

# POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

**Corso di Laurea Magistrale  
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili**

Tesi di Laurea Magistrale

## **Caratterizzazione di sensori interdigitati flessibili per il monitoraggio dell'idratazione cutanea**



### **Relatori**

Prof.ssa Sabrina Grassini  
Prof. Leonardo Iannucci

### **Candidata**

Sofia Rita Longombardo

Luglio 2023



## Indice

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Introduzione</b> .....  | 1  |
| <b>1.1. Sensori interdigitati</b> .....                                       | 1  |
| 1.1.1. Amperometrici .....  | 1  |
| 1.1.2. Potenzimetrici.....  | 2  |
| 1.1.3. Conduttometrici .....  | 2  |
| 1.1.4. Impedimetrici .....  | 2  |
| 1.1.5. Parametri prestazionali .....  | 2  |
| <b>1.2. Materiali di fabbricazione degli elettrodi</b> .....                  | 2  |
| <b>1.3 Geometria degli elettrodi</b> .....                                    | 3  |
| <b>1.4. Metodologie di stampa</b> .....                                       | 5  |
| <b>1.5. Tecnologie di stampa senza contatto</b> .....                         | 6  |
| 1.5.1 Stampa a getto d'inchiostro .....                                       | 6  |
| 1.5.2. Slot-die coating .....   | 7  |
| 1.5.3. Stampa a getto d'aerosol .....   | 7  |
| <b>1.6. Tecnologie di stampa a contatto</b> .....                             | 7  |
| 1.6.1. Serigrafia .....   | 7  |
| 1.6.2. Stampa rotocalco.....  | 8  |
| 1.6.3. Stampa rotocalco-offset .....  | 8  |
| 1.6.4. Stampa flessografica .....   | 9  |
| <b>1.7. Applicazioni dei sensori interdigitati</b> .....                      | 9  |
| <b>1.8. Sensori indossabili</b> .....   | 11 |
| <b>1.9. Idratazione</b> .....   | 12 |
| <b>1.10. Sistemi e dispositivi per il monitoraggio dell'idratazione</b> ..... | 14 |
| <b>1.11. Sensori per il monitoraggio dell'idratazione</b> .....               | 14 |
| <b>1.12. Spettroscopia di impedenza elettrochimica</b> .....                  | 15 |
| 1.12.1. Rappresentazione tramite digrammi di Bode e Nyquist .....             | 16 |
| <b>1.13. Modellazione tramite circuiti equivalenti</b> .....                  | 17 |
| 1.13.1. Resistenza.....   | 17 |
| 1.13.2. Capacità .....  | 18 |
| 1.13.3. Induttanza.....   | 18 |
| 1.13.4. Impedenza di Warburg e CPE.....                                       | 18 |
| <b>1.14. Esempi di circuiti equivalenti</b> .....                             | 20 |
| 1.14.1. Circuito di Randles .....   | 20 |
| 1.14.2. Circuiti RC in serie .....  | 20 |

|   |           |
|---|-----------|
| 1.14.3. Circuito con impedenza di Warburg.....              | 21        |
| <b>2. Materiali e metodi .....</b>                          | <b>23</b> |
| 2.1. Struttura del sensore .....                            | 23        |
| 2.2. Strumentazione e caratterizzazione elettrochimica..... | 27        |
| 2.2.1 Misure in soluzione .....                             | 27        |
| 2.2.2. Misure in vitro.....                                 | 28        |
| 2.2.3. Misure in vivo .....                                 | 28        |
| 2.3. Caratterizzazione morfologica .....                    | 29        |
| 2.3.1. Microscopia elettronica a scansione .....            | 29        |
| <b>3. Risultati e discussione .....</b>                     | <b>31</b> |
| 3.1. Caratterizzazione morfologica .....                    | 31        |
| 3.2. Misure di impedenza in soluzioni saline .....          | 32        |
| 3.2.1. Sensore A .....                                      | 32        |
| 3.2.2. Sensore B.....                                       | 41        |
| 3.2.3. Sensore C .....                                      | 49        |
| 3.2.4. Confronto spettri di impedenza sensori A, B, C ..... | 55        |
| 3.3. Misure di impedenza in vitro.....                      | 57        |
| 3.3.1. Sensore Rettangolare .....                           | 57        |
| 3.3.2. Sensore circolare .....                              | 63        |
| 3.4. Misure in vivo.....                                    | 69        |
| <b>4. Conclusioni e sviluppi futuri .....</b>               | <b>75</b> |
| <b>6. Ringraziamenti .....</b>                              | <b>83</b> |

## Indice delle figure

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.1:</b> Schema dimensioni caratteristiche di un elettrodo. Immagine tratta da [6].  | 3  |
| <b>Figura 1.2:</b> Diagramma di Nyquist. Immagine tratta da [84].  | 17 |
| <b>Figura 1.3:</b> a) Circuito di Randles e b) diagramma di Nyquist corrispondente. Immagine tratta da [87].   | 20 |
| <b>Figura 1.4:</b> a) Circuito equivalente con due RC in serie e b) diagramma di Nyquist corrispondente. Immagine tratta da [88].  | 20 |
| <b>Figura 1.5:</b> a) Circuito equivalente con impedenza di Warburg e b) corrispondente diagramma di Nyquist. Immagine tratta da [84].   | 21 |
|  |    |
| <b>Figura 2.1:</b> Copie di sensori aventi la stessa area teorica.   | 24 |
| <b>Figura 2.2:</b> Sensore A (a) e corrispondente immagine acquisita tramite ImageJ (b).   | 24 |
| <b>Figura 2.3:</b> Sensore B (a) e corrispondente immagine acquisita da ImageJ (b)   | 25 |
| <b>Figura 2.4:</b> Sensore C (a) e corrispondente immagine acquisita da ImageJ (b)   | 26 |
| <b>Figura 2.5:</b> Sensore D (a) e corrispondente immagine acquisita da ImageJ (b).  | 27 |
|  |    |
| <b>Figura 3.1:</b> Dettagli bordi dell'elettrodo.  | 31 |
| <b>Figura 3.2:</b> Micrografia inchiostro composto da nanoparticelle d'argento   | 31 |
| <b>Figura 3.3:</b> Sensore A.  | 32 |
| <b>Figura 3.4:</b> Diagramma di Bode spettri d'impedenza. Sensore A.   | 33 |
| <b>Figura 3.5:</b> Diagrammi di Bode e Nyquist. I punti blu rappresentano i dati acquisiti sperimentalmente, la linea continua indica il fitting dei dati effettuato tramite circuiti equivalenti. | 34 |
| <b>Figura 3.6:</b> Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri d'impedenza del sensore A.   | 35 |
| <b>Figura 3.7:</b> Andamento di $R_0$ in funzione della concentrazione di KCl  | 36 |
| <b>Figura 3.8:</b> Andamento di $Q_1$ in funzione della concentrazione di KCl  | 36 |
| <b>Figura 3.9:</b> Regressione lineare dei valori di resistenza $R_0$  | 37 |
| <b>Figura 3.10:</b> Sovrapposizione dei moduli di impedenza ottenuti nelle tre ripetizioni eseguite per ciascuna concentrazione  | 38 |
| <b>Figura 3.11:</b> Sovrapposizione degli spettri d'impedenza acquisiti con i sensori A e A'   | 40 |
| <b>Figura 3.12:</b> Stima del parametro di cella del sensore A'  | 41 |
| <b>Figura 3.13:</b> Sensore B.   | 41 |
| <b>Figura 3.14:</b> Diagramma di Bode spettri d'impedenza. Sensore B.  | 42 |
| <b>Figura 3.15:</b> Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri d'impedenza del sensore B.  | 43 |
| <b>Figura 3.16:</b> Andamento di $R_0$ in funzione della concentrazione di KCl   | 44 |
| <b>Figura 3.17:</b> Andamento di $Q_1$ in funzione della concentrazione di KCl   | 44 |
| <b>Figura 3.18:</b> Andamento di $Q_2$ in funzione della concentrazione di KCl   | 44 |
| <b>Figura 3.19:</b> stima del parametro di cella del sensore B   | 45 |
| <b>Figura 3.20:</b> Sovrapposizione degli spettri d'impedenza acquisiti con i sensori B e B'   | 48 |
| <b>Figura 3.21:</b> Stima del parametro di cella del sensore B'  | 48 |
| <b>Figura 3.22:</b> sensore C  | 49 |
| <b>Figura 3.23:</b> Diagramma di Bode spettri d'impedenza. Sensore C.  | 50 |
| <b>Figura 3.24:</b> Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri d'impedenza del sensore C.  | 50 |
| <b>Figura 3.25:</b> Andamento di $R_0$ in funzione della concentrazione di KCl   | 51 |
| <b>Figura 3.26:</b> Andamento di $Q_1$ in funzione della concentrazione di KCl   | 52 |
| <b>Figura 3.27:</b> Stima del parametro di cella del sensore C   | 53 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 3. 28:</b> Sovrapposizione degli spettri d'impedenza acquisiti con il sensore C al primo utilizzo (linea tratteggiata) e al secondo utilizzo (linea continua). .....          | 55 |
| <b>Figura 3. 29:</b> Confronto moduli di impedenza dei sensori A, B e C per ogni concentrazione. ....   | 56 |
| <b>Figura 3. 30:</b> (a) Campione di gel di agar e (b) set up sperimentale .....  | 57 |
| <b>Figura 3. 31:</b> Perdita di peso dei campioni di agar in funzione del tempo di incubazione nella camera climatica. ....   | 58 |
| <b>Figura 3. 32:</b> Diagramma di Bode spettri d'impedenza per ciascuna perdita di peso. ....   | 59 |
| <b>Figura 3. 33:</b> Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri delle misure su agar. ....  | 60 |
| <b>Figura 3. 34:</b> Andamento della resistenza R0 in funzione della perdita di peso. ....  | 61 |
| <b>Figura 3. 35:</b> Andamento della resistenza R1 in funzione della perdita di peso. ....  | 62 |
| <b>Figura 3. 36:</b> Andamento dell'elemento Q1 in funzione della perdita di peso. ....   | 62 |
| <b>Figura 3. 37:</b> Sensore circolare. ....  | 63 |
| <b>Figura 3. 38:</b> Perdita di peso dei campioni di agar in funzione del tempo di incubazione nella camera climatica. ....   | 64 |
| <b>Figura 3. 39:</b> Diagramma di Bode spettri d'impedenza per ciascuna perdita di peso. Sensore circolare. ....  | 65 |
| <b>Figura 3. 40:</b> Andamento della resistenza R0 in funzione della perdita di peso del campione di agar. ....   | 66 |
| <b>Figura 3. 41:</b> Andamento della resistenza R1 in funzione della perdita di peso del campione di agar. ....   | 67 |
| <b>Figura 3. 42:</b> Andamento dell'elemento Q1 in funzione della perdita di peso del campione di agar ...  | 67 |
| <b>Figura 3. 43:</b> Sensore A usato per le misure in vivo. ....  | 69 |
| <b>Figura 3. 44:</b> Set up sperimentale per le misure in vivo. ....  | 69 |
| <b>Figura 3. 45:</b> Diagramma di Bode degli spettri d'impedenza ottenuti dalle misure in vivo .....  | 70 |
| <b>Figura 3. 46:</b> Andamento della resistenza R0 in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della soluzione. Il valore a 0 min corrisponde alla misura su pelle asciutta. .... | 71 |
| <b>Figura 3. 47:</b> Andamento della resistenza R1 in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della soluzione. Il valore a 0 min corrisponde alla misura su pelle asciutta. .... | 72 |
| <b>Figura 3. 48:</b> Andamento dell'elemento Q1 in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della soluzione. Il valore a 0 min corrisponde alla misura su pelle asciutta. ....    | 72 |

## Indice delle Tabelle

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabella 1. 1:</b> Elementi principali del circuito equivalente .....  | 19 |
| <b>Tabella 2. 1:</b> Area di ciascuna copia del sensore A, area media calcolata e area dell'elettrodo. ....  | 24 |
| <b>Tabella 2. 2:</b> Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore A .....  | 25 |
| <b>Tabella 2. 3:</b> Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore B .....  | 25 |
| <b>Tabella 2. 4:</b> Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore C. ....  | 26 |
| <b>Tabella 2. 5:</b> Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore D .....  | 27 |
| <b>Tabella 3. 1:</b> Frequenza di taglio per ciascuna concentrazione .....   | 32 |
| <b>Tabella 3. 2:</b> Parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione analizzata.....   | 35 |
| <b>Tabella 3. 3:</b> Valori di C e $\tau$ ottenuti per ciascuna concentrazione di KCl in soluzione. Sensore A. ...   | 37 |
| <b>Tabella 3. 4:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 0,5 mM. ....  | 39 |
| <b>Tabella 3. 5:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 1 mM. ....    | 39 |
| <b>Tabella 3. 6:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 5 mM. ....    | 39 |
| <b>Tabella 3. 7:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 10 mM. ....   | 39 |
| <b>Tabella 3. 8:</b> Parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione analizzata .....  | 43 |
| <b>Tabella 3. 9:</b> Valori di C e $\tau$ ottenuti per ciascuna concentrazione di KCl in soluzione. Sensore B. ....  | 45 |
| <b>Tabella 3. 10:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 0,5 mM. .... | 46 |
| <b>Tabella 3. 11:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 1 mM. ....   | 46 |
| <b>Tabella 3. 12:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 5 mM. ....   | 47 |
| <b>Tabella 3. 13:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 10 mM. ....  | 47 |
| <b>Tabella 3. 14:</b> Parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione analizzata. Sensore C. ....  | 51 |
| <b>Tabella 3. 15:</b> Valori di C e $\tau$ ottenuti per ciascuna concentrazione di KCl in soluzione. Sensore C. ...  | 52 |
| <b>Tabella 3. 16:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 0,5 mM. .... | 53 |
| <b>Tabella 3. 17:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 1 mM. ....   | 53 |
| <b>Tabella 3. 18:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 5 mM. ....   | 54 |
| <b>Tabella 3. 19:</b> Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 10 mM. ....  | 54 |
| <b>Tabella 3. 20:</b> Valori di R0 al primo utilizzo e dopo 4 mesi. ....   | 55 |
| <b>Tabella 3. 21:</b> Confronto tra la resistività rilevata da ciascuna sensore e quella rilevata dal conduttimetro. ....  | 56 |
| <b>Tabella 3. 22:</b> Valori dei parametri circuitali corrispondenti a ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore rettangolare. ....                     | 61 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabella 3. 23:</b> Valori di capacità e costanti di tempo calcolati per ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore rettangolare. .... | 63 |
| <b>Tabella 3. 24:</b> Valori dei parametri circuitali corrispondenti a ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore circolare. ....        | 66 |
| <b>Tabella 3. 25:</b> Valori di capacità e costanti di tempo calcolati per ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore circolare. ....    | 68 |
| <b>Tabella 3. 26 :</b> Valori dei parametri circuitali delle misure in vivo. ....  | 71 |
| <b>Tabella 3. 27:</b> Valori di capacità e costanti di tempo calcolati per la misura effettuata dopo intervalli di tempo stabiliti.....              | 73 |

# 1. Introduzione

## 1.1. Sensori interdigitati

Gli elettrodi interdigitati, spesso chiamati IDE, ovvero interdigitated electrodes, sono una promettente risorsa nel campo delle misure biomediche e suscitano notevole interesse tra i ricercatori grazie alla loro elevata sensibilità e la loro facilità di fabbricazione [1]. Infatti, i sensori interdigitati sono in grado di misurare i cambiamenti delle proprietà elettriche causate dalla presenza di specifici indicatori biologici. Questi cambiamenti possono essere causati da interferenze del campo elettrico [2], reazioni chimiche [3], o da etichette conduttive [4]. Gli elettrodi sono utilizzati sia come interfaccia per applicare il campo elettrico nel campione da testare, sia come metodo di trasmissione e misura dei segnali elettrici. Il tipo di segnale elettrico analizzato varia a seconda dell'applicazione, può essere un segnale per la misura di impedenza o resistenza [5], una misura capacitiva [2] o di spettroscopia elettrica con misure effettuate in un intervallo di frequenze [3].

Un IDE è solitamente costituito da due elettrodi, un elettrodo di lavoro e un contro elettrodo, ciascuno avente un numero individuale di tracce. Le tracce dell'elettrodo di lavoro, in inglese 'fingers', ovvero 'dita', e del contro-elettrodo sono tra loro alternate e sono separate da una piccola distanza. La diminuzione della distanza di separazione tra le tracce permette di aumentare la sensibilità per misure di spettroscopia di impedenza e di facilitare le analisi elettrochimiche su campioni di piccole dimensioni. Gli elettrodi interdigitati sono principalmente usati come sensori elettrochimici [6]. L'applicazione di un potenziale agli elettrodi, sia in corrente continua (in inglese direct current, DC) che alternata (in inglese alternating current, AC), genera un campo elettrico tra le tracce. Il campo può essere alterato dalla presenza di specifiche biomolecole target, cellule, sostanze elettricamente attive, e la variazione che ne risulta viene misurata [7]. Pertanto, è possibile utilizzare i sensori interdigitati per un vasto numero di applicazioni di carattere biologico e biomedico. Le molecole target coinvolte nelle diverse applicazioni presentano differenti dimensioni per cui, data la vastità delle applicazioni richieste, il design del sensore e l'ottimizzazione delle sue caratteristiche geometriche è essenziale per un uso performante del dispositivo. I recenti progressi tecnologici hanno reso possibile lo sviluppo di biotrasduttori su micro e nanoscala, in grado di rilevare cambiamenti a livello molecolare.

I sensori elettrochimici sono i sensori più popolari per la loro semplicità, il buon limite di rilevamento (in inglese, Limit of detection, LOD), elevata selettività e la facilità di fabbricazione, a cui si aggiunge la possibilità di miniaturizzazione a basso costo [8] [9].

I principi di trasduzione dei sensori elettrochimici possono essere raggruppati in quattro categorie: amperometrici, potenziometrici, conduttometrici e impedimetrici [10].

### 1.1.1. Amperometrici

In un sensore amperometrico, si misura la risposta in corrente a un potenziale fisso per rilevare la concentrazione di un analita [11]. Viene utilizzata una conformazione a tre elettrodi, comprendente un elettrodo di lavoro (in inglese, working electrode, WE), un contro elettrodo (in inglese, counter electrode, CE) e un elettrodo di riferimento (in inglese, reference electrode, RE). Un segnale proveniente da un generatore controlla il potenziale del WE, che viene mantenuto costante, mentre viene monitorata la corrente risultante dalla reazione di ossidazione o riduzione delle molecole elettroattive sulla superficie conduttiva del WE [12].

### **1.1.2. Potenzimetri**

Con un sensore potenziometrico vengono misurate le variazioni di potenziale su un elettrodo di lavoro rispetto a un elettrodo di riferimento e nelle condizioni di corrente costante. La misurazione viene eseguita con una struttura a due elettrodi senza la necessità di un generatore o dispositivo di misurazione della corrente. Il potenziale del WE, grazie ad un accumulo di molecole cariche, dipende esclusivamente dalla concentrazione dell'analita nella fase gassosa o in soluzione, mentre il RE è necessario per fornire un potenziale di riferimento stabile [13].

### **1.1.3. Conduttometrici**

I sensori conduttometrici misurano la conducibilità elettrolitica per monitorare l'andamento di una reazione. La conduttività dell'elettrolita cambia con la variazione della concentrazione delle specie ioniche. Un sensore conduttometrico è costituito da due elettrodi e si basa sulla capacità di una soluzione elettrolitica di condurre una corrente elettrica tra gli elettrodi [14].

### **1.1.4. Impedimetrici**

I sensori impedimetrici funzionano misurando la variazione di impedenza che avviene durante l'applicazione di una tensione sinusoidale, la quale viene variata su un intervallo di frequenze. Questi sensori si basano sulla correlazione diretta tra i cambiamenti di impedenza e le variazioni in termini di concentrazione dell'analita target, senza richiedere etichette aggiuntive o elettroattività della molecola da rilevare. Dopo aver applicato una tensione alternata ai due elettrodi (CE e WE), con un'ampiezza costante (solitamente tra 5 mV e 10 mV) e un intervallo di frequenze definito, viene misurata la corrente alternata risultante e l'impedenza complessiva viene correlata alla concentrazione dell'analita [15].

### **1.1.5. Parametri prestazionali**

I parametri fondamentali per valutare il funzionamento di un sensore sono sensibilità, selettività e limite di rilevamento (limit of detection, LOD). La sensibilità dello strumento indica il più piccolo valore della grandezza che lo strumento può distinguere. Per selettività si intende la capacità del sensore di rispondere solamente alla concentrazione dell'analita senza risentire di interferenze da parte degli altri componenti presenti nei campioni o risentendone in modo limitato e controllabile. Il limite di rilevamento, LOD, è la concentrazione più bassa che può essere rilevata con significatività statistica mediante una determinata procedura analitica. Si tratta di un valore di quantità misurata, ottenuto con una determinata procedura di misurazione, per il quale la probabilità di affermare falsamente l'assenza di un componente in un materiale è  $\beta$ , data una probabilità  $\alpha$  di affermarne falsamente la presenza [16].

Le sfide principali per i sensori elettrochimici riguardano la ripetibilità e la stabilità [17]. La sensibilità del metodo di misurazione elettrochimica dipende dalle relazioni tra il trasferimento di elettroni tra la molecole e l'elettrodo [18]. Nel tentativo di migliorare la sensibilità dei sensori si opera sul design degli elettrodi e sulla loro geometria, come ad esempio la variazione del numero di tracce o la distanza tra esse.

## **1.2. Materiali di fabbricazione degli elettrodi**

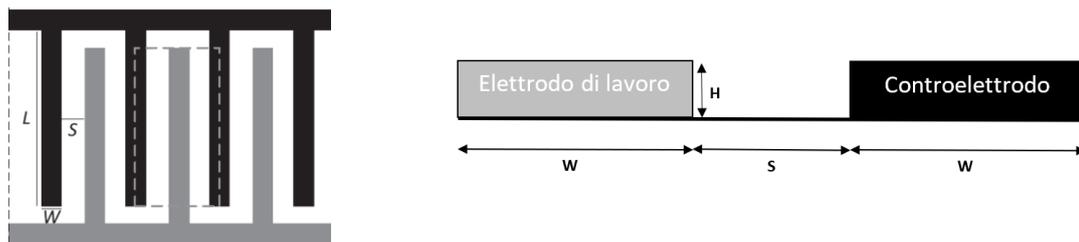
Le caratteristiche dei migliori materiali per la fabbricazione degli elettrodi devono soddisfare i requisiti di sensibilità e selettività del sensore. La scelta del materiale e la sua eventuale funzionalizzazione dipende dal tipo di interazione tra il recettore e l'analita target.

I materiali dell'elettrodo di lavoro sono scelti in modo da migliorare l'elettroattività e promuovere le reazioni di trasferimento elettronico; tuttavia, differiscono tra loro in base alla reattività, conducibilità e stabilità; pertanto, interagiscono in modo differente con le molecole chimiche o biologiche. Come materiali costitutivi degli elettrodi è frequente l'uso di carbonio e metalli, sfruttando proprietà che li rendono particolarmente adatti all'applicazione, come la natura semiconduttrice, le buone proprietà termiche e chimiche che producono sensori funzionali con sensibilità e selettività eccellenti.

Tra i materiali conduttivi maggiormente utilizzati nella realizzazione degli elettrodi, l'argento si accorda bene con la possibilità di utilizzarlo nei processi di stampaggio, grazie alle sue buone proprietà di dispersione in forma di soluzioni colloidali e allo stesso tempo presenta buone prestazioni fisiche ed elettriche sui substrati polimerici a cui viene applicato [19]. Sono utilizzati anche metalli come alluminio e nickel [20]. Nella realizzazione degli elettrodi sono frequentemente impiegati anche metalli preziosi, come il platino [21] e l'oro [18]. L'oro, in particolare, presenta molte proprietà vantaggiose, come la resistenza all'ossidazione, inerzia, biocompatibilità, alta conduttività e compatibilità con i metodi di funzionalizzazione superficiale [22], [23].

### 1.3 Geometria degli elettrodi

Un sensore interdigitato è costituito da due elettrodi, ciascuno composto da un numero di tracce disposte in una struttura a pettine. Le dimensioni caratteristiche dell'elettrodo sono la larghezza (width,  $W$ ), la lunghezza (length,  $L$ ), l'altezza (height,  $H$ ) e lo spazio (spacing,  $S$ ) tra le tracce, esse sono schematicamente riportate nella Figura 1.1.



**Figura 1.1:** Schema dimensioni caratteristiche di un elettrodo. Immagine tratta da [6].

Il design della struttura rende il sensore semplice, facile da usare, economico e facilmente applicabile a svariate applicazioni senza modifiche importanti. L'acquisizione del segnale viene effettuata misurando le variazioni di impedenza e conducibilità nel mezzo.

Il miglioramento delle prestazioni può essere condotto attraverso uno studio del disegno geometrico degli IDE. Tra i parametri studiati vi sono la configurazione simmetrica o asimmetrica degli elettrodi [24], il numero di tracce e la loro larghezza [25], la lunghezza delle tracce [26] e la dimensione della spaziatura [7]. La manipolazione di questi parametri è correlata all'applicazione del sensore, al principio di trasduzione e alla natura dell'analita di interesse [27].

Numerosi studi sulla conformazione dell'elettrodo hanno portato alla conclusione che la geometria ha una forte influenza sulla risposta in frequenza. La vicinanza tra l'elettrodo

di lavoro e il contro elettrodo può portare a una distorsione della corrente e delle distribuzioni di potenziale [6].

Il design degli elettrodi gioca un importante ruolo nell'accuratezza della misura e nella sensibilità dei sensori. In diversi studi [10,11,13] sono stati discussi i vantaggi dell'uso di elettrodi interdigitati rispetto all'elettrodo convenzionale. Uno tra questi è la distribuzione del campo elettrico, che risulta molto più uniforme e meglio definita in un IDE rispetto agli elettrodi circolari. Questa caratteristica consente di ottenere stabilità e precisione nelle misure. Gli IDE generano inoltre alte densità di corrente pur avendo una bassa corrente in entrata, che garantisce una misura non distruttiva, soprattutto nelle applicazioni che coinvolgono componenti biologici. Gli elettrodi interdigitati producono segnali stazionari, hanno bassa caduta ohmica e alto rapporto segnale rumore (in inglese, signal to noise ratio, SNR) confrontato con gli elettrodi convenzionali [25], [26].

La geometria degli elettrodi può essere ottimizzata con l'obiettivo di minimizzare la frequenza di taglio dell'impedenza interfacciale oppure è possibile modificare il design dell'elettrodo in modo da generare un campo elettrico quanto più elevato possibile. Un elevato campo elettrico confinato sugli elettrodi comporta una densità di corrente più alta che determina una maggiore sensibilità della misurazione [27].

Per stabilire il design ottimale di un elettrodo è possibile ricorrere all'utilizzo di un circuito equivalente che modelli la struttura dell'IDE. Ciò consiste nella rappresentazione della misura di impedenza tramite un circuito elettrico che corrisponde al sistema elettrochimico e che fornisce uno spettro simulato d'impedenza che riproduce fedelmente i dati sperimentali. Il circuito elettrico può essere composto da resistori, capacitori, induttori e altri elementi, disposti in serie o in parallelo. L'IDE può essere modellato con diversi circuiti equivalenti a seconda dell'ambiente circostante e delle applicazioni. Affinché un circuito modelli efficacemente la misura d'impedenza è necessario discriminare all'interno dell'impedenza globale ciascun contributo e assegnarlo allo stadio corretto.

Per descrivere matematicamente l'effetto della geometria dell'elettrodo interdigitato sui parametri del circuito, Olthuis [28] ha introdotto un parametro chiamato costante di cella,  $K_{cell}$ .

La costante di cella è il fattore di proporzionalità tra resistività/permittività dell'elettrolita e la resistenza misurata.

$K_{cell}$  dipende interamente dalla geometria del sensore ed è descritta come:

$$K_{cell} = \frac{2}{(N-1)L} \frac{K(k)}{K(\sqrt{1-k^2})} \quad (1.1)$$

$$\text{Dove } K(k) = \int_0^1 \frac{1}{\sqrt{(1-t^2)(1-k^2t^2)}} dt \quad (1.2)$$

$$\text{e } k = \cos\left(\frac{\pi}{2} \frac{W}{S+W}\right) \quad (1.3)$$

La funzione  $K(k)$  è un integrale ellittico incompleto di prima specie i cui dettagli della derivazione sono discussi in [28]. Nell'equazione (1.3) compaiono i parametri riguardanti la geometria dell'elettrodo, ovvero il numero delle tracce (N) e la loro larghezza (width, W), lunghezza (length, L) e lo spazio tra di esse (spacing, S).

Dal momento che gli elementi del circuito, come ad esempio la resistenza e la capacità della soluzione, descritte nelle equazioni 1.4 e 1.5, sono dipendenti dalla costante di cella, allora a partire dallo studio dello spettro di impedenza che questi parametri circuitali

modellano si arriva a determinare i valori ottimali che gli elementi devono assumere al fine di ottenere una misura di impedenza che rispecchi le caratteristiche di sensibilità e accuratezza stabilite. Fissati i valori degli elementi del circuito, si risale alla costante di cella corrispondente e sfruttando la sua dipendenza dalla geometria del sistema si arriva a concludere quali siano le caratteristiche geometriche ideali dell'elettrodo.

$$C_{sol} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_{sol}}{K_{cell}} \quad (1.4)$$

$$R_{sol} = \frac{K_{cell}}{\sigma_{sol}} \quad (1.5)$$

Diversi ricercatori hanno condotto studi empirici del design dell'elettrodo, utilizzando software di modellazione, al fine di migliorare le prestazioni del sensore in termini di sensibilità.

In [24] sono stati simulati due differenti design di elettrodi interdigitati (simmetrico e asimmetrico), usando COMSOL Multiphysics ed è stata variata la dimensione dello spazio tra le tracce da 0.3 a 0.5 mm. È stato osservato che il campo elettrico generato dall'anello asimmetrico era maggiore rispetto a quello generato dall'anello simmetrico. Inoltre, un anello con uno spazio interdigitale più piccolo ha creato un campo elettrico di magnitudo maggiore rispetto a un anello con tracce tra loro più distanti.

Anche in [7], tramite una simulazione su Comsol in cui sono stati studiati larghezza delle tracce e spaziatura, è stato confermato l'andamento crescente della magnitudo del campo elettrico correlato a una diminuzione dello spazio tra le tracce. In questo studio è stato trovato che il rapporto ottimale tra larghezza delle tracce e spazio tra di esse è di 2:1.

In [26] è stato studiato come anche la lunghezza delle tracce influenzi la sensibilità, dimostrando come tracce più lunghe forniscano una capacità più alta, migliorando quindi la sensibilità del sensore.

#### 1.4. Metodologie di stampa

Le tecnologie di stampa si stanno affermando come metodi di fabbricazione convenienti per la produzione di materiali elettronici a temperature compatibili con i substrati polimerici. La stampa presenta molteplici vantaggi come bassi costi di lavorazione, ridotto spreco di materiale, fasi di lavorazione e modellazione semplificate. La possibilità di stampare componenti elettronici su substrati non convenzionali, tra cui quelli flessibili, ha anche consentito la stampa di sensori su superfici non planari.

Nell'ottica di utilizzare sensori elettrochimici in campi che richiedono una miniaturizzazione degli stessi, come ad esempio nei casi di rilevazioni biologiche, contesti clinici, laboratori e applicazioni point-of-care, la stampa risulta essere attualmente un metodo efficace e promettente per lo sviluppo di sensori di piccole dimensioni che allo stesso tempo forniscano alte prestazioni.

I due approcci principalmente utilizzati sono la stampa a contatto e senza contatto.

Nel processo di stampa a contatto, le strutture modellate con superfici inchiostrate vengono portate a contatto fisico con il substrato. In un processo senza contatto, la soluzione viene erogata attraverso aperture o ugelli e le strutture vengono definite spostando il piano (porta-substrato) secondo uno schema pre-programmato. Le tecnologie di stampa a contatto comprendono la serigrafia, la stampa rotocalco, la stampa offset, la stampa

flessografica. Le principali tecniche di stampa senza contatto includono lo slot-die coating, la stampa a getto d'inchiostro e la stampa a getto d'aerosol [29].

Le tecniche senza contatto sono motivo di maggior interesse soprattutto per l'alta risoluzione dei modelli e la facilità di controllo dell'operazione tramite regolazione dei parametri di processo.

Nelle sezioni successive vengono descritte alcune delle principali tecnologie di stampa attualmente in uso.

## **1.5. Tecnologie di stampa senza contatto**

### **1.5.1 Stampa a getto d'inchiostro**

Nella stampa a getto d'inchiostro i materiali sotto forma di soluzione colloidale o chimica vengono depositati sul substrato attraverso un ugello di dimensioni micrometriche. L'azionamento della testina dell'ugello può avvenire tramite diversi meccanismi, ad esempio azionamento termico, piezoelettrico ed elettroidrodinamico [30].

A differenza della serigrafia, la stampa a getto d'inchiostro non richiede la prefabbricazione di un modello o di uno stencil. Il modello viene progettato utilizzando un software CAD (Computer Aided Design), ad esempio, e inviato direttamente alla stampante che è in grado di depositare con precisione gocce di inchiostro molto piccole. Sono disponibili stampanti che consentono una regolazione precisa del volume delle gocce d'inchiostro, della spaziatura e della velocità di espulsione, con una resa molto elevata in termini di precisione e controllo. A seconda della necessità vi è la possibilità di variare la tipologia di inchiostro utilizzato nella stampante, così da poter ricoprire un'ampia varietà di applicazioni. Ad esempio, per la realizzazione di sensori elettrochimici è richiesto generalmente l'utilizzo di materiali conduttori. L'inchiostro della stampante è costituito da nanoparticelle metalliche e nanofili metallici dispersi in soluzione. La soluzione si ottiene disperdendo i metalli in un solvente o in acqua, in questo ultimo caso è necessaria l'aggiunta di tensioattivi ionici per favorire la dispersione dei materiali conduttivi. Una buona dispersione è molto importante per non andare incontro a fenomeni di ostruzione dell'ugello della stampante. Altre caratteristiche rilevanti sono la tensione superficiale e la viscosità dell'inchiostro. Una tensione superficiale elevata causa problemi di erogazione dell'inchiostro dall'ugello. La deposizione goccia a goccia comporta il rischio di fenomeni di essiccazione dell'inchiostro, che sono significativi in quanto la realizzazione di dispositivi stampati necessita di linee lisce e sottili, con bassa rugosità del bordo [19].

La viscosità dell'inchiostro deve essere mantenuta bassa, essa è influenzata soprattutto dagli additivi.

La stampa a getto d'inchiostro comporta un basso consumo di materia prima, limitando lo spreco.

Tra gli svantaggi della stampa a getto d'inchiostro rientrano la bassa produttività dovuta alla velocità ridotta del processo di stampa e la bassa risoluzione del modello per scale micrometriche al di sotto dei 20  $\mu\text{m}$ , a causa del comportamento caotico delle goccioline durante il volo [30].

### **1.5.2. Slot-die coating**

Il rivestimento Slot-Die consiste in un processo in cui il substrato viene rivestito dalla soluzione che viene erogata. La soluzione viene colata dall'alto sul substrato montato su un cilindro rotante. In un primo passaggio la soluzione viene erogata uniformemente, successivamente, in un secondo passaggio, viene regolata la velocità di erogazione, la distanza dal substrato e il movimento del substrato. Questa tecnica è vantaggiosa quando l'obiettivo è quello di ricoprire grandi aree, ma risulta meno indicata quando è richiesta un'elevata risoluzione della stampa. Inoltre, i problemi di stabilità legati a questo processo rendono difficile adattare questo metodo per la stampa di componenti elettronici su substrati flessibili [30].

