



UNIVERSITAT POLITÈCNICA
DE CATALUNYA
BARCELONATECH



DISSENY I IMPLEMENTACIÓ D'UN SISTEMA DE MESURA D'IMPEDÀNCIA ELÈCTRICA I ELECTROQUÍMICA BASAT EN UN AD5941

**Treball de Fi de Grau enviat a
l'Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de
Telecomunicació de Barcelona
Universitat Politècnica de Catalunya**

Fet per

Marc Colomer López

**Com a part dels requeriments per obtenir el grau
d'Enginyeria de Tecnologies i Serveis de la
Telecomunicació**

Director: Ramon Bragós Bardia

Barcelona, Octubre de 2022

Abstract

The use of bioengineering to improve human wellbeing has increased greatly in recent years and has led to the exploration of new ways of research and development. In this final degree project, we have designed and developed a minimal Electrical Impedance Spectroscopy EIS system which can be used in several biomedical applications. EIS applied to the characterization of human tissues or biological systems is called bioimpedance.

In order to do this, we have relied on a System-on-chip already in distribution from the Analog Devices company, the AD5490/5491 and its evaluation board, the EVAL-AD5940BIOZ that will serve us both to check results and compare performances. A custom PCB board has been designed and implemented in order to reduce the complexity of the evaluation board and a software has been developed in order to obtain the results.

The approach of this document is based first of all on a small introduction into the world of electrical bioimpedance and its basic foundations. We will then study the main parameters of the evaluation board, focusing on its specific chip for this field of use, and performing some experiments and checks.

Finally, the procedure used when making our own PCB board, its design (KICAD 6) and the final software (Python) are explained. The experiments carried out with it and the results obtained with it are also presented.

Resum

L'ús de la bioenginyeria per millorar el benestar humà ha augmentat molt en els últims anys i ha portat a l'exploració de noves formes de recerca i desenvolupament. En aquest treball final de grau hem dissenyat i desenvolupat un sistema mínim d'espectroscòpia d'impedància elèctrica (EIS) que es pot utilitzar en diverses aplicacions biomèdiques. L'EIS aplicat a la caracterització de teixits humans o sistemes biològics s'anomena bioimpedància.

Per a això, hem confiat en un system-on-chip comercialment disponible de l'empresa Analog Devices, l'AD5490/5491 i la seva placa d'avaluació, l'EVAL-AD5940BIOZ que ens servirà tant per comprovar resultats com per comparar prestacions. S'ha dissenyat i implementat una placa PCB personalitzada per tal de reduir la complexitat de la placa d'avaluació i s'ha desenvolupat un programari per obtenir els resultats.

L'enfocament d'aquest document es basa, en primer lloc, en una petita introducció al món de la bioimpedància elèctrica i els seus fonaments bàsics. A continuació, estudiarem els principals paràmetres de la placa d'avaluació, centrant-nos en el seu xip específic per a aquesta camp d'ús, i realitzant alguns experiments i comprovacions.

Finalment, s'explica el procediment utilitzat a l'hora de fer la nostra pròpia placa PCB, el seu disseny (KICAD 6) i el programari final (Python). També es presenten els experiments realitzats i els resultats obtinguts amb ella.

Resumen

El uso de la bioingeniería para mejorar el bienestar humano ha aumentado mucho en los últimos años y ha llevado a la exploración de nuevas formas de investigación y desarrollo. En este trabajo final de grado hemos diseñado y desarrollado un sistema mínimo de espectroscopia de impedancia eléctrica (EIS) que se puede utilizar en varias aplicaciones biomédicas. El EIS aplicado a la caracterización de tejidos humanos o sistemas biológicos se denomina bioimpedancia.

Para ello, hemos confiado en un system-on-chip comercialmente disponible de la empresa Analog Devices, la AD5490/5491 y su placa de evaluación, el EVAL-AD5940BIOZ que nos servirá tanto para comprobar resultados como para comparar prestaciones. Se ha diseñado e implementado una placa PCB personalizada con el fin de reducir la complejidad de la placa de evaluación y se ha desarrollado un software para obtener los resultados.

El enfoque de este documento se basa, en primer lugar, en una pequeña introducción al mundo de la bioimpedancia eléctrica y sus fundamentos básicos. A continuación, estudiaremos los principales parámetros de la placa de evaluación, centrándonos en su chip específico para este campo de uso, y realizando algunos experimentos y comprobaciones.

Finalmente, se explica el procedimiento utilizado a la hora de hacer nuestra propia placa PCB, su diseño (KICAD 6) y el software final (Python). También se presentan los experimentos realizados y los resultados obtenidos con ella.

Agraïments

M'agradaria donar les gràcies a tothom que m'envolta, la meva família, els meus amics, els meus companys d'universitat, els meus companys d'associació, etc. Durant tots aquests anys d'universitat ells saben que aquest període no ha sigut pas fàcil, i que he hagut de treballar molt per arribar aquest final que suposa aquest treball.

M'agradaria agrair sobretot el Ramon Bragós, supervisor d'aquest projecte per haver-me deixat treballar amb ell, ensenyar-me el seu àmbit d'estudi i compartir-ho amb mi. També per deixar-me temps i acompanyar-me durant aquests darrers 7mesos que ha durat el treball.

Finalment, també m'agradaria agrair l'ajuda d'en Isaac Montsech, ja que aquest treball és la continuació del seu i em va donar una empenta amb el programari que hem acabat utilitzant.

Gràcies a tots!

Revisió i registre d'historial

Revisió	Data	Propòsit
0	02/04/2022	Creació del document
1	29/04/2022	Revisió de document
2	30/05/2022	Revisió de document
3	02/10/2022	Revisió de document
4	09/10/2022	Revisió de document

DOCUMENT DISTRIBUTION LIST

Name	e-mail
Marc Colomer López	marc.colomer.lopez@estudiantat.upc.edu
Ramon Bragós Bardia	ramon.bragos@upc.edu

Escrit per:		Revisat i Aprovat :	
Data	09/10/2022	Data	09/10/2022
Nom	Marc Colomer López	Nom	Ramon Bragós Bardia
Posició	Estudiant	Posició	Supervisor

Índex

Abstract	1
Resum	2
Resumen	3
Agraïments	4
Revisió i registre d'historial	5
Índex	6
Llista de figures:	8
Llista de taules :	9
1. Introducció	10
1.1. Objectius i premissa	10
1.2. Requisits i especificacions del projecte	10
1.3. Desenvolupaments previs	11
1.4. Diagrama de Gant i imprevistos	11
2. Bioimpedància elèctrica	13
2.1. Principis de la mesura de bioimpedància	13
2.2. Bioimpedància: impedància elèctrica dels materials biològics	14
2.3. Mesures en cultius cel·lulars	16
2.3.1. Com es cultiven les cèl·lules?	16
2.3.2. Biologia de les cèl·lules de cultiu	17
2.3.3. Aplicacions i avantatges	17
2.3.4. Aplicació de l'espectroscòpia d'impedància elèctrica a la caracterització de cultius cel·lulars	18
3. Mesures amb la placa d'avaluació	18
3.1. Placa EVAL-AD5940BIOZ d'Analog Devices	19
3.2. SOC System	19
3.2.1. AD5940 i AD5941	19
3.2.2. Les plaques AD5940 Bioimpedance i AD5941 Electrochemical	21
3.2.3. Software de desenvolupament : Analog Device SensorPal	22
3.3. Mesures preliminars	23
3.3.1. Mesures de resistències	23
3.3.2. Mesures experimentals	25
4. Disseny del sistema ad-hoc	27
4.1. Esquemàtic original	27
4.2. Esquemàtic propi	29
4.3. Arduino Nano 33 Ble	31
4.4. Placa PCB	32
4.4.1. Empremtes	32

4.4.2.	Principis a seguir alhora d'encaminar	34
4.4.3.	Decisions de Emplaçament i Encaminament de la PCB	34
5.	Software	36
5.1.	Aplicatiu en Python.....	37
6.	Resultats	38
6.1.	Mesures de Resistències.....	38
6.2.	Anàlisi del soroll i duració en el temps	41
6.3.	Mesures fisiològiques	44
6.3.1.	Mesura de EIS de teixit muscular a l'avantbraç	44
6.3.2.	Contracció de braç	45
6.3.3.	Respiració	46
6.3.4.	Ritme cardíac	47
6.3.5.	Mesures Sedimentació	48
7.	Costos	49
7.1.	Recursos humans.....	49
7.2.	Recursos Tècnics	50
7.3.	Recursos de realització	50
8.	Conclusions i vies de futur	51
	Bibliografia:.....	53
	Glossari:	54

Llista de figures:

Il·lustració 1: Diagrama de Gant Temporal.....	7
Il·lustració 2: Representació del model elèctric d'una cèl·lula.	15
Il·lustració 3: Diagrama de Bode d'un model RC.	16
Il·lustració 4: Mesura de creixement d'un cultiu d'E.Coli mitjançant mesura de densitat òptica de mostres (dalt) i d'EIS (baix) [ref.1]	18
Il·lustració 5: Mesura de creixement 'in vitro' en monocapa d'un cultiu de cèl·lules animals (Vero Cells). A l'esquerra, circuit elèctric equivalent de la cèl·lula sobre un elèctrode. A la dreta, creixement estimat utilitzant EIS comparat amb recompte manual [ref.2]	18
Il·lustració 6: Diagrama de Pins del microxip AD5941.....	20
Il·lustració 7: Diagrama de blocs funcionals de l'AD5941.....	21
Il·lustració 8: Vista frontal i lateral de les plaques d'avaluació AD5940 Bioimpedance i AD5941 Electrochemical	22
Il·lustració 9: Pàgina inicial del programari Analog Device Sensor Pal.....	22
Il·lustració 10: Muntatge de la realització del experiment amb la placa EVAL-AD5940BIOZ	27
Il·lustració 11: Esquemàtic de la placa EVAL-AD5940BIOZ.....	29
Il·lustració 12: Esquemàtic propi final	30
Il·lustració 13: Imatge física del Arduino Nano 33 Ble i diagrama de connexions.....	32
Il·lustració 14: Empremta de la referència 0603_1608.....	33
Il·lustració 15: Empremta del microxip AD5941 i del Arduino Nano 33 Ble	33
Il·lustració 16: Empremta del cristall de freqüència amb referència 3224_5.....	33
Il·lustració 17: Empremta dels pads com a Test Point	33
Il·lustració 18: Disseny final de la placa PCB i visió 3D.....	35
Il·lustració 19: Disseny final del encaminament per capes, primer frontal després darrera i conjunta. Finalment la placa PCB soldada i col·locada com a motxilla modular del Arduino Nano 33 Ble.....	36
Il·lustració 20: Interfície inicial del aplicatiu Python	37
Il·lustració 21: Arxiu CSV de resultats del aplicatiu Python realitzat.....	38
Il·lustració 22: Distribució dels elèctrodes en un braç per detectar impedància muscular.	44
Il·lustració 23: Distribució dels elèctrodes en els dos braços per detectar la respiració...	46

Llista de taules :

Taula 1: Resultats obtinguts de la mesura de resistències amb la placa EVAL-AD5940BIOZ	23
Taula 2: Errors en Alta, Baixa i Intermèdia freqüència	24
Taula 3: Resultats obtinguts amb un escombrat de freqüència en l'experiment	26
Taula 4: : Resultats obtinguts de la mesura de resistències amb el sistema dissenyat ...	39
Taula 5: Cost total del projecte	49
Taula 6: Cost dels recursos humans.....	49
Taula 7: Cost dels recursos tècnics	50
Taula 8: Cost dels recursos de realització.	51

1. Introducció

En aquest apartat, es presentarà el TFG mitjançant els objectius, requisits, especificacions i procediment seguits en el document, passant per una breu introducció que utilitzem com a premissa.

1.1. Objectius i premissa

Aquest projecte s'ha dut a terme en el Departament d'Enginyeria Electrònica en la Universitat Politècnica de Catalunya. En aquest departament es centren en investigar diferents branques de l'electrònica, com podria ser els semiconductors, circuits integrals o en el que ens pertoca, sistemes de mesura i instrumentació biomèdica.

Aquest treball tracta sobre el disseny, desenvolupament i validació d'un sistema petit i portable, construït sobre una placa PCB, que sigui capaç de mesurar la impedància elèctrica de sistemes biològics amb prou precisió per extreure resultats biomèdics com per exemple característiques fisiològiques d'una persona o el seguiment d'un cultiu de cèl·lules.

Aquesta idea ja fa anys que s'investiga i s'utilitza, però a dia d'avui existeixen algunes empreses que han desenvolupat dispositius específics per realitzar aquest tipus de mesures. Una d'elles és Analog Devices, la qual té un producte expressament per fer aquesta funció, el system-on-chip AD5940/5941 i la seva placa d'avaluació, anomenada EVAL-AD5940BIOZ. Quan les plaques d'avaluació dels xips tenen una mida reduïda i un preu assequible, es poden utilitzar directament per fer prototipus, però aquesta té un preu força elevat. Ens hem basat en aquest producte per dissenyar la nostra pròpia placa PCB i assimilar les funcions que és capaç de realitzar intentant seguir una sèrie d'objectius:

- Dissenyar una placa PCB per obtenir dades d'impedància sobre sistemes biològics, incloent mesures sobre el cos humà.
- Tenir la suficient precisió per poder extreure unes dades fiables.
- Desenvolupar un programari que permeti utilitzar la placa de forma simple.
- En la mesura que sigui possible, utilitzar els mínims recursos necessaris de la placa i reduir al màxim les dimensions d'aquesta per fer-la portable. Per tal d'aconseguir això, s'intentarà fer un disseny de només dues cares i que s'acobli a una placa de microcontrolador de dimensions reduïdes, com l'Arduino Nano o similar.
- Abaratir el cost de producció respecte la proposta original d'Analog Devices.

1.2. Requisits i especificacions del projecte

Conjuntament podem parlar dels requisits i especificacions principals al realitzar el projecte:

- Aprenentatge intern sobre conceptes bàsics de l'àmbit de la bioimpedància com podrien ser els cultius de cèl·lules.
- Explorar les característiques de la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ
- Assolir un nivell de precisió similar al de la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ al fer mesures de bioimpedància.
- Poder fer mesures durant un període llarg de temps, fet que no pot fer la placa d'avaluació ja que està limitada per software. En aquest sentit, desenvolupar un

programari capaç de realitzar aquesta tasca. Això és perquè un dels objectius és poder monitoritzar cultius de cèl·lules animals.

1.3. Desenvolupaments previs

En primer lloc aquest treball ve a ser la continuació d'un treball fet dins d'una assignatura dut a terme per Isaac Montsech anomenat "Design, implementation, and test of a low-cost, low-power, electrical impedance spectroscopy System for biomedical applications" el juny de 2021.

En aquest treball, l'Isaac estudiava les possibilitats d'implementar un sistema de baix cost capaç de mesurar l'espectroscòpia de bioimpedància d'un cos humà. Per fer això, també va fer ús de la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ la qual era capaç de realitzar aquestes mesures. Ell va intentar millorar la proposta que oferia Analog Devices en el seu propi producte, ja que aquest porta una placa amb un microcontrolador propi d'Analog Devices requereix un ordinador que operi el programa proporcionat per l'empresa per treballar i alimentar el sistema a través d'una connexió USB. Va aconseguir connectar-hi una placa de microcontrolador Arduino Uno amb un mòdul Bluetooth i adaptar el firmware per enviar les dades dades mitjançant aquest protocol cap a una interfície mínima desenvolupada en Python. Així s'independitzava l'ús de la placa d'avaluació del programari d'Analog Devices per fer ús del seu material.

En aquest projecte es fa ús d'aquesta idea i anem a un pas més enllà, amb la premissa de prescindir també de la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ que té un preu elevat i una mida relativament gran. I si dissenyem la nostra pròpia placa capaç de realitzar aquesta funció? Amb aquest propòsit va néixer el projecte.

D'aquesta forma amb unes dimensions proporcionades, es podria dissenyar un dispositiu d'alguna forma portable que anés fent mesures de bioimpedància al llarg del temps i les transmetés via Bluetooth.

Per tal de provar i validar el sistema, s'han mesurat sistemes biològics en aplicacions en les que ha treballat el supervisor del treball en els darrers anys, com ara mesures de paràmetres fisiològics sobre el cos humà i creixement de cultius de cèl·lules.

1.4. Diagrama de Gant i imprevistos

L'idea inicial del projecte era realitzar-ho en el temps distribuït en el quadrimestre anterior, és a dir, del 14 de Febrer al 21 de Juny. Finalment es va decidir l'opció de prolongar aquest període a causa dels diferents inconvenients, propis i externs.

Primerament m'agradaria fer autocrítica. Al començar el projecte tenia clara l'idea d'on volia arribar, però em mancaven els conceptes necessaris sobre l'àmbit per fer les coses amb un sentit crític. Aquesta falta de coneixement va fer que endarrerís en comprendre el rerefons que havia en el projecte. Això va esdevenir en un període més llarg de compressió el qual vam replantejar. Durant aquest temps però vam fer a l'hora un anàlisi de la placa d'avaluació EVAL-AD5941ELEC que era un model diferent al qual vam acabar utilitzant: EVAL-AD5940BIOZ. La primera placa estava dissenyada per a aplicacions electroquímiques de la EIS, que també eren un objectiu inicial del projecte. Llavors vam decidir canviar al model que ja havia sigut provat per altres treballs com el del Isaac

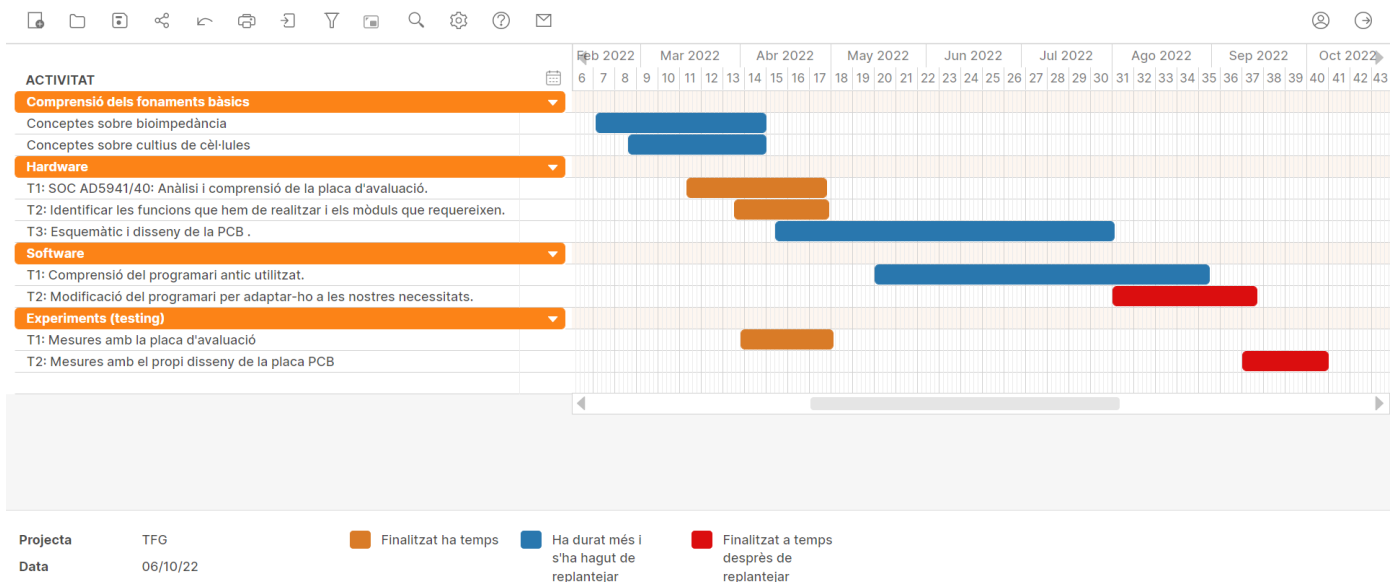
Montsech. Aquest imprevist el vam veure força ràpid, cap a finals de març i només va suposar perdre tres setmanes de mesures, fent les noves mesures ara amb la placa correcta i finalitzat a temps en certa manera.

