'uint8');
    if (bitand(carattereh,255)==39)
        caratterel= fread(serialObject,1,'uint8');
        if (bitand(caratterel,255)==15)

            while(1)
                hb=fread(serialObject,1,'uint8');
                lb=fread(serialObject,1,'uint8');
                counter(count) =
                bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255));

                hb=fread(serialObject,1,'uint8');


```

```

        lb=fread(serialObject,1,'uint8');
        r(count) = (-
1)*(bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255)));

        hb=fread(serialObject,1,'uint8');
        lb=fread(serialObject,1,'uint8');
        rA(count) = (-
1)*(bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255)));

        hb=fread(serialObject,1,'uint8');
        lb=fread(serialObject,1,'uint8');
        ir(count) = (-
1)*(bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255)));

        hb=fread(serialObject,1,'uint8');
        lb=fread(serialObject,1,'uint8');
        irA(count) =(-
1)*(bitor(bitshift(bitand(hb,255),8),bitand(lb,255)));

        hb=fread(serialObject,1,'uint8');
        lb=fread(serialObject,1,'uint8');

%
fprintf('%d %d %d %d
%d\n',b(count,1),r(count,1),rA(count),ir(count),irA(count));
%INFRAROSSO

if ciclo==0
    if count==pp
        yy= filtfilt(d,f,ir(1:count));
        [MAX,tmax] = findpeaks(yy(30:end));
        tmax=tmax+30;
        gg=1;
        ggg=1;

        DataInv = 1.01*max(yy) - yy;
        [MIN,tmin] = findpeaks(DataInv);
        MIN = yy(tmin);

        for nn=1:length(tmax)
            for mm=1:length(tmin)

                if( tmax(nn)-tmin(mm)>0 && tmax(nn)-tmin(mm)<25)
|| (tmin(mm)-tmax(nn)>0 && tmin(mm)-tmax(nn)<25 )
                    tmax(nn)=0;
                    MAX(nn)=0;
                    tmin(mm)=0;
                    MIN(mm)=0;
                    gg=gg+1;
                    ggg=ggg+1;

                end
            end
        end
        tmax=tmax(tmax ~= 0);
        MAX=MAX(MAX ~= 0);
        tmin=tmin(tmin ~= 0);
        MIN=MIN(MIN ~= 0);
        dist=(tmax(end)-tmax(1))/(length(tmax)-1);
        temp=dist*0.008;
        freq=ceil(60/temp);

        riga=length(tmax);

```

```

        rig=length(tmin);
        ciclo=1;
        if tmax(riga)> tmin(rig)
            ultimamax=1;
            riga=riga+1;
            rig=rig+1;
        elseif tmax(riga)<tmin(rig)
            ultimamax=0;
            riga=riga+1;
        end

        end

        elseif ciclo==1
            if count==tmax(riga-1,1)+ 350
                yy=filtfilt(d,f,ir(1:count));

                [MAX(riga,1),tmax(riga,1)]=max(yy( tmax(riga-1,1)+ceil(0.6*dist) : tmax(riga-1,1)+ ceil(1.45*dist)));
                tmax(riga,1)=tmax(riga,1)+ tmax(riga-1,1)+ceil(0.6*dist);
            ;
                if ultimamax==1
                    [MIN(rig,1),tmin(rig,1)]= min(yy(tmax(riga-1,1):tmax(riga,1)));
                    tmin(rig,1)=tmax(riga-1,1)+tmin(rig,1);
                    R_den(i,1)=(MAX(riga-1,1)-MIN(rig,1))/MIN(rig,1);
                elseif ultimamax==0
                    [MIN(rig,1),tmin(rig,1)]= min(yy(tmax(riga-1,1):tmax(riga,1)));
                    tmin(rig,1)=tmax(riga-1,1)+tmin(rig,1);
                    R_den(i,1)=(MAX(riga-1,1)-MIN(rig,1))/MIN(rig,1);
                end

                %    t=mod(riga,ac);
                %    if t==0
                %        fprintf('bpm %d\n', freq);
                %    end

                fprintf('massimo ir(%d) al tempo
%d\n',riga,tmax(riga)*0.008);
                miniciclo=miniciclo+1;
                if miniciclo==5
                    ciclo=2;
                end

                i=i+1;
                stampa1=0;

                riga=riga+1;
                rig=rig+1;
            end
        elseif ciclo==2
            if count==tmax(riga-1,1)+ 350
                yy=filtfilt(d,f,ir(1:count));

                aa= ceil(0.6*(0.6*dist + 0.4*(tmax(riga-1,1)-tmax(riga-5,1))/4));
                bb= ceil(1.45*(0.6*dist + 0.4*(tmax(riga-1,1)-tmax(riga-5,1))/4));
                [MAX(riga,1),tmax(riga,1)]=max(yy( tmax(riga-1,1)+ aa :
                tmax(riga,1)+ bb));
                tmax(riga,1)=tmax(riga,1)+ tmax(riga-1,1)+aa ;
            end

```

