



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA
DELL'INFORMAZIONE

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

“Sensori per il monitoraggio non invasivo dell'idratazione: stato dell'arte e caratterizzazione di sensori impedimetrici stampati”

Relatore: Prof. Tonello Sarah

Laureando/a: Giovanni Battista Codello Bressan

ANNO ACCADEMICO 2022 – 2023

Data di laurea 21/11/2023

ABSTRACT

L'importanza dell'acqua in quanto principale costituente del corpo umano e nutriente fondamentale per il funzionamento fisiologico dell'organismo rende lo stato di idratazione corporea un parametro omeostatico il cui monitoraggio costituisce un aspetto di grande rilevanza in ambito medico.

L'interesse per lo sviluppo di metodologie che permettano di valutare il livello di idratazione di un paziente nasce anche dalla pericolosità della condizione patologica costituita dalla disidratazione, in particolare per soggetti a rischio, come ad esempio gli anziani e gli infanti. Allo stato attuale la natura complessa di questo fenomeno ne impedisce una misurazione diretta e immediata, esistono tuttavia diverse tecniche che ne permettano la quantificazione e particolare interesse suscitano i dispositivi che permettano l'ottenimento di un valore ragionevolmente preciso attraverso metodi non invasivi.

Il presente elaborato è quindi un approfondimento sulle tecniche attualmente disponibili, invasive e non, per il monitoraggio dell'idratazione, sulle motivazioni per le quali è interessante e includerà un'esperienza di caratterizzazione in vitro di prototipi di sensori di idratazione impedenzimetrici flessibili stampati tramite tecnica a getto di inchiostro.

INDICE DEI CONTENUTI

0. Introduzione	7
1. Fisiologia dell'idratazione e suo monitoraggio	8
1.1 Ruolo dell'acqua nel corpo e bilancio idrico	8
1.2 Disidratazione	10
1.3 Metodologie di monitoraggio in ambito clinico	11
2. Tecniche di monitoraggio non invasivo	13
2.1 Bioimpedenza.....	13
2.2 Caratteristiche elettriche della pelle.....	15
2.3 Sensori la quantificazione di ioni.....	18
3. Esempio di caratterizzazione sperimentale in vitro	21
3.1 Caratteristiche dei sensori e protocollo di misura.....	21
3.2 Analisi dei dati	24
3.3 Caratterizzazione del sensore interdigitato	26
3.4 Caratterizzazione degli elettrodi di bioimpedenza.....	27
4. Conclusioni.....	29
5. Bibliografia	30
6. Ringraziamenti	34

INTRODUZIONE

La cardinalità dell'acqua nel funzionamento di ogni organismo vivente è sufficiente a spiegare l'importanza del mantenimento del livello di idratazione corporea all'interno del range fisiologico, che ne determini una disponibilità tale da permetterle di adempiere alla vastità di ruoli che le pertengono nel funzionamento dell'organismo. Conseguentemente, sono altrettanto chiare le motivazioni che muovono la ricerca di metodologie che permettano di stabilire con precisione lo stato di idratazione di un individuo, la natura globale del fenomeno in questione costituisce tuttavia una limitazione che rende difficoltoso ottenere questo genere di informazioni.

Il qui presente elaborato si articola in tre capitoli: all'interno del primo capitolo verrà approfondita la fisiologia dell'idratazione, le conseguenze della disidratazione e verrà descritto lo stato dell'arte per quanto riguarda le metodologie tradizionali di monitoraggio. Nel secondo verranno invece trattate le metodologie che saranno il focus di questa tesi, ossia quelle che impiegano tecniche di carattere non invasivo, mentre nel terzo ed ultimo capitolo verrà descritta un'esperienza di caratterizzazione in laboratorio di sensori di bioimpedenza stampati, completa di una fase di analisi dei risultati via software.

Verranno infine presentate delle conclusioni tratte dalla ricerca bibliografica svolta per la stesura della presente tesi, oltre che dai risultati ottenuti in laboratorio.

CAPITOLO PRIMO

FISIOLOGIA DELL'IDrataZIONE E SUO MONITORAGGIO

1.1) RUOLO DELL'ACQUA NEL CORPO E BILANCIO IDRICO

Come ben noto l'acqua è presente in grande abbondanza nell'organismo umano, occupando una percentuale del peso dell'individuo che varia col progredire del processo di crescita e invecchiamento, passando dal 75% del peso totale negli infanti fino al 55% per gli anziani.

L'acqua ricopre molteplici ruoli di fondamentale importanza in diversi ambiti del funzionamento del corpo umano:

- **Metabolismo:** le proprietà chimiche uniche delle molecole di H_2O le rendono un elemento cardine delle reazioni metaboliche. L'acqua assume sia funzione di reagente che di prodotto, di solvente ed è inoltre il mezzo nel quale avvengono tutte le reazioni metaboliche biochimiche avvengono.
- **Trasporto:** L'acqua è il tramite attraverso il quale avviene lo scambio di nutrienti e di materiale di scarto a livello cellulare, permettendo così il funzionamento omeostatico delle cellule. È inoltre il componente maggioritario dei fluidi corporei con funzione di trasporto, tra i quali sangue e urine.
- **Termoregolazione:** L'elevata capacità termica dell'acqua limita la variazione di temperatura corporea in relazione alla temperatura ambientale, inoltre la sudorazione e la conseguente evaporazione di liquidi è una metodologia efficace di regolazione termica.
- **Meccanica:** come componente di saliva, lacrime e liquido sinoviale l'acqua ha funzione di lubrificante e garantisce flessibilità ed elasticità ai tessuti in cui è presente.
- **Strutturale:** L'acqua permette il mantenimento della struttura e forma delle cellule, mantenendone inoltre il loro volume, fattore cardine che ne garantisce la funzionalità.

Il contenuto idrico è diviso in due compartimenti: per il 65% del totale nel fluido intracellulare dove è la componente maggioritaria del citosol e per il 35% nel fluido extracellulare, principalmente nel fluido interstiziale, ma anche nel plasma, nella linfa e nei fluidi trans-cellulari. L'equilibrio tra questi due compartimenti è rigorosamente monitorato dal sistema nervoso attraverso una rete di recettori, anche uno squilibrio di sole centinaia di millilitri tra i compartimenti viene compensato attraverso un processo omeostatico sensibile anche a informazioni provenienti da ormoni e che opera regolando l'attività dei reni.

Il bilancio idrico globale è determinato dall'equilibrio tra ingresso e uscita dei liquidi che è precisamente controllato dall'organismo, si stima infatti che nell'arco di 24 ore il bilancio sia regolato entro lo 0.2% del peso corporeo.

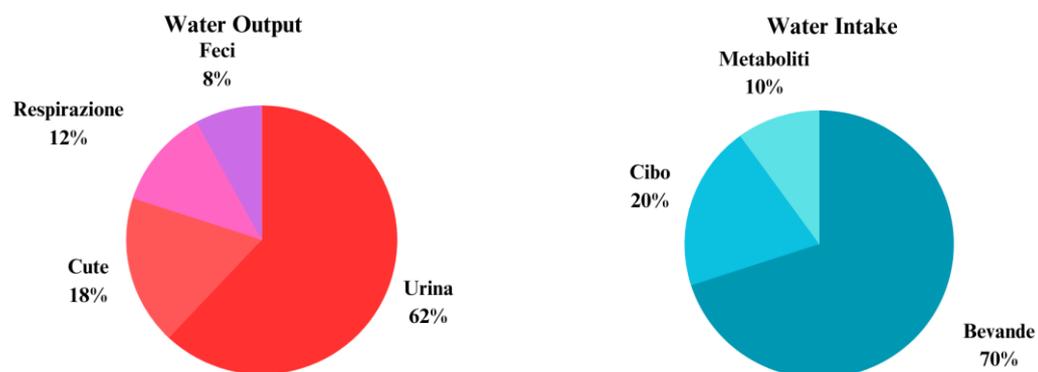


Figura 1) Grafici illustranti le frazioni che mediamente compongono ingressi e uscite di liquidi.[1]

Le sorgenti di acqua per il corpo sono principalmente 3:

- Bevande ad alto contenuto di acqua (70-80%)
- Cibo (20-30%)
- Acqua metabolica ottenuta come prodotto di reazioni (5-10%)

L'eliminazione di acqua avviene invece in gran parte tramite la minzione, ma anche attraverso la defecazione e l'evaporazione attraverso cute e tratto respiratorio. Il meccanismo principale a disposizione del sistema nervoso per sopperire ad una mancanza di acqua è la stimolazione che produce la sensazione di sete, che induce l'individuo a introdurre liquidi.