En quan la comprensió del disseny de la placa d'avaluació, les dos utilitzen una configuració similar i aquesta es va assolir ràpidament al haver un bon "datasheet" proporcionat per l'empresa, tot i que és molt complex.

El següent pas va ser dissenyar la nostra pròpia placa PCB on em vaig trobar amb la dificultat de que en la carrera no hi ha hagut cap assignatura on s'hagués de fer el disseny de plaques PCB, així doncs vaig posar les màximes ganes per aprendre de forma autodidàctica però els primers dissenys no van ser prou bons, demorant més temps en realitzar-ho. El xip principal, l'AD5941, té els pins per sota i la seva soldadura en un prototipus és difícil, el que va comportar encara més pèrdua de temps. Ens vam trobar a finals de maig sense encara haver pogut provar la pròpia placa i es va decidir conjuntament amb el supervisor del projecte prolongar el projecte.

Vam reprendre el projecte a principis de Juliol, quan ja teníem per fi la placa definitiva a les nostres mans. En aquest moment va ser quan es va començar de forma seria a mirar el software utilitzat per l'Isaac, tot i que prèviament ja havíem tingut un primer contacte el maig per veure si podíem arribar a la data de Juny. Durant l'estiu es va modificar el software per el nostre projecte i finalment al setembre es va concretar uns petits detalls per finalitzar-ho a temps.

Finalment, les darreres setmanes de setembre i principis de octubre s'han anat fent les mesures pertinents un cop teníem tot el projecte complet.



Il·lustració 1: Diagrama de Gant Temporal

2. Bioimpedància elèctrica

La mesura de la bioimpedància va veure els seus inicis a finals del segle XVIII, amb el metge i científic Luigi Galvani que va identificar l'electricitat animal com la força vital que animava els músculs. Mitjançant experiments amb granotes, Galvani va concloure que aquestes reaccionaven a l'exposició d'un corrent elèctric, fent-les saltar inclús mortes, descobrint que pel sistema nerviós passava electricitat, afirmació que també va comprova Alessandro Volta. Això va provocar un gran interès per investigar les propietats elèctriques dels teixits orgànics i l'any 1888 el psiquiatra francès Vigouroux va obrir un nou camp d'estudi amb la suposició que els resultats de la resistència bioelèctrica podien proporcionar informació molt interessant en el diagnòstic de malalties clíniques. Durant finals del segle XIX i inicis del segle XX, es van realitzar diversos experiments especialment en fibres nervioses per determinar-ne la conductivitat, trobant també que els fluids extracel·lulars complien la funció de conductors. Finalment, l'any 1960, el metge francès Thomasset és el primer que analitza els resultats de la impedància bioelèctrica com un índex de l'ACT (aigua corporal total). A més, en els següents anys amb el seu equip de recerca aconseguen diferenciar els volums dels fluids intra- i extracel·lulars usant diverses freqüències naixent en aquesta investigació el concepte que ha arribat als nostres temps sobre bioimpedància elèctrica. [1]

Les aplicacions més bàsiques de la mesura de la impedància elèctrica sobre materials biològics es realitzen a una sola freqüència. Quan s'utilitzen diverses freqüències es parla d'Espectroscòpia d'Impedància Elèctrica (EIS). La idea biofísica darrere l'EIS parteix de la resistència que presenta el teixit biològic (generalment cel·lules) a un flux de corrent altern. Els paràmetres bioelèctrics estimats són resistència elèctrica i reactància capacitiva. La reactància inductiva és menys preable. Aquests paràmetres varien segons el contingut d'aigua de l'organisme i la conducció iònica. La resistència es defineix com la resistència del teixit al pas del corrent, i les reactàncies són provocades per l'acció de la membrana cel·lular com a aïllant, el que genera condensadors i dependència de la freqüència.

L'aplicació més estesa de la Bioimpedància és la mesura de la composició corporal o Bio-Impedance Analysis (BIA). En els darrers anys, la BIA ha obtingut una gran popularitat sobretot en els àmbits sanitaris, nutricionals o esportius, ja que permeten la estimació de paràmetres útils en medicina. Per exemple, s'utilitza aquest mètode en el monitoratge i diagnòstic d'un pacient, al poder mesurar paràmetres tals com l'aigua corporal total (ACT), la massa lliure de greix (MLG), la massa grassa (MG), el metabolisme basal (MB) o el conegut índex de massa corporal (IMC). També s'utilitza la bioimpedància per al monitoratge del sistema respiratori o cardíac (freqüència cardíaca o volum d'ejecció del cor) o del sistema cardiovascular en general. També té altres aplicacions com caracteritzar aliments. En la seva vessant electroquímica, permet investigar la qualitat de recobriments o el comportament de les bateries. [2]

2.1. Principis de la mesura de bioimpedància

S'anomena impedància d'un component o una mostra d'un material a una freqüència a la relació entre el voltatge i el corrent d'entrada a aquesta freqüència. Per tant, existeixen dues variables relacionades, la tensió i la intensitat. Entre aquestes dos podem a més fer referència a una relació d'amplitud o magnitud, i la relació entre fases, que té a veure amb el desfasatge entre elles.

Els senyals de CA (corrent altern) sovint es representen amb nombres complexos, on expressen la relació mòdul i fase. Aquests segueixen dos nomenclatures, representades

per les següents equacions: $Y = a + j \cdot b$, la part real del nombre Y és $\text{Re}\{Y\}=a$ i la part imaginària $\text{Im}\{Y\}=b$. Donat un número complex, podem obtenir el seu mòdul i el seu argument a partir de les següents relacions:

Equació 1: $|Z| = \sqrt{a^2 + b^2}$ $\arg = \text{atan}\left(\frac{b}{a}\right)$

Aquest número complex conte informació sobre el mòdul i la fase. Per a freqüències corresponents, si el voltatge i la intensitat són nombres complexos per a una tensió i corrent d'entrada (magnitud i fase), la impedància Z és la magnitud complexa com a resultat de les relacions entre magnituds i la fase el desfasament entre fases.

Equació 2: $|Z| = \frac{|V|}{|I|}$ $Z^\circ = V^\circ - I^\circ$

Tenint en compte això, en l'electrònica anomenem resistència a la part real d'aquest nombre, i reactància a la part imaginària. En termes tècnics, es diu que la resistència és el motiu de la dissipació d'energia dels circuits electrònics, i la reactància la part que produeix el desfasament entre corrent i tensió. Un exemple clàssic i educatiu seria la d'una simple resistència i un simple condensador. Mentre que una resistència només té part real, això significa que només té part resistiva, un condensador només té part reactiva, provocant aquest retard entre fases.

Seguint amb termes teòrics, les resistències segueixen com a principi la llei d'Ohm. Aquesta estableix que el corrent que travessa un circuit elèctric és directament proporcional a la diferència de potencial que hi ha entre els seus extrems i inversament proporcional a la resistència del circuit. Aquesta relació es manté, ja sigui amb un conjunt de resistències que formen una resistència equivalent, o amb un circuit, tal com diu la llei.

Equació 3: $z = \mathbb{R}\{Z\} = R = V/I$

En canvi, la impedància d'un condensador o capacitador (reactància capacitiva) és la mesura de l'oposició al canvi de corrent en aquest component. Per tant, aquesta ja depèn del temps, i no resulta una relació directa sinó la següent:

Equació 4: $Z = -j \cdot \frac{1}{2\pi f C}$

On podem veure de la fórmula de la impedància en un capacitador és inversament proporcional a la freqüència, a més del valor imaginari j i C el valor del condensador en Faradays. Això vol dir que si la freqüència és zero (0 Hz), la impedància és infinita. Ara si la impedància és infinita, el voltatge als terminals del condensador és el que correspon a un circuit obert i no hi haurà corrent que flueixi a través d'ell (corrent igual a zero). D'aquest principi podem extreure que a freqüències baixes, un condensador es comporta com un circuit obert, i que pel cas contrari, a freqüències altes es comporta com un curtcircuit. [3]

2.2. Bioimpedància: impedància elèctrica dels materials biològics

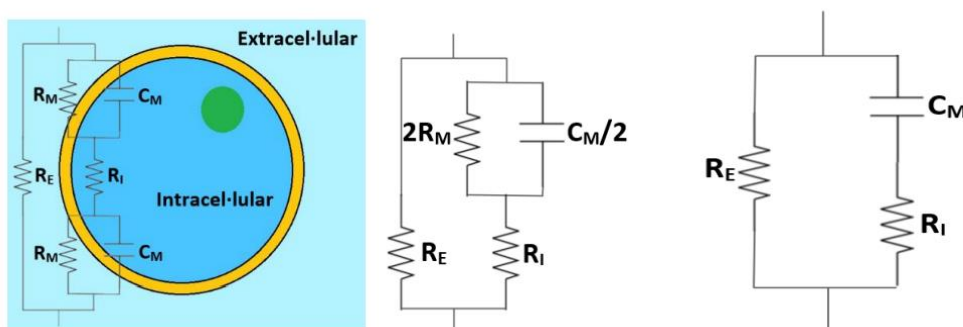
Avui en dia es classifiquen les propietats elèctriques dels teixits biològics segons la font d'electricitat, per tant, si la resposta és activa o es passiva. A la resposta activa també se

l'anomena bioelectricitat, i la podem definir com els principis de la biofísica a partir dels quals s'estudien els fenòmens bioelèctrics que tenen lloc a l'organisme. En els teixits animals hi ha cèl·lules que poden provocar un corrent elèctric creant diferències de potencial els quals tenen funcions específiques com la contracció de fibres o la transferència de polsos nerviosos. En canvi, la resposta passiva correspon a la resposta dels teixits a un corrent extern, que permet caracteritzar els seus paràmetres passius intrínsecs (permitivitat i conductivitat). És aquí on es manifesta la bioimpedància elèctrica.

Nosaltres tindrem en compte la resposta passiva. El corrent ve donat per un flux d'ions. Els ions són una partícula carregada elèctricament constituïda per un àtom o molècula que no és elèctricament neutres encarregats de portar la càrrega elèctrica dintre el nostre cos, trobant una resistència al seu pas dins del cos. Així doncs, la impedància corporal (Z) està en funció de 2 components o vectors: resistència (R) i reactància (X_c), com hem vist abans. La R representa la resistència dels teixits al pas d'un corrent elèctric format per ions i X_c és l'oposició addicional deguda a la capacítancia d'aquests teixits i membranes cel·lulars (és l'anomenat component dielèctric). En aquest cas el corrent és un corrent de desplaçament, degut a la reorientació dels dipols a banda i banda de les membranes cel·lulars, que són aïllants, el que fa que la oposició al pas d'aquest corrent, depengui de la freqüència del corrent elèctric. [10]

Al variar amb la freqüència, es produeixen diferents efectes segons aquesta. Si operem a freqüències baixes, el corrent flueix pel medi extracel·lular amb un valor d'impedància màxim. Però a freqüències altes, el corrent travessa la membrana cel·lular i flueix també pel medi intracel·lular, trobant una reactància mínima.

Si podem veure el cos humà com un material elèctricament passiu per on flueix el corrent, significa que podem aplicar models ja coneguts a ell. Així doncs, podem veure la membrana cel·lular com un circuit elèctric i els seus equivalents en sèrie o paral·lel mitjançant la llei d'ohm. Podem veure el model d'una cèl·lula de la següent manera:

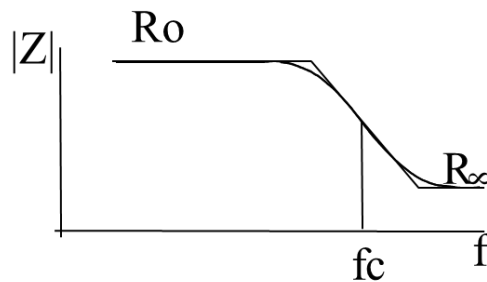


Il·lustració 2: Representació del model elèctric d'una cèl·lula.

Com podem veure, una cèl·lula humana la podem veure com un conjunt de resistències amb paral·lel amb condensadors, provocats per aquest dielèctric que forma la membrana cel·lular. Si simplifiquem més el model, aplicant que la conductància de la membrana és insignificant, podem negligir la resistència de la membrana, quedant així només la resistència extracel·lular i la resistència intracel·lular amb el seu condensador equivalent.

Amb aquest model, mesurant la diferència de tensió si proporcionem una corrent coneguda a una freqüència concreta podem mesurar la impedància aplicant la llei d'ohm. Profunditzant en el model, podem arribar a dos conclusions. A freqüències baixes, el

capacitador de la membrana impedeix que flueixi una intensitat, i esdevenen a una impedància de valor la RE. A freqüències altes el corrent circula per les dos branques del circuit simplificat, on el condensador esdevindrà en circuit obert provocant que el valor a mesura sigui l'equivalent a RE en paral·lel a RI i observant que a freqüències altes, el valor de la bioimpedància disminueix. La relació entre la impedància entre baixes i altes freqüències depèn de la densitat cel·lular del teixit i la posició de la freqüència a la que es produeix la baixada, de la mida de les cèl·lules.



Il·lustració 1: Diagrama de Bode d'un model RC.

Això permet identificar la composició de canvis en els medis intra i extracel·lulars. Com que són diferents en els diferents teixits i també entre teixits depenent de si pateixen una patologia o no, es poden desenvolupar diverses eines diagnòstiques associades als canvis que es poden detectar (composició corporal, hidratació, trencament de membranes, formació de tumors, etc.) També canvis deguts al moviment de fluids o canvis de dimensions (ventilació, ritme cardíac, perfusió dels teixits). [3,4,5]

2.3. Mesures en cultius cel·lulars

Els científics han desenvolupat metodologies per aïllar cèl·lules i obtenir poblacions cel·lulars homogènies, que després poden ser fins i tot mantingudes i multiplicades *in vitro*. Els cultius cel·lulars són essencials en la investigació científica, ja que permeten estudiar els processos que ocorren a les cèl·lules, i en diverses aplicacions de la biotecnologia, com ara la producció de molècules d'interès industrial, enginyeria de teixits, etc. [7]

2.3.1. Com es cultiven les cèl·lules?

La majoria de les cèl·lules animals i vegetals aïllades poden viure, multiplicar-se, i fins i tot presentar certes propietats diferencials, si se les cultiva en plaques de plàstic i amb medis de cultiu adequats. Així, les cèl·lules poden ser observades contínuament sota el microscopi o analitzades bioquímicament, per estudiar els efectes de l'agregació o remoció de molècules específiques, com ara hormones o factors de creixement. A més, es poden estudiar les interaccions entre cèl·lules, cultivant a la mateixa placa més d'un tipus cel·lular. Quan els experiments es realitzen amb cultius cel·lulars, se'ls anomena assaigs "in vitro" ("en vidre"), per diferenciar-los dels que es porten a terme en organismes complets, o experiments "in vivo" ("en organisme vivent").

Els cultius s'estableixen principalment a partir de suspensions cel·lulars generades per disgregació de teixits. A diferència dels bacteris, la majoria de les cèl·lules que formen part de teixits no poden viure en suspensió, i requereixen una superfície sòlida per créixer i multiplicar-se. Aquest suport generalment és la base d'una placa o flascó de plàstic, encara

que de vegades els requisits són més complexos i el plàstic ha de recobrir-se abans amb components de la matriu extracel·lular (substància que envolta i conté les cèl·lules en els teixits, i amb la qual interactuen), com per exemple el col·lagen.[7]

2.3.2. Biologia de les cèl·lules de cultiu

En establir un cultiu cel·lular se seleccionen les cèl·lules que creixen en funció de nombrosos criteris: només formaran part del cultiu aquelles cèl·lules que siguin capaços de superar el procés de disgregació, d'adherir-se al substrat i de proliferar ja sigui en forma de monocapa o en suspensió.

El creixement en monocapa significa que les cèl·lules s'adheriran al substrat i en aquesta forma inicien la proliferació. Moltes línies cel·lulars són "ancoratge-dependents", és a dir, no comencen la proliferació fins que no s'han adherit al substrat. Aquest és la manera normal de proliferació de la major part de les cèl·lules. El creixement en suspensió és propi d'aquelles cèl·lules capaces de proliferar sense necessitat d'adherir-se al substrat perquè són independents de l'ancoratge. És propi de les cèl·lules procedents de tumors. Cal destacar que en tot teixit hi ha una petita part que és capaç de créixer en suspensió, però la qual no agafa rellevància en la majoria de cultius.

En assolir la cobertura total o parcial, és quan moltes línies cel·lulars expressen els seus aspectes més característics. És en aquest estat quan la seva morfologia i fisiologia són més semblants al seu estat original. És també el moment en què s'atura el creixement i es realitza l'estudi o l'aplicació pel qual ha sigut realitzat.[8]

2.3.3. Aplicacions i avantatges

Existeixen diferents tipus d'aplicacions que demostren el gran recurs que suposa utilitzar cultius de cèl·lules. La gran majoria en l'àmbit sanitari científic, tot i tenir més aplicacions: [9]

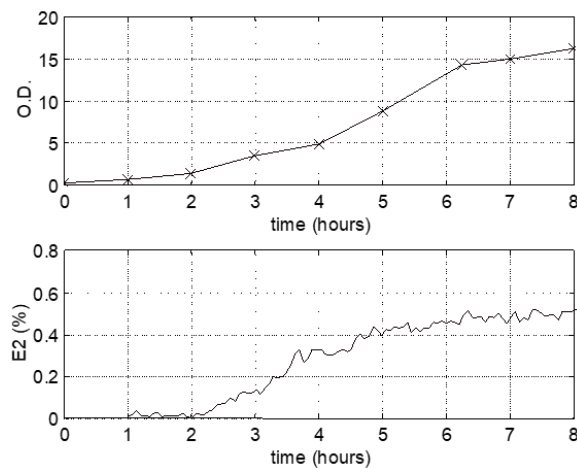
- Activitat intracel·lular: transcripció de DNA, síntesi de proteïnes, metabolisme energètic, cicle cel·lular, diferenciació, etc.
- Flux intracel·lular de biomolècules: processament de l'ARN, el moviment de l'ARN des del nucli cap al citoplasma, el moviment de les proteïnes cap a diversos orgànuls, l'assemblatge i el desassemblatge dels microtúbuls, etc.
- Genòmica i proteòmica: anàlisi genètica, infecció, transformació cel·lular, immortalitzament senescència, expressió gènica, rutes metabòliques, etc
- Virologia: Cultiu de virus animals i de plantes, producció de vacunes, etc.
- Biotecnologia: producció industrial de fàrmacs en bioreactors (interferó, insulina, hormona de creixement, etc.