```

[MIN(rig,1),tmin(rig,1)]= min(yy(tmax(riga-
1,1):tmax(riga,1)));
tmin(rig,1)=tmax(riga-1,1)+tmin(rig,1);
fprintf('massimo(%d) al tempo
%d\n',riga,tmax(riga)*0.008);
R_den(i,1)=(MAX(riga-1,1)-MIN(rig,1))/MIN(rig,1);
i=i+1;
riga=riga+1;
rig=rig+1;
stampal=0;

    end
end

%ROSSO
if ciclor==0
    if count==pp+1
        xx= filtfilt(a,c,r(1:count));
        [MAXR,tmaxr] = findpeaks(xx(30:end));
        tmaxr=tmaxr+30;
        ggr=1;
        gggr=1;

        DataInvr = 1.01*max(xx) - xx;
        [MINR,tminr] = findpeaks(DataInvr);
        MINR = xx(tminr);

        for nnr=1:length(tmaxr)
            for mmr=1:length(tminr)

                if( tmaxr(nnr)-tminr(mmr)>0 && tmaxr(nnr)-
tminr(mmr)<25) || (tminr(mmr)-tmaxr(nnr)>0 && tminr(mmr)-tmaxr(nnr)<25 )
                    tmaxr(nnr)=0;
                    MAXR(nnr)=0;
                    tminr(mmr)=0;
                    MINR(mmr)=0;
                    ggr=ggr+1;
                    gggr=gggr+1;

                end
            end
        end
        tmaxr=tmaxr(tmaxr ~= 0);
        MAXR=MAXR(MAXR ~= 0);
        tminr=tminr(tminr ~= 0);
        MINR=MINR(MINR ~= 0);
        distr=(tmaxr(end)-tmaxr(1))/(length(tmaxr)-1);
        tempr=distr*0.008;
        freqr=ceil(60/tempr);

        rigar=length(tmaxr);
        rigr=length(tminr);
        ciclor=1;
        if tmaxr(rigar)> tminr(rigr)
            ultimomaxr=1;
            rigar=rigar+1;
            rigr=rigr+1;
        elseif tmaxr(rigar)<tminr(rigr)
            ultimomaxr=0;
            rigar=rigar+1;
        end
    end

```

```

    end

    elseif ciclor==1
        if count==tmaxr(rigar-1,1)+ 350
            xx=filtfilt(a,c,r(1:count));

                [MAXR(rigar,1),tmaxr(rigar,1)]=max(xx( tmaxr(rigar-1,1)+ceil(0.6*distr) : tmaxr(rigar-1,1)+ ceil(1.45*distr)));
                tmaxr(rigar,1)=tmaxr(rigar,1)+ tmaxr(rigar-1,1)+ceil(0.6*distr) ;
                if ultimomaxr==1
                    [MINR(rigr,1),tminr(rigr,1)]= min(xx(tmaxr(rigar-1,1):tmaxr(rigar,1)));
                    tminr(rigr,1)=tmaxr(rigar-1,1)+tminr(rigr,1);
                    R_num(j,1)=(MAXR(rigar-1,1)-MINR(rigr,1))/MINR(rigr,1);
                elseif ultimomaxr==0
                    [MINR(rigr,1),tminr(rigr,1)]= min(xx(tmaxr(rigar-1,1):tmaxr(rigar,1)));
                    tminr(rigr,1)=tmaxr(rigar-1,1)+tminr(rigr,1);
                    R_num(j,1)=(MAXR(rigar-1,1)-MINR(rigr,1))/MINR(rigr,1);
                end