1.2) DISIDRATAZIONE

La disidratazione è una condizione che per definizione si verifica quando il volume di acqua in uscita dall'organismo non è compensato da un pari volume in ingresso. Il protrarsi nel tempo di questo squilibrio ha conseguenze gravi sul corpo umano e può portare al decesso dell'individuo.

Esistono 3 tipologie di disidratazione, distinti dal rapporto tra perdita di acqua e di sodio:

- Isotonica: perdita sia di acqua che di sodio dal liquido extracellulare, si verifica principalmente in caso di vomito o diarrea.
- Ipertonica: caratterizzata prevalentemente dalla diminuzione del quantitativo di acqua rispetto a quello di sodio, causata generalmente da un'assunzione inadeguata di liquidi. Si verifica un passaggio osmotico di acqua dal compartimento intracellulare a quello extracellulare
- Ipotonica: nell'eventualità di perdita di fluidi gastrointestinali o di eccessiva sudorazione i liquidi persi vengono sostituiti da altri a minore contenuto salino, come conseguenza di questo avviene un processo osmotico per il quale l'acqua passa dall'ambiente extracellulare a quello interno.

La severità delle conseguenze della disidratazione è funzione delle condizioni ambientali, dallo stato di salute dell'individuo e della magnitudine dello squilibrio, la sintomatologia inizia a presentarsi a partire da un deficit del 1-2%, mentre se la perdita di liquidi supera l'8% il rischio di conseguenze gravi per l'organismo diventa concreto. Allo stesso modo la sintomatologia associata con questo fenomeno assume vari livelli di pericolosità, una disidratazione lieve causerà nell'individuo una riduzione delle funzionalità cognitive e delle performance fisiche, che per gli atleti si manifestano come una riduzione di resistenza e capacità motorie. Con il peggiorare della condizione sopraggiungono problematiche a livello renale e intestinale fino al raggiungimento dei sintomi più gravi: con il deteriorarsi delle capacità termoregolatorie dell'organismo il rischio di colpi di calore cresce e la diminuzione di volume sanguigno porta a una insufficiente irrorazione di ossigeno nei tessuti.

Gli anziani sono una categoria particolarmente esposta al rischio di disidratazione, sono colpiti infatti da questa condizione con particolare frequenza. A ciò contribuiscono diversi fattori, tra cui la riduzione dello stimolo della sete, la possibilità che assumano farmaci che causano uno squilibrio idrico e il fatto che possano, per mancanza di autosufficienza, non essere in grado di approvvigionarsi di una quantità sufficiente di acqua. Sono inoltre, per via della fragilità che li contraddistingue, particolarmente suscettibili alle conseguenze che essa comporta che possono aggravare un quadro clinico già compromesso.

1.3) METODOLOGIE DI MONITORAGGIO IN AMBITO CLINICO

Quanto descritto fino ad ora rappresenta la motivazione per la quale è estremamente interessante riuscire a monitorare il livello di idratazione di un paziente. Tuttavia, la natura complessa, globale e dinamica della distribuzione di acqua all'interno dell'organismo previene acquisizione di questa informazione attraverso un singolo parametro facilmente misurabile. Per quanto alcune di queste tecniche permettano di ottenere misurazioni dalla elevata precisione, non esiste una metodologia universalmente riconosciuta come “*gold standard*”.

Allo stato attuale le principali metodologie per la misurazione del livello di idratazione corporea sono:

- Isotopi traccianti: somministrando soluzioni di isotopi traccianti a concentrazione nota è possibile sfruttare il complesso meccanismo di trasporto, scambio e perfusione di acqua e soluti tra i vari ambienti dell'organismo per calcolare, misurando la concentrazione di traccianti nel plasma, il volume di acqua in entrambi i compartimenti. Questa procedura permette di ottenere dei risultati di grande precisione, ma richiede tempo sufficiente alla diffusione dei traccianti.
- Neutron activation analysis: si tratta di un esame nell'ambito della medicina nucleare che prevede l'esposizione del paziente ad una contenuta dose di radiazioni con lo scopo di stimolare la comparsa di radionuclidi instabili. Analizzando la firma caratteristica del decadimento di nuclidi che sappiamo essere presenti in soluzione nei fluidi corporei, possiamo stimare il volume di acqua in entrambi i compartimenti.

L'impiego di questa metodologia è limitato dalla necessità di strumentazione specialistica e personale qualificato.

- Urina: come prodotto dell'attività renale, strettamente collegata al metabolismo dell'acqua all'interno del corpo, l'urina può essere fonte di molte informazioni. Colore, trasparenza, peso specifico, concentrazione e composizione delle urine sono fonti di informazioni che possono essere analizzate per stabilire il livello di idratazione del paziente.
- Indici ematologici: il parametro principale per la determinazione dell'idratazione a partire da un campione di sangue del paziente è l'osmolalità del plasma, ossia la concentrazione di soluti al suo interno, un valore superiore a 300 mOsm/kg è considerato sintomo di disidratazione critica. La strumentazione necessaria per l'analisi del sangue di un paziente è diffusamente disponibile, tuttavia questo tipo di analisi si rivela efficace solo in caso di una perdita di fluidi di già considerevole.
- Peso corporeo: nel breve periodo, quando una eventuale variazione della massa adiposa è trascurabile, la differenza di peso corporeo può essere associata alla variazione del contenuto di acqua, una rapida diminuzione del 3% del peso è da considerarsi sintomo di grave disidratazione. Ciò prevede di avere conoscenza precisa del peso basale e la possibilità di effettuare misurazioni che non siano influenzate dall'introduzione di cibo nell'organismo

Queste tecniche possono essere affiancate da una diagnosi basata sull'insorgere o meno della sintomatologia associata alla disidratazione, che è però ostacolata dalla bassa specificità e sensibilità tipiche del fenomeno.

Le metodologie sopra indicate non sono esenti da problematiche legate alla loro precisione, alla loro applicabilità, al fatto che non permettano di ottenere misurazioni rapidamente o alla loro invasività. Risultano a questo punto chiare le motivazioni che spingono alla ricerca di tecniche di monitoraggio dell'idratazione non invasive, che verranno approfondite nel seguente capitolo.

CAPITOLO SECONDO

TECNICHE DI MONITORAGGIO NON INVASIVO

Con il termine “non invasivo” si intende un esame o una procedura medica che non preveda l’ingresso all’interno di alcun compartimento del corpo, le metodologie per ottenere informazioni dall’organismo umano attraverso l’uso di questa categoria di tecniche sono oggetto di grande interesse e ricerca. Nel seguito verrà approfondita la classe di dispositivi che, messi a contatto con la pelle del soggetto, permettono l’acquisizione di varie tipologie di dati, principalmente sfruttando misurazioni di grandezze di natura elettrica. Ciò avviene spesso attraverso l’utilizzo di sensoristica semplice e di piccole dimensioni, questo permette l’adozione di soluzioni che prevedono l’impiego di un sistema che comprenda più sensori di diversa tipologia con lo scopo di ottenere informazioni su diversi fenomeni più o meno correlati, ampliando così le capacità di analisi.

Quanto segue è una trattazione di approfondimento delle principali metodologie di monitoraggio non invasivo.

2.1) BIOIMPEDENZA

La conducibilità elettrica dei tessuti biologici è largamente determinata dalla loro composizione e in particolare dal loro contenuto di acqua, è quindi possibile sfruttare questa caratteristica per ricavare informazioni sul livello di idratazione corporea in modo non invasivo. La misurazione avviene attraverso sensori che possono presentare dimensioni e conformazioni disparate, tipicamente seguendo il meccanismo di una misura a 4 cavi, applicando 4 elettrodi su diverse porzioni del corpo: due adibiti alla diffusione nel tessuto di una debole corrente alternata di valore noto attraverso il soggetto e due per misurare la conseguente differenza di potenziale, permettendo così la determinazione dell’impedenza rilevata tra di essi.