Aquest mètode s'utilitza ja que proporciona unes certes avantatges:

- Permeten un control precís i fi del medi ambient
- Caracterització i homogeneïtat de la mostra
- Econòmica, al poder reproduir un model amb subcultius de forma continua, a més de utilitzar diferents concentracions de forma mínima
- Ètica. La investigació biomèdica suposa el sacrifici cada any de molts milers d'animals d'experimentació. El cultiu cel·lular no pot reemplaçar sempre l'assaig 'in vivo' però és una alternativa vàlida en moltes situacions

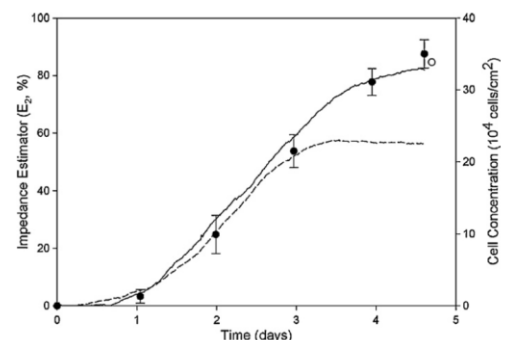
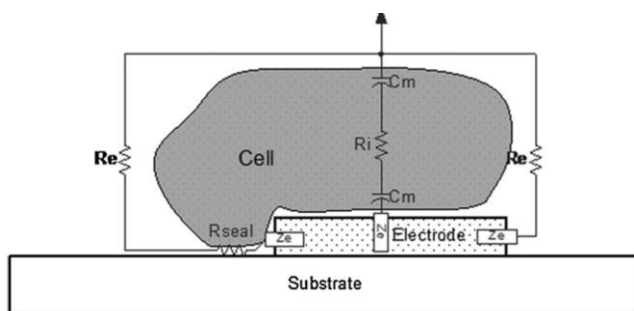
2.3.4. Aplicació de l'espectroscòpia d'impedància elèctrica a la caracterització de cultius cel·lulars

Un cultiu cel·lular pot ser interpretat com un teixit amb una baixa concentració de cèl·lules. En el cas de les suspensions, la EIS permet mesurar la concentració cel·lular de forma no destructiva i estalviant el recompte i manipulacions necessaris amb els mètodes clàssics:



Il·lustració 2: Mesura de creixement d'un cultiu d'E.Coli mitjançant mesura de densitat òptica de mostres (dalt) i d'EIS (baix) [6]

Pel que fa al cultiu de cèl·lules en monocapa, si es posen elèctrodes al fons de la placa de cultiu, es pot monitoritzar el creixement degut al bloqueig del corrent que fan les membranes de les cèl·lules que creixen a sobre dels elèctrodes.



Il·lustració 3: Mesura de creixement 'in vitro' en monocapa d'un cultiu de cèl·lules animals (Vero Cells). A l'esquerra, circuit elèctric equivalent de la cèl·lula sobre un elèctrode. A la dreta, creixement estimat utilitzant EIS comparat amb recompte manual [6]

3. Mesures amb la placa d'avaluació

Les plaques d'avaluació estan pensades per ajudar en l'avaluació d'alguns components o d'alguna funció en concret de forma ràpida i especialitzada. Són bàsicament dissenys fixos que s'han examinat i s'utilitzen per demostrar la funcionalitat, la capacitat i/o l'aplicació per al desplegament en un sistema més gran. Aquestes plaques contenen normalment i com a mínim un semiconductor complex, com ara un sensor, un processador, una unitat de microprocessador. A més del component principal, hi pot haver diversos tipus de connectors d'entrada i sortida comuns, memòria, pantalles gràfiques, una placa integrada

i/o incloent una font d'alimentació. Acostumen a tenir diversos jumpers i selectors per poder canviar la configuració de mesura o d'ús i també circuits de test, el que augmenta la complexitat i mida de la placa.

3.1. Placa EVAL-AD5940BIOZ d'Analog Devices

La placa d'avaluació que utilitzem prèviament per fer els tests és d'Analog Devices. És una multinacional estatunidenca productora de dispositius semiconductors, una de les líders del sector de la electrònica professional. Dintre de les seves especialitats es troben els amplificadors, comparadors, els convertidors ADC/DAC, circuits per fibra òptica, les MEMS (microelectromechanical systems), sensors o microprocessadors. Acostumen a proporcionar plaques d'avaluació dels components actius per tal de permetre provar els seus productes abans d'incorporar-los als dissenys. Un ús secundari d'aquestes plaques d'avaluació és la realització de prototipus o el seu ús en educació.

3.2. SOC System

Un System-on-Chip (SOC), sistema en un xip, es defineix com un sistema on convergeixen una quantitat de components i sub-sistemes diferents, que normalment es troben per separat, cadascun amb una funció determinada que proporcionen una funcionalitat combinada. En altres paraules, la definició de SoC podríem tenir-la com un xip integrat per múltiples components que, en conjunt, conformen un sistema complet.

Òbviament, les característiques i els components interns poden ser diferents d'un model a un altre, ja que no és el mateix un SoC orientat a potenciar un terminal mòbil que un que estigui dissenyat per calcular bioimpedància com en aquest cas. Dintre de els avantatges principals d'utilitzar aquesta tecnologia es reduir al màxim l'espai que ocupen tots els components i millor l'eficiència, ja que a l'estar tot distribuït en un sol sistema, es redueix el consum normalment.

El dissenys inicials dels sistemes de mesura de bioimpedància consistien en un circuit complex determinat. Aquests dissenys inclouen reguladors de voltatge, generadors de senyal, desmoduladors, amplificadors diferencials, convertidors A/D i d'altres. Ja que l'interès per aquest tipus de mesura ha crescut, juntament amb noves aplicacions de la BIA i l'EIS, s'han dissenyat xips específics per simplificar l'estructura interna dels mesurador de bioimpedància i explotar aquest àmbit. En aquest moment hi ha, com a mínim, 5 SOCs orientats a la mesura de bioimpedància al mercat, dels fabricants Texas Instruments, Analog Devices i Maxim. En un TFG anterior, de Pau Sendra, es van comparar utilitzant targetes d'avaluació i es va arribar a la conclusió de que el AD5940/5941 era la millor elecció. [11]

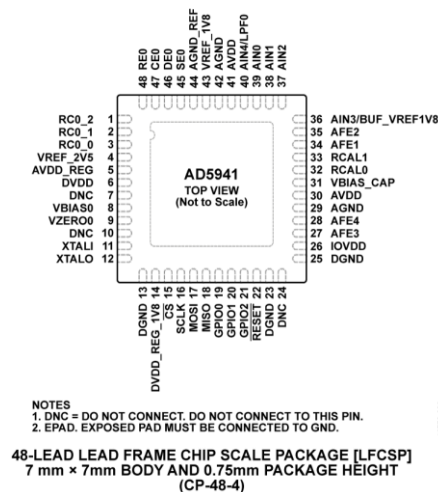
3.2.1. AD5940 i AD5941

Els AD5940 i l'AD5941 són microxips del tipus frontals analògics (AFE) que compten amb una alta precisió i baix consum. Està pensat perquè s'utilitzi en aplicacions portàtils que demani tècniques de mesura d'EIS per aplicacions biomèdiques o electroquímiques. Els exemples més utilitzats serien mesures amperimètriques, voltamètriques o d'impedància en general. Dintre de les principals funcions, proposades pel fabricant, que podem fer servir amb el AD5940/AD5941 són agafar mesures d'impedància de la pell o d'impedància corporal i la detecció de gasos amb sensors electroquímics.

Pel correcte funcionament del xip aquest s'alimenta de 2,8 V a 3,6 V i actua en un rang de temperatures de -40 °C a +85 °C. L'AD5940/AD5941 disposa de 2 circuits d'excitació d'alta precisió a més d'un canal de mesura comú, el que amplia la capacitat de mesura del sensor. El primer circuit d'excitació és un convertidor digital-analògic (DAC) de doble sortida i baix corrent, i un potenciòstat també de baixa potència i baix soroll. Una de les sortides del DAC controla l'entrada no inversora del potenciòstat, i l'altra sortida controla l'entrada no inversora de l'amplificador de transimpedància (TIA). Amb aquest circuit d'excitació de baixa potència, es generen senyals del tipus CC a 200Hz, fonamentalment per a aplicacions electroquímiques. El segon laç d'excitació consisteix en un DAC de 12 bits, denominat DAC d'alta velocitat. El DAC arriba a crear senyals d'excitació d'alta freqüència fins a 200 kHz, adequades per a aplicacions de bioimpedància.

L'AD5940/AD5941 disposa d'un canal de mesura amb un convertidor analògic-digital (ADC) d'aproximacions successives (SAR) multicanal de 16 bits i 800 kSPS amb buffers d'entrada, i un filtre antialiàsing incorporat a més d'un amplificador de guany programable. També incorpora un multiplexor d'entrada (MUX) davant de l'ADC amb el qual pots escollir un canal d'entrada per a les mesures. Aquests canals d'entrada inclouen múltiples entrades de corrent externs, entrades de voltatge externes i canals interns. Els canals interns permeten realitzar mesures de diagnòstic dels voltatges de referència interns i temperatura interna.

El microxip conté dos punts de referència d'1,82 V i 2,5 V de precisió. S'utilitza en les circuits interns ADC i DAC per a assegurar un mesures amb baixes derives per als perifèrics d'1,82 V i 2,5 V.

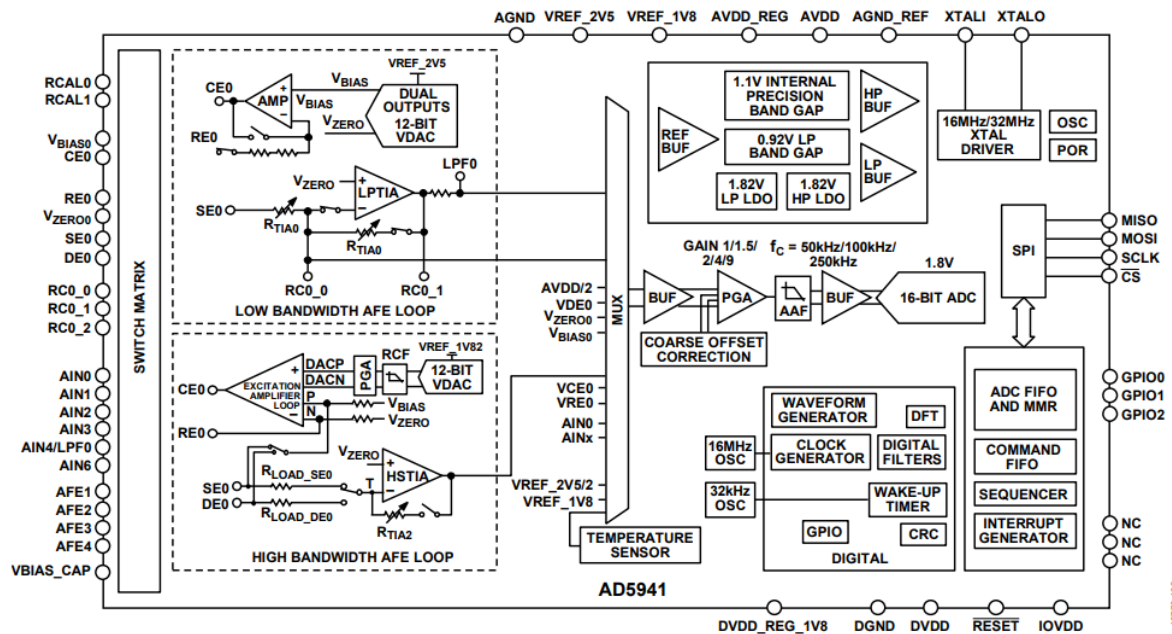


Il·lustració 4: Diagrama de Pins del microxip AD5941.

Els blocs de mesura AD5940/AD5941 es poden controlar directament per registres a través de la interfície perifèrica serie usant un seqüenciador preprogramable, que dirigeix el control del xip AFE. Disposem de 6 kB de memòria estàtica d'accés aleatori (SRAM) per a una cua de dades i ordres FIFO. Les ordres de mesura s'emmagatzemen a FIFO així com els resultats de mesura, per evitar que aquesta col·lapsi, existeixen una sèrie d'interrupcions relacionades amb FIFO que indiquen que la cua està plena

Pel que fa a les entrades i sortides es governen mitjançant el seqüenciador AFE dit anteriorment el qual permet gestionar els cicles dels sensors externs que tinguem connectats.

Finalment, l'única diferència que trobem entre el AD5940 i el AD5941 és l'encapsulat. Mentre que l'encapsulat del AD5940 utilitza la tipologia WLCSP, la qual és un procés en què els components de l'empaquetament es connecten al circuit integrat abans de tallar els xips a l'oblia en què es fabrica el circuit integrat i deixa els pins (56) a la part inferior (punts de soldadura BGA), el AD5941 utilitza un empaquetat LFCSP el qual segueix el mateix mètode deixant els pins (48) a la perifèria del xip però a sota de l'encapsulat.[12]



Il·lustració 5: Diagrama de blocs funcionals de l'AD5941.

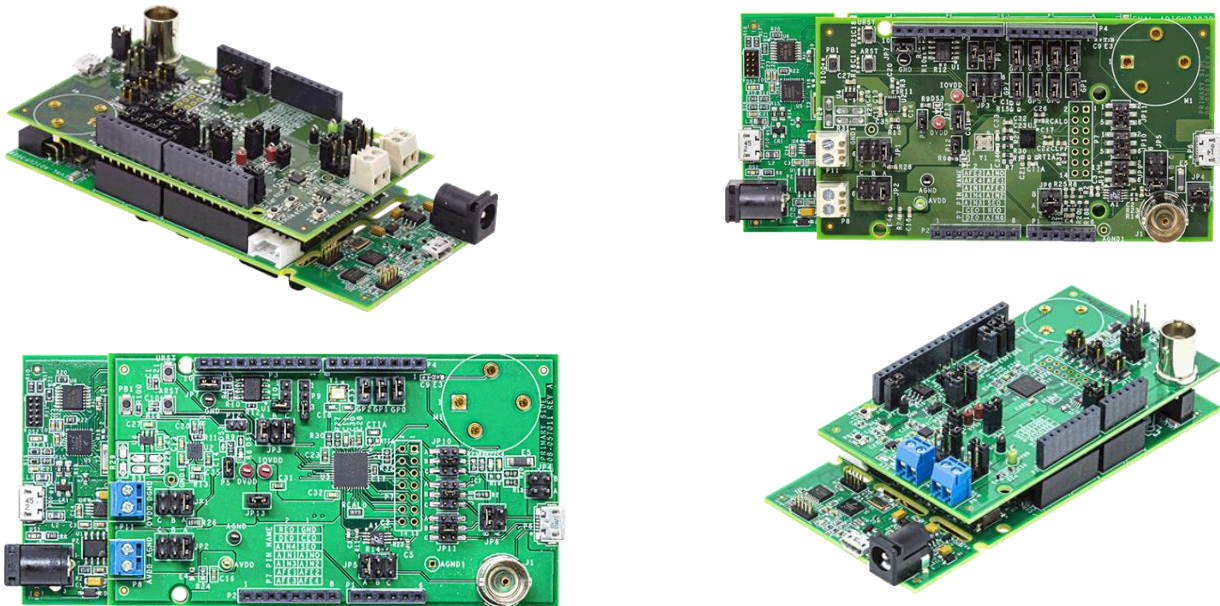
3.2.2. Les plaques AD5940 Bioimpedance i AD5941 Electrochemical

Com hem descrit abans per realitzar aquest treball hem utilitzat la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ d'Analog Devices. Com descriuen ells a la descripció del seu producte aquesta ha sigut expressament dissenyada per aplicacions relacionades a la "Body Impedance Analysis (BIA) i Electrodermal Activity (EDA)". Aquest kit inclou una placa de control EVAL-ADICUP3029 Arm® Cortex™-M3, que inclou un microcontrolador disposat en un a placa amb format Arduino Uno R3 però que no es programa amb les eines i el llenguatge pseudo-C d'Arduino sinó amb una eina pròpia d'Analog Devices. La placa EVAL-AD5940 conté l'AD5940 per bioimpedància i l'AD8233 per ECG (electrocardiogrames) que es connecten al cos mitjançant un cable específic i es configura mitjançant el seu programa propi.

En canvi, el EVAL-AD5941ELEC està dissenyada específicament per a l'anàlisi d'alta precisió de cel·les electroquímiques. El kit d'avaluació inclou de la mateixa forma la placa EVAL-ADICUP3029 amb el microcontrolador Arm Cortex-M3 i cables micro USB a cocodrils personalitzats per connectar el maquinari a diverses configuracions d'elèctrodes per a mesures electroquímiques De la mateixa forma utilitzen el mateix programa propi.

Així doncs, podem veure que les dos comparteixen de base un Arduino Uno, la placa EVAL-ADICUP3029 Arm Cortex, els cables USB i el programari que empren. El principal canvi és la placa avaluadora, connectada en Sandwich a la placa controladora. Cadascuna utilitza la seva corresponent juntament amb la diferenciació del microxip que utilitzen

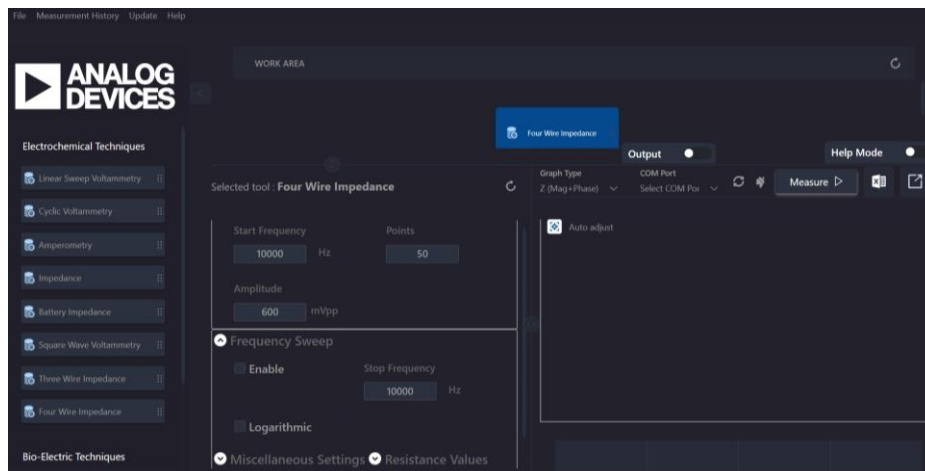
independentment. De forma autoexplicativa la placa EVAL-AD5940 inclou el microxip AD5940 i la placa EVAL-AD5941 inclou el microxip AD5941. [12,13]



Il·lustració 6: Vista frontal i lateral de les plaques d'avaluació AD5940 Bioimpedance i AD5941 Electrochemical

3.2.3. Software de desenvolupament : Analog Device SensorPal

Aquest programa ve disponible conjuntament i de forma gratuïta amb la EVAL-AD5940BIOZ d'Analog Device proporcionant una interfície amb diferents modes d'ús que disposa la placa sent connectada via USB tipus B. En el nostre cas s'ha utilitzat principalment amb la configuració de "Four Wire Impedance" que podem veure en la següent imatge. Aquest mode es pot fer servir bàsicament de dues maneres, en "Single Frequency" i "Frequency Sweep". En el primer realitzem una mesura a una freqüència concreta durant X punts, mostrant una gràfica d'aquests punts. I en el segon un escombrat de freqüència on podem escollir l'inici i el final més els punts i si volem l'escala logarítmica. També tenim altres opcions com la finestra a emprar. Aquest software està molt limitat pel que fa a fer mesures en temps prolongat i guardar-les.



Il·lustració 7: Pàgina inicial del programari Analog Device Sensor Pal

3.3. Mesures preliminars

En aquest apartat es desglossarà els punts necessaris per fer proves de mesura amb la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ com també les mesures de comprovació realitzades. Totes les mesures es realitzen amb el mètode de 4 fils al tenir més exactitud.