                % t=mod(riga,ac);
                % if t==0
                %     fprintf('bpm %d\n', freq);
                % end

                fprintf('massimo r(%d) al tempo
%d\n',rigar,tmaxr(rigar)*0.008);
                miniciclor=miniciclor+1;
                if miniciclor==5
                    ciclor=2;
                end
                j=j+1;

                stampa2=0;

                rigar=rigar+1;
                rigr=rigr+1;
            end
        elseif ciclor==2
            if count==tmaxr(rigar-1,1)+ 350
                xx=filtfilt(a,c,r(1:count));

                aar= ceil(0.6*(0.6*distr + 0.4*(tmaxr(rigar-1,1)-tmaxr(rigar-5,1))/4));
                bbr= ceil(1.45*(0.6*distr + 0.4*(tmaxr(rigar-1,1)-tmaxr(rigar-5,1))/4));
                aar : tmaxr(rigar-1,1)+[MAXR(rigar,1),tmaxr(rigar,1)]=max(xx( tmaxr(rigar-1,1)+bbr));
                tmaxr(rigar,1)=tmaxr(rigar,1)+ tmaxr(rigar-1,1)+aar;
                [MINR(rigr,1),tminr(rigr,1)]= min(xx(tmaxr(rigar-1,1):tmaxr(rigar,1)));
                tminr(rigr,1)=tmaxr(rigar-1,1)+tminr(rigr,1);
                fprintf('massimo r(%d) al tempo
%d\n',rigar,tmaxr(rigar)*0.008);
                R_num(j,1)=(MAXR(rigar-1,1)-MINR(rigr,1))/MINR(rigr,1);
                stampa2=0;
                j=j+1;
                rigar=rigar+1;
                rigr=rigr+1;
            end
        end
    end
end

```

```

        end
    end

    if j>1

        if i>1
            if stampa1==0 && stampa2==0

                R(k,1)=R_num(j-1,1)/R_den(i-1,1);
                fprintf('R(%d) %d\n',k, R(k,1));
                x=mod(k,m);
                if x==0
                    s(y,1)=(R(k)+R(k-1)+R(k-2))/3;
                    % fprintf('R(%d)mediato %d\n',y,s(y));
                    y=y+1;
                end
                k=k+1;
                stampa1=1;
                stampa2=1;
            end
        end
    end

    count = count +1;
    b(count)=b(count-1)+0.008;
    if count==maxlength
        tmax=tmax*0.008;
        tmin=tmin*0.008;
        tmaxr=tmaxr*0.008;
        tminr=tminr*0.008;
        figure(1)
        plot(b(1:length(yy)),yy(1:end),'b');
        hold on
        plot(tmax,MAX,'g*');
        plot(tmin,MIN,'r*');
        plot(b(1:length(xx)),xx(1:end),'b');
        plot(tmaxr,MAXR,'g*');
        plot(tminr,MINR,'r*');