L’impedenza dei tessuti è determinata da una componente resistiva e da una capacitiva, per la presenza di quest’ultima la frequenza del segnale elettrico utilizzato influenza quindi la risposta che si otterrà. La spettroscopia di impedenza è un esame che prevede infatti l’utilizzo di diverse frequenze con lo scopo di ottenere una vasta gamma di informazioni, che spesso

prevedono l'utilizzo di formule o tabelle ottenute empiricamente per passare dalla misurazione ad un valore di interesse, come ad esempio la quantità di massa grassa e magra di un individuo. Nei termini della valutazione dello stato di idratazione corporea di un paziente l'utilizzo di una corrente a una frequenza di 5 kHz permette di stabilire il contenuto idrico nel compartimento extracellulare, in quanto la membrana cellulare è caratterizzata da una grande capacità, che non ne permette l'attraversamento da parte delle basse frequenze, una corrente a 200 kHz consente una stima del volume globale di acqua.

La misurazione della bioimpedenza come metodo per il monitoraggio dell'idratazione è stata validata confrontandone i risultati con quelli ottenuti da un esame eseguito utilizzando gli isotopi traccianti, metodologia ritenuta essere molto precisa. Risultano tuttavia essere presenti due criticità principali nell'utilizzo di questa tecnica: la relazione tra valori di impedenza misurati e contenuto di acqua è basata su modelli statistici e non è perciò infallibilmente accurata e si basa sulla falsa assunzione che descrive il corpo umano come un conduttore uniforme.

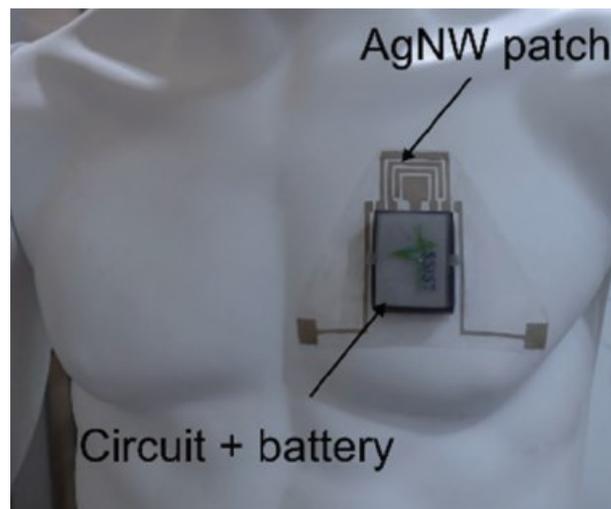


Figura 2) Esempio di sistema integrato costituito da una patch adesiva, un'unità di controllo e una batteria. Il dispositivo è in grado di monitorare, insieme ad altre informazioni di carattere fisiologico, i cambiamenti a livello di idratazione cutanea sfruttando una misurazione di bioimpedenza. [30]

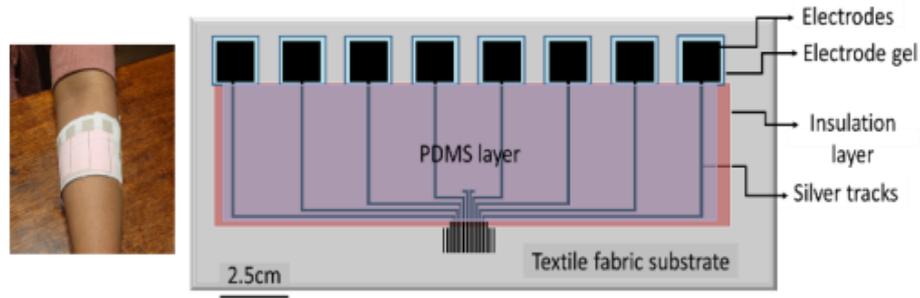


Figura 3) Illustrazione della struttura di un sistema multielettrodo stampato su substrato flessibile. Questo array di sensori è stato realizzato per permettere di ottenere una tomografia a bioimpedenza, permettendo così l'ottenimento di informazioni sulla topografia di profondità del settore di interesse senza dover ricorrere a metodologie più costose ed invasive. [28]

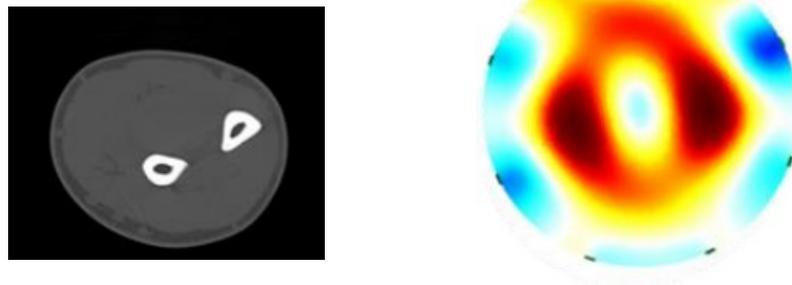


Figure 4 e 5) Confronto fra immagine dell'avambraccio del soggetto, ottenuta tramite TAC tradizionale e immagine ottenuta attraverso il sistema sopra descritto. [28]

2.2) CARATTERISTICHE ELETTRICHE DELLA PELLE

La cute, in quanto rivestimento esterno dell'organismo, ha il ruolo di barriera difensiva contro gli agenti esterni e la sua funzionalità ottimale è correlata al suo livello di idratazione. L'effetto dell'ambiente esterno, ad esempio l'esposizione al sole o al vento, possono causare secchezza della cute riducendone la funzionalità e la disidratazione è una condizione associata a diverse disfunzioni dermatologiche, per questi motivi è importante avere a disposizione uno strumento per misurare l'idratazione a livello superficiale. L'esistente legame tra le proprietà meccaniche della pelle e lo stato di idratazione del soggetto rende la valutazione della sua

elasticità un parametro spesso utilizzato in clinica per l'accertamento del livello di idratazione del paziente, queste analisi sono però solitamente di tipo qualitativo e fortemente soggetto dipendenti, risultano quindi imprecise nel fornire informazioni sull'effettivo grado di idratazione, l'utilizzo invece di tecnologie che permettano di investigare attraverso fenomeni elettrici le caratteristiche biomeccaniche della cute ne permetterebbero una più precisa analisi di tipo quantitativo.

Utilizzando coppie di elettrodi conduttivi a contatto con la cute è possibile estrarre informazioni utili sui suoi parametri elettrici, correlabili con le diverse condizioni di idratazione. Una particolare tipologia di sensori che presenta elevata sensibilità per monitorare i piccoli cambiamenti di caratteristiche elettriche conseguenti alle modifiche di contenuto di acqua negli strati della pelle sono i sensori interdigitati. Tali sensori sono costituiti da due elettrodi a pettine costituiti da molteplici denti, che si alternano creando dei piccoli condensatori grazie al materiale conduttivo che li rappresenta alternato al materiale dielettrico su cui generalmente sono stampati o realizzati tramite altre tecniche (e.g. fotolitografia). La particolare conformazione costituita da molteplici alternanze tra dentini conduttivi e materiale isolante permette di ottenere un'ampia area sensibile in cui è possibile misurare variazioni di campi elettrici dovute alle diverse interazioni con un materiale (nel caso specifico in questione la pelle) più o meno ricco di acqua, con un elevato rapporto segnale rumore.