### **1.5.3. Stampa a getto d'aerosol**

Il sistema aerosol jet è costituito da un atomizzatore che crea una nebbia di goccioline di inchiostro, con diametri che vanno da 20 nm a 5  $\mu\text{m}$ , a seconda della viscosità dell'inchiostro [31].

Viene introdotto un gas carrier (azoto) per trasportare l'aerosol attraverso un canale che conduce a una testa di deposizione che indirizza il flusso di inchiostro. Le gocce di aerosol passano poi attraverso un ugello di deposizione che consente all'inchiostro di giungere al substrato.

Tramite getto d'aerosol possono essere depositati diversi materiali, tra cui metalli, conduttori, isolanti, ferriti, ossidi, polimeri e materiali biologici.

Affinché avvenga l'atomizzazione dell'inchiostro, i materiali utilizzati devono avere una viscosità inferiore a 1000 cP. Una formulazione impropria dell'inchiostro comporta difficoltà del controllo della qualità di stampa, ostruzione dell'ugello, scarsa definizione dei bordi dell'oggetto stampato. La stampa a getto d'aerosol consente di ottenere linee stampate di larghezza che va dai 30  $\mu\text{m}$  a diversi millimetri, con uno spessore da 100 nm a 10  $\mu\text{m}$ . Un vantaggio di questa metodologia di stampa è l'adattabilità a substrati di vario genere, come plastiche, ceramici e metallici. Per supportare richieste di grandi volumi di stampa, questa tecnologia risulta facilmente scalabile [32].

## **1.6. Tecnologie di stampa a contatto**

### **1.6.1. Serigrafia**

La serigrafia è la tecnica di stampa più popolare ed utilizzata nell'elettronica stampata. È più veloce e versatile rispetto ad altri strumenti di stampa, fornisce semplicità, affidabilità e adattabilità al processo di fabbricazione.

Le stampanti serigrafiche possono essere piane o rotative a seconda della disposizione del letto e della spatola. La stampante piana è costituita da un piano su cui poggia il substrato flessibile. L'inchiostro viene erogato su una sagoma, della geometria desiderata, posizionata a sua volta sul substrato. L'inchiostro viene distribuito con una spatola sulla superficie, a pressione uniforme e costante. Dopo aver rimosso la sagoma modello, l'inchiostro viene lasciato asciugare [33].

La stampa rotativa differisce da quella piana per la sostituzione dello schermo piano con uno piegato rotante, in modo da formare un tubo, all'interno del quale sono posizionati

la spatola e l'inchiostro. Questa soluzione consente una produzione continua [34]. Vengono impiegati diversi tipi di substrato come, ad esempio, carta [35], vetro [36], polimeri, e tessuti [37]. La qualità e le caratteristiche di stampa sono influenzate dalla viscosità della soluzione, dall'angolo e la geometria della spatola, dalla velocità di stampa, dalla distanza tra lo schermo e il substrato e la dimensione della maglia della maschera di schermatura [38]. La risoluzione della serigrafia commerciale è tipicamente peggiore di 50  $\mu\text{m}$ , anche se in alcune ricerche la serigrafia è stata applicata anche a stampe con risoluzione inferiore a 10  $\mu\text{m}$  [19].

La serigrafia è utilizzata nella maggior parte delle linee di produzione di elettronica stampata, affiancata da metodi supplementari come la deposizione in fase vapore, la lavorazione laser e la tecnologia a getto d'inchiostro[30]. I principali vantaggi della serigrafia sono l'alta definizione e l'alta precisione delle strutture multistrato, mentre gli svantaggi includono l'elevato spessore umido della pellicola, l'esposizione dell'inchiostro all'atmosfera e l'asciugatura dell'inchiostro sulla maschera che deteriora i disegni della maschera dello schermo [39]. L'uso della maschera per modellare gli elettrodi ne limita anche la risoluzione. Inoltre, è richiesto un ingente volume di materiale; ciò costituisce un limite per le applicazioni, specialmente laddove vengono utilizzati materiali per elettrodi costosi, come metalli nobili [33].

### **1.6.2. Stampa rotocalco**

La stampa a rotocalco utilizza il trasferimento diretto dell'inchiostro tramite il contatto tra le strutture incise e il substrato [30]. Viene utilizzato un cilindro con delle incisioni. Le celle incise vengono riempite con l'inchiostro usando un serbatoio sotto il cilindro rotocalco rotante o attraverso un erogatore con ugelli dall'alto. L'inchiostro viene trasferito attraverso un'azione capillare su un substrato arrotolabile quando si trova tra i cilindri incisi e di stampa. Anche le proprietà superficiali del substrato vengono modificate per facilitare il trasferimento dell'inchiostro dalle celle.

L'inchiostro in eccesso viene rimosso dall'azione di una racla. Le proprietà della soluzione e il rapporto larghezza/profondità delle celle giocano un ruolo importante nella stampa rotocalco. È preferibile una bassa viscosità dell'inchiostro per evitare che questo fuoriesca dalle celle di rotocalco. L'inchiostro a bassa viscosità accelera il processo e consente lo svuotamento delle celle ottenendo una migliore risoluzione della linea.

Il grande vantaggio della stampa a rotocalco è l'elevata velocità e la possibilità di produrre strutture al di sotto dei 20  $\mu\text{m}$  con eccellente fedeltà al modello e ottime prestazioni in termini di uniformità e rugosità delle linee [19].

### **1.6.3. Stampa rotocalco-offset**

La stampa rotocalco-offset è una versione avanzata della stampa rotocalco in cui viene utilizzato un caucciù extra elastico per evitare danni al cilindro dovuti al contatto diretto con il supporto. Il cilindro della lastra raccoglie l'inchiostro da un serbatoio tramite delle scanalature e lo trasferisce al cilindro elastico di caucciù. Quest'ultimo ruotando deposita l'inchiostro sul substrato. L'uniformità dei prodotti di stampa è regolata da parametri quali la velocità di stampa, la pressione e lo spessore del caucciù. È frequente l'ottenimento di bordi ondulati o presenza di vuoti nei dispositivi stampati, dovuti alla eccessiva velocità di rotazione e dalla pressione non uniforme. Durante l'intero processo si mantiene un'accuratezza di  $\pm 50 \mu\text{m}$ . Nel trasferimento dell'inchiostro sono coinvolte molte forze,

tra cui la forza adesiva tra l'inchiostro e il caucciù, la forza di coesione dell'inchiostro stesso e la forza adesiva tra l'inchiostro e il substrato [30].

#### **1.6.4. Stampa flessografica**

La stampa flessografica consente un'alta velocità di produzione e un'alta risoluzione [40]. È una stampa rotativa diretta che permette di stampare mediante una molteplice varietà di inchiostri (a base di solvente, a base d'acqua, inchiostri a polimerizzazione a fascio di elettroni, inchiostri a polimerizzazione UV, inchiostri a polimerizzazione chimica bicomponente, ecc.). La stampante flessografica è composta da tre cilindri. Un cilindro di gomma, chiamato cilindro Anilox, preleva l'inchiostro dalla camera in cui esso è contenuto e lo trasferisce ad un cilindro matrice rivestito da una lastra inchiostrata. La lastra inchiostrata ha un'immagine in rilievo e ruota ad alta velocità per trasferire l'inchiostro attraverso piccoli fori dal rullo Anilox al supporto di stampa. Il riempimento dell'Anilox inciso richiede un delicato equilibrio tra miscela di nanoparticelle e fluido vettore. Alte concentrazioni di soluzioni sono desiderate per buone conducibilità (nel caso di inchiostri metallici), tuttavia questo porta ad elevate viscosità che non rientrano nell'ambito operativo della tipica stampa flessografica. In letteratura sono riportati modelli che raggiungono una risoluzione tra i 50 e i 100  $\mu\text{m}$  [41],[42]. Tra gli svantaggi di questa tipologia di stampa, il prezzo elevato delle lastre da stampa flessografica e la difficoltà nella modifica della versione di stampa sono certamente i più influenti.

#### **1.7. Applicazioni dei sensori interdigitati**

Negli ultimi anni lo sviluppo dei sensori interdigitati ha consentito il loro largo impiego in molte applicazioni, favorito soprattutto dai notevoli vantaggi offerti da questi dispositivi e dalla loro adattabilità a diversi contesti e situazioni senza significativi cambiamenti nel design della struttura. La possibilità di effettuare test non invasivi tramite l'impiego di sensori interdigitati ha costituito un ulteriore incentivo al loro uso, specialmente in campo biologico e biomedico. Solitamente i sensori interdigitati sono utilizzati per misurare costante dielettrica, capacità e conduttività in diversi mezzi. Il tipo di applicazione determina la scelta di opportuni materiali per la realizzazione degli elettrodi e dei substrati.

In letteratura sono presenti molti studi che sperimentano l'uso di sensori interdigitati in diversi settori, tra cui quello ambientale, biomedico, industriale.

Afsarimanesh *et al.* hanno presentato un sensore interdigitato capacitivo funzionalizzato con anticorpi artificiali per la diagnosi precoce della perdita ossea tramite il monitoraggio del telopeptide C-terminale del collagene di tipo 1 (CTx-1) nel siero o nelle urine. Sono state valutate le proprietà resistive e capacitive delle soluzioni campione tramite spettroscopia d'impedenza elettrochimica. [43]

La spettroscopia di impedenza è stata utilizzata come metodo diagnostico anche da Chen and Guo, che hanno sviluppato un sensore interdigitato con lo scopo di monitorare la densità delle cellule cancerose in campioni acquosi [44].

Lee *et al.* hanno sviluppato un patch indossabile in grafene per il monitoraggio della glicemia tramite sudore. Il dispositivo è costituito da grafene e oro che formano un'interfaccia elettrochimica capace di trasferire segnali elettrici [45].

In campo ambientale, è stato mostrato un particolare interesse per il monitoraggio della qualità dell'aria, dell'acqua o del suolo. Da tempo è comune l'impiego di sensori

interdigitati per la misura dell'umidità atmosferica, dato il loro facile design e il basso costo di fabbricazione, affiancato all'affidabilità delle misure. Rivadeneyra *et al.* hanno riportato dei sensori di umidità piccoli, economici e flessibili costituiti da elettrodi interdigitati d'argento prodotti con stampante a getto d'inchiostro su un film di poliimmide, capace di assorbire l'umidità, che quindi funziona da elemento sensibile del dispositivo [46]. Il controllo della qualità dell'acqua viene effettuato monitorandone le proprietà fisiche e chimiche, come temperatura, torbidità, pH, ossigeno disciolto e nutrienti. La scelta di sensori interdigitati risulta indicata a questo scopo in quanto si tratta di sistemi adatti alla misurazione in situ, al rilevamento di reazioni rapide e sono sistemi dotati di elevata durabilità [47].

Alahi *et al.* hanno condotto una ricerca sulla progettazione e lo sviluppo di un sensore interdigitato planare, basato su spettroscopia d'impedenza elettrochimica, per il monitoraggio della concentrazione di nitrati nelle acque superficiali e sotterranee. In questo studio viene proposta un'alternativa economica ai sensori commerciali tipicamente in uso, che oltre al costo ingente presentano delle limitazioni sulla concentrazione di rilevamento, in quanto non sono in grado di rilevare concentrazioni di nitrato inferiori a 1 mg/L. Il sensore è stato sviluppato con l'obiettivo di un rilevamento in continuo del nitrato nelle acque, per comprenderne le variazioni stagionali nei corsi d'acqua [48].

L'impiego dei sensori interdigitati per applicazioni industriali è aumentato considerevolmente negli ultimi anni. L'uso di questi dispositivi si è rivelato efficiente sia per scopi che richiedevano sensori flessibili sia per quelli che necessitavano di sensori miniaturizzati. Uno studio di Gräbner *et al.* ha utilizzato sensori interdigitati flessibili come sensori di pressione. Il sensore è stato realizzato con un inchiostro intrinsecamente sensibile alla pressione, serigrafato su elettrodi interdigitati su un substrato flessibile. Grazie alla sua struttura, il sensore è adatto a misure su superfici curve e ben si presta all'integrazione nei materiali in modo minimamente invasivo [49].

Dos Santos-Neto *et al.* hanno utilizzato la spettroscopia d'impedenza elettrochimica per determinare la presenza di additivi nelle miscele di diesel e biodiesel. Le analisi sono state condotte senza la necessità di pretrattamenti della miscela, inoltre gli elettrodi interdigitati usati per la misura sono riutilizzabili in una serie di applicazioni, tra cui ad esempio la valutazione della purezza e della contaminazione del diesel, senza cambiamenti nel design. Il metodo proposto costituisce quindi una valida alternativa, certamente più economica, alla metodologia ufficiale adottata dall'Agenzia Nazionale del Petrolio, del Gas naturale e dei Biocarburanti (ANP) per valutare la qualità delle miscele di diesel e biodiesel e la composizione di altri liquidi pseudo-binari [50].

In ambito alimentare è in crescita l'utilizzo di sensori interdigitati per il controllo della qualità degli alimenti, la crescita di microrganismi e la caratterizzazione degli alimenti. I metodi convenzionali per il rilevamento di batteri patogeni solitamente comportano la coltura microbiologica e l'isolamento del patogeno, seguiti da test biochimici o sierologici. Tali metodi richiedono molto tempo e manodopera, che li rendono inadatti all'uso in un laboratorio industriale. Di conseguenza nasce la necessità di sviluppare degli approcci più rapidi, ma allo stesso tempo accurati, per il rilevamento di agenti patogeni [51]. Ghosh Dastider *et al.* hanno valutato un biosensore di impedenza basato su un array di elettrodi interdigitati per il rilevamento rapido di *Salmonella typhimurium*. Il biosensore consente il rilevamento quantitativo e qualitativo del batterio grazie all'immobilizzazione sulla superficie degli elettrodi dell'anticorpo specifico per la Salmonella. Offre il vantaggio della riutilizzabilità ed è un dispositivo potenzialmente adattabile al rilevamento di altri tipi di batteri con l'adeguata funzionalizzazione degli elettrodi [52].

Anche Yang, Li and Erf hanno sfruttato la misura dell'impedenza risultante delle cellule batteriche adese sulla superficie dell'elettrodo, per valutare il numero, la crescita e la morfologia delle cellule aderenti. In particolare, viene descritto un immunosensore di impedenza elettrochimica senza etichetta che utilizza in microelettrodo interdigitato per il rilevamento rapido di *Escherichia coli* O157:H7 [51].

## 1.8. Sensori indossabili

Lo sviluppo di sensori elettronici riproducibili su substrati non convenzionali, non planari e conformabili ha permesso la loro applicazione in diversi ambiti. In particolare, i sensori indossabili hanno suscitato interesse per la loro capacità di monitorare lo stato di salute umano in tempo reale. I sensori indossabili possono essere incorporati in capi tessili, accessori di abbigliamento, oppure tatuati sulla pelle o stampati su substrati flessibili e facilmente modellabili. Questi sensori vengono utilizzati per scopi clinici, in quanto sono in grado di misurare la pressione sanguigna, la temperatura corporea, il contenuto di glucosio nel sangue, il contenuto di ossigeno e altri parametri biologici. L'opportunità di indossare il sensore fornisce la possibilità di effettuare misure lunghe e costanti di specifici indicatori vitali, al di fuori di laboratori o ambienti clinici.

Gli scenari sportivi rappresentano una delle categorie trainanti per l'utilizzo di sensori indossabili, dal momento che il monitoraggio continuo dell'atleta dà indicazioni sulle prestazioni fisiche e sulle condizioni fisiologiche.

A livello commerciale, sono ampiamente in uso i glucometri portatili, utilizzati principalmente da pazienti affetti da diabete per il rilevamento continuo del glucosio nel sangue. I glucometri hanno guadagnato notevole rilevanza grazie alle caratteristiche di economicità e semplicità d'uso; i dati raccolti, infatti, non necessitano di competenze avanzate per essere interpretati dall'utente.

Nell'ottica di soddisfare il bisogno di nuove tecnologie che consentano misure costanti e di lunga durata, conformabili e non invasive per il monitoraggio e lo studio della salute umana, sono state condotte molte ricerche e sono stati ideati diversi tipi di sensori indossabili per il rilevamento di indici e parametri associabili a patologie differenti. A tal proposito, uno studio degno di interesse è quello di Godoy e collaboratori [53] che, data la crescente insorgenza dei tumori cutanei dovuti all'esposizione ai raggi ultravioletti, hanno creato un dispositivo integrato a un cappello, a basso costo, per misurare la temperatura, l'umidità, e la luce UV. Le informazioni ricavate, elaborate da un dispositivo mobile, forniscono un segnale di allarme all'utente qualora le condizioni a cui è esposto non siano adeguate all'organismo. Anche Ciui et al. [54] hanno focalizzato la loro ricerca sulla prevenzione del cancro della pelle implementando un biosensore elettrochimico stampato serigraficamente su una benda pieghevole.

Sono stati sviluppati sensori che monitorano l'alterazione del respiro, ad esempio quello di Caccami e collaboratori è una maschera facciale con sensore in radio frequenze integrato che controlla i cicli inalazione/esalazione [55]. Un sensore integrato in una maschera è stato sviluppato anche da Maier et al. per il rilevamento del biomarcatore  $H_2O_2$  nel respiro, indice di problemi ai polmoni. Si tratta di un sensore elettrochimico serigrafato su substrato di carta [56].

Le tecnologie indossabili si differenziano tra loro sia per il tipo di misura che viene effettuata, sia per la modalità con cui il dispositivo viene indossato, che può essere sotto forma di capo di vestiario formato da fibre tessili ingegnerizzate [57] oppure sensori integrati in collane, bracciali, indumenti sportivi. Inoltre, sono diffusi anche sensori chimici

impiantabili, realizzati con materiali compatibili con l'epidermide [58], utilizzati spesso per monitoraggio delle fluttuazioni della temperatura corporea o di interi organi [59]. I parametri cruciali per le diagnosi preventive o quelli indicativi dello stato di salute giornaliero sono molteplici e per avere un quadro completo e dettagliato occorre raccogliarli e analizzarli tutti. Per questo motivo sono stati sviluppati dei dispositivi che controllano contemporaneamente più indicatori, affiancando misure fisiche, come temperatura e pressione, a rilevamenti chimici di composti organici, come glucosio [60], lattato [61], acido urico [62], o di ioni inorganici nei fluidi corporei, come  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ , i quali svolgono una funzione regolatoria nel corpo umano. Yetisen *et al.* [63] hanno proposto un bio-sensore colorimetrico sotto forma di tatuaggio realizzato con inchiostri funzionalizzati, per il rilevamento di pH, glucosio e albumina. Bandodkar e collaboratori [64] hanno creato un sensore indossabile privo di batteria che analizza pH, lattato, glucosio e cloruri nel sudore attraverso test elettrochimici, colorimetrici e volumetrici simultanei, così da assicurare la prestazione ottimale del sistema.

## 1.9. Idratazione

Un'adeguata idratazione giornaliera è essenziale per le funzioni cerebrali e fisiche; tra queste si distinguono l'abilità a mantenere alti livelli di attenzione ed energia, la regolazione della temperatura corporea, l'assorbimento di nutrienti e l'eliminazione di tossine [65]. Il livello di idratazione è fortemente influenzato da molti fattori, tra cui l'assunzione di acqua, la sete, le condizioni di salute di una persona, la frequenza della minzione, la temperatura corporea. Un'alterazione negativa del livello di idratazione provoca il problema della disidratazione, che genera conseguenze all'organismo che compromettono lo stato di salute dell'individuo. Alcuni sintomi della disidratazione sono la secchezza delle mucose, secchezza ascellare, tachicardia, scarso turgore cutaneo, bassa pressione sanguigna, alterazione del colore delle urine e in alcuni casi vertigini. Normalmente le persone percepiscono la sensazione di sete quando stanno andando incontro a disidratazione ma ciò non avviene nelle persone affette da adipsia, condizione per cui non si avverte la normale pulsione di sete. L'invecchiamento colpisce le normali funzioni fisiologiche, incluse la sensazione di fame e di sete. Il rischio di un inadeguato apporto di liquidi è maggiore laddove l'anziano sia affetto da malattie cognitive come demenza, Alzheimer o morbo di Parkinson. La disidratazione è pertanto una condizione comune nei soggetti anziani ed è associata all'insorgenza di malattie croniche, tra cui costipazione, iperglicemia diabetica, urolitiasi, asma, malattie cardiovascolari, rischio di infezioni. Da queste motivazioni nasce l'esigenza di monitorare lo stato di idratazione, soprattutto in quelle strutture addette all'assistenza di pazienti anziani, il cui stato di disidratazione viene spesso utilizzato come indicatore della qualità dell'assistenza. Nel 2009 l'Agenzia per la ricerca e la qualità sanitaria (AHRQ) ha indicato la disidratazione come una delle venti maggiori cause di ospedalizzazione [66].

Esistono diversi marcatori dello stato di idratazione, ognuno misurato con metodi specifici, che vengono scelti in base al contesto e alla necessità. La perdita di acqua avviene tramite il sistema urinario, il sistema respiratorio, tramite la pelle, sudando e anche mediante il sistema gastrointestinale con feci e vomito. L'acqua viene invece guadagnata dall'organismo tramite il cibo e le bevande ma anche dalla produzione metabolica delle sue molecole.

La disidratazione è diagnosticata tramite la valutazione dei cambiamenti fisici e cellulari che avvengono come conseguenza dello sbilancio fluidico. I cambiamenti cellulari riguardano i livelli di sodio e potassio nel plasma sanguigno, azoto ureico nel sangue,

gravità specifica nelle urine e della creatinina, un indicatore della funzionalità renale. Questi cambiamenti possono essere rilevati tramite analisi del sangue e delle urine.

L'analisi del sangue consente di valutare lo stato di idratazione tramite la misura della concentrazione di sodio nel plasma o nel siero e l'osmolalità. Questi parametri aumentano in condizioni di disidratazione. La valutazione dell'osmolalità plasmatica risulta un buon marker per valutare i cambiamenti di idratazione acuti ma non è adeguata a valutare lo stato di idratazione cronica, dal momento che dipende da molti altri fattori e cambia costantemente [67].

L'analisi dell'osmolalità delle urine e la misura della gravità specifica sono stati catalogati tra i metodi di rilevamento della condizione idrica dell'individuo. Il colore delle urine è dovuto al quantitativo di urocromo presente in esse; esso conferisce un colore più o meno scuro all'urina in base al volume di liquido in cui è disciolto, per cui un volume maggiore di liquido implica una minor concentrazione e di conseguenza un colore più chiaro. È stata determinata una relazione lineare tra il colore delle urine, la gravità specifica e l'osmolalità pertanto una valutazione visiva delle urine potrebbe essere sufficiente per la stima dell'idratazione, in contesti dove non è richiesta una particolare precisione [68].

Studi condotti su grandi popolazioni [69] hanno identificato i parametri urinari come buoni indicatori dello stato di idratazione. Sebbene la raccolta di campioni di urina sia non invasiva ed economica e le misure dei marcatori urinari possano essere eseguite rapidamente e senza elevate competenze tecniche, questo metodo non è l'opzione ottimale nella valutazione dell'idratazione individuale degli anziani, a causa degli elevati costi delle analisi delle urine e della difficoltà nel raccogliere campioni di urina completi da parte di soggetti con mobilità compromessa.

Il metodo più comune per la diagnosi della disidratazione è la valutazione della perdita di liquidi corporei in base al cambiamento di peso. Una brusca variazione del peso corporeo in un breve periodo, infatti, è dovuta necessariamente a una perdita o un guadagno di acqua, dal momento che nessun altro componente corporeo potrebbe essere perso a una tale velocità. Il controllo della variazione della massa corporea durante sessioni di allenamento consente di determinare la perdita di acqua avvenuta con la sudorazione [68]. Questo metodo presenta delle limitazioni legate alla necessità di due misure effettuate in due diversi istanti, che preclude la valutazione immediata [70].

Il contenuto totale di acqua nel corpo può essere monitorato grazie all'uso di traccianti, che attualmente si affermano come la metodologia più usata e dettagliata per questo tipo di rilevamento. Uno dei traccianti più utilizzati è l'ossido di deuterio. Si stima che l'acqua corporea tracciata con ossido di deuterio venga misurata con una precisione dell'1-2% [68].

L'analisi di impedenza bioelettrica (BIA) determina lo stato di idratazione attraverso l'identificazione dell'acqua corporea e cellulare. Questo tipo di analisi è consigliato in quanto si tratta di un metodo sicuro, non invasivo, affidabile ed efficiente per misurare la composizione corporea. Attraverso la superficie degli elettrodi che introduce una piccola quantità di corrente elettrica nel corpo, la BIA misura la resistenza o l'impedenza del corpo a questa corrente. Essendo l'acqua un conduttore di corrente elettrica, la disidratazione aumenta la resistenza corporea alla corrente. Nella BIA a multifrequenze viene applicata una corrente a differenti frequenze e viene sfruttata la maggiore conduttività dell'acqua rispetto alle altre componenti, per determinarne il suo volume [68]. Tuttavia, i dispositivi basati sull'impedenza bioelettrica necessitano di una regolare calibrazione, che impongono alcuni parametri di input, come età, altezza e peso. Questo rappresenta un ostacolo per l'impiego di questi dispositivi su larga scala [71]. L'analisi dell'impedenza bioelettrica può

essere utile per valutare e monitorare lo stato di idratazione nelle strutture di assistenza a lungo termine.

### **1.10. Sistemi e dispositivi per il monitoraggio dell'idratazione**

I metodi comunemente usati nelle analisi di laboratorio, come quelli precedentemente citati, seppur raggiungano un livello di accuratezza tra l'1% e il 2%, richiedono spesso la presenza di personale clinico con competenze specifiche e i risultati non sono immediati.

In letteratura sono proposti numerosi studi riguardanti tecniche che permettono di monitorare l'assimilazione di liquidi di un individuo. I vari dispositivi possono essere catalogati in diverse categorie, ad esempio dispositivi indossabili, sensori integrati in superfici, approcci ottici o acustici, o ancora sensori integrati in contenitori o bottiglie. Alcuni studi hanno valutato l'approccio inerziale costruendo dei sensori da polso che controllassero il movimento associato all'azione di bere. Il sensore inerziale è solitamente combinato ad algoritmi di machine learning che distinguono e riconoscono l'azione compiuta dall'individuo. Tuttavia, è stato notato come questo metodo fornisca risultati poco accurati e privi di una stima volumetrica dei liquidi assunti, evidenziando che la precisione del metodo inerziale viene facilmente compromessa da movimenti artefatti del polso [72]. Le superfici, come tavoli o tovaglette, provviste di sensori sono state prese in considerazione per il controllo dell'assunzione di liquidi e cibo durante i pasti. Queste soluzioni utilizzano celle di carico, resistori sensibili alla forza, o tappetini di pressione per misurare il peso e la sua distribuzione [73]. Questo tipo di tecnologia non permette un monitoraggio continuo, durante l'intera giornata, dell'assunzione di liquidi ma solo in contesti circostanziati all'utilizzo della superficie ingegnerizzata. I dispositivi di visione, come telecamere, sia ambientali che indossabili assolvono il ruolo di riconoscimento dell'assunzione di liquidi per via orale con una buona precisione [74], tuttavia, pur fornendo dati sulla quantità di liquido assunto dall'individuo e la frequenza con cui viene assunto, non danno informazioni sullo stato fisiologico dell'organismo.

### **1.11. Sensori per il monitoraggio dell'idratazione**

Il monitoraggio dell'idratazione diventa fondamentale in alcune particolari situazioni, in cui la complessità dell'attività in cui la persona è coinvolta rappresenta un motivo di ostacolo al normale svolgimento della misura. Ad esempio, durante un allenamento, sarebbe utile monitorare lo stato d'idratazione corporea dell'individuo per valutare la sua correlazione con le prestazioni dell'atleta, oppure durante addestramenti militari, o ancora in pazienti con specifiche condizioni fisiologiche che alterano i normali parametri indicatori della condizione idrica della persona. Per questi motivi, i metodi qualitativi, tra cui la valutazione di sintomi visibili dell'individuo, come labbra screpolate, occhi infossati, possono risultare inadatti. In contesti clinici si utilizzano strumenti che misurano le proprietà fisiche della pelle, come conducibilità, capacità, impedenza, conducibilità termica. I sensori d'idratazione si pongono come una valida alternativa alle apparecchiature costose e ingombranti usate per questi scopi, con il vantaggio di essere meccanicamente conformi alla pelle e permettere un monitoraggio continuo e di lunga durata [75].

È stata proposta una grande varietà di tecniche per la misurazione diretta del contenuto corporeo di acqua attraverso misure basate su impedenza bioelettrica, o attraverso analisi chimica della composizione e della concentrazione del sudore [76]. L'impedenza bioelettrica è la tecnica più popolare e convenzionalmente usata. Subisce continuamente delle modifiche e dei miglioramenti, ad esempio sulla disposizione degli elettrodi o

l'integrazione in indumenti indossabili accoppiata con lettura dei dati raccolti tramite comunicazioni wireless [77]. Per l'analisi chimica del sudore, sono stati sviluppati degli elettrodi ione-selettivi con lo scopo di monitorare la concentrazione di ioni indicatori dello stato di disidratazione. Cloro [78] e sodio [79], ad esempio, sono considerati due biomarcatori significativi del livello di idratazione corporea.

Negli ultimi anni lo sviluppo di nanomateriali ha permesso la fabbricazione di elettrodi applicabili direttamente sulla pelle con alti rendimenti in termini di prestazione e precisione. Un esempio di dispositivo indossabile completo, ideato sotto forma di braccialetto, comprende elettrodi nanocompositi di Ag e PDMS che misurano l'impedenza corporea, associati a un intero sistema digitalizzato costituito da un chip analizzatore e modulo Bluetooth, che consente il monitoraggio real-time dei livelli di idratazione del corpo umano [75].

L'impedenza rappresenta uno degli indici più diretti dell'idratazione corporea in quanto il contenuto di acqua influenza fortemente la conducibilità e la permittività della pelle. Ulteriori vantaggi sono i bassi costi di realizzazione dei dispositivi, la loro semplicità, la reperibilità sul mercato e la possibilità di effettuare misure sia in un singolo punto sia tramite configurazioni di mappatura multipunto [80], a seconda delle necessità e dal tipo di dati che si vogliono ottenere dalla misura.

La riuscita e la precisione della misura effettuata tramite sensori indossabili dipendono in modo considerevole dall'efficacia di contatto tra la superficie della pelle, che si presenta curva, morbida e con una propria consistenza caratteristica, e la superficie degli elettrodi metallici, i quali sono comunemente rigidi e planari. Una possibilità, per garantire un contatto ottimale, è quella di incorporare nel dispositivo anche dei sensori di pressione che diano indicazioni dettagliate sul posizionamento del sensore e sulla forza di contatto [81].

Altri sensori epidermici permettono l'integrazione con la pelle tramite un processo di laminazione fisica a secco, guidato da forze di Van der Waals. In questo modo viene garantito un contatto conforme e reversibile che consente al sistema di adattarsi al naturale movimento della pelle [82].

## **1.12. Spettroscopia di impedenza elettrochimica**

La spettroscopia di impedenza elettrochimica (Electrochemical impedance spectroscopy, EIS) è una tecnica di caratterizzazione dei sistemi elettrochimici. Il sistema viene stimolato con un impulso di corrente o tensione di tipo sinusoidale, di ampiezza limitata. Le misure sono effettuate su un intervallo di frequenze tipicamente compreso tra  $10^{-2}$  Hz e  $10^5$  Hz. Quando il campione è stimolato elettricamente si verificano una serie di processi microscopici che si riflettono in una risposta elettrica. Ad ogni frequenza di perturbazione è associata la stimolazione di un fenomeno differente e quindi la stima di un diverso valore di impedenza. Questi fenomeni comprendono il trasporto di massa, processi di trasferimento di carica, adsorbimento, i quali avvengono con differenti cinetiche [83]. Gli spettri d'impedenza sono comunemente interpretati in modo quantitativo approssimando i dati sperimentali con opportuni circuiti elettrici equivalenti.

A seconda del sistema, le misure possono essere effettuate con configurazioni a due, tre o quattro elettrodi. La configurazione a due elettrodi comprende soltanto l'elettrodo di lavoro e il contro elettrodo, quella a tre elettrodi comprende anche un elettrodo di riferimento. La configurazione a quattro elettrodi, oltre all'elettrodo di lavoro e al contro elettrodo, presenta anche due elettrodi di riferimento [83].

Il segnale di eccitazione, espresso in funzione del tempo, ha la forma

$$V_t = V_0 \sin(\omega t) \quad (1.6)$$

dove  $V_t$  è il potenziale all'istante  $t$ ,  $V_0$  è l'ampiezza del segnale e  $\omega$  la frequenza angolare.

La relazione tra la frequenza radiale e la frequenza  $f$  è:

$$\omega = 2\pi f \quad (1.7)$$

In un sistema lineare, il segnale di risposta  $I_t$ , è traslato in fase e ha un'ampiezza diversa da  $I_0$

$$I_t = I_0 \sin(\omega t + \phi) \quad (1.8)$$

L'impedenza del sistema si calcola come

$$Z = \frac{V_t}{I_t} = \frac{V_0 \sin(\omega t)}{I_0 \sin(\omega t + \phi)} = Z_0 \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \phi)} \quad (1.9)$$

Utilizzando la legge di Eulero

$$\exp(j\phi) = \cos\phi + j\sin\phi \quad (1.10)$$

è possibile esprimere l'impedenza come una funzione complessa.

Il potenziale è descritto come

$$V_t = V_0 \exp(j\omega t) \quad (1.11)$$

e la corrente misurata come

$$I_t = I_0 \exp(j\omega t - \phi) \quad (1.12)$$

L'impedenza diventa quindi

$$Z(\omega) = \frac{V_t(\omega)}{I_t(\omega)} = |Z| \exp(j\phi) = |Z|(\cos\phi(\omega) + j\sin\phi(\omega)) = Z_r + jZ_{im} \quad (1.13)$$

dove  $Z_r$  è la parte reale e  $Z_{im}$  è la parte immaginaria.

### 1.12.1. Rappresentazione tramite digrammi di Bode e Nyquist

I risultati delle misure di impedenza vengono rappresentati tramite diagrammi di Bode e Nyquist. La rappresentazione grafica consente un'analisi qualitativa del sistema che porta all'identificazione dei processi elementari coinvolti nel meccanismo.

#### Diagramma di Bode

Nel diagramma di Bode vengono rappresentati il modulo dell'impedenza ( $|Z|$ ) e l'angolo di fase  $\phi$  in funzione della frequenza  $f$ , posizionata sull'asse delle ascisse in scala logaritmica. L'angolo di fase e il modulo sono calcolati a partire dalla parte reale dell'impedenza e da quella immaginaria, come indicato nelle equazioni 1.14 e 1.15.

$$|Z| = \sqrt{Z_{Re}^2(\omega) + Z_{Im}^2(\omega)} \quad (1.14)$$

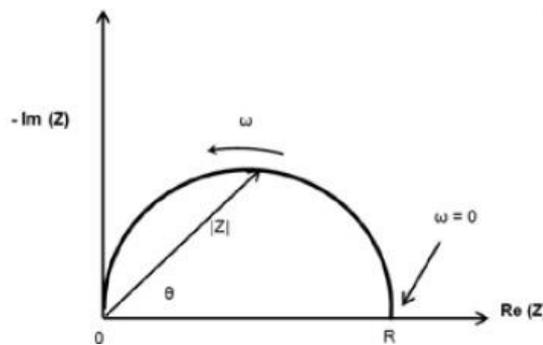
$$\varphi = \arctg\left(\frac{Z_{Im}(\omega)}{Z_{Re}(\omega)}\right) \quad (1.15)$$

La frequenza che impone al segnale di uscita uno sfasamento pari a  $45^\circ$  rispetto a quello d'entrata, o un'attenuazione di  $1/\sqrt{2}$ , essendo la condizione per cui la parte reale dell'impedenza è uguale alla parte immaginaria, è chiamata frequenza di taglio.