        break
    end
end

end
if count==maxlength
    break
end

end
end

save ('C:\Users\Andrea\Desktop\test.mat', 'b','r','rA','ir' , 'irA','R','s','yy',
'xx', 'tmax','tmaxr','MAX','MAXR','tmin','tminr','MIN','MINR');

```

## APPENDICE E

La configurazione 1 presenta i seguenti dati:

Numero prova	AC <sub>r</sub> (V)	DC <sub>r</sub> (V)	SNR <sub>r</sub> (db)	AC <sub>ir</sub> (V)	DC <sub>ir</sub> (V)	SNR <sub>ir</sub> (db)
1	0,001053	0,589912	10,962598	0,004028	0,833676	13,63482
2	0,001444	0,550761	20,89395	0,004721	0,816993	29,946009
3	0,001995	0,964259	25,00842	0,00672	1,134054	35,56636
4	0,001952	0,963058	24,98307	0,007066	1,127154	36,08513
5	0,001725	1,001877	23,76901	0,002568	0,585591	27,03899
6	0,001047	0,954824	18,82986	0,00175	0,572908	23,17132
7	0,001149	0,953787	19,6365	0,002122	0,573361	24,97016
8	0,001644	0,961661	22,49398	0,002604	0,573233	26,45089
9	0,001527	0,960547	22,38035	0,002757	0,568107	27,48037
10	0,00138	0,960348	21,63882	0,002397	0,570003	26,34373
11	0,001556	0,956846	20,98303	0,002612	0,561176	25,44678
12	0,001212	0,953505	19,86944	0,002223	0,565816	24,8835
13	0,001886	0,836396	24,36778	0,002294	1,030579	26,04981
14	0,002254	0,822601	25,72009	0,00281	1,026519	27,57446
15	0,002913	0,7831	14,659496	0,004439	0,990073	18,248899
16	0,001748	0,797098	20,441926	0,003565	1,000875	26,67284
17	0,002316	0,771428	22,65829	0,004725	0,971396	28,78651
18	0,002274	0,541084	14,080677	0,003589	0,78727	18,036471
19	0,003437	0,624752	11,06615	0,006341	0,917329	15,96098
20	0,003202	0,62177	21,17392	0,006762	0,936524	27,80757
21	0,002529	0,635945	17,611105	0,004436	0,987238	22,59009
22	0,000806	0,637293	17,41474	0,003073	1,00423	29,06367
23	0,003214	0,623839	29,30383	0,007142	0,969207	36,34135
24	0,00267	0,603025	27,73741	0,006152	0,946883	35,23217
25	0,00405	0,606321	31,18589	0,006755	0,981736	35,62233
26	0,00276	0,536632	28,59198	0,004183	0,744557	32,26785
27	0,004141	0,580516	31,66998	0,00463	0,974397	32,51588
28	0,001105	0,480709	20,61235	0,002316	0,742123	27,06162
29	0,005357	0,517501	19,030938	0,008494	0,923573	23,04918
30	0,005844	0,560327	17,903013	0,012289	0,969896	22,38445
31	0,003361	0,549147	29,68673	0,008465	0,856023	37,61158
32	0,003473	0,529048	29,154143	0,008748	0,927529	26,92778
33	0,00267	0,62455	19,02962	0,006682	0,95338	26,12182
34	0,00486	0,622472	19,68535	0,011019	1,084081	28,36136
35	0,004059	0,647639	21,54786	0,01083	1,16349	19,85776
36	0,004478	0,617984	31,49033	0,012907	1,131595	40,62617
37	0,005717	0,612819	14,10647	0,014877	1,116582	23,08971
38	0,003386	0,605129	28,95475	0,009327	1,082536	37,89575

39	0,003649	0,628939	30,71936	0,007239	1,051369	36,68578
40	0,003932	0,599723	30,65936	0,010423	1,148885	39,07746

La configurazione 2, invece, presenta i seguenti valori:

Numero prova	AC <sub>r</sub> (V)	DC <sub>r</sub> (V)	SNR <sub>r</sub> (db)	AC <sub>ir</sub> (V)	DC <sub>ir</sub> (V)	SNR <sub>ir</sub> (db)
1	0,000953	0,16568	15,30331	0,003756	0,391214	26,5651
2	0,001434	0,176147	11,07658	0,004924	0,372176	23,83596
3	0,001243	0,177482	20,05966	0,004906	0,382498	32,63511
4	0,001618	0,17657	1,911453	0,005235	0,355792	13,68081
5	0,000633	0,162706	11,33496	0,004004	0,414163	27,65597
6	0,001005	0,143583	19,36335	0,001545	0,357852	23,08354
7	0,002001	0,190693	25,31124	0,005832	0,400683	34,69911
8	0,002487	0,189369	25,28053	0,007753	0,36348	35,87345
9	0,00256	0,189909	24,78046	0,00796	0,375039	34,14269
10	0,003405	0,178554	27,32397	0,009855	0,351061	36,97053
11	0,003401	0,165649	6,761618	0,00872	0,329629	16,86016
12	0,000888	0,146927	18,32694	0,001504	0,306917	22,7857
13	0,000828	-0,05076	2,561401	0,003826	-0,12259	16,2385
14	0,000578	0,0061	8,792419	0,001363	0,033914	16,22263
15	0,000357	-0,01104	11,88203	0,001621	0,047256	24,74415
16	0,000389	-0,00642	12,30234	0,001272	0,046893	22,47293