I due elettrodi che li costituiscono prendono il nome di elettrodo di lavoro e contro elettrodo, agiscono l'uno da stimolatore e l'altro da misuratore, con un principio simile a quello visto nella descrizione delle misure di bioimpedenza. L'elettrodo di lavoro inietterà quindi una corrente alternata (o una tensione a seconda delle specifiche configurazioni) e il contro elettrodo leggerà la conseguente tensione alternata (o corrente alternata) indotta, dipendente dalle caratteristiche degli strati più superficiali e vicini all'area sensibile. Un'accurata progettazione delle geometrie di questi sensori in termini di numero di dentini, loro spessore, distanza tra ciascuno di questi e dimensione globale dell'area sensibile è indispensabile in quanto questi parametri possono influenzare significativamente la profondità di lettura e l'intensità del campo elettrico generato. Dal punto di vista della realizzazione, esistono una svariata gamma di materiali che possono essere impiegati per elettrodi e per il substrato. Gli elettrodi sono solitamente composti da materiali metallici, selezionati per le loro caratteristiche elettriche, meccaniche e chimiche che consentano un efficace impiego del sensore e assicurino la biocompatibilità, i principali sono: oro, platino, argento, alluminio e nichel. Per la realizzazione del substrato si ricorre usualmente a materiali siliconici, vitrei o a

base di quarzo per sensori rigidi, mentre in applicazioni dove sia necessario avere un substrato flessibile si possono impiegare film plastici o soluzioni che prevedano materiali di tipo tessile.

I più interessanti per le applicazioni in oggetto, sono quelli che sfruttano substrati e materiali conduttivi in grado di adattarsi alla superficie irregolare della pelle, sia in termini di flessione che di deformabilità, permettendo ad esempio la misurazione delle caratteristiche elettriche della cute. Questa tipologia di sensore è utilizzabile anche per effettuare misure di carattere elettrochimico, il campo generato da uno o più sensori disposti a formare un array può essere infatti alterato dalla presenza di specifiche molecole target e questa variazione può essere misurata per determinarne la presenza o la concentrazione.

I punti di forza di questa tecnologia sono la loro semplicità, flessibilità di applicazione ed economia di realizzazione.

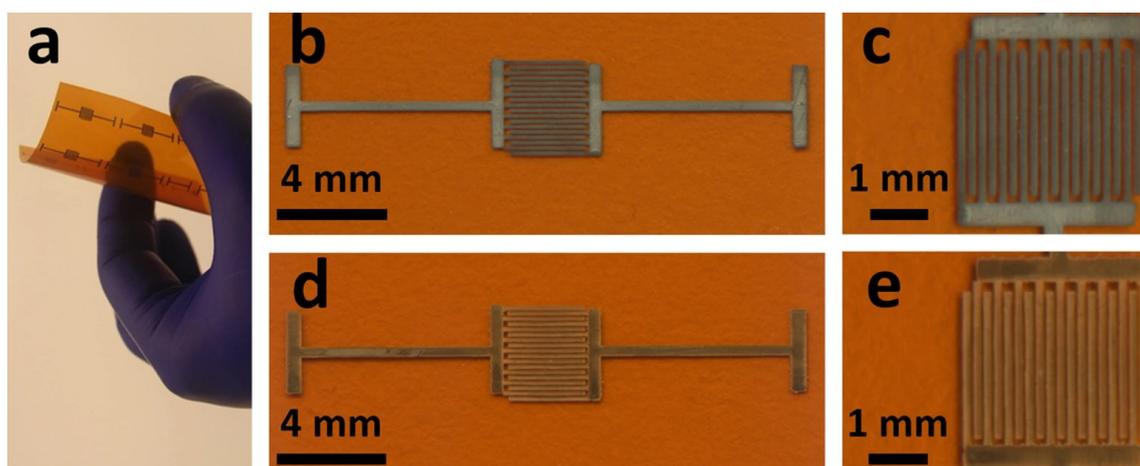


Figura 6 e 7) Esempi di sensori interdigitati.

Sopra, sensore realizzato in oro su substrato ceramico rigido.

Sotto, sensori in argento (b,c) e in oro (d,e) stampati su film plastico flessibile.

2.3) SENSORI PER LA QUANTIFICAZIONE DI IONI

Il sudore rappresenta un elemento importante nel bilancio idrico del corpo, costituendo una delle vie attraverso le quali l'organismo espelle liquidi e sali minerali. Questo meccanismo viene regolato dal sistema nervoso, tipicamente stimolato da attività fisica, temperatura esterna o influenze di carattere emotivo. Le fonti di informazioni che questo fenomeno offre sono principalmente due: il ritmo al quale esso viene espulso dall'organismo e la concentrazione di soluti al suo interno. Il sudore è un liquido costituito al 99% da acqua e per la restante parte da una grande varietà di ioni in soluzione, in particolare i soluti presenti in maggior concentrazione sono Na^+ , Cl^- e K^+ , essi possono fungere da biomarcatori e la loro concentrazione può essere informativa sul livello di idratazione corporea. Mentre le concentrazioni di sodio e cloro sono gli elementi di primario interesse nella valutazione dello stato di idratazione del soggetto, la misurazione della concentrazione di potassio può essere utilizzata per verificare la bontà del campione in questione.

È necessario attraversare due fasi per ricavare informazioni dal sudore del paziente: l'estrazione del campione e la sua analisi.

L'obiettivo dell'operazione di estrazione è l'ottenimento di una quantità di sudore sufficiente e di rendere possibile il suo trasporto all'elemento sensibile dell'apparato di analisi evitando eventuali contaminazioni, questo avviene principalmente attraverso tre metodologie:

- Trasporto microfluidico: è una tecnologia largamente utilizzata che prevede la raccolta di liquidi nell'ordine dei microlitri sfruttando il trasporto per capillarità, questa caratteristica fa sì che in assenza di una sudorazione copiosa sia necessario un periodo di tempo prolungato per l'ottenimento di un valore di misura.
- Materiali assorbenti: applicare un materiale assorbente direttamente a contatto con la pelle rappresenta una soluzione semplice che permette di ottenere rapidamente un campione e risulta efficace anche in caso di sudorazione scarsa, come nel caso di soggetti anziani o sedentari. Questa metodologia prevede però l'assorbimento di quantità di sudore relativamente grandi prima dell'analisi, impedendo così di effettuare una misura istantanea sul campione, fornendo un risultato dalla ridotta risoluzione temporale. Una volta raccolto il campione per l'estrazione del liquido dal substrato di raccolta si ricorre solitamente all'uso di una centrifuga o inserendo il

materiale imbevuto in una siringa e, con la pressione dello stantuffo, separando la fase liquida.

- Direttamente sulla pelle: in ambiti in cui la semplicità dell'apparecchiatura e la libertà di movimento del soggetto sono importanti è possibile sfruttare lacune o direttamente la topografia della cute per permettere il prelievo di un campione.

In fine esiste una metodologia definita da alcuni come gold standard per l'analisi del sudore che consiste nel collocare il soggetto in un'apposita doccia ed effettuare un “*total-body washdown*”, ossia un lavaggio dell'intero corpo del soggetto, vestiti inclusi, con acqua distillata, per poi raccogliere un campione dell'acqua di lavaggio ed analizzarlo per ottenere informazioni sul fenomeno di sudorazione a livello globale. La ovvia scarsa applicabilità di questo metodo rende preferibile la scelta di altre soluzioni.

La fase di analisi ha come fine l'ottenimento di una misura di concentrazione di uno o più soluti presenti nel sudore, questo avviene solitamente attraverso due categorie di metodologie:

- Elettroanalitiche: è possibile effettuare una varietà di tipologie di misurazione di carattere elettrico sul campione in base all'obiettivo dell'analisi in questione: cronoamperometrica, potenziometrica, voltammetrica, piezo-elettrica, e spettroscopia di impedenza elettrochimica. Tutte queste categorie necessitano di una sorgente di alimentazione elettrica e possono prevedere la presenza di enzimi per consentire la selettività ad un determinato metabolita.

La misura di tipo potenziometrico è la più diffusamente utilizzata e prevede il rilevamento di una differenza di potenziale che si forma fra due elettrodi posti a contatto con il campione di sudore ricco di ioni. La natura di questo tipo di misurazione consente di ottenere una misura del pH e della concentrazione di ioni in soluzione rapidamente, sfruttando componentistica elettronica semplice e non necessitando di complesso processing a posteriori, ma non consente l'ottenimento di informazioni riguardo la presenza di molecole elettricamente neutre, come i metaboliti quali glucosio e lattosio.