Generalmente, l'angolo di fase tende a  $0^\circ$  ad alte frequenze, questo comportamento è dovuto alla resistenza ohmica dell'elettrolita, pertanto si definisce comportamento resistivo. Il comportamento capacitivo è visibile laddove l'angolo di fase tende a  $-90^\circ$ . Quando la fase tende a  $-45^\circ$  indica la presenza di fenomeni diffusivi.

### Diagramma di Nyquist

Il diagramma di Nyquist riporta l'opposto della parte immaginaria dell'impedenza,  $-Z_{im}$ , sull'asse delle ordinate e la parte reale dell'impedenza,  $Z_r$ , sull'asse delle ascisse. Ogni punto del diagramma di Nyquist viene acquisito a un determinato valore di frequenza. L'impedenza può essere rappresentata come un vettore di lunghezza  $|Z|$  e l'angolo tra questo vettore e l'asse delle ascisse corrisponde all'angolo di fase  $\phi$ .



**Figura 1.2:** Diagramma di Nyquist. Immagine tratta da [84].

## 1.13. Modellazione tramite circuiti equivalenti

Le misure d'impedenza possono essere modellizzate mediante un circuito elettrico composto da elementi come resistori, capacitori o induttori, disposti in serie o in parallelo. La modellazione di un circuito equivalente non è univoca, pertanto è importante che ogni elemento circuitale abbia un significato fisico e fornisca un'informazione utile riguardo ai meccanismi di trasferimento che avvengono nel sistema.

### 1.13.1. Resistenza

Nel dominio delle frequenze, la resistenza contribuisce all'impedenza solo nella parte reale:

$$Z_R(\omega) = R \quad (1.16)$$

dove  $Z_{Re}(\omega) = R$  e  $Z_{Im}(\omega) = 0$

La resistenza è utilizzata per descrivere processi irreversibili come il trasferimento di carica all'interfaccia, il trasferimento di massa, la resistenza del conduttore ionico e del conduttore elettronico. La resistenza della soluzione tra gli elettrodi dipende dalla concentrazione ionica, dal tipo di ioni, temperatura e geometria dell'area che viene attraversata dalla corrente. la resistenza del conduttore ionico è talvolta espressa come conducibilità specifica (conduttività  $\sigma$ ).

### 1.13.2. Capacità

La capacità, nel dominio delle frequenze, contribuisce all'impedenza solo nella parte immaginaria, ed è definita come:

$$Z_C(\omega) = 1/j\omega C \quad (1.17)$$

L'impedenza dovuta a una capacità diminuisce all'aumentare della frequenza.

La capacità descrive processi di tipo reversibile come la polarizzazione di un dielettrico o l'accumulo di carica. All'interfaccia tra la superficie dell'elettrodo e la soluzione, gli ioni carichi vengono attratti dalla superficie carica dell'elettrodo, formando un doppio strato. Questo doppio strato ha un comportamento capacitivo che dipende da vari fattori come il tipo di ioni, temperatura, materiale e potenziale dell'elettrodo.

### 1.13.3. Induttanza

Il contributo all'impedenza di un induttore è dato da:

$$Z_L(\omega) = j\omega L \quad (1.18)$$

L'impedenza aumenta all'aumentare della frequenza. In una cella elettrochimica l'induttanza è causata dall'adsorbimento di specie sulla superficie dell'elettrodo.

### 1.13.4. Impedenza di Warburg e CPE

I dati d'impedenza non possono essere sempre descritti da circuiti elettrici composti da elementi ideali; pertanto, si utilizzano appositi elementi circuitali come, ad esempio, l'impedenza di Warburg e l'elemento a fase costante (CPE, ovvero Constante phase element).

L'elemento di Warburg descrive fenomeni di diffusione che possono instaurarsi quando all'interfaccia avviene una reazione redox. L'impedenza di Warburg dipende dalla frequenza del potenziale di perturbazione. Ad alte frequenze i reagenti capaci di diffondere si muovono molto poco quindi l'impedenza di Warburg è piccola mentre a basse frequenze è più alta perché le specie possono diffondere con maggiore facilità [85]. L'equazione dell'impedenza "infinita" di Warburg è:

$$Z_w = \sigma(\omega)^{-\frac{1}{2}}(1 - j) \quad (1.19)$$

La parte reale dell'impedenza e quella immaginaria sono uguali

$$Re(Z_w) = Im(Z_w) = \sigma/\sqrt{\omega} .$$

Il coefficiente di Warburg  $\sigma$  è uguale a

$$\sigma = \frac{RT}{n^2 F^2 A \sqrt{2}} \left[ \left( \frac{1}{C^* o D_o^{\frac{1}{2}}} \right) + \left( \frac{1}{C^* R D_R^{\frac{1}{2}}} \right) \right] \quad (1.20)$$

In cui

$\omega$  = frequenza radiale

$D_o$  = coefficiente di diffusione della specie ossidante

$D_R$  = coefficiente di diffusione della specie riducente

A = superficie dell'elettrodo

n = numero di elettroni coinvolti

Lo sfasamento dell'impedenza di Warburg è di 45° [86].

L'elemento a fase costante (CPE) serve a descrivere fenomeni legati alla porosità e rugosità, allo spessore, alla composizione dell'elettrodo, alla distribuzione non uniforme della corrente e a reazioni chimiche dell'elettrodo [85]. L'impedenza è espressa come

$$Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^\alpha Q} \quad (1.21)$$

dove Q è un fattore di proporzionalità e  $\alpha$  rappresenta la variazione di fase.

L'esponente  $\alpha$  assume valori minori di 1. Quando  $\alpha = 1$  si ricade nel caso di un condensatore ideale  $C=Q$ , se  $\alpha = 0$  si ricade nel caso di una resistenza ideale con  $R = \frac{1}{Q}$ , se  $\alpha = 0.5$ , si ottiene l'impedenza di Warburg con  $A = \frac{1}{Q}$ , infine per  $\alpha = -1$  il CPE assume la forma di un'induttanza, per cui  $L=Q$ .

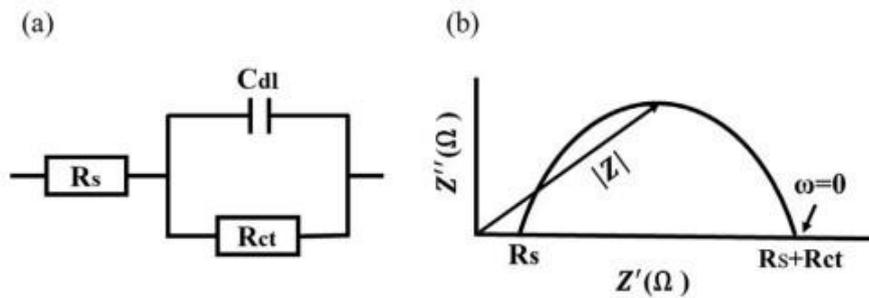
**Tabella 1. 1:** Elementi principali del circuito equivalente

| Elemento           | Impedenza                      | Ammettenza            |
|--------------------|--------------------------------|-----------------------|
| <b>R</b>           | R                              | $\frac{1}{R}$         |
| <b>C</b>           | $\frac{1}{j\omega C}$          | $j\omega C$           |
| <b>L</b>           | $j\omega L$                    | $\frac{1}{j\omega L}$ |
| <b>W (Warburg)</b> | $\frac{1}{Q\sqrt{j\omega}}$    | $Q\sqrt{j\omega}$     |
| <b>CPE</b>         | $\frac{1}{(j\omega)^\alpha Q}$ | $(j\omega)^\alpha Q$  |

## 1.14. Esempi di circuiti equivalenti

### 1.14.1. Circuito di Randles

Il circuito di Randles è il più semplice e comune modello di un'interfaccia elettrochimica. Esso è composto da una resistenza che corrisponde a quella esercitata dalla soluzione  $R_{el}$ , da una capacità corrispondente al doppio strato elettrico  $C_{dl}$  e una resistenza corrispondente alla resistenza al trasferimento di carica  $R_{ct}$ . Il diagramma di Nyquist per un circuito Randles è un semicerchio. Ad alte frequenze l'impedenza tende a coincidere con la resistenza della soluzione  $R_{el}$ , mentre a basse frequenze il contributo capacitivo di  $C_{dl}$  è molto piccolo e l'impedenza tende al valore  $R_{el} + R_{ct}$ . Il diametro del semicerchio è pari alla resistenza dovuta al trasferimento di carica.

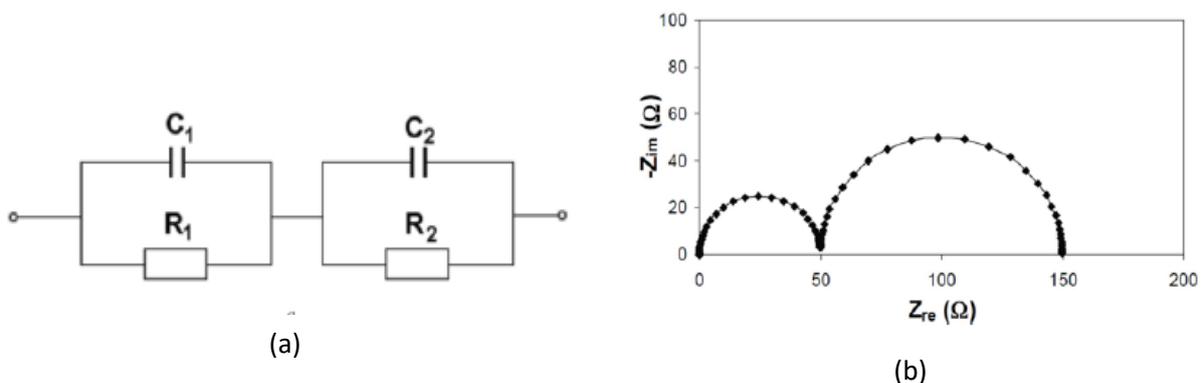


**Figura 1.3:** a) Circuito di Randles e b) diagramma di Nyquist corrispondente. Immagine tratta da [87].

### 1.14.2. Circuiti RC in serie

Questo tipo di circuito equivalente è generalmente utilizzato per descrivere celle elettrochimiche formate da elettroliti solidi. Nel diagramma di Nyquist appaiono in questo caso due semicerchi, ciascuno corrispondente alla costante di tempo dei due circuiti RC [88]. L'impedenza di due circuiti RC in serie è così definita:

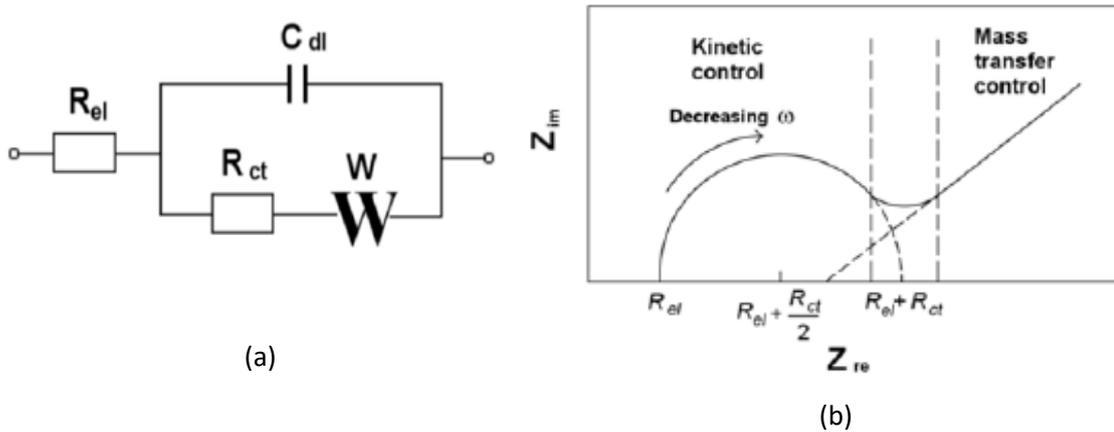
$$Z(\omega) = Z_1(\omega) + Z_2(\omega) = \frac{R_1}{1+(\omega\tau_1)^2} + \frac{R_2}{1+(\omega\tau_2)^2} - j \left( \frac{\omega R_1 \tau_1}{1+(\omega\tau_1)^2} + \frac{\omega R_2 \tau_2}{1+(\omega\tau_2)^2} \right) \quad (1.22)$$



**Figura 1.4:** a) Circuito equivalente con due RC in serie e b) diagramma di Nyquist corrispondente. Immagine tratta da [88].

### 1.14.3. Circuito con impedenza di Warburg

Quando sono presenti fenomeni diffusivi, viene inserito nel circuito un elemento di Warburg che modelli l'impedenza al trasporto di materia. Nel diagramma di Nyquist l'elemento di Warburg corrisponde a una retta con coefficiente angolare 1 a basse frequenze. All'aumentare della velocità del trasferimento elettronico la  $R_{ct}$  sarà via via più piccola e quindi trascurabile rispetto all'impedenza di Warburg. Al contrario, per una  $R_{ct}$  molto piccola la zona diffusiva può risultare difficilmente visibile a basse frequenze [84].



**Figura 1.5:** a) Circuito equivalente con impedenza di Warburg e b) corrispondente diagramma di Nyquist. Immagine tratta da [84].



## 2. Materiali e metodi

### 2.1. Struttura del sensore

Tutti i sensori che sono stati caratterizzati durante il lavoro di tesi sono stati realizzati tramite la tecnica di stampa a getto d'inchiostro, utilizzando la stampante Dimatix DMP 2850 (FUJIFILM Dimatix, Inc., Santa Clara, California (USA)). Come substrato è stato scelto un foglio di poliimmide (Kapton, Dupont) avente uno spessore di 30  $\mu\text{m}$ . La poliimmide è un materiale particolarmente adatto alle applicazioni di elettronica stampata in quanto presenta eccellenti proprietà termiche, elettriche, meccaniche e chimiche. Inoltre, l'adesione dell'inchiostro a questo substrato durante la stampa risulta essere ottimale e presenta una buona stabilità anche dopo l'indurimento. Il basso spessore dello strato depositato favorisce la flessibilità del sensore e la sua conformabilità alla pelle.

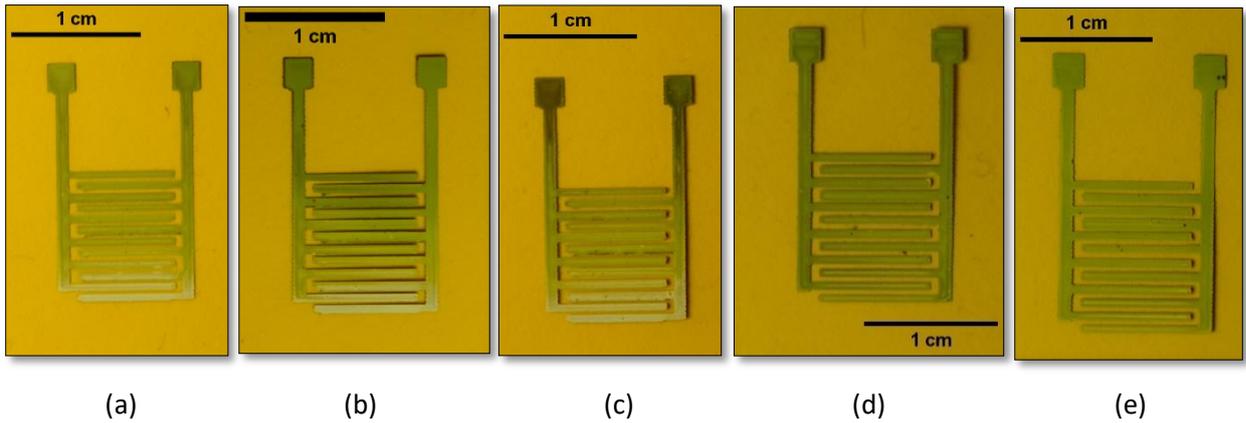
L'inchiostro usato per la realizzazione dei sensori è un inchiostro d'argento (Sicrys™ I40DM-106 acquistato da PVNanocell, Israel). Si tratta di un inchiostro conduttivo ingegnerizzato, finalizzato all'utilizzo nella stampa a getto d'inchiostro, costituito da nanoparticelle d'argento a singolo cristallo disperse in etere monometilico di glicole etilenico (DGME). Dopo lo stampaggio i sensori sono stati trattati su una piastra calda per 30 minuti alla temperatura di 250°C. Per evitare contaminazioni, prima dell'utilizzo i sensori sono stati mantenuti all'interno di una glove box.

Sono stati forniti 16 sensori, di cui 6 di forma circolare e i restanti 10 di forma rettangolare, con rapporto lunghezza/larghezza variabile.

Per misurare l'area di ciascun sensore è stata utilizzata una tecnica di imaging. Le fotografie dei sensori sono state acquisite ed elaborate tramite il software ImageJ [89], basato sul machine learning. L'utente fornisce come input la distinzione tra sezioni dell'immagine appartenenti all'oggetto di cui si vuole calcolare l'area e sezioni appartenenti allo sfondo. A questo punto il programma elabora l'immagine distinguendo le diverse aree della fotografia, attribuendogli pixel di colore diverso. Al termine si ottiene un'immagine binarizzata che riporta informazioni sulla dimensione totale dell'immagine, il numero totale di pixel e il numero di pixel di ciascun colore.

La misura dell'area dell'elettrodo è influenzata dalla variabilità della forma dell'elettrodo, dovuta alla precisione della stampa ma anche dall'accuratezza con cui il software riesce a distinguere il profilo dell'elettrodo dal resto dello sfondo.

Per alcune geometrie, sono state fornite più copie dello stesso sensore, quindi aventi la stessa area. Il rilevamento dell'area tramite imaging ha fornito risultati con minime variazioni tra una copia e l'altra. Questo margine di errore può essere attribuito ad imprecisioni della stampa oppure a imprecisioni nel riconoscimento di piccole porzioni dell'area dell'elettrodo da parte del software d'imaging. Tenendo conto di questa variabilità è stata considerata come area effettiva quella calcolata come media tra le aree di tutte le copie. In figura 2.1 sono mostrate le copie di uno stesso sensore, denominati con le lettere a,b,c,d,e.



**Figura 2.1:** Copie di sensori aventi la stessa area teorica

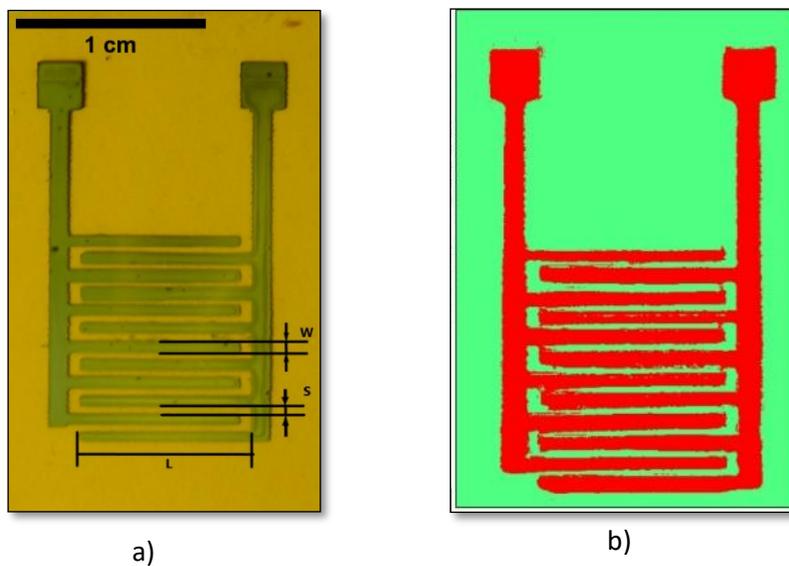
Nella Tabella 2. 1 sono riportate tutte le aree calcolate per ciascuna stampa del sensore A, la media delle aree e l'area di un singolo elettrodo.

**Tabella 2. 1:** Area di ciascuna copia del sensore A, area media calcolata e area dell'elettrodo.

| Sensore A               | a    | b    | c    | d    | e    | Media | Area elettrodo |
|-------------------------|------|------|------|------|------|-------|----------------|
| Area [cm <sup>2</sup> ] | 1,11 | 1,22 | 1,08 | 1,00 | 1,17 | 1,12  | 0,56           |

Le figure 2.2, 2.3, 2.4 e 2.5 mostrano 4 esempi di sensori di diversa geometria. A ciascuno di essi sono associate delle tabelle contenenti delle grandezze descrittive dell'immagine.

Sensore A

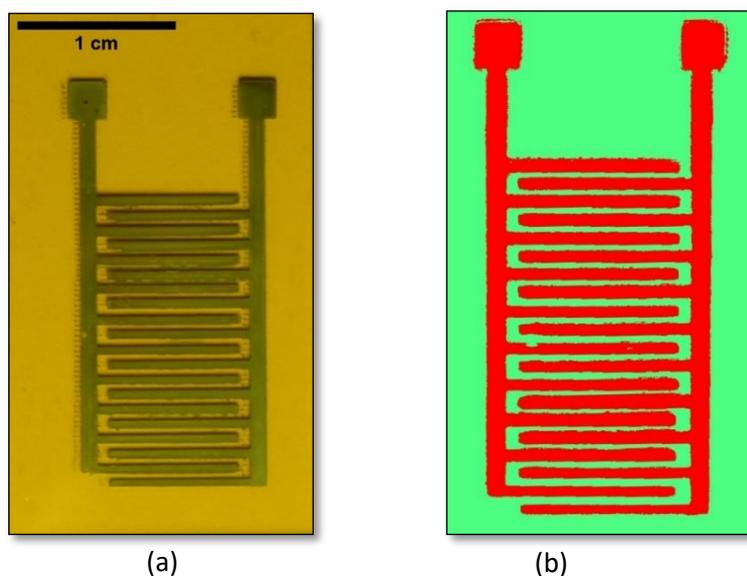


**Figura 2. 2:** Sensore A (a) e corrispondente immagine acquisita tramite ImageJ (b).

**Tabella 2. 2:** Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore A

|                          |        |  |       |               |      |
|--------------------------|--------|--|-------|---------------|------|
| <b>Tot pixel</b>         | 239592 | <b>Area immagine [cm<sup>2</sup>]</b>  | 2,849 | <b>W [cm]</b> | 0,06 |
| <b>Rosso</b>             | 83761  | <b>Area sensore [cm<sup>2</sup>]</b>   | 0,996 | <b>L [cm]</b> | 0,89 |
| <b>Verde</b>             | 155831 | <b>Area elettrodo [cm<sup>2</sup>]</b> | 0,498 | <b>S [cm]</b> | 0,04 |
| <b>Frazione di rosso</b> | 0,3496 |  |       |               |      |

Sensore B

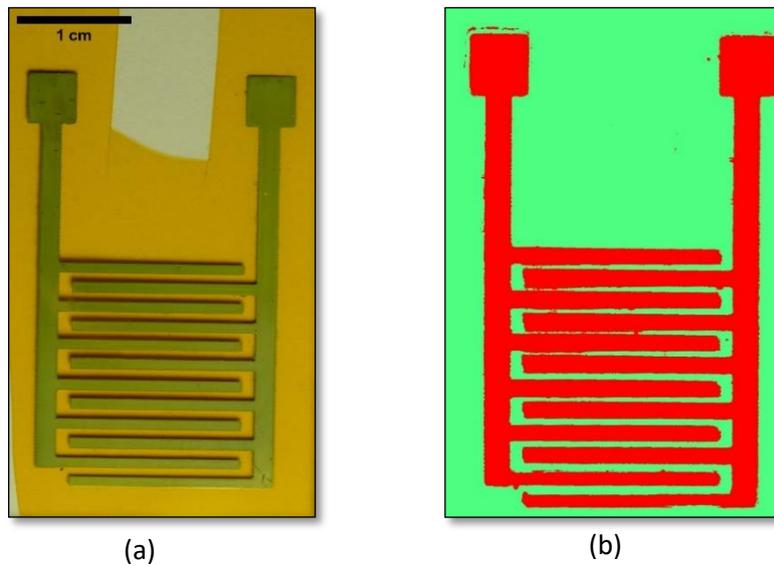


**Figura 2. 3:** Sensore B (a) e corrispondente immagine acquisita da ImageJ (b)

**Tabella 2. 3:** Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore B

|                          |        |  |       |               |      |
|--------------------------|--------|--|-------|---------------|------|
| <b>Tot pixel</b>         | 402804 | <b>Area immagine [cm<sup>2</sup>]</b>  | 4,881 | <b>W [cm]</b> | 0,06 |
| <b>Rosso</b>             | 156719 | <b>Area sensore [cm<sup>2</sup>]</b>   | 1,899 | <b>L [cm]</b> | 0,89 |
| <b>Verde</b>             | 246085 | <b>Area elettrodo [cm<sup>2</sup>]</b> | 0,950 | <b>S [cm]</b> | 0,05 |
| <b>Frazione di rosso</b> | 0,3891 |  |       |               |      |

## Sensore C

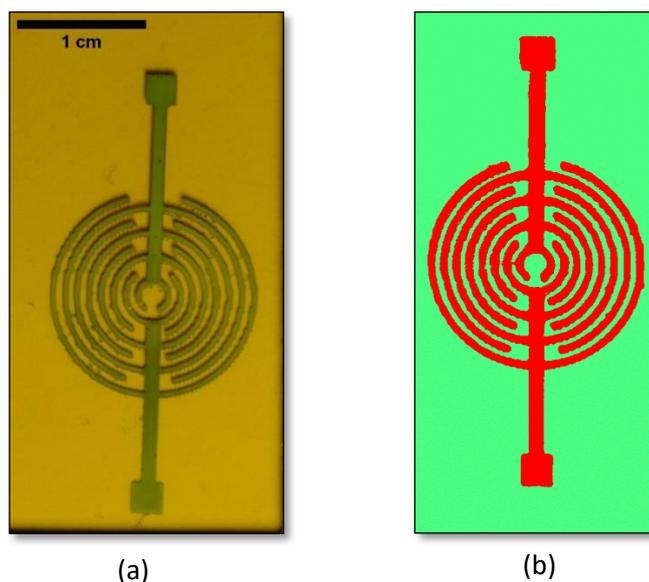


**Figura 2. 4:** *Sensore C (a) e corrispondente immagine acquisita da ImageJ (b)*

**Tabella 2. 4:** *Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore C.*

|                          |        |  |        |               |       |
|--------------------------|--------|--|--------|---------------|-------|
| <b>Tot pixel</b>         | 928256 | <b>Area immagine [cm<sup>2</sup>]</b>  | 11,189 | <b>W [cm]</b> | 0,087 |
| <b>Rosso</b>             | 358500 | <b>Area sensore [cm<sup>2</sup>]</b>   | 4,321  | <b>L [cm]</b> | 1,618 |
| <b>Verde</b>             | 569756 | <b>Area elettrodo [cm<sup>2</sup>]</b> | 2,160  | <b>S [cm]</b> | 0,072 |
| <b>Frazione di rosso</b> | 0,3862 |  |        |               |       |

## Sensore D



**Figura 2. 5:** *Sensore D (a) e corrispondente immagine acquisita da ImageJ (b).*

**Tabella 2. 5:** *Dimensioni caratteristiche dell'immagine del sensore D*

|                          |         |  |       |               |      |
|--------------------------|---------|--|-------|---------------|------|
| <b>Tot pixel</b>         | 5401080 | <b>Area immagine [cm<sup>2</sup>]</b>  | 7,029 | <b>W [cm]</b> | 0,05 |
| <b>Rosso</b>             | 124188  | <b>Area sensore [cm<sup>2</sup>]</b>   | 1,499 | <b>R [cm]</b> | 0,81 |
| <b>Verde</b>             | 450012  | <b>Area elettrodo [cm<sup>2</sup>]</b> | 0,749 | <b>S [cm]</b> | 0,05 |
| <b>Frazione di rosso</b> | 0,2129  |  |       |               |      |

### **2.2. Strumentazione e caratterizzazione elettrochimica**

Le misure EIS sono state eseguite utilizzando il potenziostato Ivium-n-Stat (Ivium Technologies BV, Netherlands) e gli spettri di impedenza sono stati analizzati tramite il software Iviumsoft (Release 4.1038), utilizzando il modello del circuito equivalente. Le misure di impedenza sono state effettuate con una configurazione a due elettrodi usando un segnale sinusoidale di ampiezza 10 mV.

#### **2.2.1 Misure in soluzione**

Il range di frequenza per le misure condotte in soluzione salina è stato impostato tra  $10^{-2}$  Hz e  $10^5$  Hz, acquisendo dieci punti per decade di frequenza.

Le soluzioni saline sono state realizzate utilizzando KCl e acqua deionizzata, con una concentrazione di KCl di 0,5 mM, 1 mM, 5 mM e 10 mM. Per ogni concentrazione la misura

di impedenza è stata ripetuta 3 volte per ciascun sensore testato. La resistività di ciascuna soluzione è stata misurata con un conduttimetro Mettler Toledo fornito di una sonda LE703.

L'impiego di elettrodi interdigitati per estrarre le proprietà elettriche del mezzo adiacente richiede l'utilizzo di una costante di cella ( $K_{cell}$ ) che permette di scalare le misure ottenute in relazione alla geometria e alle dimensioni dell'elettrodo. La costante di cella è data da:

$$K_{cell} = \frac{R_{sol}}{\rho A} \quad (1. 23)$$

dove  $R_{sol}$  è la resistenza della soluzione (espressa in  $\Omega \cdot cm^2$ ),  $A$  è l'area dell'elettrodo e  $\rho$  è la resistività dell'elettrolita (avente unità di misura  $k\Omega \cdot cm^2$ ).

$K_{cell}$  ha dimensione  $cm^{-1}$  ed è legata alla dimensione caratteristica della cella ( $\delta$ ) dalla seguente relazione:

$$\delta = K_{cell}A \quad (1. 24)$$

Un mese dopo aver effettuato le misure in soluzione uno stesso sensore, già utilizzato in precedenza, è stato nuovamente testato nelle stesse condizioni per verificare se avesse mantenuto l'integrità e che la ripetibilità fosse garantita anche a distanza di tempo.

### 2.2.2. Misure in vitro

Per la sperimentazione in vitro gli elettrodi sono stati applicati a dei campioni di agar. I campioni sono stati preparati utilizzando acqua deionizzata, KCl e agar in polvere. L'acqua è stata miscelata con 10 mM di KCl e 12 g/L di agar. L'agar permette l'auto-modellazione del campione, la presenza di cloruro di potassio determina la conducibilità del campione [75]. Durante la preparazione la soluzione è stata riscaldata fino alla temperatura di 90°C con una piastra riscaldante e agitata costantemente grazie a uno stirrer magnetico, per permettere all'agar di sciogliersi in maniera uniforme. Dopo aver raggiunto la temperatura stabilita è stata versata in alcune capsule di Petri e lasciata raffreddare fino a temperatura ambiente. Dopo aver raggiunto temperature inferiori alla temperatura di gel, il materiale solidifica raggiungendo la consistenza desiderata.

I campioni di agar sono stati gradualmente disidratati mantenendoli in una camera climatica alla temperatura di 37°C. La prima misura di impedenza è stata effettuata sul campione di agar a temperatura ambiente, non ancora sottoposto al riscaldamento, le misure successive sono state condotte dopo 10 min, 60 min, 120 min e 180 min di permanenza in forno. Ciascun campione è stato pesato prima di essere usato per effettuare la misura d'impedenza, in modo da monitorare la perdita d'acqua anche in termini di peso.

Le misure effettuate sui campioni di agar sono state effettuate nel range di frequenza tra  $10^{-1}$  Hz e  $10^5$  Hz, acquisendo 5 punti per ogni decade, così da ridurre il tempo di acquisizione.

Lo stesso sensore è stato utilizzato su tre campioni di agar differenti, in modo da verificare la ripetibilità della misura.

### 2.2.3. Misure in vivo

Un'ultima sperimentazione è stata effettuata in vivo utilizzando gli elettrodi interdigitati a contatto diretto con la pelle umana. Il sensore è stato applicato sull'avambraccio e la misura

è stata compiuta dapprima sulla pelle perfettamente asciutta, successivamente sulla pelle bagnata da una lozione idratante. La stessa misura è stata ripetuta dopo 4 min, 10 min, 20 min, 30 min e 40 min dall'applicazione della lozione.

### **2.3. Caratterizzazione morfologica**

#### **2.3.1. Microscopia elettronica a scansione**

La caratterizzazione morfologica della superficie del sensore è stata condotta con l'utilizzo di un microscopio elettronico a scansione ad emissione di campo (Field Emission Scanning Electron Microscope, FESEM Supra 40, Zeiss). Il FESEM utilizza un fascio elettronico focalizzato per generare un'immagine o analizzare un campione. Il fascio di elettroni focalizzato scansiona la superficie del campione. Per il corretto funzionamento del microscopio è necessario un certo grado di vuoto in modo da evitare la collisione degli elettroni con molecole di gas. La camera del fascio primario ha un grado di vuoto dell'ordine dei  $10^{-10}$  torr, quella dove si inserisce il provino ha un grado di vuoto dell'ordine di  $10^{-6}$  torr.

Quando il fascio primario di elettroni colpisce il provino vengono generati dei fasci di elettroni secondari e di elettroni retrodiffusi. Ciascuno di questi fasci viene individuato da specifici rilevatori che generano segnali che vengono poi utilizzati per creare immagini e informazioni dettagliate del campione. Il rilevatore *In-lens* è posizionato coassialmente rispetto al fascio di elettroni primari, rileva gli elettroni secondari che seguono questo percorso ed è in grado di fornire informazioni morfologiche del campione. Il rilevatore *ET-SE* (Everhart Thornely Secondary Electron) è posizionato a  $45^\circ$  rispetto al fascio primario di elettroni. Esso rileva gli elettroni secondari e una piccola parte di elettroni retrodiffusi, dando informazioni sulla topografia del campione e fornendo molti dettagli superficiali con bordi più luminosi. Infine, la *back-lens* rileva gli elettroni retrodiffusi e rende possibile visualizzare in modo efficace le differenze nella composizione chimica del campione.

Le immagini dei sensori sono state acquisite utilizzando il rilevatore di elettroni secondari, impostando un potenziale di accelerazione di 5 kV e un'apertura del fascio elettronico di 30  $\mu\text{m}$ . Il potenziale di accelerazione, l'apertura del fascio e la distanza della lente dal campione sono parametri modificabili in base al tipo di campione che si vuole analizzare.



### 3. Risultati e discussione

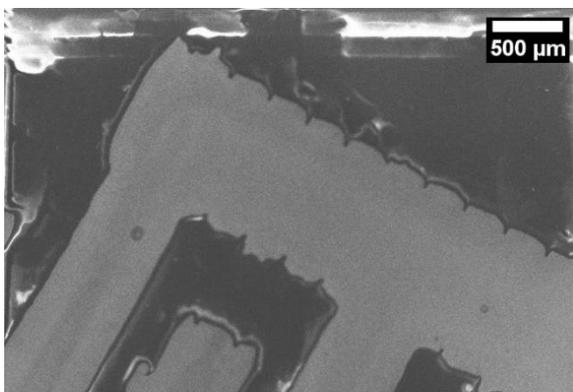
#### 3.1. Caratterizzazione morfologica

Gli elettrodi metallici presentano un aspetto lucente ad effetto a specchio che è stato mantenuto anche dopo molti mesi di esposizione all'aria. Il substrato su cui sono stati stampati è costituito da poliimmide, che appare traslucida. Il basso spessore del substrato di poliimmide, 30  $\mu\text{m}$ , e dello strato di argento, rende l'intero sensore flessibile e facilmente conformabile ai diversi materiali a cui viene applicato.