3.3.1. Mesures de resistències

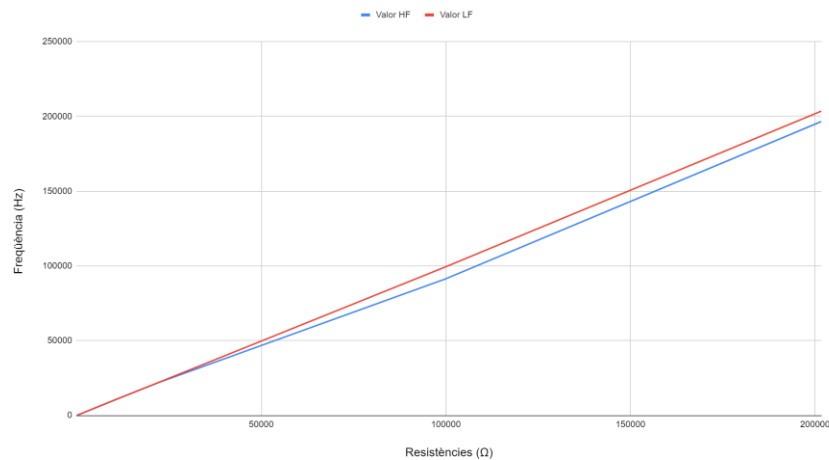
Aquesta comprovació té diversos propòsits. El primer es saber fins quin rang de freqüència realment opera bé la placa d'avaluació i quina desviació proporciona aquesta segons la freqüència la qual a la qual s'està avaluant. Em vist en un dels punts anteriors que aquest valor d'impedància depèn del valor freqüencial, així que avaluarem aquest comportament. Tenint en compte el punt anterior també podem veure si es comporta millor realitzem mesures en "High Frequency" o "Low Frequency. Finalment també podem veure el rang de linealitat del dispositiu segons una freqüència intermèdia de 10kHz.

En primer lloc veurem quin és el rang de freqüència el qual opera. S'ha mesurat un conjunt de resistències de pel·lícula de carbó que s'han mesurat a 4 fils amb un multímetre Keysight 34465A.

Resistència Nominal (Ω)	Resistència mesurada per multímetre (Ω)	Valor que detecta HF (Ω)	Valor que detecta a LF (Ω)	Fase a HF ($^\circ$)	Fase a LF ($^\circ$)	LF (Hz)	HF (Hz)	Valor que detecta a IF (Ω)
1	1,07	2,5	70	-2,6	-10,0	100	200000	0,8
10	10,1	10,99	62	28,0	-13,0	100	160000	10,0
100	102,4	105,2	102,5	10,0	0,5	500	80000	102,5
220	222,9	232,7	214,2	8,0	0,3	200	70000	221,6
1000	1002,8	1009,7	1010,5	2,8	0,8	120	20000	1003,0
6200	6164,8	6137,4	6177,1	-2,3	-0,2	300	35000	6154,2
10000	9945,7	9929,4	10002,7	-3,5	-0,2	200	18000	9947,8
22000	21550,0	21787,1	21855,6	-6,5	-0,2	200	8000	21570,0
100000	99327,4	91260,2	99295,4	-8,03	-1,7	500	2500	99297,4
200000	201793,0	196597,6	203534,4	-13,0	-3,4	500	2000	201704,6

Taula 1: Resultats obtinguts de la mesura de resistències amb la placa EVAL-AD5940BIOZ

Valor detectat a HF i LF respecte varies Impedàncies

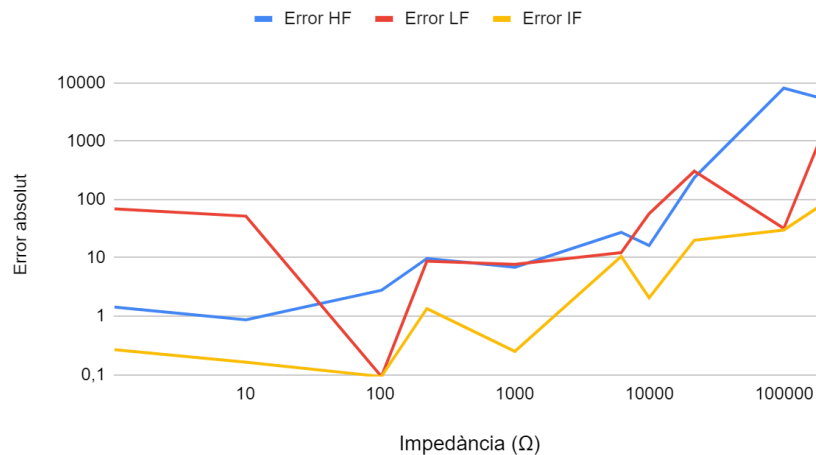


Com podem veure en la gràfica anterior, la placa d'avaluació té un comportament molt lineal a durant tot el espectre de freqüències. Tot i això, si ens centrem en les dades de la taula podem veure que aquesta mesura no és perfecte en aquests extrems del rang, havent-hi en alguns casos molt error en la mesura sobretot en resistències de valor molt petit en LF o en resistències de valor molt alt en HF. També si ens fixem en la fase, aquesta hauria de tenir un valor de 0 al tractar-se d'un component passiu, però veiem que a HF quan més alta és el valor de la resistència més gran és el efecte capacitiu produït pels cables i la placa que alteren la mesura. En una freqüència intermèdia els resultats són molt semblants al seu valor mesurat per multímetre. Finalment comentar que les freqüències LF i HF es van modificant ja que segons l'impedància aquestes retornen un valor aberrant, i s'han utilitzat per limitar el rang de mesura.

Resistència Nominal (Ω)	Error HF	Error LF	Error IF
1	-1,432	-68,932	0,268
10	-0,87	-51,88	0,164
100	-2,793	-0,093	-0,093
220	-9,75	8,75	1,35
1000	-6,93	-7,73	-0,25
6200	27,42	-12,27	10,62
10000	16,29	-56,97	-2,08
22000	-237,09	-305,6	-20,01
100000	8067,24	32	30
200000	5195,4	-1741,4	88,4

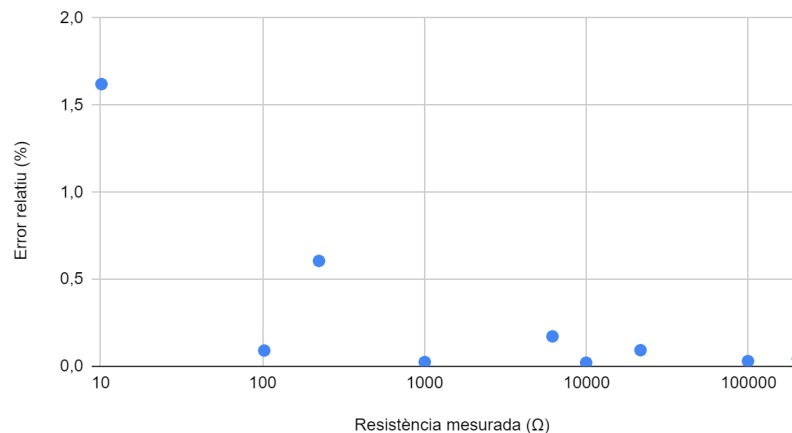
Taula 2: Errors en Alta, Baixa i Intermèdia freqüència

Error HF, Error LF i Error IF respecte el real



En quant el error que es produeix segons el rang, podem deduir com havíem vist abans que en valors petits apareix més error en LF que en HF, i que en valors més grans hi ha més error en freqüències altes, pels mateixos efectes comentats anteriorment. El límit raonable seria a partir de 100 Ω per baixa freqüència i fins a 10k Ω a totes les freqüències, tenint en compte que part de l'error serà calibrable.

Error relatiu a FI



Finalment recalcar que en una freqüència intermèdia, de 10k Hz com hem dit abans, la placa ofereix un bon rendiment i el resultat esperable fent bones mesures tal com mostra l'error relatiu.

3.3.2. Mesures experimentals

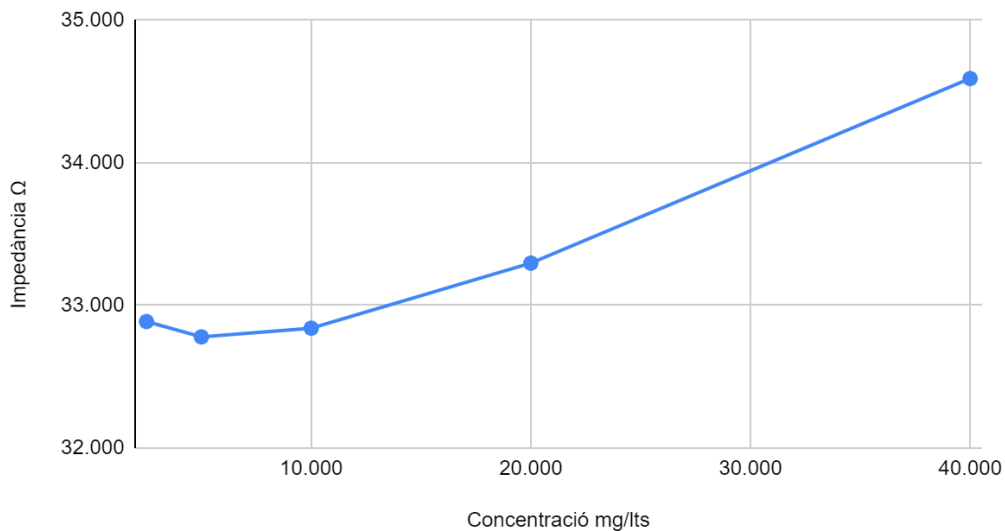
Com a mesura experimental preliminar hem simulat un creixement de cèl·lules mitjançant dilucions successives d'una suspensió de llevat (*Sacharomyces Cerevisiae*). Per simular això, s'ha realitzat l'experiment en un recipient d'aigua de 100 ml amb conductivitat de 8 mS/cm a temperatura ambient de 25 graus, amb una concentració de llevat de 80 grams/litre. S'han realitzat mesures d'escombrat de freqüència a aquesta concentració, i a les següents aplicant aquest procediment: Agafàvem el recipient, i trèiem la meitat de contingut, per seguidament posar un altre cop la mateixa quantitat només aquest cop d'aigua. D'aquesta forma anàvem reduint la concentració de a la meitat de l'anterior, simulant un creixement invers.

Adjuntarem la mesura de la primera i última mostra:

Concentració de 80mg/lts				Concentració de 5mg/lts			
Freqüència (Hz)	Impedància (Ω)	Freqüència (Hz)	Fase (graus)	Freqüència (Hz)	Impedància (Ω)	Freqüència (Hz)	Fase (graus)
1000	36.06	1000	-1.98	1000	34.14	1000.000	-2.01
23112	34.60	23112	0.48	23112	32.88	23111.111	0.56
45223	34.59	45223	1.19	45223	32.89	45222.223	1.27
67334	34.68	67334	1.98	67334	32.94	67333.336	2.11
89445	34.63	89445	2.50	89445	32.90	89444.445	2.74
111556	34.64	111556	3.33	111556	32.91	111555.555	3.51
133667	34.64	133667	3.98	133667	32.90	133666.672	4.25
155778	34.72	155778	4.53	155778	32.99	155777.781	4.82
177889	34.64	177889	5.27	177889	32.99	177888.891	5.62
200000	35.95	200000	2.32	200000	42.87	200000.000	0.47

Taula 3: Resultats obtinguts amb un escombrat de freqüència en l'experiment

Impedància i Concentració a 23k Hz



Escollint una freqüència en concret intermèdia com podria ser 23k Hz podem veure que la impedància disminueix i que tenim un límit de detecció a partir de la quarta dilució.

La disposició de l'equipament per a l'experiment es pot veure a la figura següent:



Il·lustració 8: Muntatge de la realització del experiment amb la placa EVAL-AD5940BIOZ

4. Disseny del sistema ad-hoc

En aquest apartat s'aborda tot allò relacionat amb el disseny final, des de les decisions de disseny, la selecció de les empremtes (encapsulats dels xips i components) fins a l'emplaçament i el ruta d'aquests.

Aquesta placa s'ha realitzat amb l'objectiu de substituir la placa d'avaluació creada per Analog Device EVAL-AD5940BIOZ. Per aquest motiu el disseny de la PCB s'ha basat primerament en esquemàtic proporcionat pel seu datasheet, disseccionant les parts que eren necessàries per assolir els propòsits del projecte, el qual es basa en fer una mesura de bioimpedància. I finalment crear des de zero una placa PCB implementada segons el disseny de l'esquemàtic que pogués reemplaçar la placa d'avaluació. Per tal de reduir la seva mida, enlloc de fer una placa "motxilla" o shield per al format Arduino Uno, es tria un format més petit, com el d'Arduino Nano.

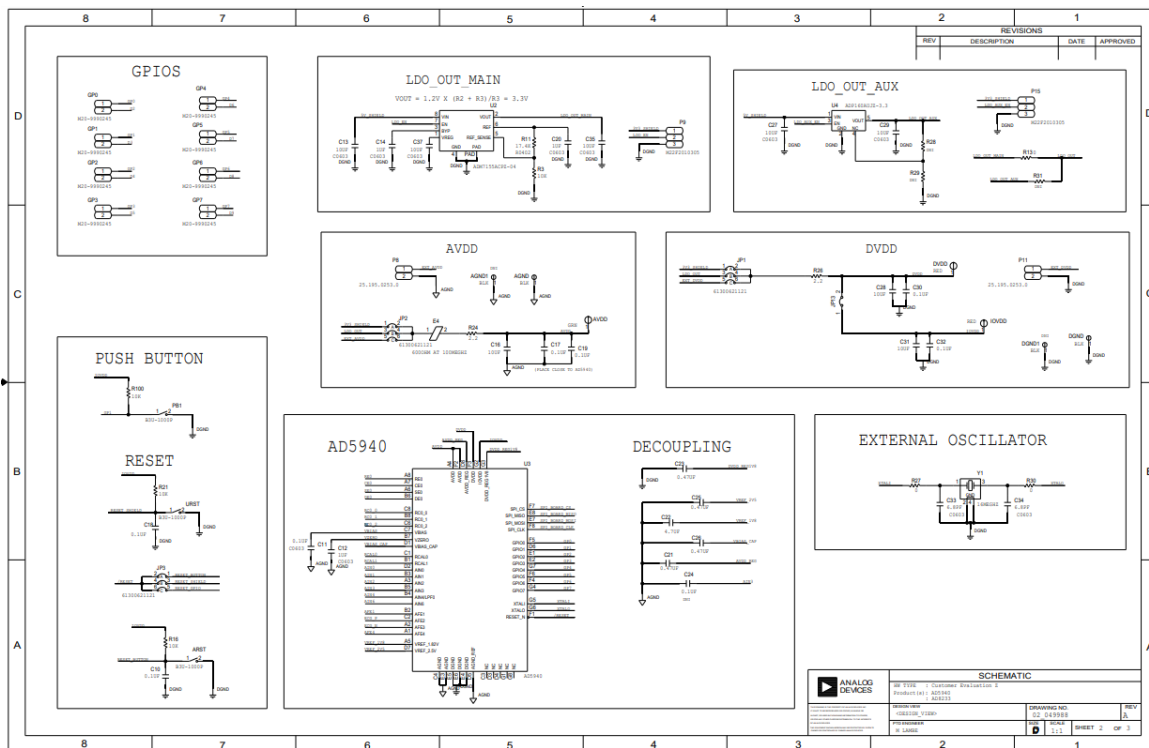
4.1. Esquemàtic original

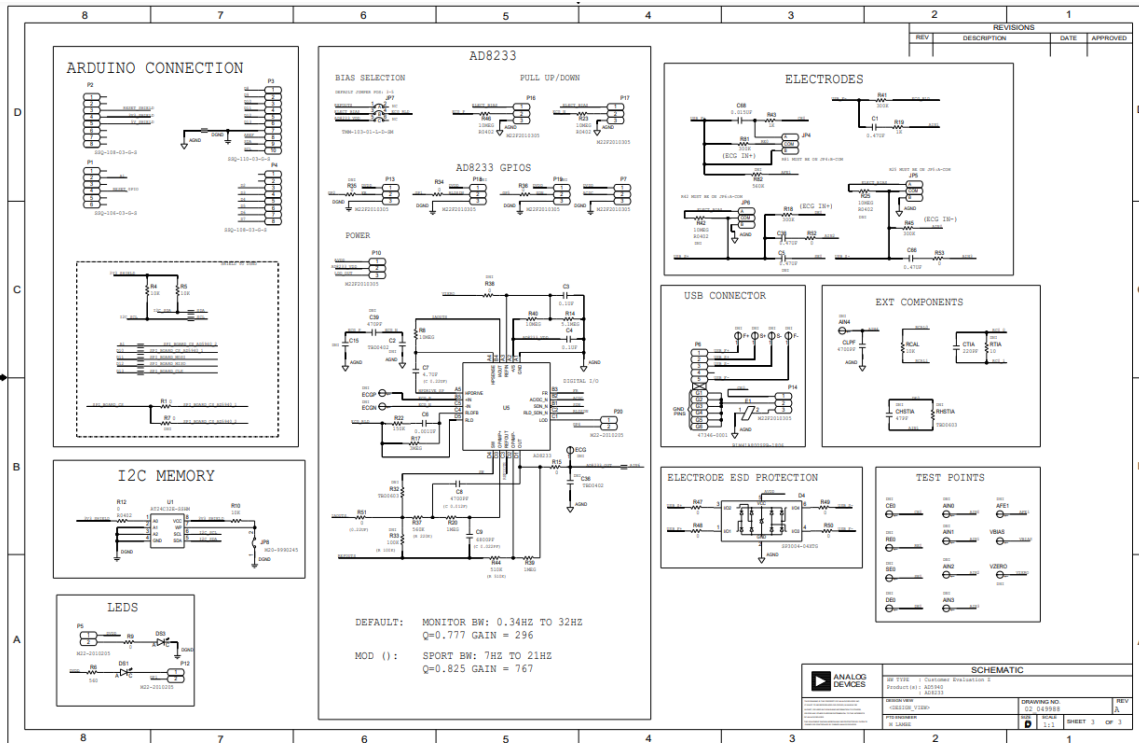
A la pàgina web del fabricant podem veure gratuïtament el datasheet on es representa l'esquemàtic de la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ i les seves especificacions: [12]

Desglossarem l'esquemàtic per parts, seguint l'ordre de la imatge i explicant el funcionament de cada mòdul:

- GPIOs: "General Purpose Input Output" són els pins d'entrada i sortida general de la placa.
- LDO_OUT_MAIN: L'acrònim "LDO" significa "low dropout" i fa referència al rang de voltatges d'entrada que aquest tipus de regulador pot utilitzar per produir una sortida estable. (En aquest cas, per provocar una sortida estable de 3,3 V.
- LDO_OUT_AUX: Mateix cas que l'anterior. Per alimentar possibles perifèrics.
- AVDD: Sortida analògica del voltatge.
- DVDD: Sortida digital del voltatge.