- Ottiche: colorimetria e fluorimetria sono le tecniche principali per effettuare una misura di concentrazione sfruttando un pigmento che, a contatto con il metabolita o ione in oggetto, cambia colore segnalandone la presenza. È possibile effettuare una

prima valutazione di tipo qualitativo visivamente, ma è necessario utilizzare attrezzature specifiche per una misura quantitativa. Queste tecnologie, pur permettendo di ottenere un risultato senza la necessità di una sorgente di alimentazione ed essendo meno sensibili a interferenze elettromagnetiche, non sono facilmente impiegabili per l'ottenimento di misure di tipo continuativo.

CAPITOLO TERZO

ESEMPIO DI CARATTERIZZAZIONE SPERIMENTALE IN VITRO

3.1 CARATTERISTICHE DEI SENSORI E PROTOCOLLO DI MISURA

Le attività sperimentali si sono concentrate sulla caratterizzazione di due possibili esempi di sensori stampati per il monitoraggio dell'idratazione: un sensore interdigitato per misure di idratazione superficiale cutanea e una coppia di elettrodi per misure di idratazione degli strati più profondi. I due sensori sono stati ottenuti tramite stampa a getto di inchiostro su un substrato flessibile, coniugando quindi basso costo con caratteristiche elettriche, chimiche e meccaniche ottime per l'applicazione desiderata.

Le caratteristiche delle geometrie selezionate sono state ottimizzate al fine di massimizzare la sensibilità durante le due tipologie di misure superficiale e profonda. Per quanto riguarda l'elettrodo interdigitato, la specifica geometria che intercala elementi conduttivi dello spessore di circa 300 μm (dentini in argento) a elementi capacitivi (spazi in poliimmide) consente di massimizzare la risposta ai cambiamenti di umidità in termini di cambiamenti di impedenza del sistema, in uno spessore limitato, ottimale quindi per il fine applicativo del monitoraggio dell'idratazione cutanea. Al contrario i due elettrodi per bioimpedenza, dal diametro di circa 6 mm, a distanza di circa 1 cm tra loro, consentono di includere un campo di misura più elevato, ottimale quindi per il monitoraggio di strati corporei più profondi.

La produzione di queste specifiche tipologie di sensori è avvenuta sfruttando la stampante a getto di inchiostro Dimatix DMP 2850 (FUJIFILM Dimatix, Inc., Santa Clara, California (USA)), utilizzando come inchiostro conduttivo per la realizzazione degli elettrodi un inchiostro a base di nanoparticelle di argento (Sicrys™ I40DM-106, prodotto dalla PV NanoCell) su di un substrato plastico a base di poliimmide (Kapton, prodotto dalla Dupont) spesso 50 μm .

L'obiettivo dei test svolti è stato la caratterizzazione in vitro dei due sensori, ovvero l'ottenimento della loro specifica curva di calibrazione che caratterizza le loro performance in risposta a cambiamenti controllati di volumi di acqua, ricreati tramite l'aggiunta di acqua in uno strato sottile di panno assorbente per il sensore interdigitato e in una spugna spessa 1 cm per gli elettrodi monopolari.

Lo stesso setup sperimentale è stato adottato per entrambi i sensori. Una volta eseguita una verifica preliminare della conducibilità dell'inchiostro stampato tramite un tester portatile, le misure di resistenza a due fili sono state ottenute collegando ai due elettrodi un multimetro digitale (Keysight 34461A) (Fig. 9)

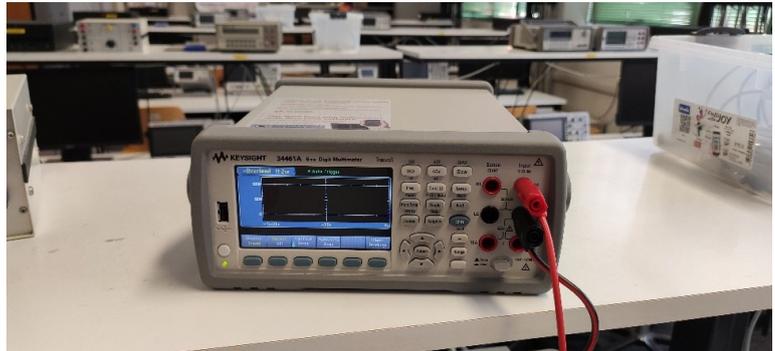


Figure 8 e 9) Strumentazione utilizzata per le misure di resistenza sui sensori: a sinistra tester portatile utilizzato per la valutazione preliminare della conducibilità delle tracce stampate (8), a destra multimetro digitale utilizzato per effettuare le misurazioni durante la caratterizzazione (9).

I sensori sono stati poi fissati ad una piccola piastra di supporto e sopra ad essi è stato fissato tramite del nastro isolante un elemento assorbente volto a simulare il comportamento di un tessuto dal livello di idratazione variabile: nel caso del sensore interdigitato si è trattato di uno strato sottile di materiale assorbente, per ottenere una risposta paragonabile a quella del contatto del sensore con la cute, mentre per il secondo sensore è stato utilizzato uno strato spugnoso di circa un centimetro per simulare un tessuto di più grande spessore.



Figure 10 e 11) Sensore interdigitato e strato assorbente utilizzato per simulare il sottile strato cutaneo su cui il sensore effettua la misura di idratazione.

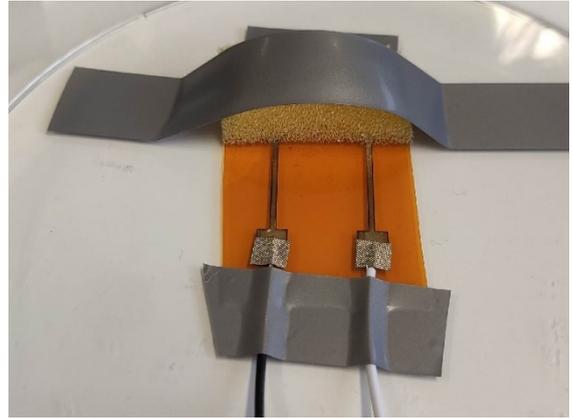
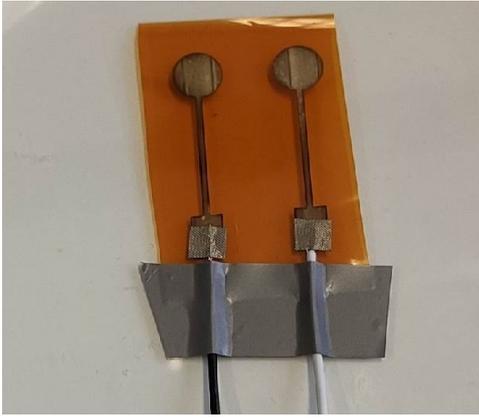


Figure 12 e 13) Coppia di elettrodi per bioimpedenza e strato spugnoso utilizzato per simulare uno strato corporeo più spesso su cui gli elettrodi andrebbero a effettuare la misura di idratazione

Una volta stabilito il collegamento elettrico tra le piazzole dei sensori e il multimetro digitale ed aver atteso che il valore di resistenza misurato si stabilizzasse si è proceduto ad aggiungere gradualmente piccole quantità di acqua ad intervalli di circa 30 secondi, con il fine di osservare una variazione della risposta proporzionale alla quantità di acqua presente sul materiale fino al raggiungimento della condizione di saturazione del materiale, in corrispondenza della quale non ci si aspettava di non rilevare variazioni apprezzabili di resistività (Fig. 14).