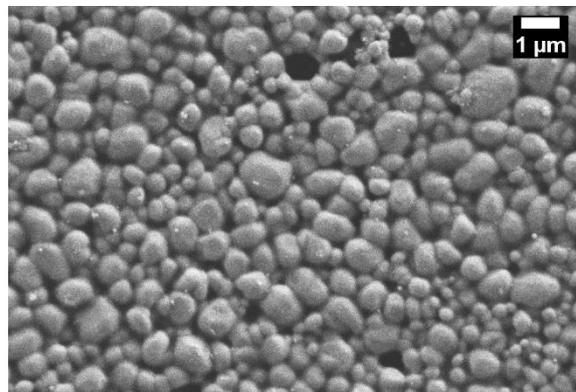
L'osservazione al SEM ha rilevato che l'inchiostro d'argento è costituito da nanoparticelle di granulometrie differenti, constatando una certa variabilità locale della struttura (Figura 3. 1). La dimensione media degli aggregati di argento è stata misurata usando una metodologia di immagine [90] ed è uguale a  $224 \text{ nm} \pm 78 \text{ nm}$ . Nella Figura 3. 1 si nota come la definizione dei bordi degli elettrodi sia affetta da difetti microscopici dovuti alla precisione di stampa. Il sensore, infatti, presenta delle piccole creste lungo tutto il perimetro degli elettrodi, in alcuni punti più accentuate di altri, e delle sbavature di inchiostro.

La caratterizzazione morfologica al microscopio è stata effettuata sia su un campione nuovo, conservato in condizioni controllate, sia su due campioni usati per le misure di impedenza, i quali erano stati in contatto con le soluzioni di KCl di diverse concentrazioni. Le micrografie hanno evidenziato una buona resistenza del sensore, che non ha riportato segni di alterazione della struttura dei sensori usati e nessuna differenza rilevante se confrontato con il sensore nuovo.

Queste osservazioni permettono di concludere che l'inchiostro di argento utilizzato ha confermato le premesse di stabilità e resistenza a corrosione e usura che erano state parametri determinanti per la scelta del suddetto materiale [30]. Anche il substrato polimerico ha mantenuto una buona integrità e le proprie caratteristiche conformazionali. L'adesione dell'inchiostro metallico al substrato è stata mantenuta per quasi tutti campioni, un singolo sensore ha rappresentato un'eccezione in quanto l'adesione di alcune tracce degli elettrodi è venuta meno quando il sensore è stato immerso nella soluzione di cloruro di potassio.



**Figura 3. 1:** *Dettagli bordi dell'elettrodo*

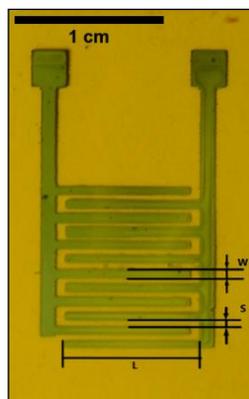


**Figura 3.2:** *Micrografia inchiostro composto da nanoparticelle d'argento*

## 3.2. Misure di impedenza in soluzioni saline

### 3.2.1. Sensore A

Il primo sensore (A) di cui si riportano i risultati delle misure effettuate è quello mostrato in Figura 3.3, avente ciascun elettrodo di area  $0,557 \text{ cm}^2$ , lunghezza (W) delle tracce  $0,89 \text{ cm}$ , larghezza (L) delle tracce  $0,06 \text{ cm}$  e spaziatura (S)  $0,04 \text{ cm}$ . Ogni elettrodo possiede 6 tracce.



**Figura 3.3:** *Sensore A.*

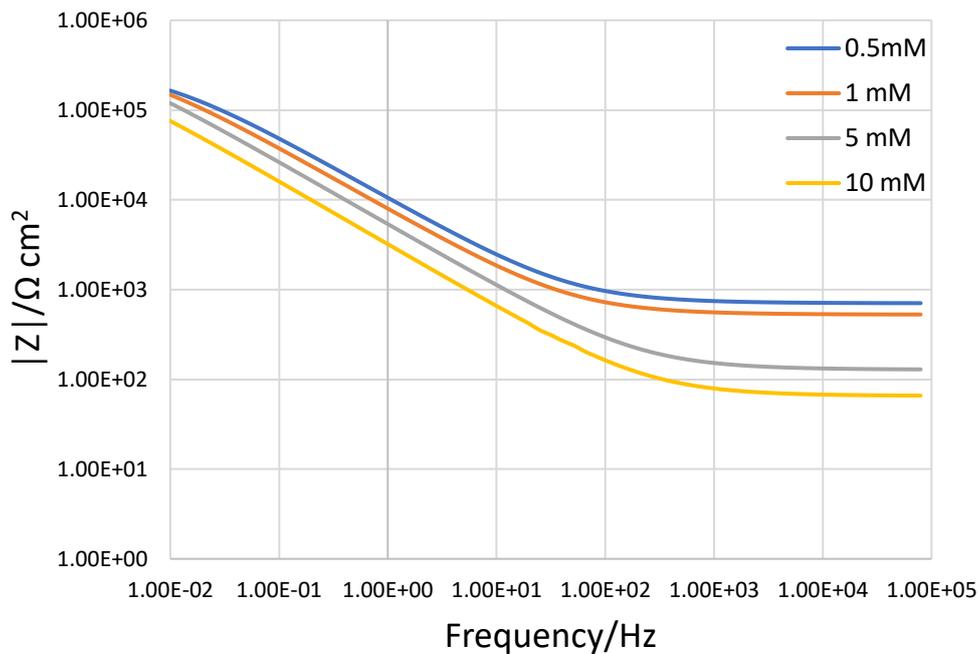
La Figura 3. 4 mostra le misure di impedenza sotto forma di diagramma di Bode. Gli spettri hanno un comportamento resistivo nel range delle alte frequenze, mentre in corrispondenza delle basse frequenze il comportamento è capacitivo. L'impedenza ad alte frequenze è dominata dall'effetto della resistenza della soluzione, mentre a basse frequenze prevalgono i fenomeni che avvengono all'interfaccia elettrodo/soluzione.

Si osserva uno spostamento della frequenza di taglio, ovvero la frequenza a cui la fase tende a  $45^\circ$ , in concomitanza con l'aumento della concentrazione della soluzione. Per la soluzione  $0,5 \text{ mM}$  la frequenza di taglio si assesta intorno a  $1,42 \cdot 10^1 \text{ Hz}$  e aumenta fino a  $7,94 \cdot 10^1 \text{ Hz}$  nella soluzione  $10 \text{ mM}$ . La Tabella 3. 1 riporta i valori delle frequenze di taglio calcolate tramite interpolazione dei dati sperimentali.

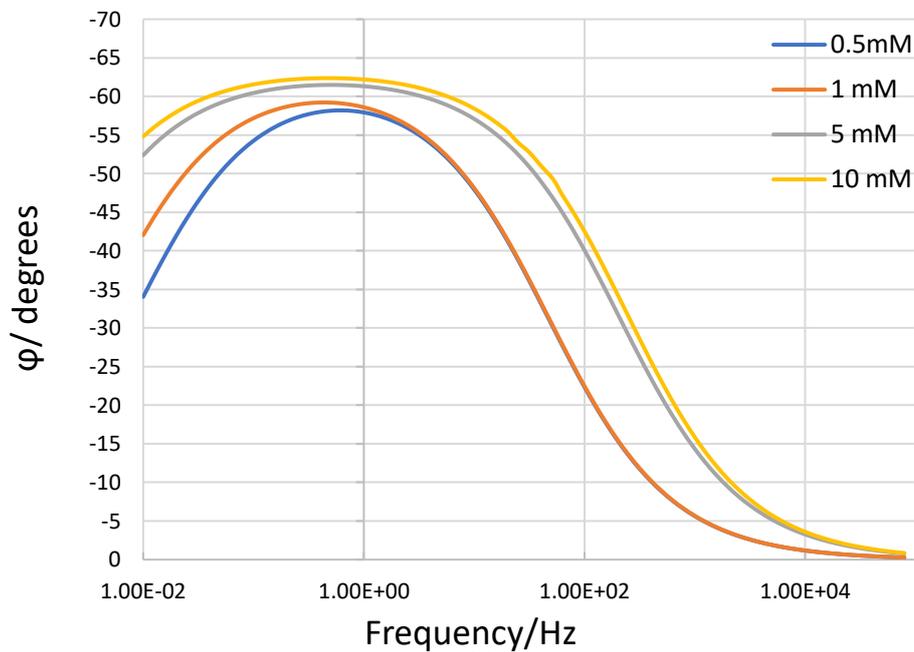
**Tabella 3. 1:** *Frequenza di taglio per ciascuna concentrazione*

| <b>0,5 mM</b>                | <b>1 mM</b>                  | <b>5 mM</b>                  | <b>10 mM</b>                 |
|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| $1,42 \cdot 10^1 \text{ Hz}$ | $1,42 \cdot 10^1 \text{ Hz}$ | $6,31 \cdot 10^1 \text{ Hz}$ | $7,94 \cdot 10^1 \text{ Hz}$ |

Nel diagramma di Bode si osserva come i valori di impedenza cambino al variare delle concentrazioni delle soluzioni. In particolare, si nota che, all'aumentare della concentrazione di KCl disciolto in soluzione, i valori di impedenza ad alta frequenza decrescono in modo significativo, a testimonianza di come l'impedenza in questo tratto di curva sia dominata dalla resistenza della soluzione. L'aumento di concentrazione di elettrolita in soluzione determina un aumento della conduttività e di conseguenza la resistenza diminuisce. I fenomeni all'interfaccia elettrodo/soluzione, che influenzano l'impedenza a basse frequenze, non risentono particolarmente della variazione del quantitativo di cloruro di potassio in soluzione.



a)

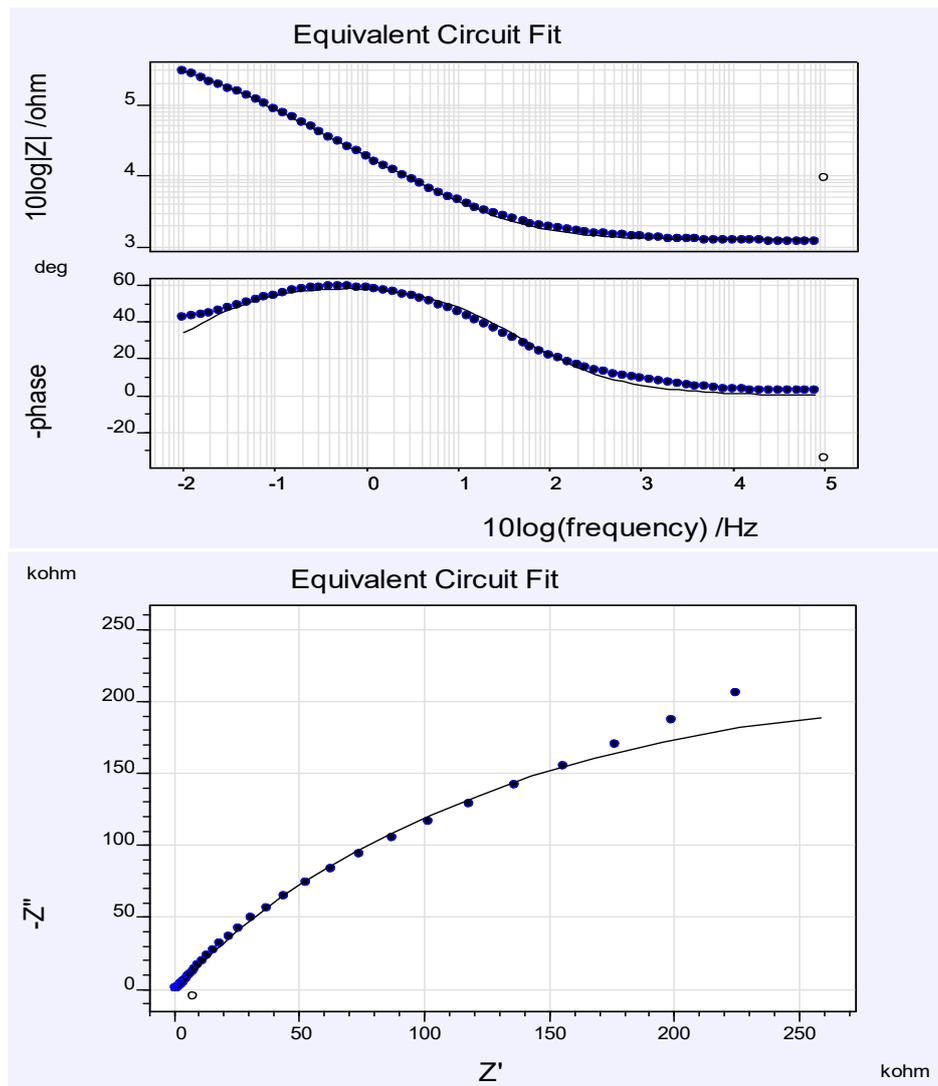


b)

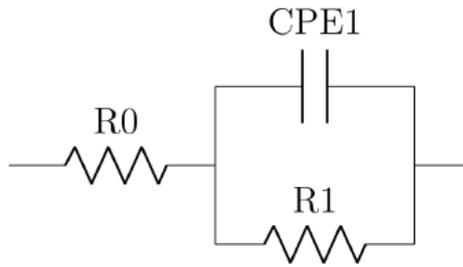
**Figura 3. 4:** *Diagramma di Bode spettri d'impedenza. Sensore A.*  
*a) modulo di impedenza b) angolo di fase.*

Per generare un modello fisico degli spettri d'impedenza i punti acquisiti sperimentalmente sono stati interpolati da una curva continua (Figura 3. 5) e modellati usando dei circuiti equivalenti (EEC), generati mediante il software IviumSoft. Le quattro curve d'impedenza sono caratterizzate da una singola costante di tempo, per cui sono state modellate mediante un circuito contenente una resistenza ( $R_0$ ) in serie con un parallelo

comprendente una resistenza (R1) e un elemento a fase costante (CPE), come mostrato in Figura 3. 6. La resistenza R0 rappresenta la resistenza della soluzione. Il parallelo R1-CPE modella l'interfaccia elettrodo-soluzione; in particolare R1 rappresenta la resistenza al trasferimento di carica e il CPE la capacità del doppio strato. È stato utilizzato un elemento a fase costante (CPE) che è descritto dai parametri Q e  $\alpha$ . L'utilizzo di un CPE consente di tenere in considerazione possibili fenomeni che si discostano dalla idealità di un condensatore. Come descritto in precedenza (eq. 1.19), il valore dell'esponente  $\alpha$  determina la natura capacitiva o resistiva del CPE. Nelle misure in esame, il valore di  $\alpha$  è rimasto costante e pari a 0,7 per ogni concentrazione, indicando un comportamento prevalentemente capacitivo del CPE ma che si discosta significativamente dalla idealità, giustificando la scelta del CPE come elemento circuitale.



**Figura 3. 5:** Diagrammi di Bode e Nyquist. I punti blu rappresentano i dati acquisiti sperimentalmente, la linea continua indica il fitting dei dati effettuato tramite circuiti equivalenti.



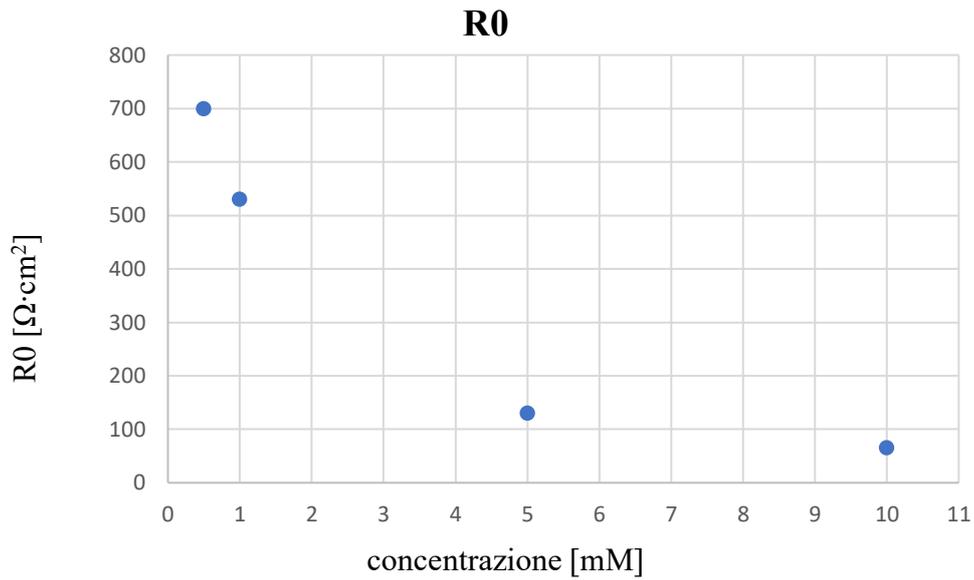
**Figura 3. 6:** *Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri d'impedenza del sensore A.*

Nella Tabella 3. 2 sono riportati i parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione. Ogni valore è stato calcolato come media tra quelli ottenuti nelle tre ripetizioni.

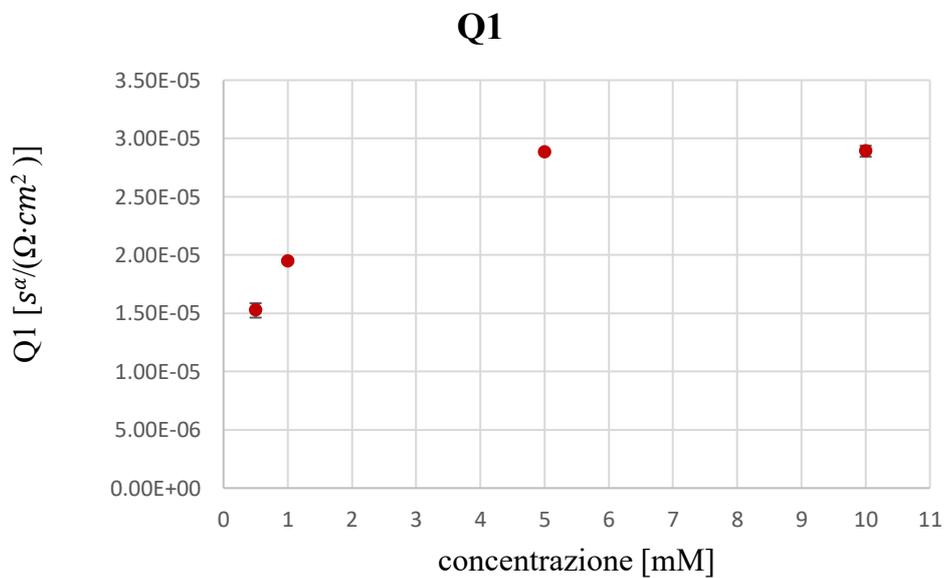
**Tabella 3. 2:** *Parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione analizzata*

| Concentrazione della soluzione:                           | 0,5 mM               | 1 mM                 | 5 mM                 | 10 mM                |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $7,00 \cdot 10^2$    | $5,31 \cdot 10^2$    | $1,30 \cdot 10^2$    | $6,52 \cdot 10^1$    |
| <b>R1</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $3,28 \cdot 10^5$    | $3,88 \cdot 10^5$    | $5,54 \cdot 10^5$    | $4,65 \cdot 10^5$    |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $2,74 \cdot 10^{-5}$ | $3,49 \cdot 10^{-5}$ | $5,17 \cdot 10^{-5}$ | $5,19 \cdot 10^{-5}$ |
| <b><math>\alpha</math></b>                                | $7 \cdot 10^{-1}$    | $7 \cdot 10^{-1}$    | $7 \cdot 10^{-1}$    | $7 \cdot 10^{-1}$    |

Dalle grandezze circuitali ottenute è evidente come la resistenza R0 e il CPE siano influenzati dalla variazione della concentrazione. R0 diminuisce gradualmente all'aumentare della concentrazione, per i motivi precedentemente discussi. Il CPE è leggermente influenzato dalla concentrazione, il parametro Q1 infatti, subisce un incremento da 0,5 mM a 10 mM. In Figura 3.7 e in Figura 3.8 sono riportati gli andamenti di questi due elementi circuitali in funzione della concentrazione.



**Figura 3.7:** *Andamento di R0 in funzione della concentrazione di KCl*



**Figura 3.8:** *Andamento di Q1 in funzione della concentrazione di KCl*

Utilizzando la formula di Brug [91] riportata nell'equazione (1.23)

$$C_{dl} = Q^{1/\alpha} R_t^{(1-\alpha)/\alpha} \quad (1.25)$$

è stata calcolata la capacità effettiva del doppio strato, a partire dai parametri del CPE. Inoltre, è stata calcolata la costante di tempo  $\tau$  del parallelo composto da R1 e CPE. I valori ottenuti sono indicati nella Tabella 3.3.

**Tabella 3. 3:** Valori di  $C$  e  $\tau$  ottenuti per ciascuna concentrazione di KCl in soluzione. Sensore A.

| Concentrazione della soluzione: | 0,5 mM               | 1 mM                 | 5 mM                 | 10 mM                |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $C$ [ $F/cm^2$ ]                | $6,67 \cdot 10^{-5}$ | $1,07 \cdot 10^{-4}$ | $2,16 \cdot 10^{-4}$ | $1,96 \cdot 10^{-4}$ |
| $\tau$ [s]                      | $2,30 \cdot 10^1$    | $4,14 \cdot 10^1$    | $1,22 \cdot 10^2$    | $9,14 \cdot 10^1$    |

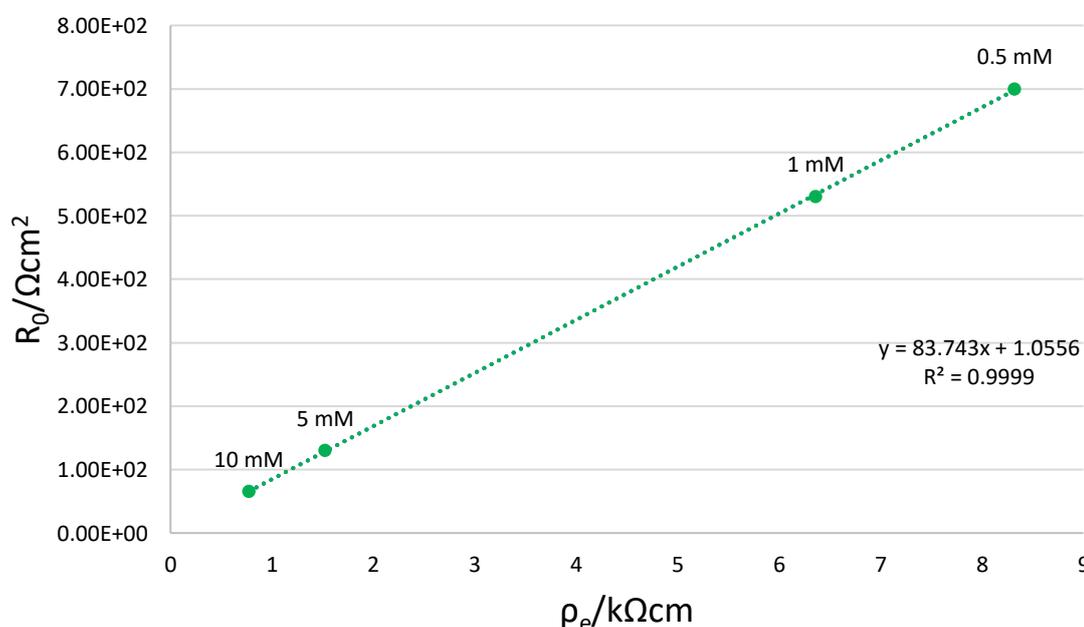
Per definire la dimensione caratteristica dell'elettrodo è stato adottato il metodo dello 'spettro completo', come descritto nell'articolo [91]. Esso prevede che le resistenze siano stimate a partire dai dati sperimentali di impedenza acquisiti su tutto il range di frequenza, senza differenziare il fattore geometrico stimato per le basse frequenze da quello delle alte frequenze.

Dopo aver stimato tutti i parametri del circuito equivalente, la resistenza  $R_0$  è stata rappresentata graficamente in funzione della resistività della soluzione ad ogni concentrazione (Figura 3.9). I punti così determinati sono stati interpolati mediante una regressione lineare, ottenendo una retta la cui pendenza rappresenta la dimensione caratteristica  $\delta$ .

Nell'elettrodo in questione la retta ha equazione:

$$y = 83,743 x + 1,056$$

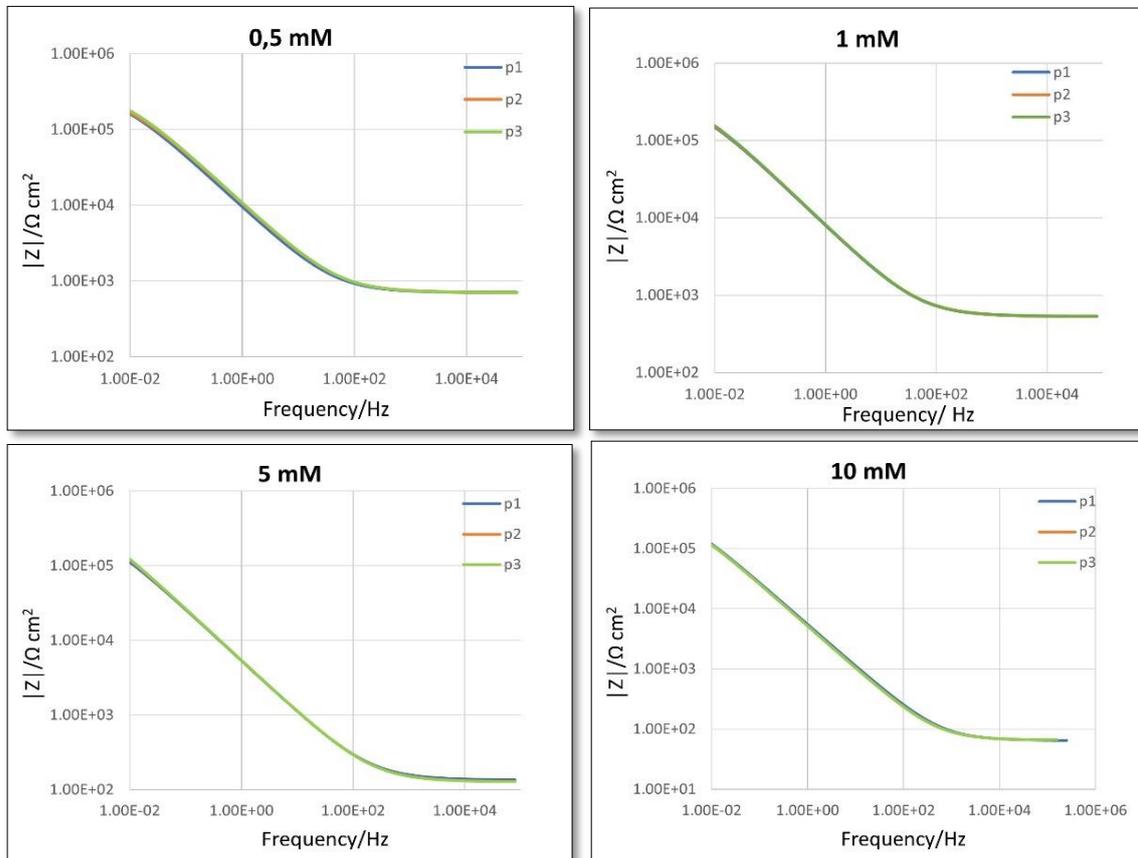
con  $R^2=0,9999$ . Per cui si ha  $\delta$  uguale a  $837 \mu m$ . Dividendo questo valore per l'area dell'elettrodo si ottiene la costante di cella  $K_{cell}$ , che è uguale a  $0,150 cm^{-1}$ .



**Figura 3.9:** Regressione lineare dei valori di resistenza  $R_0$

## Ripetibilità e stabilità

Il confronto tra le diverse ripetizioni di ogni concentrazione ha evidenziato come la misura risulta essere altamente riproducibile senza alterazioni o variazioni dell'impedenza. L'andamento delle tre misure riportate in Figura 3. 10 mostra come i tre spettri siano perfettamente sovrapponibili.



**Figura 3. 10:** Sovrapposizione dei moduli di impedenza ottenuti nelle tre ripetizioni eseguite per ciascuna concentrazione

Si può notare, dalle tabelle 3.4, 3.5, 3.6 e 3.7, che la stima dei parametri circuitali è soggetta a un errore molto basso; tuttavia, la resistenza  $R_1$  è quella affetta da un errore più alto degli altri. Ciò è dovuto al fatto che gli spettri di impedenza non raggiungono un plateau alle basse frequenze, per cui questo valore non può essere stabilito con certezza dai dati sperimentali. Questo errore aumenta nelle misure in concentrazioni 5 mM e 10 mM, dove l'andamento della curva a basse frequenze è maggiormente lineare. Nelle tabelle 3.4, 3.5, 3.6 e 3.7 sono presenti i valori medi di ogni elemento del circuito calcolati come media aritmetica dei valori ottenuti nelle tre ripetizioni effettuate per ciascuna soluzione, affiancati dall'errore standard delle misure e l'errore di fitting medio calcolato automaticamente da Iviumsoft.

**Tabella 3. 4:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 0,5 mM.

| 0,5 mM                                  | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                  | $1,26 \cdot 10^3$    | 7,23                  | 1,26                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                  | $5,88 \cdot 10^5$    | $4,41 \cdot 10^4$     | 7,23                      |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $1,52 \cdot 10^{-5}$ | $1,06 \cdot 10^{-6}$  | 1,59                      |
| <b><math>\alpha</math>1</b>             | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 0,75                      |

**Tabella 3. 5:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 1 mM.

| 1 mM                                    | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                  | $9,52 \cdot 10^2$    | $1,062 \cdot 10^1$    | 1,46                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                  | $6,96 \cdot 10^5$    | $3,71 \cdot 10^4$     | 10,77                     |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $1,95 \cdot 10^{-5}$ | $2,51 \cdot 10^{-7}$  | 1,67                      |
| <b><math>\alpha</math>1</b>             | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 0,82                      |

**Tabella 3. 6:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 5 mM.

| 5 mM                                    | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                  | $2,34 \cdot 10^2$    | 7,43                  | 1,17                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                  | $9,94 \cdot 10^5$    | $2,88 \cdot 10^5$     | 14,68                     |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $2,88 \cdot 10^{-5}$ | $2,21 \cdot 10^{-7}$  | 1,16                      |
| <b><math>\alpha</math>1</b>             | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 0,45                      |

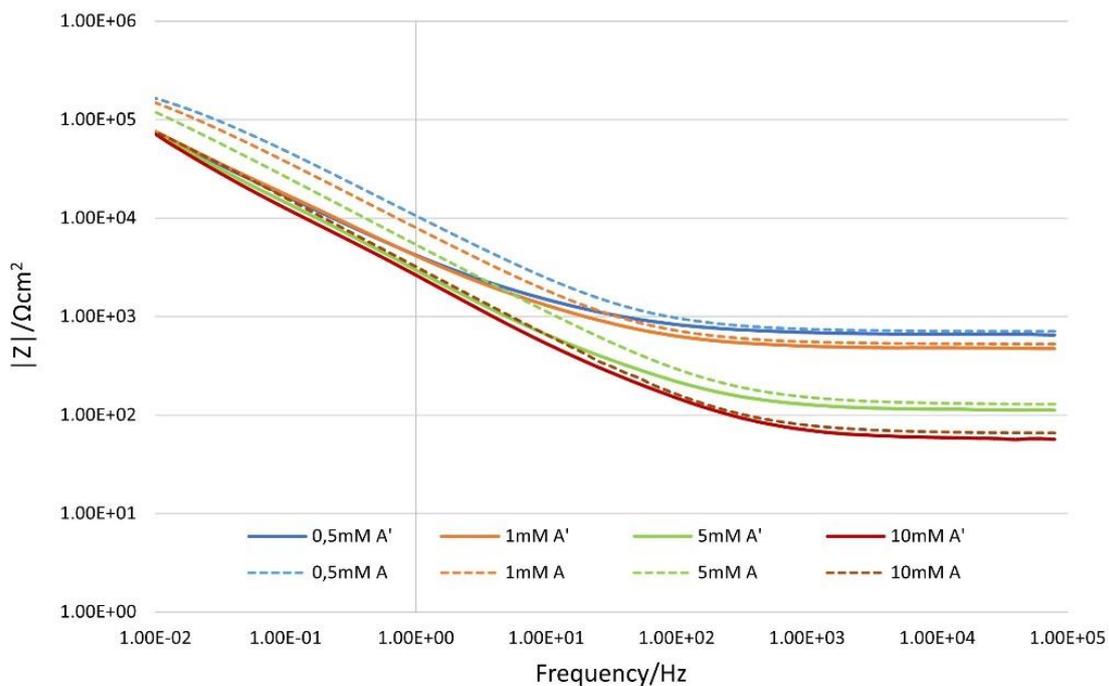
**Tabella 3. 7:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 10 mM.

| 10 mM                                   | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                  | $1,17 \cdot 10^2$    | $4,73 \cdot 10^{-1}$  | 1,08                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                  | $8,35 \cdot 10^5$    | $3,55 \cdot 10^4$     | 11,20                     |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $2,89 \cdot 10^{-5}$ | $8,16 \cdot 10^{-7}$  | 1,07                      |
| <b><math>\alpha</math>1</b>             | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 0,36                      |

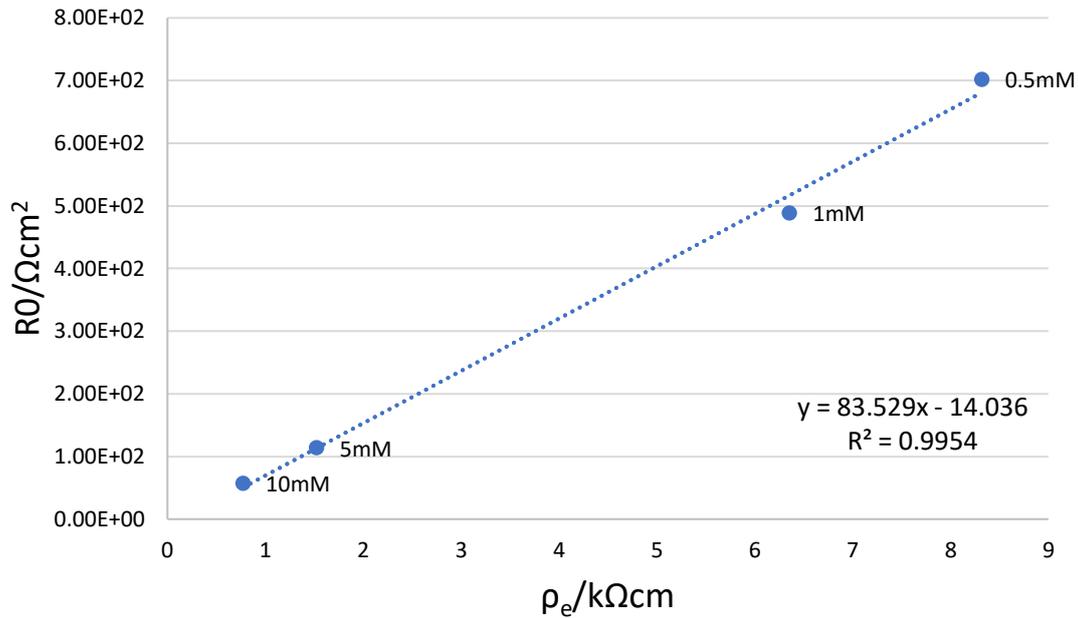
Un sensore ( $A'$ ) delle stesse dimensioni di quello usato per le prove precedenti è stato testato per verificare la ripetibilità della misura e valutare come varia la costante di cella tra sensori formalmente identici.