- AD5940: Microprocessador que governa la placa.
- Push Button: S'utilitza per reiniciar el sistema.
- Decoupling: Són els condensadors de desacoblament, per filtrar localment les alimentacions i evitar acoblaments no desitjats entre subsistemes per interferència conduïda.
- External Oscillator: L'oscil·lador de cristall, s'utilitza per a la generació de senyals de rellotge necessàries per a registrar les dades en circuits digitals, ja que proporciona una freqüència precisa.
- Arduino Connection: Les connexions necessàries per operar amb l'estàndard de connexions d'Arduino.
- AD8233: Mòdul del microxip per realitzar mesures d'electrocardiogrames.
- Electrodes: Connexió i circuits de protecció dels elèctrodes d'adquisició dels electrocardiogrames.
- USB Connector: Connexió per a la mesura a 4 elèctrodes de bioimpedància. Curiosament, a la placa d'avaluació, s'utilitza un connector micro-USB per a aquesta finalitat.
- I2C Memory: Xip de memòria per guardar configuracions
- Leds: Leds per veure la comunicació de la placa
- Electrode ESD Protection: Protecció contra descàrregues electrostàtiques de l'entrada dels elèctrodes.
- Test Point: Punts de referència de voltatge del circuit, per mesurar en cas de que fos necessari





Il·lustració 9: Esquemàtic de la placa EVAL-AD5940BIOZ

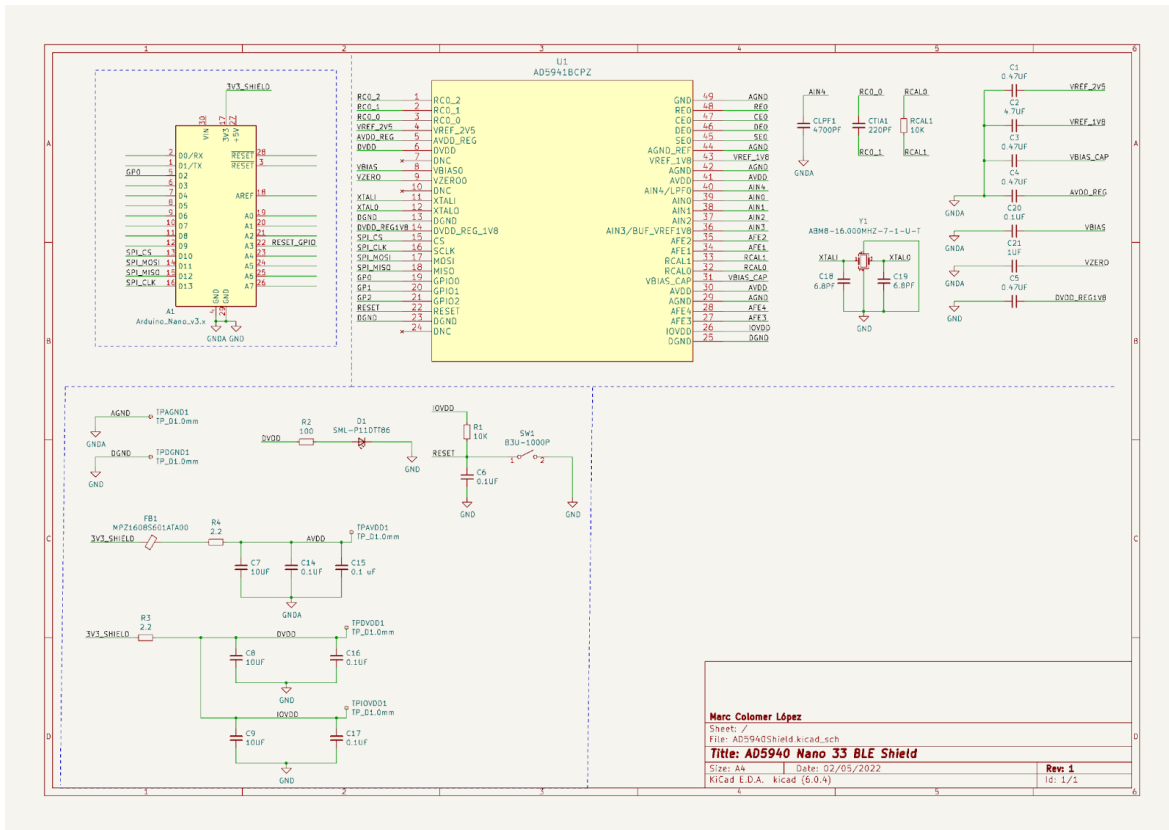
4.2. Esquemàtic propi

Per fer esquemàtic es va fer ús del software KiCad 6, d'ús gratuït i força estès en aquest àmbit. Mitjançant llibreries pròpies del programa i descarregables vam poder replicar l'esquemàtic definitiu que hem sintetitzat per realitzar la funció de bioimpedància solament a partir de l'esquemàtic anterior.

El primer pas que vam realitzar va ser triar les parts que eren necessàries per a realitzar la mesura de bioimpedància, eliminant els mòduls que no eren estrictament necessaris. Per tant, hem escollit quins eren els mòduls que requeríem perquè la nostra placa pogués fer aquestes mesures. En tot cas, les funcions de l'original i del simplificat són les mateixes. Ens estalviem alguns circuits de protecció, ja que la nova placa funcionarà completament aïllada mitjançant la comunicació Bluetooth i el bloc de mesura de senyals d'electrocardiograma i les seves proteccions associades. Tampoc no cal la memòria per guardar configuracions.

El conjunt mínim necessari per operar la placa necessita els següents mòduls:

- Xip AD5940
- Oscil·lador de cristall
- AVDD
- DVDD
- Decoupling
- Circuit de protecció ESD
- Push Point



II·lustració 10: Esquemàtic propi final

Amb els següents mòduls, ens assegurem el funcionament mínim necessari per assolir el nostre objectiu, reduint al màxim els components. Els quals passem de 65 a 27, sent l'Arduino i el microxip AD5940 els components principals.

Tot i això, alguns d'aquests mòduls es poden simplificar més, i evitar encara més components. Aquests són els mòduls d'AVDD i DVDD encarregats de fer arribar la tensió necessària als components. En el bloc original disposaven de jumpers, poder fer diferents configuracions, utilitzant l'Arduino o una altra font externa per a l'alimentació. Nosaltres ens quedarem amb la font d'Arduino així que ens estalviem aquests jumpers.

Finalment vam retirar el bloc de protecció de ESD ja que no era necessari afegir-lo al no ser el objectiu principal de la placa operar amb elèctrodes per mesura teixits, tot i que sigui capaç de realitzar mesures amb ells. Si s'hagués d'afegir però, seria un mòdul senzill.

Una altre decisió de disseny van ser les connexions externes. Aquesta té relació amb quin objectiu volem utilitzar la nostra placa. Originalment, la placa d'avaluació està dissenyada per operar amb el seu propi sistema operatiu via USB i fer mesures de tota mena, mitjançant un connector també USB. Així les entrades i sortides GPIOs tenen una relació conjunta, ja sigui amb el propòsit acadèmic via la placa que ens proporcionen, o per exemple mesurar una simple resistència. En el nostre cas, també necessitem l'entrada via USB via Arduino Nano, a l'alimentar el sistema i com a microprocessador (pot ser via bateria externa), però de sortida evitem utilitzar un connector USB per als elèctrodes. Així

doncs la nostra sortida bàsicament es basa simplement en pins, els quals pots connectar pads per fer millor les mesures, fent-ho així més versàtil.

Per acabar amb els últims retocs de la placa, vam decidir incorporar punts de Test Point com a la placa original, al no suposar cap molèstia i aportar informació addicional. Aquests punts són els de les tensions principals sent AVDD, IOVDD, DVDD o GND. De la mateixa forma es va decidir muntar un Led per veure la correcta connexió de les comunicacions.

Així doncs, els blocs finalment extrets del original, van ser :

- LDO_OUT_MAIN
- LDO_OUT_AUX
- AD8233
- USB Connector
- I2C Memory
- Electrode ESD Protection

Aquests blocs, gairebé en la seva majoria són necessaris per altres funcionalitats de la placa principal, configurables mitjançant software, que no són necessaris per assolir el nostre propòsit.

4.3. Arduino Nano 33 Ble

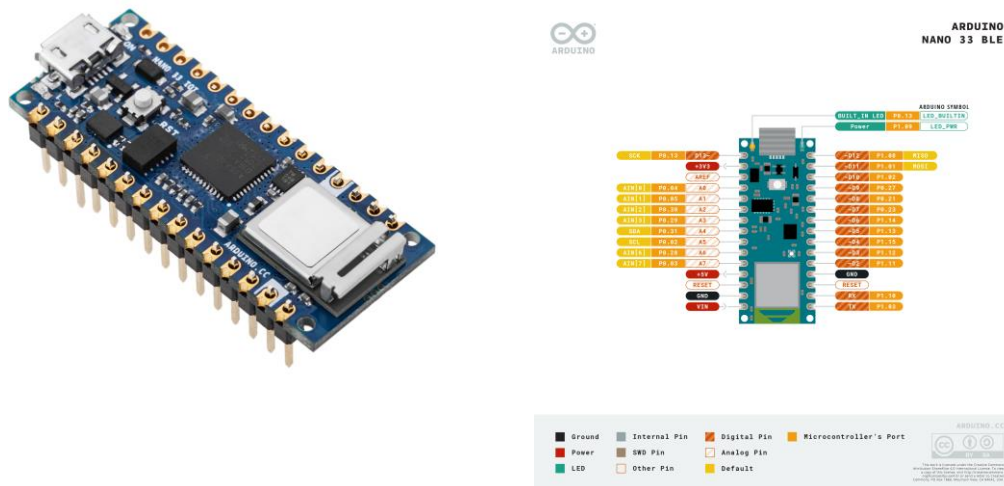
La placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ com hem vist abans aquesta composta per un microcontrolador i una placa evaluadora. Analog Devices inclou dintre la seva placa EVAL-ADICUP3029 Arm Cortex-M3, que utilitza la disposició de pins d'un Arduino Uno tot i que no és compatible a nivell de firmware.

Per acabar de completar el nostre disseny, de la mateixa forma necessitàvem aquest microcontrolador que governes el conjunt. En el nostre cas vam desestimar la opció del format Arduino Uno per dos motius principals, l'espai i la utilitat. L'Arduino Uno té unes dimensions de 53.4x 68.6mm, unes dimensions força grans respecte a un dels objectius que teníem, que era reduir el model d'adquisició de dades. En conseqüència, aquest espai extra que ofereix l'Arduino Uno es guanya per exemple en entrades/sortides analògiques o digitals o potencia bruta per processar dades. Sent conscients de la finalitat que tenim de mesurar bioimpedància i a l'haver tingut prèviament l'esquemàtic de la placa EVAL-AD5940BIOZ tant com el disseny propi de la nostra placa, no és necessari tenir tantes sortides o entrades, ni la capacitat per fer grans operacions de procés de dades.

Envers l'Arduino Uno R3, hi havia l'opció d'utilitzar el Arduino Nano 33. S'ha escollit aquesta placa per damunt de la Arduino Uno R3 al millorar els aspectes comentats en el paràgraf anterior i algun detall més. Aquest dispositiu té com a dimensions 45x18mm, el qual ens fa reduir la mida respecte a l'anterior gairebé 4 cops. Quant a especificacions, sense entrar en profunditat, aquest microcontrolador està dissenyat per assimilar el Arduino Uno, però en versió reduïda, rebaixant algunes dades tècniques com la memòria d'emmagatzematge flash (EEPROM). Porta un microcontrolador més potent i hi ha models amb enllaços Bluetooth i Wifi.

Tenint presents aquests aspectes, finalment es van tenir en compte dos altres aspectes. Al seguir el treball de l'Isaac Montsech, teníem la possibilitat de traspasar les dades via Bluetooth, per tant, si volíem seguir aquesta feina necessitàvem un mòdul Bluetooth el qual no inclou aquest model. Així doncs, finalment es va decidir utilitzar l'Arduino Nano 33 Ble, que es tracta del mateix model incloent mòduls Bluetooth i WIFI. L'últim detall a tractar

va ser el preu del microcontrolador, ja que un dels objectius era reduir costos, però tota la forquilla de dispositius esmentats, l'Arduino Nano 33, l'Arduino Nano 33 Ble i l'Arduino Uno estan dintre la mateixa forquilla de preus, depenen del distribuïdor. [14,15]



Il·lustració 11: Imatge física del Arduino Nano 33 Ble i diagrama de connexions

4.4. Placa PCB

En aquest apartat s'explica tot el que relaciona amb el disseny final de la PCB des de la tria de les empremtes dels components fins a l'emplaçament i la ruta d'aquests. El programa escollit per realitzar la PCB va ser el KiCad 6 conjuntament amb l'esquemàtic, ja que aquesta eina ens permet visualitzar les connexions prèvies a l'hora de fer el encaminament, a més de ser gratuït.

Cal comentar que un dels propòsits principals del projecte era fer la placa PCB amb el menor d'espai possible, i fer-la "modular" per encabir-la sobre un Arduino Nano lot 33, això significa que l'espai màxim de la placa és de 45 x 18 mm que és el que es va acabar imprimint utilitzant només les dues capes "TOP and BOTTOM" que permet l'ús d'una sola placa.

4.4.1. Empremses

Al tenir d'objectiu utilitzar el menor format possible es va decidir utilitzar components SMD del menor tamany possible en la mesura del possible. Havíem de tenir en compte també alhora els preus dels components i la disponibilitat d'aquest.

El circuit està dissenyat bàsicament amb resistències i condensadors. Aquests aglomeren el gran conjunt dels components, per realitzar més fàcilment el circuit aquests serien bipolars.

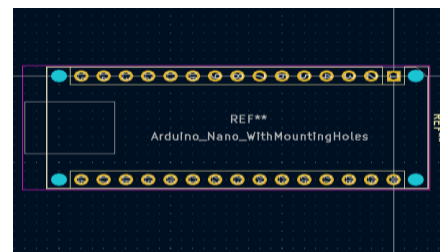
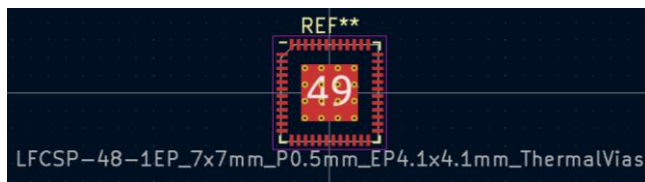
Les empremses ideals que es van escollir tenen les següents referències, sent el model predominant el primer per preu i disponibilitat:

- Resistències/Condensadors/Inductors: 0603_1608



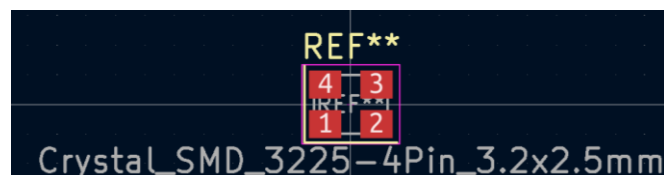
Il·lustració 12: empremta de la referència 0603_1608

- Arduino Nano i AD5940: L'Arduino Nano 33 Ble està disponible dintre de la llibreria lliure Arduino, i el microxip AD5940 està disponible dintre de la llibreria descarregable Package_CSP. En el cas del segon es va haver de modificar la empremta i afegir una capa de coure la "Top Bottom" per millorar la dissipació de calor.



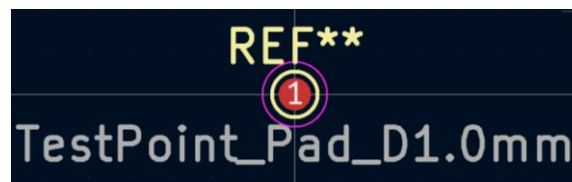
Il·lustració 13: empremta del microxip AD5941 i del Arduino Nano 33 Ble

- Cristall de freqüència: 3224_5 : Pel cristall de freqüència es va escollir una opció amb 4 pins que permeten el encaminat per vies i no per pads.



Il·lustració 14: empremta del cristall de freqüència amb referència 3224_5

- Pads: Pads de dimensions 1mm de diàmetre per mesurar punts estratègics del circuit com GND o AVDD i les sortides per agafar dades.



Il·lustració 15: empremta dels pads com a Test Point

4.4.2. Principis a seguir alhora d'encaminar

Aquí anomenarem un seguit de regles que s'han d'intentar seguir a l'hora d'encaminar una PCB i que vam intentar seguir a la mesura del possible: [16]

- Les pistes no estan unides per angles rectes, sinó angles de 135°
- Les pistes han de tenir un tamany adient amb el circuit que es vol fer, en aquest cas es va escollir una pista d'amplada 0,25mm. Al treballar amb voltatges màxims de 3,3V i no supera un corrent de 500 μ A la pista ho pot suportar sense problemes. Aquesta norma però és més necessària en circuits d'alts voltatges. ¹
- Utilitzar un recorregut mínim, ja que una longitud elevada comporta pèrdues d'energia, inserció de soroll i interferències.
- Omplir tota l'àrea sobrant de la placa amb terra
- Evitar en la mesura del possible el traspàs de capes

De totes aquestes regles, l'única que no vam seguir va ser la darrera, ja que comportava un increment del preu de la placa excessiu i no calia al tractar-se d'un petit element amb un únic GND comú.

4.4.3. Decisions de Emplaçament i Encaminament de la PCB

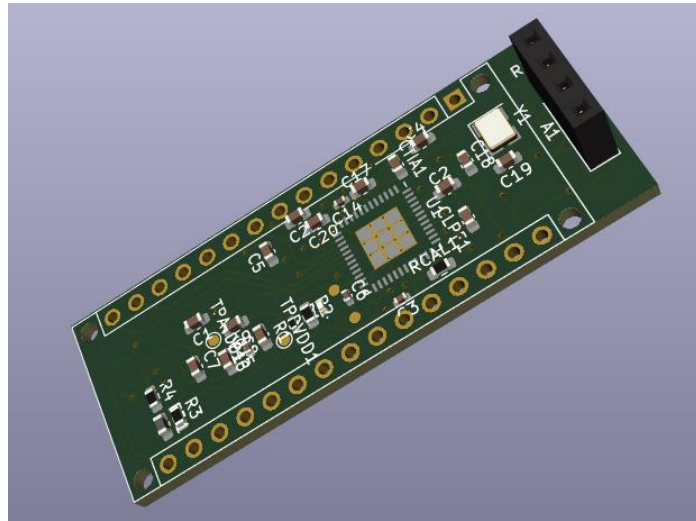
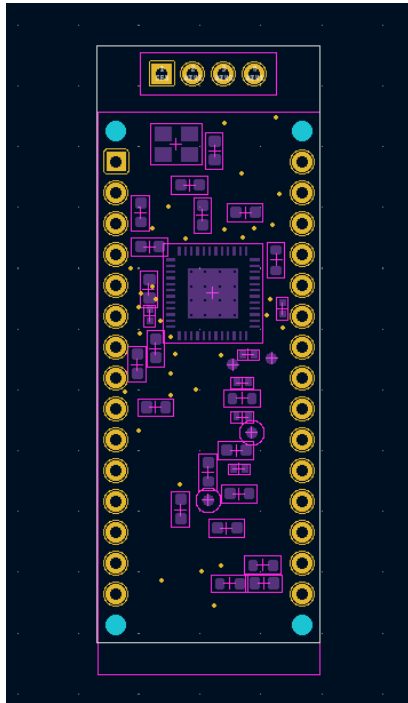
Primerament, es van emplaçar els components principals, que en aquest cas eren el microxip AD5941 i l'Arduino Nano lot 33. Realment aquesta última no calia utilitzar la empremta per la placa, ja que efectes pràctics no s'ha d'imprimir res referent a ella, però a l'utilitzar-la així tenim les dimensions totals de la placa i podem veure amb més claredat quines eren les posicions dels pins que utilitzem per encabir-la a sota de la placa.

El segon element que es va emplaçar va ser el component que per la seva funcionalitat implicaria una manipulació física per part de l'usuari (connectors GPIO, USB, connector d'alimentació). Aquest en certa manera venen predeterminat per la direcció de l'Arduino, així que la idea va ser utilitzar el fons sud de la placa per una connexió, en aquest cas USB i alimentació de l'Arduino i l'altra direcció pels connectors GPIO per agafar les dades del que mesurem en forma de pads. Per evitar que la font de dades tingues molt soroll i interferències es va intentar situar aquesta el més a prop possible del xip AD5940 i amb el menor recorregut possible. També es van col·locar quatre forats en cadascuna de les cantonades per poder ancorar l'Arduino a on és necessites.

A continuació, es van emplaçar els diferents components. Per tenir més ordre, es van distribuir els components per blocs, emplaçant primer les que requereixen de font el més a prop de l'entrada d'alimentació. De la mateixa manera es va col·locar els condensadors de desacoblament dels integrats el més a prop dels seus integrats corresponents tals com recomanen els fabricants en els seus datasheets. També l'oscil·lador de cristall. Al final, es van emplaçar els components passius restants, que són les resistències varies i un led distribuint-ho a la part inferior de la placa, conjuntament amb els altres condensadors d'alimentació.