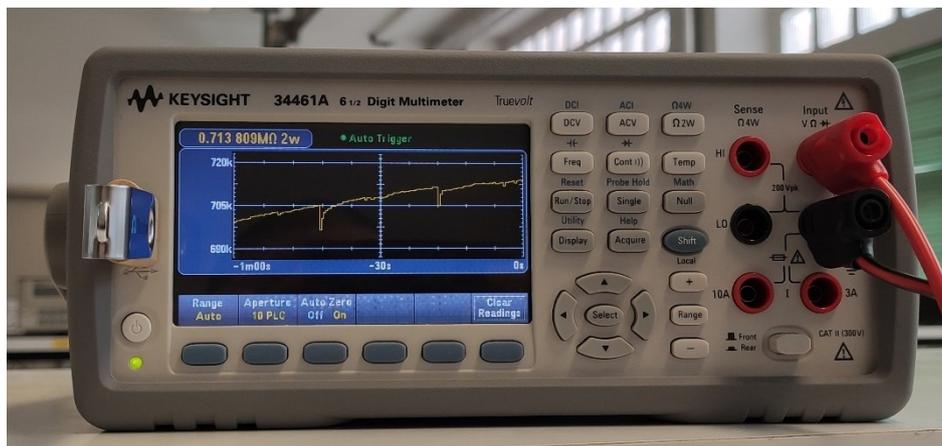


Figura 14) Esempio di valutazione della misura in tempo reale della resistenza tramite multimetro, in conseguenza a successive aggiunte di acqua.

3.2) ANALISI DEI DATI

Terminata la raccolta dei dati in laboratorio i risultati ottenuti dalle misure su entrambi i sensori sono stati analizzati seguendo lo stesso protocollo, sfruttando le capacità di calcolo e analisi di dati del software MATLAB per rappresentare ed elaborare quanto ricavato.

Uno script è stato appositamente progettato con lo scopo di ottenere le curve di calibrazione dei due sensori, che legassero la variazione di resistenza in funzione della quantità di acqua aggiunta.

Le istruzioni contenute nel programma hanno seguito il seguente schema:

- Importazione e vettorizzazione dei dati ottenuti dal multimetro

```
data1 = readtable('DATA_G.csv');  
data2 = readtable('DATA_G2.csv');  
data3 = readtable('DATA_G3.csv');  
v1c = table2array(data1);  
v1 = v1c(1050:1450);  
v2c = table2array(data2);  
v3c = table2array(data3);  
v3 = v3c(900:2400);
```

- Plot preliminare dei dati per effettuare una prima analisi visiva qualitativa per selezionare le porzioni di interesse

```
figure(1)  
plot(v1);  
xlabel("Frame di acquisizione")  
ylabel("Valore di resistenza (Ohm)")  
figure(2)  
plot(v2c);  
xlabel("Frame di acquisizione")  
ylabel("Valore di resistenza (Ohm)")  
figure(3)  
plot(v3);  
xlabel("Frame di acquisizione")  
ylabel("Valore di resistenza (Ohm)")
```

- Opportuna scelta degli estremi di ogni step di aggiunta di acqua, selezionando gli istanti tenendo in considerazione il tempo necessario al valore di resistenza misurato per stabilizzarsi e calcolo, utilizzando le funzioni *mean()* e *std()*, di media e deviazione standard per ciascun intervallo e vettorizzazione dei valori ottenuti.

```

m1 = mean(v1c(1130:1162));
m2 = mean(v1c(1202:1238));
m3 = mean(v1c(1265:1314));
m4 = mean(v1c(1339:1383));
m5 = mean(v1c(1410:1441));
s1 = std(v1c(1130:1162));
s2 = std(v1c(1202:1238));
s3 = std(v1c(1265:1314));
s4 = std(v1c(1339:1383));
s5 = std(v1c(1410:1441));
%numero aggiunte di acqua
nagg = (50:50:250);
%vettorizzo
mean1 = [m1,m2,m3,m4,m5];
std1 = [s1,s2,s3,s4,s5];

```

- Utilizzo della funzione *polyfit()* per effettuare il fitting ai minimi quadrati ed ottenere i parametri della retta di calibrazione e sovrapporla ad un grafico *errorbar()* per visualizzare i valori medi e deviazione standard

```

f1 = polyfit(nagg,mean1,1);
fz = f1(1)*nagg+f1(2);
figure(4)
errorbar(nagg,mean1,std1,"o","MarkerSize",5,"MarkerEdgeColor","blue","MarkerFaceColor",[0.65 0.85 0.90]);
hold on
plot(nagg, fz , '--k')
text(140,660000,'y = (-2.32*10^4)x+(7.13*10^5)','FontSize',11,'Fontweight','bold')
text(140,665000,'R^2 = 0.9784','FontSize',11,'Fontweight','bold')
hold off
xlabel("uL di acqua aggiunti")
ylabel("Mean e std valore di resistenza")
xlim([0,300])

```

- Stima della validità del fitting ottenuto calcolando il valore di R^2 .

```

m=fitlm(nagg,mean1);
r2=m.Rsquared.Ordinary;

```

3.3) CARATTERIZZAZIONE DEL SENSORE INTERDIGITATO

Dopo aver imbevuto il materiale assorbente per renderlo malleabile ed aver rimosso l'acqua in eccesso si è proceduto a fissarlo al sensore. La procedura sperimentale ha poi previsto l'aggiunta a intervalli di tempo regolari di una goccia di acqua (circa 0.05 ml) utilizzando una siringa con ago ipodermico, avendo cura di attendere che il valore di resistenza si stabilizzasse prima di aggiungere ulteriore acqua.

La natura non rigida del materiale assorbente e le limitazioni sul fissaggio imposte dalla configurazione dell'esperimento hanno dato luogo a delle problematiche legate all'adesione della spugna al sensore, in quanto al crescere della quantità di acqua al suo interno ha sviluppato una tendenza a flettersi, staccandosi dal sensore sottostante, producendo alcuni artefatti e impedendo di effettuare una misurazione continua e affidabile.

Nonostante questo, si è riusciti ad ottenere una curva di calibrazione con 5 diverse concentrazioni come mostrato in figura 17, dalla quale risulta evidente la diminuzione di resistenza proporzionale alla crescita del volume di acqua, spiegabile con l'aumento della mobilità degli elettroni nel tessuto assorbente umido rispetto alla condizione asciutta.

Dal grafico che mostra la variazione nel tempo è stato possibile estrarre la media e la standard deviation corrispondente a ciascun livello di acqua aggiunto, ottenendo una retta di caratterizzazione caratterizzata da pendenza, e quindi sensibilità, pari a $-2.32 \cdot 10^4 \text{ Ohm/uL}$ e intercetta pari a $7.13 \cdot 10^5 \text{ Ohm}$

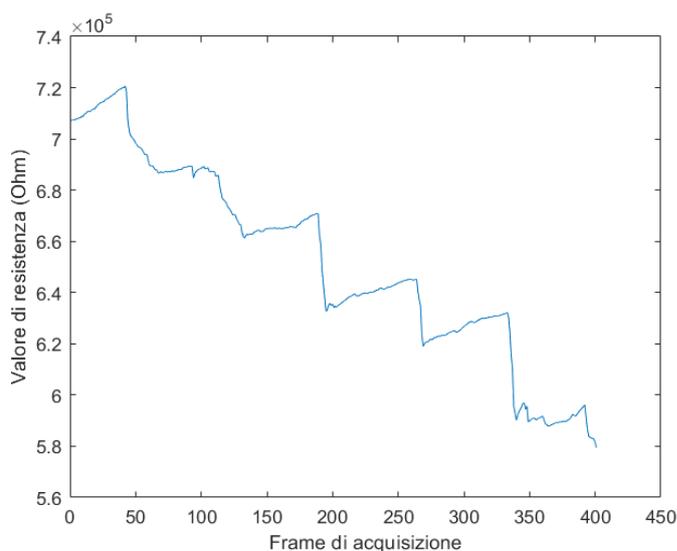


Figura 17) Grafico che illustra la variazione di resistenza del sensore interdigitato rispetto al tempo, è possibile osservare gli istanti corrispondenti ad ogni aggiunta di acqua.