In Figura 3. 11 viene mostrato il confronto tra gli spettri di impedenza dei due sensori. I moduli di impedenza sono molto simili per entrambi i sensori. A basse frequenze l'impedenza del sensore  $A'$  risulta più alta rispetto a quella misurata con  $A$ , per poi raggiungere ad alte frequenze valori simili al primo set di misure. Questo comportamento è dovuto al fatto che la patina creatasi sull'argento a seguito dell'esposizione all'aria, che è la ragione dei valori di impedenza più alti, viene rimossa dal progressivo passaggio di corrente, di conseguenza l'elettrodo torna a raggiungere le condizioni iniziali.

Il calcolo della costante di cella ha confermato il risultato ottenuto dal sensore  $A$ . La retta interpolante i valori della resistenza alle alte frequenze per ogni concentrazione ha pendenza pari a 83,529, per cui  $\delta = 835 \mu\text{m}$  e  $K_{cell} = 0,150 \text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.12).



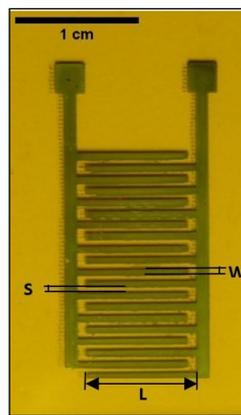
**Figura 3. 11:** Sovrapposizione degli spettri d'impedenza acquisiti con i sensori  $A$  e  $A'$



**Figura 3.12:** Stima del parametro di cella del sensore A' tramite interpolazione lineare sul grafico  $R_0$ - $\rho_e$

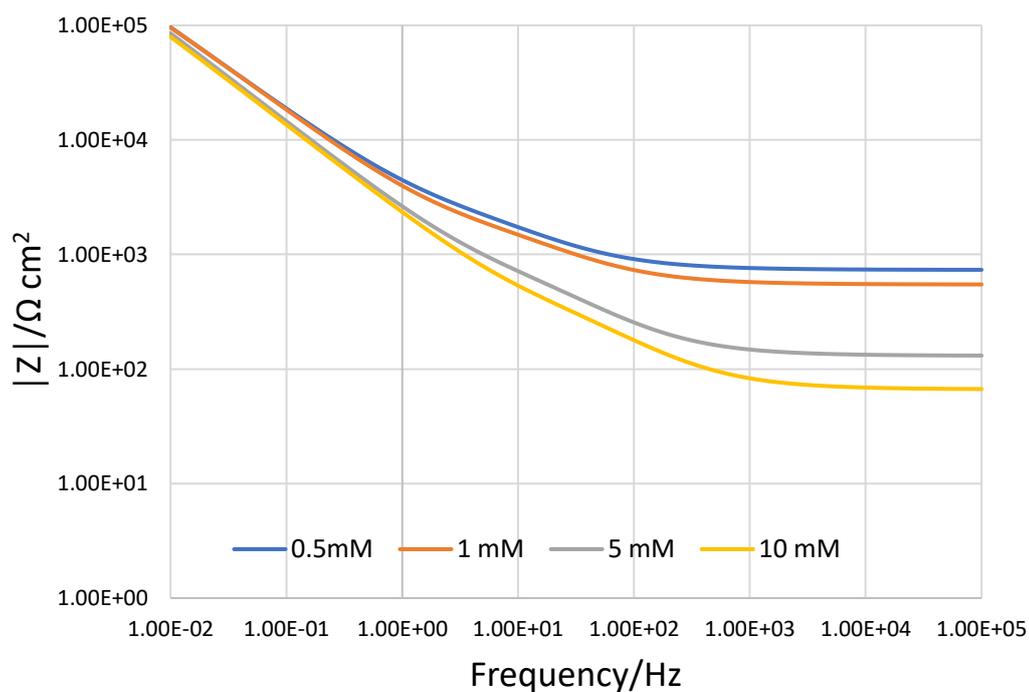
### 3.2.2. Sensore B

Il sensore B, mostrato in Figura 3.13, ha area degli elettrodi pari a 0,950 cm $^2$ , lunghezza delle tracce 0,886 cm (L), larghezza delle tracce 0,022 cm (W) e spazio tra le tracce 0,020 cm (S). Ciascun elettrodo è costituito da 10 tracce.

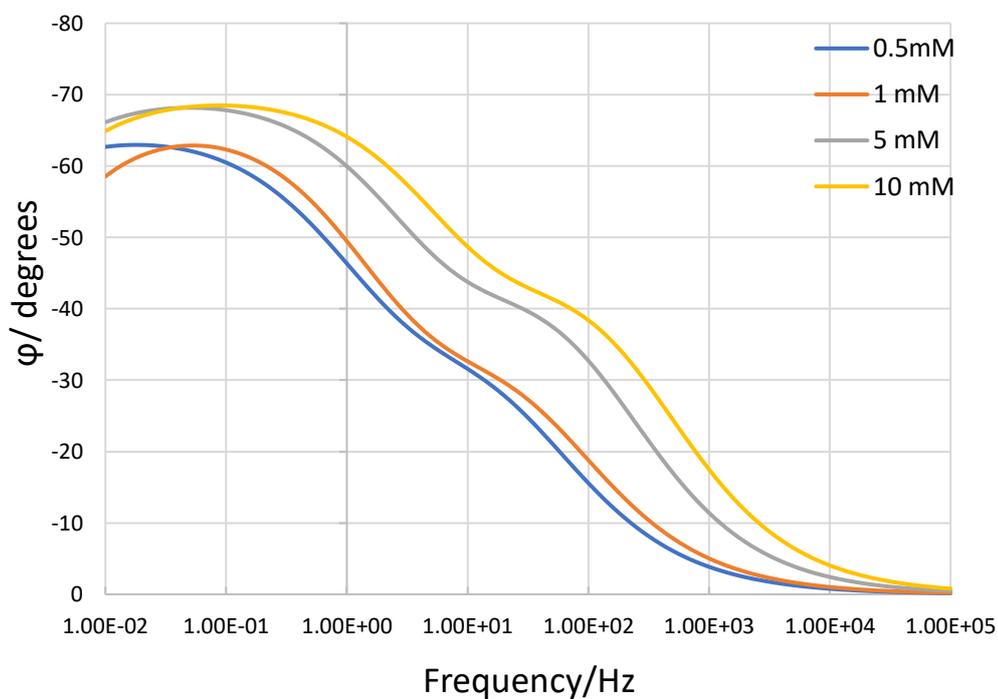


**Figura 3.13:** Sensore B

In Figura 3. 14 è riportato il diagramma di Bode degli spettri di impedenza per ciascuna concentrazione di KCl. Nel grafico che mostra il modulo dell'impedenza in funzione della frequenza (Figura 3. 14 (a)) è ben visibile che i valori di impedenza seguono lo stesso andamento di quelli stimati con il sensore A. Il tratto resistivo della curva assume valori di impedenza progressivamente più bassi per ogni valore crescente di concentrazione. A basse frequenze le curve di impedenza tendono a sovrapporsi assumendo valori quasi coincidenti. Nel diagramma di fase (Figura 3. 14 (b)) è evidente la presenza di due picchi all'interno di ciascuna curva, che hanno portato a modellare gli spettri tramite un EEC a due costanti di tempo.



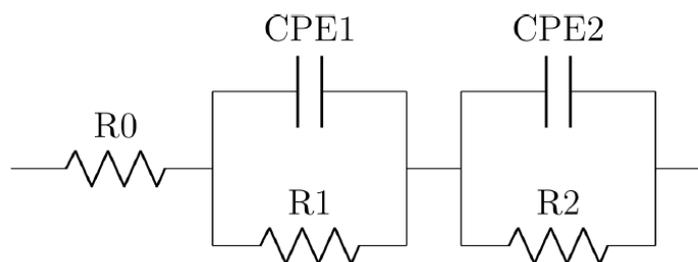
(a)



(b)

**Figura 3. 14:** *Diagramma di Bode spettri d'impedenza. Sensore B.*  
*a) modulo di impedenza b) angolo di fase.*

Il circuito in Figura 3. 15 è composto da una resistenza  $R_0$  in serie con due paralleli, ciascuno composto da una resistenza e un elemento a fase costante.



**Figura 3. 15:** *Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri d'impedenza del sensore B.*

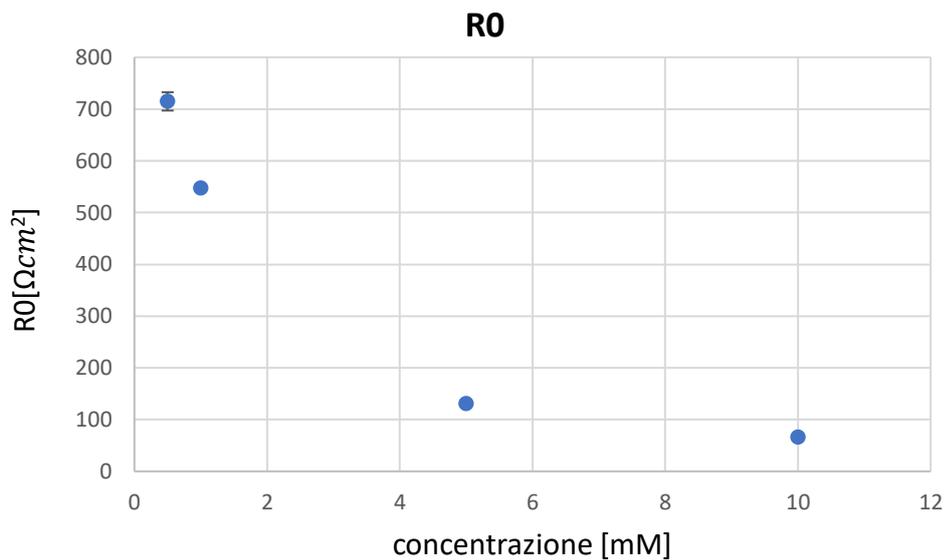
La presenza di un ulteriore elemento RC nel circuito rispetto al circuito equivalente del sensore A potrebbe essere attribuita all'influenza della geometria del sensore sulla misura di impedenza. Il sensore B, infatti, ricopre un'area rettangolare con un'estensione maggiore in lunghezza piuttosto che in larghezza, a differenza del sensore A che ricopre un'area pressoché quadrata. Inoltre, lo spazio tra le tracce è pari alla metà di quello del sensore A, così come è più piccola anche la larghezza delle tracce del sensore.

La Tabella 3. 8 riporta i valori che i parametri circuitali assumono per ogni misura effettuata in ciascuna soluzione.

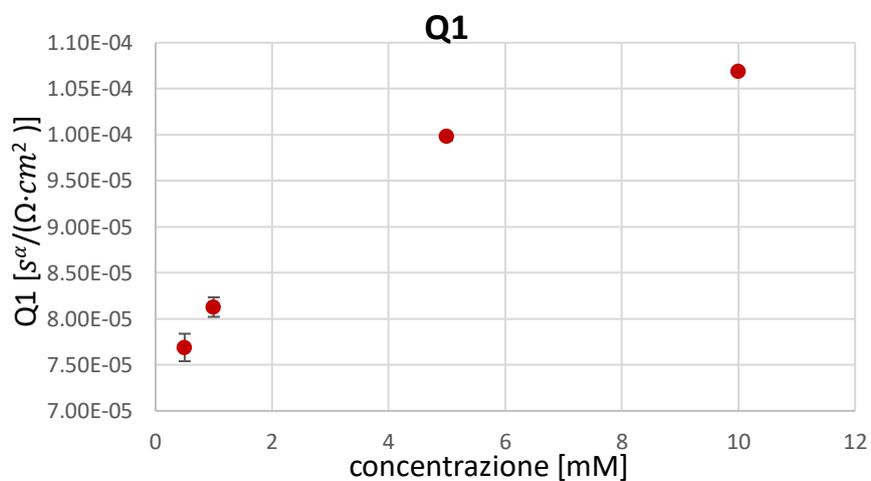
**Tabella 3. 8:** *Parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione analizzata*

| Concentrazione della soluzione:                           | 0,5 mM               | 1 mM                 | 5 mM                 | 10 mM                |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $7,15 \cdot 10^2$    | $5,47 \cdot 10^2$    | $1,31 \cdot 10^2$    | $6,61 \cdot 10^1$    |
| <b>R1</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $1,20 \cdot 10^6$    | $5,87 \cdot 10^5$    | $9,65 \cdot 10^6$    | $7,10 \cdot 10^5$    |
| <b>R2</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $9,47 \cdot 10^2$    | $1,20 \cdot 10^3$    | $4,32 \cdot 10^2$    | $2,42 \cdot 10^2$    |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $7,69 \cdot 10^{-5}$ | $8,13 \cdot 10^{-5}$ | $9,98 \cdot 10^{-5}$ | $1,07 \cdot 10^{-4}$ |
| <b><math>\alpha 1</math></b>                              | $7,47 \cdot 10^{-1}$ | $7,69 \cdot 10^{-1}$ | $7,84 \cdot 10^{-1}$ | $7,86 \cdot 10^{-1}$ |
| <b>Q2</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $5,42 \cdot 10^{-5}$ | $5,50 \cdot 10^{-5}$ | $9,74 \cdot 10^{-5}$ | $1,15 \cdot 10^{-4}$ |
| <b><math>\alpha 2</math></b>                              | $7,09 \cdot 10^{-1}$ | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,00 \cdot 10^{-1}$ |

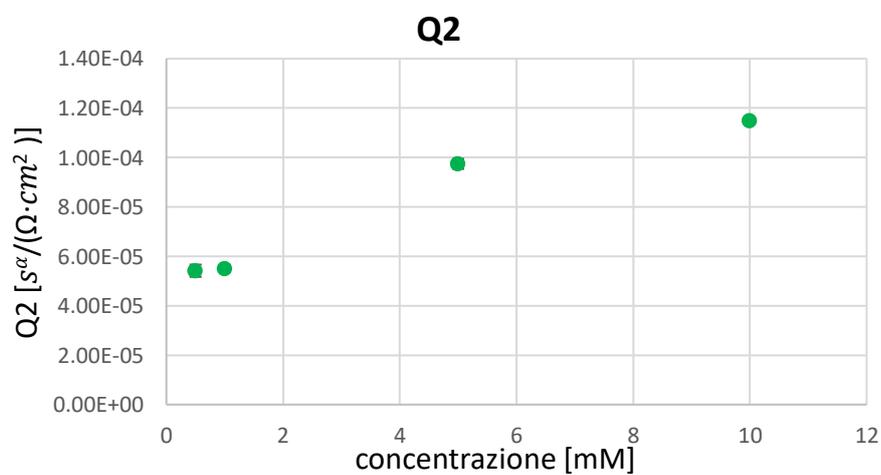
Gli elementi del circuito influenzati dalla concentrazione sono prevalentemente R0, Q1 e Q2 che seguono un andamento monotono in corrispondenza dell'aumento di concentrazione. In particolare, R0 diminuisce man mano che la concentrazione cresce (Figura 3. 16) mentre Q1 e Q2 aumentano (Figura 3. 17 e Figura 3. 18). Il trend dei 3 parametri è coerente con quanto osservato nel sensore A.



**Figura 3. 16:** *Andamento di R0 in funzione della concentrazione di KCl*



**Figura 3. 17:** *Andamento di Q1 in funzione della concentrazione di KCl*



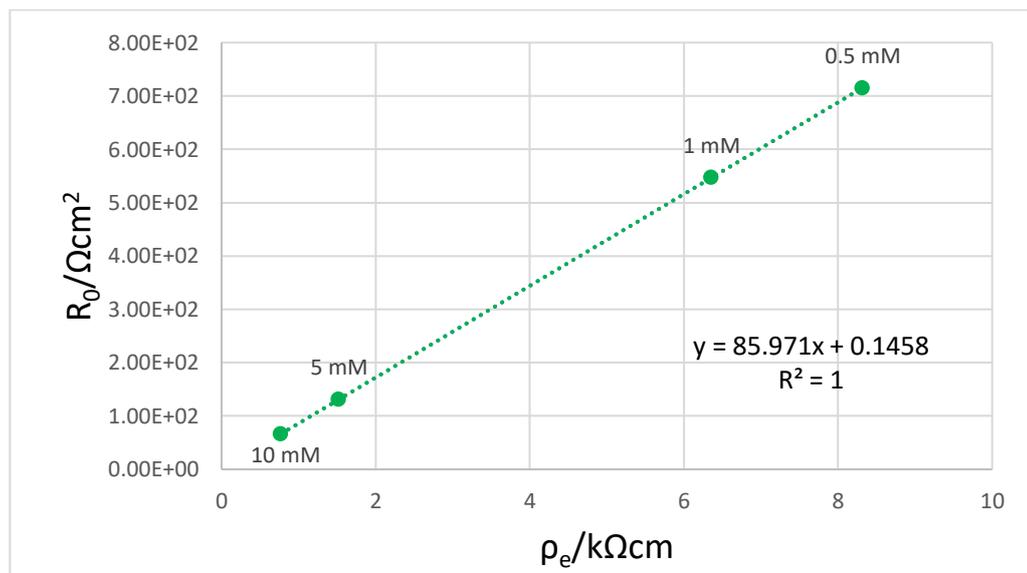
**Figura 3. 18:** *Andamento di Q2 in funzione della concentrazione di KCl*

Le capacità effettive calcolate tramite l'equazione 1.23 e le due costanti di tempo sono riportate in Tabella 3. 9. È possibile notare che la costante  $\tau_1$  assume valori simili a quelli della costante di tempo calcolata per il circuito del sensore A. La costante  $\tau_2$ , che è spostata a frequenze più elevate, è invece molto più piccola e assume valori di circa 4 ordini di grandezza inferiori rispetto a  $\tau_1$ .

**Tabella 3. 9:** Valori di  $C$  e  $\tau$  ottenuti per ciascuna concentrazione di KCl in soluzione. Sensore B.

| Concentrazione della soluzione: | 0,5 mM               | 1 mM                 | 5 mM                 | 10 mM                |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $C1 [F/cm^2]$                   | $3,31 \cdot 10^{-4}$ | $2,59 \cdot 10^{-4}$ | $3,51 \cdot 10^{-4}$ | $3,46 \cdot 10^{-4}$ |
| $C2 [F/cm^2]$                   | $1,59 \cdot 10^{-5}$ | $1,71 \cdot 10^{-5}$ | $2,51 \cdot 10^{-5}$ | $2,47 \cdot 10^{-5}$ |
| $\tau_1 [s]$                    | $5,46 \cdot 10^2$    | $1,53 \cdot 10^2$    | $3,40 \cdot 10^2$    | $2,47 \cdot 10^2$    |
| $\tau_2 [s]$                    | $1,57 \cdot 10^{-2}$ | $2,08 \cdot 10^{-2}$ | $1,09 \cdot 10^{-2}$ | $5,99 \cdot 10^{-3}$ |

Il calcolo della dimensione caratteristica ha visto, anche in questo caso, l'impiego dei valori delle resistenze ohmiche acquisiti sperimentalmente. I punti nel grafico in Figura 3. 19 sono stati interpolati da una retta che ha andamento perfettamente lineare con  $R^2=1$ . La dimensione caratteristica del sensore B è  $860 \mu\text{m}$ , conseguentemente la costante di cella risulta pari a  $0,091 \text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 3. 19:** stima del parametro di cella del sensore B tramite interpolazione lineare sul grafico  $R_0-\rho_e$

### Ripetibilità e stabilità

Il fitting dei dati sperimentali e la modellazione con EEC a due costanti di tempo introduce un ulteriore grado di libertà nella determinazione dei parametri circuitali, questo implica che i valori degli elementi sono affetti da un errore più elevato rispetto a quelli calcolati per il sensore A. Nelle tabelle 3.20,3.11, 3.12 e 3.13 sono riportati i valori degli elementi circuitali con i rispettivi errori di fitting percentuali, mediati sulle tre ripetizioni di ciascuna concentrazione. Per tutte le concentrazioni, la resistenza R0 è calcolata con una precisione maggiore delle altre in quanto i dati sperimentali raggiungono il plateau alle alte frequenze, R1 e R2 sono le resistenze affette da errori percentuali maggiori. In alcuni casi il valore di R1 o R2 è stato fissato in modo che il fitting coincidesse con i punti sperimentali; in questi casi l'errore percentuale è nullo perché viene eliminato ogni grado di libertà.

**Tabella 3. 10:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 0,5 mM.

| 0,5 mM                                  | Valore medio         | Errore standard      | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                  | $7,53 \cdot 10^2$    | $1,77 \cdot 10^1$    | 0,81                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                  | $9,97 \cdot 10^2$    | $2,29 \cdot 10^2$    | 50,96                     |
| <b>R2</b> [ $\Omega$ ]                  | $1,26 \cdot 10^6$    | $6,54 \cdot 10^5$    | 10,65                     |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $5,15 \cdot 10^{-5}$ | $2,48 \cdot 10^{-6}$ | 10,37                     |
| <b><math>\alpha</math>1</b>             | $7,09 \cdot 10^{-1}$ | $9,30 \cdot 10^{-3}$ | 3,21                      |
| <b>Q2</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $7,30 \cdot 10^{-5}$ | $1,49 \cdot 10^{-6}$ | 12,39                     |
| <b><math>\alpha</math>2</b>             | $7,47 \cdot 10^{-1}$ | $7,94 \cdot 10^{-3}$ | 3,84                      |

**Tabella 3. 11:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 1 mM.

| 1 mM                                    | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                  | $5,77 \cdot 10^2$    | 5,50                  | 1,23                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                  | $1,26 \cdot 10^3$    | $1,25 \cdot 10^2$     | 21,37                     |
| <b>R2</b> [ $\Omega$ ]                  | $6,18 \cdot 10^5$    | $8,47 \cdot 10^3$     | 25,85                     |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $5,23 \cdot 10^{-5}$ | $1,51 \cdot 10^{-6}$  | 15,98                     |
| <b><math>\alpha</math>1</b>             | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 4,75                      |
| <b>Q2</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega}$ ] | $7,72 \cdot 10^{-5}$ | $1,06 \cdot 10^{-6}$  | 7,27                      |
| <b><math>\alpha</math>2</b>             | $7,69 \cdot 10^{-1}$ | $5,91 \cdot 10^{-3}$  | 2,97                      |

**Tabella 3. 12:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 5 mM.

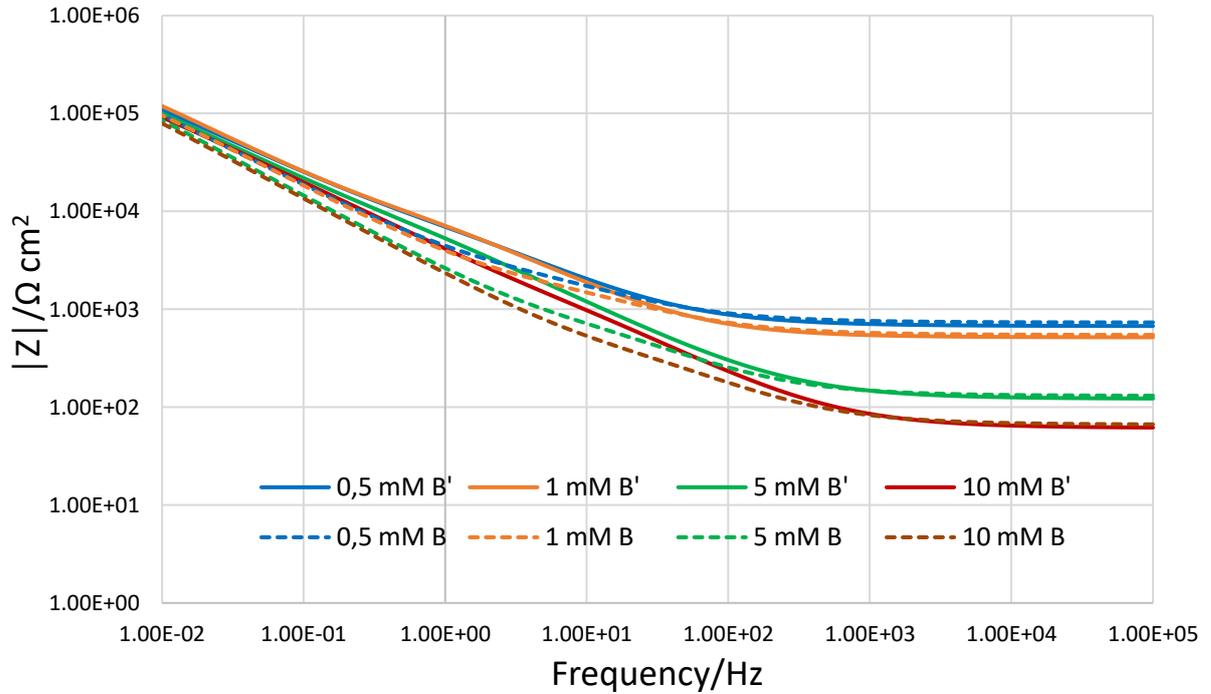
| 5 mM   | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|--|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                           | $1,38 \cdot 10^2$    | $6,06 \cdot 10^{-1}$  | 1,35                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                           | $4,55 \cdot 10^2$    | 9,51                  | 49,23                     |
| <b>R2</b> [ $\Omega$ ]                           | $1,02 \cdot 10^6$    | $8,95 \cdot 10^4$     | 15,89                     |
| <b>Q1</b> $\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]$ | $9,25 \cdot 10^{-5}$ | $2,02 \cdot 10^{-6}$  | 1,3                       |
| <b><math>\alpha 1</math></b>                     | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 1,25                      |
| <b>Q2</b> $\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]$ | $9,48 \cdot 10^{-5}$ | $4,12 \cdot 10^{-7}$  | 20,37                     |
| <b><math>\alpha 2</math></b>                     | $7,84 \cdot 10^{-1}$ | $3,33 \cdot 10^{-4}$  | 4,79                      |

**Tabella 3. 13:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 10 mM.

| 10 mM  | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|--|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                           | $6,96 \cdot 10^1$    | $3,09 \cdot 10^{-1}$  | 1,87                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                           | $2,55 \cdot 10^2$    | $1,67 \cdot 10^1$     | 18,69                     |
| <b>R2</b> [ $\Omega$ ]                           | $7,48 \cdot 10^5$    | $5,23 \cdot 10^4$     | 46,98                     |
| <b>Q1</b> $\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]$ | $1,09 \cdot 10^{-4}$ | $7,90 \cdot 10^{-7}$  | 27,39                     |
| <b><math>\alpha 1</math></b>                     | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,90 \cdot 10^{-17}$ | 5,79                      |
| <b>Q2</b> $\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]$ | $1,01 \cdot 10^{-4}$ | $2,90 \cdot 10^{-7}$  | 1,44                      |
| <b><math>\alpha 2</math></b>                     | $7,86 \cdot 10^{-1}$ | $1,86 \cdot 10^{-3}$  | 1,29                      |

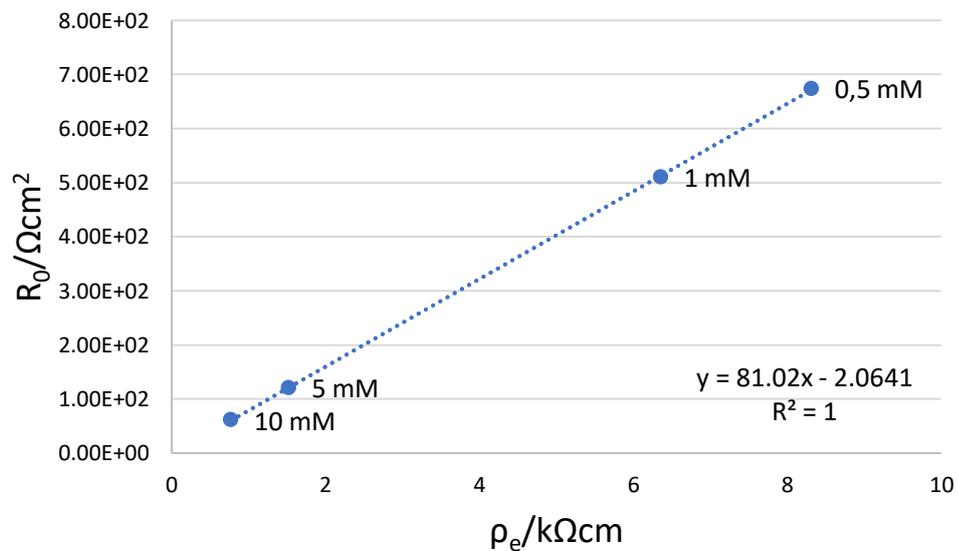
Anche in questo caso è stata verificata la riproducibilità della misura effettuando delle prove con un sensore nuovo ( $B'$ ) di uguali dimensioni di B.

Il confronto degli spettri d'impedenza (Figura 3. 20) acquisiti con il sensore B e  $B'$  mostra una sovrapposizione del modulo di impedenza delle alte frequenze per ciascuna concentrazione, indice di una buona riproducibilità della misura. Questa sovrapposizione è visibile a frequenze più elevate di  $10^3 Hz$ .



**Figura 3. 20:** Sovrapposizione degli spettri d'impedenza acquisiti con i sensori  $B$  e  $B'$

La dimensione caratteristica dell'elettrodo  $B'$  è  $810 \mu\text{m}$ , la costante di cella risultate è  $0,0853 \text{ cm}^{-1}$ , un valore inferiore rispetto a  $K_{\text{cell}}$  di  $B$  del  $5,72\%$ .



**Figura 3. 21:** Stima del parametro di cella del sensore  $B'$  tramite interpolazione lineare sul grafico  $R_0$ - $\rho_e$

### 3.2.3. Sensore C

Il terzo sensore preso in esame (sensore C), mostrato in Figura 3. 22, è costituito da due elettrodi di area uguale a  $2,16 \text{ cm}^2$ . Ciascun elettrodo è composto da 6 tracce di lunghezza (L)  $1,62 \text{ cm}$ , larghezza (W)  $0,09 \text{ cm}$  e spazio (S) tra le tracce di  $0,09 \text{ cm}$ .

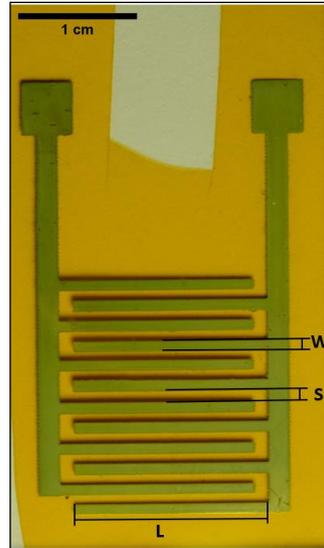
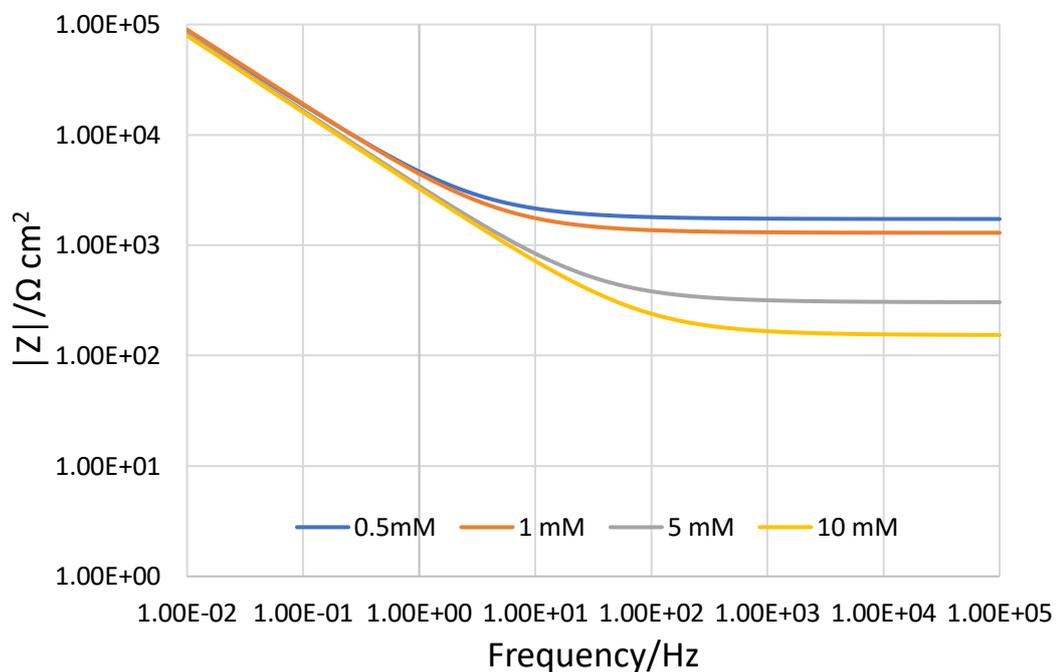
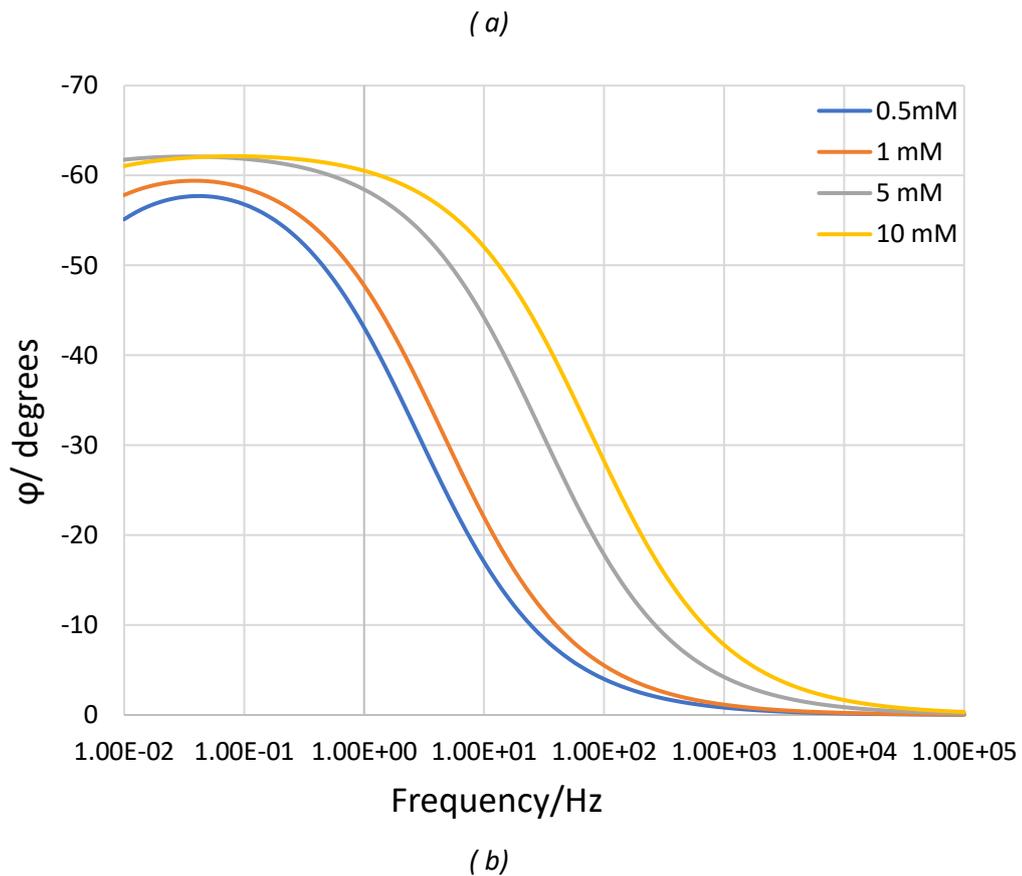


Figura 3. 22: sensore C

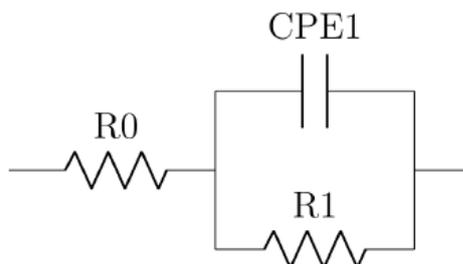
Come per i casi precedenti, in Figura 3.23 è riportato il diagramma di Bode delle misure di impedenza effettuate per le 4 concentrazioni di KCl in soluzione. Le impedenze, corrispondenti a ciascuna concentrazione, alle alte frequenze si confermano in ordine decrescente a partire dalla concentrazione più bassa alla più alta. Gli angoli di fase a basse frequenze raggiungono valori compresi tra  $57,7^\circ$  e  $62,1^\circ$ , ad alte frequenze l'angolo di fase è zero.