17	0,000412	-0,01259	12,28749	0,00217	0,042257	26,61947
18	0,000531	-0,01717	11,39972	0,003055	0,033305	24,70843
19	0,00037	-0,01371	11,11435	0,001418	0,035268	22,73309
20	0,000573	-0,01239	14,47616	0,001874	0,039398	24,8488
21	0,000462	-0,01208	12,93252	0,001486	0,037861	23,26924
22	0,000626	-0,00832	15,75902	0,00129	0,035771	21,83715
23	0,000359	-0,0199	10,08028	0,001792	0,03001	23,84925
24	0,000891	-0,04449	8,010002	0,002939	0,007393	18,71983
25	0,000608	-0,03129	4,620681	0,001414	0,012411	13,30977
26	0,000514	-0,0309	3,303155	0,0013	0,010801	11,78411
27	0,000357	0,006673	11,03749	0,001305	0,044076	22,22324
28	0,000369	0,000758	5,148546	0,002628	0,0347	22,03025
29	0,000405	0,009883	11,3068	0,001442	0,031272	22,28547
30	0,000437	0,014445	11,22395	0,001218	0,021629	20,38237
31	0,000487	0,017222	12,19818	0,001066	0,032075	18,85386
32	0,000467	0,017638	13,35704	0,00133	0,03973	22,24303
33	0,000416	0,015563	11,11458	0,000557	0,023208	13,58645
34	0,000463	0,013447	12,15642	0,001238	0,033199	20,69524
35	0,000725	0,007231	4,65445	0,001693	0,015686	11,53087
36	0,000442	0,010072	11,00112	0,001103	0,032089	18,63202

37	0,000622	0,014219	14,30637	0,001291	0,03223	20,14614
38	0,000584	0,022021	13,51226	0,001208	0,032211	19,68546
39	0,000587	0,027888	13,52676	0,001231	0,033129	19,87973
40	0,000543	0,035406	12,83865	0,00102	0,033971	18,03119

La configurazione 3, infine, ha prodotto i seguenti risultati:

Numero prova	AC <sub>r</sub> (V)	DC <sub>r</sub> (V)	SNR <sub>r</sub> (db)	AC <sub>ir</sub> (V)	DC <sub>ir</sub> (V)	SNR <sub>ir</sub> (db)
1	0,000869	-0,00711	1,757636	0,004615	0,38137	12,97816
2	0,000607	-0,00379	4,513859	0,014424	0,371545	22,83754
3	0,001273	-0,00504	6,203952	0,027368	0,785263	21,31744
4	0,001815	-0,01136	2,130776	0,015577	0,856129	16,97043
5	0,001754	0,013462	1,676147	0,019267	0,882924	19,70082
6	0,003274	0,016551	-0,549507	0,011889	0,562198	10,66601
7	0,001491	-0,0061	3,265121	0,012307	0,685284	15,02542
8	0,001586	0,003307	3,614513	0,025621	0,752182	20,56222
9	0,001652	0,001007	1,484573	0,010571	0,826906	12,70613
10	0,002191	0,000993	4,533101	0,005164	0,599681	11,68547
11	0,001955	-0,00956	-1,1635	0,020262	0,790556	19,22049
12	0,000877	0,00763	8,543066	0,004516	0,809492	6,605116
13	0,0002	-0,00083	2,152225	0,009752	0,419729	36,10916
14	0,000209	0,001889	3,50211	0,007835	0,389959	35,50074
15	0,001029	-0,02144	3,111176	0,03355	0,460963	25,57835
16	0,001646	-0,02748	1,08729	0,005948	0,465827	9,987883
17	0,000332	0,002311	5,082981	0,010102	0,408062	38,92672
18	0,002156	-0,0418	3,767052	0,011309	0,398119	9,753457
19	0,001388	-0,05154	0,691465	0,007673	0,438254	15,3911
20	0,001646	-0,06321	-1,093479	0,028056	0,438654	27,32039
21	0,001198	-0,05395	-1,966995	0,004039	0,455845	18,38765
22	0,001091	-0,05321	0,223356	0,011076	0,446968	22,99464
23	0,00089	-0,03745	4,421613	0,008915	0,455056	35,44904
24	0,000417	0,000524	-2,969995	0,003839	0,335315	25,72264
25	0,000505	-0,00211	10,13284	0,007242	0,409732	35,63326
26	0,004649	-0,22212	5,616029	0,010786	0,668544	15,42719
27	0,001533	-0,10242	-3,511118	0,006151	0,370214	9,16584
28	0,000867	-0,06055	-2,244732	0,007028	0,376191	30,66725
29	0,000756	-0,06173	0,564572	0,010634	0,396677	32,24363
30	0,000673	-0,0359	6,738969	0,006952	0,406515	32,09858
31	0,001281	-0,0575	2,901031	0,009627	0,404352	14,13978
32	0,000847	-0,02409	9,757534	0,010387	0,420624	36,72735
33	0,003292	-0,16392	-1,813535	0,006901	0,517566	3,548952
34	0,001623	-0,05781	5,199988	0,007529	0,36576	8,460479

35	0,000624	-0,01134	8,248397	0,007687	0,391101	32,59544
36	0,001874	-0,0805	6,256546	0,011823	0,426219	7,031532
37	0,001464	-0,0532	-0,321836	0,010566	0,41498	23,81554
38	0,002139	-0,45437	12,27213	0,01591	1,125593	5,599535
39	0,003079	-0,27411	8,619563	0,008559	0,598423	1,860947
40	0,00118	-0,03698	0,833699	0,006788	0,404774	20,51036