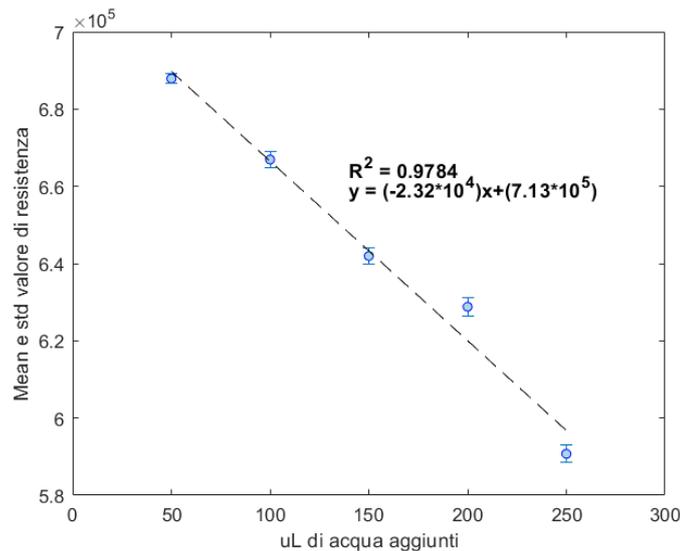


Figura 18) Grafico illustrante i valori di media e deviazione standard per ogni aggiunta di acqua, oltre alla retta ideale che approssima la relazione quantità di acqua / resistenza del sensore.

3.4) CARATTERIZZAZIONE DEGLI ELETTRODI DI BIOIMPEDENZA

In questo caso si è proceduto aggiungendo a intervalli di 30 secondi un quantitativo maggiore di acqua, pari a 0.1 ml. La soglia raggiunta la quale è stata osservata la prima variazione di resistività apprezzabile si è verificato dopo aver aggiunto 0.5 ml di acqua. In questo caso la natura del materiale ne ha permesso un robusto fissaggio e ciò ha consentito di ottenere risultati soddisfacenti sin da subito, si è quindi proceduto con l'aggiunta di acqua fino al raggiungimento della saturazione, avvenuta dopo aver depositato sul materiale 3.2 ml di liquido.

È innanzitutto possibile osservare una discontinuità nei dati appartenenti al sensore di bioimpedenza, probabilmente causata da una disuniformità nella distribuzione del liquido, che è una delle probabili cause del fatto che, nonostante per il primo sensore (R^2 sensore 1 = 97.84%) siano disponibili meno valori per il calcolo del fitting, il valore di R^2 sia sensibilmente inferiore (R^2 sensore 2 = 91.37%). Quest'ultimo parametro è un valore utilizzato in statistica che esprime, in percentuale, il grado di bontà del fitting del modello lineare stimato ai dati a disposizione, più esso tende al 100% più il fitting è soddisfacente.

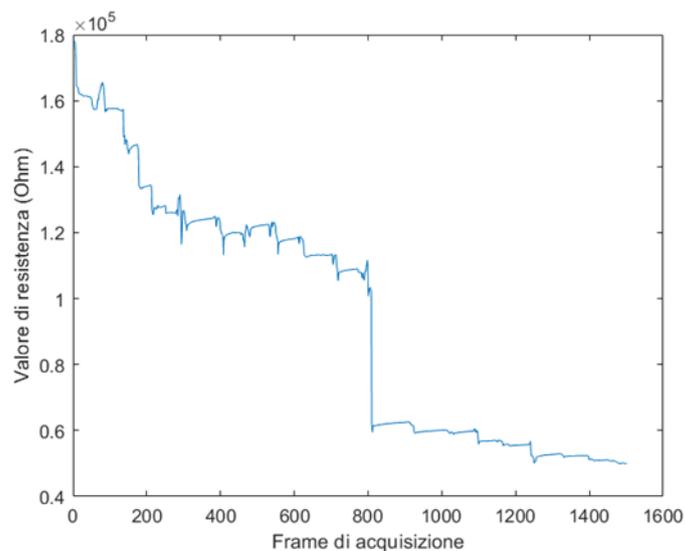


Figura 19) Grafico che illustra la variazione di resistenza del sensore di bioimpedenza rispetto al tempo, è possibile osservare gli istanti corrispondenti ad ogni aggiunta di acqua.

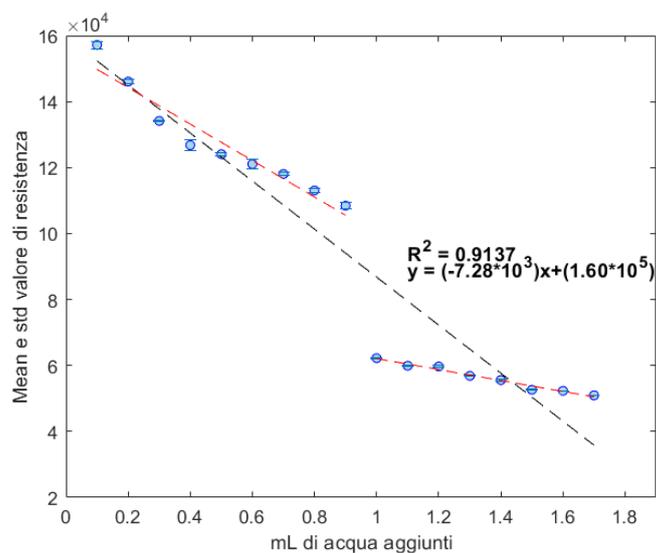


Figura 20) Grafico illustrante i valori di media e deviazione standard per ogni aggiunta di acqua, oltre alla retta ideale che approssima la relazione quantità di acqua / resistenza del sensore.

CONCLUSIONI

L'importanza dell'acqua all'interno del corpo umano è motrice del grande sforzo che viene dedicato allo studio di metodologie, invasive e non, per il monitoraggio dell'idratazione. La frontiera delle tecniche attualmente disponibili è in costante espansione e sono continuamente in corso di sviluppo nuove tecnologie volte a raggiungere nuovi livelli di precisione, sofisticatezza e affidabilità. Particolare interesse suscitano soluzioni che impieghino sensoristica miniaturizzata, consentendo l'integrazione di sistemi multisensore per ottenere un largo spettro di informazioni attraverso dispositivi non invasivi, compatti ed economici. Il ruolo ormai centrale assunto dall'impiego dell'intelligenza artificiale in ambito scientifico ha portato la sua applicazione anche nel ramo biomedico, nel caso specifico del monitoraggio dell'idratazione ci sono evidenze in letteratura dell'utilizzo di algoritmi di machine learning per l'estrazione di dati di interesse [15].

In merito all'esperienza di laboratorio svolta nel contesto della stesura di questa tesi è stato possibile giungere ad alcune conclusioni. È innanzitutto interessante notare che, pur attraverso l'utilizzo di strumentazione e sensori di natura semplice, è possibile ottenere misurazioni di grande utilità e precisione. Le criticità riscontrate sono principalmente dovute alla struttura del setup sperimentale scelto, il materiale spugnoso infatti aveva la tendenza a deformarsi, riducendo la sua aderenza sul sensore e causando così discontinuità nella misurazione, un fissaggio più stabile e robusto permetterebbe quindi di ottenere risultati di misura più consistenti. L'esperienza è in ogni caso testimone delle potenzialità di questa tipologia di sensori nelle applicazioni di monitoraggio dell'idratazione con metodi non invasivi.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Jéquier, E., Constant, F. Water as an essential nutrient: the physiological basis of hydration. *Eur J Clin Nutr* 64, 115–123 (2010). <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.111>
- [2] Popkin BM, D'Anci KE, Rosenberg IH. Water, hydration, and health. *Nutr Rev.* 2010 Aug;68(8):439-58. doi: 10.1111/j.1753-4887.2010.00304.x. PMID: 20646222; PMCID: PMC2908954.
- [3] Rikkert, M.G.M.O., Deurenberg, P., Jansen, R.W.M.M., van't Hof, M.A. and Hoefnagels, W.H.L. (1997), Validation of Multi-Frequency Bioelectrical Impedance Analysis in Detecting Changes in Fluid Balance of Geriatric Patients. *Journal of the American Geriatrics Society*, 45: 1345-1351. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1997.tb02934.x>
- [4] Bak A, Tsiami A, Greene C. Methods of Assessment of Hydration Status and their Usefulness in Detecting Dehydration in the Elderly. *Curr Res Nutr Food Sci* 2017;5(2). doi : <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.5.2.01>
- [5] Jang, M.; Kim, H.-D.; Koo, H.-J.; So, J.-H. Textile-Based Wearable Sensor for Skin Hydration Monitoring. *Sensors* 2022, 22, 6985. <https://doi.org/10.3390/s22186985>
- [6] Ibrahim, N.F.A.; Sabani, N.; Johari, S.; Manaf, A.A.; Wahab, A.A.; Zakaria, Z.; Noor, A.M. A Comprehensive Review of the Recent Developments in Wearable Sweat-Sensing Devices. *Sensors* 2022, 22, 7670. <https://doi.org/10.3390/s22197670>
- [7] Thomas BJ, Ward LC, Cornish BH. Bioimpedance spectrometry in the determination of body water compartments: accuracy and clinical significance. *Appl Radiat Isot.* 1998 May-Jun;49(5-6):447-55. doi: 10.1016/s0969-8043(97)00052-3. PMID: 9569513.
- [8] Lorenzo I, Serra-Prat M, Yébenes JC. The Role of Water Homeostasis in Muscle Function and Frailty: A Review. *Nutrients.* 2019 Aug 9;11(8):1857. doi: 10.3390/nu11081857. PMID: 31405072; PMCID: PMC6723611.
- [9] Francisco R, Matias CN, Santos DA, Campa F, Minderico CS, Rocha P, Heymsfield SB, Lukaski H, Sardinha LB, Silva AM. The Predictive Role of Raw