**Figura 3. 23:** *Diagramma di Bode spettri d'impedenza. Sensore C.*  
*a) modulo di impedenza b) angolo di fase.*

Il sensore C, come A, è stato modellizzato con un circuito equivalente costituito da una resistenza  $R_0$  in serie con un parallelo costituito da una resistenza  $R_1$  e un elemento a fase costante CPE1 mostrato in Figura 3. 24.



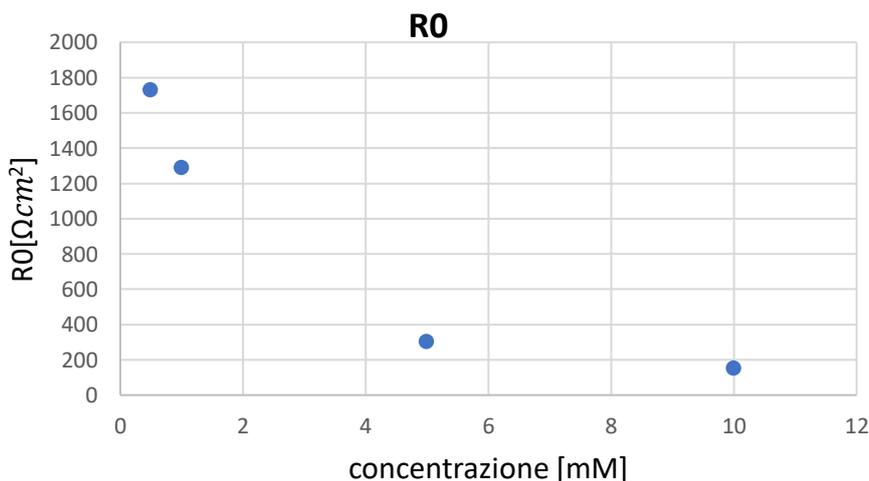
**Figura 3. 24:** *Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri d'impedenza del sensore C.*

I valori di ciascun elemento circuitale, calcolati come media dei valori ottenuti nelle tre ripetizioni effettuate per ogni concentrazione, sono riportati nella **Tabella 3. 14**.

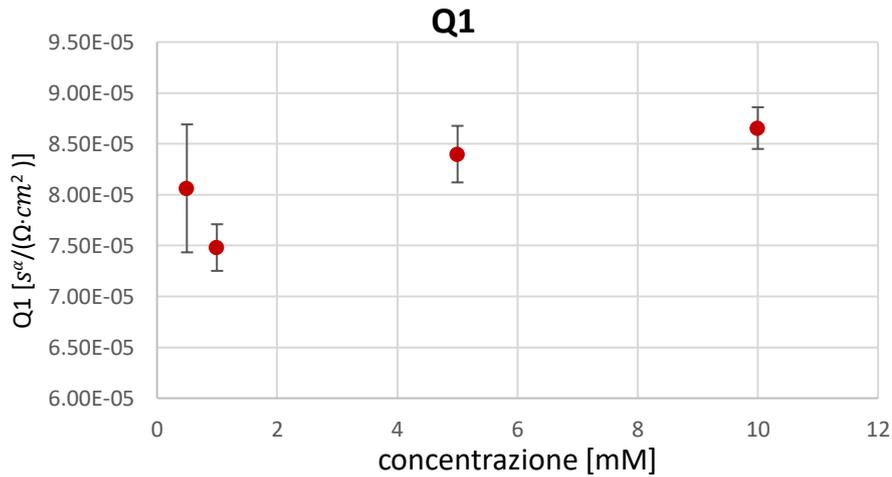
**Tabella 3. 14:** Parametri circuitali ottenuti per ciascuna concentrazione analizzata. Sensore C.

| Concentrazione della soluzione:                           | 0,5 mM               | 1 mM                 | 5 mM                 | 10 mM                |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $1,73 \cdot 10^3$    | $1,29 \cdot 10^3$    | $3,02 \cdot 10^2$    | $1,53 \cdot 10^2$    |
| <b>R1</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $5,44 \cdot 10^5$    | $1,03 \cdot 10^6$    | $3,64 \cdot 10^6$    | $2,18 \cdot 10^6$    |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $8,06 \cdot 10^{-5}$ | $7,84 \cdot 10^{-5}$ | $8,40 \cdot 10^{-5}$ | $8,65 \cdot 10^{-5}$ |
| <b><math>\alpha</math></b>                                | $7 \cdot 10^{-1}$    | $7 \cdot 10^{-1}$    | $7 \cdot 10^{-1}$    | $7 \cdot 10^{-1}$    |

I trend di R0 e Q1 in funzione della concentrazione sono mostrati in Figura 3. 25 e in Figura 3. 26. L'andamento della resistenza R0 si conferma il medesimo di quello ottenuto per i sensori A e B. Al crescere della concentrazione il valore della resistenza della soluzione diminuisce. L'elemento a fase costante presenta dei valori di Q1 che diminuiscono all'aumentare della concentrazione, ad eccezione del valore ottenuto dalla misura in soluzione 1 mM che a differenza di quanto ci si aspettava è inferiore rispetto a quello risultante dalla misura in soluzione 0,5 mM.



**Figura 3. 25:** Andamento di R0 in funzione della concentrazione di KCl



**Figura 3. 26:** Andamento di  $Q1$  in funzione della concentrazione di  $KCl$

I valori delle capacità effettive e della costante di tempo sono riportati nella Tabella 3. 15.

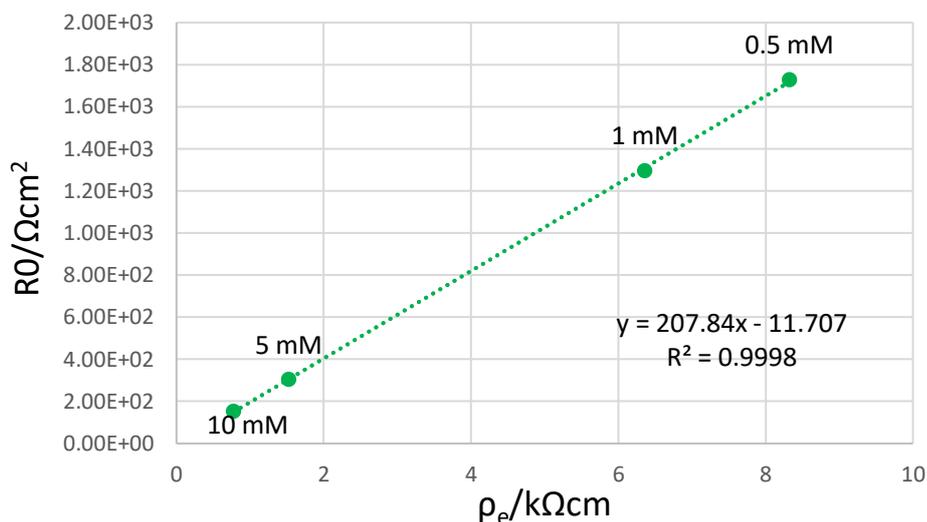
**Tabella 3. 15:** Valori di  $C$  e  $\tau$  ottenuti per ciascuna concentrazione di  $KCl$  in soluzione. Sensore C.

| Concentrazione della soluzione: | 0,5 mM               | 1 mM                 | 5 mM                 | 10 mM                |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $C [F/cm^2]$                    | $4,02 \cdot 10^{-4}$ | $4,80 \cdot 10^{-4}$ | $9,75 \cdot 10^{-4}$ | $8,18 \cdot 10^{-4}$ |
| $\tau [s]$                      | $2,21 \cdot 10^2$    | $5,04 \cdot 10^2$    | $3,56 \cdot 10^3$    | $1,79 \cdot 10^3$    |

Le resistenze medie  $R0$  per ciascuna concentrazione vengono interpolate tramite una linea retta avente equazione

$$y = 207,84 x - 11,707$$

la cui pendenza corrisponde alla dimensione caratteristica dell'elettrodo  $\delta=2078,4 \mu m$  e la costante di cella che deriva dalla normalizzazione rispetto all'area dell'elettrodo è  $K_{cell}=0,0962 cm^{-1}$  (Figura 3. 27).



**Figura 3. 27:** Stima del parametro di cella del sensore  $C$  tramite interpolazione lineare sul grafico  $R_0$ - $\rho_e$

Nelle tabelle 3.16, 3.17, 3.18 e 3.19, elencate in seguito, sono visibili i parametri del fitting del circuito equivalente per ciascuna concentrazione. Per le concentrazioni 5mM e 10 mM il valore della resistenza  $R_1$  è stato fissato manualmente, per questo motivo l'errore di fitting medio per  $R_1$  è nullo.

**Tabella 3. 16:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 0,5 mM.

| 0,5 mM  | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0 [Ω]</b>   | $8,01 \cdot 10^2$    | 5,82                  | 1,16                      |
| <b>R1[Ω]</b>  | $2,52 \cdot 10^5$    | $4,21 \cdot 10^4$     | 35,52                     |
| <b>Q1 <math>\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]</math></b> | $1,74 \cdot 10^{-4}$ | $6,29 \cdot 10^{-6}$  | 1,72                      |
| <b><math>\alpha_1</math></b>                                | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 1,35                      |

**Tabella 3. 17:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 1 mM.

| 1 mM  | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|---|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0 [Ω]</b>   | $5,97 \cdot 10^2$    | 3,46                  | 1,28                      |
| <b>R1[Ω]</b>  | $4,76 \cdot 10^5$    | $6,46 \cdot 10^4$     | 62,78                     |
| <b>Q1 <math>\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]</math></b> | $1,62 \cdot 10^{-4}$ | $2,29 \cdot 10^{-6}$  | 1,75                      |
| <b><math>\alpha_1</math></b>                                | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 1,27                      |

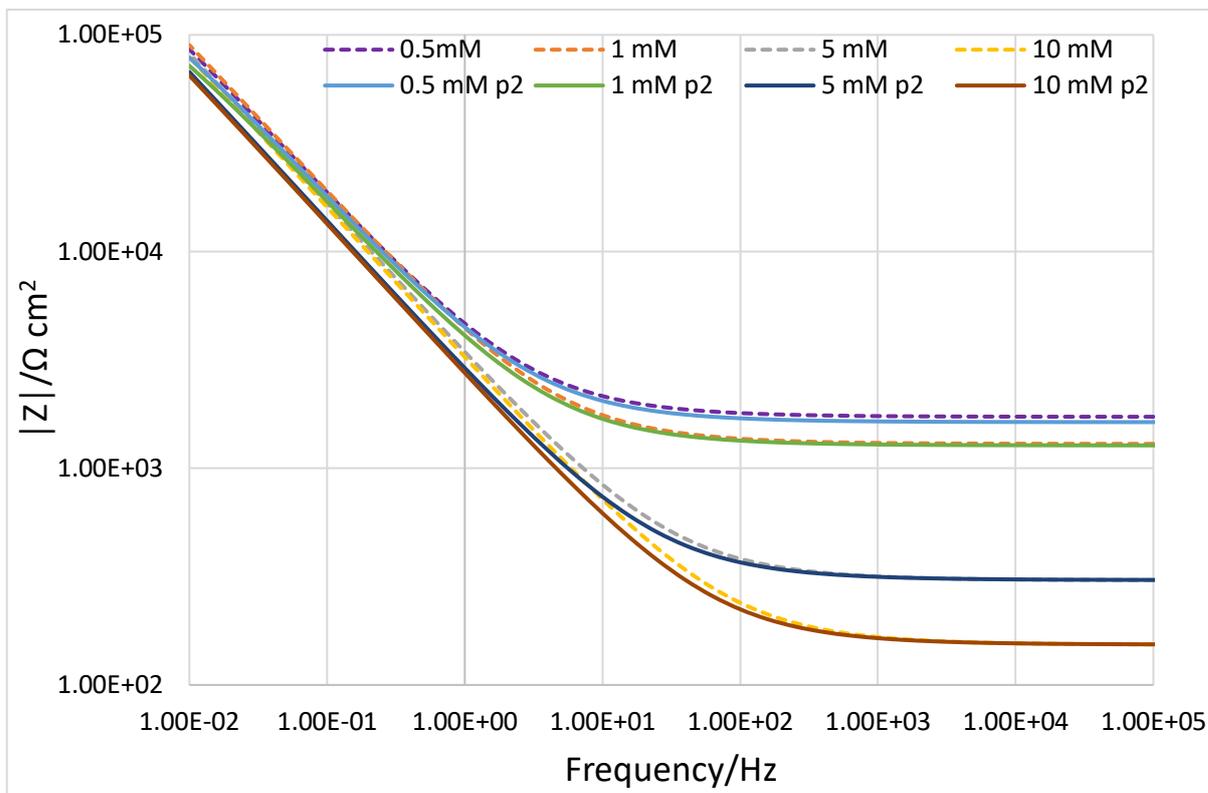
**Tabella 3. 18:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 5 mM.

| 5 mM   | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|--|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                           | $1,40 \cdot 10^2$    | $6,89 \cdot 10^{-1}$  | 1,52                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                           | $1,68 \cdot 10^6$    | $8,48 \cdot 10^4$     | -                         |
| <b>Q1</b> $\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]$ | $1,81 \cdot 10^{-4}$ | $2,78 \cdot 10^{-6}$  | 1,68                      |
| <b><math>\alpha</math>1</b>                      | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 0,89                      |

**Tabella 3. 19:** Valori medi degli elementi del circuito equivalente con corrispettivo errore standard ed errore percentuale di fitting. Soluzione 10 mM.

| 10 mM  | Valore medio         | Errore standard       | Errore di fitting medio % |
|--|----------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega$ ]                           | $7,09 \cdot 10^1$    | $1,55 \cdot 10^{-1}$  | 1,88                      |
| <b>R1</b> [ $\Omega$ ]                           | $1,01 \cdot 10^6$    | $1,00 \cdot 10^3$     | -                         |
| <b>Q1</b> $\left[\frac{s^\alpha}{\Omega}\right]$ | $1,87 \cdot 10^{-4}$ | $2,05 \cdot 10^{-6}$  | 1,79                      |
| <b><math>\alpha</math>1</b>                      | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,85 \cdot 10^{-17}$ | 0,81                      |

È stata verificata la stabilità del sensore C eseguendo le prove in soluzione a distanza di 4 mesi dal primo utilizzo. Dalla sovrapposizione degli spettri di impedenza ottenuti (Figura 3. 28) si può constatare che il sensore è in grado di replicare la misurazione fornendo gli stessi risultati nella zona ad alta frequenza, che è quella interessata per la determinazione della concentrazione della soluzione. Nella Tabella 3. 20 sono riportati i valori di R0 ottenuti al primo impiego e al secondo. Il materiale dell'elettrodo, quindi, dà prova di ottima stabilità all'esposizione atmosferica garantendo ottime prestazioni.



**Figura 3. 28:** Sovrapposizione degli spettri d'impedenza acquisiti con il sensore C al primo utilizzo (linea tratteggiata) e al secondo utilizzo (linea continua).

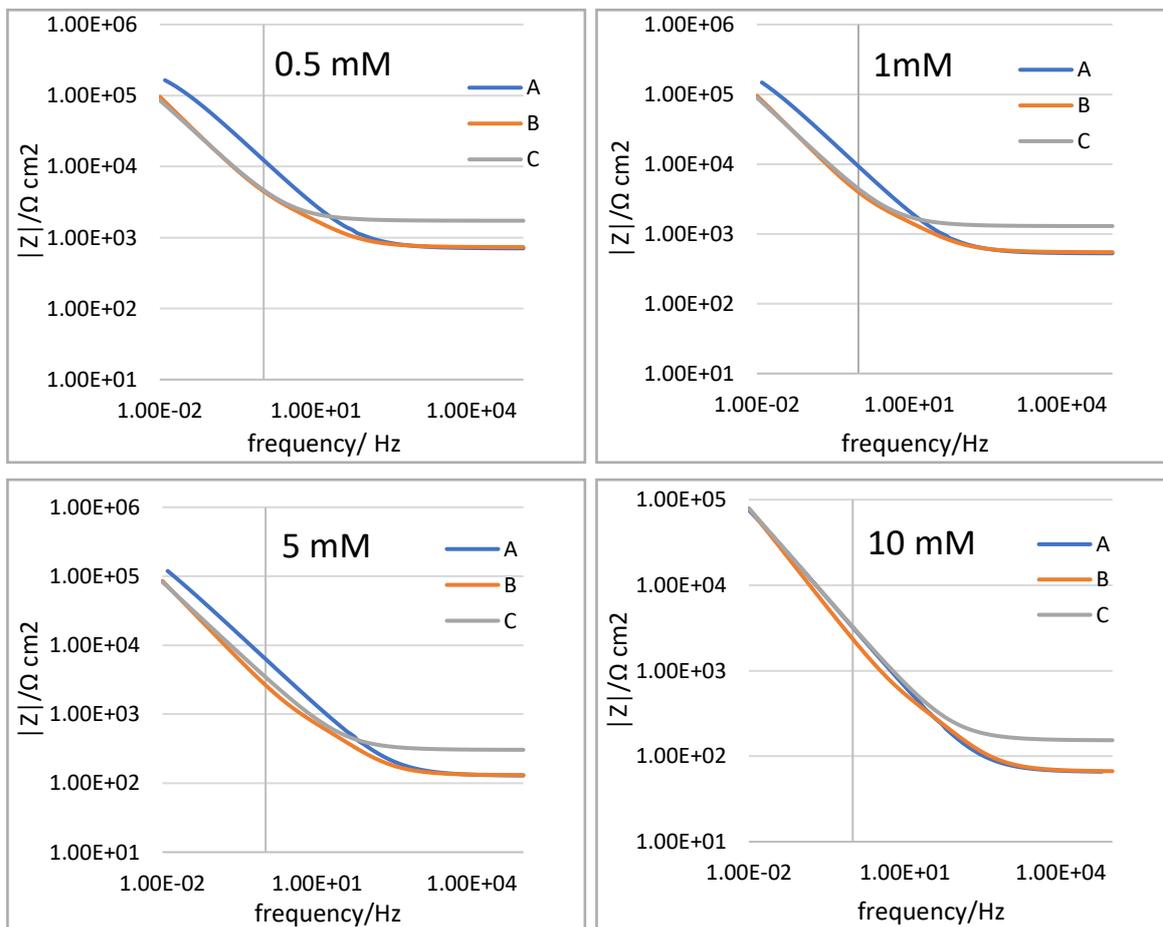
**Tabella 3. 20:** Valori di  $R_0$  al primo utilizzo e dopo 4 mesi.

| Concentrazione della soluzione:                    | 0,5 mM            | 1 mM              | 5 mM              | 10 mM             |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| $R_0$ [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]               | $1,63 \cdot 10^3$ | $1,26 \cdot 10^3$ | $3,05 \cdot 10^2$ | $1,53 \cdot 10^2$ |
| $R_0$ [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ] seconda prova | $1,73 \cdot 10^3$ | $1,29 \cdot 10^3$ | $3,02 \cdot 10^2$ | $1,53 \cdot 10^2$ |

### 3.2.4. Confronto spettri di impedenza sensori A, B, C

Nei grafici in Figura 3. 29 viene mostrato il confronto tra i diagrammi del modulo dell'impedenza dei 3 sensori, per ciascuna concentrazione. Le misure di impedenza sono normalizzate rispetto all'area dell'elettrodo.

Dividendo un valore di impedenza ad alte frequenze per la dimensione caratteristica calcolata per ciascun sensore, si ottengono valori di resistività molto simili a quelli misurati in ciascuna soluzione dal conduttimetro Mettler Toledo. Questa valutazione testimonia il fatto che seppur i valori di impedenza siano influenzati dalla geometria del sensore, il calcolo del parametro di cella permette di scalare le grandezze misurate e determinare l'effettiva concentrazione di analita. I valori di resistività determinati sono riportati in Tabella 3.21.



**Figura 3. 29:** Confronto moduli di impedenza, normalizzati rispetto a ciascuna area, dei sensori A, B e C, per ogni concentrazione.

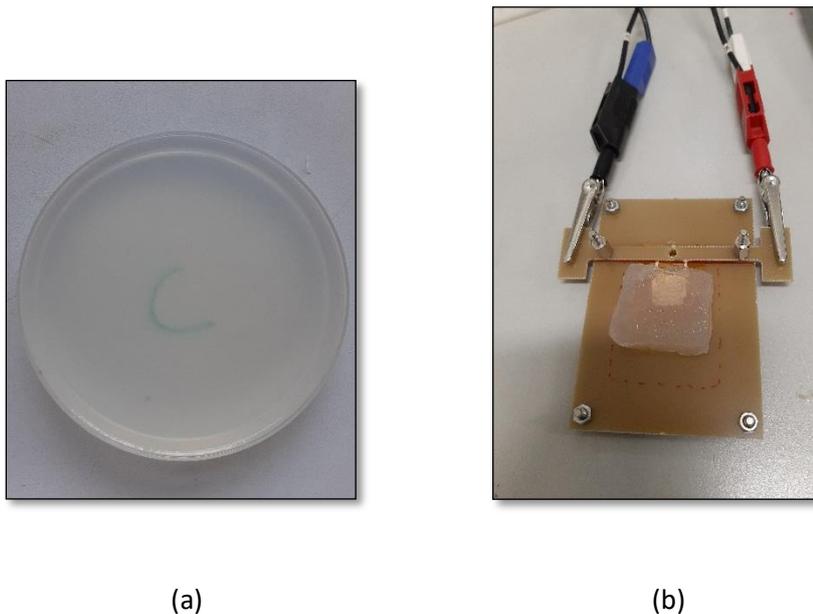
**Tabella 3. 21:** Confronto tra la resistività rilevata da ciascuna sensore e quella rilevata dal conduttimetro.

| RESISTIVITÀ [ $k\Omega \cdot cm$ ] |       |       |       |               |
|------------------------------------|-------|-------|-------|---------------|
| Concentrazione soluzione           | A     | B     | C     | Conduttimetro |
| 0,5 mM                             | 8,36  | 8,54  | 8,32  | 8,32          |
| 1 mM                               | 6,31  | 6,37  | 6,25  | 6,36          |
| 5 mM                               | 1,54  | 1,52  | 1,47  | 1,52          |
| 10 mM                              | 0,781 | 0,777 | 0,740 | 0,773         |

### 3.3. Misure di impedenza in vitro

Per simulare la pelle umana sono stati utilizzati dei campioni di gel di agar. La perdita di idratazione è stata imitata mettendo i campioni in una camera climatica a 37°C ed eseguendo le misure di impedenza dopo 10 min, 60 min, 120 min e 180 min. Il gel di agar è stato spesso usato per imitare la pelle umana e i tessuti grazie alle sue caratteristiche dielettriche simili al materiale biologico [36], [75], [92], [93]. La pelle artificiale è stata preparata in modo da essere inizialmente molto idratata e successivamente, in seguito all'evaporazione di acqua nella camera climatica, è stato possibile definire degli intervalli di tempo, corrispondenti all'evaporazione di una determinata quantità d'acqua, dopo i quali eseguire la misura di impedenza e studiarne l'andamento.

Per le misure di impedenza su agar sono stati utilizzati un sensore rettangolare avente superficie dell'elettrodo 0,5572 cm<sup>2</sup> e un sensore circolare avente ciascun elettrodo di area 0,7485 cm<sup>2</sup>. La Figura 3. 30 mostra un campione di gel di agar e il set up della misura.

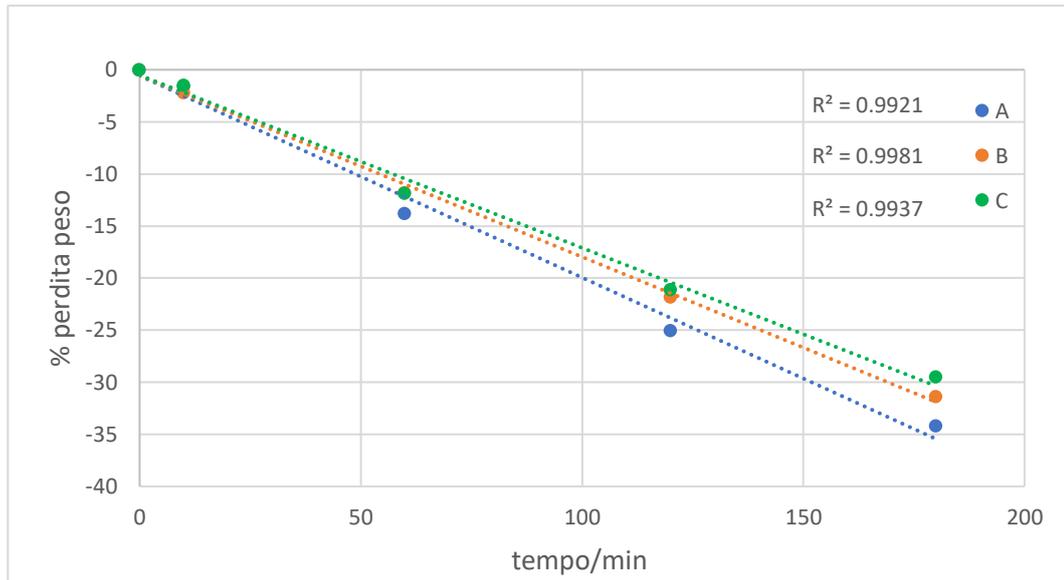


**Figura 3. 30:** (a) *Campione di gel di agar e (b) set up sperimentale*

#### 3.3.1. Sensore Rettangolare

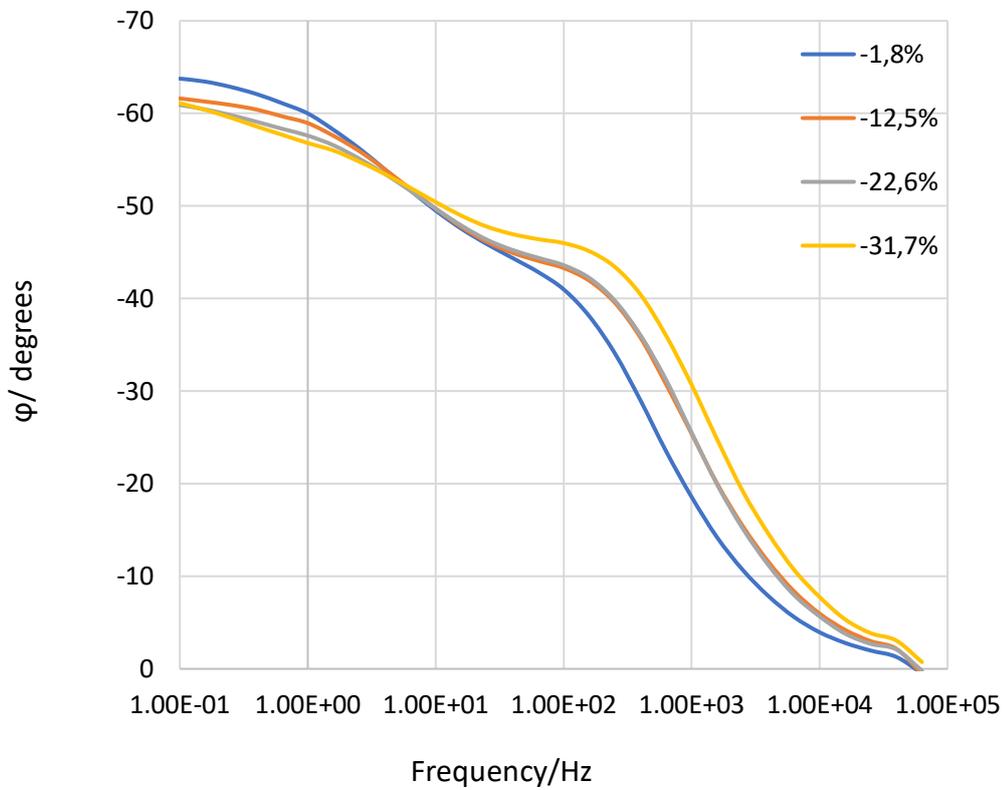
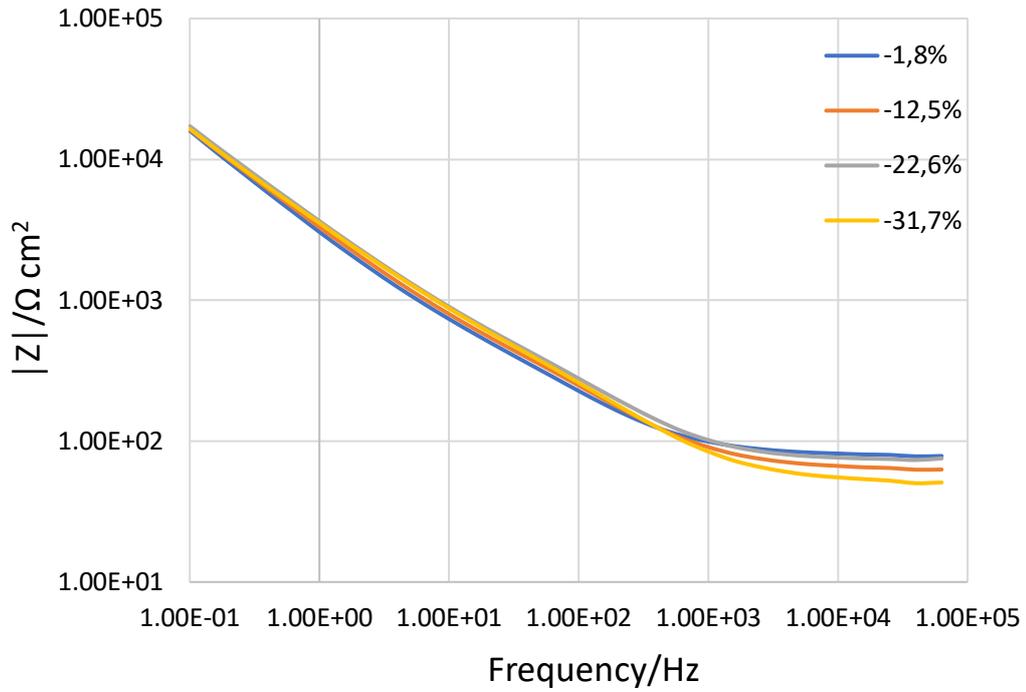
Il sensore utilizzato per queste misure di impedenza su agar è equivalente al sensore A, mostrato in Figura 3.3, utilizzato per effettuare le misure in soluzione.

La Figura 3. 31 riporta la perdita d'acqua per evaporazione dei campioni di agar sotto forma di perdita di peso percentuale. L'andamento è pressoché lineare per tutti i tre campioni di agar differenti su cui è stato testato il medesimo sensore.



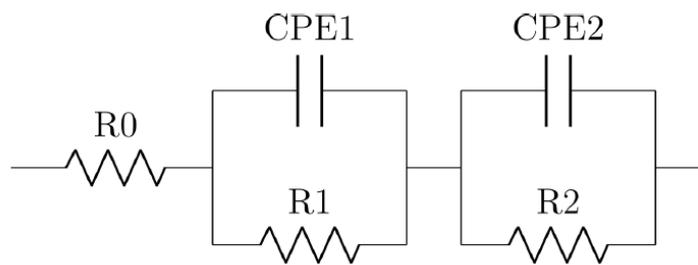
**Figura 3. 31:** *Perdita di peso dei campioni di agar in funzione del tempo di incubazione nella camera climatica.*

I diagrammi di Bode degli spettri di impedenza acquisiti sono mostrati in Figura 3. 32. Si nota che ad alte frequenze il modulo di impedenza assume valori minori man mano che la perdita d'acqua del campione di agar aumenta. Questo andamento è coerente con quello che ci si sarebbe aspettato, in quanto la perdita d'acqua per evaporazione determina una maggior concentrazione di KCl nel campione, che quindi provoca una diminuzione della resistenza del gel al passaggio di corrente. Nel diagramma di fase, è possibile notare due picchi per ciascuna curva. Il picco a frequenze più alte subisce uno spostamento verso frequenze maggiori con l'aumento della perdita d'acqua, allo stesso tempo le curve corrispondenti a una maggior perdita d'acqua presentano un picco ad un angolo di fase con modulo maggiore rispetto a quelle dei campioni più idratati. Il picco a basse frequenze si abbassa all'aumentare dell'acqua evaporata.



**Figura 3. 32:** *Diagramma di Bode spettri d'impedenza per ciascuna perdita di peso.*

Dal momento che nel diagramma di fase sono presenti due picchi, gli spettri di impedenza sono stati modellizzati con un circuito elettrico contenente una resistenza,  $R_0$ , in serie con due paralleli costituiti da una resistenza e un elemento a fase costante. Il circuito è mostrato in Figura 3. 33. La resistenza  $R_0$  modella la resistenza del campione di agar al passaggio di corrente. Il primo parallelo, composto da  $R_1$  e CPE1, modella le caratteristiche dielettriche dell'agar e influenza l'impedenza ad alte frequenze. Il secondo parallelo, composto da  $R_2$  e CPE2, modella l'interfaccia elettrodo-gel e influenza l'impedenza a basse frequenze.