¹ Ens hem ajudat del següent programa que et diu la pista mínima per una configuració donada: <http://circuitcalculator.com/wordpress/2006/01/31/pcb-trace-width-calculator/>

Finalment així va ser la distribució final:



Il·lustració 16: Disseny final de la placa PCB i visió 3D

Un cop instats els components es va procedir a encaminar-los. Per encaminar els senyals es va prestar especial atenció a les següents indicacions amb aquest ordre d'importància:

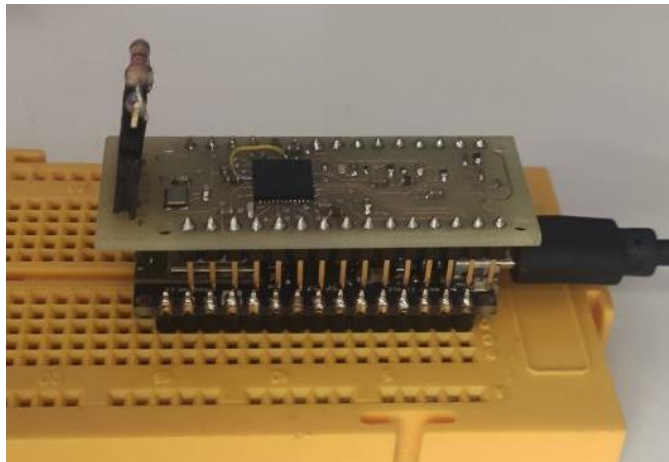
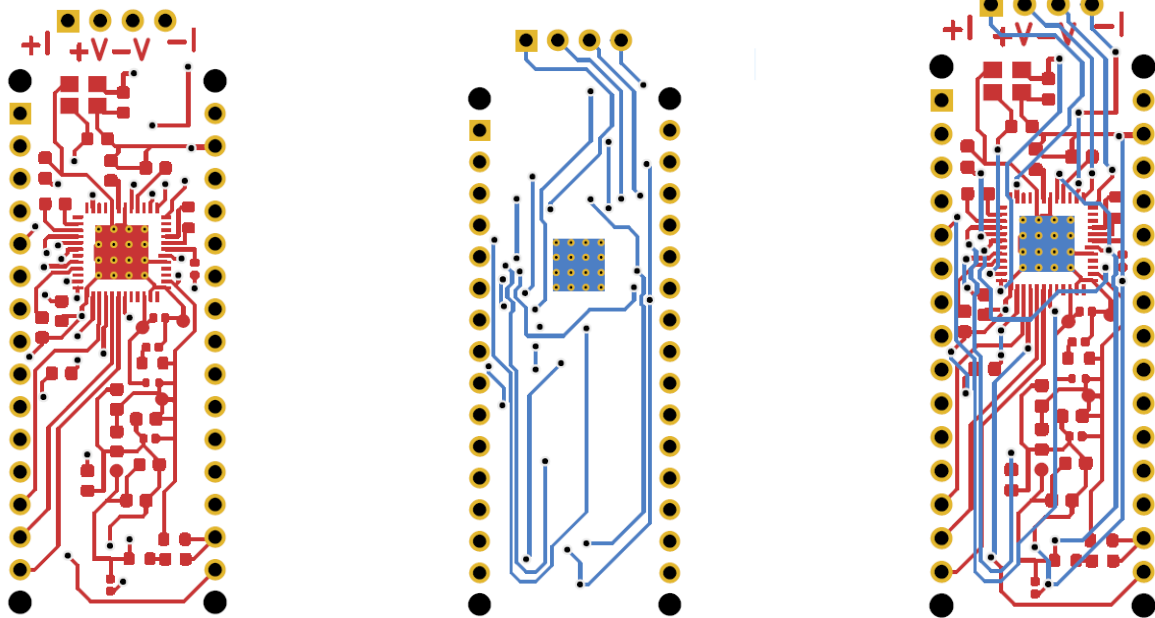
- Encaminat dels condensadors de desacoblament
- Encaminat dels senyals d'entrada al nostre dispositiu SPI_MISO, SPI_MOSI, SPI_CS i SPI_CLK
- Encaminat del rellotge del oscil·lador de cristall
- Ajuntar tot el circuit en una GND comú

L'inconvenient principal va ser col·locar tots els condensadors d'acoblament a prop del xip integrat AD5940. Aquest és gairebé les dimensions de l'Arduino Nano i necessitàvem posar 9 d'aquests condensadors, que estan pràcticament rodejant tot el xip integrat menys la part superior on es troba el cristall oscil·lador amb els seus corresponents condensadors, com recomana el seu datasheet.

Seguidament, es va encaminar els senyals SPI_MISO, SPI_MOSI, SPI_CS i SPI_CLK de la millor manera possible, ja que aquesta estava situada a la part inferior de l'Arduino, allunyat del xip. Utilitzant la regla anterior de no utilitzar angles rectes i només una sola línia, menys en el cas de SPI_CLK que es va haver d'utilitzar més d'una línia i capa.

Un cop col·locat aquests, es van connectar les línies d'alimentació, AVDD i DVDD per què arriben a tots els components necessaris, decidint baixar les línies a tots els elements passius a la part inferior de la placa, ja que és on hi havia espai. En aquest procés es va haver de fer un ús continu de les dues capes per arribar a aconseguir l'objectiu.

Finalment, el resultat va ser el següent:



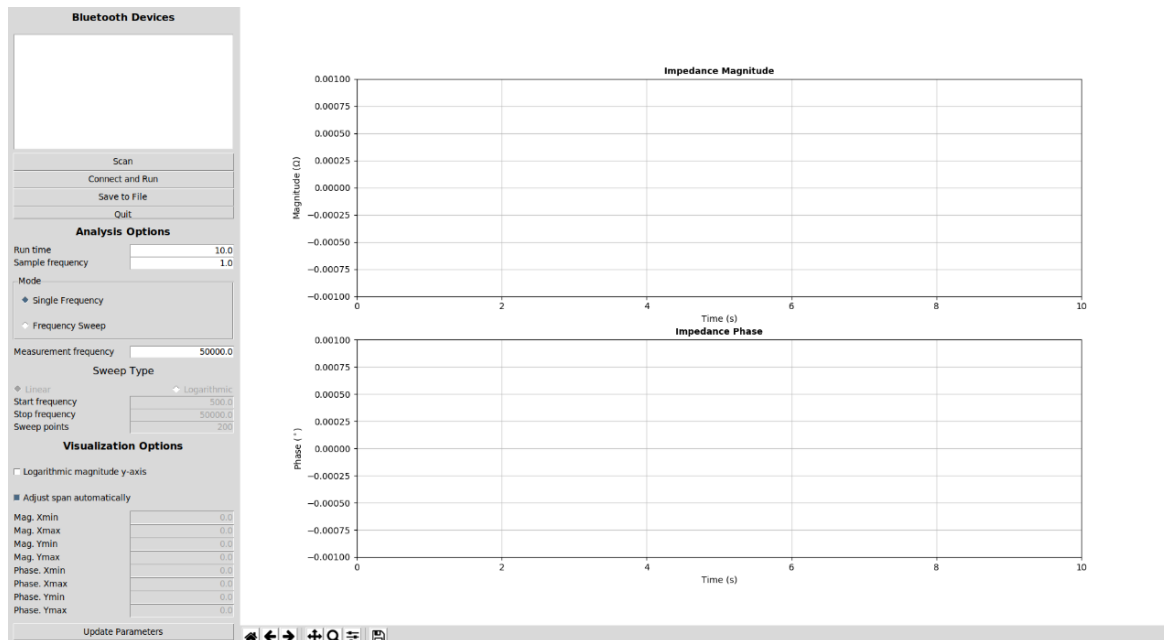
*Il·lustració 17: Disseny final del encaminament per capes, primer frontal després darrera i conjunta.
Finalment la placa PCB soldada i col·locada com a motxilla modular del Arduino Nano 33 Ble.*

5. Software

S'han utilitzat dos softwares diferents en la realització d'aquest projecte. El primer és el propi de la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ anomenat Analog Device SensorPal explicat anteriorment i el segon ha sigut la continuació d'un projecte anteriorment elaborat per en Isaac Montsech del qual farem menció. El firmware de la placa també ha estat modificat a partir del treball d'Isaac Montsech, per tal d'adaptar-lo a l'entorn d'Arduino.

5.1. Aplicatiu en Python

Aquest software ha sigut fet principalment per en Isaac Montsech per un treball anterior. Està basat en Python i codi C per a Arduino i el seu propòsit principal és disposar d'una interfície gràfica la qual escaneja per Bluetooth dispositius pròxims, i realitza les dues funcions esmentades en l'apartat anterior també mostrant-les en el mateix moment. El codi Arduino és el mateix codi proporcionat per Analog Devices, adaptat a l'entorn Arduino i afegint-hi la connexió Bluetooth. El codi Python només es pot córrer en Ubuntu degut a l'ús d'una llibreria de Bluetooth BLE que no corre en Windows. Es mostra l'aspecte de la pantalla principal a la figura següent:



Il·lustració 18: Interfície inicial del aplicatiu Python

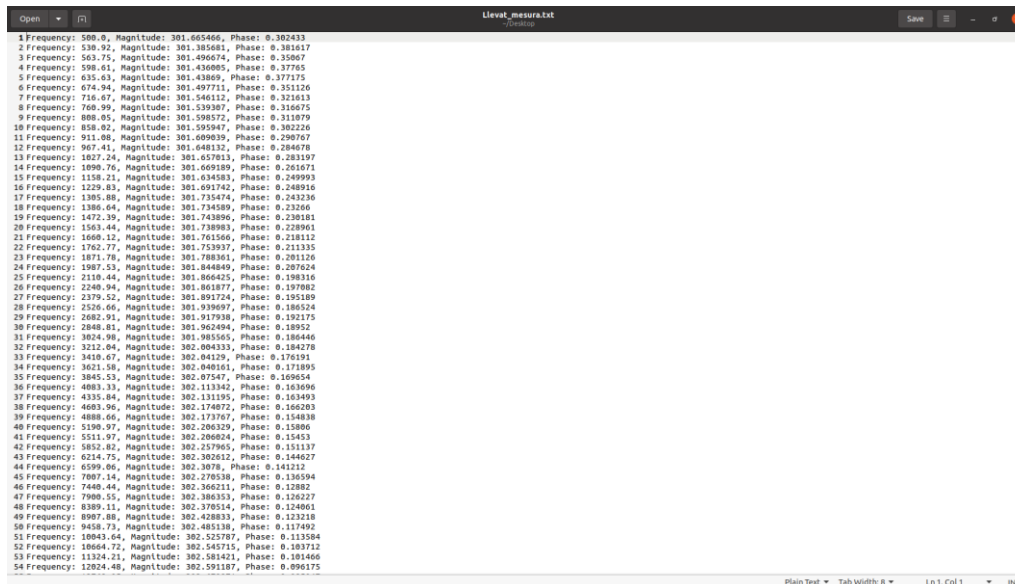
D'aquest programa vam haver de fer dues modificacions principals a mode de funcions que explicarem a continuació a més de 2 canvis rellevants que van a conjunt. El software inicialment estava pensat per realitzar mesures a curt termini conjuntament amb la gràfica per realitzar mesures "in situ" i poder mostrar-les ràpidament. Per fer això utilitzava la llibreria `asyncio` que crea un rellotge per bucles d'esdeveniments. Inicialment, aquest bucle s'acabava quan teníem totes les dades referenciades per un temps que havia de durar màxim 10 minuts. Es va modificar la funció "async def run" per tal que aquest bucle fos a llarg termini i depengués del temps d'execució marcat per nosaltres. També es va inhabilitar tot el que tenia a veure amb la gràfica mostrada, ja que aquesta no podia mostrar les dades a llarg termini. Són modificacions fins a cert punt menors però van implicar l'estudi i interpretació de tot el codi desenvolupat en el projecte anterior.

Les funcions que es van crear de zero van ser:

- **Def File_Select:** Aquest mètode es va realitzar amb la intenció de crear un document amb extensió "csv" per guardar les dades requerides al engegar el programa.

- **Def File_Save:** Aquest mètode es va realitzar amb la intenció de guardar les dades temporals, freqüencials, impedància i de fase des de que creem un document amb el mètode anterior, fins el temps passat per paràmetre. Està fet de tal forma que les dades es van guardant a mesura que van arribant, sobreescrivint el document en tot moment fins el final, i no com un únic paquet.

Ens valem de la mateixa interfície vista anteriorment utilitzant els mateixos botons seleccionables. Així és finalment com rebem el document:



Il·lustració 19: Arxiu CSV de resultats del aplicatiu Python realitzat

6. Resultats

En aquest apartat desglossarem els resultats obtinguts amb la nostre placa PCB utilitzant sempre la mesura de 4 fils i el programari propi fet en Python.

6.1. Mesures de Resistències

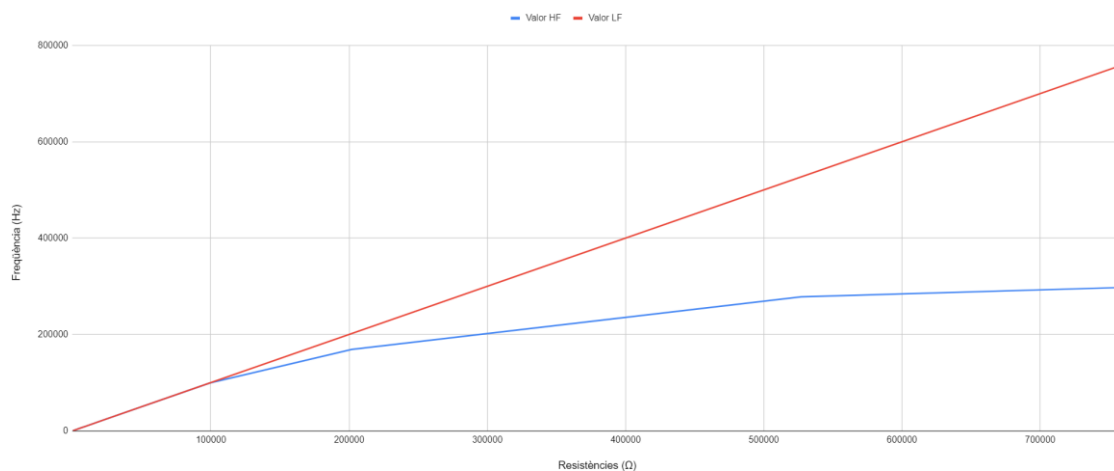
El primer experiment que hem realitzat va ser la mesura de resistències. L'objectiu d'aquest experiment era saber les prestacions de la nostra pròpia placa i saber fins on era capaç d'arribar. Per tal de fer això vàrem fer la mateixa prova que amb les mesures preliminars de la placa d'avaluació en l'apartat 3.4.3 i agafant les mateixes resistències per que no varies el valor nominal vam replicar l'experiment. En aquest cas vam poder realitzar mesures amb valors de resistències més elevats ja que no ho impedia el software.

Resistència nominal (Ω)	Resistència mesurada per multímetre (Ω)	Valor que detecta a HF (Ω)	Valor que detecta a LF(Ω)	Valor que detecta a FI (Ω)	Fase a HF (°)	Fase a LF(°)	HF (Hz)	LF (Hz)
1	1,068	6,3	6	3,4	-10,5	-10,2	190000	500
10	10,12	22,0	30	15	28	-14,0	170000	500

100	102,407	150,0	240	140	-8,4	-5,70	100000	500
220	222,95	280,0	320	264	150	-50,00	70000	6000
1k	1002,77	1005,6	1001,2	1001	0,6	0,02	190000	500
6,2k	6164,82	6187,3	6174,5	6176,5	-0,6	0,2	190000	500
10k	9945,72	9977,2	9940,6	9942,5	-1,2	0,0	190000	500
22k	21550,02	21582,6	21603,2	21582,6	-3,2	0,0	190000	500
100k	99327,400	99425,7	99520	99425,7	-1,7	-0,01	190000	500
200k	201793	168945	202010	201872	-32	0,03	190000	500
560k	526912	278056	527069	527009	-57,5	-0,50	190000	500
750k	749623	297561	759125	759023	-66,2	-0,60	190000	500
910k	933942	304000	952586	935000	-70,2	0,22	190000	500

Taula 4: Resultats obtinguts de la mesura de resistències amb el sistema dissenyat

Valor detectat a HF i LF respecte varies Impedàncies



En primer lloc, podem confirmar que la placa demostra un bon comportament alhora de mesurar impedàncies, i més sobretot a freqüències intermèdies arribant als nivells de la placa d'avaluació. Com podem veure en la gràfica, el comportament de la nostra placa és força semblant al vist anteriorment sent lineal en LF. Pel que fa a la mesura en HF, mostra clarament l'efecte d'una capacitat en paral·lel més alta que en l'equip anterior. Aquest efecte és calibrable.

Resistència mesurada per multímetre (Ω)	Error IF	Error HF	Error LF
1,068	2,332	5,232	4,932
10,12	4,88	11,88	19,88

102,407	37,593	47,593	137,593
222,95	41,05	57,05	97,05
1002,77	1,77	2,83	1,57
6164,82	11,68	22,48	9,68
9945,72	3,22	31,48	5,12
21550,0	32,6	32,6	53,2
99327,4	98,3	98,3	192,6
201793	79	32848	217
526912	97	248856	157
749623	9400	452062	9502
933942	1058	629942	18644

Error HF, Error LF i Error IF respecte el real



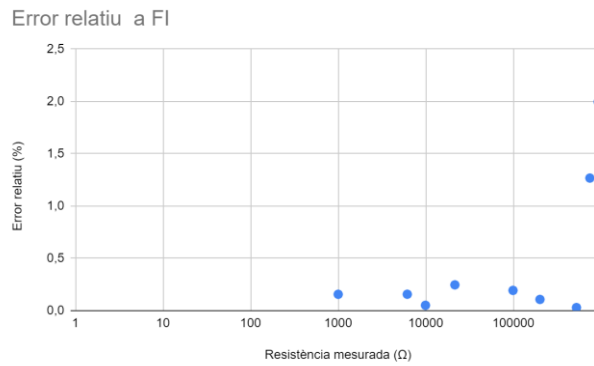
Respecte el error, podem veure conjuntament amb les dades i la gràfica que també té un comportament similar al obtingut amb la placa d'avaluació.

Podem diferenciar un millor comportament en LF amb la nostra placa que amb la d'Analog Device sent per exemple el error de mesura en la resistències molt petites d'1 Ω la meitat del error o en les resistències més elevades 13 cops inferior. Aquest fet però no succeeix en les resistències de valor a 100 a 220 ohms on té un error molt més gran en LF al aparèixer un efecte sinusoidal detectat via oscil·loscopi i que clarament és el punt a solucionar.

En HF podem veure que no existeix molta diferència respecte la placa d'avaluació, menys en les resistències de valor més elevat on hi ha més error produït per l'afecte capacitiu.²

En la següent gràfica però podem veure el error relatiu en freqüències intermèdies on el error a de resistències de valor inferior a 220 Ω s'ha eliminat per veure que a partir d'aquest el sistema detecta correctament resistències a partir d'aquest valor.