Bioelectrical Impedance Parameters in Water Compartments and Fluid Distribution Assessed by Dilution Techniques in Athletes. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Jan 24;17(3):759. doi: 10.3390/ijerph17030759. PMID: 31991706; PMCID: PMC7037751.

[10] Lawrence E. Armstrong, Hydration Assessment Techniques, *Nutrition Reviews*, Volume 63, Issue suppl_1, June 2005, Pages S40–S54, <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2005.tb00153.x>

[11] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA); Scientific Opinion on Dietary reference values for water. *EFSA Journal* 2010; 8(3):1459. [48 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1459.

[12] Taylor K, Jones EB. Adult Dehydration. [Updated 2022 Oct 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555956/>

[13] Tobias A, Ballard BD, Mohiuddin SS. Physiology, Water Balance. [Updated 2022 Oct 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541059/>

[14] Ji W, Zhu J, Wu W, Wang N, Wang J, Wu J, Wu Q, Wang X, Yu C, Wei G, Li L, Huo F. Wearable Sweat Biosensors Refresh Personalized Health/Medical Diagnostics. *Research (Wash D C)*. 2021 Oct 22;2021:9757126. doi: 10.34133/2021/9757126. PMID: 34778790; PMCID: PMC8557357.

[15] Liaqat, S.; Dashtipour, K.; Arshad, K.; Ramzan, N. Non Invasive Skin Hydration Level Detection Using Machine Learning. *Electronics* 2020, 9, 1086. <https://doi.org/10.3390/electronics9071086>

[16] Acar, G.; Ozturk, O.; Golparvar, A.J.; Elboshra, T.A.; Böhringer, K.; Yapici, M.K. Wearable and Flexible Textile Electrodes for Biopotential Signal Monitoring: A review. *Electronics* 2019, 8, 479. <https://doi.org/10.3390/electronics8050479>

[17] Earthman, C., Traugher, D., Dobratz, J. and Howell, W. (2007), Bioimpedance Spectroscopy for Clinical Assessment of Fluid Distribution and Body Cell Mass. *Nutr Clin Pract*, 22: 389-405. <https://doi.org/10.1177/0115426507022004389>

[18] https://dictionary.cambridge.org/it/dizionario/inglese/non-invasivo#google_vignette

[19] Villiger, M., Stoop, R., Vetsch, T. et al. Evaluation and review of body fluids saliva, sweat and tear compared to biochemical hydration assessment markers within blood and urine. *Eur J Clin Nutr* 72, 69–76 (2018). <https://doi.org/10.1038/ejcn.2017.136>

[20] A. V. Mamishev, K. Sundara-Rajan, Fumin Yang, Yanqing Du and M. Zahn, "Interdigital sensors and transducers," in *Proceedings of the IEEE*, vol. 92, no. 5, pp. 808-845, May 2004, doi: 10.1109/JPROC.2004.826603.

[21] Surapongchai J, Saengsirisuwan V, Rollo I, Randell RK, Nithitsuttibuta K, Sainiyom P, Leow CHW, Lee JKW. Hydration Status, Fluid Intake, Sweat Rate, and Sweat Sodium Concentration in Recreational Tropical Native Runners. *Nutrients*. 2021 Apr 20;13(4):1374. doi: 10.3390/nu13041374. PMID: 33923890; PMCID: PMC8072971.

[22] Baker, L. B., Ungaro, C. T., Barnes, K. A., Nuccio, R. P., Reimel, A. J., Stofan, J. R., Validity and reliability of a field technique for sweat Na⁺ and K⁺ analysis during exercise in a hot-humid environment, *Physiol Rep*, 2 (5), 2014, e12007, doi: 10.14814/phy2.12007

[23] Isao Shitanda, Naoki Muramatsu, Rio Kimura, Nanami Takahashi, Kazuki Watanabe, Hiroyuki Matsui, Noya Loew, Masahiro Motosuke, Takahiro Mukaimoto, Momoko Kobayashi, Taketo Mitsuhashi, Yamato Sugita, Kensuke Matsuo, Shinya Yanagita, Tatsunori Suzuki, Hikari Watanabe, and Masayuki Itagaki., *Wearable Ion Sensors for the Detection of Sweat Ions Fabricated by Heat-Transfer Printing*, *ACS Sensors* 2023 8 (7), 2889-2895, DOI: 10.1021/acssensors.3c01027

[24] Moonen EJM, Haakma JR, Peri E, Pelssers E, Mischi M, den Toonder JMJ. Wearable sweat sensing for prolonged, semicontinuous, and nonobtrusive health monitoring. *VIEW*. 2020;1:20200077. <https://doi.org/10.1002/VIW.20200077>

[25] Baker LB. Physiology of sweat gland function: The roles of sweating and sweat composition in human health. *Temperature* (Austin). 2019 Jul 17;6(3):211-259. doi: 10.1080/23328940.2019.1632145. PMID: 31608304; PMCID: PMC6773238.

[26] Tavares, Liliana & Palma, Lidia & Santos, Osvaldo & Almeida, M^a & Bujan, Maria & Rodrigues, Luis. (2012). Relationship between skin hydration and elasticity in normal weighted subjects and the influence of age: Relação entre a biomecânica e a hidratação cutâneas em indivíduos normoponderais e influência da idade. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*. 9. 191-198. 10.19277/BBR.9.2.41.

[27] Groenendaal, Willemijn & Lee, Seulki & Van Hoof, Chris. (2021). Wearable Bioimpedance Monitoring: Viewpoint for Application in Chronic Conditions. *JMIR Biomedical Engineering*. 6. e22911. 10.2196/22911.

[28] JOSE, Manoj; LEMMENS, Marijn; BORMANS, Seppe; THOELLEN, Ronald & DEFERME, Wim (2021) Fully printed, stretchable and wearable bioimpedance sensor on textiles for tomography. In: *FLEXIBLE AND PRINTED ELECTRONICS*, 6 (1) (Art N° 015010).

[29] Fang, Y., Akbari, M., Hester, J.G. et al. Sensitivity enhancement of flexible gas sensors via conversion of inkjet-printed silver electrodes into porous gold counterparts. *Sci Rep* 7, 8988 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09174-5>

[30] Yao, Shanshan & Mills, Amanda & Malhotra, Abhishek & Lin, Feiyan & Bozkurt, Alper & Muth, John & Zhu, Yong. (2017). A Wearable Hydration Sensor with Conformal Nanowire Electrodes. *Advanced Healthcare Materials*. 6. 1601159. 10.1002/adhm.201601159.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio la mia relatrice, la professoressa Tonello Sarah, per il suo fondamentale contributo alla stesura di questa tesi e per il supporto da lei ricevuto.

Ringrazio sentitamente tutti quelli che mi hanno accompagnato in questo percorso che è stato un passo di crescita importantissimo, in particolare: mio padre, chi, pure non avendo con me alcun legame di sangue ha saputo essere per me una madre, la mia fidanzata, i miei parenti, i miei amici tutti e soprattutto Molly.