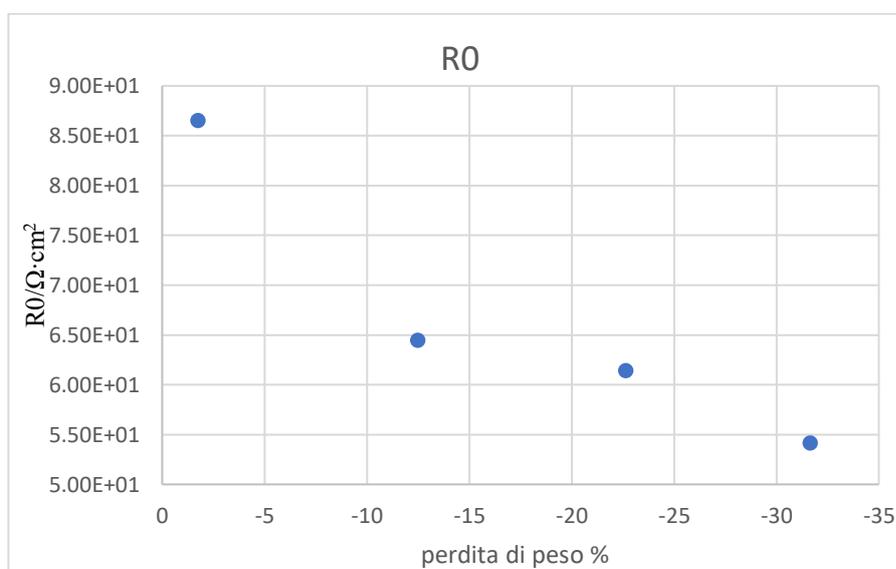


**Figura 3. 33:** Circuito equivalente utilizzato per modellizzare gli spettri delle misure su agar.

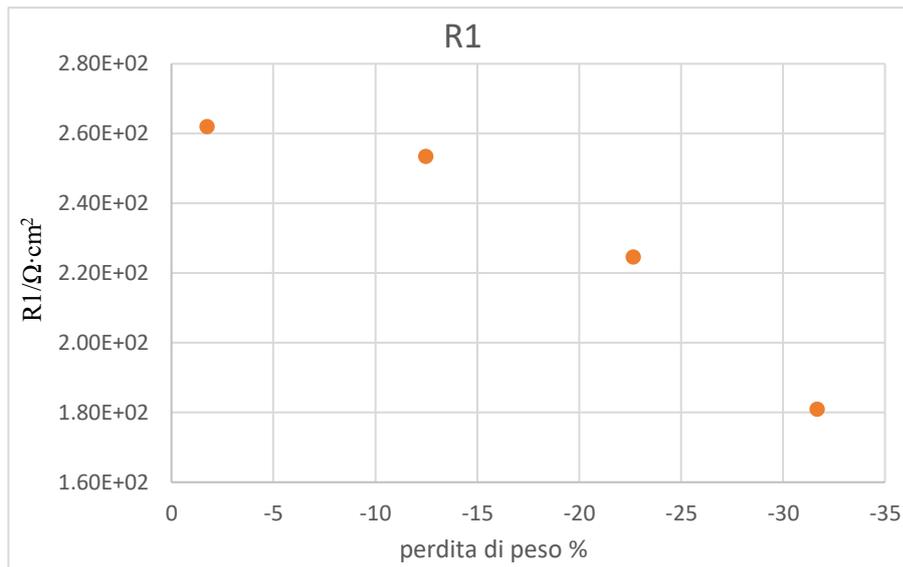
I valori di ciascun parametro circuitale, per ogni quantità d'acqua evaporata, sono riportati in Tabella 3.22. Ogni valore è calcolato come media tra quelli ottenuti dalle misure sui tre campioni di agar. I grafici in Figura 3. 34, Figura 3. 35 e Figura 3. 36 mostrano gli andamenti di  $R_0$ ,  $R_1$  e  $Q_1$  al crescere della perdita d'acqua. Questi parametri, insieme a  $\alpha_1$  sono gli unici ad essere influenzati dalle proprietà dielettriche del mezzo. L'andamento di  $R_0$ , riportato in Figura 3. 34, è decrescente ed è dovuto al fatto che l'evaporazione progressiva dell'acqua comporta un aumento della concentrazione di KCl nel gel di agar, che aumenta la conducibilità del mezzo e di conseguenza la resistenza diminuisce. Lo stesso andamento si osserva anche per  $R_1$  che è influenzata in egual maniera dalla perdita d'acqua. La capacità del mezzo, descritta da  $Q_1$ , riportata in Figura 3. 36, subisce una decrescita in quanto è correlata alla perdita d'acqua del campione di agar.  $\alpha_1$  assume valori che vanno da 0,71 a 0,82 per la perdita d'acqua maggiore. Questo andamento indica che il CPE assume un comportamento maggiormente capacitivo quando il contenuto d'acqua nel mezzo diminuisce. Tuttavia, il valore si conferma lontano dall'unità, ciò giustifica la scelta dell'elemento a fase costante.

**Tabella 3. 22:** Valori dei parametri circuitali corrispondenti a ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore rettangolare.

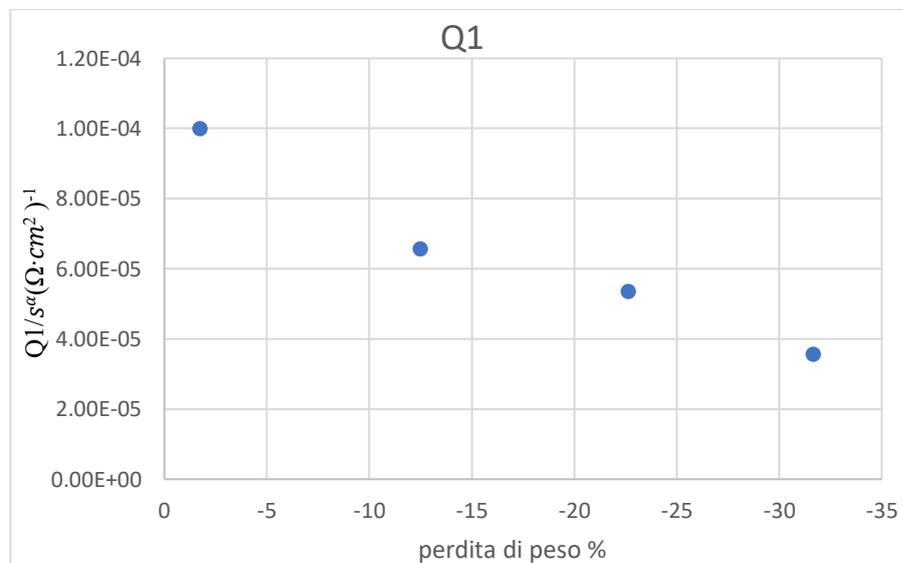
| Perdita in peso:  | -1,8 %               | -12,5%               | -22,6 %              | -31,7%               |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $8,65 \cdot 10^1$    | $6,44 \cdot 10^1$    | $6,14 \cdot 10^1$    | $5,41 \cdot 10^1$    |
| <b>R1</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $2,62 \cdot 10^2$    | $2,53 \cdot 10^2$    | $2,52 \cdot 10^2$    | $1,81 \cdot 10^2$    |
| <b>R2</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $4,96 \cdot 10^5$    | $3,39 \cdot 10^7$    | $1,22 \cdot 10^7$    | $6,54 \cdot 10^5$    |
| <b>Q1</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $9,99 \cdot 10^{-5}$ | $6,57 \cdot 10^{-5}$ | $5,34 \cdot 10^{-5}$ | $3,65 \cdot 10^{-5}$ |
| <b><math>\alpha 1</math></b>                              | $7,14 \cdot 10^{-1}$ | $7,48 \cdot 10^{-1}$ | $8,13 \cdot 10^{-1}$ | $8,16 \cdot 10^{-1}$ |
| <b>Q2</b> [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $9,52 \cdot 10^{-5}$ | $7,99 \cdot 10^{-5}$ | $7,97 \cdot 10^{-5}$ | $7,09 \cdot 10^{-5}$ |
| <b><math>\alpha 2</math></b>                              | $7,44 \cdot 10^{-1}$ | $7,15 \cdot 10^{-1}$ | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,00 \cdot 10^{-1}$ |



**Figura 3. 34:** Andamento della resistenza R0 in funzione della perdita di peso



**Figura 3. 35:** *Andamento della resistenza R1 in funzione della perdita di peso*



**Figura 3. 36:** *Andamento dell'elemento Q1 in funzione della perdita di peso*

La seconda costante di tempo  $\tau_2$  è associata all'interfaccia elettrodo-agar, per cui non è influenzata dalla perdita d'acqua del mezzo. I valori di R1 e Q1 non seguono un andamento monotono che sia significativo della variazione del contenuto d'acqua nel mezzo.

La Tabella 3.23 contiene i valori delle capacità effettive e delle due costanti di tempo.

**Tabella 3. 23:** Valori di capacità e costanti di tempo calcolati per ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore rettangolare.

| Perdita di peso:               | -1,8 %               | -12,5%               | -22,6 %              | -31,7%               |
|--------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>C1</b> [ $F/cm^2$ ]         | $2,26 \cdot 10^{-5}$ | $1,64 \cdot 10^{-5}$ | $1,46 \cdot 10^{-5}$ | $1,13 \cdot 10^{-5}$ |
| <b>C2</b> [ $F/cm^2$ ]         | $2,95 \cdot 10^{-4}$ | $1,33 \cdot 10^{-3}$ | $1,15 \cdot 10^{-3}$ | $3,72 \cdot 10^{-4}$ |
| <b><math>\tau_1</math></b> [s] | $5,78 \cdot 10^{-3}$ | $4,15 \cdot 10^{-3}$ | $3,41 \cdot 10^{-3}$ | $2,04 \cdot 10^{-3}$ |
| <b><math>\tau_2</math></b> [s] | $2,54 \cdot 10^2$    | $1,15 \cdot 10^5$    | $1,24 \cdot 10^3$    | $2,81 \cdot 10^2$    |

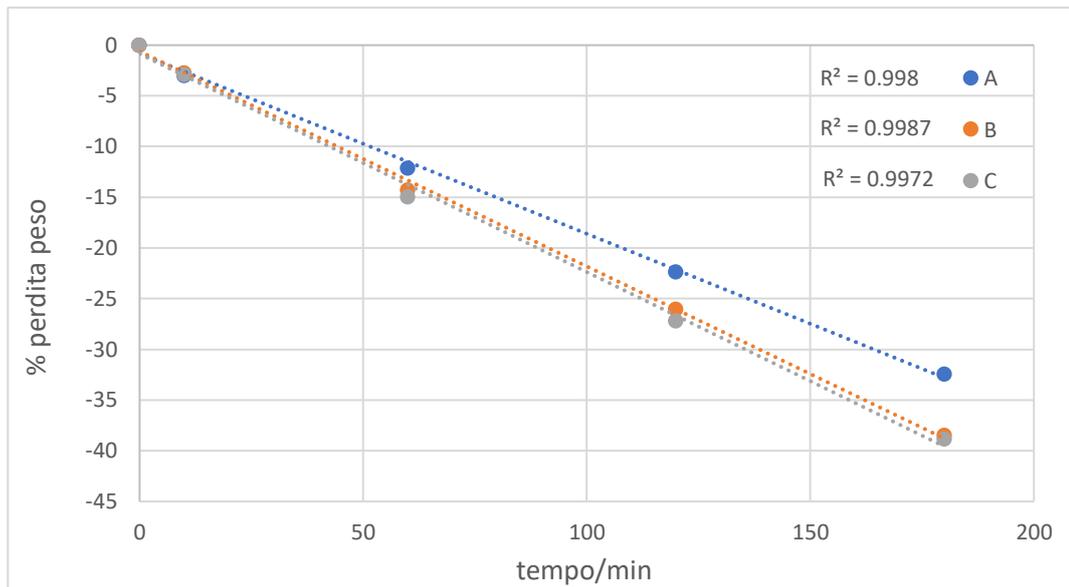
### 3.3.2. Sensore circolare

Il sensore circolare utilizzato per le misure su agar è mostrato in Figura 3. 37. Ciascun elettrodo ha area pari a  $0,75 \text{ cm}^2$ .



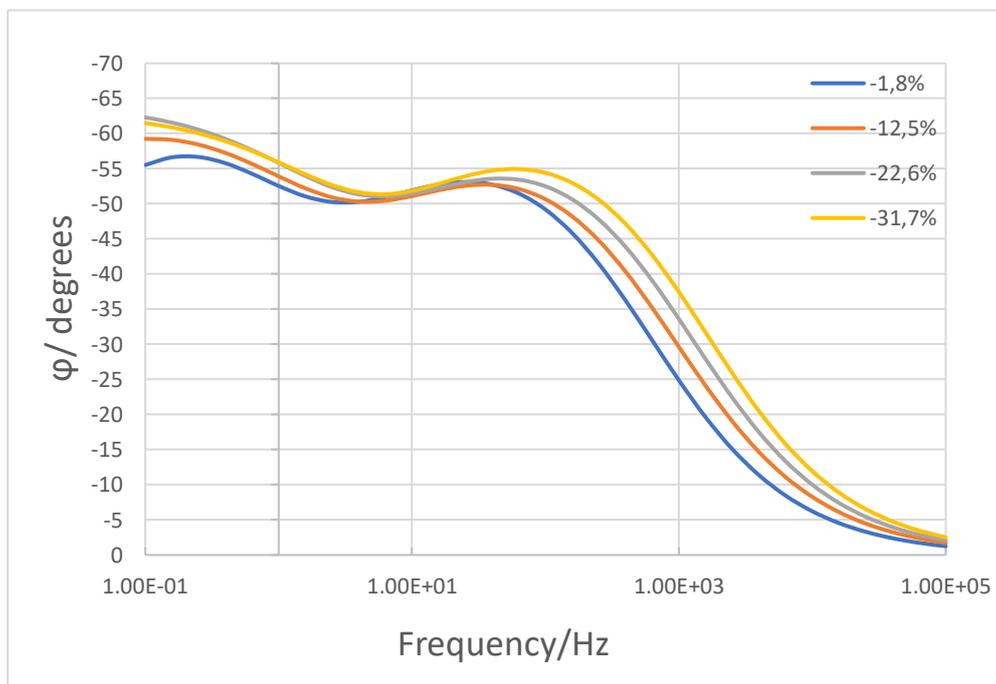
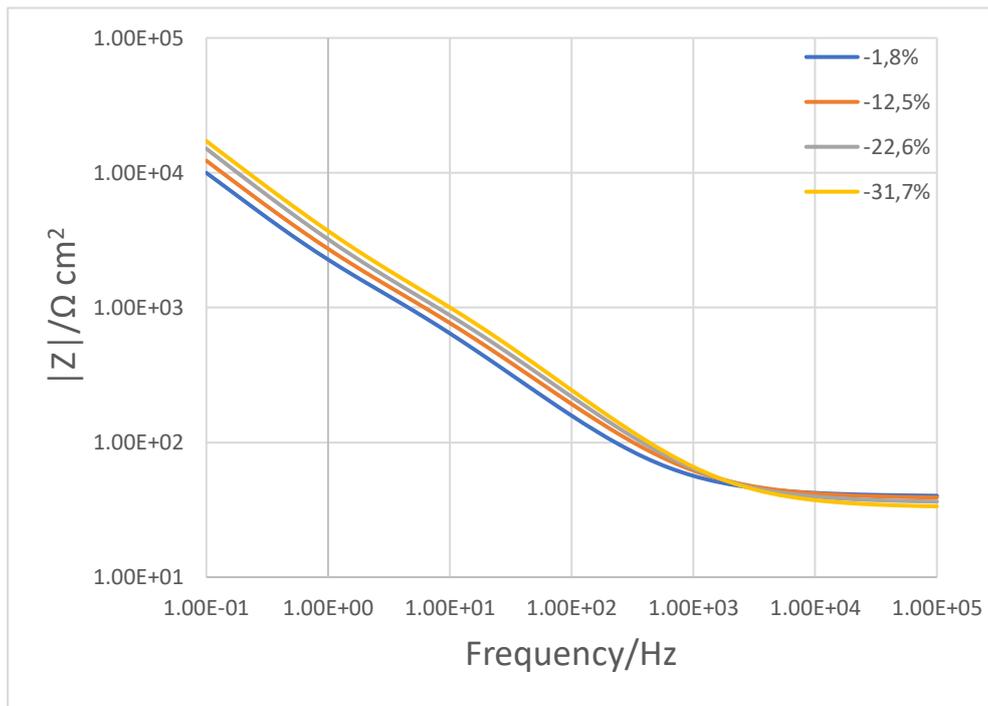
**Figura 3. 37:**  
Sensore circolare

Il grafico in Figura 3. 38 riporta la perdita di peso, dovuta all'evaporazione dell'acqua, dei campioni di agar, in funzione del tempo di permanenza nella camera climatica. Anche in questo caso la perdita d'acqua segue un andamento lineare, ogni regressione lineare ha un  $R^2$  superiore a 0,99.



**Figura 3. 38:** *Perdita di peso dei campioni di agar in funzione del tempo di incubazione nella camera climatica.*

In Figura 3. 39 è riportato il diagramma di Bode delle misure di impedenza per ciascuna percentuale di peso persa. Come per il sensore rettangolare di cui si è discusso in precedenza, anche per quello circolare si assiste, nel diagramma di fase, a uno spostamento verso frequenze maggiori del picco ad alte frequenze, con il concomitante aumento del modulo di impedenza, per valori di acqua evaporata crescenti. Il picco a basse frequenze aumenta per i campioni di agar più disidratati. Il modulo di impedenza ad alte frequenze assume valori decrescenti con l'aumento della perdita d'acqua ma la variazione è meno accentuata rispetto a quella rilevata dal sensore rettangolare.

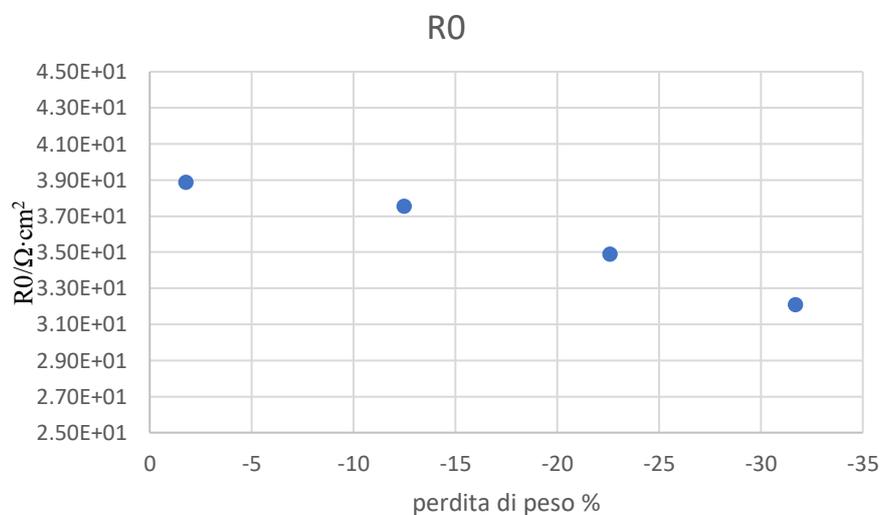


**Figura 3. 39:** *Diagramma di Bode spettri d'impedenza per ciascuna perdita di peso. Sensore circolare.*

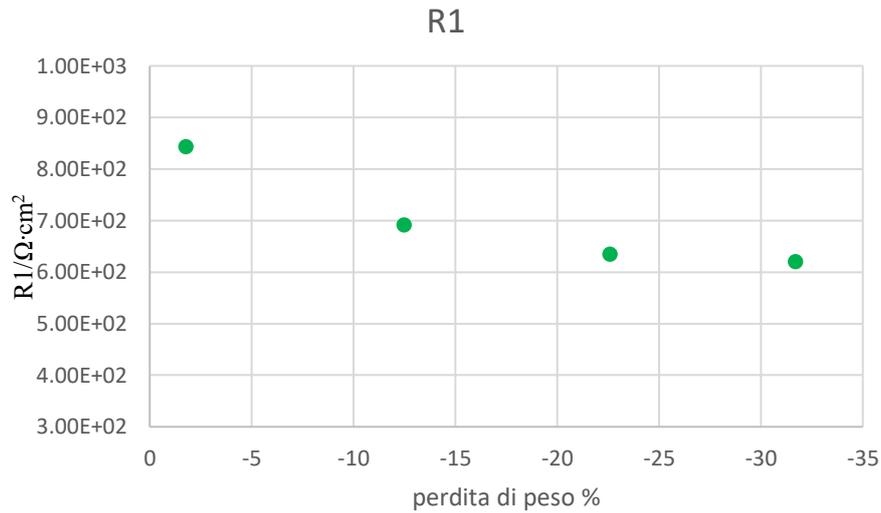
Nella Tabella 3.24 sono presenti i valori assunti dagli elementi del circuito elettrico con cui sono stati modellizzati gli spettri d'impedenza, per ciascuna perdita di peso. Gli andamenti di  $R_0$ ,  $R_1$  e  $Q_1$ , che sono gli elementi influenzati dalla perdita d'acqua nel campione di agar, sono mostrati nelle figure 3.40, 3.41, e 3.42. I tre parametri assumono valori progressivamente decrescenti con la diminuzione del contenuto d'acqua nel campione. Il fattore  $\alpha_1$  assume valori compresi tra 0,7 e 0,736. Anche in questo caso si assiste a una maggior tendenza del CPE1 verso il comportamento capacitivo. Il valore di  $\alpha_1$  maggiore, raggiunto con una perdita d'acqua del 31,7%, risulta però più basso di quello ottenuto con l'elettrodo rettangolare.

**Tabella 3. 24:** Valori dei parametri circuitali corrispondenti a ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore circolare.

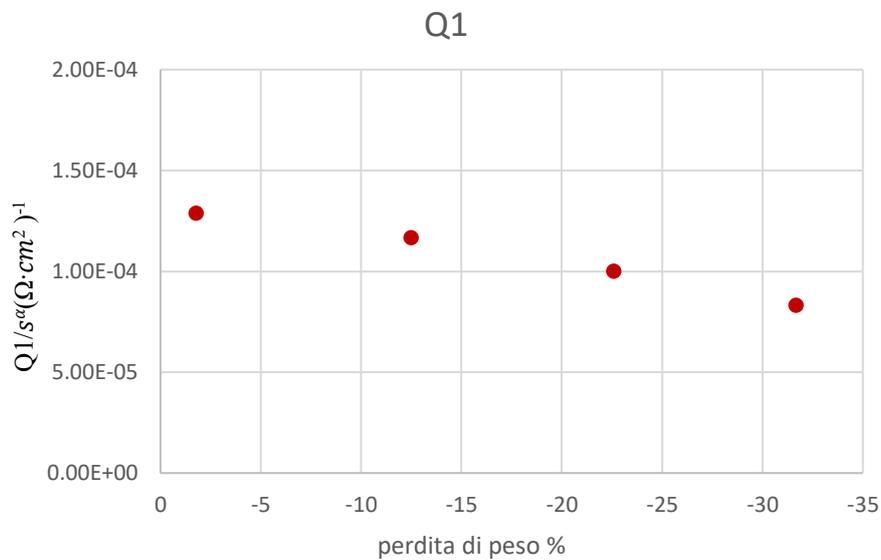
| Perdita in peso:                                      | -1,8 %               | -12,5%               | -22,6 %              | -31,7%               |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $R_0$ [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $3,89 \cdot 10^1$    | $3,75 \cdot 10^1$    | $3,49 \cdot 10^1$    | $3,21 \cdot 10^1$    |
| $R_1$ [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $8,44 \cdot 10^2$    | $6,91 \cdot 10^2$    | $6,35 \cdot 10^2$    | $6,21 \cdot 10^2$    |
| $R_2$ [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                  | $8,94 \cdot 10^4$    | $1,95 \cdot 10^5$    | $8,71 \cdot 10^7$    | $1,55 \cdot 10^7$    |
| $Q_1$ [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $1,29 \cdot 10^{-4}$ | $1,17 \cdot 10^{-4}$ | $1,00 \cdot 10^{-4}$ | $8,30 \cdot 10^{-5}$ |
| $\alpha_1$  | $7,00 \cdot 10^{-1}$ | $7,01 \cdot 10^{-1}$ | $7,12 \cdot 10^{-1}$ | $7,36 \cdot 10^{-1}$ |
| $Q_2$ [ $\frac{s^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $1,42 \cdot 10^{-4}$ | $1,17 \cdot 10^{-4}$ | $9,68 \cdot 10^{-5}$ | $8,41 \cdot 10^{-5}$ |
| $\alpha_2$  | $7,68 \cdot 10^{-1}$ | $7,26 \cdot 10^{-1}$ | $7,20 \cdot 10^{-1}$ | $7,08 \cdot 10^{-1}$ |



**Figura 3. 40:** Andamento della resistenza  $R_0$  in funzione della perdita di peso del campione di agar.



**Figura 3. 41:** *Andamento della resistenza R1 in funzione della perdita di peso del campione di agar*



**Figura 3. 42:** *Andamento dell'elemento Q1 in funzione della perdita di peso del campione di agar*

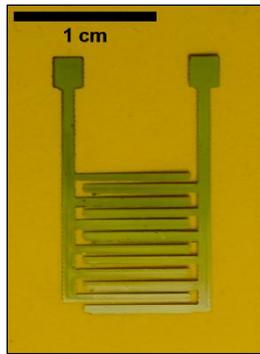
Nella Tabella 3.25 sono riportate le capacità effettive del circuito e le costanti di tempo corrispondenti. Si può notare come C1 e  $\tau_1$ , le quali sono determinate a partire dai parametri R1, Q1 e  $\alpha_1$ , seguono lo stesso andamento decrescente dei suddetti parametri. Rispetto al sensore rettangolare la costante  $\tau_1$  assume valori più alti di circa un ordine di grandezza, mentre  $\tau_2$  si attesta approssimativamente sullo stesso ordine di grandezza.

**Tabella 3. 25:** Valori di capacità e costanti di tempo calcolati per ciascuna perdita di peso del campione di agar. Sensore circolare.

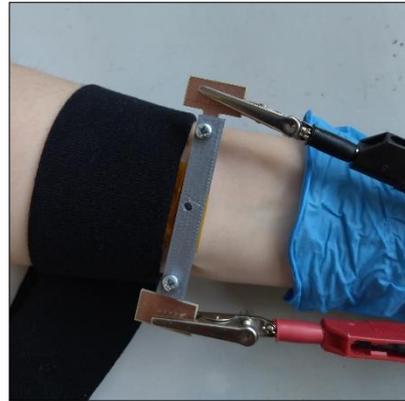
| <b>Perdita di peso:</b>         | <b>-1,8 %</b>        | <b>-12,5%</b>        | <b>-22,6 %</b>       | <b>-31,7%</b>        |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>C1 [<math>F/cm^2</math>]</b> | $4,97 \cdot 10^{-5}$ | $3,98 \cdot 10^{-5}$ | $3,28 \cdot 10^{-5}$ | $2,87 \cdot 10^{-5}$ |
| <b>C2 [<math>F/cm^2</math>]</b> | $3,05 \cdot 10^{-4}$ | $3,83 \cdot 10^{-4}$ | $3,24 \cdot 10^{-3}$ | $1,62 \cdot 10^{-3}$ |
| <b><math>\tau_1</math> [s]</b>  | $4,19 \cdot 10^{-2}$ | $2,75 \cdot 10^{-2}$ | $2,08 \cdot 10^{-2}$ | $1,78 \cdot 10^{-2}$ |
| <b><math>\tau_2</math> [s]</b>  | $2,73 \cdot 10^1$    | $7,45 \cdot 10^1$    | $2,82 \cdot 10^5$    | $2,51 \cdot 10^4$    |

### 3.4. Misure in vivo

Un sensore rettangolare (A), come quello mostrato in Figura 3.43 avente area degli elettrodi pari a  $0,557 \text{ cm}^2$ , è stato utilizzato per delle misure in vivo. La prima misura è stata effettuata sulla pelle perfettamente asciutta. Successivamente la pelle è stata idratata esternamente mediante l'uso di una lozione e le misure di impedenza sono state ripetute dopo diversi minuti dall'applicazione. In Figura 3.44 viene mostrata l'applicazione del sensore sull'avambraccio.

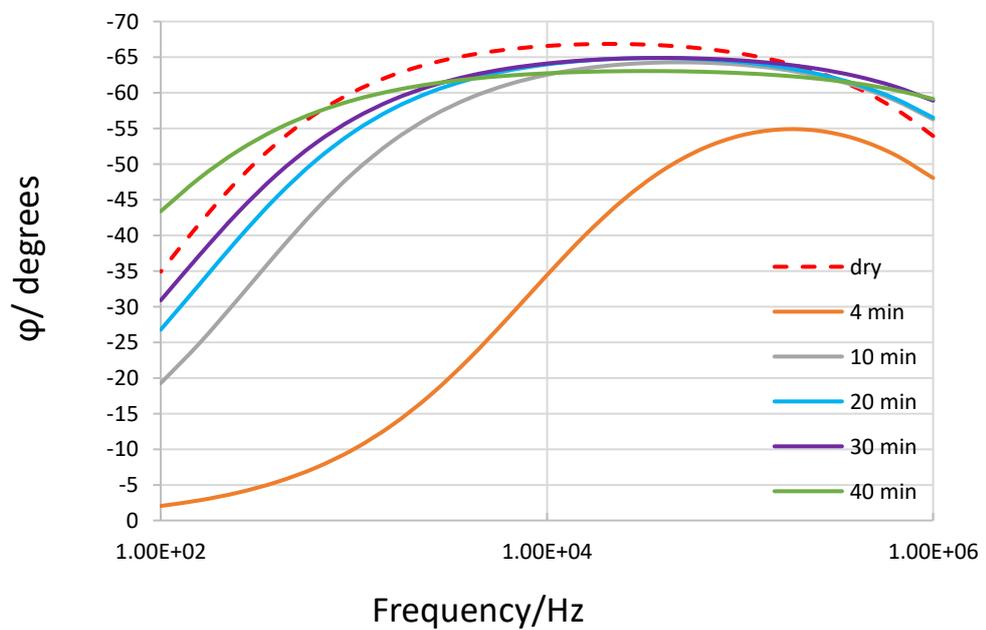
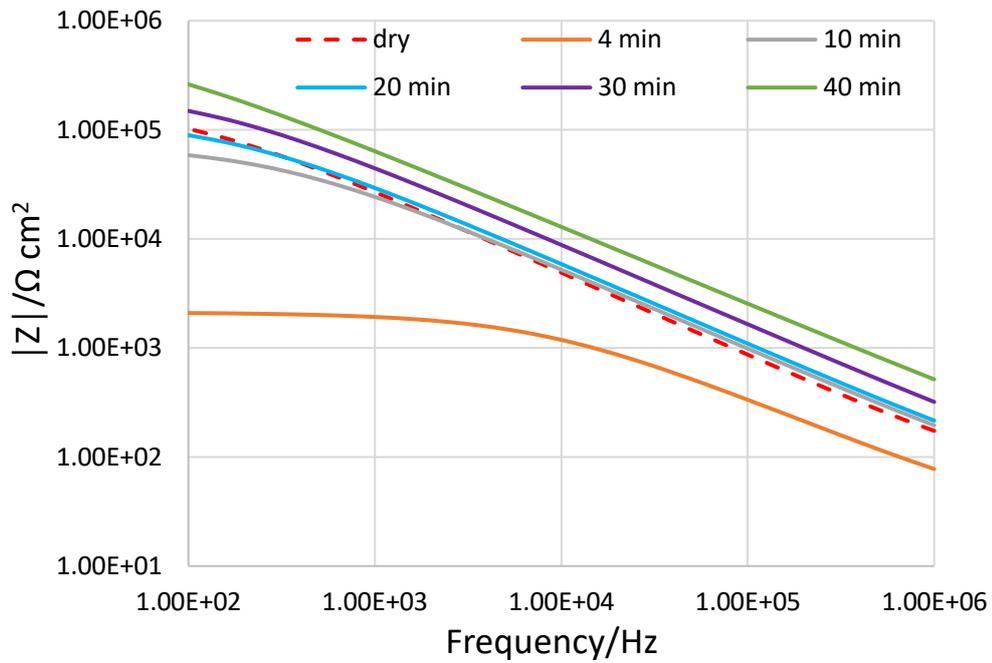


**Figura 3. 43:** *Sensore A usato per le misure in vivo.*



**Figura 3. 44:** *Set up sperimentale per le misure in vivo.*

L'intervallo di frequenze usato per questa misura è stato ridotto a quello compreso tra  $10^2 \text{ Hz}$  e  $10^6 \text{ Hz}$  in quanto dalle misure condotte in vitro è stato appurato come questo intervallo fosse quello influenzato dalla perdita d'acqua. Il diagramma di Bode in Figura 3.45 mostra la sovrapposizione degli spettri d'impedenza ottenuti dal test in vivo. La curva tratteggiata si riferisce alla misura effettuata sulla pelle asciutta, tutte le altre curve a tratto continuo corrispondono a un intervallo di tempo differente trascorso dall'applicazione della lozione idratante. Il modulo d'impedenza della misura su pelle asciutta assume valori compresi tra  $3,12 \cdot 10^2 \Omega \text{ cm}^2$  e  $1,83 \cdot 10^5 \Omega \text{ cm}^2$ . La prima misura su pelle bagnata è stata condotta dopo 4 minuti dall'applicazione della lozione ed è possibile notare un brusco abbassamento del modulo di impedenza che assume valori compresi tra  $1,39 \cdot 10^2 \Omega \text{ cm}^2$  e  $3,75 \cdot 10^3 \Omega \text{ cm}^2$ . Dopo 10 minuti, il modulo d'impedenza torna ad assumere valori molto simili a quelli della misura su pelle asciutta. A basse frequenze il modulo rimane leggermente più basso di quello della prova a secco, mentre ad alte frequenze l'impedenza dopo 10 min risulta lievemente più alta. Anche dopo 20 minuti i valori del modulo d'impedenza si discostano di poco dalla curva ricavata dalla prima misura. Le misure effettuate dopo tempi superiori a 20 min hanno riportato valori del modulo d'impedenza superiori rispetto a tutte le altre misure. Nel diagramma di fase si nota che la curva della misura d'impedenza su pelle asciutta raggiunge un picco maggiore rispetto alle altre, mentre il picco più basso si ottiene nella misura effettuata dopo 4 minuti, quando la pelle risultava ancora bagnata.



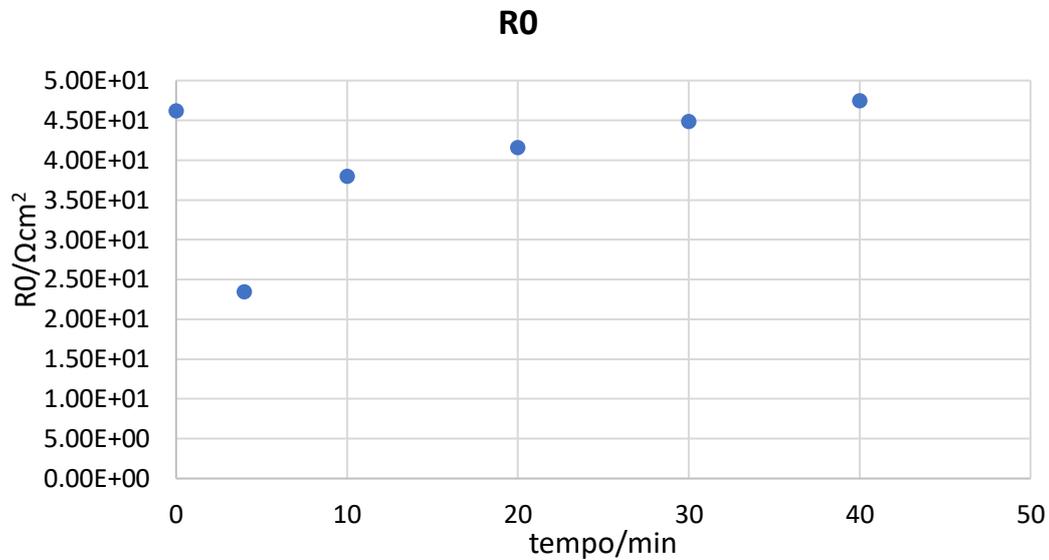
**Figura 3. 45:** *Diagramma di Bode degli spettri d'impedenza ottenuti dalle misure in vivo*

Anche in questo caso gli spettri d'impedenza sono stati modellizzati tramite un circuito equivalente costituito da una resistenza  $R_0$  in serie con un parallelo contenente una resistenza  $R_1$  e un elemento a fase costante  $CPE_1$ . I valori assunti dagli elementi circuitali sono riportati in Tabella 3.26, nelle figure 3.46, 3.47 e 3.48 sono riportati i loro andamenti in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della lozione idratante. I valori delle due resistenze,  $R_0$  e  $R_1$ , subiscono un abbassamento in corrispondenza della misura effettuata dopo 4 minuti sulla pelle ancora umida; successivamente si assiste a un progressivo incremento con lo scorrere del tempo. I valori di  $Q_1$  seguono invece un andamento opposto, ovvero dopo 4 minuti  $Q_1$  assume il valore massimo tra tutte le misure e poi va incontro a

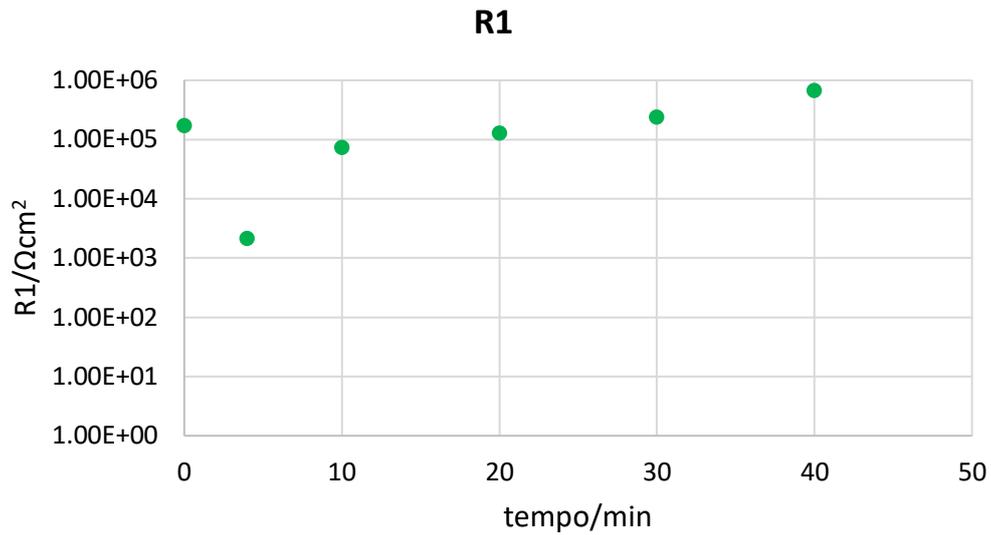
una progressiva decrescita. Questi andamenti sono coerenti con quelli ottenuti in uno studio precedente [75].