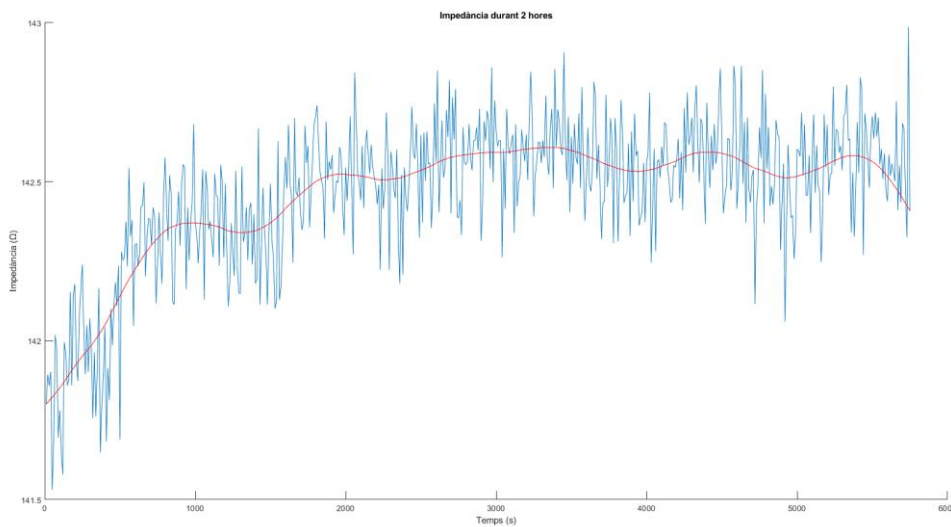
² Recordar que els valors han sigut aproximats



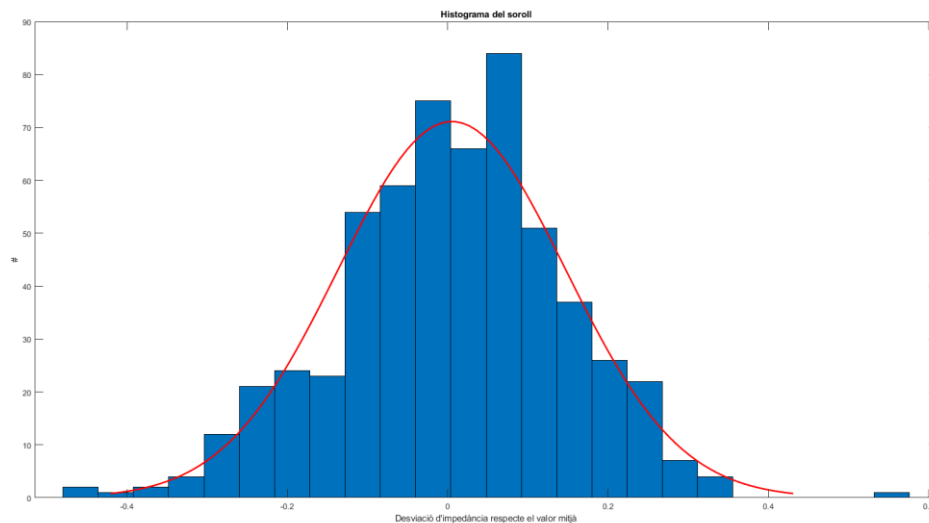
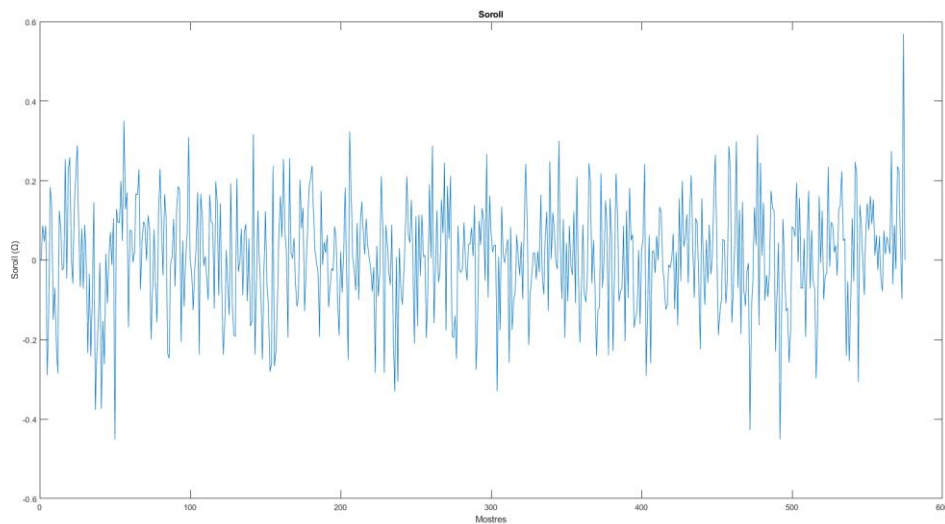
6.2. Anàlisi del soroll i duració en el temps

La següent prova es va fer amb dos objectius. El primer, veure que succeïa amb la placa si agafàvem mostres contínues durant un període llarg en el temps a una freqüència concreta amb l'ajut del programari creat. Llavors amb aquest valor analitza les derives i el soroll produït en la mesura.

Les proves es van realitzar en les següents mostres i analitzant-les amb un senzill script de Matlab. La primera mesura és d'una resistència de 100Ω durant 100 minuts a una freqüència de 10 mostres per segons.

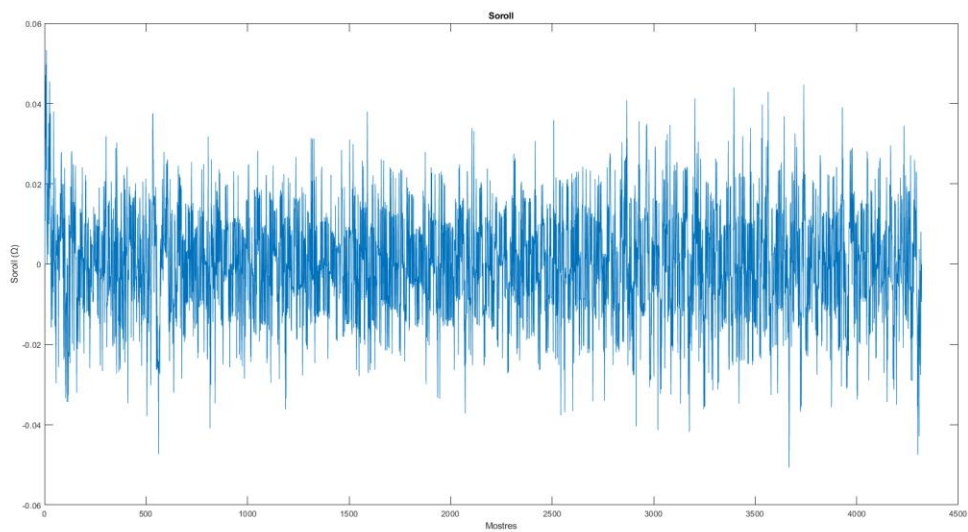
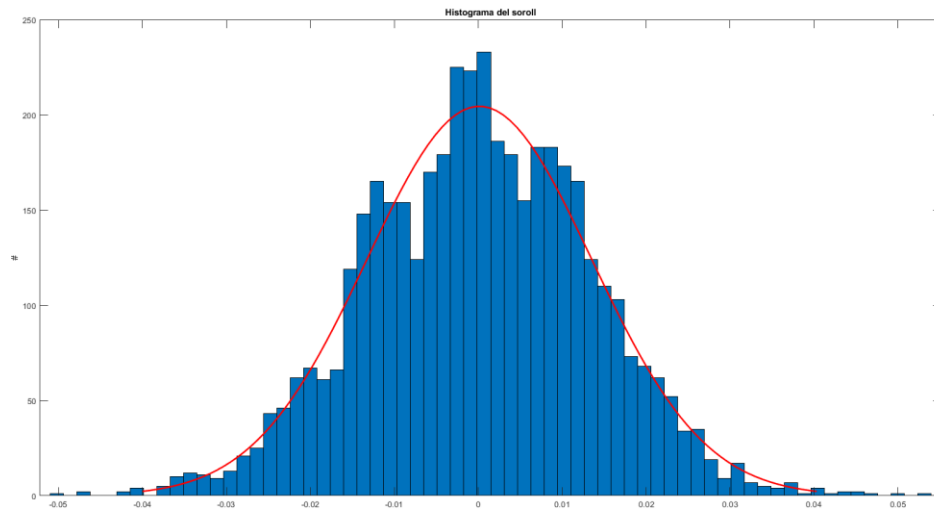
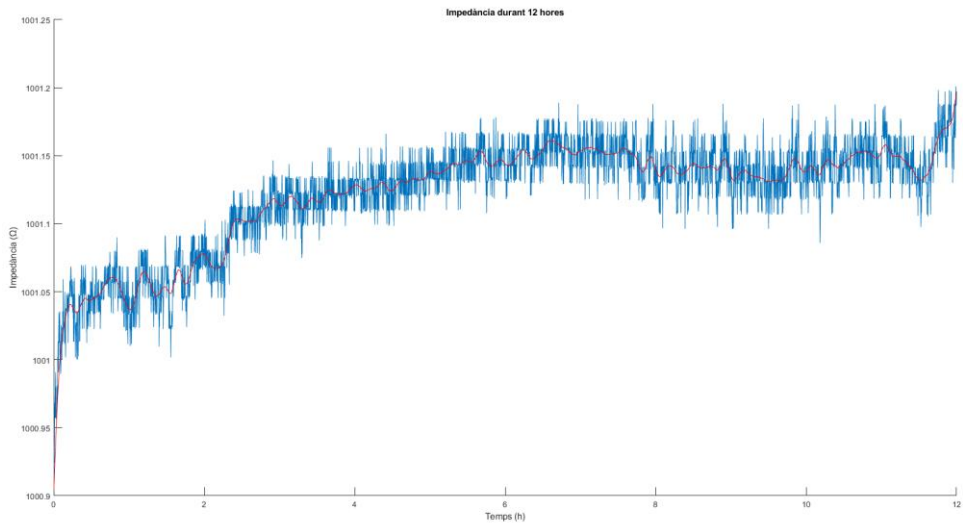


S'observa una deriva del 0,5%, probablement deguda a un canvi de temperatura al llarg de la mesura. Si restem la component de baixa freqüència (corba vermella) de la sèrie de dades, ens queda el soroll, que podem veure a la figura següent, l'histograma del qual i el seu ajust a una distribució gaussiana podem veure a l'altra figura:



La desviació estàndard és de 0,142 ohm, un 0,1% de la mesura i que ens donaria una incertesa del 0,25% agafant 2,6 desviacions estàndard per tenir un risc de menys del 1% de deixar mesures fora. Veiem com la mesura té una exactitud modesta però un soroll força baix, el que és adequat per a les mesures biomèdiques, on el valor exacte no és tant crític degut a la variabilitat entre mesures.

Si repetim la mesura amb una resistència de 1k Ω i un temps de mesura més llarg, 12 hores, observem també una deriva, en aquest cas del 0,02%, realment petita, i, restant-la de les mesures, ens queda el soroll i l'histograma que podem veure a les figures següents. La desviació estàndard és de 0.0134 Ω , el que dona una incertesa de 35m Ω , el 0,035% de la mesura.



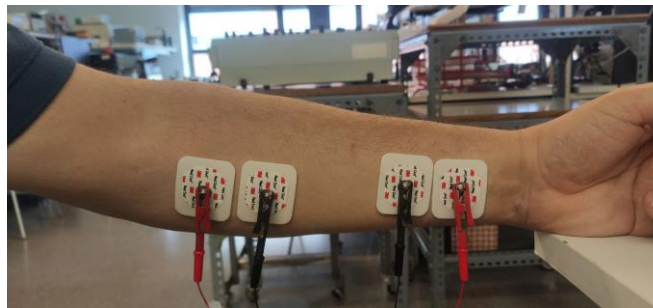
Com podem observar en les gràfiques, els resultats en aquestes proves són molt favorables. Primerament podem veure que no hi ha cap problema al llarg del temps amb les mesures, amb derives molt baixes. També podem veure pel soroll que en tots els casos segueix una llei gaussiana, per tant podem dir que té el comportament esperat i amb una dispersió molt baixa.

6.3. Mesures fisiològiques

En aquest apartat realitzem mesures fisiològiques en un cos humà (el supervisor del projecte). Per fer-les, s'ha alimentat la placa del microcontrolador amb un powerbank de 5V, estant per tant totalment aïllat de la xarxa elèctrica.

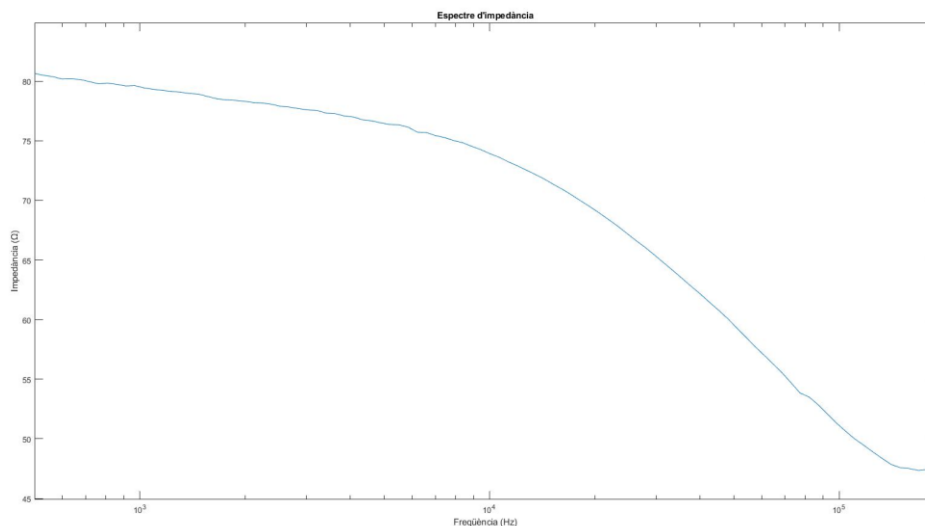
6.3.1. Mesura de EIS de teixit muscular a l'avantbraç

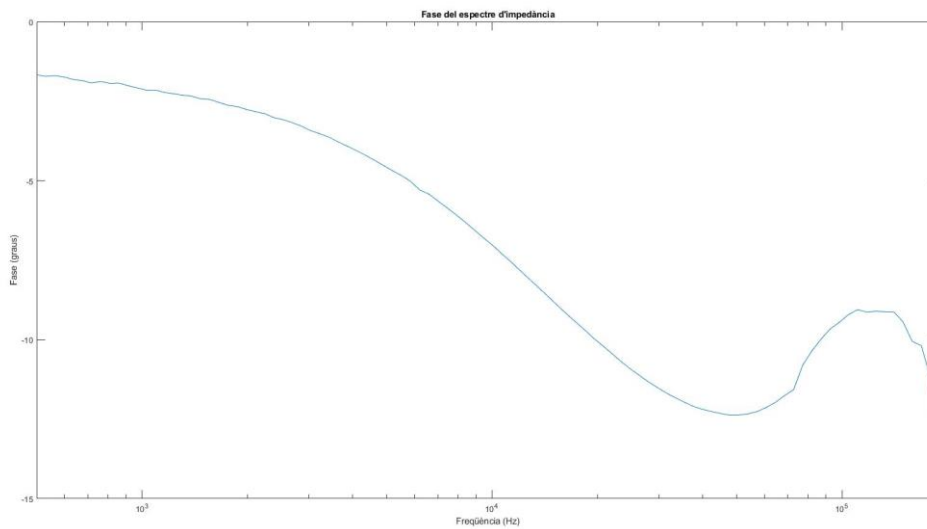
S'han col·locat 4 elèctrodes marca 3M Red Dot a l'avantbraç del subjecte de la següent forma:



Il·lustració 20: Distribució dels elèctrodes en un braç per detectar impedància muscular.

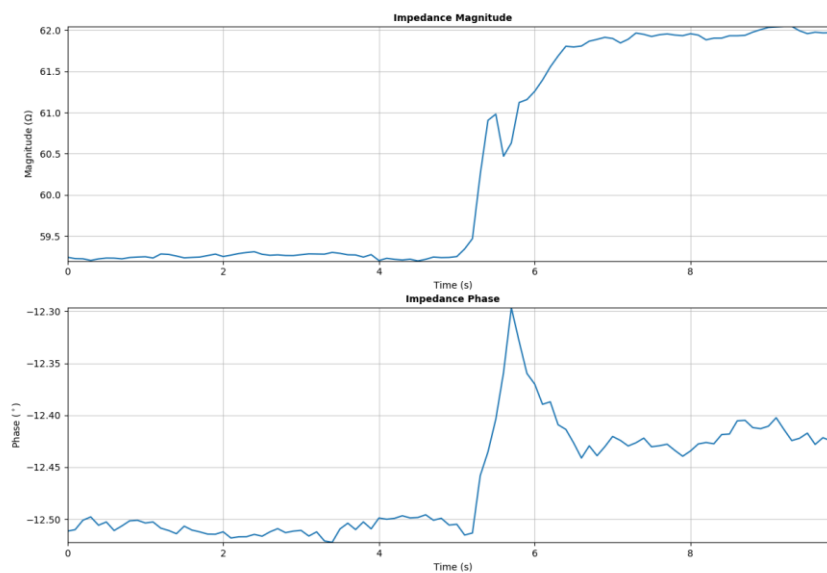
Primer s'ha fet un escanament de freqüència logarítmic de 100 punts entre 500 Hz i 190 kHz. A la gràfica següent es pot veure la forma típica de l'espectre d'impedància d'un teixit biològic, amb una caiguda de mòdul i un mínim de fase a 50 kHz. A alta freqüència s'observen les no idealitats de la resposta en freqüència del sistema que serien parcialment calibrables.





6.3.2. Contracció de braç

Utilitzant la mateixa disposició d'elèctrodes i fent la mesura només a una freqüència (50 kHz), el subjecte té el braç en repòs i després el contrau, resultant en un augment d'impedància a la freqüència de mesura d'un 4,5% i un augment de fase de 0,1° aproximadament. Correspondria a un augment de la densitat de cèl·lules a la regió deguda a la contracció de les fibres musculars. Es pot veure que el soroll és molt menor al canvi detectat.



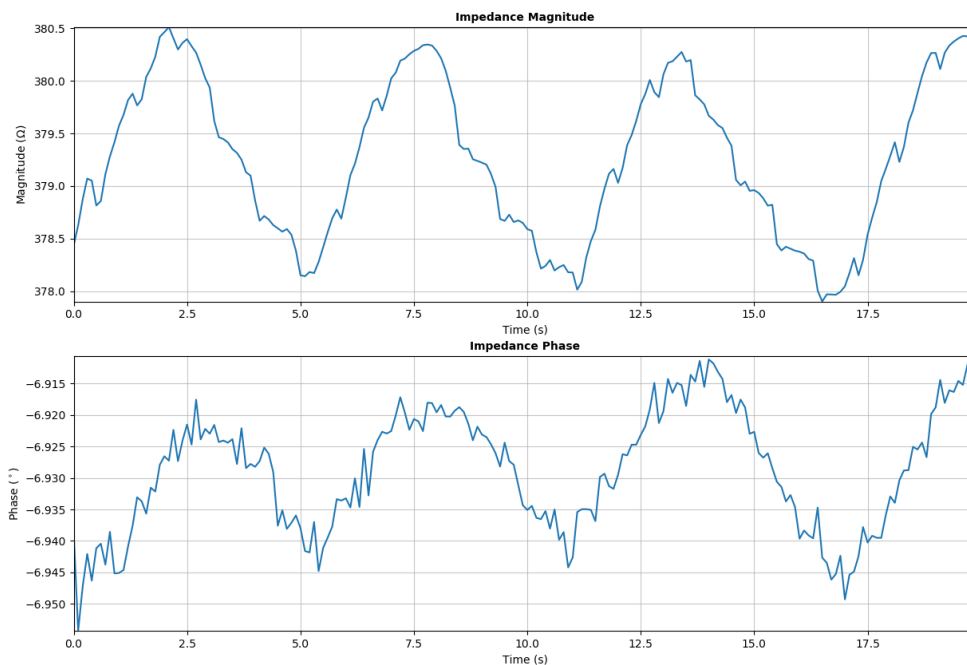
6.3.3. Respiració

Aquesta mesura es realitza amb els 4 elèctrodes connectats dos a dos als braços del subjecte. Aquesta mesura és útil per estudiar i conèixer la respiració de les persones ja que les línies de corrent travessen la caixa toràcica. A la figura següent es pot veure la disposició dels elèctrodes.