**Tabella 3. 26 :** *Valori dei parametri circuitali delle misure in vivo.*

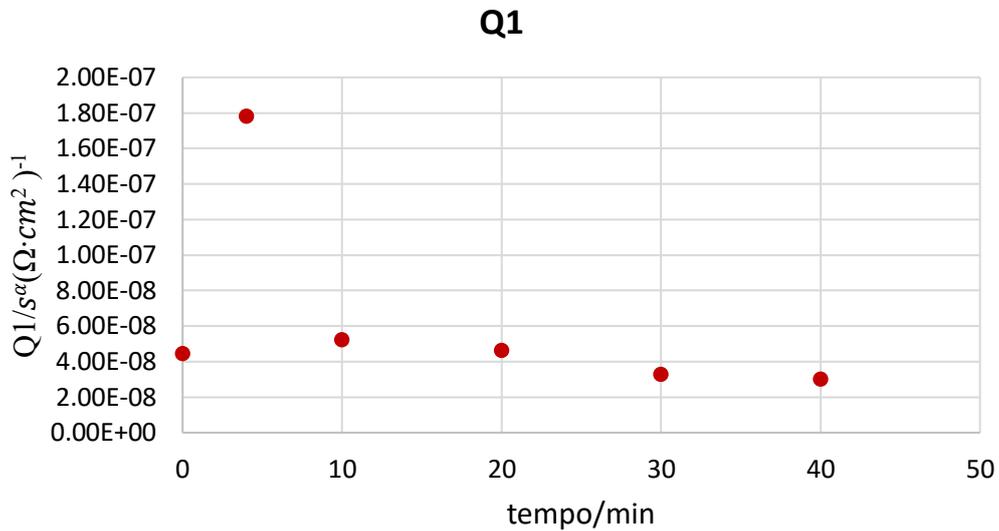
| Tempo trascorso:   | 0 min                | 4 min                | 10 min               | 20 min               | 30 min               | 40 min               |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>R0</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                         | $4,61 \cdot 10^1$    | $2,34 \cdot 10^1$    | $3,79 \cdot 10^1$    | $4,15 \cdot 10^1$    | $4,48 \cdot 10^1$    | $4,74 \cdot 10^1$    |
| <b>R1</b> [ $\Omega \cdot \text{cm}^2$ ]                         | $1,71 \cdot 10^5$    | $2,10 \cdot 10^3$    | $7,29 \cdot 10^4$    | $1,27 \cdot 10^5$    | $2,35 \cdot 10^5$    | $6,68 \cdot 10^5$    |
| <b>Q1</b> [ $\frac{\text{s}^\alpha}{\Omega \cdot \text{cm}^2}$ ] | $4,45 \cdot 10^{-8}$ | $1,78 \cdot 10^{-7}$ | $5,21 \cdot 10^{-8}$ | $4,62 \cdot 10^{-8}$ | $3,26 \cdot 10^{-8}$ | $3,02 \cdot 10^{-8}$ |
| <b><math>\alpha</math></b>                                       | $7,62 \cdot 10^{-1}$ | $7,26 \cdot 10^{-1}$ | $7,41 \cdot 10^{-1}$ | $7,42 \cdot 10^{-1}$ | $7,37 \cdot 10^{-1}$ | $7,10 \cdot 10^{-1}$ |



**Figura 3. 46:** *Andamento della resistenza R0 in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della soluzione. Il valore a 0 min corrisponde alla misura su pelle asciutta.*



**Figura 3. 47:** *Andamento della resistenza R1 in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della soluzione. Il valore a 0 min corrisponde alla misura su pelle asciutta.*



**Figura 3. 48:** *Andamento dell'elemento Q1 in funzione del tempo trascorso dall'applicazione della soluzione. Il valore a 0 min corrisponde alla misura su pelle asciutta.*

Per il calcolo delle capacità è stata utilizzata la formula di Brug (eq. 1.23); esse sono riportate in Tabella 3.27 insieme al valore della costante di tempo  $\tau$ . La capacità segue lo stesso andamento di Q1, ovvero ha un picco a 4 minuti e successivamente inizia a decrescere. La costante di tempo, data dal prodotto tra R1 e C è fortemente influenzata dai valori della resistenza, infatti ne rispecchia l'andamento.

**Tabella 3. 27:** *Valori di capacità e costanti di tempo calcolati per la misura effettuata dopo intervalli di tempo stabiliti*

| <b>Tempo trascorso:</b>        | <b>0 min</b>          | <b>4 min</b>         | <b>10 min</b>         | <b>20 min</b>         | <b>30 min</b>         | <b>40 min</b>         |
|--------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>C [<math>F/cm^2</math>]</b> | $7,48 \cdot 10^{-10}$ | $1,66 \cdot 10^{-9}$ | $5,23 \cdot 10^{-10}$ | $4,73 \cdot 10^{-10}$ | $2,70 \cdot 10^{-10}$ | $1,24 \cdot 10^{-10}$ |
| <b><math>\tau</math> [s]</b>   | $1,28 \cdot 10^{-4}$  | $3,49 \cdot 10^{-6}$ | $3,81 \cdot 10^{-5}$  | $6,03 \cdot 10^{-5}$  | $6,35 \cdot 10^{-5}$  | $8,30 \cdot 10^{-5}$  |



## 4. Conclusioni e sviluppi futuri

Lo sviluppo tecnologico dei sensori interdigitati e il loro crescente utilizzo in campo biomedico hanno determinato la loro affermazione per specifiche applicazioni ponendosi come valida alternativa alle tecnologie già esistenti e portando vantaggi notevoli come la non invasività delle misure, la flessibilità, la possibilità di realizzare dispositivi portatili adatti alle applicazioni home care.

Data la necessità di un monitoraggio continuo del livello d'idratazione di un individuo, il quale costituisce un fattore fisiologico estremamente importante per la valutazione dello stato di salute generale, in questo lavoro sperimentale si è voluta valutare la possibilità di utilizzare dei sensori interdigitati flessibili, che analizzando le caratteristiche elettrochimiche locali della cute dessero informazioni sulla variazione del contenuto d'acqua.

La struttura dei sensori testati, realizzata tramite stampa a getto d'inchiostro, ha conferito a questi dispositivi caratteristiche di flessibilità e conformabilità al corpo, grazie al basso spessore dello strato d'inchiostro e all'utilizzo di un substrato polimerico flessibile.

La caratterizzazione dei sensori è avvenuta tramite misure di spettroscopia di impedenza elettrochimica effettuate in soluzioni saline di cloruro di potassio (KCl), successivamente in vitro su campioni di gel di agar e infine in vivo. Con l'obiettivo di descrivere quantitativamente i sistemi analizzati, gli spettri d'impedenza sono stati modellizzati usando dei circuiti elettrici equivalenti composti da resistenze ed elementi a fase costante.

Dalle misure in soluzione è emerso che i sensori sono stati capaci di distinguere le diverse concentrazioni di KCl, fornendo spettri d'impedenza le cui caratteristiche erano influenzate dal contenuto di cloruro in soluzione.

Da queste misure è inoltre stato valutato il valore della costante di cella  $K_{cell}$  per ciascun sensore. Questa costante permette di descrivere matematicamente l'effetto della geometria dell'elettrodo interdigitato sui parametri del circuito e rappresenta un fattore di proporzionalità tra la resistività dell'elettrolita e la resistenza misurata.

Nelle misure in vitro la perdita d'acqua dei campioni di agar è stata valutata come funzione del tempo di incubazione in una camera climatica alla temperatura di 37°C. La perdita d'acqua è stata monitorata sia mediante misure gravimetriche sia elettrochimiche. I sensori interdigitati hanno dimostrato di rilevare correttamente i cambiamenti dell'impedenza caratteristica dei campioni di agar dovuti alla variazione del contenuto d'acqua nel mezzo.

Da una valutazione degli spettri delle misure in vitro è stato individuato come intervallo di frequenze significativo per la misura fosse quello compreso tra 10 Hz e 10<sup>5</sup> Hz, in quanto è quello in cui sono visibili le variazioni di impedenza dovute al livello di idratazione del campione.

Nell'applicazione in vivo il sensore è stato prima utilizzato per una misura di impedenza su pelle perfettamente asciutta e successivamente le misure sono state effettuate su pelle idratata esternamente per mezzo di una lozione. Il sensore è stato capace di rilevare una variazione dell'impedenza cutanea a pochi minuti dall'applicazione della lozione, seguita da un transitorio in cui il progressivo assorbimento della lozione da parte della pelle ha generato una risposta in frequenza che è tornata a raggiungere i valori iniziali.

Gli studi futuri affronteranno questioni come la stabilità della superficie degli elettrodi dopo l'esposizione all'ambiente atmosferico o dopo il contatto con materiale biologico nei test in vivo, che potrebbe portare alla formazione di fouling.

L'interpretazione dei dati acquisiti potrà essere condotta tramite tecniche alternative come algoritmi di machine learning. Per lo studio approfondito della geometria e la determinazione del design ottimale degli elettrodi sarà possibile condurre delle simulazioni tramite software agli elementi finiti.

## 5. Bibliografia

- [1] V. Thivina, U. Hashim, M. K. M. Arshad, A. Ayoib, N. K. S. Nordin, and R. D. A. A. Rajapaksha, "Micro IDEs versus Nano IDEs: Morphological and electrical characterizations," *Proc. 2017 IEEE Reg. Symp. Micro Nanoelectron. RSM 2017*, pp. 264–267, 2017, doi: 10.1109/RSM.2017.8069131.
- [2] C. Berggren, P. Stålhandske, J. Brundell, and G. Johansson, "A feasibility study of a capacitive biosensor for direct detection of DNA hybridization," *Electroanalysis*, vol. 11, no. 3, pp. 156–160, 1999, doi: 10.1002/(SICI)1521-4109(199903)11:3<156::AID-ELAN156>3.0.CO;2-O.
- [3] A. Manickam, A. Chevalier, M. McDermott, A. D. Ellington, and A. Hassibi, "A CMOS Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) Biosensor Array," *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 4, no. 6, p. 379, 2010, doi: 10.1109/TBCAS.2010.2081669.
- [4] J. Ahn *et al.*, "Electrical immunosensor based on a submicron-gap interdigitated electrode and gold enhancement," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 12, pp. 4690–4696, 2011, doi: 10.1016/j.bios.2011.05.027.
- [5] R. Ehret, W. Baumann, M. Brischwein, A. Schwinde, K. Stegbauer, and B. Wolf, "Monitoring of cellular behaviour by impedance measurements on interdigitated electrode structures," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 12, no. 1, pp. 29–41, 1997, doi: 10.1016/0956-5663(96)89087-7.
- [6] A. Dizon and M. E. Orazem, "On the impedance response of interdigitated electrodes," *Electrochim. Acta*, vol. 327, p. 135000, 2019, doi: 10.1016/j.electacta.2019.135000.
- [7] S. MacKay, P. Hermansen, D. Wishart, W. Hiebert, and J. Chen, "Simulating electrical properties of interdigitated electrode designs for impedance-based biosensing applications," *Can. Conf. Electr. Comput. Eng.*, vol. 2015-June, no. June, pp. 370–375, 2015, doi: 10.1109/CCECE.2015.7129305.
- [8] S. Muniandy *et al.*, "Carbon Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors for Foodborne Bacterial Detection," *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 49, no. 6, pp. 510–533, 2019, doi: 10.1080/10408347.2018.1561243.
- [9] Y.-L. Cheng *et al.*, "We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 %," *Intech*, vol. 11, no. tourism, p. 13, 2016, [Online]. Available: <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
- [10] V. Perumal and U. Hashim, "Advances in biosensors: Principle, architecture and applications," *J. Appl. Biomed.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–15, 2014, doi: 10.1016/j.jab.2013.02.001.
- [11] A. Chaubey and B. D. Malhotra, "Mediated biosensors," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 17, no. 6–7, pp. 441–456, 2002, doi: 10.1016/S0956-5663(01)00313-X.
- [12] D. Diamond, "Analytical electrochemistry," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 15, no. 1, pp. X–XI, 1996, doi: 10.1016/S0165-9936(96)90116-8.
- [13] J. Bobacka, A. Ivaska, and A. Lewenstam, "Potentiometric ion sensors," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 2, pp. 329–351, 2008, doi: 10.1021/cr068100w.
- [14] N. Jaffrezic-Renault and S. V. Dzyadevych, "Conductometric microbiosensors for environmental monitoring," *Sensors*, vol. 8, no. 4, pp. 2569–2588, 2008, doi: 10.3390/s8042569.
- [15] J. L. Hammond, N. Formisano, P. Estrela, S. Carrara, and J. Tkac, "Electrochemical biosensors and nanobiosensors," *Essays Biochem.*, vol. 60, no. 1, pp. 69–80, 2016, doi: 10.1042/EBC20150008.
- [16] P. Konieczka, *Validation and regulatory issues for sample preparation*, vol. 2. Elsevier, 2012.

doi: 10.1016/B978-0-12-381373-2.00064-8.

- [17] S. Menon, M. R. Mathew, S. Sam, K. Keerthi, and K. G. Kumar, "Recent advances and challenges in electrochemical biosensors for emerging and re-emerging infectious diseases," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 878, 2020, doi: 10.1016/j.jelechem.2020.114596.
- [18] E. Kosri, F. Ibrahim, A. Thiha, and M. Madou, "Micro and Nano Interdigitated Electrode Array (IDEA)-Based MEMS/NEMS as Electrochemical Transducers: A Review," *Nanomaterials*, vol. 12, no. 23, 2022, doi: 10.3390/nano12234171.
- [19] V. Subramanian *et al.*, "Printed electronics for low-cost electronic systems: Technology status and application development," *ESSCIRC 2008 - Proc. 34th Eur. Solid-State Circuits Conf.*, pp. 17–24, 2008, doi: 10.1109/ESSCIRC.2008.4681785.
- [20] J. Perelaer *et al.*, "Printed electronics: The challenges involved in printing devices, interconnects, and contacts based on inorganic materials," *J. Mater. Chem.*, vol. 20, no. 39, pp. 8446–8453, 2010, doi: 10.1039/c0jm00264j.
- [21] V. Matylitskaya, S. Kasemann, G. Urban, C. Dincer, and S. Partel, "Electrochemical Characterization of Nanogap Interdigitated Electrode Arrays for Lab-on-a-Chip Applications," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 165, no. 3, pp. B127–B134, 2018, doi: 10.1149/2.0701803jes.
- [22] P. Ghosh, G. Han, M. De, C. K. Kim, and V. M. Rotello, "Gold nanoparticles in delivery applications ☆," vol. 60, pp. 1307–1315, 2008, doi: 10.1016/j.addr.2008.03.016.
- [23] V. K. K. Upadhyayula, "Analytica Chimica Acta Functionalized gold nanoparticle supported sensory mechanisms applied in detection of chemical and biological threat agents : A review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 715, pp. 1–18, 2012, doi: 10.1016/j.aca.2011.12.008.
- [24] A. F. M. Mansor and S. N. Ibrahim, "Simulation of ring interdigitated electrode for dielectrophoretic trapping," *IEEE Int. Conf. Semicond. Electron. Proceedings, ICSE*, vol. 2016-Septe, pp. 169–172, 2016, doi: 10.1109/SMELEC.2016.7573618.
- [25] M. Ibrahim, J. Claudel, D. Kourtiche, and M. Nadi, "Geometric parameters optimization of planar interdigitated electrodes for bioimpedance spectroscopy," *J. Electr. Bioimpedance*, vol. 4, no. 1, pp. 13–22, 2013, doi: 10.5617/jeb.304.
- [26] N. Zoric, A. Iavorschi, M. Sireteanu, G. Viziteu, and R. Ciobanu, "Design and Simulations of Idc Sensor Using Comsol Multyphysics and Dielectric," no. 4, pp. 63–69, 2013.
- [27] L. Q. Jun, G. W. Bin Djaswadi, H. F. Bin Hawari, and M. A. B Zakariya, "Simulation of Interdigitated Electrodes (IDEs) Geometry Using COMSOL Multiphysics," *Int. Conf. Intell. Adv. Syst. ICIAS 2018*, 2018, doi: 10.1109/ICIAS.2018.8540599.
- [28] W. Olthuis, W. Streekstra, and P. Bergveld, "Theoretical and experimental determination of cell constants of planar-interdigitated electrolyte conductivity sensors," *Sensors Actuators B. Chem.*, vol. 24, no. 1–3, pp. 252–256, 1995, doi: 10.1016/0925-4005(95)85053-8.
- [29] E. Sardini, M. Serpelloni, and S. Tonello, "Printed electrochemical biosensors: Opportunities and metrological challenges," *Biosensors*, vol. 10, no. 11, 2020, doi: 10.3390/bios10110166.
- [30] S. Khan, L. Lorenzelli, and R. S. Dahiya, "Technologies for printing sensors and electronics over large flexible substrates: A review," *IEEE Sens. J.*, vol. 15, no. 6, pp. 3164–3185, 2015, doi: 10.1109/JSEN.2014.2375203.
- [31] A. Rivadeneyra and J. A. López-Villanueva, "Recent advances in printed capacitive sensors," *Micromachines*, vol. 11, no. 4, 2020, doi: 10.3390/M111040367.
- [32] C. Cooper and B. Hughes, "Aerosol Jet Printing of Electronics: An Enabling Technology for Wearable Devices," *2020 Pan Pacific Microelectron. Symp. Pan Pacific 2020*, 2020, doi: 10.23919/PanPacific48324.2020.9059444.
- [33] R. P. Tortorich, H. Shamkhalichenar, and J. W. Choi, "Inkjet-printed and paper-based electrochemical sensors," *Appl. Sci.*, vol. 8, no. 2, 2018, doi: 10.3390/app8020288.

- [34] A. Blayo and B. Pineaux, "Printing processes and their potential for RFID printing," *ACM Int. Conf. Proceeding Ser.*, vol. 121, no. october, pp. 27–30, 2005, doi: 10.1145/1107548.1107559.
- [35] M. Yafia, S. Shukla, and H. Najjaran, "Fabrication of digital microfluidic devices on flexible paper-based and rigid substrates via screen printing," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 25, no. 5, 2015, doi: 10.1088/0960-1317/25/5/057001.
- [36] K. Ito, K. Furuya, Y. Okano, and L. Hamada, "Development and characteristics of a biological tissue-equivalent phantom for microwaves," *Electron. Commun. Japan, Part I Commun. (English Transl. Denshi Tsushin Gakkai Ronbunshi)*, vol. 84, no. 4, pp. 67–77, 2001, doi: 10.1002/1520-6424(200104)84:4<67::AID-ECJA8>3.0.CO;2-D.
- [37] I. Locher and G. Tröster, "Screen-printed Textile Transmission Lines," *Text. Res. J.*, vol. 77, no. 11, pp. 837–842, 2007, doi: 10.1177/0040517507080679.
- [38] R. Soukup, A. Hamáček, and J. Řeboun, "Organic based sensors: Novel screen printing technique for sensing layers deposition," *Proc. Int. Spring Semin. Electron. Technol.*, pp. 19–24, 2012, doi: 10.1109/ISSE.2012.6273101.
- [39] F. C. Krebs *et al.*, "A complete process for production of flexible large area polymer solar cells entirely using screen printing—First public demonstration," *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, vol. 93, no. 4, pp. 422–441, 2009, doi: 10.1016/j.solmat.2008.12.001.
- [40] R. R. Søndergaard, M. Hösel, and F. C. Krebs, "Roll-to-Roll fabrication of large area functional organic materials," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 51, no. 1, pp. 16–34, 2013, doi: 10.1002/polb.23192.
- [41] D. Deganello, J. A. Cherry, D. T. Gethin, and T. C. Claypole, "Impact of metered ink volume on reel-to-reel flexographic printed conductive networks for enhanced thin film conductivity," *Thin Solid Films*, vol. 520, no. 6, pp. 2233–2237, 2012, doi: 10.1016/j.tsf.2011.08.050.
- [42] M. I. Maksud, M. S. Yusof, and M. M. A. Jamil, "A Study on Printed Multiple Solid Line by Combining Micro- contact and Flexographic Printing Process for Microelectronic and Biomedical Applications," *Int. J. Integr. Eng.*, vol. 5, no. 3, pp. 36–39, 2014.
- [43] N. Afsarimanesh, M. E. E. Alahi, S. C. Mukhopadhyay, and M. Kruger, "Development of IoT-Based Impedometric Biosensor for Point-of-Care Monitoring of Bone Loss," *IEEE J. Emerg. Sel. Top. Circuits Syst.*, vol. 8, no. 2, pp. 211–220, 2018, doi: 10.1109/JETCAS.2018.2819204.
- [44] L. Chen and J. Guo, "Printed interdigital electrodes on plastic film for tumor cells density monitoring," *Electrophoresis*, vol. 36, no. 16, pp. 1859–1861, 2015, doi: 10.1002/elps.201500074.
- [45] H. Lee *et al.*, "A graphene-based electrochemical device with thermoresponsive microneedles for diabetes monitoring and therapy," *Nat. Nanotechnol.*, vol. 11, no. 6, pp. 566–572, 2016, doi: 10.1038/nnano.2016.38.
- [46] A. Rivadeneyra, J. Fernández-Salmerón, M. Agudo, J. A. López-Villanueva, L. F. Capitan-Vallvey, and A. J. Palma, "Design and characterization of a low thermal drift capacitive humidity sensor by inkjet-printing," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 195, pp. 123–131, 2014, doi: 10.1016/j.snb.2013.12.117.
- [47] N. Afsarimanesh, A. Nag, M. E. E. Alahi, T. Han, and S. C. Mukhopadhyay, "Interdigital sensors: Biomedical, environmental and industrial applications," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 305, 2020, doi: 10.1016/j.sna.2020.111923.
- [48] M. E. E. Alahi, L. Xie, S. Mukhopadhyay, and L. Burkitt, "A Temperature Compensated Smart Nitrate-Sensor for Agricultural Industry," *IEEE Trans. Ind. Electron.*, vol. 64, no. 9, pp. 7333–7341, 2017, doi: 10.1109/TIE.2017.2696508.
- [49] D. Gräbner, M. Tintelott, G. Dumstorff, and W. Lang, "Low-Cost Thin and Flexible Screen-Printed Pressure Sensor," p. 616, 2017, doi: 10.3390/proceedings1040616.

- [50] I. S. Dos Santos-Neto *et al.*, “Interdigitated electrode for electrical characterization of commercial pseudo-binary biodiesel–diesel blends,” *Sensors*, vol. 21, no. 21, 2021, doi: 10.3390/s21217288.
- [51] L. Yang, Y. Li, and G. F. Erf, “Interdigitated Array Microelectrode-Based Electrochemical Impedance Immunosensor for Detection of Escherichia coli O157:H7,” *Anal. Chem.*, vol. 76, no. 4, pp. 1107–1113, 2004, doi: 10.1021/ac0352575.
- [52] S. Ghosh Dastider, S. Barizuddin, N. S. Yuksek, M. Dweik, and M. F. Almasri, “Efficient and rapid detection of salmonella using microfluidic impedance based sensing,” *J. Sensors*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/293461.
- [53] D. De Godoy, S. Xia, W. P. Fernandez, X. Jiang, and P. R. Kinget, “Demo abstract: An ultra-low-power custom integrated circuit based sound-source localization system,” *Proc. - ACM/IEEE Int. Conf. Internet Things Des. Implementation, IoTDI 2018*, pp. 314–315, 2018, doi: 10.1109/IoTDI.2018.00056.
- [54] B. Ciui *et al.*, “Wearable Wireless Tyrosinase Bandage and Microneedle Sensors: Toward Melanoma Screening,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 7, no. 7, pp. 1–9, 2018, doi: 10.1002/adhm.201701264.
- [55] M. C. Caccami, M. Y. S. Mulla, C. Di Natale, and G. Marrocco, “Graphene oxide-based radiofrequency identification wearable sensor for breath monitoring,” *IET Microwaves, Antennas Propag.*, vol. 12, no. 4, pp. 467–471, 2018, doi: 10.1049/iet-map.2017.0628.
- [56] D. Maier *et al.*, “Toward Continuous Monitoring of Breath Biochemistry: A Paper-Based Wearable Sensor for Real-Time Hydrogen Peroxide Measurement in Simulated Breath,” *ACS Sensors*, vol. 4, no. 11, pp. 2945–2951, 2019, doi: 10.1021/acssensors.9b01403.
- [57] R. Wu *et al.*, “Silk Composite Electronic Textile Sensor for High Space Precision 2D Combo Temperature–Pressure Sensing,” *Small*, vol. 15, no. 31, pp. 1–11, 2019, doi: 10.1002/smll.201901558.
- [58] H. Keum, M. McCormick, P. Liu, Y. Zhang, and F. G. Omenetto, “RESEARCH ARTICLES Epidermal Electronics,” vol. 333, no. September, 2011.
- [59] L. Xu *et al.*, “3D multifunctional integumentary membranes for spatiotemporal cardiac measurements and stimulation across the entire epicardium,” *Nat. Commun.*, vol. 5, 2014, doi: 10.1038/ncomms4329.
- [60] C. W. Bae *et al.*, “Fully Stretchable Capillary Microfluidics-Integrated Nanoporous Gold Electrochemical Sensor for Wearable Continuous Glucose Monitoring,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 11, no. 16, pp. 14567–14575, 2019, doi: 10.1021/acscami.9b00848.
- [61] G. Xiao *et al.*, “Facile and Low-Cost Fabrication of a Thread/Paper-Based Wearable System for Simultaneous Detection of Lactate and pH in Human Sweat,” *Adv. Fiber Mater.*, vol. 2, no. 5, pp. 265–278, 2020, doi: 10.1007/s42765-020-00046-8.
- [62] Y. Yang *et al.*, “A laser-engraved wearable sensor for sensitive detection of uric acid and tyrosine in sweat,” *Nat. Biotechnol.*, vol. 38, no. 2, pp. 217–224, 2020, doi: 10.1038/s41587-019-0321-x.
- [63] A. K. Yetisen *et al.*, “Dermal Tattoo Biosensors for Colorimetric Metabolite Detection,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 58, no. 31, pp. 10506–10513, 2019, doi: 10.1002/anie.201904416.
- [64] A. J. Bandodkar *et al.*, “Battery-free, skin-interfaced microfluidic/electronic systems for simultaneous electrochemical, colorimetric, and volumetric analysis of sweat,” *Sci. Adv.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–16, 2019, doi: 10.1126/sciadv.aav3294.
- [65] L. R. Goldberg *et al.*, “Hydration in older adults: The contribution of bioelectrical impedance analysis,” *Int. J. Speech. Lang. Pathol.*, vol. 16, no. 3, pp. 273–281, 2014, doi: 10.3109/17549507.2014.882989.

- [66] M. Shimizu *et al.*, “Physical signs of dehydration in the elderly,” *Intern. Med.*, vol. 51, no. 10, pp. 1207–1210, 2012, doi: 10.2169/internalmedicine.51.7056.
- [67] R. Cohen, G. Fernie, and A. R. Fekr, “Fluid intake monitoring systems for the elderly: A review of the literature,” *Nutrients*, vol. 13, no. 6, pp. 1–28, 2021, doi: 10.3390/nu13062092.
- [68] S. M. Shirreffs, “Markers of hydration status,” *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol. 57, pp. S6–S9, 2003, doi: 10.1038/sj.ejcn.1601895.
- [69] S. Baron, M. Courbebaisse, E. M. Lopicard, and G. Friedlander, “Assessment of hydration status in a large population,” *Br. J. Nutr.*, vol. 113, no. 1, pp. 147–158, 2015, doi: 10.1017/S0007114514003213.
- [70] A. Vivanti, K. Harvey, S. Ash, and D. Battistutta, “Clinical assessment of dehydration in older people admitted to hospital. What are the strongest indicators?,” *Arch. Gerontol. Geriatr.*, vol. 47, no. 3, pp. 340–355, 2008, doi: 10.1016/j.archger.2007.08.016.
- [71] R. AlDisi, Q. Bader, and A. Bermak, “Hydration Assessment Using the Bio-Impedance Analysis Method,” *Sensors*, vol. 22, no. 17, pp. 1–16, 2022, doi: 10.3390/s22176350.
- [72] Y. Shen, J. Salley, E. Muth, and A. Hoover, “Assessing the Accuracy of a Wrist Motion Tracking Method for Counting Bites Across Demographic and Food Variables,” *IEEE J. Biomed. Heal. Informatics*, vol. 21, no. 3, pp. 599–606, 2017, doi: 10.1109/JBHI.2016.2612580.
- [73] K. H. Chang *et al.*, “The diet-aware dining table: Observing dietary behaviors over a tabletop surface,” *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*, vol. 3968 LNCS, pp. 366–382, 2006, doi: 10.1007/11748625\_23.
- [74] J. F. Martínez-Trinidad, J. A. Carrasco-Ochoa, V. Ayala-Ramírez, J. A. Olvera-López, and X. Jiang, “Preface,” *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)*, vol. 9703, pp. 219–228, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-39393-3.
- [75] S. Yao *et al.*, “A Wearable Hydration Sensor with Conformal Nanowire Electrodes,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 6, no. 6, pp. 1–8, 2017, doi: 10.1002/adhm.201601159.
- [76] S. Khan, S. Ali, and A. Bermak, “Recent developments in printing flexible and wearable sensing electronics for healthcare applications,” *Sensors (Switzerland)*, vol. 19, no. 5, 2019, doi: 10.3390/s19051230.
- [77] J. Ramos, J. L. Ausín, G. Torelli, and J. F. Duque-Carrillo, “A wireless sensor network for fat and hydration monitoring by bioimpedance analysis,” *Proc. 6th Int. Work. Wearable, Micro, Nano Technol. Pers. Heal. “Facing Futur. Healthc. Needs”, pHealth 2009*, pp. 49–52, 2009, doi: 10.1109/PHEALTH.2009.5754839.
- [78] V. A. T. Dam, M. A. G. Zevenbergen, and R. Van Schaijk, “Flexible chloride sensor for sweat analysis,” *Procedia Eng.*, vol. 120, pp. 237–240, 2015, doi: 10.1016/j.proeng.2015.08.588.
- [79] B. Schazmann *et al.*, “A wearable electrochemical sensor for the real-time measurement of sweat sodium concentration,” *Anal. Methods*, vol. 2, no. 4, pp. 342–348, 2010, doi: 10.1039/b9ay00184k.
- [80] E. Uhoda, J. L. Lévêque, and G. E. Piérard, “Silicon image sensor technology for in vivo detection of surfactant-induced corneocyte swelling and drying,” *Dermatology*, vol. 210, no. 3, pp. 184–188, 2005, doi: 10.1159/000083507.
- [81] E. Alanen, J. Nuutinen, K. Nicklén, T. Lahtinen, and J. Mönkkönen, “Measurement of hydration in the stratum corneum with the MoistureMeter and comparison with the Corneometer,” *Ski. Res. Technol.*, vol. 10, no. 1, pp. 32–37, 2004, doi: 10.1111/j.1600-0846.2004.00050.x.
- [82] X. Huang, W. H. Yeo, Y. Liu, and J. A. Rogers, “Epidermal differential impedance sensor for conformal skin hydration monitoring,” *Biointerphases*, vol. 7, no. 1–4, pp. 1–9, 2012, doi:

10.1007/s13758-012-0052-8.

- [83] S. Wang, J. Zhang, O. Gharbi, V. Vivier, M. Gao, and M. E. Orazem, “Electrochemical impedance spectroscopy,” *Nat. Rev. Methods Prim.*, vol. 1, no. 1, 2021, doi: 10.1038/s43586-021-00039-w.
- [84] N. Sekar and R. P. Ramasamy, “Electrochemical impedance spectroscopy for microbial fuel cell characterization,” *J. Microb. Biochem. Technol.*, vol. 5, no. SPECIALISSUE.2, 2013, doi: 10.4172/1948-5948.s6-004.
- [85] A. J. Vadim F. Lvovich Wiley, *Impedance spectroscopy: Applications to Electrochemical and Dielectric Phenomena*. 2012.
- [86] Gamry Instruments Inc., “Basics of Electrochemical Impedance Spectroscopy Impedance Values,” *Appl. Note Rev. 2.0*, no. 215, pp. 1–28, 2014.
- [87] S. Ali, S. Chang, M. Imran, Q. Shi, Y. Chen, and H. Zhong, “Impedance Spectroscopy: A Versatile Technique to Understand Solution-Processed Optoelectronic Devices (Phys. Status Solidi RRL 5/2019),” *Phys. status solidi – Rapid Res. Lett.*, vol. 13, no. 5, p. 1970024, 2019, doi: 10.1002/pssr.201970024.
- [88] A. Turković, M. Pavlović, P. Dubček, M. Lučić-Lavčević, B. Etlinger, and S. Bernstorff, “SAXS/DSC Study of Polymer Electrolyte for Zn Rechargeable Nanostructured Galvanic Cells,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 154, no. 6, p. A554, 2007, doi: 10.1149/1.2724440.
- [89] J. Schindelin *et al.*, “Fiji: An open-source platform for biological-image analysis,” *Nat. Methods*, vol. 9, no. 7, pp. 676–682, 2012, doi: 10.1038/nmeth.2019.
- [90] L. Iannucci *et al.*, “An imaging system for microbial corrosion analysis,” *I2MTC 2019 - 2019 IEEE Int. Instrum. Meas. Technol. Conf. Proc.*, vol. 2019-May, pp. 1–6, 2019, doi: 10.1109/I2MTC.2019.8826965.
- [91] A. Dizon and M. E. Orazem, “On experimental determination of cell constants for interdigitated electrodes,” *Electrochim. Acta*, vol. 337, p. 135732, 2020, doi: 10.1016/j.electacta.2020.135732.
- [92] X. Huang *et al.*, “Epidermal impedance sensing sheets for precision hydration assessment and spatial mapping,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, no. 10, pp. 2848–2857, 2013, doi: 10.1109/TBME.2013.2264879.
- [93] S. Björklund *et al.*, “Skin membrane electrical impedance properties under the influence of a varying water gradient,” *Biophys. J.*, vol. 104, no. 12, pp. 2639–2650, 2013, doi: 10.1016/j.bpj.2013.05.008.

## **6. Ringraziamenti**

Ringrazio sentitamente i miei relatori, il professor Leonardo Iannucci, per la costanza con cui mi ha seguito e le preziose indicazioni che mi ha fornito durante la stesura di questa tesi, e la professoressa Sabrina Grassini per l'opportunità e per la disponibilità dimostrata.