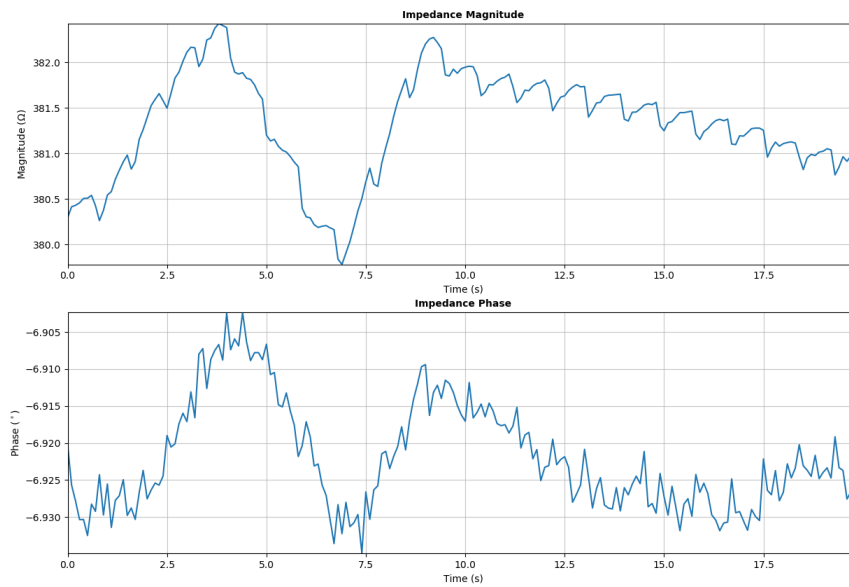
Il·lustració 21: Distribució dels elèctrodes en els dos braços per detectar la respiració

A la primera de les gràfiques següents es pot veure la modulació del mòdul de la impedància a 50 kHz deguda a la ventilació. Els pics del senyal corresponen a quan una persona està inspirant i les valls quan està expirant, a causa de la baixada de conductivitat produïda per l'aire. Surten clarament 4 cicles amb una modulació del 0,6% al mòdul i molt petita a la fase, però clarament per sobre del soroll en tots dos casos. Al mòdul es percep una segona modulació, possiblement deguda al batec cardíac i el desplaçament de la sang a cada batec.

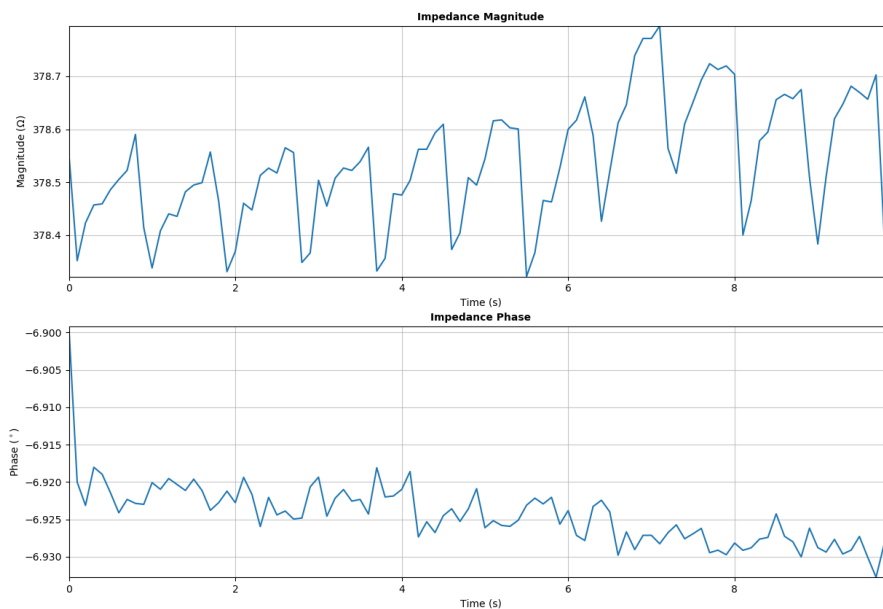


6.3.4. Ritme cardíac

Per validar-ho es repeteix la mesura deixant de respirar a la meitat del període. Es pot veure al mòdul la petita modulació deguda al batec. No s'observa a la fase.

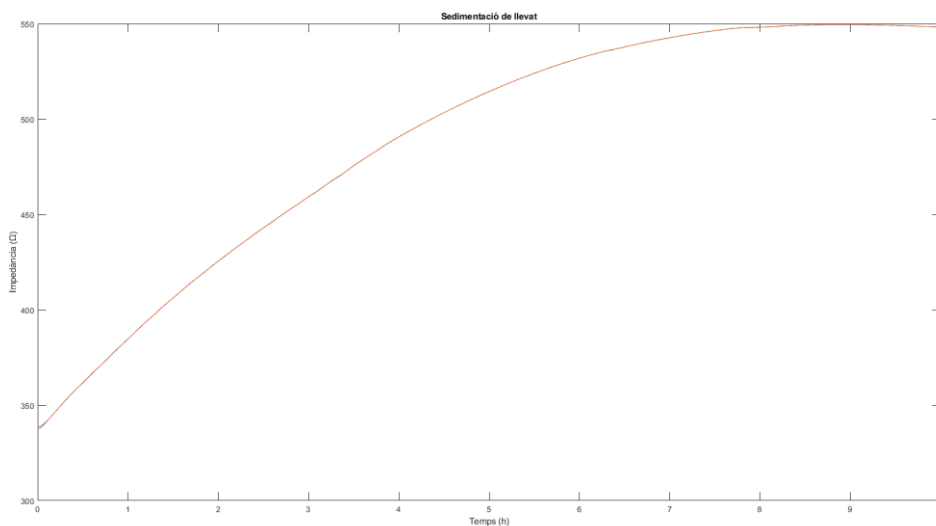


Per confirmar-ho del tot, es fa una mesura més curta (10 segons) sense respirar. S'observa aquesta modulació amb un període aproximat de 0,9 segons (66 batecs per minut) i una amplitud molt petita (<0,1%) però encara per sobre del soroll.

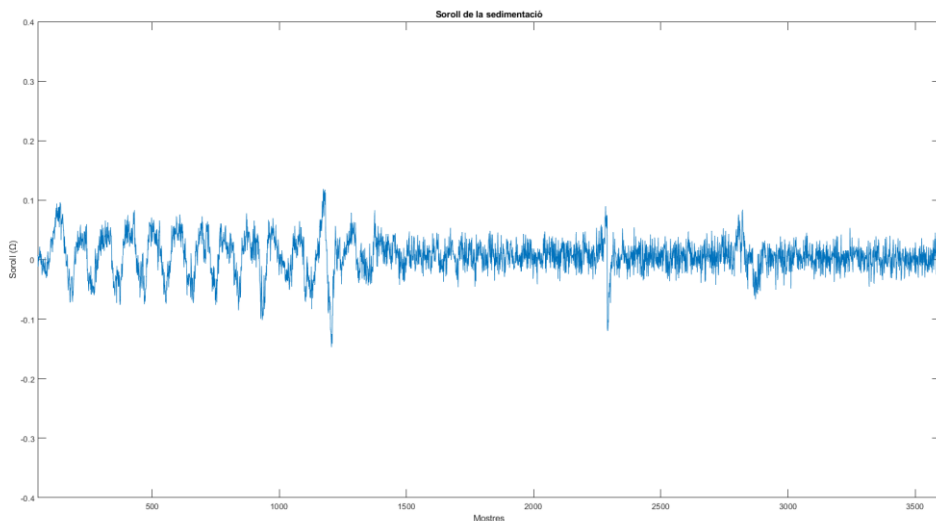


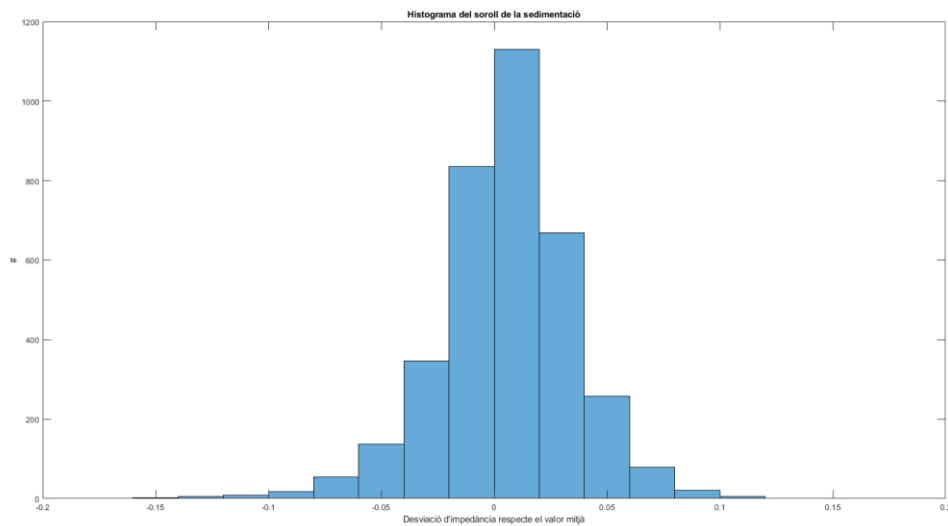
6.3.5. Mesures Sedimentació

Finalment es du a terme una mesura per validar un dels objectius del projecte, la capacitat de mesurar creixement cel·lular en cultius en monocapa. En el moment de fer la mesura no es disposa de l'accés a cap cultiu real, pel que es simula amb la sedimentació d'un cultiu de llevat sobre 4 elèctrodes situats al fons d'un recipient. Es prepara una suspensió de 80 g/l de llevat en aigua amb una conductivitat de 7,87mS/cm i es deixa sedimentar durant 10 hores. A la figura següent es pot veure l'augment del mòdul de la impedància a 50k Hz, aparentment seguint una exponencial doble. Pot haver-hi l'efecte combinat d'un descens de temperatura ja que es va deixar entre les 5 de la tarda i les 3 de la matinada.



Si restem la tendència de la corba, ens queda el soroll, que podem veure a la figura següent, seguit del seu histograma.





Ens dona una desviació estàndard de 0,07 ohms, que correspondrien a una incertesa del 0,4%, força més alta que en el cas de les mesures amb resistències però molt més baixa que el marge de mesura.

7. Costos

A continuació es presenta el resum dels costos originats en realitzar aquest projecte. Han estat repartits en recursos humans, tècnics i de realització.

En total tots aquests recursos donen lloc:

Recursos	Cost (€)
Humans	4.050,00 €
Tècnics	717,50 €
Realització	85,71 €
TOTAL	4.853,21 €

Taula 5: Cost total del projecte

7.1. Recursos humans

Per tal d'establir el cost de les hores de feina dels implicats s'ha assimilat el sou d'un l'alumne acabat de graduar i dedicant-se ell sol al projecte:

Càrrec	Cost (€/h)	Dedicació (h)	Total (€)
Enginyer Junior	9	450	4.050,00 €

Taula 6: Cost dels recursos humans

7.2. Recursos Tècnics

Entenem per recursos tècnics aquells que són necessaris per dur a terme el projecte. En aquest cas i per simplificar la problemàtica disposàvem d'un laboratori de la universitat amb tot el material logístic com taules, cadires, ordinadors, wifi o electricitat que no tindrem en compte. Si tindrem en compte el software i hardware necessari per dur a terme el projecte.

Recurs	Cost (€/anual)	Total (€)	Distribuidor
Matlab	840	280,00 €	Matlab
Python	0	0	Python
EVAL-AD5940BIOZ	433,5	433,50 €	Analog Devices/Mouser
Pack 14 elèctrodes	1,48	4,00 €	Mouser

Taula 7: Cost dels recursos tècnics

7.3. Recursos de realització

Entenem per recursos de realització tots aquells components necessaris per produir la placa PCB, el qual era l'objectiu del projecte. Aquest desglossament es farà tenint en compte només un model, si en fabriquéssim en massa els preus d'alguns components serien més barats. D'igual manera no tindrem en compte les amortitzacions d'aquests.

Component	Unitat	Preu unitat	Total (€)
Arduino Nano	1	20,78 €	20,78 €
AD5941	1	8,90 €	8,90 €
Condensador SMD (F)			
0,47 u	3	0,22 €	0,65 €
0,47 u	1	0,28 €	0,28 €
4,7 u	1	0,58 €	0,58 €
0,1 u	3	0,69 €	2,07 €
0,1 u	3	0,23 €	0,69 €
6,8 p	2	0,53 €	1,06 €
1 u	1	0,78 €	0,78 €
4700 p	1	0,35 €	0,35 €
220 p	1	0,17 €	0,17 €
10 u	3	0,81 €	2,43 €
Inductor SMD			
FB1 mpz1608s601	1	0,14 €	0,14 €

Resistències SMD(Ω)			
12k	1	0,38 €	0,38 €
10k	1	0,14 €	0,14 €
100	1	0,11 €	0,11 €
2,2	2	0,34 €	0,68 €
Cristall de freqüència			
ABM8-16.000MHZ-7-1-U-T	1	0,52 €	0,52 €
Placa PCB	1	30 €	30 €

Taula 8: Cost dels recursos de realització.

Finalment, unes de les idees del projecte era realitzar aquesta placa PCB en una certa quantitat per substituir la placa d'avaluació EVAL-AD5940BIOZ en aplicacions docents i al laboratori de recerca. Sense abaratir costos per comprar en grans quantitats podem veure que aquesta placa costa en total 85,71 euros, el qual es gairebé 1/5 del que costa l'original. Per tant en aquest aspecte hem assolit el nostre propòsit.

8. Conclusions i vies de futur

Un cop finalitzat el projecte podem fer una valoració d'aquest a partir dels resultats obtinguts.

S'ha dissenyat i construït un sistema mínim d'impedància basat en un SoC (AD5940) i alguns components passius i muntat sobre una placa de la mida d'un Arduino Nano, de manera modular sobre aquesta placa de microcontrolador de baix cost.

Després d'haver fet proves testejant el sistema de varies formes possibles podem afirmar que la seva funció principal la compleix mantenint les especificacions i afegint un sistema Bluetooth respecte models del mercat més cars. El sistema mesura correctament impedàncies en gairebé tot els rang de mesura. Tal i com hem vist en els resultats, a baixa freqüència apareix una deformació del senyal sinusoidal que no hem aconseguit reduir i que té com a resultat una disminució de l'exactitud mesurant resistències. També a alta freqüència apareix l'efecte de la capacitat paràsita, esperable i parcialment calibrable.

Aquestes dues limitacions en l'exactitud no afecten notablement les possibilitats de mesurar materials biològics, ja que aquests presenten una gran dispersió en els seus valors basals d'impedància i, en molts casos, el que es vol és detectar són canvis en modulacions o creixements. El sistema ha mostrat tenir molt baix soroll, el que el fa apte per detectar aquests canvis.

En quan al programari utilitzat, hem aconseguit una interfície que realitzi mesures durant un gran període de temps i mitjançant comunicacions Bluetooth, sigui capaç de transmetre-les. Aquesta implementació esdevé molt interessant per les aplicacions BIA referents als cultius de cèl·lules, les quals necessiten grans períodes de temps, analitzant les dades mentre les estem recollint. A més, gràcies al desenvolupament del Isaac podem afirmar que tot el sistema és independent, requerint només una inicialització via ordinador.

Tot i això, el software és millorable i en aquest sentit com a vies de futur es poden fer diverses millores per entregar una experiència més completa. Per exemple, en el mateix programa com estava implementat anteriorment, es podria mostrar una figura dels resultats just quan s'adquireixen o aplicar el script utilitzat per analitzar les dades via Matlab en Python.

Una altre idea que es podria implementar seria un interruptor físic el qual emmagatzemi les dades en el microxip al inici del funcionament, evitant utilitzar l'ordinador a l'hora d'inicialitzar i només sent necessari al final si així ho necessites. També es pot optimitzar el sistema, i afegir millores com mesures electroquímiques.

Darrerament el laboratori d'Electrónica ha adquirit la impressora Voltera 1 capaç d'imprimir plaques PCB ràpidament. Quan aquesta impressora estigui operativa hi haurà l'opció de cara al futur immediat, de fer una tirada curta d'aquesta placa amb una finalitat docent. Així la placa tindrà continuïtat i un propòsit dintre de l'escola.

Bibliografia:

- [1] Anonymous. "Historia de la impedància bioelectrica" [Online] Available <https://1library.co/article/historia-de-la-impedancia-bioel%C3%A9ctrica-marco-te%C3%B3rico.yjd779py> [Accés : 15 Març 2022]
- [2] Carlos Francisco Carlos Nadal "Antropometría: Impedancia Bioeléctrica" Universitat de Girona [Online] Available <https://www.ugr.es/~jhuertas/EvaluacionFisiologica/Impedancia/impintro.htm> [Accés : 15 de Març 2022]
- [3] Sánchez-Iglesias, A., Fernández-Lucas, M., & Teruel, J. L. (2012). Fundamentos eléctricos de la bioimpedancia. *Nefrologia*, 32
- [4] Biomass monitoring using impedance spectroscopy. R Bragós, X Gámez, J Cairó, P J Riu, F Gòdia, 1999. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 873, 299–305.
- [5] J.R. Alvero Cruz. "La bioimpedancia eléctrica como método de estimación de la composición corporal, normas prácticas de utilización " *Revista Andaluza de Medicina del Deporte* " [Online] Available <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-andaluza-medicina-del-deporte-284-articulo-la-bioimpedancia-electrica-como-metodo-X1888754611937896> [Accés : 20 de Març 2022]
- [6] Electrical impedance spectroscopy measurements using a four-electrode configuration improve on-line monitoring of cell concentration in adherent animal cell cultures. E. Sarró, M. Lecina, A. Fontova, C. Solà, F. Gòdia, J.J. Cairó, R. Bragós. *Biosensors and Bioelectronics* 31 (2012) 257– 263.
- [7] Juan Manuel González Mañas. "Introducción al cultivo celular" Universidad Del País Vasco [Online] Available https://www.ehu.eus/biofisica/juanma/mbb/pdf/cultivo_celular.pdf [Accés 22 de Març de 2022]
- [8] Consell de Casal de Biociències. "Cultius cel·lulars" Universitat Autònoma de Barcelona" [Online] Available <https://blogs.uab.cat/cebio/files/2020/05/Apunts-CC-per-penjar-1.pdf> [Accés 22 de Març de 2022]
- [9] Dr. C. Shaffer. "Electrochemical Impedance Spectroscopy Applications". [Online] Available: <https://www.news-medical.net/life-sciences/Electrochemical-Impedance-Spectroscopy-Applications.aspx> [Accés 20 de Març 2022]
- [10] Anònim. "Iones" Medline Plus [Online] Available <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002385.htm> [Accés : 22 de Març de 2022]
- [11] Anonymus. "What is a System on Chip (SoC)?". [Online] Available: <https://anysilicon.com/what-is-a-system-on-chip-soc/> [Accessed: 16 June 2021]
- [12] Analog Devices. (2019). *High Precision, Impedance, and Electrochemical Front End. AD5940 Datasheet*, 1–133.
- [13] Analog Devices. (2019). Overview Features and Benefits Product Details [Online] Available: <https://www.analog.com/en/products/AD5941.html#product-evaluationkit> [Accés 10 d'abril de 2022]
- [14] Arduino. (2020) . Home, Arduino Nano 33 BLE [Online] Available: <https://store.arduino.cc/products/arduino-nano-33-ble> [Accés 15 d'abril de 2022]
- [15] Anònim. "Arduino Nano vs Arduino Uno" [Online] Available <https://www.educba.com/arduino-nano-vs-uno/> [Accés 15 de Abril de 2022]
- [16] Altium. Zachariah Peterson "Enrutamiento y trazado de pistas en una PCB" (2021)] Available: <https://resources.altium.com/es/p/pcb-routing> [Accés 1 de Maig de 2022]

Glossari:

BIA: Bio-Impedance Analysis

SoC: System on chip

UI: User interface

HF: High Frequency

LF: Low Frequency

IF: Intermediate Frequency

BLE: Bluetooth